

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年9月17日(17.09.2020)



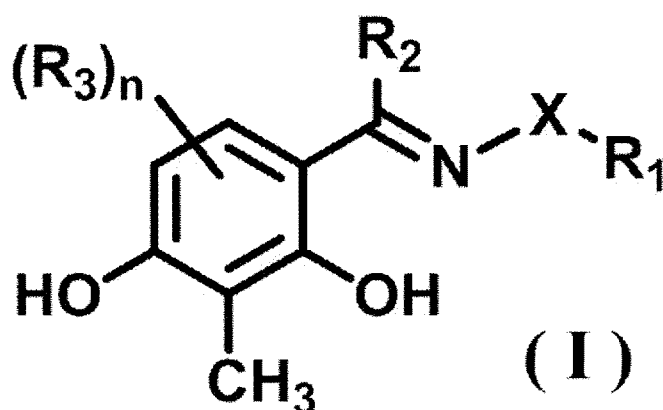
(10) 国際公開番号

WO 2020/184605 A1

- (51) 国際特許分類:
A61P 27/02 (2006.01) *C12N 1/00* (2006.01)
C12N 5/071 (2010.01) *A61K 31/175* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2020/010465
- (22) 国際出願日: 2020年3月11日(11.03.2020)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2019-044854 2019年3月12日(12.03.2019) JP
- (71) 出願人: 日産化学株式会社(NISSAN CHEMICAL CORPORATION) [JP/JP]; 〒1036119 東京都中央区日本橋二丁目5番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 深澤 菜月 (FUKASAWA, Natsuki); 〒3490294 埼玉県白岡市白岡1470 日産化学株式会社 生物科学研究所内 Saitama (JP). 西野 泰斗 (NISHINO, Taito); 〒3490294 埼玉県白岡市白岡1470 日産化学株式会社 生物科学研究所内 Saitama (JP). 渡辺 里奈 (WATANABE, Rina); 〒3490294 埼玉
- 県白岡市白岡1470 日産化学株式会社 生物科学研究所内 Saitama (JP).
- (74) 代理人: 高島 一 (TAKASHIMA, Hajime); 〒5410044 大阪府大阪市中央区伏見町四丁目1番1号 明治安田生命大阪御堂筋ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,

(54) Title: THERAPEUTIC AGENT FOR CORNEAL DISEASES

(54) 発明の名称: 角膜疾患治療剤



(57) Abstract: The present invention pertains to a novel means for treating corneal diseases. The present invention provides a therapeutic agent for corneal diseases, which contains a compound represented by formula (I) or a salt thereof (the definition of each symbol in the formula is as described in the description).

(57) 要約: 本発明は、角膜疾患に対する新しい治療手段に関する。本発明によれば、下記、式(1)で示される化合物またはその塩を含む、角膜疾患の治療剤: {式中の各記号の定義は、明細書に記載の通りである。}を提供することができる。

[続葉有]

WO 2020/184605 A1

TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称：角膜疾患治療剤

技術分野

[0001] 本発明は、新規な角膜疾患治療剤およびそれを用いた角膜疾患の治療方法に関する。

背景技術

[0002] 角膜は、眼球を構成する透明な層状組織の一つである。ヒトの場合は、直径が約12mm、中央部の厚さが約0.5mm、周辺部の厚さが約0.7mmであり、表面から角膜上皮、ボーマン膜、角膜実質、デスメ膜、角膜内皮という5層から構成されている。角膜上皮細胞は、異物や病原菌等の侵入を防ぐバリア機能を果たしており、各種の疾患や外傷により角膜上皮細胞が欠損すると、痛みや見えにくい状態が続くだけでなく、感染症等の合併症も併発する。一方、角膜内皮細胞は、角膜の含水量と厚みを一定に保ち、角膜の透明性を維持する上で欠かせない細胞である。角膜内皮細胞の欠損は角膜の混濁をもたらし、著しい視力の低下を引き起こす。角膜上皮細胞および角膜内皮細胞は目の機能発現に重要な役割を果たしているため、これらの細胞の欠損をもたらす疾患や外傷の治療剤の開発が求められている。

[0003] 重篤な角膜の疾患や外傷の治療法としては、従来から角膜移植療法が行われてきた。しかしながら、必要な角膜を提供できるドナーが不足していることやドナー由来の角膜に対する拒絶反応が生じる場合があることなどから、角膜上皮細胞および角膜内皮細胞を生体外で増幅してから移植する治療法の実用化が望まれてきた（特許文献1、2）。

[0004] 近年、様々な細胞の増殖を促進する低分子化合物の報告がなされている（特許文献3）。しかしながら、角膜上皮細胞および角膜内皮細胞に対する当該化合物の増殖促進効果は報告されていない。

先行技術文献

非特許文献

[0005] 特許文献1：国際公開第2013/012087号

特許文献2：国際公開第2013/100208号

特許文献3：国際公開第2019/022222号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明は、角膜疾患を治療するための薬剤、およびそれを用いた角膜疾患の治療方法を提供することを目的とする。

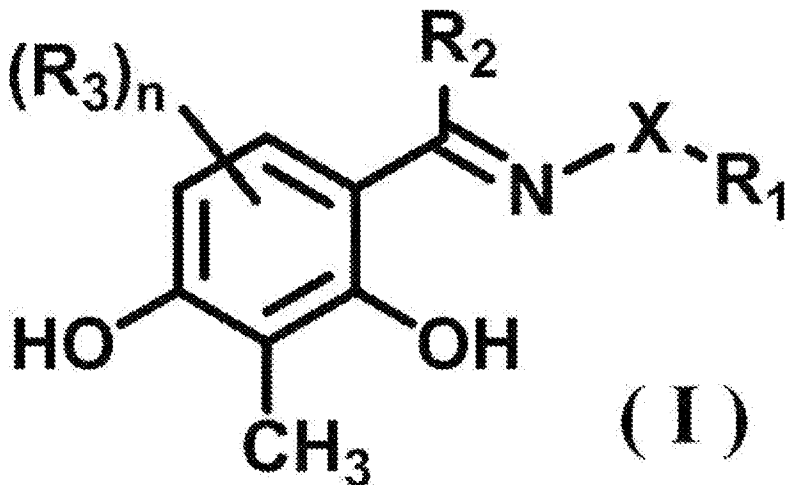
課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、上記課題に対して鋭意検討した結果、特定の化合物が、角膜上皮細胞および角膜内皮細胞の増殖を促進することを見出し、かかる知見に基づいてさらに研究を進めることによって本発明を完成するに至った。

[0008] すなわち、本発明は以下の通りである。

[1] 下記、式(1)で示される化合物またはその塩を含む、角膜疾患の治療剤。

[0009] [化1]



[0010] {式中、Xは、 $-NHCO-$ であり、 R_1 は、 $-Y-NH-Z-Ar$ であり（式中、Y、およびZは、各々独立して、単結合、または置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキレン基であり、Arは、置換基を有していてもよいアリール基である。）、 R_2 は、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキル基であり、 R_3 は、水酸基であり、nは、0、1または2である。

}

[2] R_2 が、炭素数1～4のアルキル基であり、

n が、0であり、

A_r が、水酸基または C_{1-4} アルキル基を有していてもよい、フェニル基またはナフチル基であり、

Y が、単結合であり、および

Z が、炭素数1～4のアルキレン基である、

[1] 記載の角膜疾患の治療剤。

[3] R_2 が、炭素数1～4のアルキル基であり、

n が、0であり、

A_r が、ハロゲン原子、 C_{1-4} アルキル基、水酸基または C_{1-4} アルコキシ基を有していてもよい、フェニル基またはナフチル基であり、

Y が、炭素数1～4のアルキル基で置換された炭素数1～4のアルキレン基であり、および

Z が、単結合である、

[1] 記載の角膜疾患の治療剤。

[4] R_2 が、メチル基、エチル基、またはイソブチル基であり、

n が0であり、

A_r が、水酸基またはメチル基を有していてもよいフェニル基であり、および

Y が、メチル基またはエチル基を有していてもよいメチレン基である、

[1] 記載の角膜疾患の治療剤。

[5] R_2 が、メチル基、エチル基、またはイソブチル基であり、

n が0であり、

A_r が、水酸基またはハロゲン原子を有していてもよいフェニル基であり、および

Y が、メチル基またはエチル基を有していてもよいメチレン基である、

[1] 記載の角膜疾患の治療剤。

[6] R_2 が、メチル基、エチル基、またはイソブチル基であり、
 n が0であり、

A_r が、水酸基またはメチル基を有していてもよいフェニル基であり、および

Y が、単結合である、[1]記載の角膜疾患の治療剤：

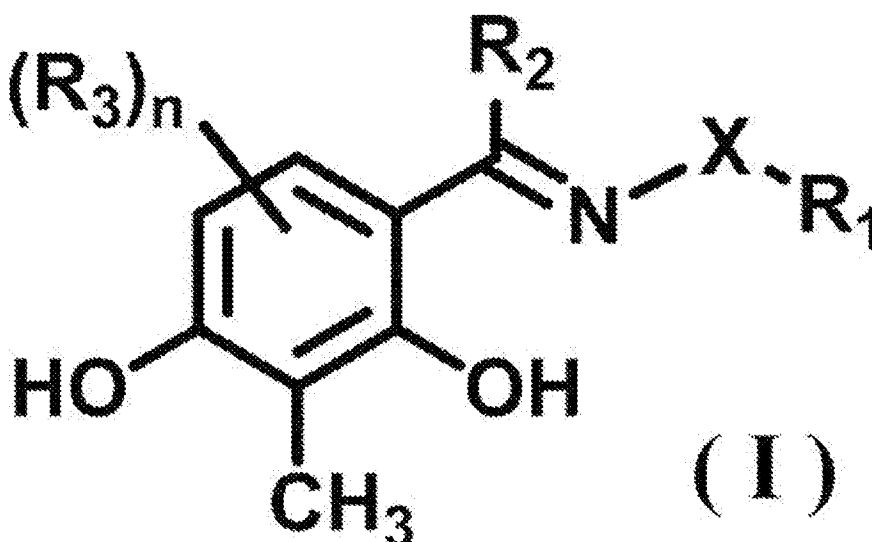
[7] Z が、単結合である、[4]記載の角膜疾患の治療剤。

[8] Z が、メチル基またはエチル基を有していてもよいメチレン基である、[5]または[6]に記載の角膜疾患の治療剤。

[9] 角膜疾患が、角膜上皮障害、点状表層角膜症、角膜びらん、角膜潰瘍、ドライアイ、角膜上皮剥離、無虹彩症、翼状片、強膜化角膜、角膜ジストロフィー、角膜炎、角膜上皮幹細胞疲弊症、葉傷、熱傷、スティーヴンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、糖尿病角膜症、水疱性角膜症、角膜内皮炎、フックス角膜内皮ジストロフィー、滴状角膜、虹彩角膜内皮症候群、および角膜移植後の移植不全からなる群から選択される、[1]～[8]のいずれかに記載の角膜疾患の治療剤。

[10] 下記、式(1)で示される化合物またはその塩を、それを必要とする対象に投与することを含む、角膜疾患の治療方法。

[0011] [化2]

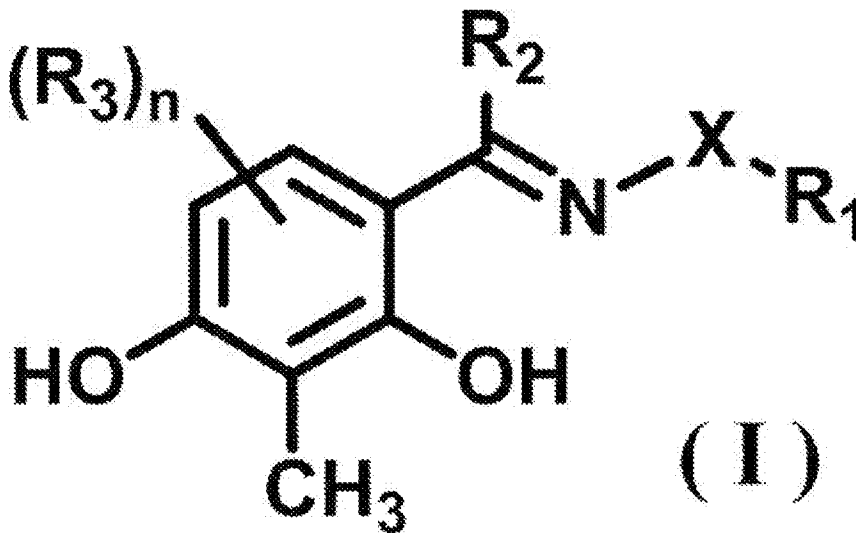


[0012] {式中、 X は、 $-NHCO-$ であり、 R_1 は、 $-Y-NH-Z-A_r$ であり（

式中、Y、およびZは、各々独立して、単結合、または置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキレン基であり、Arは、置換基を有していてもよいアリール基である。)、R₂は、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキル基であり、R₃は、水酸基であり、nは、0、1または2である。}

