

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6071012号  
(P6071012)

(45) 発行日 平成29年2月1日 (2017.2.1)

(24) 登録日 平成29年1月13日 (2017.1.13)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 487/04 (2006.01)

C O 7 D 487/04 1 4 3

A 6 1 P 31/14 (2006.01)

C O 7 D 487/04 C S P

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 31/14

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/12

A 6 1 K 31/519 (2006.01)

A 6 1 K 45/00

請求項の数 11 (全 24 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-535117 (P2014-535117)  
 (86) (22) 出願日 平成24年10月15日 (2012.10.15)  
 (65) 公表番号 特表2014-528468 (P2014-528468A)  
 (43) 公表日 平成26年10月27日 (2014.10.27)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2012/070403  
 (87) 国際公開番号 W02013/053942  
 (87) 国際公開日 平成25年4月18日 (2013.4.18)  
 審査請求日 平成27年10月9日 (2015.10.9)  
 (31) 優先権主張番号 102011116373.9  
 (32) 優先日 平成23年10月14日 (2011.10.14)  
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)  
 (31) 優先権主張番号 102011116384.4  
 (32) 優先日 平成23年10月20日 (2011.10.20)  
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

(73) 特許権者 509017310  
 ドリッテ パテントボルトフォーリオ ベ  
 タイリグングスゲゼルシャフト エムペー  
 ハー ウント コー. カーゲー  
 ドイツ国 1 2 5 2 9 シェーネフェルト  
 /ヴァルターズドルフ ベルリーナーシュ  
 トラーセ 1  
 (74) 代理人 100082647  
 弁理士 永井 義久  
 (72) 発明者 ヴェツラー、ペーター  
 ドイツ国 9 9 1 0 1 エルフルト-ヴ  
 インディシュホルツハウゼン ヒンテル  
 デン ゲルテン 3

最終頁に続く

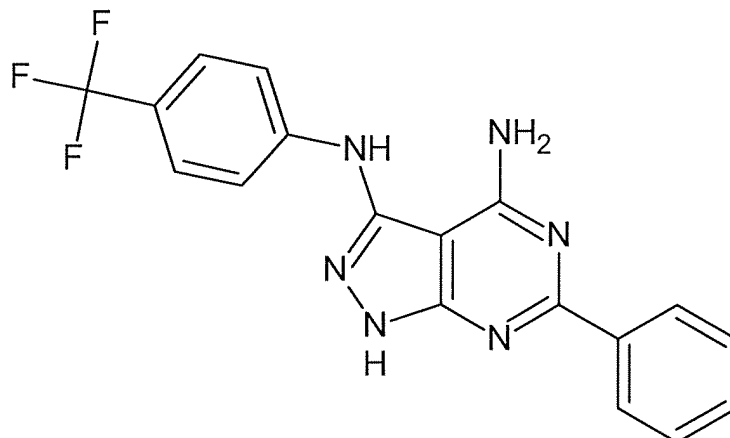
(54) 【発明の名称】 4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン誘導体、そ  
 の製造および抗ウイルス剤としての使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記一般式の 4-アミノ-3-(4-トリフルオロメチルフェニル)アミノ-6-フェ  
 ニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン、またはその薬学的に許容される塩、またはそ  
 のプロファルマコンであって、一位のピラゾールヘテロ原子がイミノ (フェニル) メチル  
 置換基により置換された化合物であるプロファルマコン。

【化 1 3】



## 【請求項 2】

請求項 1 記載の 4-アミノ-3-(4-トリフルオロメチルフェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジンを含む医薬組成物。

## 【請求項 3】

薬学的に許容される担体も含む、請求項 2 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 4】

1 種または数種の他の有効成分も含む、請求項 2 または 3 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 5】

前記 1 種または数種の他の有効成分が抗ウイルス剤である、請求項 4 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 6】

薬学的に許容される担体による請求項 1 記載の 4-アミノ-3-(4-トリフルオロメチルフェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジンの製剤化を含む、医薬組成物を製造する方法。

## 【請求項 7】

薬物として使用するための、請求項 1 記載の 4-アミノ-3-(4-トリフルオロメチルフェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン。

## 【請求項 8】

ウイルス感染症の予防的または治療的処置に使用するための、請求項 1 記載の 4-アミノ-3-(4-トリフルオロメチルフェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン。

## 【請求項 9】

前記ウイルス感染症がピコルナウイルス感染症であるという事実により特徴付けられる、請求項 8 に記載の 4-アミノ-3-(4-トリフルオロメチルフェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン。

## 【請求項 10】

極性有機溶媒中での、遊離塩基のベンズアミジンによる 5-アミノ-4-シアノ-3-フェニルアミノピラゾールの変換を含む、4-アミノ-3-(4-トリフルオロメチルフェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジンを製造する方法。

## 【請求項 11】

前記 4-アミノ-3-(4-トリフルオロメチルフェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジンが、次いで、テトラヒドロフランまたはその水もしくは有機溶媒との混合物を使用した再結晶により、あるいはテトラヒドロフランと水または有機溶媒中熱溶液を使用した沈殿により再結晶される、請求項 10 に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、新規な型の 4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン誘導体、および好ましくはピコルナウイルス感染症を治療するための抗ウイルス剤としてのその使用に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

ピコルナウイルス、特にエンテロウイルスおよびライノウイルスは、ヒトの広範囲の疾患の原因である。エンテロウイルスは、60 種を超える異なるヒト病原性血清型を含む (Melnick J in: Fields B et al., editors. Virology. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996, 655-712)。エンテロウイルス、エコーウイルス、コクサッキーウイルス A 型および B 型感染症は通常、非特異性熱の経過をたどり、しばしばライノウイルス感染症と識別することができない上気道の疾患を引き起こす。流行病としても生じ得るより深刻な臨床像には、出血性結膜炎、ヘルパンギナ、手足口病、無菌性髄膜

