

(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2018-500560

(P2018-500560A)

(43) 公表日 平成30年1月11日(2018.1.11)

|                                     |                |             |
|-------------------------------------|----------------|-------------|
| (51) Int.Cl.                        | F I            | テーマコード (参考) |
| <b>G 0 1 N 33/53 (2006.01)</b>      | G 0 1 N 33/53  | 4 C 0 8 6   |
| <b>A 6 1 K 31/505 (2006.01)</b>     | A 6 1 K 31/505 |             |
| <b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>      | A 6 1 P 43/00  | 1 1 1       |
| <b>A 6 1 P 1/16 (2006.01)</b>       | A 6 1 P 1/16   |             |
| <b>A 6 1 P 3/06 (2006.01)</b>       | A 6 1 P 3/06   |             |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 38 頁) 最終頁に続く |                |             |

(21) 出願番号 特願2017-532050 (P2017-532050)  
 (86) (22) 出願日 平成27年12月15日 (2015.12.15)  
 (85) 翻訳文提出日 平成29年6月15日 (2017.6.15)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/065767  
 (87) 国際公開番号 W02016/100308  
 (87) 国際公開日 平成28年6月23日 (2016.6.23)  
 (31) 優先権主張番号 62/092, 531  
 (32) 優先日 平成26年12月16日 (2014.12.16)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504135550  
 シグナル ファーマシューティカルズ, エルエルシー  
 アメリカ合衆国 92121 カリフォルニア州, サンディエゴ, キャンパス ポイント ドライブ 10300  
 (74) 代理人 100097456  
 弁理士 石川 徹  
 (72) 発明者 ゲラルド スコット バーデン ホラン  
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 01890 ウィンチェスター イングルウッド ロード 37

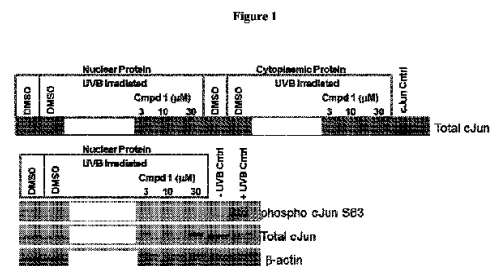
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 皮膚における c - J u n N 末端キナーゼの阻害の測定方法

## (57) 【要約】

本明細書では、UVB照射及びリン酸化 c - J u n 発現に基づくアッセイによって、患者における 2 - ( t e r t - ブチルアミノ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の効果を評価するための方法を提供する。この分析により、用量 - 反応の評価、及び 2 - ( t e r t - ブチルアミノ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物に感受性のある患者集団の特定が可能となる。

【選択図】 図 1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物に感受性のある患者の特定方法であって、前記患者の皮膚の第 1 部分を UVB 照射に曝露すること、前記患者の皮膚の前記第 1 部分のサンプルを得ること、前記患者の皮膚の前記第 1 部分におけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、前記患者に有効量の 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与すること、前記患者の皮膚の第 2 部分を UVB 照射に曝露すること、前記患者の皮膚の前記第 2 部分のサンプルを得ること、前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、ならびに前記患者の皮膚の前記第 1 部分におけるリン酸化 c - Jun のレベルと前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - Jun のレベルとを比較することを含み、前記患者の皮膚の前記第 1 部分と比較した前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - Jun のレベルの減少は、前記患者が 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物に感受性があることを示す、前記方法。

10

20

## 【請求項 2】

患者における JNK の阻害の評価方法であって、前記患者の皮膚の第 1 部分を UVB 照射に曝露すること、前記患者の皮膚の前記第 1 部分のサンプルを得ること、前記患者の皮膚の前記第 1 部分におけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、前記患者に 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与すること、前記患者の皮膚の第 2 部分を UVB 照射に曝露すること、前記患者の皮膚の前記第 2 部分のサンプルを得ること、前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、ならびに前記患者の皮膚の前記第 1 部分におけるリン酸化 c - Jun のレベルと前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - Jun のレベルとを比較することによって、患者における JNK の阻害を測定することを含み、前記患者の皮膚の前記第 1 部分と比較した前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - Jun のレベルの減少が、JNK の阻害を示す、前記方法。

30

## 【請求項 3】

患者における 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の投与の用量反応関係の決定方法であって、前記患者に様々な用量の 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与することと、前記患者の皮膚の第 1 部分を UVB 照射に曝露すること、前記患者の皮膚の前記第 1 部分のサンプルを得ること、前記患者の皮膚の前記第 1 部分におけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、前記患者にある用量の 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与すること、前記患者の皮膚の第 2 部分を UVB 照射に曝露すること、前記患

40

50

者の皮膚の前記第 2 部分のサンプルを得ること、前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに前記患者の皮膚の前記第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルと前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルを比較することを含む、各用量の 2 - ( t e r t - ブチルアミノ ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物に起因する前記患者における J N K 阻害の量を決定することと、を含み、前記患者の皮膚の前記第 1 部分と比較した前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少は、J N K の阻害に比例する、前記方法。

10

【請求項 4】

患者における J N K に関連する疾患または病態の治療または管理のための、2 - ( t e r t - ブチルアミノ ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の有効量の決定方法であって、前記患者に様々な用量の 2 - ( t e r t - ブチルアミノ ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与することと、前記患者の皮膚の第 1 部分を U V B 照射に曝露すること、前記患者の皮膚の前記第 1 部分のサンプルを得ること、前記患者の皮膚の前記第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、前記患者にある用量の 2 - ( t e r t - ブチルアミノ ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与すること、前記患者の皮膚の第 2 部分を U V B 照射に曝露すること、前記患者の皮膚の前記第 2 部分のサンプルを得ること、前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに前記患者の皮膚の前記第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルと前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含む、各用量の 2 - ( t e r t - ブチルアミノ ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物に起因する前記患者における J N K 阻害の量を決定することと、を含み、前記患者の皮膚の前記第 1 部分と比較した前記患者の皮膚の前記第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルの 50 % の減少が、有効量の 2 - ( t e r t - ブチルアミノ ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の投与を示す、前記方法。

20

30

【請求項 5】

2 - ( t e r t - ブチルアミノ ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物による治療に対する患者のコンプライアンスの監視方法であって、前記患者の皮膚のサンプル中で発現したリン酸化 c - J u n または c - J u n のレベルを測定すること、及び対照非治療サンプルでの発現レベルと比較して、前記患者の皮膚の前記サンプルにおいて発現レベルが増加または減少しているかどうかを判定することを含み、発現の減少が、2 - ( t e r t - ブチルアミノ ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレ

40

50

ート、もしくは溶媒和物による治療に対する患者のコンプライアンスを示す、前記方法。

【請求項 6】

JNKに関連する疾患もしくは病態またはその症状の治療のための、有効量の 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の投与をさらに含む、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を 1 日約 10 mg ~ 約 1200 mg の量で投与する、請求項 6 に記載の方法。

10

【請求項 8】

2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を約 60 mg / 日、約 160 mg / 日または約 400 mg / 日の量で投与する、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

20

2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を経口投与する、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物をカプセルまたは錠剤の形態で投与する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

30

前記皮膚を最小紅斑量 (MED) の UVB 照射に曝露する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の投与の約 2 時間後に、UVB 照射への皮膚の第 2 部分の曝露を行う、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

UVB 照射に曝露する皮膚の部分が患者の臀部にある、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

40

UVB 照射への皮膚の第 2 部分の曝露の約 8 時間後に、前記第 2 の照射した皮膚のサンプルを得る、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記皮膚におけるリン酸化 c - Jun の量の測定が免疫組織化学分析を含み、一次抗体が前記リン酸化 c - Jun に対するものであって抗体 / リン酸化 c - Jun 複合体を形成し、発色酵素と結合した二次抗体とのインキュベーションにより着色して前記皮膚における前記一次抗体 / リン酸化 c - Jun 複合体の場所を標示する、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記着色標示の主観的スコアリングまたはレーザー走査型サイトメーターを用いた定量

50

分析をさらに含む、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

JNK に関連する前記疾患または病態が、肝臓線維性障害、脂肪症、肝硬変、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、肝炎、肝細胞癌、またはアルコールの慢性摂取もしくは反復摂取、感染、肝臓移植、もしくは薬物性肝障害に伴う肝繊維症である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 18】

2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物に感受性のある患者の特定方法であって、

1) UVB 照射で照射した患者の皮膚の第 1 部分から得た第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、

2) 前記患者に 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与した後、UVB 照射で照射した患者の皮膚の第 2 部分から得た第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、ならびに

3) 前記第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun のレベルと前記第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun のレベルとを比較すること、

を含み、前記第 1 皮膚サンプルに対する前記第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun のレベルの減少が、前記患者は 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物に感受性があることを示す、前記方法。

【請求項 19】

患者における JNK の阻害の評価方法であって、

1) UVB 照射で照射した患者の皮膚の第 1 部分から得た第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、

2) 前記患者に 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与した後、UVB 照射で照射した患者の皮膚の第 2 部分から得た第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、ならびに

3) 前記第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun のレベルと前記第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun のレベルとを比較すること、

を含み、前記第 1 皮膚サンプルに対する前記第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun のレベルの減少が、JNK の阻害を示す、前記方法。

【請求項 20】

患者における 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の投与の用量反応関係の決定方法であって、

1) UVB 照射で照射した患者の皮膚の第 1 部分から得た第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、

2) 前記患者にある用量の 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与した後、UVB 照射で照射した患者の皮膚の第 2 部分から得た第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - Jun の量を測定すること、

ならびに

3) 前記第1皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junのレベルと前記第2皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junのレベルとを比較すること、  
を含み、前記第1皮膚サンプルに対する前記第2皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junのレベルの減少がJNKの阻害に比例する、前記方法。

【請求項21】

患者におけるJNKに関連する疾患または病態の治療または管理のための、2-(tert-ブチルアミノ)-4-((1R,3R,4R)-3-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシルアミノ)-ピリミジン-5-カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の有効量の決定方法であって、

1) UVB照射で照射した患者の皮膚の第1部分から得た第1皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junの量を測定すること、

2) 前記患者にある用量の2-(tert-ブチルアミノ)-4-((1R,3R,4R)-3-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシルアミノ)-ピリミジン-5-カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与した後、UVB照射で照射した患者の皮膚の第2部分から得た第2皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junの量を測定すること、  
ならびに

3) 前記第1皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junのレベルと前記第2皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junのレベルとを比較すること、

を含み、前記第1皮膚サンプルに対する前記第2皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junのレベルの50%の減少が、有効量の2-(tert-ブチルアミノ)-4-((1R,3R,4R)-3-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシルアミノ)-ピリミジン-5-カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の投与を示す、前記方法。

【請求項22】

前記皮膚サンプルの前記皮膚が最小紅斑量(MED)の2倍のUVB照射に曝露されている、請求項18~21のいずれかに記載の方法。

【請求項23】

前記第2皮膚サンプルの前記皮膚が、2-(tert-ブチルアミノ)-4-((1R,3R,4R)-3-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシルアミノ)-ピリミジン-5-カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の投与の約2時間後にUVB照射で照射されている、請求項18~22のいずれかに記載の方法。

【請求項24】

前記皮膚サンプルが前記患者の臀部のUVB照射で照射した皮膚の部分から得られた、請求項18~23のいずれかに記載の方法。

【請求項25】

前記第2皮膚サンプルが前記皮膚のUVB照射への曝露の約8時間後に得られる、請求項18~24のいずれかに記載の方法。

【請求項26】

皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junの量の測定が免疫組織化学分析を含み、一次抗体が前記リン酸化c-Junに対して向けられ、抗体/リン酸化c-Jun複合体を形成し、発色酵素と結合した二次抗体でのインキュベーションにより着色して前記皮膚サンプルにおける前記一次抗体/リン酸化c-Jun複合体の場所を標示する、請求項18~25のいずれかに記載の方法。

【請求項27】

前記着色標示の主観的スコアリングまたはレーザー走査型サイトメーターを用いた定量分析をさらに含む、請求項26に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 28】

請求項 18～27 のいずれか 1 項に記載の方法を含む JNK に関連する疾患もしくは病態またはその症状の治療方法において用いるための、2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物。

## 【請求項 29】

前記方法が 1 日約 10 mg ～ 約 1200 mg の量の前記化合物または前記薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与することを含む、請求項 28 に記載の使用のための 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物。

10

## 【請求項 30】

前記方法が約 60 mg / 日、約 160 mg / 日または約 400 mg / 日の量の前記化合物または前記薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を投与することを含む、請求項 29 に記載の使用のための 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物。

20

## 【請求項 31】

前記方法が前記化合物または前記薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物を経口的に投与することを含む、請求項 29 または 30 に記載の使用のための 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物。

## 【請求項 32】

前記方法が前記化合物または前記薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物をカプセルまたは錠剤の形態で投与することを含む、請求項 31 に記載の使用のための 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物。

30

## 【請求項 33】

JNK に関連する前記疾患または病態が、肝臓線維性障害、脂肪症、肝硬変、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、肝炎、肝細胞癌、またはアルコールの慢性摂取もしくは反復摂取、感染、肝臓移植、もしくは薬物性肝障害に伴う肝繊維症からなる群から選択される、請求項 29～32 のいずれかに記載の使用のための 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ( (1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物。

40

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本出願は 2014 年 12 月 16 日に出願された米国仮出願第 62 / 092, 531 号の利益を主張し、その全内容を参照により本明細書に援用する。

## 【0002】

## 1. 技術分野

50

本明細書では、免疫組織化学を用いて皮膚における c - J u n N末端キナーゼ ( J N K ) の阻害を測定する方法を提供する。さらに本明細書では、2 - ( t e r t - ブチルアミノ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドの用量反応関係の評価、ならびに2 - ( t e r t - ブチルアミノ) - 4 - ( ( 1 R , 3 R , 4 R ) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドに感受性または非感受性の患者集団の特定及び選別に有用な、UVB照射及びホスホ c - J u n (またはリン酸化 c - J u n ) 免疫反応性の測定に基づくアッセイも提供する。