[11] 下記、式(I)で示される化合物またはその塩を含む培地組成物中で角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の培養することを特徴とする、角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の増殖を促進する方法。

[0013] [化3]



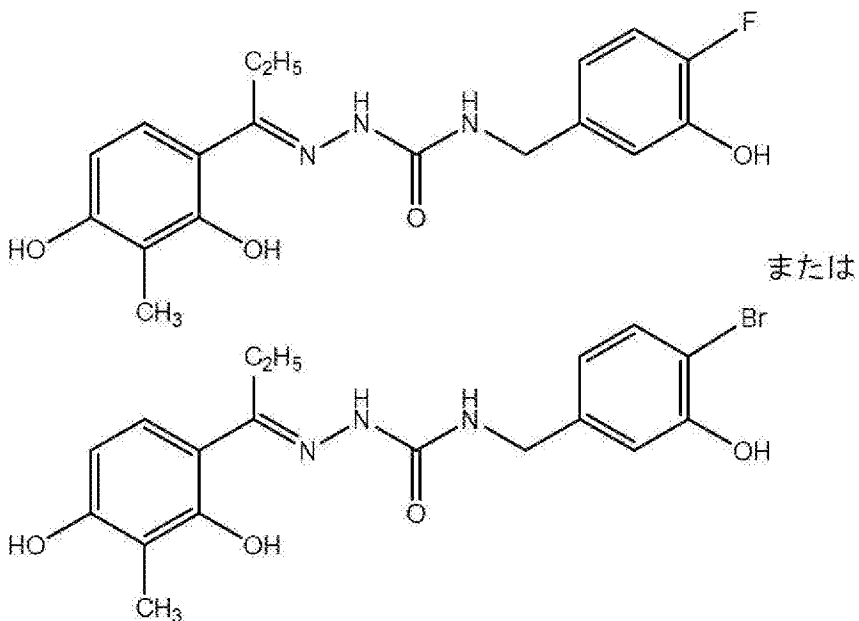
[0014] {式中、Xは、-NHCO-であり、R₁は、-Y-NH-Z-Arであり(式中、Y、およびZは、各々独立して、単結合、または置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキレン基であり、Arは、置換基を有していてもよいアリール基である。)、R₂は、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキル基であり、R₃は、水酸基であり、nは、0、1または2である。}

[12] 前記[11]に記載の方法を用いることを特徴とする角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の製造方法。

[13] 下記式：

[0015]

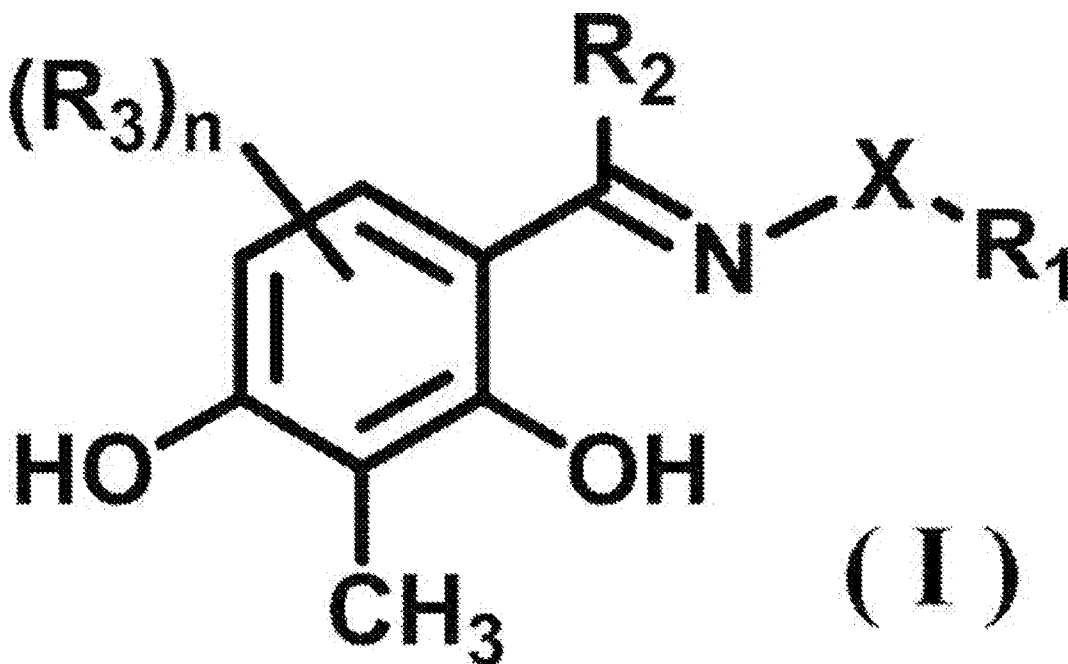
[化4]



[0016] 示される化合物またはその塩。

[14] 下記、式 (I) で示される化合物またはその塩を含む、角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の増殖促進剤。

[0017] [化5]



[0018] {式中、Xは、 $-\text{NHCO}-$ であり、 R_1 は、 $-\text{Y}-\text{NH}-\text{Z}-\text{Ar}$ であり (式中、Y、およびZは、各々独立して、単結合、または置換基を有していて

もよい炭素数1～6のアルキレン基であり、 A_r は、置換基を有していてもよいアリール基である。)、 R_2 は、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキル基であり、 R_3 は、水酸基であり、 n は、0、1または2である。

}

[15] R_2 が、炭素数1～4のアルキル基であり、

n が、0であり、

A_r が、水酸基または C_{1-4} アルキル基を有していてもよい、フェニル基またはナフチル基であり、

Y が、単結合であり、および

Z が、炭素数1～4のアルキレン基である、

[14] 記載の角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の増殖促進剤。

[16] R_2 が、炭素数1～4のアルキル基であり、

n が、0であり、

A_r が、ハロゲン原子、 C_{1-4} アルキル基、水酸基または C_{1-4} アルコキシ基を有していてもよい、フェニル基またはナフチル基であり、

Y が、炭素数1～4のアルキル基で置換された炭素数1～4のアルキレン基であり、および

Z が、単結合である、

[14] 記載の角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の増殖促進剤。

[17] R_2 が、メチル基、エチル基、またはイソブチル基であり、

n が0であり、

A_r が、水酸基またはメチル基を有していてもよいフェニル基であり、および

Y が、メチル基またはエチル基を有していてもよいメチレン基である、

[14] 記載の角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の増殖促進剤。

[18] R_2 が、メチル基、エチル基、またはイソブチル基であり、

n が0であり、

A_r が、水酸基またはハロゲン原子を有していてもよいフェニル基であり、

および

Yが、メチル基またはエチル基を有していてもよいメチレン基である、

[14] 記載の角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の増殖促進剤。

[19] R₂が、メチル基、エチル基、またはイソブチル基であり、

nが0であり、

A rが、水酸基またはメチル基を有していてもよいフェニル基であり、および

び

Yが、単結合である、[14] 記載の角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の増殖促進剤。

[20] Zが、単結合である、[17] 記載の角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の増殖促進剤。

[21] Zが、メチル基またはエチル基を有していてもよいメチレン基である、[18] または [19] に記載の角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の増殖促進剤。

発明の効果

[0019] 本発明によれば、角膜上皮細胞および角膜内皮細胞の増殖を効率的に促進することができる。従って、本発明によれば、角膜上皮細胞および角膜内皮細胞の欠損を伴う疾患や外傷を治療することができる。更に、移植用の角膜上皮細胞および角膜内皮細胞を生体外にて効率的に製造することができる。

発明を実施するための形態

[0020] 本明細書において使用する用語を以下に定義する。

[0021] 本明細書において、n-はノルマル、i-はイソ、sec-はセカンダリーおよびtert-はターシャリーを各々意味する。また、本明細書において、o-はオルト、m-はメタおよびp-はパラを各々意味する。

[0022] 「ハロゲン原子」とは、フッ素原子、塩素原子、臭素原子またはヨウ素原子である。「ハロゲノ基」とは、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードである。

[0023] 「炭素数1～6のアルキル基」とは、炭素数1～6の直鎖または分岐状の

アルキル基を意味し、具体的には、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、*tert*-ペンチル、ネオペンチル、2-ペンチル、3-ペンチル、*n*-ヘキシル、2-ヘキシル等のC₁₋₆アルキル基が挙げられる。かかるアルキル基としては、炭素数1~4の低級アルキル基(C₁₋₄アルキル基)が好ましく、メチル基およびエチル基が特に好ましい。

[0024] 「環状アルキル」とは、特に限定がない場合には、好ましくは、炭素数3~8のシクロアルキル(C₃₋₈シクロアルキル)基を意味し、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル等が挙げられる。また、「環中にヘテロ原子を含んでもよい」との記載がある場合には、環構成原子として1個以上のヘテロ原子を含んでいてもよい、3~8員の飽和ヘテロシクリル基も包含する。3~8員の飽和ヘテロシクリル基としては、例えば、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラニル、アジリジニル、アゼチジニル、ピロリジニル、ピペリジニル、モルホリニル等が挙げられる。

[0025] 「アリール基」とは、少なくとも1つの環が芳香族基であり、各環が5~8の環原子を有する単環式、二環式、三環式および四環式炭素環式基が挙げられ、具体的には、フェニル、インデニル、ナフチル、フルオレニル等が挙げられる。アリール基としては、好ましくは、フェニル、インデニル、ナフチル等のC₆₋₁₀アリール基であり、より好ましくは、フェニルまたはナフチルであり、特に好ましくは、フェニルである。

[0026] 「炭素数1~6のアルキレン基」とは、炭素数1~6の直鎖の炭素鎖を意味し、具体的には、メチレン、エチレン、プロピレン、ブチレン、ペンチレン、ヘキシレン等の基が挙げられる。かかるアルキレン基としては、好ましくは、炭素数1~4のアルキレン基であり、より好ましくは、メチレンである。

[0027] 「ヘテロアリール基」とは、少なくとも1つの環原子がヘテロ原子であり、残りの環原子が炭素である、単環式、二環式または多環式芳香族複素環基

を意味する。単環式ヘテロアリアル基としては、限定されないが、少なくとも1つの環原子がヘテロ原子であり、残りの環原子が炭素である、5員または6員の芳香族複素環基が挙げられる。かかるヘテロアリアル基としては、具体的には、例えば、フリル、チオフェニル、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、ピリジル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル等の単環式芳香族複素環基；インドリル、イソインドリル、インダゾリル、ベンゾフリル、ベンゾチオフェニル、ベンズイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンズイソチアゾリル、キノリル、イソキノリル、シンノリニル、フタラジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、プテリジニル、イミダゾオキサゾリル、イミダゾチアゾリル、イミダゾイミダゾリル、ベンゾオキサジアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、ベンズオキサジニル、ベンズイソオキサゾリル、ベンゾチアジニル、フロ[2, 3-b]ピリジル、チエノ[2, 3-b]ピリジル、ナフチリジニル、イミダゾピリジル、オキサゾロピリジル、チアゾロピリジル、プリニル、カルバゾリル、ジベンゾチオフェニル等の二環式または多環式芳香族複素環基が挙げられる。

[0028] 「置換基を有していてもよい」とは、無置換、または置換可能な位置に1個または2個以上の置換基を有することを意味し、2個以上の置換基を有する場合の各置換基は同一であっても異なってもよい。

[0029] 「炭素数1～6のアルキル基」、「アリアル基」および「炭素数1～6のアルキレン基」は、それぞれ置換基を有していてもよく、そのような置換基としては、例えば、以下の基が挙げられる。尚、「炭素数1～6のアルキル基」に対する置換基としては、下記(1)～(40)が挙げられ、「アリアル基」および「炭素数1～6のアルキレン基」に対する置換基としては、下記(1)～(41)が挙げられる。