10

20

30

40

50

炎、脳炎および急性心筋炎が含まれる。したがって、異なるウイルス型が同じ症状を引き起こすことがある、または1種のウイルス型が極めて異なる臨床像を引き起こすことがある。ウイルス診断への現代の高感度法の導入により、持続性エンテロウイルスRNAならびにウイルスタンパク質は、2型糖尿病、ポリオ筋炎 (poliomyositis)、特に慢性心筋炎などの慢性疾患と関連して同定され得る。持続性エンテロウイルス感染症はまた、無ガンマグロブリン症の患者にも起こり、持続性エンテロウイルス髄膜脳炎としてあらわれる。皮膚筋炎または多発性筋炎が、通常付随症状として生じる。ライノウイルスは約100種の血清型を含む。ライノウイルス感染症は、ヒトの上気道の全呼吸器疾患の半数超を引き起こす (Couch RB in: Fields BM et al., editors: Fields Virology, 3rd edition. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996, 713-35)。約10日の疾患の平均持続時間で、ほとんど無害の経過をたどるこれらの風邪は、毎年数百万のGP来診をもたらし、学校および会社を休ませる。考えられる合併症には、中耳炎、副鼻腔炎、喘息憎悪および嚢胞性線維症ならびに特に幼児、高齢患者および免疫抑制患者の下気道の感染症が含まれる。型の多様性のために、予防的ワクチン接種は現在不可能である。これらの病気に関連する労働日の損失、GP来診および医薬品の結果として、ライノウイルスおよびエンテロウイルスは毎年相当なコストを意味する。ウイルス特異的治療剤が利用不可能であるために、これらのウイルス感染症の治療は、現在まで、対症療法となっている (Rotbart HA: Antiviral Res 2002, 53 (2), 83-98)。さらに、抗生物質が通常、不必要に処方される。そのため、新規なウイルス抑制剤 (virstatika) の開発が必要不可欠である。

#### 【0003】

エンテロウイルスおよびライノウイルス感染症の潜在的治療についての集中的な研究の結果は、概説論文で2002年にRotbartにより要約された (Rotbart HA: Antiviral Res 2002, 53 (2), 83-98)。例えば、リバビリンは、宿主細胞酵素、イノシン5'-リン酸 (IMP) デヒドロゲナーゼを阻害する。プリンスクレオチドを合成するためのこの鍵酵素を不活性化することにより、ピコルナウイルスの複製がインビトロおよびインビボで阻害される。さらに、リバビリンは、ポリオウイルスのゲノムに直接挿入され、それによってRNAウイルスにとっての突然変異原としても作用する (Crotty S et al.: Nat Med, 2000, 6 (12), 1375-9)。深刻な副作用のために、これらの化合物はライノウイルスおよびエンテロウイルス感染症を治療するために使用されない。ウイルスRNA合成を阻害するための特異的標的はゲノム自体、ウイルスRNA依存性RNAポリメラーゼならびに複製複合体に必要な他のウイルスタンパク質である。グアニジン、チオセミカルバゾン、ベンズイミダゾール、ジピリダモールおよびフラボンが、長い間、細胞培養液中の異なるピコルナウイルスのポリメラーゼの阻害剤として知られてきた。それにより、様々な程度の成功がインビボで達成された。エンビロキシム誘導体は、広域の抗エンテロウイルスおよび抗ライノウイルス活性を有する最も有望な候補薬であるとみなされている。エンビロキシムは、ウイルス増殖におけるRNA中間体の形成に必要なウイルスタンパク質3Aに結合することにより、プラス鎖RNAの合成を妨害する (Heinz BA and Vance LM: J Virol, 1995, 69 (7), 4189-97)。臨床研究では、中等度もしくは全く無い治療効果、劣った薬物動態および望ましくない副作用が観察された (Miller FD et al.: Antimicrob Agents Chemother, 1985, 27 (1), 102-6)。現在まで、より優れた生物学的利用能 (bioavailability) および耐容性を有する新規な誘導体についての入手可能な臨床データは存在しない。

#### 【0004】

ウイルスプロテアーゼ2Cの微細構造および機能についての知見に基づいて、プロテアーゼ阻害剤AG7088が開発された。AG7088は、細胞培養液中、ナノモル濃度範囲で48種のライノウイルス型ならびにコクサッキーウイルスA21、B3、エンテロウ

10

20

30

40

50

イルス70およびエコーウイルス11に対して作用する(Pattick AK et al.: *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(10), 2444-50)。臨床研究の結論付けられたデータは現在まで知られていない。

#### 【0005】

ウイルスのカプシドの分子構造の解明により、カプシド遮断剤、「WIN物質」の標的化設計の必要条件が作成された(Diana GD: *Curr Med Chem* 2003, 2, 1-12)。これらの遮断剤は、ライノウイルスおよびエンテロウイルスの吸着および／または脱外被を妨げる。WIN物質のいくつかのみが、ピコルナウイルスの個々の属型またはウイルス型に対して極めて特異的に作用する。他の誘導体は、ライノウイルスならびにエンテロウイルスの複製を阻害する。WIN物質には、例えば、アリルドン、ジソキサリルおよびピロダビルが含まれる。これらの化合物は、細胞培養液中で極めて優れた抗ウイルス効果を示した。低い溶解度(アリルドン)、低い生物学的利用能(アリルドンおよびジソキサリル)、速い代謝および排出(ジソキサリルおよびWIN54954)ならびに副作用、例えば、皮膚発疹(WIN54954)が臨床応用を不可能にした。別のカプシド阻害剤、プレコナリルに大きな望みが置かれた。プレコナリルは、極めて優れた経口生物学的利用能を有し、ウイルスカプシド中の疎水性ポケットに結合した後、ライノウイルス、エコーウイルスおよびコクサッキーウイルスの侵入を阻害する(Pear DC et al.: *Antimicrob Agents Chemother* 1999, 43(9), 2109-15; McKinlay MA et al.: *Annu Rev Microbiol* 1992, 46, 635-54)。そのため、これは、一般的な風邪からウイルス性髄膜炎または心筋炎まで広範囲のウイルス疾患に対して潜在的に有効である。ライノウイルス、エンテロウイルス71およびコクサッキーウイルスB3の場合には、耐性が観察された(Ledford RM et al.: *J Virol* 2004, 78(7), 3663-74; Groarke JM et al.: *J Infect Dis* 1999, 179(6), 1538-41)。エンテロウイルス髄膜炎(Abzug MJ et al.: *Pediatr Infect Dis J*, 2003, 22, 335-41)ならびにライノウイルスにより引き起こされる呼吸器感染症(Hayden FG et al.: *Antivir Ther*, 2002, 7, 53-65; Hayden FG et al.: *Clin Infect Dis*, 2003, 36, 1523-32)の小児および成人の臨床研究が成功した。しかしながら、証明された治療効果は、米国でライノウイルス感染症を治療するためのプレコナリル(Picovir、Viropharma、米国)の認可に十分ではない。2002年3月に、対応する出願は、好ましくない危険性-利益評価の理由で、米国食品医薬品局:FDAにより拒絶された。