#### 【背景技術】

#### 【0003】

#### 2. 背景技術

異常なタンパク質リン酸化と疾患の原因または結果との間の関係が20年間以上知られている。したがって、タンパク質キナーゼが非常に重要な薬剤標的群となっている ( C o h e n , N a t u r e , 1 : 3 0 9 - 3 1 5 ( 2 0 0 2 ) , G a e s t e l e t a l . C u r r . M e d . C h e m . 1 4 : 2 2 1 4 - 2 2 3 ( 2 0 0 7 ) ; G r i m m i n g e r e t a l . N a t . R e v . D r u g D i s c . 9 ( 1 2 ) : 9 5 6 - 9 7 0 ( 2 0 1 0 ) を参照)。様々なタンパク質キナーゼインヒビターが、多様な疾患、例えば癌ならびに関節リウマチ及び乾癬をはじめとした慢性炎症性疾患などの治療において臨床的に用いられている ( C o h e n , E u r . J . B i o c h e m . , 2 6 8 : 5 0 0 1 - 5 0 1 0 ( 2 0 0 1 ) ; P r o t e i n K i n a s e I n h i b i t o r s f o r t h e T r e a t m e n t o f D i s e a s e : T h e P r o m i s e a n d t h e P r o b l e m s , H a n d b o o k o f E x p e r i m e n t a l P h a r m a c o l o g y , S p r i n g e r B e r l i n H e i d e l b e r g , 1 6 7 ( 2 0 0 5 ) を参照)。

#### 【0004】

JNKは普遍的に発現されるセリン/スレオニンキナーゼであり、ERK (細胞外調節キナーゼ) 及びp38とともに分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) のファミリーに属する。K y r i a k i s J M , S c i . S T K E ( 4 8 ) : p e 1 ( 2 0 0 0 ) ; W h i t m a r s h A J , e t a l . S c i . S T K E ( 1 ) : p e 1 ( 1 9 9 9 ) ; S c h r a m e k H , N e w s P h y s i o l . S c i . 1 7 : 6 2 - 7 ( 2 0 0 2 ) ; I c h i j o H , O n c o g e n e 1 8 ( 4 5 ) : 6 0 8 7 - 9 3 ( 1 9 9 9 ) 。 M A P K は細胞表面から核へのシグナル伝達の重要な媒介物であり、リン酸化カスケードを用いて、転写因子をはじめとする選択された細胞内タンパク質のリン酸化によって、外部刺激に対して細胞による調和のとれた反応を引き起こす。加えて、JNKは非核タンパク質、例えばIRS-1及びBcl-2ファミリーメンバーもリン酸化する。D a v i s R J , T r e n d s B i o c h e m . S c i . 9 ( 1 1 ) : 4 7 0 - 4 7 3 ( 1 9 9 4 ) ; S e g e r R e t a l . , F A S E B J . ; 9 ( 9 ) : 7 2 6 - 3 5 ( 1 9 9 5 ) ; F a n g e r G R e t a l . , C u r r . O p i n . G e n e t . D e v . ; 7 ( 1 ) : 6 7 - 7 4 ( 1 9 9 7 ) 。

#### 【0005】

分裂促進因子活性化タンパク質 (MAP) キナーゼは細胞外刺激に反応した細胞核へのシグナルの伝達に関与する。ERK、p38及びJNKアイソフォームからのMAPキナーゼの例としては、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ1 (ERK2)、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ8 (JNK1)、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ9 (MAPK9またはJNK2)、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ10 (MAPK10またはJNK3) 及び分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ14 (MAPK14またはp38α) が挙げられるが、これらに限定されない。MAPキナーゼは、細胞外受容体または熱ショック、浸透圧ストレス、反応性酸化種 (ROS) もしくはUV照射からのシグナル伝達を媒介するプロリン指向性セリン/スレオニンキナーゼのファミリーである。S r i d h a r e t a l . , P h a r m a c e u t i c a l R e s e a r c h ,

10

20

30

40

50

17:11 1345-1353(2000)を参照。MAPキナーゼは、MKK及びMEKKキナーゼをはじめとする上流の二重特異性タンパク質キナーゼによるセオニン(theonine)及びチロシンのリン酸化を介して活性化される。細胞増殖及び分化は複数のMAPキナーゼカスケードの調節制御下にあることが証明されている。Sridhar et al., *Pharmaceutical Research*, 17:11 1345-1353(2000)を参照。そのため、MAPキナーゼ経路は多くの病状において重要な役割を果たす。例えば、MAPキナーゼの活性の欠陥が異常細胞増殖及び発癌をもたらすことが証明されている。Hu et al., *Cell Growth Differ.* 11:191-200(2000);及びDas et al., *Breast Cancer Res. Treat.* 40:141(1996)を参照。さらに、MAPキナーゼ活性は、2型糖尿病及び肥満に関連するインスリン抵抗性にも関係があるとされている。Virkamaki et al., *J. Clin. Invest.* 103:931-943(1999)を参照。インスリン抵抗性の変化は肝臓におけるグルコース及び脂質の代謝に対して直接影響を及ぼす場合があり、肝繊維症に進行し得る脂肪症の発症の一因となる。Vallerie et al., *Science Translational Medicine* 2(60):1-7(2010)を参照。

10

#### 【0006】

脂肪症は、飽和または不飽和いずれかの遊離脂肪酸(FFA)の存在下で発症し得る。FFAは肝臓における強力なJNK活性化を促進し、過剰な濃度のFFAは肝細胞アポトーシスをもたらす。JNK2-/-マウスは、不飽和FFAではなく飽和FFA(例えばステアリン酸)による脂肪症及びアポトーシスから部分的に保護されることが報告されている。Malhi et al., *J. Biol. Chem.* 281:12093-12101(2006)。JNK1-/-マウスはFFA誘発障害から保護されなかった。JNK1及びJNK2の役割は、脂肪症から脂肪肝炎、肝線維症へと進行したCDA A給餌マウスにおいて試験されている。Kodama et al., *Gastroenterology* 137:1467-1477(2009)。JNK1-/-及びJNK2-/-マウスの両方とも脂肪症を発症したが、JNK2-/-マウスではなくJNK1-/-マウスは肝炎及び線維症への進行に著しい耐性を示した。JNK1-/-欠失を骨髄細胞に限定したキメラマウスも同様に肝炎及び線維症に耐性があり、活性化されたクッパー細胞を脂肪症の先の疾患進行の主要な引き金として関係しているとされた。実際に、JNK1-/-マクロファージではLPSに反応したIL-1、IL-6、TNF及びNOの発現はなく、JNK1-/-マウスまたはJNKインヒビターSP600125で治療した野生型マウスに由来するクッパー細胞は、LPSに反応するTNF、IL-6及びIL-1発現の減少を示す。Sanchez-Tillo et al., *J Biol Chem.* 282(17):12566-73(2007);Kodama et al., *Gastroenterology* 137:1467-1477(2009)。

20

30

#### 【0007】

以前の試験では、特定のインヒビターを用いてまたは用いずにUVB照射に曝露した細胞内のIL-10、TNF- $\alpha$ 及びNOのレベルが以前の試験で測定されており、p38 MAPKシグナル伝達経路の活性化を介して、UVBがこれらの炎症誘発性媒介物の産生を誘発したと考えられることを示している。Mutou Y, Tsukimoto M, Homma T, Kojima S, *Immune Response Pathways in Human Keratinocyte (HaCat) Cells are Induced by Ultraviolet B via p38 Mitogen-activated Protein Kinase Activation*, *J. Health Science* 2010;56(6):675-83。加えて、ヒト皮膚のUV照射後のc-Junタンパク質及びリン酸化の誘発が報告されている。Fish er G, Talwar H, Lin J, Lin P, McPhillips F, Wang Z, Li X, Wan Y, Kang S, and Voorhees J, *Retinoic Acid Inhibits Induction of c-Jun*

40

50

Protein by Ultraviolet Radiation That Occurs Subsequent To Activation Of Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways In Human Skin In Vivo, J. Clin Invest. 1998; 101 (6): 1432-40 及び Einspahr J, Bowden T, Alberts D, McKenzie N, Saboda K, Warneke J, Salasche S, Ranger-Moore J, Lewandrowski C, Nagle R, Nickoloff B, Brooks, C, Dong Z, and Stratton S, Cross-Validation of Murine UV Signal Transduction Pathways in Human Skin, Photochem. Photobiol. 2008; 84 (2): 463-76.

10

#### 【0008】

薬剤候補の生物学的効果を評価するために臨床マーカーが必要とされている。本明細書に記載の方法は、例えば、JNKインヒビターのインビボ活性に従った、JNKインヒビター、特に経口JNKインヒビターによる治療に対する特定の患者集団の感受性を評価する直接的な手段を提供することなどによって、JNKインヒビターの生物学的効果の評価を可能とし、それゆえに臨床現場において有用である。

#### 【0009】

本出願の第2節における任意の参考文献の引用または指定も、その参考文献が本出願の先行技術であることを認めるものと解釈されるべきではない。

20

#### 【発明の概要】

#### 【0010】

#### 3. 発明の概要

本明細書では、患者における2-(tert-ブチルアミノ)-4-((1R, 3R, 4R)-3-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシルアミノ)-ピリミジン-5-カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物(「化合物1」)の効果の評価方法を提供し、この方法は患者の皮膚のUVB照射、化合物1の投与、及び免疫組織化学を用いた皮膚におけるリン酸化c-Jun発現の測定を含む。いくつかの実施形態において、化合物1を経口投与する。本明細書では、患者における2-(tert-ブチルアミノ)-4-((1R, 3R, 4R)-3-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシルアミノ)-ピリミジン-5-カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物(「化合物1」)の効果の評価方法であって、1) UVB照射で照射した患者の皮膚の第1部分から得た第1皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Jun発現を測定すること、2) 患者に化合物1を投与した後、UVB照射で照射した患者の皮膚の第2部分から得た第2皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Jun発現を測定すること、ならびに3) 該第1皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junのレベルと該第2皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junのレベルとを比較することを含む、該方法も提供する。測定は免疫組織化学を用いた皮膚サンプルにおいて行われ得る。UVB照射は最小紅斑量の(MED)2倍のものであり得る。第2皮膚サンプルの皮膚は、2-(tert-ブチルアミノ)-4-((1R, 3R, 4R)-3-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシルアミノ)-ピリミジン-5-カルボキサミドまたは薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物の投与の約2時間後にUVB照射で照射され得る。皮膚サンプルは患者の臀部のUVB照射で照射した皮膚の部分から得られ得る。第2皮膚サンプルは皮膚のUVB照射への曝露の約8時間後に得られ得る。皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junの量の測定は、免疫組織化学分析を含むことができ、一次抗体がリン酸化c-Junに対して向けられ、抗体/リン酸化c-Jun複合体を形成し、発色酵素と結合した二次抗体とのインキュベーションにより着色して皮膚サンプルにおける一次抗体/リン酸化c-Jun複合体の場所を標示する。測定は、着色標示の主観的スコアリングまたはレ

30

40

50

ーザー走査型サイトメーターを用いた定量分析をさらに含む。化合物 1 は経口投与され得る。

#### 【0011】

一実施形態において、化合物 1 に感受性のある患者（または患者集団）の特定方法を本明細書で提供し、この方法は、該患者の皮膚の第 1 部分を UVB 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 1 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、該患者に有効量の化合物 1 を投与すること、該患者の皮膚の第 2 部分を UVB 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 2 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、  
ならびに該患者の皮膚の該第 1 部におけるリン酸化 c - J u n のレベルと該患者の皮膚の  
該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含み、該患者の皮膚  
の該第 1 部分と比較した該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベル  
の減少は、該患者が化合物 1 に感受性があることを示す。化合物 1 に感受性のある患者（  
または患者集団）の特定方法も本明細書で提供し、この方法は、1）UVB 照射で照射し  
た患者の皮膚の第 1 部分から得た第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測  
定すること、2）該患者に化合物 1 を投与した後、UVB 照射で照射した患者の皮膚の第  
2 部分から得た第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、なら  
びに 3）該第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルと該第 2 皮膚サンプル  
におけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含み、該第 1 皮膚サンプルに対  
する該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少は、該患者が化合物  
1 に感受性があることを示す。レベルの減少は少なくとも約 5 %、約 10 %、約 15 %、  
約 20 %、約 25 %、約 30 %、約 35 %、約 40 %、約 45 %、約 50 % 以上とすること  
ができる。

10

20

#### 【0012】

別の実施形態では、患者の皮膚の UVB 照射、化合物 1 の投与、及び免疫組織化学を用いた皮膚におけるリン酸化 c - J u n 発現の測定を含む、患者における化合物 1 の効果の評価方法を本明細書で提供する。患者に化合物 1 を投与した後、UVB 照射で照射した皮膚サンプルにおいて免疫組織化学を用いてリン酸化 c - J u n 発現を測定することを含む、患者における化合物 1 の効果の評価方法も本明細書で提供する。

30

#### 【0013】

別の実施形態では、患者の皮膚におけるリン酸化 c - J u n を測定することによって患者における J N K の阻害を評価する方法を本明細書で提供する。一実施形態において、該患者の皮膚の第 1 部分を UVB 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 1 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、該患者に化合物 1 を投与すること、該患者の皮膚の第 2 部分を UVB 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 2 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに該患者の皮膚の該第 1 部におけるリン酸化 c - J u n のレベルと該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することによって、患者における J N K の阻害を測定する方法を本明細書で提供するが、この方法では、該患者の皮膚の該第 1 部分と比較した該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少が、J N K の阻害を示す。

40

#### 【0014】

別の実施形態では、患者における化合物 1 の投与のための用量反応関係を決定する方法を提供する。この方法は、該患者への様々な用量（例えば約 1 m g ~ 1 0 0 0 m g）の化合物 1 の投与と、該患者の皮膚の第 1 部分を UVB 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 1 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、該患者にある用量の化合物 1 を投与すること、該患者の皮膚の第 2 部分を UVB 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 2 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに該患者の皮膚の該第 1 部におけるリン酸化 c - J u n のレベルと該患者の皮膚の該第 2 部分

50

におけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含む、各用量の化合物 1 に起因する該患者における J N K 阻害の量の決定とを含み、該患者の皮膚の該第 1 部分に対する該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少が J N K の阻害に比例する。化合物 1 の投与の用量反応関係の決定方法も本明細書で提供し、この方法は、1) U V B 照射で照射した患者の皮膚の第 1 部分から得た第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、2) 該患者に様々な用量の化合物 1 (例えば約 1 m g ~ 1 0 0 0 m g ) を投与した後、U V B 照射で照射した患者の皮膚の第 2 部分から得た第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに 3) 該第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルと該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含み、該患者の皮膚の該第 1 部分と比較した該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少は J N K の阻害に比例する。レベルの減少は少なくとも約 5 %、約 1 0 %、約 1 5 %、約 2 0 %、約 2 5 %、約 3 0 %、約 3 5 %、約 4 0 %、約 4 5 %、約 5 0 % 以上であり得る。