(1)ハロゲン基、

(2)水酸基、

- (3)シアノ基、
- (4)ニトロ基、
- (5)カルボキシル基、
- (6)アルケニル基 (C_{2-10} アルケニル基；例、ビニル、アリル、プロペニル、ブテニル、ペンテニル、ヘキセニル、ヘプテニル、ブタジエニル、ヘキサトリエニル、およびその各異性体)、
- (7)アルキニル基 (C_{2-10} アルキニル基；例、エチニル、プロピニル、ブチニル、ペンチニル、ヘキシニル、および、その各異性体)、
- (8)ハロゲノアルキル基 (例、モノフルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、モノフルオロエチル、ジフルオロエチル、トリフルオロエチル、クロロメチル、クロロエチル、ジクロロエチル、およびその各異性体)、
- (9)環状アルキル基 (環中にヘテロ原子を含んでもよい) (C_{3-8} シクロアルキル基；例、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル等、3～8員の飽和ヘテロシクリル基；例、テトラヒドロフランニル、テトラヒドロピラニル、アジリジニル、アゼチジニル、ピロリジニル、ピペリジニル、モルホリニル等)、
- (10)アリール基 (C_{6-10} アリール基；例、フェニル、ナフチル)、
- (11)ヘテロアリール基 (5または6員の単環式ヘテロアリール基；例、ピリジル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、フリル、チオフェニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、トリアゾリル (例、1, 2, 3-トリアゾリル、1, 2, 4-トリアゾリル)、テトラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサジアゾリル (例、1, 2, 3-オキサジアゾリル、1, 2, 4-オキサジアゾリル、1, 3, 4-オキサジアゾリル)、チアジアゾリル (例、1, 2, 3-チアジアゾリル、1, 2, 4-チアジアゾリル、1, 3, 4-チアジアゾリル) 等、二環式ヘテロアリール基；ベンゾフリル、ベンゾチオフェニル、インドリル、イソインドリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンズイミダゾリル

ル、インダゾリル、ベンズイソオキサゾリル、ベンズイソチアゾリル、ベンゾオキサジアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、プリニル、キノリル、イソキノリル、シンノリニル、フタラジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、プテリジニル、イミダゾオキサゾリル、イミダゾチアゾリル、イミダゾイミダゾリル等)、

(12)アルコキシ基 (C_{1-6} アルコキシ基; 例、メトキシ、エトキシ、*n*-プロポキシ、イソプロポキシ、*n*-ブトキシ、イソブトキシ、*sec*-ブトキシ、*tert*-ブトキシ、*n*-ペンチルオキシ、イソペンチルオキシ、*tert*-ペンチルオキシ、ネオペンチルオキシ、2-ペンチルオキシ、3-ペンチルオキシ、*n*-ヘキシルオキシ、2-ヘキシルオキシ)、

(13)アルキルチオ基 (C_{1-6} アルキルチオ基; 例、メチルチオ、エチルチオ、*n*-プロピルチオ、イソプロピルチオ、*n*-ブチルチオ、イソブチルチオ、*sec*-ブチルチオ、*tert*-ブチルチオ、*n*-ペンチルチオ、イソペンチルチオ、*tert*-ペンチルチオ、ネオペンチルチオ、2-ペンチルチオ、3-ペンチルチオ、*n*-ヘキシルチオ、2-ヘキシルチオ)、

(14)アリール基 (上記(10)と同義) で置換された、アルコキシ基 (上記(12)と同義)、

(15)アリール基 (上記(10)と同義) で置換された、アルキルチオ基 (上記(13)と同義)、

(16)ヘテロアリール基 (上記(11)と同義) で置換された、アルコキシ基 (上記(12)と同義)、

(17)ヘテロアリール基 (上記(11)と同義) で置換された、アルキルチオ基 (上記(13)と同義)、

(18)環状アルキル (環中にヘテロ原子を含んでもよい) オキシ基 (C_{3-8} シクロアルキル基; 例、シクロプロピルオキシ、シクロブチルオキシ、シクロペンチルオキシ、シクロヘキシルオキシ等、3~8員の飽和ヘテロシクリル基; 例、テトラヒドロフランオキシ、テトラヒドロピラニルオキシ、アジリジニルオキシ、アゼチジニルオキシ、ピロリジニルオキシ、ピペリジニルオ

キシ、モルホリニルオキシ等)、

(19)アリールオキシ基(例、アリール基(上記(10)と同義)が酸素原子に結合した基)、

(20)ヘテロアリールオキシ基(例、ヘテロアリール基(上記(11)と同義)が酸素原子に結合した基)、

(21)ハロゲノアルコキシ基(例、ハロゲノアルキル基(上記(8)と同義)が酸素原子に結合した基)、

(22)ハロゲノアルキルチオ基(例、ハロゲノアルキル基(上記(8)と同義)が硫黄原子に結合した基)、

(23)水酸基で置換された、アルコキシ基(上記(12)と同義)、

(24)アルコキシ基(上記(12)と同義)で置換された、アルコキシ基(上記(12)と同義)、

(25)アミノ基、

(26)アルキル基でモノまたはジ置換されたアミノ基、

ここで、「アルキル基」とは、 C_{1-6} アルキル基が挙げられ、具体的には、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、*tert*-ペンチル、ネオペンチル、2-ペンチル、3-ペンチル、*n*-ヘキシル、2-ヘキシル等が挙げられる。

(27)カルバモイル基、

(28)アルキル基(上記(26)における「アルキル基」と同義)でモノまたはジ置換されたカルバモイル基(例、メチルカルバモイル、エチルカルバモイル、ジメチルカルバモイル、ジエチルカルバモイル、エチルメチルカルバモイル等)、

(29)スルファモイル基、

(30)アルキル基(上記(26)における「アルキル基」と同義)でモノまたはジ置換されたスルファモイル基(例、メチルスルファモイル、エチルスルファモイル、ジメチルスルファモイル、ジエチルスルファモイル、エチルメチル

スルファモイル等)、

(31)アルカノイル基(例、水素原子またはアルキル基(上記(26)における「アルキル基」と同義)がカルボニル基に結合した基)、

(32)アロイル基(例、アリール基(上記(10)と同義)がカルボニル基に結合した基)、

(33)アルキルスルホニルアミノ基(例、アルキル基(上記(26)における「アルキル基」と同義)で置換されたスルホニルアミノ基)、

(34)アリールスルホニルアミノ基(例、アリール基(上記(10)と同義)で置換されたスルホニルアミノ基)、

(35)ヘテロアリールスルホニルアミノ基(例、ヘテロアリール基(上記(11)と同義)で置換されたスルホニルアミノ基)、

(36)アシルアミノ基(例、アシル基で置換されたアミノ基)、

ここで、「アシル基」とは、例えば、水素原子または C_{1-6} アルキル基がカルボニル基に結合した基(C_{1-7} アルカノイル基)、 C_{6-10} アリール基がカルボニル基に結合した基(C_{7-11} アロイル基)等である。ここで、「 C_{1-6} アルキル基」とは、上記「アルキル基」のうち、炭素数が1~6のものであり、「 C_{6-10} アリール基」とは、上記「アリール基」のうち、炭素数が6~10のものである。アシル基としては、具体的には、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ブチロイル基、イソブチロイル基、バレロイル基、イソバレロイル基、ピバロイル基、ヘキサノイル基、アクリロイル基、メタククリロイル基、クロトノイル基、イソクロトノイル基、ベンゾイル基、ナフトイル基等が挙げられる、

(37)アルコキシカルボニルアミノ基(例、アルコキシ基(上記(12)と同義)で置換されたカルボニルアミノ基)、

(38)アルキルスルホニル基(例、アルキル基(上記(26)における「アルキル基」と同義)で置換されたスルホニル基)、

(39)アルキルスルフィニル基(例、アルキル基(上記(26)における「アルキル基」と同義)で置換されたスルフィニル基)、

(40)アルコキシカルボニル基（例、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基）、

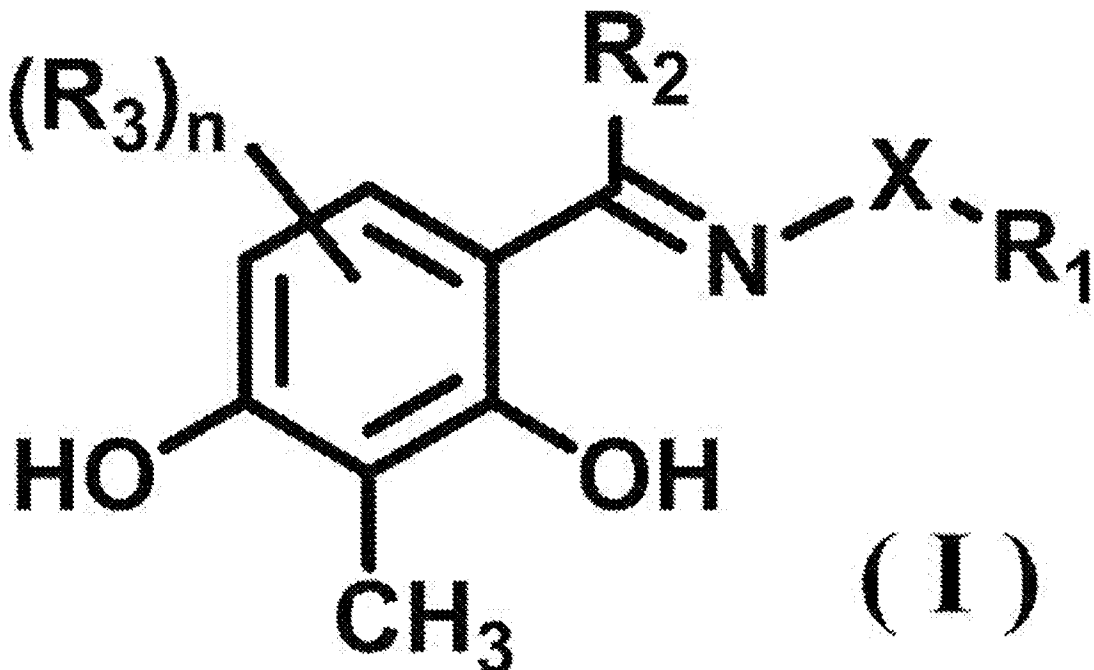
(41)アルキル基（ C_{1-6} アルキル基；例、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、*tert*-ペンチル、ネオペンチル、2-ペンチル、3-ペンチル、*n*-ヘキシル、2-ヘキシル等）等が挙げられる。

。

[0030] 置換基が2以上存在する場合は、それらは同一でも異なってもよい。

[0031] 本発明において用いられる特定化合物は、下記式（I）に示される。

[0032] [化6]



[0033] {式中、Xは、 $-NHCO-$ であり、 R_1 は、 $-Y-NH-Z-Ar$ であり（式中、Y、およびZは、各々独立して、単結合、または置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキレン基であり、Arは、置換基を有していてもよいアリール基である。）、 R_2 は、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキル基であり、 R_3 は、水酸基であり、nは、0、1または2である。}で表される化合物、またはその塩である（以下、式（I）で示される化合物またはその塩を総称して、単に「本発明に用いられる特定化合物」、「本

発明を形成する化合物」等と称する場合がある)。

[0034] 式(1)で示される化合物は、塩の形態であってもよい。前記式(1)で表される化合物の塩としては、例えば、塩酸、臭化水素酸等の無機酸との塩、および酢酸、プロピオン酸、酒石酸、フマル酸、マレイン酸、リンゴ酸、シュウ酸、コハク酸、クエン酸、安息香酸等の有機酸との塩等が挙げられる。これらの塩は、公知の方法によって製造される。

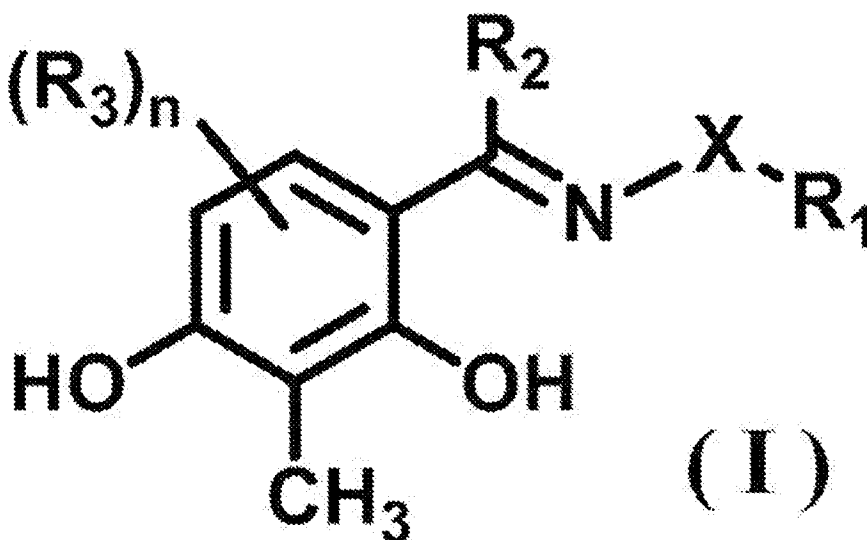
[0035] 式(1)で示される化合物は、置換基の種類によっては、Eの立体配置を有するE体、およびZの立体配置を有するZ体の幾何異性体が存在する場合がある。本発明は、これらE体、Z体、またはE体およびZ体を任意の割合で含む混合物を包含するものである。