#### 【0006】

ピラゾロピリミジンも、例えば、アデノシンキナーゼ(欧州特許第496617号明細書または米国特許第4904666号明細書)、キサンチンオキシゲナーゼ(J. Heterocyc. Chem. 19, 1565, 1982)または他の酵素系(米国特許第2965643号明細書および米国特許第3600389号明細書)を阻害する、CRFアンタゴニスト(副腎皮質刺激ホルモン放出因子アンタゴニスト)として記載されてきた(例えば、欧州特許第674642号明細書および欧州特許第691128号明細書)。

#### 【0007】

したがって、ライノウイルスおよびエンテロウイルス疾患を治療するための極めて有効な抗ウイルス剤を開発することが、抗ウイルス研究の重要な部分であり続けている。新規な化合物は十分に耐用性で、例えば、プレコナリルの場合の既存の耐性を克服すべきである。

#### 【0008】

国際公開第00/43394A号パンフレットは、置換ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン誘導体および抗ウイルス剤としてのその使用を開示している。

## 【0009】

欧州特許第2049540号明細書も、4-アミノ-3-アリアルアミノ-6-アリアルピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン誘導体および抗ウイルス剤としてのその使用を開示している。

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0010】

【特許文献1】欧州特許第496617号明細書

【特許文献2】米国特許第4904666号明細書

【特許文献3】米国特許第2965643号明細書

10

【特許文献4】米国特許第3600389号明細書

【特許文献5】欧州特許第674642号明細書

【特許文献6】欧州特許第691128号明細書

【特許文献7】国際公開第00/43394A号パンフレット

【特許文献8】欧州特許第2049540号明細書

## 【非特許文献】

## 【0011】

【非特許文献1】Melnick J in: Fields B et al., editors. Virology. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996, 655-712

20

【非特許文献2】Couch RB in: Fields BM et al., editors: Fields Virology, 3rd edition. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996, 713-35

【非特許文献3】Rotbart HA: Antiviral Res 2002, 53(2), 83-98

【非特許文献4】Rotbart HA: Antiviral Res 2002, 53(2), 83-98

【非特許文献5】Crotty S et al.: Nat Med, 2000, 6(12), 1375-9

【非特許文献6】Heinz BA and Vance LM: J Virol, 1995, 69(7), 4189-97

30

【非特許文献7】Miller FD et al.: Antimicrob Agents Chemother, 1985, 27(1), 102-6

【非特許文献8】Pattick AK et al.: Antimicrob Agents Chemother, 1999, 43(10), 2444-50

【非特許文献9】Diana GD: Curr Med Chem 2003, 2, 1-12

【非特許文献10】Pevear DC et al.: Antimicrob Agents Chemother 1999, 43(9), 2109-15

【非特許文献11】McKinlay MA et al.: Annu Rev Microbiol 1992, 46, 635-54

40

【非特許文献12】Ledford RM et al.: J Virol 2004, 78(7), 3633-74

【非特許文献13】Groarke JM et al.: J Infect Dis 1999, 179(6), 1538-41

【非特許文献14】Abzug MJ et al.: Pediatr Infect Dis J, 2003, 22, 335-41

【非特許文献15】Hayden FG et al.: Antivir Ther, 2002, 7, 53-65

【非特許文献16】Hayden FG et al.: Clin Infect Di

50

s, 2003, 36, 1523-32

【非特許文献17】J. Heterocyc. Chem. 19, 1565, 1982

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

本発明の目的は、エンテロウイルスおよびライノウイルスに対する抗ウイルス剤として使用することができる、ならびに例えば、物質の安定性および生物学的利用能に関して、先行技術の述べられた欠点を回避することができる、他のピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン誘導体ならびにその製造および使用を特定することである。

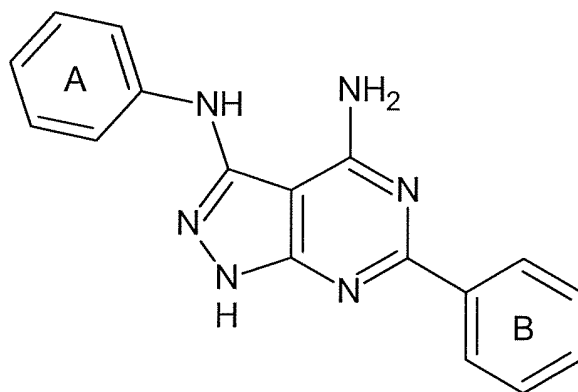
【課題を解決するための手段】

10

【0013】

この目的は、その薬学的に耐容される塩化合物およびそのプロファルマコン (propharmaka) を含む、一般式 I の特異的に置換された 4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン誘導体により達成される。

【0014】



20

I

【0015】

式中、フェニル基 A および B の少なくとも 1 つの中の少なくとも 1 個の水素原子は、0.23 より大きいハメット定数  $\sigma_p$  を有する置換基  $R^H$  により置き換えられており、フェニル基 A および B の各々の中の全てのさらなる水素原子は互いに独立に、 $R^1$  残基により置き換えられていてもよく、

30

各  $R^1$  は独立に、ハロゲン、1~7 個の鎖構成 (kettengliedern) を有する飽和もしくは不飽和、直鎖もしくは分枝脂肪族遊離基、1~8 個の鎖構成を有する飽和もしくは不飽和、直鎖もしくは分枝アルカノール (alkanols) 遊離基、 $NO_2$ 、 $CN$ 、 $CONR^2$ 、 $COR^2$ 、 $COOR^2$ 、 $OR^2$ 、 $SR^2$ 、 $NR^2$ 、 $SO_2NR^2$ 、 $CX_3$ 、 $CR^2X_2$ 、 $OCX_3$ 、 $OCR^2X_2$  またはフェニルであってもよく；