10

#### 【 0 0 1 5 】

他の実施形態において、患者における J N K に関連する疾患または病態の治療または管理のための化合物 1 の有効量の決定方法を提供し、この方法は、該患者への様々な用量 (例えば約 1 m g ~ 1 0 0 0 m g ) の化合物 1 の投与と、該患者の皮膚の第 1 部分を U V B 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 1 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、該患者にある用量の化合物 1 を投与すること、該患者の皮膚の第 2 部分を U V B 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 2 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに該患者の皮膚の該第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルと該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含む、各用量の化合物 1 に起因する該患者における J N K 阻害の量の決定とを含み、該患者の皮膚の該第 1 部分と比較した該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルの 5 0 % の減少が、有効量の化合物 1 の投与を示す。化合物 1 の有効量の決定方法も本明細書で提供し、この方法は、1) U V B 照射で照射した患者の皮膚の第 1 部分から得た第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、2) 該患者に様々な用量の化合物 1 (例えば約 1 m g ~ 1 0 0 0 m g ) を投与した後、U V B 照射で照射した患者の皮膚の第 2 部分から得た第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに 3) 該第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルと該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含み、該第 1 皮膚サンプルに対する該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルの 5 0 % の減少が有効量の化合物 1 の投与を示す。

20

30

#### 【 0 0 1 6 】

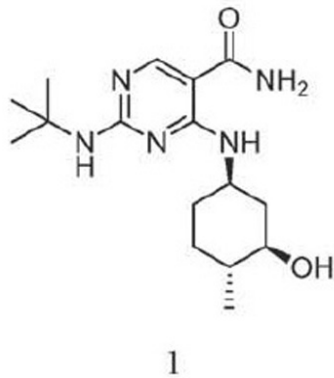
さらに別の実施形態では、化合物 1 による治療に対する患者のコンプライアンスの監視方法を提供する。この方法は、患者の皮膚のサンプル中で発現したリン酸化 c - J u n または c - J u n のレベルを測定すること、及び対照非治療サンプルでの発現レベルと比較して、患者の皮膚のサンプルにおいて発現レベルが増加または減少しているかどうかを判定することを含み、発現の減少が、化合物 1 による治療に対する患者のコンプライアンスを示す。

40

#### 【 0 0 1 7 】

本明細書に提供される方法において有用な J N K インヒビターは、以下：

## 【化 1】



10

## 【0018】

(代替名 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ((1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドもしくは 2 - [(1, 1 - ジメチルエチル)アミノ] - 4 - [[(1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシル]アミノ] - 5 - ピリミジンカルボキサミドを有する)、または薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物(本明細書では「化合物 1」と総称する)である。化合物 1 は、2013 年 1 月 31 日に公開された米国特許出願公開第 2013/0029987 号、及び国際公開第 WO2012/145569 号に開示されており、それぞれの全内容を参照により本明細書に援用する。

20

## 【図面の簡単な説明】

## 【0019】

## 4. 図面の簡単な説明

【図 1】ドナー 1 の HEK a 細胞における、50 mJ / cm<sup>2</sup> の UVB 放射線による c - Jun の Ser 63 における活性化及び化合物 1 での阻害を示す(ウェスタンイムノブロッティングによって決定された)。

## 【0020】

【図 2】ドナー 2 の HEK a 細胞における、50 mJ / cm<sup>2</sup> の UVB 放射線による c - Jun の Ser 63 における活性化及び化合物 1 での阻害を示す(ウェスタンイムノブロッティングによって決定された)。

30

## 【0021】

【図 3】ドナー 3 の HEK a 細胞における、50 mJ / cm<sup>2</sup> の UVB 放射線による c - Jun の Ser 63 における活性化及び化合物 1 での阻害を示す(ウェスタンイムノブロッティングによって決定された)。

## 【0022】

【図 4】ドナー 4 の HEK a 細胞における、50 mJ / cm<sup>2</sup> の UVB 放射線による c - Jun の Ser 63 における活性化及び化合物 1 での阻害を示す(ウェスタンイムノブロッティングによって決定された)。

40

## 【0023】

【図 5】HEK a 細胞における、50 mJ / cm<sup>2</sup> の UVB 放射線によって誘発される c - Jun の Ser 63 におけるリン酸化の阻害を示す。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0024】

## 5. 詳細な説明

## 5.1. 定義

用語「JNK」は JNK 1、JNK 2、または JNK 3 遺伝子によって発現されるタンパク質またはそのアイソフォームを意味する(Gupta, S., Barrett, T., Whitmarsh, A. J., Cavanagh, J., Sluss, H. K., D

50

erijard, B. and Davis, R. J. The EMBO J. 15: 2760 - 2770 (1996)。

【0025】

本明細書で用いる場合、用語「薬学的に許容可能な塩（複数可）」は、無機酸及び無機塩基ならびに有機酸及び有機塩基を含めた薬学的に許容可能な非毒性の酸または塩基から調製される塩のことをいう。式（I）の化合物の好適な薬学的に許容可能な塩基付加塩としては、アルミニウム、カルシウム、リチウム、マグネシウム、カリウム、ナトリウム及び亜鉛から調製される金属塩、またはリシン、N, N' - ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、メグルミン（N - メチルグルカミン）及びプロカインから調製される有機塩が挙げられるが、これらに限定されない。好適な非毒性酸としては、酢酸、アルギン酸、アントラニル酸、L - アスパラギン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、カンファースルホン酸、クエン酸、エテンスルホン酸、ギ酸、フマル酸、フロ酸、ガラクトロン酸、グルコン酸、グルクロン酸、グルタミン酸、グリコール酸、臭化水素酸、塩酸、イセチオン酸、乳酸、マレイン酸、リンゴ酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、ムチン酸、硝酸、パモ酸、パントテン酸、フェニル酢酸、リン酸、プロピオン酸、サリチル酸、ステアリン酸、コハク酸、スルファニル酸、硫酸、酒石酸、及びp - トルエンスルホン酸などの無機酸及び有機酸が挙げられるが、これらに限定されない。具体的な非毒性酸としては、塩酸、臭化水素酸、マレイン酸、リン酸、硫酸、及びメタンスルホン酸が挙げられる。したがって、具体的な塩の例としては、塩酸塩及びメシル酸塩が挙げられる。その他のものが当該技術分野において公知であり、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>th</sup> eds., Mack Publishing, Easton PA (1990) またはRemington: The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>th</sup> eds., Mack Publishing, Easton PA (1995) を参照されたい。

10

20

【0026】

本明細書で用いる場合、別途示されない限り、用語「立体異性体」または「立体異性的に純粋な」は、式（I）の化合物の1つの立体異性体であって、その化合物の他の立体異性体を実質的に含まないものを意味する。例えば、1つのキラル中心を有する立体異性的に純粋な化合物は、その化合物の反対のエナンチオマーを実質的に含まないことになる。2つのキラル中心を有する立体異性的に純粋な化合物は、その化合物の他のジアステレオマーを実質的に含まないことになる。典型的な立体異性的に純粋な化合物は、約80重量%超のその化合物の1つの立体異性体及び約20重量%未満のその化合物の他の立体異性体、約90重量%超のその化合物の1つの立体異性体及び約10重量%未満のその化合物の他の立体異性体、約95重量%超のその化合物の1つの立体異性体及び約5重量%未満のその化合物の他の立体異性体、または約97重量%超のその化合物の1つの立体異性体及び約3重量%未満のその化合物の他の立体異性体を含む。式（I）の化合物はキラル中心を有することができ、ラセミ体、個々のエナンチオマーまたはジアステレオマー、及びこれらの混合物として存在することができる。すべてのそのような異性体型が、それらの混合物を含め、本明細書に開示の実施形態の範囲内に含まれる。

30

40

【0027】

そのような式（I）の化合物の立体異性的に純粋な形態の使用及びそれらの形態の混合物の使用は、本明細書に開示の実施形態に包含される。例えば、式（I）の特定の化合物の等量または不等量のエナンチオマーを含む混合物が本明細書に開示の方法及び組成物に用いられ得る。こうした異性体は、不斉合成してもよく、またはキラルカラムもしくはキラル分割剤などの標準的な技術を用いて分割してもよい。例えば、Jacques, J., et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., et al., Tetrahedron 33: 2725 (1977); Eliel, E. L., Stereochemistry of Carbon

50

Compounds (McGraw Hill, NY, 1962); 及び Wilen, S. H., Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (E. L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972) を参照。

#### 【0028】

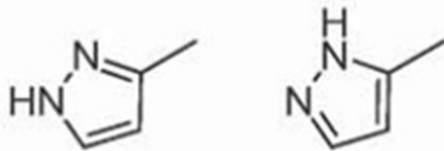
式(I)の化合物は、E異性体及びZ異性体またはこれらの混合物、ならびにシス及びトランス異性体またはこれらの混合物を含むことができることにも留意すべきである。ある実施形態において、式(I)の化合物はE異性体またはZ異性体のいずれかとして単離されている。ある実施形態において、式(I)の化合物はE異性体とZ異性体との混合物である。

10

#### 【0029】

用語「互変異性体」は、互いに平衡状態にある化合物の異性体型のことをいう。異性体型の濃度は化合物が存在する環境に依存することになり、例えば化合物が固体であるか、または有機溶液もしくは水溶液中にあるかに応じて異なり得る。例えば、水溶液中では、ピラゾールは互いに互変異性体と称される以下の異性体型を示し得る。

#### 【化2】



20

#### 【0030】

化合物1は1つ以上のキラル中心を含み、エナンチオマーのラセミ混合物、ジアステレオマーの混合物または鏡像異性的もしくは光学的に純粋な化合物として存在することができる。そのような化合物の立体異性的に純粋な形態の使用及びそれらの形態の混合物の使用は、本明細書に開示の実施形態に包含される。非限定例として、化合物1の等量または不等量のエナンチオマーを含む混合物が本明細書に開示の方法及び組成物に用いられ得る。こうした異性体は、不斉合成してもよく、またはキラルカラムもしくはキラル分割剤などの標準的な技術を用いて分割してもよい。例えば、Jacques, J., et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., et al., Tetrahedron 33: 2725 (1977); Eliel, E. L., Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw Hill, NY, 1962); 及び Wilen, S. H., Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (E. L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972) を参照。

30

#### 【0031】

本明細書で用いる場合、用語「治療」は、障害、疾患もしくは病態の、または障害、疾患もしくは病態に関連する1つ以上の症状の全体的なまたは部分的な緩和、またはこうした症状のさらなる進行もしくは悪化の遅延もしくは停止、または障害、疾患もしくは病態の原因(複数可)そのものの緩和もしくは根治を意味する。一実施形態において、障害は肝臓線維性障害、例えば非アルコール性脂肪肝炎、脂肪症(すなわち脂肪肝)、肝硬変、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、肝炎、肝細胞癌、またはアルコールの慢性摂取もしくは反復摂取(アルコール性肝炎)、感染(例えばHCVなどのウイルス感染)、肝臓移植、もしくは薬物性肝障害(例えばアセトアミノフェン中毒)に伴う肝繊維症などである。いくつかの実施形態において、「治療」は、肝臓線維性障害、例えば非アルコール性脂肪肝炎、脂肪症(すなわち脂肪肝)、肝炎もしくは肝硬変などをもたらす糖尿病も

40

50

しくは代謝症候群に関連する障害、疾患もしくは病態、または症状の全体的なもしくは部分的な緩和、またはこうした症状のさらなる進行もしくは悪化の遅延もしくは停止を意味する。一実施形態において、症状は黄疸である。別の実施形態では、「治療」は、JNK経路の阻害によって治療可能なまたは予防可能な疾患に関連する障害、疾患もしくは病態、または症状の全体的なまたは部分的な緩和を意味する。

#### 【0032】

用語「予防」は、本明細書で用いる場合、障害、疾患もしくは病態の発症、再発もしくは蔓延を全体的にもしくは部分的に遅延及び／または防止する；対象が障害、疾患もしくは病態に罹患するのを阻止する；または対象が障害、疾患もしくは病態に罹患する対象リスクを減少させる方法を意味する。一実施形態において、障害は本明細書に記載の肝臓線維性障害、もしくは肝臓線維性障害をもたらす糖尿病もしくは代謝症候群、またはこれらの症状である。一実施形態において、障害は肝臓線維性障害、例えば非アルコール性脂肪肝炎、脂肪症（すなわち脂肪肝）、肝硬変、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、肝炎、肝細胞癌、またはアルコールの慢性摂取もしくは反復摂取（アルコール性肝炎）、感染（例えばHCVなどのウイルス感染）、肝臓移植、もしくは薬物性肝障害（例えばアセトアミノフェン中毒）に伴う肝繊維症などである。別の実施形態では、障害はJNK経路の阻害によって治療可能なまたは予防可能な疾患である。

10

#### 【0033】

治療に関して用いられる場合の用語「感受性」及び「感受性のある」は、治療されている疾患の症状の軽減または減少における化合物1の有効性の程度をいう相対語である。例えば、細胞または患者の治療に関して用いられる場合の用語「感受性の増加」は、当該技術分野において広く認められているまたは本明細書に開示の任意の方法を用いて測定した場合の、JNKに関連する疾患または病態の症状の軽減または減少における有効性の少なくとも5%以上の増加のことをいう。

20

#### 【0034】

化合物1に関連する用語「有効量」は、本明細書に開示の障害、疾患もしくは病態、またはこれらの症状を治療または予防することが可能な量を意味する。

#### 【0035】

本明細書で用いる場合、「UVB」は、約280nm～約320nmにわたる紫外線スペクトルの領域にある電磁放射線のことをいう。

30

#### 【0036】

用語「可能性」は一般に、ある事象の確率の増加をいう。患者反応の有効性に関して用いられる場合の用語「可能性」は一般に、JNKに関連する疾患または病態の症状が軽減または減少される確率の増加を企図する。

#### 【0037】

用語「予測する」は一般に、事前に判断することまたは伝えることを意味する。化合物1による治療の有効性を「予測する」と用いる場合、例えば、用語「予測する」は、最初に、治療を開始する前に、または治療期間が実質的に進行する前に治療のアウトカムの可能性を判断できることを意味し得る。