[0036] また、式(1)で示される化合物は、1個または2個以上の不斉炭素原子の存在に起因する光学活性体が存在する場合があるが、式(1)で示される化合物は全ての光学活性体またはラセミ体を包含する。

[0037] [1.角膜疾患の治療剤]

本発明は、下記、式(1)で示される化合物またはその塩を含む、角膜の疾患および外傷の治療剤(以下、「角膜疾患の治療剤」或いは「本発明の治療剤」等と称することがある)を提供する。

[0038] [化7]



[0039] {式中、Xは、 $-NHCO-$ であり、 R_1 は、 $-Y-NH-Z-Ar$ であり(

式中、Y、およびZは、各々独立して、単結合、または置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキレン基であり、Arは、置換基を有していてもよいアリール基である。)、R₂は、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキル基であり、R₃は、水酸基であり、nは、0、1または2である}。

[0040] 一態様において、Yが、単結合である場合は、Zは、置換基を有していてもよいアルキレン基（より好ましくは、置換基を有していないアルキレン基、特に好ましくは、メチレン基）であり、Arは置換基（より好ましくは、ハロゲン原子、メチル基、水酸基、またはメトキシ基）を有していてもよいアリール基（より好ましくは、水酸基を有するアリール基または置換基を有していないアリール基、特に好ましくはフェニル基または水酸基を有するフェニル基）であり、R₂は、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキル基（より好ましくは、置換基を有していない炭素数1～6のアルキル基、特に好ましくは、エチル基）であり、nは、0、1または2であり、好ましくは、nは0である。

[0041] また、Yが、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキレン基（より好ましくは、置換基を有している炭素数1～6のアルキレン基、特に好ましくは、メチル基またはエチル基で置換されたメチレン基）である場合は、Zは、単結合であり、Arは、置換基を有していてもよいアリール基（より好ましくは、置換基を有しているアリール基、特に好ましくは、ハロゲノ基、メチル基、水酸基もしくはエトキシ基を有する、フェニル基またはナフチル基）であり、R₂は、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキル基（より好ましくは、置換基を有していない炭素数1～6のアルキル基、特に好ましくは、メチル基、エチル基、またはイソプロピル基）であり、nは、0、1または2であり、好ましくは、nは0である。

[0042] 式(1)で示される化合物の具体的な好ましい態様としては、例えば、以下の化合物が挙げられる。

[0043] [化合物(1-1)]

前記式 (1) 中の

Xが、 $-NHCO-$ であり、

R_1 が、 $-Y-NH-Z-Ar$ (式中、Yが、単結合であり、Zが、炭素数1~6のアルキレン基 (C_{1-6} アルキレン基) であり、Arは、ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、水酸基または C_{1-6} アルコキシ基を有していてもよい C_{6-10} アリール基である。) であり、

R_2 が、炭素数1~6のアルキル基 (C_{1-6} アルキル基) であり、

R_3 が、水酸基であり、且つ

nが、0、1または2である、式 (1) で示される化合物。

[0044] [化合物 (1-2)]

前記式 (1) 中の

Xが、 $-NHCO-$ であり、

R_1 が、 $-Y-NH-Z-Ar$ (式中、Yが、単結合であり、Zが、炭素数1~4のアルキレン基 (C_{1-4} アルキレン基) であり、Arは、水酸基または C_{1-4} アルキル基を有していてもよい、フェニル基またはナフチル基である。) であり、

R_2 が、炭素数1~4のアルキル基 (C_{1-4} アルキル基; 例、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル) であり、且つ

nが、0である、式 (1) で示される化合物。

[0045] [化合物 (1-3)]

前記式 (1) 中の

Xが、 $-NHCO-$ であり、

R_1 が、 $-Y-NH-Z-Ar$ (式中、Yが、単結合であり、Zが、メチレンであり、Arは、水酸基またはメチル基を有していてもよいフェニル基である。) であり、

R_2 が、メチル、エチルまたはイソブチル (好ましくは、エチル) であり、且つ

n が、0である、式(1)で示される化合物。

[0046] [化合物(1-4)]

前記式(1)中の

X が、 $-NHCO-$ であり、

R_1 が、 $-Y-NH-Z-A_r$ (式中、 Y が、炭素数1~6のアルキル基(C_{1-6} アルキル基)で置換された炭素数1~6のアルキレン基(C_{1-6} アルキレン基)であり、 Z が、単結合であり、 A_r は、ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、水酸基または C_{1-6} アルコキシ基を有していてもよい C_{6-10} アリール基である。)であり、

R_2 が、炭素数1~6のアルキル基(C_{1-6} アルキル基)であり、

R_3 が、水酸基であり、且つ

n が、0、1または2である、式(1)で示される化合物。

[0047] [化合物(1-5)]

前記式(1)中の

X が、 $-NHCO-$ であり、

R_1 が、 $-Y-NH-Z-A_r$ (式中、 Y が、炭素数1~4のアルキル基(C_{1-4} アルキル基)で置換された炭素数1~4のアルキレン基(C_{1-4} アルキレン基)であり、 Z が、単結合であり、 A_r は、ハロゲン原子、 C_{1-4} アルキル基、水酸基または C_{1-4} アルコキシ基を有していてもよい、フェニル基またはナフチル基である。)であり、

R_2 が、炭素数1~4のアルキル基(C_{1-4} アルキル基)であり、且つ

n が、0である、式(1)で示される化合物。

[0048] [化合物(1-6)]

前記式(1)中の

X が、 $-NHCO-$ であり、

R_1 が、 $-Y-NH-Z-A_r$ (式中、 Y が、メチル基またはエチル基で置換されたメチレン基であり、 Z が、単結合であり、 A_r は、ハロゲン原子、メチル基、エチル基、水酸基、メトキシ基またはエトキシ基を有していてもよ

いフェニル基（好ましくは、水酸基またはメチル基を有していてもよいフェニル基）である。）であり、

R_2 が、メチル基、エチル基またはイソブチル基であり、且つ

n が、0である、式（1）で示される化合物。

[0049] [化合物（1-7）]

前記式（1）中の

X が、 $-NHCO-$ であり、

R_1 が、 $-Y-NH-Z-A_r$ （式中、 Y が、メチル基またはエチル基で置換されたメチレン基であり、 Z が、単結合であり、 A_r は、ハロゲン原子（好ましくは、フッ素原子、臭素原子）または水酸基を有していてもよいフェニル基である。）であり、

R_2 が、メチル基、エチル基またはイソブチル基であり、且つ

n が、0である、式（1）で示される化合物。

[0050] 式（1）で示される化合物の特に好ましい具体例としては、後述する第1表に記載の化合物が挙げられる。

[0051] 本発明の治療剤の適用対象は、角膜疾患を罹患する可能性のある動物であれば特に限定されないが、本発明の治療剤の適用対象は通常哺乳動物であり、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、マウス、ラット等が例示される。好ましくは、本発明の治療剤の適用対象は、ヒトである。

[0052] 本発明の治療剤は、提供時または保存時に任意の形状であり得る。本発明の治療剤は、固形状、液体状、およびゲル状等の形状であり得る。本発明の治療剤は、通常、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、丸剤、シロップ剤等の経口投与剤、点眼剤、眼軟膏剤、経皮吸収剤または眼科用注射剤として投与できる。これらの中では、低侵襲で簡便に眼局所に投与することができることから、点眼剤、眼軟膏剤、眼科用注射剤が好ましく、点眼剤が最も好ましい。本発明の治療剤は、単独で、または他の治療薬との混合物として投与できる。それらは、式（1）で示される化合物単体で投与してもよいが、一般的には医薬組成物の形態で投与する。それらの製剤は、薬理的、製剤学的に

許容しうる添加物を加え、常法により製造することができる。すなわち、経口剤には通常の賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、湿潤剤、可塑剤、コーティング剤等の添加物を使用することができる。経口用液剤は、水性または油性懸濁液、溶液、乳濁液、シロップ、エリキシル等の形態であってもよく、または使用前に水またはほかの適当な溶媒で調製するドライシロップとして供されてもよい。前記液剤は、懸濁化剤、香料、希釈剤または乳化剤のような通常の添加剤を含むことができる。眼科用注射剤は、水性剤形または用時溶解型剤形を形成するために、注射用蒸留水、生理食塩水、5%ブドウ糖溶液、プロピレングリコール等の溶解剤若しくは溶解補助剤、pH調節剤、等張化剤、安定化剤等の製剤成分が使用される。

[0053] 眼軟膏剤は、白色ワセリン、流動パラフィン等の汎用的な基材を調製することができる。点眼剤は、塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセリン、プロピレングリコール等の等張化剤、リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、炭酸ナトリウム等の緩衝化剤、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ステアリン酸ポリオキシシル40、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール、ポリオキシエチレンヒマシ油、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等の界面活性剤、エデト酸二ナトリウム、クエン酸ナトリウム等の安定化剤、ベンザルコニウム塩化物、ソルビン酸、パラオキシ安息香酸メチル等の防腐剤、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン等の粘稠化剤、アスコルビン酸、トコフェノール等の抗酸化剤等を必要に応じて用いて調製することができる。pHは、眼科製剤に許容される範囲内であればよいが、4～8の範囲が好ましい。pHを調節する際には、塩酸、リン酸、クエン酸、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム等を用いることができる。以下に、本発明の治療剤の製剤例を例示するが、これらに限定されるものではない。

[0054] 製剤例 1

以下の成分を含有する眼軟膏剤（100g中）を製造する。

成分

式(1)で示される化合物	300mg
流動パラフィン	10g
白色ワセリン	適量

[0055] 製剤例2

以下の成分を含有する点眼剤(100mL中)を製造する。

成分

式(1)で示される化合物	500mg
水酸化ナトリウム	900mg
滅菌精製水	適量

[0056] 製剤例3

以下の成分を含有する点眼剤(100mL中)を製造する。

成分

式(1)で示される化合物	500mg
ポリオキシル35ヒマシ油	90mg
塩酸	適量
水酸化ナトリウム	適量
滅菌精製水	適量

[0057] 製剤例4

以下の成分を含有する錠剤を製造する。

成分

式(1)で示される化合物	10mg
乳糖	90mg
微結晶セルロース	30mg
ステアリン酸マグネシウム	5mg
CMC-Na	15mg
計	150mg

[0058] 製剤例5

以下の成分を含有する注射用製剤を製造する。

式 (1) で示される化合物 100mg

飽和脂肪酸グリセリド 1000mL

[0059] 本発明の治療剤に含有される特定化合物またはその塩の含有量は、特に制限されないが、点眼剤の場合、下限は0.001% (w/v) が好ましく、0.01% (w/v) がより好ましく、0.1% (w/v) がさらに好ましく、0.5% (w/v) が最も好ましい。上限は、5% (w/v) が好ましく、3% (w/v) がより好ましく、2% (w/v) がさらに好ましく、1% (w/v) が最も好ましい。

[0060] 本発明の治療剤をヒトに投与する場合、特定化合物またはその塩の投与量は、特に制限されないが、患者の年齢、性別、状態に応じて適宜選択できる。例えば、眼局所投与の場合は、投与量は1日あたり0.00001~100mg、好ましくは0.001~10mg、より好ましくは0.01~1mg、最も好ましくは0.1~0.5mgである。投与は、単回投与または複数回投与であり得る。例えば、本発明の治療剤が点眼剤の場合は、1回量1~5滴、より好ましくは1~2滴、最も好ましくは1滴を、1日1~3回、より好ましくは1日1~2回、最も好ましくは1日1回投与することができる。ここで1滴は、通常0.01~0.1mLである。これらの数値はあくまでも例示であり、投与量は患者の症状にあわせて決定されるものである。

[0061] 加溶媒分解によりまたは生理的条件下のインビボにおいて本発明の薬理的に活性な化合物を生成する、化学的または代謝的に分解できる基を有する本発明に用いられる特定化合物の誘導体を、プロドラッグとして利用し得る。適当なプロドラッグを選択する方法および製造する方法は、例えば、Design of Prodrugs (Elsevier, Amsterdam 1985) に記載されている。本発明において、水酸基を有する化合物である場合は、該化合物と適当なアシルハライドまたは適当な酸無水物とを反応させることによって得られるアシルオキシ誘導体がプロドラッグとして例示される。プロドラッグとして特に好ましいアシルオキシとしては、 $-OCOC_2H_5$ 、 $-OCO(t-Bu)$ 、 $-OCOC_{15}H_{31}$ 、 $-OCO(m-CO$