各  $R^2$  は独立に、水素、1~7 個の鎖構成を有する飽和もしくは不飽和、ハロゲン化もしくは非ハロゲン化、直鎖もしくは分枝脂肪族遊離基、ベンジル、フェニルまたはナフチル、ヘテロ原子 N、S もしくは O を有する飽和もしくは不飽和、モノーもしくはポリ複素環であり、上記基の各々は独立に、フッ素、塩素、臭素、トリフルオロメチル、アルキル、アルコキシ、シアノ、ニトロ、アミノ、アミノアルキル、 $C(O)$ -アルキル、 $C(O)O$ -アルキル、ベンジル、フェニルまたはナフチルで置換されていてもよく；

40

X は独立に、F、Cl、Br または I である。

【0016】

従属請求項で、特異的に置換された 4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン誘導体の利点、ならびに潜在的用途が説明されるが、本発明を何等限定しない。

【0017】

50

フェニル基AおよびBの少なくとも1つの中の少なくとも1個の水素原子が、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{CN}$ 、 $\text{CF}_3$ 、 $\text{CCl}_3$ 、 $\text{CBr}_3$ 、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{OCCl}_3$ 、 $\text{OCBr}_3$ 、 $\text{CHF}_2$ 、 $\text{CHCl}_2$ 、 $\text{CHBr}_2$ 、 $\text{OCHCl}_2$ 、 $\text{CHO}$ 、 $\text{COOH}$ 、 $\text{COMe}$ 、 $\text{COEt}$ 、 $\text{COOMe}$ または $\text{COOEt}$ 、好ましくは $\text{CF}_3$ または $\text{OCF}_3$ から選択される置換基 $\text{R}^{\text{H}}$ により置き換えられている、一般式Iの4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン誘導体が有利である。フェニル基AおよびBの一方または両方で、1、2または3個の水素原子が置換基 $\text{R}^{\text{H}}$ により置き換えられているものが有利である。特別な実施形態では、フェニル基AおよびBの1つの中の正確に1個の水素原子が、置換基 $\text{R}^{\text{H}}$ により置き換えられている。置換基 $\text{R}^{\text{H}}$ は、フェニル環AまたはBのパラ位にあることができる。

10

## 【0018】

$\text{R}^{\text{H}}$ に加えて、フェニル基AおよびBの各々は互いに独立に、さらなる $\text{R}^1$ 残基を有することができる。フェニル基AおよびBが互いに独立に、0、1、2または3個のさらなる $\text{R}^1$ 残基、好ましくは0または1個のさらなる $\text{R}^1$ 残基を有することが有利である。

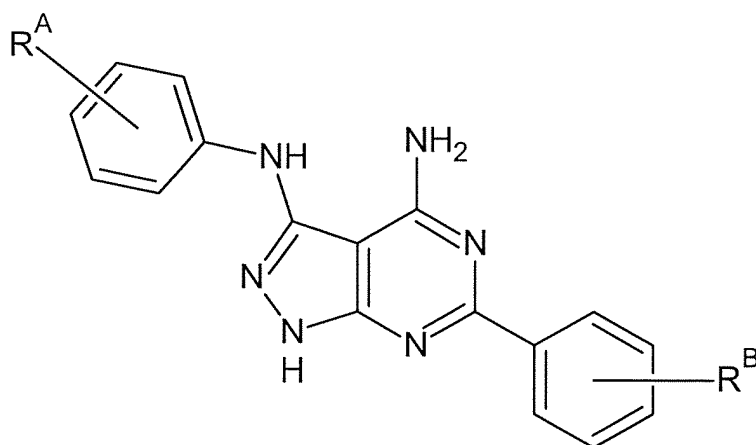
## 【0019】

本発明に関連して、アルキルとして特に直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1\sim7}$ -アルキル、例えば、メチル、エチル、 $n$ -プロピル、 $i$ -プロピルおよびブチルを考える価値がある。本発明に関連して、同じことがアルカノール、アルキルアミンおよびアルキルアミドにも当てはまる。

## 【0020】

特に、一般式II

20



30

II

式中、各置換基 $\text{R}^{\text{A}}$ 、 $\sigma_{\text{X}} = \log K_{\text{X}} - \log K_{\text{H}}$

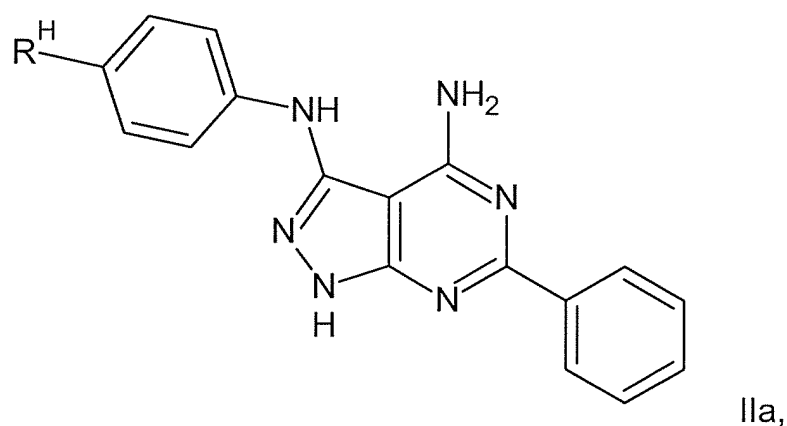
## 【0021】

$\text{R}^{\text{B}}$ は独立に、水素、ハロゲン、1~7個の鎖構成を有する飽和もしくは不飽和、直鎖もしくは分枝脂肪族遊離基、1~8個の鎖構成を有する飽和もしくは不飽和、直鎖もしくは分枝アルカノール遊離基、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{CN}$ 、 $\text{CONR}^2$ 、 $\text{COR}^2$ 、 $\text{COOR}^2$ 、 $\text{OR}^2$ 、 $\text{SR}^2$ 、 $\text{NR}^2$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}^2$ 、 $\text{CX}_3$ 、 $\text{CR}^2\text{X}_2$ 、 $\text{OCX}_3$ 、 $\text{OCR}^2\text{X}_2$ またはフェニルであってもよく； $\text{R}^2$ および $\text{X}$ は上で定義した通りであり；置換基 $\text{R}^{\text{A}}$ 、 $\text{R}^{\text{B}}$ の少なくとも1つは0.23より大きいハメット定数 $\sigma_{\text{p}}$ を有する、4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン誘導体が本発明により網羅される。