40

#### 【0038】

本明細書で用いる場合、用語「監視する」は一般に、活動の監視、管理、規制、観察、追跡、または監督のことをいう。例えば、用語「JNK」に関連する疾患または病態に対する治療の効果の監視は、患者の治療における有効性の追跡のことをいう。同様に、個別または臨床試験のいずれかにおける患者のコンプライアンスに関連して用いられる場合の用語「監視」は、患者が実際に試験中の治療計画に処方されたように従っていることを追跡または確認することをいう。

#### 【0039】

本明細書で用いる場合、用語「判定」、「測定」、「評価(evaluating)」、「評価(assessing)」及び「アッセイ」は一般に、任意の形態の測定のことをいい、ある要素が存在するか否かの判定を含む。これらの用語は定量的及び／または定

50

性的判定の両方を含む。評価は相対的なものまたは絶対的なものであり得る。「の存在の評価」は、存在するものの量を判定すること、及びあるものが存在するかまたは存在しないかを判定することを含むことができる。

#### 【0040】

「患者」または「対象」は本明細書では、動物、例えば哺乳類などを含むと定義し、限定はしないが霊長類（例えばヒト）、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、マウス、サル、ニワトリ、シチメンチョウ、ウズラ、またはモルモットなどを含み、ある実施形態では哺乳類であり、別の実施形態ではヒトである。一実施形態において、対象は、間質性肺線維症、全身性硬化症、強皮症、慢性移植腎症、抗体関連型拒絶反応、または狼瘡を有するか、またはそれらを有するリスクがあるヒトである。別の実施形態では、対象は、肝臓線維性障害、または肝臓線維性障害をもたらす糖尿病もしくは代謝症候群、またはJNK経路の阻害によって治療可能なもしくは予防可能な疾患、またはこれらの症状を有するか、あるいはそれらを有するリスクがあるヒトである。一実施形態において、対象は絶食している。一実施形態において、対象は摂食している。

10

#### 【0041】

##### 5.2.c - Jun N末端キナーゼのバイオマーカーとしての使用

本明細書で提供される方法は、患者皮膚サンプルにおけるリン酸化c - Junまたはc - Junの存在及びレベルを、JNKの阻害を追跡するバイオマーカーとして利用することができるという発見に一部基づいている。特に、これらのバイオマーカーを用いて、患者における化合物1による治療、特に化合物1での経口治療の有効性を予測、評価、及び追跡する、または処方された化合物1による治療のレジメンに対する患者のコンプライアンスを監視することができる。

20

#### 【0042】

健康なヒト皮膚におけるベースラインのリン酸化c - Jun免疫反応性はUVB曝露無しでは低い。UVB照射は、組織切片におけるリン酸化c - Jun免疫反応性の増加に反映されるように、リン酸化c - Junのレベルを確実に増加させる。増加はUVB曝露後およそ8時間でプラトーになり始める。JNKの阻害は用量依存性である。UVB照射によって誘発されるリン酸化c - Junの増加は、用量 - 反応の評価を含む、化合物1の評価を行うための、及び化合物1に感受性のある患者集団の特定を行うためのモデルとして用いることができる。

30

#### 【0043】

UVB照射によって誘発されるリン酸化c - Junのレベルの、化合物1の有効性を評価するバイオマーカーとしての使用に関する方法を本明細書で提供する。リン酸化c - Jun及びc - Junのレベルを用いて、JNKに関連する疾患または病態において治療が成功する可能性があるかどうか判定することができる。

#### 【0044】

ある実施形態において、本明細書で提供される方法により、化合物1の投与に起因するJNKのインビボ阻害の量の測定が可能となる。ある実施形態において、本明細書で提供されるアッセイは、該患者の皮膚の第1部分をUVB照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第1部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第1部分におけるリン酸化c - Junまたはc - Junの量を免疫組織化学的に測定すること、該患者に化合物1を投与すること、該患者の皮膚の第2部分をUVB照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第2部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第2部分におけるリン酸化c - Junまたはc - Junの量を免疫組織化学的に測定すること、ならびに該患者の皮膚の該第1部分におけるリン酸化c - Junまたはc - Junのレベルと該患者の皮膚の該第2部分におけるリン酸化c - Junまたはc - Junのレベルとを比較することを含み、該患者の皮膚の該第1部分と比較した該患者の皮膚の該第2部分におけるリン酸化c - Junまたはc - Junのレベルの減少が、JNKの阻害を示す。患者におけるJNKの阻害を評価するための方法も本明細書で提供され、この方法は、1) UVB照射で照射した患者の皮膚の第1部分から得た第1皮膚サンプルにおけるリン酸化c - Junまたはc - Junの量を

40

50

測定すること、2) 該患者に化合物1を投与した後、UVB照射で照射した患者の皮膚の第2部分から得た第2皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junまたはc-Junの量を測定すること、ならびに3) 該第1皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junのレベルと該第2皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junのレベルとを比較することを含み、該第1皮膚サンプルに対する該第2皮膚サンプルにおけるリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルの減少がJNKの阻害を示す。いくつかの実施形態において、減少は少なくとも約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%以上である。ある実施形態において、本明細書で提供されるアッセイはヒト皮膚モデル組織の使用を含む。そのような実施形態において、該アッセイは、該組織の第1サンプルをUVB照射に曝露すること、該組織の該第1部分のサンプルを得ること、該組織の該第1部分におけるリン酸化c-Junまたはc-Junの量を免疫組織化学的に測定すること、該組織に化合物1を投与すること、該組織の第2部分をUVB照射に曝露すること、該組織の該第2部分のサンプルを得ること、該組織の該第2部分におけるリン酸化c-Junまたはc-Junの量を免疫組織化学的に測定すること、ならびに該組織の該第1部分におけるリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルと該組織の該第2部分におけるリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルとを比較することを含み、該組織の該第1部分と比較した該組織の該第2部分におけるリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルの減少がJNKの阻害を示す。いくつかの実施形態において、減少は少なくとも約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%以上である。

10

20

#### 【0045】

そのような実施形態において、EpiDermFTなどのヒト皮膚モデル組織が用いられ得る。EpiDermFTは再構成ヒト皮膚等価物であり、ヒト皮膚に類似した形態的特徴及び成長特徴を示し、ヒト皮膚に関連する研究においてモデル組織系として広く用いられている(例えば、Zhao JF, Zhang YJ, Kubilus J, Jin XH, Santella RM, Athar M, Wang ZY, Bickers DR. Reconstituted 3-Dimensional Human Skin as a Novel in Vitro Model for Studies of Carcinogen, Biochemical and Biophysical Research Comms. 1999; 254: 49-53; Mahns A, Wolber R, Stab F, Klotz LO, Sies H, Contribution of UVB and UVA to UV-dependent stimulation of cyclooxygenase-2 expression in artificial epidermis, Photochem. Photobiol. Sci. 2004; 3: 257-62; Sedelnikova OA, Nakamura A, Kovalchuk O, Koturbash I, Mitchell SA, Marino SA, Brenner DJ, Bonner WM, DNA Double-Strand Breaks Form in Bystander Cells after Microbeam Irradiation of Three-dimensional Human Tissue Models, Cancer Res 2007; 67(9): 4295-4302; Hayden PJ, Burnham B, Klausner M, Kubilus J, Sheasgreen JE, Wound Healing Response of the EpiDerm Full Thickness (EpiDerm-FT) In Vitro Human Skin Equivalent after Solar UV Irradiation, Presented at the 5<sup>th</sup> World Congress, Berlin, Germany, August 2005及びThe Society of Investigative Dermatology Meeting, Providence, RI, April-May 2004, TR-328: 1-10を参照)。EpiDermFTサンプルはMatTek Corporation (Ashland,

30

40

50

MA) から得られ得る。

【0046】

いくつかの実施形態において、本明細書の方法によって提供される、JNK活性を評価するための皮膚生検の免疫組織化学的評価は、標的リン酸化c-Junまたはc-Junを対象とする一次抗体、及び発色酵素と結合した二次抗体を用いる二抗体IHCアッセイを含む。そのような実施形態において、二次抗体-レポーター結合体は基質反応混合物とともにインキュベートされた場合に赤色を沈着させ、これにより一次抗体標的複合体の場所をマーキングする。その後、例えばNikonの顕微鏡を用いた標準的な明視野照明でこの赤色を記録する。その後、顕微鏡画像を撮影し、電子画像は独立した熟練のスコアラによって、実施例で例示するようなガイドラインを用いてスコアリング(盲検)され得る。ある実施形態において、レーザー走査型サイトメーターを用いて探索的定量IHC分析が実施され得る。そのような実施形態において、上皮ケラチノサイトの核区画を画定するためにスライドをさらに処理する。そのような実施形態において、同じIHCスライドをヘマトキシリンで対比染色して核区画を標識し、その後、DAB染色(リン酸化c-Junまたはc-Junを対象とする一次抗体を標示する)には488nm、ヘマトキシリン染色には633nmの2つのフォトダイオードチャンネルを用いて走査して、ヘマトキシリンシグナルに基づいて核を計数し、次いで上皮中の各核についてDABシグナルを積分する。

10

【0047】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される方法により、化合物1の投与の前後のリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルの測定が可能となり、これを患者における化合物1によるJNKの阻害を測定するためのバイオマーカーとして用いることができる。

20

【0048】

本明細書で提供される方法のいくつかの実施形態において、該患者の皮膚の該第1部分と比較した該患者の皮膚の該第2部分におけるリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルの減少が、化合物1によるJNKの阻害を示す。

【0049】

本明細書で提供される方法のいくつかの実施形態において、該患者の皮膚の該第1部分と比較した該患者の皮膚の該第2部分におけるリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルの減少は、化合物1によるJNKの阻害に比例する。

30

【0050】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される方法により、化合物1の投与の前後のリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルの測定が可能となり、これを患者が化合物1に感受性があるかどうか判定するためのバイオマーカーとして用いることができる。

【0051】

本明細書で提供される方法のいくつかの実施形態において、該患者の皮膚の該第1部分と比較した該患者の皮膚の該第2部分におけるリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルの減少は、該患者が化合物1に感受性があることを示す。

40

【0052】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される方法により、化合物1の投与の前後のリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルの測定が可能となり、これを用いて患者におけるJNKに関連する疾患または病態の治療または予防のための化合物1の有効量を決定することができる。

【0053】

本明細書で提供される方法のいくつかの実施形態において、該患者の皮膚の該第1部分と比較した該患者の皮膚の該第2部分におけるリン酸化c-Junまたはc-Junのレベルの減少が、有効量の化合物1の投与を示すことと関連する。

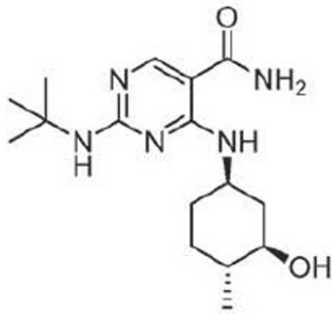
【0054】

50

## 5.3. 化合物 1

本明細書で提供される方法において有用な JNK インヒビターは以下：である。

## 【化 3】



1

10

## 【0055】

(代替名 2 - (tert - ブチルアミノ) - 4 - ((1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシルアミノ) - ピリミジン - 5 - カルボキサミドもしくは 2 - [(1, 1 - ジメチルエチル)アミノ] - 4 - [(1R, 3R, 4R) - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルシクロヘキシル]アミノ] - 5 - ピリミジンカルボキサミドを有する) または薬学的に許容可能なその立体異性体、互変異性体、固体形態、多形体、塩、水和物、クラスレート、もしくは溶媒和物(本明細書では「化合物 1」と総称する)である。化合物 1 は、2013 年 1 月 31 日に公開された米国特許出願公開第 2013/0029987 号、及び国際公開第 WO2012/145569 号に開示されており、それぞれの全内容を参照により本明細書に援用する。

20

## 【0056】

一実施形態において、化合物 1 は遊離塩基である。ある実施形態において、遊離塩基は固体である。ある実施形態において、遊離塩基は非晶質固体である。さらに別の実施形態では、遊離塩基は結晶質である。

## 【0057】

別の実施形態では、化合物 1 は遊離塩基の薬学的に許容可能な溶媒和物である。一実施形態において、溶媒和物は水和物である。別の実施形態では、水和物は結晶形態である。

30

## 【0058】

描写された構造とその構造に与えられた名称との間に相違がある場合、描写された構造が重視されるものとするに留意すべきである。さらに、構造のまたは構造の一部の立体化学が例えば太線または破線で示されていない場合、構造または構造の一部はその立体異性体をすべて包含すると解釈するものとする。

## 【0059】

## 5.4. 化合物 1 の作製方法

化合物 1 は、当該技術分野において公知の試薬及び方法を用いた従来の有機合成を用いて作製することができ、それには、2013 年 1 月 31 日に公開された米国特許出願公開第 2013/0029987 号、2014 年 1 月 30 日に出願された米国仮特許出願第 61/933,636 号、2014 年 7 月 16 日に出願された米国仮特許出願第 62/025,161 号、及び国際公開第 WO2012/145569 号に記載されている方法が挙げられ、それぞれの全内容を参照により本明細書に援用する。

40

## 【0060】

## 5.5. 投与方法及び用量

化合物 1 は、従来の調製形態、例えばカプセル、マイクロカプセル、錠剤、顆粒、粉末、トローチ、丸薬、座薬、注入、懸濁液、シロップ、パッチ、クリーム、ローション、軟膏、ゲル、スプレー、溶液及び乳濁液などで経口的に、局所的に、または非経口的に対象に投与することができる。好適な製剤は、一般に採用される方法によって、従来の有機ま