2Na-Ph ）、 $-\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Na}$ 、 $-\text{OCOCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_3$ 、 $-\text{OCOCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 等が挙げられる。本発明を形成する化合物がアミノ基を有する場合は、アミノ基を有する化合物と適当な酸ハロゲン化物または適当な混合酸無水物とを反応させることにより製造されるアミド誘導体がプロドラッグとして例示される。プロドラッグとして特に好ましいアミドとしては、 $-\text{NHCO}(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_3$ 、 $-\text{NHCOCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_3$ 等が挙げられる。

[0062] 本発明の治療剤が適用され得る角膜疾患としては、角膜上皮障害、点状表層角膜症、角膜びらん、角膜潰瘍、ドライアイ、角膜上皮剥離、無虹彩症、翼状片、強膜化角膜、角膜ジストロフィー、角膜炎、角膜上皮幹細胞疲弊症、薬傷、熱傷、スティーヴンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、糖尿病角膜症、水疱性角膜症、角膜内皮炎、フックス角膜内皮ジストロフィー、滴状角膜、虹彩角膜内皮症候群、角膜移植後の移植不全等が挙げられる。

[0063] 本発明の治療剤は、角膜細胞（角膜上皮細胞および／または角膜内皮細胞）の増殖を促進することを角膜疾患の治療の主な作用機序とする。従って、本発明の治療剤は、角膜細胞（角膜上皮細胞および／または角膜内皮細胞）の増殖促進剤（以下、「本発明の増殖促進剤」とも称する）とも言い換えることができる。なお、本発明の増殖促進剤は、本発明の治療剤の適用対象に適用してもよく、また、試験用または移植用の角膜細胞の培養培地に添加することもできる。

[0064] [2. 角膜疾患の治療方法]

本発明はまた、有効量の前記式（1）で示される化合物またはその塩を、それを必要とする対象に投与することを含む、角膜疾患の治療方法（以下、「本発明の治療方法」と称することがある）を提供する。

[0065] 本発明の治療方法における、式（1）で示される化合物、治療対象、投与量、投与経路、投与回数、適用し得る角膜疾患等は、[1. 角膜疾患の治療剤]に記載したものと同様である。

[0066] [3. 角膜細胞の増殖促進方法]

本発明はまた、前記、式（１）で示される化合物またはその塩を含む培地組成物（以下、「本発明の培地」等と称することがある）を用いることを特徴とする角膜上皮細胞および角膜内皮細胞の増殖促進方法を提供する。本発明の角膜細胞の増殖促進方法を用いることにより、角膜上皮細胞および角膜内皮細胞の増殖の促進および／または細胞凝集塊（スフェア）形成の促進を達成することができる。

[0067] 本発明の培地に有効成分として含まれる特定化合物の濃度は、本発明の所望の効果をえられる限り特に限定されないが、例えば、その濃度の下限値は、通常 $0.001\ \mu\text{M}$ 以上、好ましくは $0.01\ \mu\text{M}$ 以上、より好ましくは $0.1\ \mu\text{M}$ 以上、さらに好ましくは $1\ \mu\text{M}$ 以上、特に好ましくは $10\ \mu\text{M}$ 以上であり得る。また、その濃度の上限値は、通常 $100\ \mu\text{M}$ 以下、好ましくは $50\ \mu\text{M}$ 以下、特に好ましくは $10\ \mu\text{M}$ 以下であり得る。

[0068] 本発明の培地は、本発明に用いられる化合物または本発明の組成物が配合されている以外は、公知の培地の組成と同様とすることができる。

[0069] 一態様において、本発明の培地は、市販される培地に、本発明に用いられる特定化合物または特定化合物を含有する組成物（以下、「本発明の組成物」ともいう）を添加することにより調製することができる。当該組成物の成分としては、例えば、水、生理食塩水、ジメチルスルホキシド（DMSO）、グリセリン、プロピレングリコール、ブチレングリコール、およびメタノール、エタノール、ブタノール、プロパノール等の各種アルコール、等が含まれ得る。また、本発明の組成物は、必要に応じて滅菌処理を施してもよい。滅菌方法は特に制限はなく、例えば、放射線滅菌、エチレンオキシドガス滅菌、オートクレーブ滅菌、フィルター滅菌等が挙げられる。フィルター滅菌（以下、「ろ過滅菌」という場合もある）を行う際のフィルター部分の材質は、特に制限されないが、例えば、グラスファイバー、ナイロン、PES（ポリエーテルスルホン）、親水性PVDF（ポリフッ化ビニリデン）、セルロース混合エステル、セルロースアセテート、ポリテトラフルオロエチレン等が挙げられる。また、本発明の組成物は、提供時または保存時に任意

の形状であり得る。当該組成物は、錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤のような製剤化された固体、適切な溶媒および溶解剤で溶解した溶液または懸濁液のような液体、あるいは基板や担体に結合させた状態であり得る。

[0070] 本発明に用いられる特定化合物または本発明の組成物を添加することにより本発明の培地とし得る市販の培地としては、所望の効果を得られる限り特に限定されないが、例えば、ダルベッコ改変イーグル培地 (Dulbecco's Modified Eagle's Medium; DMEM)、ハム F12 培地 (Ham's Nutrient Mixture F12)、DMEM/F12 培地、マッコイ 5A 培地 (McCoy's 5A medium)、イーグル MEM (Eagle's Minimum Essential Medium; EMEM)、 α MEM (alpha Modified Eagle's Minimum Essential Medium; α MEM)、MEM (Minimum Essential Medium)、RPMI 1640 培地、イスコフ改変ダルベッコ培地 (Iscove's Modified Dulbecco's Medium; IMDM)、MCDB131 培地、ウィリアム培地 E、IPL41 培地、Fischer's 培地、StemPro34 (インビトロジェン社製)、X-VIVO 10 (ケンブレックス社製)、X-VIVO 15 (ケンブレックス社製)、HPGM (ケンブレックス社製)、Stemline11 (シグマアルドリッチ社製)、QBSF-60 (クオリティバイオリジカル社製)、StemPro hESC SFM (インビトロジェン社製)、CST1-7 培地 (細胞科学研究所社製)、MesenPRO RS 培地 (ギブコ社製)、MF-Medium (登録商標) 間葉系幹細胞増殖培地 (東洋紡株式会社製)、間葉系幹細胞用培地 (プロモセル社製)、Sf-90011 (インビトロジェン社製)、Opti-Pro (インビトロジェン社製)、角膜上皮細胞基礎培地 (ATCC (登録商標)、PCS-700-030 (登録商標))、Prigrow medium (Applied Biological Materials 社製)、イーグル基礎培地 (Basal Medium Eagle)、BGJb 培地

、CMRL 1066培地等の培地が挙げられる。また、これらの培地に、脱アシル化ジェランガム等の多糖類を添加して3次元細胞培養培地化した培地を用いることができる。このような3次元細胞培養培地としては、例えば、FCeM（登録商標）（日産化学株式会社製）が挙げられるが、これに限定されない。

[0071] また、上記の培地に、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、リン、塩素、各種アミノ酸、各種ビタミン、抗生物質、血清、脂肪酸、糖、細胞増殖因子、分化誘導因子、細胞接着因子、抗体、酵素、サイトカイン、ホルモン、レクチン、細胞外マトリックス、生理活性物質等を目的に応じて添加してもよい。具体的な例としては、塩基性線維芽細胞増殖因子、トランスフォーミング増殖因子- β 、上皮成長因子、インスリン様成長因子、Wnt蛋白質、インターフェロン類、インターロイキン類、血管内皮細胞増殖因子、アルブミン、インスリン、 β -メルカプトエタノール、Knockout Serum Replacement（KSR、サーモフィッシュサイエンティフィック社製）、Glutamax（サーモフィッシュサイエンティフィック社製）、ヒドロコルチゾン、エピネフリン、L-グルタミン、ピルビン酸、亜セレン酸等が挙げられるが、これに限定されない。

[0072] 本発明の培地における細胞の培養は、細胞培養に一般的に用いられるシャーレ、フラスコ、プラスチックバック、テフロン（登録商標）バック、ディッシュ、ペトリディッシュ、組織培養用ディッシュ、マルチディッシュ、マイクロプレート、マイクロウエルプレート、マルチプレート、マルチウエルプレート、チャンバースライド、チューブ、トレイ、培養バック、ローラーボトル等の培養容器を用いて実施することができる。これらの培養容器には、コラーゲン、ゼラチン、ラミニン、フィブロネクチン、ビトロネクチン、マトリゲル（登録商標）、ポリ-L-オルニチン/ラミニンまたはポリ-D-リジン等の細胞外マトリックスをコーティングすることができる。細胞凝集塊（スフェア）を形成させる際には、細胞が培養容器へ接着しないよう、これらの培養容器は細胞低接着性であることが望ましい。細胞低接着性の培養

容器としては、培養容器の表面が、細胞との接着性を向上させる目的で人工的に処理（例えば、細胞外マトリクス等によるコーティング処理）されていないもの、または培養容器の表面が、細胞との接着性を低減させる目的で人工的に処理されているものを使用できる。このような容器の例としては、スミロンセルタイトプレート（住友ベークライト株式会社製）、Prime Surface（登録商標）プレート（住友ベークライト株式会社製）、超低接着表面プレート（コーニング社製）、ヌンクロンスフェラプレート（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製）等が挙げられるが、これに限定されない。

[0073] 本発明の培地により、細胞増殖促進等が達成される細胞種としては、角膜上皮細胞および角膜内皮細胞が挙げられる。例えば、角膜内皮細胞は、角膜組織よりデスメ膜を剥離し、酵素学的処理にて内皮細胞を分離することにより得ることができる。これらの細胞は、ウイルスやゲノム編集等で遺伝子操作をなされたものであってもよい。また、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞等の多能性幹細胞から分化誘導して得られた角膜上皮細胞および角膜内皮細胞も好適に使用することができる。なお、これらの細胞の由来は、特に限定されないが、ラット、マウス、ウサギ、モルモット、リス、ハムスター、ハタネズミ、カモノハシ、イルカ、クジラ、イヌ、ネコ、ヤギ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ゾウ、コモンマーモセット、リスザル、アカゲザル、チンパンジー、ヒト等の哺乳動物由来の細胞が好ましい。

上述した通り、本発明の培地は角膜細胞（角膜上皮細胞および／または角膜内皮細胞）の増殖を促進することができるため、角膜細胞（角膜上皮細胞および／または角膜内皮細胞）増殖促進用培地組成物とも言い換えられる。

[0074] [4. 角膜細胞の製造方法]

本発明はまた、有効量の前記式（1）で示される化合物またはその塩を含む培地を用いることを特徴とした、角膜上皮細胞および角膜内皮細胞の製造方法（以下、「本発明の製造方法」と称することがある）を提供する。本発明の製造方法により得られた角膜上皮細胞および角膜内皮細胞は、角膜疾患

を治療する際の移植用細胞として好適に用いることができる。

[0075] 本発明の製造方法における、式(1)で示される化合物、その添加量、培養する細胞、得られた細胞を用いた移植治療の対象となる角膜疾患等は、[1. 角膜疾患の治療剤]および[3. 角膜細胞の増殖促進方法]に記載したものと同様である。

[0076] 本発明の製造方法における細胞培養条件(例えば、温度、二酸化炭素濃度、培養期間等)は、自体公知の方法を用いればよく、または、目的に応じて、適宜改変してもよい。例えば、細胞を培養する際の温度は、動物細胞であれば、通常25℃~39℃、好ましくは33℃~39℃(例、37℃)である。二酸化炭素濃度は、通常、培養の雰囲気中、4体積%~10体積%であり、4体積%~6体積%が好ましい。培養期間は、通常1乃至35日間であるが、培養の目的に合わせて適宜設定すればよい。

以下の実施例において、本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれらの例によってなんら限定されるものではない。