40

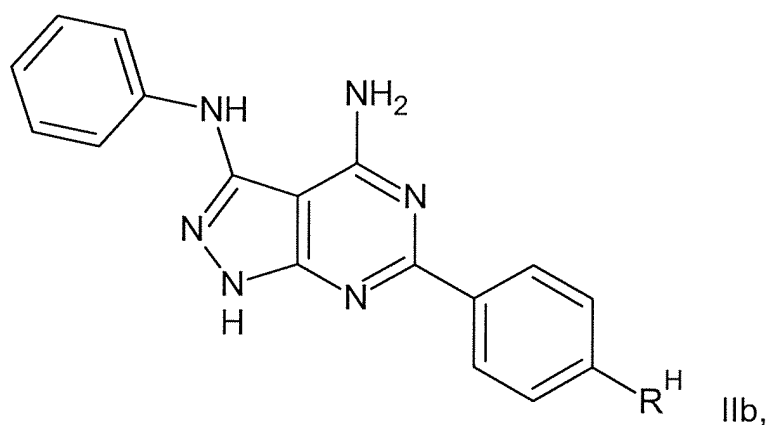
## 【0022】

本発明は特に、一般式IIa



10

または I I b



20

#### 【0023】

式中、 $R^H$ は $NO_2$ 、 $CN$ 、 $CF_3$ 、 $CCl_3$ 、 $CBr_3$ 、 $OCF_3$ 、 $OCCl_3$ 、 $OCBr_3$ 、 $CHF_2$ 、 $CHCl_2$ 、 $CHBr_2$ 、 $OCHCl_2$ 、 $CHO$ 、 $COOH$ 、 $COMe$ 、 $COEt$ 、 $COOMe$ または $COOEt$ 、好ましくは $CF_3$ または $OCF_3$ から選択される、4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン誘導体を含む。

30

#### 【0024】

一般式 I、II、IIaまたはIIbによる4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン誘導体を含有する医薬組成物も含まれる。このような医薬組成物は、さらなる物質、例えば、薬学的に許容される賦形剤および担体を含有することができる。特定の態様では、医薬組成物は、追加の有効成分、特に抗ウイルス剤、特にピコルナウイルスに対する活性剤を含むことができる。

40

#### 【0025】

驚くべきことに、本発明の4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン誘導体が、先行技術の物質と比較して、肝ミクロソームで有意に優れた安定性を有することが示された。さらに、マウスにおける薬物動態についての調査により、本発明の4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン誘導体が、先行技術の物質よりも有意に優れた生物学的利用能を有することが示された。同時に、本発明の化合物は、ナノまたはマイクロモル濃度範囲で、ピコルナウイルス、特にエンテロウイルスおよびライノウイルスに対して強力な抗ウイルス活性を示す。

#### 【0026】

50

そのため、式 I、I I、I I a または I I b の化合物を含有する医薬製剤は、ピコルナウイルス、特にエンテロウイルスおよびライノウイルスにより引き起こされ得る、ヒトおよび動物の呼吸器感染症、無菌性髄膜炎、脳炎、ヘルパンギナ等の治療に特に適している。

#### 【0027】

4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン誘導体は、0.23より大きいハメット定数 $\sigma_p$ を有する、一方または両方のフェニル基上の少なくとも1個の置換基 $R^H$ を有するという事実により特徴付けられる。この値0.23は、ハロゲンの中でパラ位について最高のハメット定数を示す臭素のハメット定数 $\sigma_p$ に相当する。

#### 【0028】

異なる置換基についてのハメット定数の決定は、ハメットの式

$$\sigma_X = \log K_X - \log K_H$$

式中、 $K_H$ は25℃水中での安息香酸についてのイオン化定数であり、 $K_X$ はメタまたはパラ置換安息香酸についての対応する定数である、安息香酸のイオン化定数に基づく。メタ位( $\sigma_m$ )およびパラ位( $\sigma_p$ )の異なる置換基についてのハメット定数を決定する方法ならびに種々の置換基の既に確認された値は、全体が本明細書に組み込まれている、Hansch et al., 「A Survey of Hammett Substituent Constants and Resonance and Field Parameters」, in Chem. Rev. 1991. 97, 165-195の刊行物から引用することができる。したがって、少なくとも1つの置換基 $R^H$ が最終的に位置している位置にかかわらず、パラ位についてのそれぞれの値 $\sigma$  ( $\sigma_p$ ) がもっぱら本発明に重要である。

#### 【0029】

本発明の例には、その薬学的に耐容される塩化合物を含む、表1の化合物がある。

#### 【0030】

#### 【表1】

| 化合物      | 式 | 結晶化のための溶媒 | 融点℃    | 分子式                                                             | MS EI<br>(m/z)<br>(M <sup>+</sup> ) | 分析<br>計算(B) %<br>実測(C) %                                   | <sup>1</sup> H NMR<br>(DMSO-d <sub>6</sub> )<br>$\delta$ , ppm                                                         |
|----------|---|-----------|--------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CRCV-340 |   | THF、トルエン  | -      | C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> F <sub>3</sub> N <sub>6</sub>   | 370.3312                            | B: C 58.3; H 3.54; N 22.69                                 | -                                                                                                                      |
| MS-112   |   | EtOH      | -      | C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> F <sub>3</sub> N <sub>6</sub> O | 386.3306                            | B: C 55.96; H 3.39; N 21.75                                | -                                                                                                                      |
| MS-115   |   | DMF/EtOH  | 272-74 | C <sub>19</sub> H <sub>11</sub> ClF <sub>6</sub> N <sub>6</sub> | 472.7831                            | B: C 48.27; H 2.35; N 17.78<br>G: C 48.31; H 2.50; N 17.64 | -                                                                                                                      |
| MS-116   |   | 活性炭、EtOH  | 271-73 | C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>6</sub> | 404.7847                            | B: C 53.41; H 2.99; N 20.76<br>G: C 53.49; H 3.14; N 20.61 | 13.10 (1H, br. s., NH),<br>8.84 (1H, d, CH),<br>8.55 (1H, br. s., NH),<br>7.01-8.02 (9H, br. m, NH <sub>2</sub> , 7CH) |
| MS-117   |   | EtOH      | 230-32 | C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> F <sub>3</sub> N <sub>6</sub>   | 370.3397                            | B: C 58.38; H 3.54; N 22.69<br>G: C 58.61; H 3.67; N 22.45 | -                                                                                                                      |