50

たは無機添加剤、例えば賦形剤（例えばスクロース、デンプン、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、グルコース、セルロース、タルク、リン酸カルシウムまたは炭酸カルシウム）、結合剤（例えばセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ポリプロピルピロリドン、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、アラビアゴム、ポリエチレングリコール、スクロースまたはデンプン）、崩壊剤（例えばデンプン、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルデンプン、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、炭酸水素ナトリウム、リン酸カルシウムまたはクエン酸カルシウム）、滑沢剤（例えばステアリン酸マグネシウム、軽質無水ケイ酸、タルクまたはラウリル硫酸ナトリウム）、着香剤（例えばクエン酸、メントール、グリシンまたはオレンジ粉末）、保存剤（例えば安息香酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、メチルパラベンまたはプロピルパラベン）、安定剤（例えばクエン酸、クエン酸ナトリウムまたは酢酸）、懸濁化剤（例えばメチルセルロース、ポリビニルピロリクロン（pyrrolidone）またはステアリン酸アルミニウム）、分散剤（例えばヒドロキシプロピルメチルセルロース）、希釈剤（例えば水）、及びベースワックス（例えばカカオバター、白色ワセリンまたはポリエチレングリコール）などを用いて調製することができる。医薬組成物中の化合物 1 の有効量は所望の効果を発揮することになるレベルであり得るが、例えば、経口投与及び非経口投与の両方について単位用量で、対象の体重に対して約 0.005 mg/kg ~ 対象の体重に対して約 10 mg/kg である。

10

#### 【0061】

対象に投与される化合物 1 の用量はかなり広範にわたって変化し、医療従事者の判断に依存し得る。一般に、化合物 1 は、ある対象において対象の体重に対して約 0.005 mg/kg ~ 対象の体重に対して約 10 mg/kg の用量で 1 日 1 回 ~ 4 回投与することができるが、上記の用量は対象の年齢、体重、及び医学的状态、ならびに投与の種類に応じて適切に変更され得る。一実施形態において、用量は対象の体重に対して約 0.01 mg/kg ~ 対象の体重に対して約 5 mg/kg、対象の体重に対して約 0.05 mg/kg ~ 対象の体重に対して約 1 mg/kg、対象の体重に対して約 0.1 mg/kg ~ 対象の体重に対して約 0.75 mg/kg、または対象の体重に対して約 0.25 mg/kg ~ 対象の体重に対して約 0.5 mg/kg である。一実施形態において、投与が 1 日 1 回行われる。いかなる場合においても、投与される化合物 1 の量は、有効成分の溶解性、用いられる製剤、及び投与経路などの要因に依存することになる。一実施形態において、局所濃度を適用することにより、約 0.01 ~ 10  $\mu$ M の細胞内曝露または濃度がもたらされる。

20

30

#### 【0062】

別の実施形態では、疾患または障害の治療または予防のための方法であって、それを必要としている対象に約 0.375 mg/日 ~ 約 750 mg/日、約 0.75 mg/日 ~ 約 375 mg/日、約 3.75 mg/日 ~ 約 75 mg/日、約 7.5 mg/日 ~ 約 55 mg/日または約 18 mg/日 ~ 約 37 mg/日の化合物 1 を投与することを含む、該方法を本明細書で提供する。

#### 【0063】

別の実施形態では、疾患または障害の治療または予防のための方法であって、それを必要としている対象に約 1 mg/日 ~ 約 1200 mg/日、約 10 mg/日 ~ 約 1200 mg/日、約 100 mg/日 ~ 約 1200 mg/日、約 400 mg/日 ~ 約 1200 mg/日、約 600 mg/日 ~ 約 1200 mg/日、約 400 mg/日 ~ 約 800 mg/日、約 60 mg/日 ~ 約 720 mg/日、約 240 mg/日 ~ 約 720 mg/日または約 600 mg/日 ~ 約 800 mg/日の化合物 1 を投与することを含む、該方法を本明細書で提供する。

40

#### 【0064】

別の実施形態では、化合物 1 の投与を含む、疾患または障害の治療または予防のための方法を本明細書で提供する。さらに別の実施形態では、1 日あたり約 10 mg/日、約 30 mg/日、約 60 mg/日、約 120 mg/日、約 160 mg/日、約 200 mg/日

50

、約 240 mg / 日、約 400 mg / 日、約 480 mg / 日、または約 720 mg / 日の化合物 1 の投与を含む、疾患または障害の治療及び予防のための方法を本明細書で提供する。特定の実施形態において、本明細書に開示の方法は、約 400 mg / 日、約 600 mg / 日または約 800 mg / 日の化合物 1 の投与を、それを必要とする対象に対して行うことを含む。特定の実施形態において、本明細書に開示の方法は、約 60 mg / 日、約 160 mg / 日または約 400 mg / 日の化合物 1 の投与を、それを必要とする対象に対して行うことを含む。

【0065】

別の実施形態では、約 10 mg / 日～約 720 mg / 日、約 10 mg / 日～約 480 mg / 日、約 60 mg / 日～約 720 mg / 日または約 240 mg / 日～約 720 mg / 日の化合物 1 の投与を、それを必要とする対象に対して行うことを含む、疾患または障害の治療または予防のための方法を本明細書で提供する。

10

【0066】

一実施形態において、約 10 mg / 日、約 30 mg / 日、約 60 mg / 日、約 120 mg / 日、約 240 mg / 日、約 480 mg / 日、または約 720 mg / 日の化合物 1 の投与を、それを必要とする対象に対して行うことを含む、疾患または障害の治療または予防のための方法を本明細書で提供する。一実施形態において、約 60 mg / 日、約 160 mg / 日、または約 400 mg / 日の化合物 1 の投与を、それを必要とする対象に対して行うことを含む、疾患または障害の治療または予防のための方法を本明細書で提供する。別の実施形態では、約 200 mg / 日の化合物 1 の投与を、それを必要とする対象に対して行うことを含む、疾患または障害の治療または予防のための方法を本明細書で提供する。一実施形態において、約 10 mg / 日、約 30 mg / 日、約 60 mg / 日、約 120 mg / 日、約 160 mg / 日、約 200 mg / 日、約 240 mg / 日、約 400 mg / 日、約 480 mg / 日、または約 720 mg / 日の化合物 1 の投与を、それを必要とする対象に対して行うことを含む、疾患または障害の治療または予防のための方法を本明細書で提供する。

20

【0067】

別の実施形態では、約 10 mg ～約 100 mg、約 1 mg ～約 200 mg、約 30 mg ～約 200 mg、約 35 mg ～約 1400 mg、約 125 mg ～約 1000 mg、約 250 mg ～約 1000 mg、または約 500 mg ～約 1000 mg の化合物 1 を含む単位用量製剤を本明細書で提供する。

30

【0068】

別の実施形態では、約 1 mg、約 5 mg、約 10 mg、約 15 mg、約 20 mg、約 30 mg、約 35 mg、約 50 mg、約 60 mg、約 70 mg、約 100 mg、約 120 mg、約 125 mg、約 140 mg、約 175 mg、約 200 mg、約 240 mg、約 250 mg、約 280 mg、約 350 mg、約 480 mg、約 500 mg、約 560 mg、約 700 mg、約 720 mg、約 750 mg、約 1000 mg または約 1400 mg の化合物 1 を含む単位用量製剤を本明細書で提供する。

【0069】

別の実施形態では、約 30 mg、約 100 mg または約 200 mg の化合物 1 を含む単位剤形を本明細書で提供する。

40

【0070】

医薬組成物、及び様々な剤形の化合物 1 は、毎日 1 回、2 回、3 回、4 回またはそれより多く投与することができる。一実施形態において、医薬組成物、及び様々な剤形の化合物 1 は、1 日 1 回 14 日間投与することができる。

【0071】

化合物 1 は簡便性の理由から経口投与することができる。一実施形態において、経口投与する場合、食事及び水とともに化合物 A を投与する。別の実施形態では、化合物 1（例えば顆粒または分散性錠剤）を水またはジュース（例えばリンゴジュースまたはオレンジジュース）中に分散させ、懸濁液として経口投与する。

50

## 【 0 0 7 2 】

化合物 1 は、皮内、筋肉内、腹腔内、経皮、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、舌下、大脳内、腔内、経皮、経直腸、経粘膜、吸入によって、または耳、鼻、目、もしくは皮膚に局所投与することもできる。投与様式は医療従事者の裁量に委ねられ、部分的に内科的疾患の部位によって決定され得る。

## 【 0 0 7 3 】

一実施形態において、追加の担体、賦形剤または媒体を含まずに化合物 1 を含有するカプセルを本明細書で提供する。

## 【 0 0 7 4 】

別の実施形態では、有効量の化合物 1 及び薬学的に許容可能な担体または媒体を含む組成物を本明細書で提供し、薬学的に許容可能な担体または媒体は、賦形剤、希釈剤、またはこれらの混合物を含むことができる。一実施形態において、組成物は医薬組成物である。

10

## 【 0 0 7 5 】

組成物は、錠剤、咀嚼錠、カプセル、溶液、非経口液、トローチ、座薬及び懸濁液などの形態とすることができる。組成物は、投与単位中に 1 日用量を含有するように、または 1 日用量の一部を好都合に含有するように製剤化することができ、単一の錠剤もしくはカプセルまたは都合の良い量の液体であり得る。一実施形態において、溶液は、水溶性塩、例えば塩酸塩などから調製される。一般に、すべての組成物は薬化学において公知の方法に従って調製される。カプセルは、化合物 1 と好適な担体または希釈剤とを混合し、適量の混合物をカプセル中に充填することによって調製することができる。通常の担体及び希釈剤としては、不活性粉末状物質、例えば多様な種類のデンプン、粉末状セルロース、特に結晶及び微結晶セルロース、糖、例えばフルクトース、マンニトール及びスクロースなど、穀粉及び類似の食用粉末などが挙げられるが、これらに限定されない。

20

## 【 0 0 7 6 】

錠剤は、直接圧縮、湿式造粒、または乾式造粒によって調製することができる。その製剤は通常、希釈剤、結合剤、滑沢剤、及び崩壊剤、ならびに化合物を包含する。典型的な希釈剤としては、例えば、様々な種類のデンプン、ラクトース、マンニトール、カオリン、リン酸カルシウムまたは硫酸カルシウム、無機塩（例えば塩化ナトリウムなど）、及び粉糖が挙げられる。粉末状セルロース誘導体も有用である。典型的な錠剤結合剤は、デンプン、ゼラチン及び糖、例えばラクトース、フルクトース、グルコースなどの物質である。天然ガム及び合成ガムも都合がよく、これには、アカシア、アルギネート、メチルセルロース、ポリビニルピロリジンなどが挙げられる。ポリエチレングリコール、エチルセルロース及びワックスも結合剤の役割を果たすことができる。

30

## 【 0 0 7 7 】

錠剤及びパンチがダイ中に付着するのを防止するために、錠剤製剤には滑沢剤が必要である場合もある。滑沢剤はタルク、ステアリン酸マグネシウム及びステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、ならびに水素添加植物油などの滑りやすい固体から選択することができる。錠剤崩壊剤は、濡れた際に膨潤して錠剤を崩壊させ、化合物を放出する物質である。これには、デンプン、粘土、セルロース、アルギン及びガムが挙げられる。より具体的には、例えば、トウモロコシデンプン及びジャガイモデンプン、メチルセルロース、寒天、ペントナイト、木材セルロース、粉末状天然海綿、カチオン交換樹脂、アルギン酸、グアーガム、シトラスパルプ、ならびにカルボキシメチルセルロース、さらにラウリル硫酸ナトリウムを用いることができる。錠剤は、フレーバー及びシーラントとして糖でコーティングするか、または被膜形成保護剤でコーティングして錠剤の溶出特性を調整することができる。組成物は、例えばマンニトールなどの物質を製剤で用いることによって咀嚼錠として製剤化することもできる。

40

## 【 0 0 7 8 】

化合物 1 を座薬として投与することが望ましい場合、典型的な基剤を用いることができる。カカオバターは従来の座薬基剤であり、ワックスの添加によって改質して融点をわず

50

かに上昇させることができる。特に様々な分子量のポリエチレングリコールを含む水混和性座薬基剤が広く用いられている。

【 0 0 7 9 】

化合物 1 の効果は適切な製剤によって遅延または延長させることができる。例えば、化合物 1 の徐溶解性ペレットを調製し、錠剤もしくはカプセル中に、または徐放性埋め込み型デバイスとして包含することができる。この技術は、複数の異なる溶出速度のペレットを作製し、カプセルにこれらのペレットの混合物を充填することも含む。錠剤またはカプセルは、予測可能な時間にわたって溶出を阻止する被膜でコーティングすることができる。非経口製剤であっても、化合物 1 を血清中に徐々に分散させる油性または乳化媒体中に化合物 1 を溶解または懸濁させることによって、長時間作用させることができる。

10

【 0 0 8 0 】

5 . 6 . 使用方法

ヒト及び他の患者における化合物 1 の効果を判定するモデルとしての、皮膚の UVB 照射及び免疫組織化学を用いたリン酸化 c - J u n の測定の使用法を本明細書で提供する。このモデルにより、問題となっている化合物が患者において J N K 標的を捉えるかが示され、また、臨床開発における用量選択の指針となる患者における用量 - 反応の評価が可能となるため、本明細書で提供される方法は化合物 1 の臨床開発を加速させることができる。

【 0 0 8 1 】

健康なヒト皮膚におけるベースラインのリン酸化 c - J u n 免疫反応性は UVB 曝露無しでは低い。UVB 照射はリン酸化 c - J u n 免疫反応性を確実に増加させる。増加は UVB 曝露後およそ 8 時間でプラトーになり始める。J N K の阻害は用量依存性である。したがって、UVB 照射及びリン酸化 c - J u n は、用量 - 反応の評価を含む、化合物 1 の評価を行うための、及び化合物 1 に感受性のある患者集団の特定を行うためのモデルとして用いることができる。

20

【 0 0 8 2 】

一実施形態において、化合物 1 に感受性のある患者（または患者集団）の特定方法を本明細書で提供し、この方法は、該患者の皮膚の第 1 部分を UVB 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 1 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、該患者に有効量の化合物 1 を投与すること、該患者の皮膚の第 2 部分を UVB 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 2 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに該患者の皮膚の該第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルと該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含み、該患者の皮膚の該第 1 部分と比較した該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少は、該患者が化合物 1 に感受性のあることを示す。ある実施形態において、この方法は、疾患の治療または予防に有効な量の化合物 1 の投与による本明細書で提供される疾患の治療または予防をさらに含む。化合物 1 に感受性のある患者の特定方法も本明細書で提供され、この方法は、1) UVB 照射で照射した患者の皮膚の第 1 部分から得た第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、2) 該患者に化合物 1 を投与した後、UVB 照射で照射した患者の皮膚の第 2 部分から得た第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに 3) 該第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルと該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含み、該第 1 皮膚サンプルに対する該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少は、該患者が化合物 1 に感受性のあることを示す。本明細書に開示の疾患の治療または予防の方法に用いるための化合物 1 も本明細書で提供し、この方法は、化合物 1 に感受性のある患者を特定するための該方法を含む。