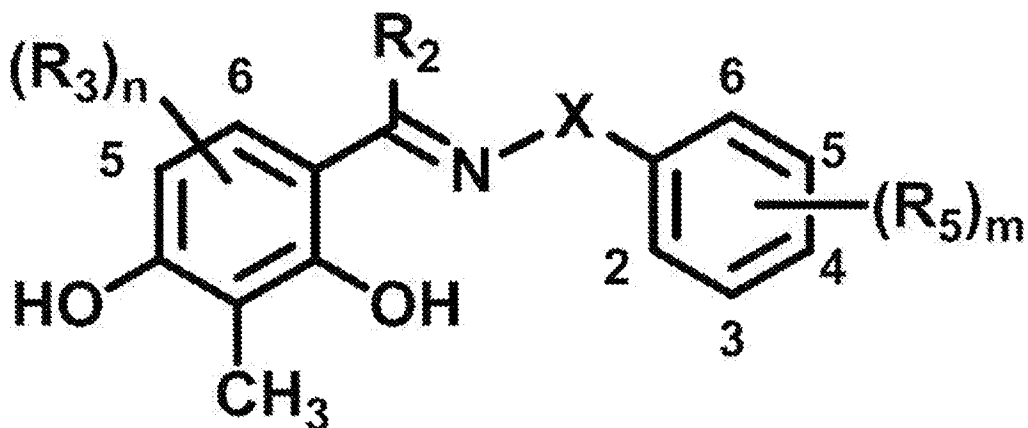
実施例

[0077] 式(1)に示される化合物は、国際公開第2019/022222号または国際公開第2019/235569号に記載された方法またはそれらに準じた方法により製造することができる。本発明の実施例において用いた化合物の例を第1表に示すが、本発明に用いることが可能な化合物は、これらに限定されるものではない。

表中、Meとの記載は、メチルを表し、以下同様に、Etとの記載は、エチルを表す。R₄における(R)は、R配置を意味し、(rac)は、ラセミ体を意味する。また、R₅は、アリール基の置換基であり、アリール基の置換基は、前記したものと同様である。なお、R₅における「-」との記載は、無置換を表す。構造式に記載された番号は、R₅の置換位置を表す。nは、0、1または2であり、mは、0、1、2、3、4または5である。R₅が複数存在する場合、R₅は、それぞれ同一であってもよく、または異なってもよい。

[0078] [第1表]

[0079] [化8]



[0080] [表1]

化合物番号	R ₂	n	X	R ₄	R ₅	m
k-1:B-1	Et	0	-NH-C(O)-CH(R ₄)-NH-	Me (rac)	—	0
k-1:J-1	Et	0	-NH-C(O)-NH-CH(R ₄)-	H	3-OH	1
k-1:D-1	Et	0	-NH-C(O)-CH(R ₄)-NH-	H	3-OH	1
k-1:H-1	Et	0	-NH-C(O)-CH(R ₄)-NH-	H	—	0
k-1:I-10	Et	0	-NH-C(O)-NH-CH(R ₄)-	Me (rac)	3-OH	1
GA-002A	Et	0	-NH-C(O)-CH(R ₄)-NH-	Me (R)	—	0
GA-005A	Et	0	-NH-C(O)-CH(R ₄)-NH-	Me (R)	3-OH	1
CE-001	Et	0	-NH-C(O)-NH-CH(R ₄)-	H	3-OH, 5-F	2
CE-002	Et	0	-NH-C(O)-NH-CH(R ₄)-	H	3-OH, 4-F	2
CE-003	Et	0	-NH-C(O)-NH-CH(R ₄)-	H	3-OH, 5-Br	2

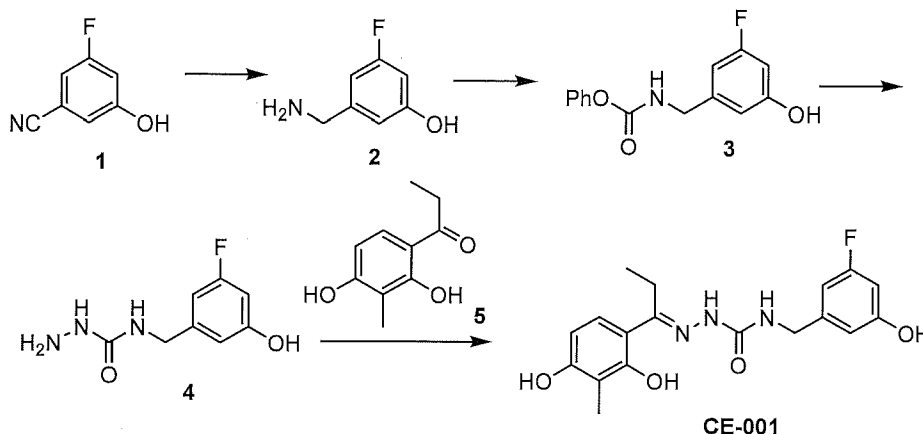
[0081] 上記第1表に記載された化合物のうち、k-1:B-1、k-1:J-1、k-1:D-1、k-1:H-1、k-1:I-10、GA-002AおよびGA-005Aは、国際公開第2019/022222号または国際公開第2019/235569号に記載されており、CE-001、CE-002およびCE-003は、新規化合物である。

[0082] 以下に、本発明の新規化合物の合成方法および構造式を示す。尚、¹H-NMRはプロトン核磁気共鳴スペクトラムを表し、270MHzにて、重ジメチルスルホキシド中で測定した。ケミカルシフト値は、テトラメチルシランの値を0.00ppmとして記載した。また、sとの記載はシングレットを

表し、以下同様に b r s はブロードシングレットを、d はダブルットを、d d はダブルダブルットを、t はトリプレットを、q はカルテットを、m はマルチプレットをそれぞれ表す。

[0083] [合成例1] CE-001の合成

[0084] [化9]



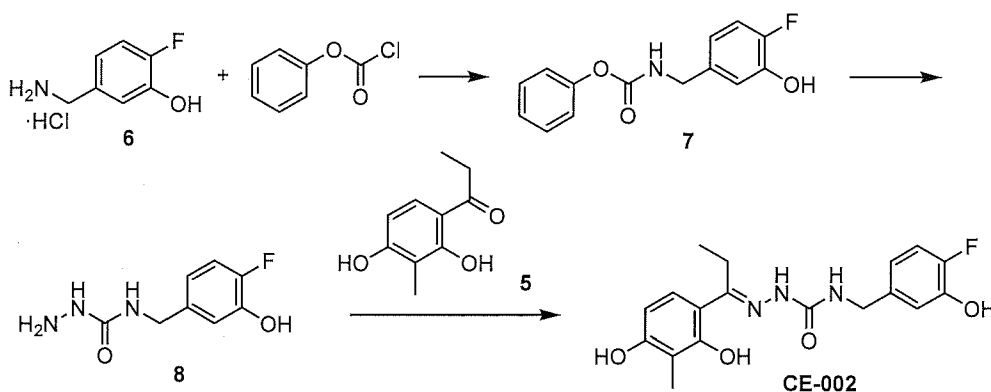
[0085] 水素化アルミニウムリチウム (554 mg、14.6 mmol) を氷冷下、THF (20 mL) に懸濁させ、3-フルオロ-5-ヒドロキシベンゾニトリル (1) (1.0 g、7.3 mmol) を加えて、室温で2時間、60℃で18時間攪拌した。放冷後、水素化アルミニウムリチウム (830 mg、21.9 mmol) を追加して、更に4時間攪拌した。氷冷中、蒸留水 (1.4 mL)、15%水酸化ナトリウム水溶液 (1.4 mL)、蒸留水 (4.2 mL) を順次加え、析出した固体をセライトろ過にてろ別した。ろ液を減圧濃縮することにより、化合物 (2) (726 mg、5.14 mmol、収率70%) を無色固体として得た。得られた化合物 (2) (726 mg、5.14 mmol) を塩化メチレン (6.5 mL)、蒸留水 (6.5 mL) に溶解させ、氷冷下、クロロギ酸フェニル (1.3 mL、10 mmol) をゆっくり滴下した。室温で3時間攪拌し、分液した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、ろ過、減圧下濃縮して得られた残渣を中圧シリカゲルカラムクロマトグラフィー (シリカゲル60 g、酢酸エチル/ヘキサン=0/100~50/50) にて精製し、化合物 (3) (442 mg、1.69 mmol、収率33%) を無色固体として得た。得られた化合物 (3) (0.4

4 g、1.7 mmol) をエタノール (3.4 mL) に溶解させ、ヒドラジン-水和物 (0.41 mL、8.5 mmol) を加えて、60°C で18時間攪拌した。反応溶液を減圧下濃縮、トルエン共沸して、化合物 (4) (273 mg、1.37 mmol、収率81%) を得た。得られた化合物 (4) (144 mg、0.723 mmol) および2',4'-ジヒドロキシ-3'-メチルプロピオフェノン (5) (100 mg、0.55 mmol) をDMF (1.1 mL) に溶解させ、100°C で3日攪拌した。放冷後、反応溶液をそのまま中圧シリカゲルカラムクロマトグラフィー (シリカゲル30 g、酢酸エチル/ヘキサン=50/50~100/0) にて精製し、得られた固体を水で懸濁洗浄することにより、CE-001 (99.6 mg、0.276 mmol、収率50%) を無色固体として得た。

¹H-NMR(270MHz); δ 13.41(s, 1H), 9.87(s, 1H), 9.61(s, 1H), 9.54(s, 1H), 7.17(d, J=8.1Hz, 1H), 6.84(t, J=8.1Hz, 1H), 6.60-6.40(m, 3H), 6.37(d, J=8.1Hz, 1H), 4.26(d, J=8.1Hz, 2H), 2.66(q, J=8.1Hz, 2H), 1.97(s, 3H), 1.08(t, J=8.1Hz, 3H).

[0086] [合成例2] CE-002の合成

[0087] [化10]



[0088] 5-アミノメチル-2-フルオロフェノール塩酸塩 (6) (0.50 g、2.1 mmol) を塩化メチレン (5.0 mL)、水 (5.0 mL) に懸濁させ、炭酸水素ナトリウム (1.16 g、14.0 mmol) を加えて氷冷下クロロギ酸フェニル (0.58 mL、5.0 mmol) をゆっくり滴下し

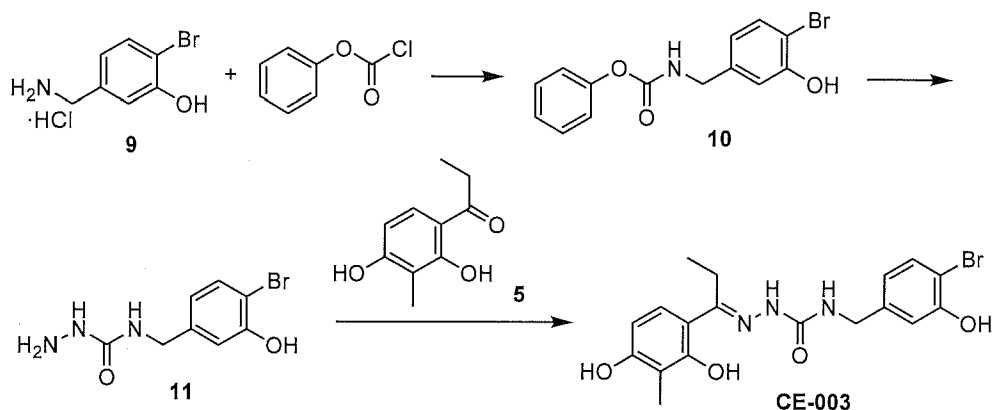
、室温で2.5時間攪拌した。酢酸エチル(30 mL)を加えて分液し、酢酸エチル(20 mL × 2)で抽出、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮することにより、化合物(7)(0.95 g)を無色固体として得た。得られた化合物(7)(0.95 g)をエタノール(4.0 mL)に懸濁させ、ヒドラジーン水和物(1.0 mL、21 mmol)を加えて60°Cで5時間攪拌した。反応溶液を減圧下濃縮し、得られた淡黄色固体を塩化メチレンで洗浄した後、中圧シリカゲルカラムクロマトグラフィー(シリカゲル30 g、メタノール/塩化メチレン=1/99~10/90)にて精製することにより、化合物(8)(0.41 g、2.0 mmol、2工程収率98%)を淡黄色固体として得た。得られた化合物(8)(144 mg、0.72 mmol)、2',4'-ジヒドロキシ-3'-メチルプロピオフェノン(5)(100 mg、0.55 mmol)をDMSO(1.0 mL)に溶解させ100°Cで1日攪拌した。放冷後、反応溶液をそのまま中圧シリカゲルカラムクロマトグラフィー(シリカゲル30 g、メタノール/塩化メチレン=1/99~5/95)にて精製し、得られた精製物に水を加えて析出した固体をろ取、塩化メチレンで懸濁洗浄することにより、CE-002(96.4 mg、0.267 mmol、収率48%)を無色固体として得た。