10

20

30

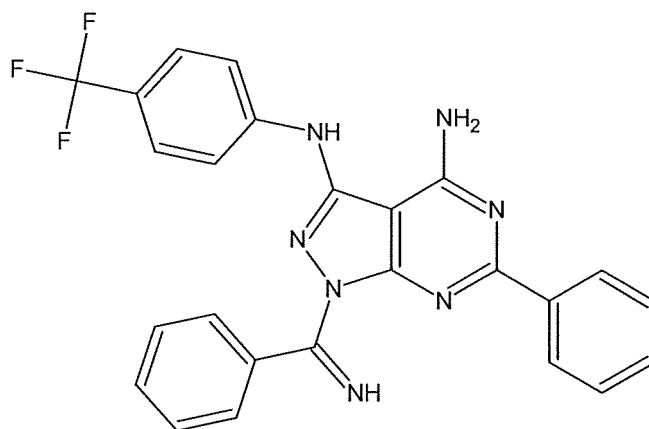
40

50

## 【0031】

化合物のプロファルマコン（プロドラッグ）、特に一位のピラゾールヘテロ原子上の置換基により特徴付けられるものも網羅される。このような型の化合物は、インビボで1Hピラゾール化合物に変換されることが示されている。例として、例えば、IUPAC名、1-ベンジルカルボキシイミドイル-6-フェニル-3-N-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1H-ピラゾロ[3,4-d]-ピリミジン-3,4-ジアミンとも命名される、1-[イミノ(フェニル)メチル]-4-アミノ-3-(4-トリフルオロメチル-フェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジンなどの一位のピラゾールヘテロ原子が、イミノ(フェニル)メチル置換基により置換されている化合物が言及されてきた。ここで、これは、化合物CRCV-340と反応混合物中の過剰のベンズアミジンの反応から生じ、以下の式：

10



20

## CRCV-340-プロドラッグ

を有する、上記化合物CRCV-340の製造の副産物に関連する。

## 【0032】

これらの化合物（例えば、CRCV-340プロドラッグ）はインビボで、血清中で最終有効成分（例えば、CRCV-340）のみを主に証明することができるよう、標的化合物に極めて容易に変換されることが分かった。上記化合物により製造される塩、溶媒和物または塩の溶媒和物も含まれる。本発明の範囲内にある、好ましい塩は、本発明に関連する化合物の生理学的に無害の塩である。本発明に関連する化合物の生理学的に無害の塩には、鉍酸、カルボン酸およびスルホン酸の付加塩、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸（phosphorsaeure）、メタンスルホン酸、スルホン酢酸（Ethan-sulfonsaeure）、トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、プロピオン酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、クエン酸、フマル酸、マレイン酸および安息香酸の塩が含まれる。

30

## 【0033】

本発明を、合成法、一般式(I)の特別な4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン誘導体ならびにその効果およびピコルナウイルス感染症に対する使用を用いて、以下でより詳細に説明する。