30

40

【 0 0 8 3 】

ある実施形態において、患者の皮膚の UVB 照射、化合物 1 の投与、及び免疫組織化学を用いた皮膚におけるリン酸化 c - J u n 発現の測定を含む、患者における化合物 1 の効

50

果の評価方法を本明細書で提供する。患者に化合物 1 を投与した後、U V B 照射で照射した皮膚サンプルにおいて免疫組織化学を用いてリン酸化 c - J u n 発現を測定することを含む、患者における化合物 1 の効果の評価方法も本明細書で提供する。一実施形態において、M A P キナーゼのインヒビター（複数可）と併せて化合物 1 を投与する。一実施形態において、化合物 1 の効果は、患者における化合物 1 の用量反応関係である。いくつかの実施形態において、化合物 1 を経口投与する。ある実施形態において、この方法は、疾患の治療または予防に有効な量の化合物 1 の投与による本明細書で提供される疾患の治療または予防をさらに含む。本明細書に開示の疾患の治療または予防の方法に用いるための化合物 1 も本明細書で提供し、この方法は患者における化合物 1 の効果を評価するための該方法を含む。

10

#### 【 0 0 8 4 】

さらに、患者の皮膚におけるリン酸化 c - J u n を測定することによって患者における J N K の阻害を評価する方法を本明細書で提供する。一実施形態において、該患者の皮膚の第 1 部分を U V B 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 1 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、該患者に化合物 1 を投与すること、該患者の皮膚の第 2 部分を U V B 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 2 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに該患者の皮膚の該第 1 部におけるリン酸化 c - J u n のレベルと該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することによって、患者における J N K の阻害を測定する方法を本明細書で提供するが、この方法では、該患者の皮膚の該第 1 部分と比較した該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少が J N K の阻害を示す。ある実施形態において、この方法は、疾患の治療または予防に有効な量の化合物 1 の投与による本明細書で提供される疾患の治療または予防をさらに含む。患者における J N K の阻害を評価するための方法も本明細書で提供され、この方法は、1 ) U V B 照射で照射した患者の皮膚の第 1 部分から得た第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、2 ) 該患者に化合物 1 を投与した後、U V B 照射で照射した患者の皮膚の第 2 部分から得た第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに 3 ) 該第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルと該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含み、該第 1 皮膚サンプルに対する該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少が、J N K の阻害を示す。本明細書に開示の疾患の治療または予防の方法に用いるための化合物 1 も本明細書で提供し、この方法は患者における J N K の阻害を評価するための該方法を含む。

20

30

#### 【 0 0 8 5 】

別の実施形態では、患者における化合物 1 の投与のための用量反応関係を決定する方法を提供する。この方法は、該患者への様々な用量（例えば約 1 m g ~ 1 0 0 0 m g ）の化合物 1 の投与と、該患者の皮膚の第 1 部分を U V B 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 1 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、該患者にある用量の化合物 1 を投与すること、該患者の皮膚の第 2 部分を U V B 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 2 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに該患者の皮膚の該第 1 部におけるリン酸化 c - J u n のレベルと該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含む、各用量の化合物 1 に起因する該患者における J N K 阻害の量の決定とを含み、該患者の皮膚の該第 1 部分と比較した該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少は、化合物 1 による J N K の阻害に比例する。ある実施形態において、この方法は、疾患の治療または予防に有効な量の化合物 1 の投与による本明細書で提供される疾患の治療または予防をさらに含む。化合物 1 の投与の用量反応関係の決定方法も本明細書で提供され、この方法は、1 ) U V B 照射で照射した患者の皮膚の第 1 部分から得た第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、2 ) 該患者にある用量の化合物 1 を投与した後、U

40

50

V B 照射で照射した患者の皮膚の第 2 部分から得た第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに 3 ) 該第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルと該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含み、該第 1 皮膚サンプルに対する該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルの減少は J N K の阻害に比例する。本明細書に開示の疾患の治療または予防の方法に用いるための化合物 1 も本明細書で提供し、この方法は、化合物 1 の投与における用量反応関係を決定するための該方法を含む。

#### 【 0 0 8 6 】

他の実施形態において、患者における J N K に関連する疾患または病態の治療または管理のための化合物 1 の有効量の決定方法を提供し、この方法は、該患者への様々な用量 (例えば約 1 m g ~ 1 0 0 0 m g ) の化合物 1 の投与と、該患者の皮膚の第 1 部分を U V B 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 1 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 1 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、該患者にある用量の化合物 1 を投与すること、該患者の皮膚の第 2 部分を U V B 照射に曝露すること、該患者の皮膚の該第 2 部分のサンプルを得ること、該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに該患者の皮膚の該第 1 部におけるリン酸化 c - J u n のレベルと該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含み、各用量の化合物 1 に起因する該患者における J N K 阻害の量の決定とを含み、該患者の皮膚の該第 1 部分と比較した該患者の皮膚の該第 2 部分におけるリン酸化 c - J u n のレベルの 5 0 % の減少が、有効量の化合物 1 の投与を示す。ある実施形態において、この方法は、疾患の治療または予防に有効な量の化合物 1 の投与による本明細書で提供される疾患の治療または予防をさらに含む。化合物 1 の有効量の決定方法も本明細書で提供され、この方法は、1 ) U V B 照射で照射した患者の皮膚の第 1 部分から得た第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、2 ) 該患者にある用量の化合物 1 を投与した後、U V B 照射で照射した患者の皮膚の第 2 部分から得た第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n の量を測定すること、ならびに 3 ) 該第 1 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルと該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルとを比較することを含み、該第 1 皮膚サンプルに対する該第 2 皮膚サンプルにおけるリン酸化 c - J u n のレベルの 5 0 % の減少が、有効量の化合物 1 の投与を示す。本明細書に開示の疾患の治療または予防の方法に用いるための化合物 1 も本明細書で提供し、この方法は化合物 1 の有効量を決定するための該方法を含む。

#### 【 0 0 8 7 】

さらに別の実施形態では、化合物 1 による治療に対する患者のコンプライアンスの監視方法を提供する。この方法は、患者の皮膚のサンプル中で発現したリン酸化 c - J u n または c - J u n のレベルを測定すること、及び対照非治療サンプルでの発現レベルと比較して、患者の皮膚のサンプルにおいて発現レベルが増加または減少するかどうか判定することを含み、発現の減少が、化合物 1 による治療に対する患者のコンプライアンスを示す。ある実施形態において、この方法は、疾患の治療または予防に有効な量の化合物 1 の投与による本明細書で提供される疾患の治療または予防をさらに含む。

#### 【 0 0 8 8 】

別の実施形態では、化合物 1 に反応する可能性を有すると判定されている、または感受性があると判定されている患者 (または患者集団) への化合物 1 の投与を含む、患者 (または患者集団) の治療方法を本明細書で提供する。

#### 【 0 0 8 9 】

本明細書で提供される方法によって治療可能または予防可能な疾患としては、肝臓線維性障害、例えば非アルコール性脂肪肝炎、脂肪症 (すなわち脂肪肝)、肝硬変、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、肝炎、肝細胞癌など、及びアルコールの慢性摂取もしくはは反復摂取 (アルコール性肝炎)、感染 (例えば H C V などのウイルス感染)、肝臓移植、もしくはは薬物性肝障害 (例えばアセトアミノフェン中毒) に伴う肝繊維症が挙げられる。いくつかのそのような態様において、本明細書で提供される方法によって治療可能ま

たは予防可能な疾患としては、肝臓線維性障害、例えば非アルコール性脂肪肝炎、脂肪症（すなわち脂肪肝）、肝硬変、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、及び肝炎などをもたらす糖尿病または代謝症候群が挙げられる。

#### 【0090】

別の態様では、本明細書で提供される方法によって治療可能または予防可能な疾患としては、間質性肺線維症、全身性硬化症、強皮症、慢性移植腎症、抗体関連型拒絶反応、または狼瘡が挙げられる。いくつかのそのような実施形態において、狼瘡は紅斑性狼瘡（例えば円板状紅斑性狼瘡、もしくは皮膚紅斑性狼瘡など）または全身性狼瘡である。

#### 【0091】

別の態様では、本明細書で提供される方法によって治療可能または予防可能な疾患または病態としては、JNK1及び/またはJNK2の阻害によって治療可能または予防可能なものが挙げられる。そのような疾患の例としては、関節リウマチ；リウマチ性脊椎炎；骨関節炎；喘息、気管支炎；アレルギー性鼻炎；慢性閉塞性肺疾患；嚢胞性線維症；炎症性腸疾患；過敏性腸症候群；粘液性大腸炎；潰瘍性大腸炎；クローン病；ハンチントン病；肝炎；膵炎；腎炎；多発性硬化症；紅斑性狼瘡；2型糖尿病；肥満症；アテローム性動脈硬化症；血管形成術後の再狭窄；左心室肥大；心筋梗塞；卒中；心臓、肺、腸、腎臓、肝臓、膵臓、脾臓及び脳の虚血性障害；急性または慢性臓器移植拒絶反応；移植のための臓器の保存；臓器不全または四肢喪失（例えば限定はしないが虚血再灌流障害、外傷、全身性障害、自動車事故、圧挫損傷または移植不全に起因するものを含む）；移植片対宿主病；エンドトキシンショック；多臓器不全；乾癬；火、化学物質または放射線への曝露による熱傷；湿疹；皮膚炎；皮膚移植；虚血；手術または外傷性損傷（例えば車両事故、銃創、四肢挫傷）に関連する虚血状態；癰瘍；アルツハイマー病；パーキンソン病；細菌またはウイルス感染に対する免疫反応；悪液質；血管新生疾患及び増殖性疾患；固形腫瘍；ならびに結腸、直腸、前立腺、肝臓、肺、気管支、膵臓、脳、頭、首、胃、皮膚、腎臓、子宮頸部、血液、喉頭、食道、口、咽頭、膀胱、卵巣または子宮などの様々な組織の癌が挙げられる。

#### 【実施例】

#### 【0092】

##### 6. 実施例

以下の実施例は、別途詳細に記載する場合を除いて標準的な技術を用いて実施した。実施例は単に例示的なものであることを意図する。

#### 【0093】

##### 6.1. UV照射方法

成人正常ヒト新生児ケラチノサイト（HEKa）をScience Cellから入手した。細胞を10cmディッシュに播種し、インキュベートして付着させ、その後、一晚血清飢餓にした。細胞に50mJ/cm<sup>2</sup>のUVBを照射する1時間前に化合物1を添加した。UVB照射後さらに30分間、細胞を化合物1でインキュベートした。その後、Active Motifの核抽出キットを用いて細胞を溶解させ、核及び細胞質タンパク質を単離した。タンパク質を10%トリス・グリシンゲルで泳動させ、ニトロセルロース膜に転写した。プロットを1時間ブロッキングした。全c-Jun一次抗体及びリン酸化c-Jun一次抗体を添加して一晚インキュベートした。Licor二次抗体を添加してプロットをLi-Cor Odysseyで読み取った。4ドナーからのHEKa細胞についての結果を図1～5に示す。50mJ/cm<sup>2</sup>のUVB放射線によるc-JunのSer63におけるリン酸化の増加、及び化合物1による阻害が認められた（図1～5）。核及び細胞質タンパク質の分離も良好であった（c-Junは核内のみにある）（図1～4）。化合物1は用量に依存する形でc-JunのSer63におけるリン酸化を阻害する（図5）。

#### 【0094】

6.2. 臨床試験実施計画書：健康な被検者における化合物1の複数回投与の薬物動態及び薬力学ならびに食物及び製剤が化合物1の単回投与の薬物動態に及ぼす影響を評価する

## 2 部構成第 1 相試験

主要目的：

【0095】

第 1 部：ヒト皮膚の紫外線（UV）照射後の化合物 1 の複数回経口投与が JNK 活性に及ぼす影響の評価

【0096】

第 2 部：食物の存在下における製剤化した化合物 1 錠剤の薬物動態、及び単回経口投与後の製剤化した化合物 1 錠剤のカプセル中有効成分（AIC）製剤と比較した相対的生物学的利用能の評価。

【0097】

副次的目的：

【0098】

第 1 部：化合物 1 の単回及び複数回経口投与の安全性の評価

【0099】

第 2 部：食物とともに投与した場合の製剤化した化合物 1 錠剤の安全性及び忍容性の評価

【0100】

試験デザイン：本試験は、健康な被検者における化合物 1 の複数投与の薬物動態及び薬力学ならびに食物及び製剤が化合物 1 の単回投与の薬物動態に及ぼす影響を評価する 2 部構成第 1 相試験である。

【0101】

第 1 部：第 1 部は、UV 照射後の JNK 活性に対する化合物 1 の効果を評価するための非盲検複数回投与 3 期固定順序試験である。

【0102】

本試験は、スクリーニング段階（- 21 ~ - 2 日目）、投与前の最小紅斑量（MED）決定、ベースライン（- 1 日目）、化合物 1 の用量を増加させて投与する 3 つの治療 / 評価期間、及び追跡調査来院からなる。期間中に休薬期間はないものとする。

【0103】

投与後第 1 日目（ベースライン）、及び各投与期間の第 6 日目（6、12、及び 18 日目）に、MED 強度の 2 倍の UV 光を被検者の臀部の線引きした部位に照射する。ベースライン（- 1 日目）の照射は、6、12、及び 18 日目に予定される照射の時間とほぼ同じ時間、すなわち投与の 2 時間前に行うこと。UV 照射の 8 時間後、UV 曝露部位から皮膚パンチ生検を採取する。入院は 19 日目に終了する。期間 3 の最後の投与の 7 ~ 10 日後（すなわち 25 日目 ~ 28 日目）に、追跡調査来院を実施する。中止の日から 10 日以内に、早期中止（ET）来院を実施する。

【0104】

MED は期間 1 の投与の 10 日以内に決定する。MED が最初の試行で失敗する場合に備えて、MED を - 2 日目よりも早く行うことが推奨される。MED 評価には入院を必要としない。

【0105】

MED が適正である 16 名の健康で適格なスクリーニングされた被検者が、ベースライン評価（生検を 2 倍の MED で照射することを含む）について期間 1 の - 1 日目に試験実施施設に報告し、入院を開始するものとする。