¹H-NMR(270MHz); δ 13.43(s, 1H), 9.82(brs, 1H), 9.59(s, 1H), 9.55(brs, 1H), 7.17(d, J=8.1Hz, 1H), 7.11-7.00(m, 1H), 6.91(d, J=10.8Hz, 1H), 6.79(t, J=8.1Hz, 1H), 6.75-6.70(m, 1H), 6.37(d, J=8.1Hz, 1H), 4.23(d, J=5.4Hz, 2H), 2.65(q, J=8.1Hz, 2H), 1.97(s, 3H), 1.07(t, J=8.1Hz, 3H)

[0089] [合成例3] CE-003の合成

[0090]

[化11]



[0091] 5-アミノメチル-2-ブロモフェノール塩酸塩 (9) (0.48 g、2.0 mmol) を塩化メチレン (5.0 mL)、水 (5.0 mL) に懸濁させ、炭酸水素ナトリウム (1.16 g、14.0 mmol) を加えて氷冷下クロロギ酸フェニル (0.56 mL、4.0 mmol) をゆっくり滴下し、室温で1日攪拌した。水 (5.0 mL)、酢酸エチル (10 mL) を加えて分液し、酢酸エチル (5 mL x 3) で抽出、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮することにより、化合物 (10) (1.0 g) を黄色液体として得た。得られた化合物 (10) (1.0 g) をエタノール (4.0 mL) に懸濁させ、ヒドラジーン水和物 (1.0 mL、21 mmol) を加えて、60°Cで5時間攪拌した。反応溶液を減圧濃縮し、得られた淡黄色固体を塩化メチレンで洗浄した後、中圧シリカゲルカラムクロマトグラフィー (シリカゲル30 g、メタノール/塩化メチレン=1/99~10/90) にて精製することにより、化合物 (11) (0.42 g、1.6 mmol、2工程収率80%) を淡黄色固体として得た。得られた化合物 (11) (188 mg、0.72 mmol)、2', 4'-ジヒドロキシ-3'-メチルプロピオフェノン (5) (100 mg、0.55 mmol) をDMSO (1.1 mL) に溶解させ、100°Cで4日攪拌した。放冷後、反応溶液をそのまま中圧シリカゲルカラムクロマトグラフィー (シリカゲル30 g、メタノール/塩化メチレン=1/99~5/95) にて精製し、得られた精製物に水を加えて析出した固体をろ取、塩化メチレンで懸濁洗浄することにより、CE-

0.03 (159 mg、0.377 mmol、収率68%) を無色固体として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (270MHz); δ 13.42(s, 1H), 10.20(brs, 1H), 9.62(s, 1H), 9.55(brs, 1H), 7.42(d, J=8.1Hz, 1H), 7.17(d, J=8.1Hz, 1H), 6.91(s, 1H), 6.83(t, J=8.1Hz, 1H), 6.79(d, J=8.1Hz, 1H), 6.37(d, J=8.1Hz, 1H), 4.24(d, J=5.4Hz, 2H), 2.65(q, J=8.1Hz, 2H), 1.97(s, 3H), 1.08(t, J=8.1Hz, 3H).

[0092] [実施例1] ヒト角膜上皮細胞を用いた細胞増殖試験

ヒト初代角膜上皮細胞は、{American Type Culture Collection (ATCC), #PCS-700-010}を、角膜上皮細胞系添加物キット(ATCC, #PCS-700-040)を添加した角膜上皮細胞系基礎培地(ATCC, #PCS-700-030)を用いて単層培養法にて前培養した。角膜上皮細胞を同培地に懸濁した後、終濃度10 μM となるように、DMSOに溶解した本発明に用いられる特定化合物をそれぞれ添加し、96ウェル平底プレート(コーニング社, #3585)およびイメージング解析用プレート(パーキンエルマー社, CellCarrier-96Ultra)に700 cells/64 μL /ウェル乃至1600 cells/64 μL /ウェルとなるように播種した。37°C、5% CO_2 インキュベーターにて4日間培養した。対照として、DMSOを終濃度0.1%となるよう添加した。培養後、ATP試薬(Promega社, CellTiter-Glo (登録商標) Luminescent Cell Viability Assay)を用いて生細胞数を計測した。平底プレートの培養液に対してATP試薬を64 μL /ウェル添加し懸濁させ、懸濁液100 μL /ウェルをアッセイ用白色プレート(コーニング社, #3912)へ移した。10分間室温で静置した後、プレートリーダー(パーキンエルマー社, EnSpire)を用いて発光量を測定した。また、イメージング解析用プレートで培養した細胞は、培地を4%パラホルムアルデヒド溶液へ交換し、室温で10分間静置することによって固定した。固定した細胞に対して、p63- α 抗体(Cell Signaling Technolog

y社、#4892)とAlexaFluor647修飾抗ウサギIgG抗体(ThermoFisherScientific社、#A-21244)を用いて、CellSignalingTechnology社の推奨プロトコルに従い、蛍光免疫染色を行った。さらに、 $10\mu\text{g}/\text{mL}$ のHoechst33342溶液で細胞核を染色した。染色した細胞はOperettaCLSの20倍対物レンズを用いて、1ウェルあたり9視野撮像した。

[0093] 測定した発光量について、対照群(DMSO)に対する相対値を算出したところ、下記の化合物を添加することで、発光量が1.5倍以上増加した。すなわち、下記の化合物の添加により細胞数が1.5倍以上に増加していた。また、イメージング解析の結果、k-1:B-1またはk-1:J-1を添加したときのすべての細胞がp63 α 陽性であった。このことから、本発明の組成物は、p63 α 陽性のヒト角膜上皮細胞の増殖促進効果を有していることが示された。

[0094] 細胞数が、1.5倍以上に増加した化合物：

k-1:B-1、k-1:J-1、k-1:D-1、GA-002A、GA-005A、CE-001、k-1:I-10、CE-002、CE-003

細胞数が、2倍以上に増加した化合物：

k-1:B-1、k-1:J-1、k-1:D-1、GA-005A、CE-001、k-1:I-10、CE-002

[0095] [実施例2] ウシ角膜内皮細胞を用いた細胞増殖試験

ウシ角膜内皮細胞株BCE C/D-1b(AmericanTypeCultureCollection(ATCC), #CRL-2048)を、10%ウシ血清(ATCC, #30-2030)を添加したDMEM(ATCC, #30-2002)を用いて前培養した。角膜内皮細胞を同培地に懸濁した後、単層培養法(2D)では、96ウェル平底プレート(コニング社, #3585)に $700\text{cells}/90\mu\text{L}/\text{ウェル}$ となるように播種した。三次元培養法(3D)では、96ウェルU底細胞低接着プレート

(コーニング社, #4520) に700 cells/90 μ L/ウェルとなるように播種した。引き続き、終濃度5 μ Mまたは10 μ Mとなるように、DMSOに溶解した本発明に用いられる特定化合物を10 μ L/ウェル添加し、37°C、5% CO₂インキュベーターにて4日間培養した。対照として、DMSOを終濃度0.1%となるよう添加した。培養後、ATP試薬 (Promega社, CellTiter-Glo (登録商標) Luminescent Cell Viability Assay) を用いて生細胞数を計測した。培養液に対してATP試薬を100 μ L/ウェル添加し懸濁させ、懸濁液100 μ L/ウェルをアッセイ用白色プレート (コーニング社, #3912) へ移した。10分間室温で静置した後、プレートリーダー (パーキンエルマー社, EnSpire) を用いて発光量を測定した。

[0096] 測定した発光量について、2Dおよび3Dそれぞれにおける対照群 (DMSO) に対する相対値を算出したところ、下記の化合物を添加することで、発光量が、2Dでは1.4倍以上、3Dでは2倍以上増加した。すなわち、下記の化合物の添加により細胞数が1.4倍以上に増加していた。このことから本発明の組成物は、角膜内皮細胞の増殖促進効果を有していることが示された。

[0097] 細胞数が、1.4倍以上に増加した化合物 (2D) :

5 μ M ; GA-005A、CE-001

10 μ M ; k-1 : B-1、k-1 : J-1、k-1 : H-1、k-1 : I-10

細胞数が、2倍以上に増加した化合物 (3D) :

10 μ M ; k-1 : B-1、k-1 : J-1、k-1 : D-1、GA-002A、GA-005A、CE-001、k-1 : I-10、k-1 : H-1

産業上の利用可能性

[0098] 本発明の角膜治療剤の投与により、角膜上皮細胞および角膜内皮細胞の減少に起因する疾患を治療することができる。従って、本発明の角膜治療剤は、各種角膜疾患の治療に好適に用いられ、医療分野において極めて有益であ

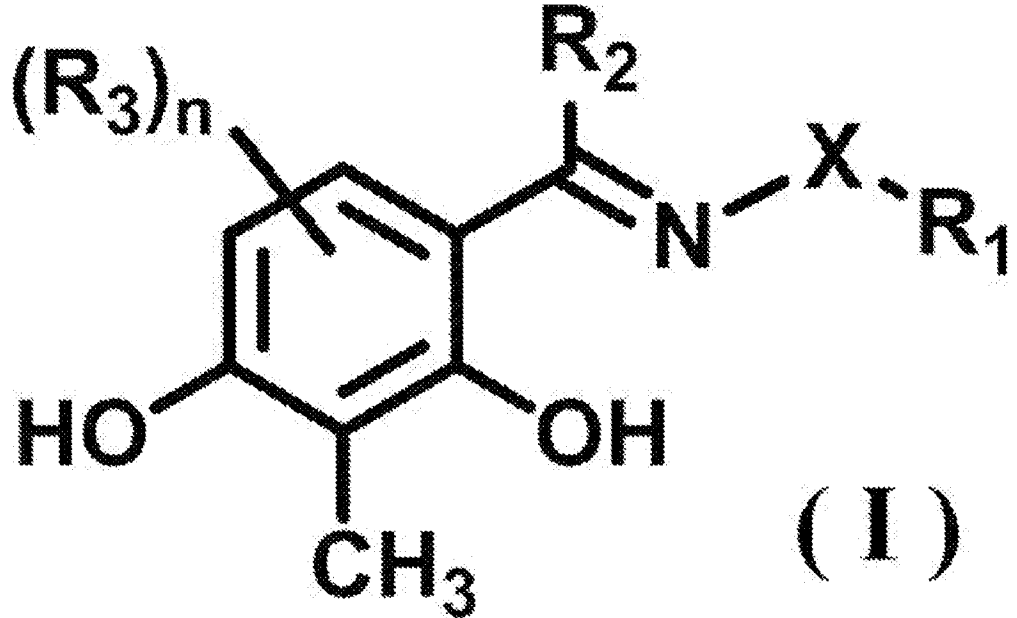
る。

[0099] 本出願は、日本国で2019年3月12日に出願された特願2019-044854を基礎としており、その内容は本明細書にすべて包含されるものである。

請求の範囲

[請求項1] 下記、式（I）で示される化合物またはその塩を含む、角膜疾患の治療剤。

[化1]



{式中、Xは、 $-NHCO-$ であり、 R_1 は、 $-Y-NH-Z-Ar$ であり（式中、Y、およびZは、各々独立して、単結合、または置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキレン基であり、 A_r は、置換基を有していてもよいアリール基である。）、 R_2 は、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキル基であり、 R_3 は、水酸基であり、nは、0、1または2である。}

[請求項2] R_2 が、炭素数1～4のアルキル基であり、
nが、0であり、
 A_r が、水酸基または C_{1-4} アルキル基を有していてもよい、フェニル基またはナフチル基であり、
Yが、単結合であり、および
Zが、炭素数1～4のアルキレン基である、
請求項1記載の角膜疾患の治療剤。

[請求項3] R_2 が、炭素数1～4のアルキル基であり、

nが、0であり、

A_rが、ハロゲン原子、C₁₋₄アルキル基、水酸基またはC₁₋₄アルコキシ基を有していてもよい、フェニル基またはナフチル基であり、

Yが、炭素数1～4のアルキル基で置換された炭素数1～4のアルキレン基であり、および

Zが、単結合である、

請求項1記載の角膜疾患の治療剤。

[請求項4]

R₂が、メチル基、エチル基、またはイソブチル基であり、

nが0であり、

A_rが、水酸基またはメチル基を有していてもよいフェニル基であり、および

Yが、メチル基またはエチル基を有していてもよいメチレン基である、

、

請求項1記載の角膜疾患の治療剤。

[請求項5]

R₂が、メチル基、エチル基、またはイソブチル基であり、

nが0であり、

A_rが、水酸基またはハロゲン原子を有していてもよいフェニル基であり、および

Yが、メチル基またはエチル基を有していてもよいメチレン基である、

、

請求項1記載の角膜疾患の治療剤。

[請求項6]