40

## 【発明を実施するための形態】

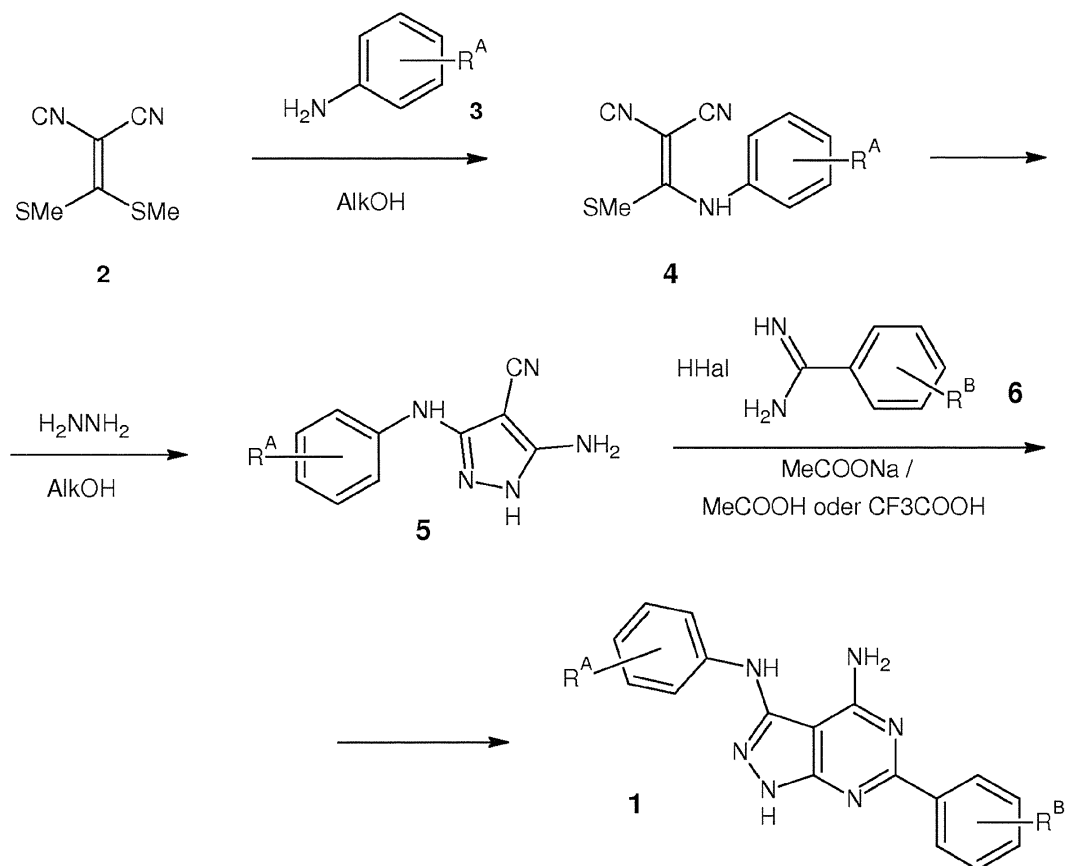
## 【0034】

図解1(Abb. 1)は、ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン1の合成の全体図を示し、第1のステップで、アルコール中での[ビス(メチルチオ)メチレン]マロノニトリル2とフェニルアミン3からフェニル誘導体4への縮合が含まれる。後者は、それぞれ単離することができ、さらなる反応のために精製するまたは精製せずにその後の反応に直接使用することができる(「ワンポット反応」)。その後のステップは、フェニル誘導体4とヒドラジンまたはヒドラジン誘導体の相互作用を構成する。反応は、1~4時間沸騰させることにより起こり、高収率のピラゾール5をもたらす。ピラゾロ[3,4-d]ピリミ

50

ジン 1 の合成の最終ステップは、酢酸、トリフルオロ酢酸または酢酸ナトリウムの存在下でのピラゾール 5 とフェニルアミジン 6 の縮合である。

【0035】



10

20

図解 1 (A b b. 1)

【0036】

これにより、溶媒の非存在下、200～220℃で、過剰の酢酸ナトリウムの存在下、対応するベンズアミジン塩酸塩を用いて最終合成ステップでピラゾール (5) を変換することにより、化合物を有利に得ることができる。

30

【0037】

あるいは、マイクロ波照射を用いておよびカリウム *tert*-ブチラートの存在下で、対応するベンズニトリル (大過剰) を用いて最終合成ステップでピラゾール (5) を変換することにより、化合物を得ることができる。

【0038】

代替合成法は、水酸化ナトリウムの存在下でのマロノニトリルとアリールイソチオシアネートの「ワンポット」反応およびヨウ化メチルもしくは硫酸ジメチルによる反応混合物のその後の処理である。このプロセスでは、大量のエナミンが製造される。ここでも、酢酸またはトリフルオロ酢酸などの酸の存在下でのピラゾール 5 とアリールアミジン 6 の縮合が、同様にピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン 1 を製造するための最終合成ステップとなる。

40

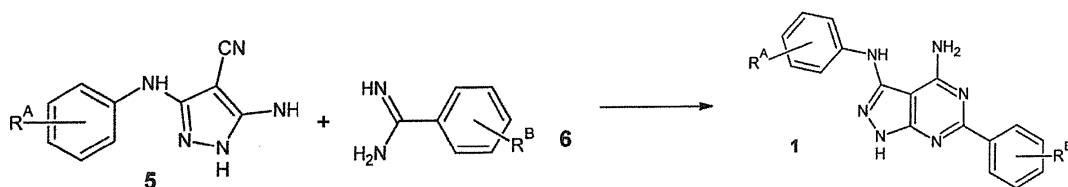
【0039】

特に高収率でのピラゾール (5) のピラゾロ [3, 4-d] ピリミジンへの変換は、遊離塩基としてベンズアミジン成分を使用することにより行うことができることが示され、この反応は極性溶媒中で行われる。この方法の利点はまた、分離が困難な副産物の割合を最小化することができることである。この反応は、以下の反応図による置換 5-アミノ-4-シアノ-3-フェニルアミノ-ピラゾール (5) と任意の遊離塩基としての置換ベンズアミジン (6) から 4-アミノ-3-(フェニルアミノ)-6-フェニルピラゾロ [3

50

， 4-d] ピリミジン (1) までに基づいて行うことができる。

【0040】



10

図解 2 (A b b. 2)

【0041】

$R^A$  および  $R^B$  残基は、 $R^1$  について上で定義した置換基である。

【0042】

上記変換は、フェニル基 A および B の少なくとも 1 つの中の少なくとも 1 個の水素原子がハメット定数  $\sigma_p > 0$ 、2,3 を有する置換基  $R^H$  により置き換えられている上記一般式 (I) の 4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン誘導体の製造に特に適しているが、この方法は、前記置換基を有さない、すなわち、この残基が水素または式 I に関連して上で定義した  $R^1$  残基を表す 4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジンの製造に使用することもできる。

20

【0043】

好ましくは、本発明はまた、 $R^A$  および  $R^B$  残基が互いに独立に、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{CN}$ 、 $\text{CONR}^3$ 、 $\text{COOR}^3$ 、 $\text{CHO}$ 、 $\text{CHONH}_2$ 、ハロゲン、1~6 個の鎖構成を有する飽和もしくは不飽和、直鎖もしくは分枝脂肪族遊離基（アルキル基と呼ばれる）、1~6 個の鎖構成を有する飽和もしくは不飽和、直鎖もしくは分枝アルカノール（alcanol）遊離基（アルコキシ基とも呼ばれる）、 $\text{OR}^3$ 、 $\text{SR}^3$ 、 $\text{NR}^3$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}^3$ 、ジ-またはトリフルオロメチルから選択されてもよく、 $R^3$  残基が H、メチル、エチル、プロピル、またはブチル基からなってもよい、上記の反応に関する。本発明の化合物が互変異性型で存在することができる限り、本発明は全ての互変異性型を含む。