【0106】

予定されたチェックイン処置後、被検者のベルトラインと臀裂との間の右側上臀部の皮膚試験部位に線引きする。試験部位は最低 3 cm × 3 cm とし、被検者をうつ伏せにさせてインクで（皮膚マーカーを用いて）輪郭を描く。被検者は臀部の一方の部位に 2 倍の MED の UV 照射を受けることになる。UV 照射の 8 時間（+ / - 10 分）後、UV 曝露部位から 1 つのベースライン皮膚パンチ生検を採取する。

【0107】

10

20

30

40

50

1 日目に、最低 8 時間の絶食後、被検者はおよそ 8 A M に試験薬の最初の投与を受ける。

【 0 1 0 8 】

すべての被検者は、以下の用量の化合物 1 を以下の固定順序で投与される。

【 0 1 0 9 】

治療 A : カプセル中有効成分 ( A I C ) としての 6 0 m g の化合物 1 、 1 日 1 回 6 日間、その後

【 0 1 1 0 】

治療 B : A I C としての 1 6 0 m g の化合物 1 、 1 日 1 回 6 日間、その後

【 0 1 1 1 】

治療 C : A I C としての 4 0 0 m g の化合物 1 、 1 日 1 回 6 日間

【 0 1 1 2 】

各期間中、 - 1 日目から ( またはベースラインの 2 倍の M E D が - 1 日目の日の早くに予定されている場合には早くも 2 日目から ) 、被検者を試験実施施設に居住させてもよく、安全性を十分に検討した上で試験に関する処置が完了した後、 1 9 日目に退院させる。

【 0 1 1 3 】

試験薬 ( A I C として ) はおよそ 2 4 0 m L の無炭酸水 ( 室温 ) で経口投与する。各投与期間の第 6 日目朝の投与後の最初の食事は、投与の 4 時間後に実施することとする。すべて他の投与日には、投与後最低 2 時間の絶食の後、次の食事 / 軽食を出すことができる。

【 0 1 1 4 】

ベースライン ( - 1 日目 ) 、 6 、 1 2 、及び 1 8 日目に、被検者のベルトラインと臀裂との間の右側上臀部の皮膚試験部位に線引きする。臀部右側を 3 つの異なる試験部位に分け、ベースライン及び 3 つの期間のそれぞれ ( 6 日目、 1 2 日目、及び 1 8 日目 ) での 2 倍の M E D 照射に対して位置を決めた部位 1 つを割り当てる。各試験部位は可能な限り大きくする ( 最低 3 c m × 3 c m ) 。被検者をうつ伏せにしてインクで ( 皮膚マーカーを用いて ) 試験部位領域に輪郭を描く。

【 0 1 1 5 】

被検者は、 6 、 1 2 、及び 1 8 日目の試験薬投与の 2 時間 ( + / - 1 0 分 ) 後に、臀部の一方の部位に 2 倍の M E D の U V 照射を受けることになる。ベースラインでの紫外線照射は、 1 日目に計画されている投与時間のおよそ 2 時間後に実施すること。 U V 曝露部位は左端開始して右端へと移行する順番 ( すなわちベースラインでは曝露部位 1 、期間 3 では曝露部位 4 ) で実施することが推奨される。

【 0 1 1 6 】

U V 照射の 8 時間 ( + / - 1 0 分 ) 後、 U V 曝露部位から 1 つの皮膚パンチ生検を採取する。試験全体を通して 4 つの生検を採取することになる、すなわち、ベースライン及び 1 期間につき 1 つの生検である。生検は、 C e l g e n e によって指定される第三者によって組織スライドへと処理され、免疫組織化学 ( I C H ) によって分析される。この第三者は治療期間 ( ベースライン及び投与 ) に対して盲検化されることとなる。

【 0 1 1 7 】

すべての予定された処置が完了した後、 1 9 日目に被検者を臨床施設から退院させる。

【 0 1 1 8 】

安全性評価のために指定された時点で、有害事象 ( A E ) 監視、理学的検査、バイタルサイン、心電図 ( E C G ) 、安全性臨床検査評価、及び創傷治癒の評価を行う。

【 0 1 1 9 】

化合物 1 レベルの分析のために、血液サンプルを所定の時点 ( 6 、 1 2 、及び 1 8 日目 : 投与前、投与 0 . 5 、 2 、 4 、 6 、 1 0 、 1 2 、及び 2 4 時間後 ) で連続して収集する。すべての評価は、事象及び処置の表に従って行う。

【 0 1 2 0 】

処置 ( 治療における変更を除く ) は、 3 つの期間全体を通して一貫したものとする。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 2 1 】

治療期間の間の活動、環境、食物、処置、及びスケジュールは、可能な限り一貫性を維持するべきである。

## 【 0 1 2 2 】

第 2 部：第 2 部は 3 つの期間による非盲検無作為化クロスオーバー試験である。この試験は、スクリーニング段階（ - 2 1 ~ - 2 日目）、ベースライン（ - 1 日目）、3 つの治療 / 評価期間、及び電話による追跡調査からなる。

## 【 0 1 2 3 】

1 2 名の適格な被検者がベースライン評価のために期間 1 の 1 日目に試験実施施設にチェックインすることとする。期間 1 の 1 日目に、引き続き試験への参加に適格であるとされた被検者を 3 つの投与順序の 1 つに無作為に割り当て、その間、被検者は以下の投与レジメンの 1 つを受けることとなる。

10

## 【 0 1 2 4 】

治療 D：A I C として 1 0 0 m g の化合物 1（× 2）の単回経口投与を絶食状態の下で行う。

## 【 0 1 2 5 】

治療 E：2 0 0 m g の化合物 1（× 1）（製剤化錠剤（複数可））の単回経口投与を絶食状態の下で行う。

## 【 0 1 2 6 】

治療 F：2 0 0 m g の化合物 1（× 1）（製剤化錠剤（複数可））の単回経口投与を摂食状態（標準的な高脂肪朝食）の下で行う。

20

## 【 0 1 2 7 】

## 【表 1】

表 1 :食物効果治療順序

| 順序   | 期間<br>1 | 期間<br>2 | 期間<br>3 |
|------|---------|---------|---------|
| 順序 1 | D       | E       | F       |
| 順序 2 | E       | F       | D       |
| 順序 3 | F       | D       | E       |

30

## 【 0 1 2 8 】

すべての被検者は投与前の少なくとも 1 0 時間一晩絶食する。治療 D 及び E（絶食）を受ける被検者は投与後少なくとも 4 時間絶食を継続する。

## 【 0 1 2 9 】

治療 F については、投与前 3 0 分以内に被検者は標準的な高脂肪（食事の総カロリー含有量のおよそ 5 0 %）、高カロリー（およそ 8 0 0 ~ 1 0 0 0 カロリー）の朝食を摂取する（F D A C e n t e r f o r D r u g E v a l u a t i o n a n d R e s e a r c h F o o d E f f e c t G u i d a n c e, ( F D A, 2 0 0 2 ) に基づく）。食事は、タンパク質、炭水化物、及び脂質からそれぞれおよそ 1 5 0、2 5 0、及び 5 0 0 ~ 6 0 0 カロリーが得られるものとすべきである。被検者は食事を提供されてから 3 0 分以内にすべての食事を摂取しなければならない。投与は食事を提供されてから 3 0 分（± 5 分）後に行わなければならない。

40

## 【 0 1 3 0 】

各試験期間中、被検者は - 1 日目に試験実施施設に入院する。最後の期間の 5 日目に試験処置が完了した時点で被検者を試験実施施設から退院させる。最後の化合物 1 投与から次の予定されている投与まで、少なくとも 7 日 ~ 1 0 日未満のウォッシュアウト期間によって各治療期間を区切る。各期間中、投与前、投与 0 . 5、1、1 . 5、2、2 . 5、3

50

、5、8、12、24、36、48、72、及び96時間後に血液サンプルを連続して収集し、血漿中の化合物1のレベルを測定する。

【0131】

必要であれば、予定された処置の後、期間1及び/または2の5日目の朝に被検者は施設を退院して、次の期間に戻ってきてもよい。ある場合において、互いに合意の上で、より長いウォッシュアウトが許容され得る。

【0132】

試験対象集団：健康な男性及び女性被検者。16名の被検者が第1部に登録する。12名の志願者が第2部に登録する。被検者は第1部または第2部のいずれかのみに参加することができる。

10

【0133】

試験の期間：第1部：およそ7週間（スクリーニングを含む）。第2部：およそ6週間（スクリーニングを含む）。

【0134】

試験の終了は、試験実施計画書及び/または統計解析計画書に予め規定されるように、試験が完了する最後の被検者の最後の来院日、または最後の被検者から一次、二次及び/または探索的分析に必要な最後のデータポイントを受け取った日のいずれかが遅い日と定義する。

【0135】

試験薬：AIC（30mg及び100mgの用量含量）及び製剤化錠剤（200mg）としての化合物1はCelgeneによりバルク容器で供給される。

20

【0136】

第1部：治療A（60mg）：AICとしての30mgの化合物1（×2）、1日1回6日間；治療B（160mg）：AICとしての30mgの化合物1（×2）+100mgの化合物1（×1）、1日1回6日間；治療C（400mg）：AICとしての100mgの化合物1（×4）、1日1回6日間

【0137】

第2部：治療D：AICとしての100mgの化合物1（×2）（200mg）、絶食状態で1日1回投与；治療E：製剤化錠剤としての化合物1（1×200mg）、絶食状態で1日1回投与；治療F：製剤化錠剤としての化合物1（1×200mg）、摂食状態で1日1回投与

30

【0138】

安全性評価の概要：試験全体を通して安全性を監視する。安全性評価は、有害事象（AE）報告、PE、バイタルサイン、12誘導ECG、安全性臨床検査（標準的な臨床化学、血液学、及び尿検査に加えて肝機能検査（LFT）、総コレステロール、トリグリセリド、高密度リポタンパク質（HDL）、及び低密度リポタンパク質（LDL）を含む）、併用薬/処置の検討、創傷治癒の評価、ならびに女性被検者に対する妊娠検査を含む。

【0139】

同意文書（ICF）に署名した時点から試験が完了するまでの試験全体を通して、かつ化合物1の最後の投与の後28日以内に試験責任医師が知るところとなった場合に、すべてのAE（及びその後のあらゆる時点で試験責任医師が知るところとなった、IPに関連すると疑われる重篤な有害事象（SAE））を監視して記録する。被検者がICFに署名した時点から研究が完了するまで、すべての併用薬及び処置を検討して記録する。追跡調査来院（第1部）または電話による追跡調査（第2部）をすべての被検者に対して計画する。被検者が何らかの理由で試験を中止した場合、ET来院を実施する。

40

【0140】

薬物動態評価の概要：試験の両方の部において、指定の時間に血液サンプルを収集して化合物1の血漿レベルを測定する。

【0141】

第1部：6、12、及び18日目の投与前、投与0.5、2、4、6、10、12、及

50

び24時間後に血液/血漿を収集する。

【0142】

定常状態における血漿PKパラメータとしては、次の $AUC_t$ （時間ゼロからタウまでの血漿中濃度-時間曲線下面積、ここでタウは投与間隔である）； $C_{max}$ （観察された最高血中濃度）、 $C_{min}$ （観察された最低血中濃度）、 $T_{max}$ （ $C_{max}$ に到達するまでの時間）が挙げられるがこれらに限定されない。

【0143】

第2部：各期間において投与前、投与0.5、1、1.5、2、2.5、3、5、8、12、24、36、48、72、及び96時間後に血液/血漿を収集する。

【0144】

定常状態におけるPKパラメータとしては、次の $AUC_{0-t}$ （時間ゼロから定量化可能な最終濃度までの血漿中濃度-時間曲線下面積）； $AUC_{\infty}$ （時間ゼロから無限大時間まで外挿した血漿中濃度-時間曲線下面積）； $CL/F$ （経口投与した場合の見かけの総血漿クリアランス）； $V_z/F$ （終末相に基づく、経口投与した場合の見かけの総分布容積）； $t_{1/2}$ （終末相排泄半減期）； $C_{max}$ （観察された最高血中濃度）；及び $T_{max}$ （ $C_{max}$ に到達するまでの時間）が挙げられるが、これらに限定される。

【0145】

薬力学評価の概要：MED決定のための個別の紫外線B（UVB）曝露：

【0146】

期間1の最初の投与の10日以内のUVB曝露はUV強度を漸増させたUVBに左臀部の6部位を曝露することからなる。

【0147】

UVB曝露のおよそ24時間後にMED決定。

【0148】

個別のUVB曝露（2倍のMED）：

【0149】

ベースライン（-1日目）、ならびに6、12、及び18日目：化合物1投与の2時間後に上臀部の単一部位を2倍のMEDのUVBに曝露。

【0150】

生検の収集：ベースライン（-1日目）、ならびに6、12、及び18日目：UVB照射の8時間後に各試験部位から1つのパンチ生検（直径およそ3mm、深さおよそ0.8mm）を収集する（全部で4つのパンチ生検）。

【0151】

生検サンプルの分析：免疫組織化学（IHC）アッセイによって生検を分析し、リン酸化c-Jun発現を分析する。同一の皮膚生検を用いて、他のバイオマーカー、例えば限定はしないがc-Junなどを調査してよく、別々に報告してよい。

【0152】

リン酸化c-JunのIHCデータは、治療に対して盲検化した熟練者による、アナログスコアリングシステムまたは積分光学密度の自動測定の内いずれによっても分析され得る。第1部についてのみ、治療に対して盲検化した熟練者が、組織切片内の染色された表皮ケラチノサイト核の強度及び数に基づいてリン酸化c-JunのIHCデータを0～4段階で主観的スコアリングを行う。

【0153】

6.3. UV照射の処置

この節は第1部の被検者にのみ適用される。

【0154】

紫外線源：

【0155】

Kodacelフィルターを備えたDermaPal（Daavlin製）（UVランプ）をこの試験において紫外線源として用いる。このランプは、選択する理由は、JNK

10

20

30

40

50

の活性化を実証している有効な先行試験において用いられたランプと類似するスペクトルを発生させるためである。

【 0 1 5 6 】

試験中はすべての被検者のUV照射で同一の紫外線源を用いるべきである。

【 0 1 5 7 】

限局された領域のみを確実に曝露するための装置をUVランプに取り付ける。さらに、皮膚の他の領域の不必要な曝露を回避するために適切なシールドを用いる。この装置は原資料に記録する。