R₂が、メチル基、エチル基、またはイソブチル基であり、

nが0であり、

A_rが、水酸基またはメチル基を有していてもよいフェニル基であり、および

Yが、単結合である、請求項1記載の角膜疾患の治療剤。

[請求項7]

Zが、単結合である、請求項4記載の角膜疾患の治療剤。

[請求項8]

Zが、メチル基またはエチル基を有していてもよいメチレン基であ

る、請求項5または6に記載の角膜疾患の治療剤。

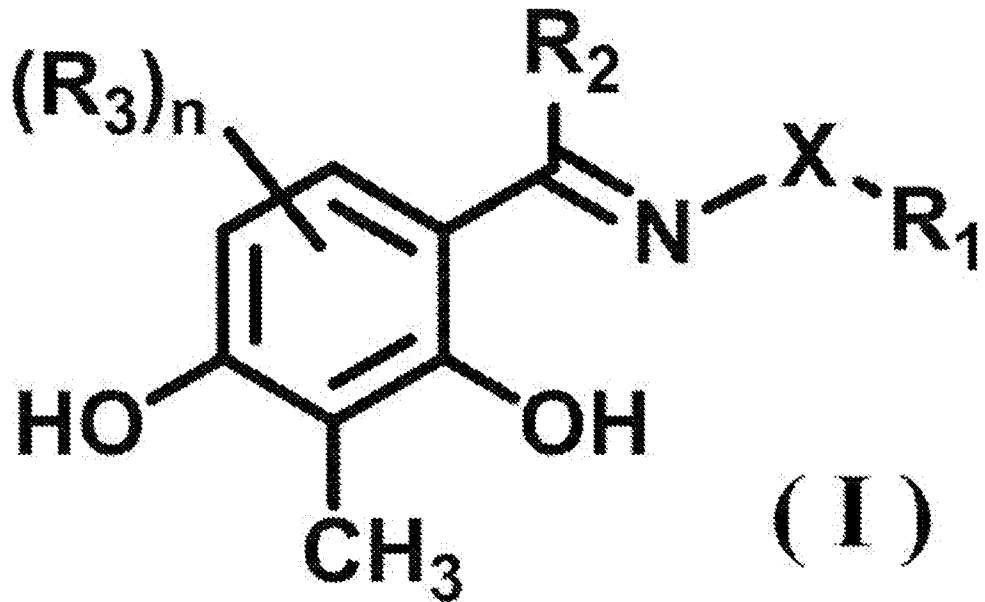
[請求項9]

角膜疾患が、角膜上皮障害、点状表層角膜症、角膜びらん、角膜潰瘍、ドライアイ、角膜上皮剥離、無虹彩症、翼状片、強膜化角膜、角膜ジストロフィー、角膜炎、角膜上皮幹細胞疲弊症、葉傷、熱傷、スティーヴンス・ジョンソン症候群、眼類天疱瘡、糖尿病角膜症、水疱性角膜症、角膜内皮炎、フックス角膜内皮ジストロフィー、滴状角膜、虹彩角膜内皮症候群、および角膜移植後の移植不全からなる群から選択される、請求項1乃至8のいずれか一項に記載の剤。

[請求項10]

下記、式(1)で示される化合物またはその塩を、それを必要とする対象に投与することを含む、角膜疾患の治療方法。

[化2]



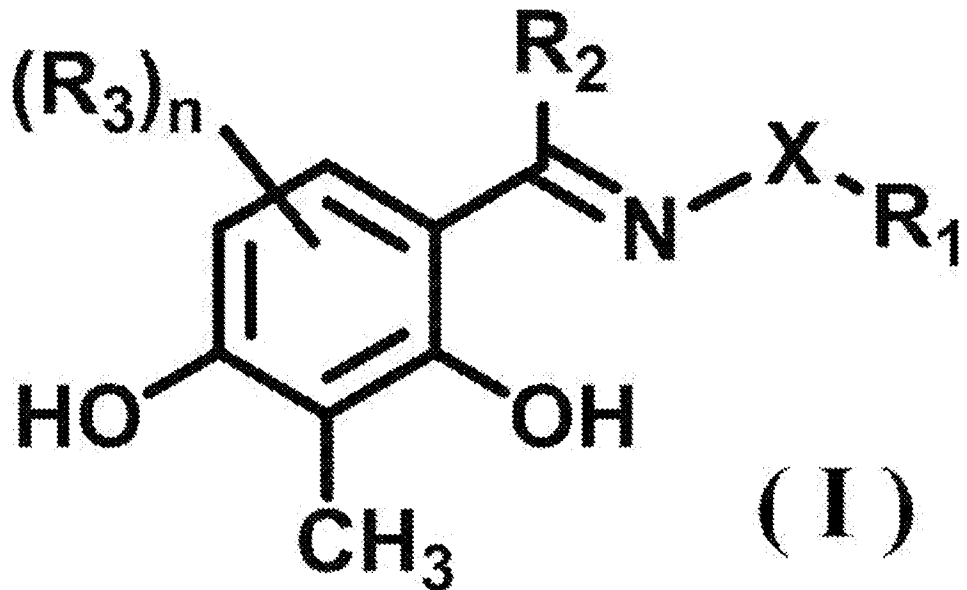
{式中、Xは、 $-NHCO-$ であり、 R_1 は、 $-Y-NH-Z-Ar$ であり(式中、Y、およびZは、各々独立して、単結合、または置換基を有していてもよい炭素数1~6のアルキレン基であり、Arは、置換基を有していてもよいアリール基である。)、 R_2 は、置換基を有していてもよい炭素数1~6のアルキル基であり、 R_3 は、水酸基であり、nは、0、1または2である。}

[請求項11]

下記、式(1)で示される化合物またはその塩を含む培地組成物中

で角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の培養することを特徴とする、角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の増殖を促進する方法。

[化3]

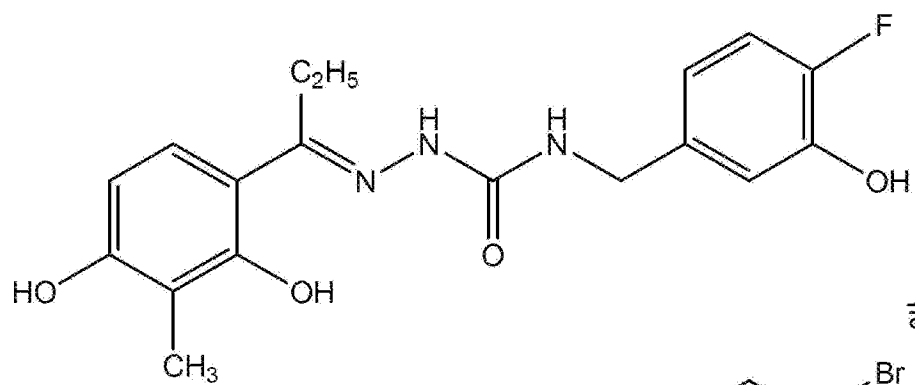


{式中、Xは、 $-NHCO-$ であり、 R_1 は、 $-Y-NH-Z-Ar$ であり（式中、Y、およびZは、各々独立して、単結合、または置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキレン基であり、Arは、置換基を有していてもよいアリール基である。）、 R_2 は、置換基を有していてもよい炭素数1～6のアルキル基であり、 R_3 は、水酸基であり、nは、0、1または2である。}

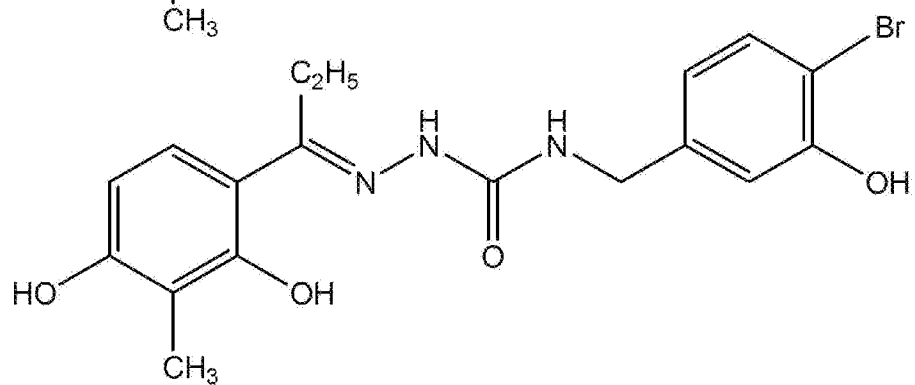
[請求項12] 前記、請求項11に記載の方法を用いることを特徴とする角膜上皮細胞または角膜内皮細胞の製造方法。

[請求項13] 下記式：

[化4]



または



で示される化合物またはその塩。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/010465

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61P 27/02(2006.01)i; C12N 5/071(2010.01)i; C12N 1/00(2006.01)i; A61K 31/175(2006.01)i FI: A61K31/175; C12N5/071; C12N1/00 G; A61P27/02 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) A61P27/02; C12N5/071; C12N1/00; A61K31/175		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Published examined utility model applications of Japan	1922-1996	
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2020	
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020	
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020	
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII) CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/VIPIDS (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2016-539641 A (KYOTO PREFECTURAL PUBLIC UNIVERSITY CORPORATION) 22.12.2016 (2016-12-22) claims 1, 8, example 2, fig. 6	11-12
A	entire text	1-10, 13
Y	WO 2018/048104 A1 (THE INDUSTRY & ACADEMIC COOPERATION IN CHUNGNAM NATIONAL UNIVERSITY (IAC) 15.03.2018 (2018-03-15) claims 1-2, example 2, fig. 4	11-12
A	entire text	1-10, 13
Y	WO 2019/022222 A1 (NISSAN CHEMICAL CORPORATION) 31.01.2019 (2019-01-31) claims 1-15, 18, paragraph [0101], test examples 1-15	11-12
A	entire text	1-10, 13
<input type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 21 May 2020 (21.05.2020)	Date of mailing of the international search report 09 June 2020 (09.06.2020)	
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application no.
PCT/JP2020/010465

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2016-539641 A	22 Dec. 2016	US 2017/0002318 A1 claims 1, 8, example 2, fig. 6 WO 2015/080297 A1 claims 1, 8, example 2, fig. 6 EP 3074508 A CA 2931280 A claims 1,8, example 2, fig. 6 CN 105814195 A claims 1, 8, example 2, fig. 6 MX 2016006915 A RU 2016125225 A JP 2019-530445 A claims 1-2, example 2, fig. 4 KR 10-1815390 B claims 1-2, example 2, fig. 4 TW 201909890 A	
WO 2018/048104 A1	15 Mar. 2018		
WO 2019/022222 A1	31 Jan. 2019		

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61P 27/02(2006.01)i; C12N 5/071(2010.01)i; C12N 1/00(2006.01)i; A61K 31/175(2006.01)i FI: A61K31/175; C12N5/071; C12N1/00 G; A61P27/02		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61P27/02; C12N5/071; C12N1/00; A61K31/175 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922 - 1996年 日本国公開実用新案公報 1971 - 2020年 日本国実用新案登録公報 1996 - 2020年 日本国登録実用新案公報 1994 - 2020年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y A	JP 2016-539641 A (京都府公立大学法人) 22.12.2016 (2016 - 12 - 22) 請求項 1, 8, 実施例2, 図6 全文	11-12 1-10, 13
Y A	WO 2018/048104 A1 (THE INDUSTRY & ACADEMIC COOPERATION IN CHUNGNAM NATIONAL UNIVERSITY (IAC)) 15.03.2018 (2018 - 03 - 15) 請求項1-2, 実施例2, 図4 全文	11-12 1-10, 13
Y A	WO 2019/022222 A1 (日産化学株式会社) 31.01.2019 (2019 - 01 - 31) 請求項1-15, 18, 段落[0101], 試験例1-15 全文	11-12 1-10, 13
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 21.05.2020	国際調査報告の発送日 09.06.2020	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 梅田 隆志 4C 1785 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
 PCT/JP2020/010465

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
JP	2016-539641	A	22.12.2016	US	2017/0002318	A1	Claims 1, 8, Example 2, Fig. 6 WO 2015/080297 A1 Claims 1, 8, Example 2, Fig. 6 EP 3074508 A CA 2931280 A Claims 1, 8, Example 2, Fig. 6 CN 105814195 A 請求項 1, 8, 実施例 2, 図 6 MX 2016006915 A RU 2016125225 A
WO	2018/048104	A1	15.03.2018	JP	2019-530445	A	
WO	2019/022222	A1	31.01.2019	TW	201909890	A	