【 0 1 5 8 】

UVランプの光学的出力のスペクトル分布は試験開始前に（第三者によって）校正されるべきであり、こうした報告書は試験ファイルに保管する。こうした報告書のコピーを試験ファイル中に入れて、試験報告書中で参照すべきである。

10

【 0 1 5 9 】

紫外線源の詳細を原資料及び試験報告書に記録する。

【 0 1 6 0 】

非保護皮膚の最小紅斑量（MED）の決定：

【 0 1 6 1 】

期間1への登録の7日以内（すなわち - 7 ~ - 1日目）に、UV強度を漸増させたUVBに左臀部の6つの非保護部位を曝露する。

【 0 1 6 2 】

20

UV強度の測定：

【 0 1 6 3 】

MED決定のためのUV曝露の前に、かつ6日目の2倍のMEDでのUV照射の前に、校正したUVランプから強度測定値（複数可）を取得する。

【 0 1 6 4 】

ランプは使用前に少なくとも15分間暖機すべきである。

【 0 1 6 5 】

曝露中の被検者の皮膚と同じだけランプから離れた距離で測定値を取得する。強度測定値を原資料に記録して、症例報告書（CRF）に記録する。

【 0 1 6 6 】

30

曝露中は被検者をうつ伏せにするべきである。

【 0 1 6 7 】

DermaPalに直接取り付けられた照射プレートに、吸光度：0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、及び0.5の6つの直径12.5mmの中性濃度フィルターを装着する。この装置は皮膚に一連のUV強度（例えば100.0%、80.0%、64.0%、51.2%、41.0%及び32.8%）を与える。この装置により、1回の曝露で各被検者の臀部に6つの異なるUVB線量を同時に送達することが可能となる。

【 0 1 6 8 】

曝露の継続時間は、フィッツパトリック皮膚タイプに基づいて試験開始前に決定し、E分として試験記録及びCRFに記録する。

40

【 0 1 6 9 】

曝露の開始及び終了時間を原資料及びCRFに各試験部位について記録する。被検者からのランプの距離は一定とする。この距離を測定して原資料及びCRFに記録する。

【 0 1 7 0 】

照射のおよそ24時間（±1時間）後、100ワット白熱白色電球で部位を照らし、適格な評価者が紅斑を目視で評価する。

【 0 1 7 1 】

MEDは、最小限に認識可能な皮膚発赤を引き起こす（すなわち最小線量のエネルギーを用いて曝露部位の境界の均一な発赤、紅斑等級1を生じる）最低UV線量である。

【 0 1 7 2 】

50

例えば、M E D が第 3 曝露部位で決定された場合、M E D は総曝露量の 6 4 % (または  $0.64 \times E$  分) となる。この例では、2 倍の M E D 曝露は  $2 \times 0.64 \times E$  分となる。これがこの被検者の残りの曝露に用いられる曝露の継続時間となる。

【 0 1 7 3 】

最初の曝露後に M E D の決定が不可能であった場合、被検者は最初の曝露から 1 週間以内に臀部の未処置の部位が再曝露され得る。新たな曝露の継続時間は、最初の曝露の継続時間の  $\pm 35\%$  以内とすべきである。

【 0 1 7 4 】

被検者を再スクリーニングする場合 (例えばその後の投与コホートのため)、少なくとも 1 週間の間隔を空けて追加の曝露が実施され得る。

【 0 1 7 5 】

M E D が適正なものとなるために：

【 0 1 7 6 】

a . 6 つの曝露部位のうち少なくとも 1 つが最小限に認識可能な紅斑の定義を満たさなければならず、かつ

【 0 1 7 7 】

b . この部位が最低強度の U V が曝露される場所であってはならない。

【 0 1 7 8 】

2 倍の曝露中は中性濃度フィルターを用いない。各被検者の M E D 及び曝露の時間を原資料及び C R F に記録する。

【 0 1 7 9 】

M E D 決定のために被検者を入院させてもよい。

【 0 1 8 0 】

紅斑等級段階：

【 0 1 8 1 】

以下の段階に従って U V 曝露の 2 4 時間 (  $\pm 1$  時間 ) 後に紅斑を評価する。

【 0 1 8 2 】

【 表 2 】

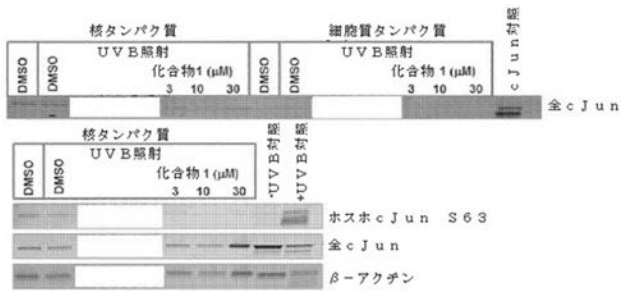
表 2： M E D 決定のための紅斑等級段階

| 等級  | 皮膚外観                                                         |
|-----|--------------------------------------------------------------|
| 0   | 可視反応なし                                                       |
| 0.5 | わずかな斑状の紅斑                                                    |
| 1   | 最小限に認識可能な皮膚発赤、<br>曝露部位の境界までの均一な発赤 (ピンク)。<br>これを M E D と定義する。 |
| 2   | 中等度の紅斑 (限定的な発赤)                                              |
| 3   | 強度の紅斑 (非常に激しい発赤)                                             |

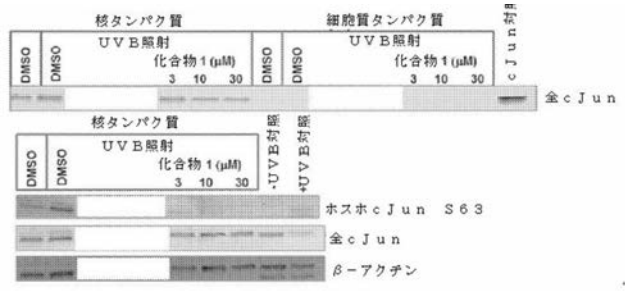
【 0 1 8 3 】

いくつかの参照文献を引用したが、その開示全体を参照により本明細書に援用する。

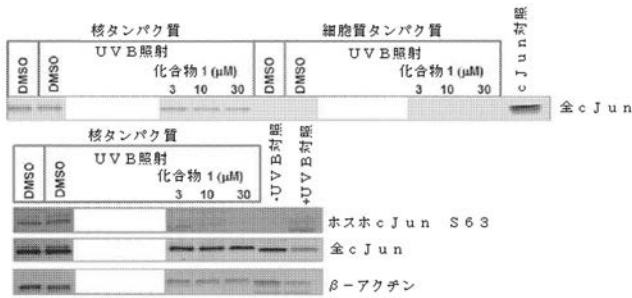
【図 1】



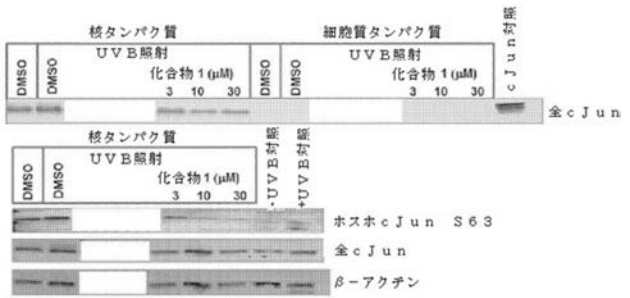
【図 3】



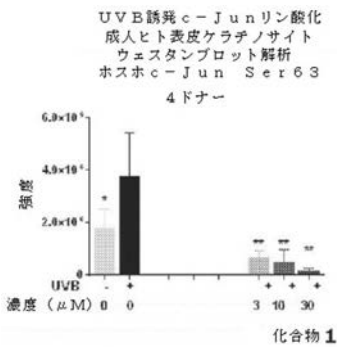
【図 2】



【図 4】



【図 5】



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2015/065767

| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br>IPC(8) - C07D 239/48 (2016.01)<br>CPC - C07D 239/48 (2016.02)<br>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                |                                                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>IPC(8) - A61K 31/505; C07D 239/42, 239/48, 247/02 (2016.01)<br>CPC - A61K 31/505; C07D 239/42, 239/48, 247/02 (2016.02)<br>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched<br>USPC - 514/275; 544/122, 323; IPC(8) - A61K 31/505; C07D 239/42, 239/48, 247/02; CPC - A61K 31/505; C07D 239/42, 239/48, 247/02 (keyword delimited)<br>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br>Orbit, Google Patents, Google, PubChem, SureChem<br>Search terms used: c-jun, JNK, tertbutylamino, methylcyclohexylamino, pyrimidino                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                |                                                                                                    |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                |                                                                                                    |
| Category*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages             | Relevant to claim No.                                                                              |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | US 2013/0029987 A1 (BENNETT et al) 31 January 2013 (31.01.2013) entire document                | 1-22                                                                                               |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | US 2011/0281873 A1 (CHIANG et al) 17 November 2011 (17.11.2011) entire document                | 1-22                                                                                               |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | US 2005/0026967 A1 (GREEN et al) 03 February 2005 (03.02.2005) entire document                 | 1-22                                                                                               |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | WO 2009/145856 A1 (PORTOLA PHARMACEUTICALS, INC) 03 December 2009 (03.12.2009) entire document | 1-22                                                                                               |
| P, X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | US 2015/0210650 A1 (SIGNAL PHARMACEUTICALS LLC) 30 July 2015 (30.07.2015) entire document      | 1-22                                                                                               |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                |                                                                                                    |
| * Special categories of cited documents:<br>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date<br>"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)<br>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed<br>"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<br>"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<br>"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<br>"&" document member of the same patent family |                                                                                                |                                                                                                    |
| Date of the actual completion of the international search<br>04 February 2016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                | Date of mailing of the international search report<br><b>16 FEB 2016</b>                           |
| Name and mailing address of the ISA/<br>Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents<br>P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450<br>Facsimile No. 571-273-8300                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                | Authorized officer<br>Blaine R. Copenheaver<br>PCT Helpdesk: 571-272-4300<br>PCT OSP: 571-272-7774 |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2015/065767

**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.:  
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:
3. ☒ Claims Nos.: 23-33  
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:

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 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.

## フロントページの続き

| (51) Int.Cl.                   |  | F I           | テーマコード ( 参考 ) |
|--------------------------------|--|---------------|---------------|
| <b>A 6 1 P 11/00 (2006.01)</b> |  | A 6 1 P 11/00 |               |
| <b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b> |  | A 6 1 P 35/00 |               |
| <b>A 6 1 P 31/04 (2006.01)</b> |  | A 6 1 P 31/04 |               |
| <b>A 6 1 P 37/06 (2006.01)</b> |  | A 6 1 P 37/06 |               |
| <b>A 6 1 P 25/32 (2006.01)</b> |  | A 6 1 P 25/32 |               |
| <b>A 6 1 P 29/00 (2006.01)</b> |  | A 6 1 P 29/00 |               |

(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,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,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NL,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,UA,UG,US

(72)発明者 イング イエ

アメリカ合衆国 ニュージャージー州 0 8 8 3 6 マーティンスビル タロ ロード 1 0 9 0

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA10 BC42 MA01 MA04 MA52 NA14 ZA18 ZA75 ZB08

ZB11 ZB26 ZB35 ZC33 ZC41

|                |                                                                                                                                                                                                                    |         |            |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 测量皮肤中c-Jun N-末端激酶抑制的方法                                                                                                                                                                                             |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">JP2018500560A</a>                                                                                                                                                                                      | 公开(公告)日 | 2018-01-11 |
| 申请号            | JP2017532050                                                                                                                                                                                                       | 申请日     | 2015-12-15 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 西格诺药品有限公司                                                                                                                                                                                                          |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 信号制药有限责任公司                                                                                                                                                                                                         |         |            |
| [标]发明人         | ゲラルドスコットバーデンホラン<br>イングイエ                                                                                                                                                                                           |         |            |
| 发明人            | ゲラルド スコット バーデン ホラン<br>イング イエ                                                                                                                                                                                       |         |            |
| IPC分类号         | G01N33/53 A61K31/505 A61P43/00 A61P1/16 A61P3/06 A61P11/00 A61P35/00 A61P31/04 A61P37/06 A61P25/32 A61P29/00                                                                                                       |         |            |
| CPC分类号         | A61K31/505 A61P1/16 A61P3/06 A61P11/00 A61P25/32 A61P29/00 A61P31/04 A61P35/00 A61P37/06 A61P43/00 G01N33/5008 G01N33/5082 G01N33/6881 G01N2333/4706 G01N2440/14 G01N2800/20 A61K9/0053 G01N2333/91205 G01N2800/52 |         |            |
| FI分类号          | G01N33/53.Y A61K31/505 A61P43/00.111 A61P1/16 A61P3/06 A61P11/00 A61P35/00 A61P31/04 A61P37/06 A61P25/32 A61P29/00                                                                                                 |         |            |
| F-TERM分类号      | 4C086/AA01 4C086/AA10 4C086/BC42 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/MA52 4C086/NA14 4C086/ZA18 4C086/ZA75 4C086/ZB08 4C086/ZB11 4C086/ZB26 4C086/ZB35 4C086/ZC33 4C086/ZC41                                               |         |            |
| 代理人(译)         | 石川 彻                                                                                                                                                                                                               |         |            |
| 优先权            | 62/092531 2014-12-16 US                                                                                                                                                                                            |         |            |
| 其他公开文献         | JP2018500560A5                                                                                                                                                                                                     |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a>                                                                                                                                                                                          |         |            |

# 摘要(译)

如本文所用，2- ( 叔丁基氨基 ) -4 - ( ( 1R, 3R, 3R, 3R, 3R, 4R ) -3-羟基-4-甲基环己基氨基 ) - 嘧啶-5-甲酰胺或其药学上可接受的立体异构体，互变异构体，固体形式，多晶型物，盐，水合物，包合物，或本发明化合物的溶剂化物。该分析中，剂量 - 评价反应，和2- ( 叔丁基氨基 ) -4 - ( ( 1R, 3R, 4R ) -3-羟基-4-甲基环己基氨基 ) - 嘧啶-5-甲酰胺或其药学上可接受的互变异构体，固体形式，多晶型物，盐，水合物，包合物，或确定易患溶剂化物的患者群体。

Figure 1