30

【0044】

上記段落の置換基は、別段の指定がない限り、以下の意味を有する。

【0045】

アルキルならびにアルコキシ中のアルキル部分は直鎖または分枝アルキルを意味し、別段の指定がない限り、(C1~C6)-アルキル、特に (C1~C4)-アルキル、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチルを含む。有利には、アルコキシは、特に 1~6 個、特に好ましくは 1~4 個、最も好ましくは 1~3 個の炭素原子を有する、直鎖または分枝アルコキシ残基を意味する。例としておよび好ましいものとして、メトキシ、エトキシ、N-プロポキシ、イソプロポキシ、t-ブトキシ、n-ペンチンキシおよび n-ヘキソキシが挙げられる。アリールは、一般的に 6~14 個の炭素原子を有する単一~三環芳香族、炭素環残基を意味する。例としておよび好ましいものとして、アリールは、フェニル、ナフチルおよびフェナントレン (phenantrenyl) から選択され、特にフェニルが好ましい。ハロゲンはフッ素、塩素、臭素およびヨウ素、好ましくはフッ素および塩素を意味する。

40

【0046】

この方法により、この場合、フェニルアミジン 6 が対応するアリールアミジンにより置き換えられていなければならない、一般的アリールピラゾロ [3, 4d] ピリミジン誘導体を製造することも可能である。特に、フェニル環 A および B の代わりに、ナフチル、ピ

50

リジル、キノリル (ch in o l y l)、ピラジニル、ピリミジル、ピラゾリル、トリアジニル、イミダゾリル、フラニル、チエニルが最終生成物に含有されていてもよく、上記基の各々の中の各水素原子は互いに独立に、式 I に関連して上で定義した R<sup>1</sup> 残基により置き換えられていてもよい。このような方法も本発明の主題である。

#### 【0047】

図解 2 (A b b. 2) に示す反応は、不活性、極性有機溶媒中で行われる。不活性極性有機溶媒は、例えば、ジエチルエーテル、メチル-tert-ブチルエーテル、1, 2-ジメトキシエタン、グリコールジエチルエーテルもしくはジエチレングリコールジメチルエーテルなどのエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフランなどの環状エーテル、エチルベンゼン、キシレン、トルエンなどの炭化水素、またはエタノール、プロパノール、ブタノール、イソブタノールおよびイソプロパノールなどのアルコールである。溶媒として n-ブタノールを使用することにより、特に純粋な生成物が得られる。n-ブタノールは、ピラゾール誘導体の初期値に対して 1 ~ 10、特に好ましくは 1.5 ~ 3 のモル比で使用するべきである。

10

#### 【0048】

本発明の範囲内では、ベンズアミジン (6) が塩基性型で (遊離塩基として) 新しく調製されることが特に有用であると分かった。この合成は、対応して利用可能な塩から通常の方法を使用して行われる。ピラゾール誘導体 (5) に基づいて、1 ~ 1.5 のモル比でベンズアミジン (6) を使用することが最良である。

#### 【0049】

反応は、60 ~ 110 °C、好ましくは 85 ~ 95 °C の温度で、10 ~ 30 時間を上回り、好ましくは 18 ~ 20 時間にわたって行われる。

20

#### 【0050】

こうして得られたアミノ-3-(フェニルアミノ)-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン (1) は、再結晶により洗浄される。このために、好ましくはテトラヒドロフランまたはテトラヒドロフランと水もしくは有機溶媒の混合物、特に好ましくはトルエンとの混合物が使用される。その代わりに、テトラヒドロフランと水または有機溶媒、好ましくはトルエン中熱溶液からの沈殿により、アミノ-3-(フェニルアミノ)-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジンを洗浄することもできる。

#### 【0051】

以下の実施例では、好ましくはピコルナウイルス感染症に対する適用に適した、一般式 (I) の特別な化合物を列挙する。この化合物は、静脈内、皮下もしくは筋肉内による局所または非経口適用あるいは鼻腔内投与のために、薬学的に許容される水性、有機もしくは水性-有機媒体中の溶液または懸濁液で調製することができる、または経口投与のための従来の担体を使用した錠剤、カプセル剤もしくは水性懸濁液の形態でまたは坐剤として開発することができる。

30

#### 【0052】

例えば、式 (I) で示される化合物は、0.1 ~ 1000 mg / 体重 1 kg の用量で使用する事ができる。

#### 【0053】

4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン誘導体の製造および分析

40

#### 【0054】

本発明の化合物の構造解析を、合成、元素分析、NMR 分光法および質量分析の型により行う。

#### 【0055】

原材料:

5-アミノ-4-シアノ-3-フェニルアミノピラゾールを、図解 1 (A b b. 1) に示す方法ならびに Tom in a g a Y ら (J. H e t e r o c y c l. C h e m., 1990, 27, 775-779) の説明にしたがって合成した。アリアルアミジンを、対

50

応するシアン源化合物から既知の先行技術にしたがって合成する (Boere, R T et al.: J. Organomet. Chem., 1987, 331, 161-167; Garigipati RS: Tetrahedron Lett., 1990, 31, 1969-1978; Dann O et al.: Justus Liebig's Ann. Chem., 1982, 1836-1839)。

【0056】

参考実施例1: 4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-フェニルピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン

【0057】

(3-N, 6-ジフェニル-2H-ピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン-3, 4-ジアミン)

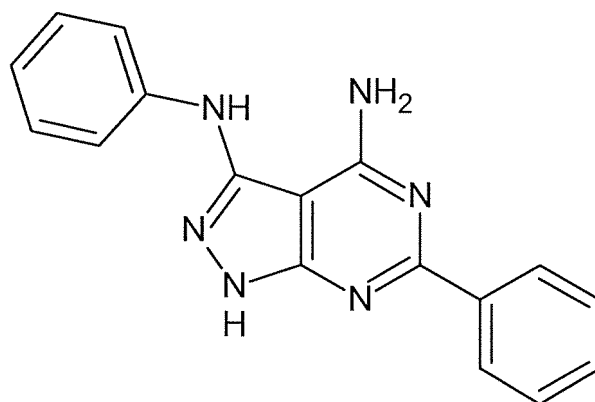
10

【0058】

ベンズアミジン塩酸塩水和物 3.0 g (17.24 mmol) および酢酸ナトリウム 2.2 g (23.0 mmol) を攪拌しながら 5-アミノ-4-シアノ-3-フェニルアミノピラゾール 2.3 g (11.5 mmol) に添加する。反応混合物を 220℃ で 30 分間加熱する。得られた材料を 50 ml 水で処理し、濾過し、20 ml 冷メタノールおよび 20 ml 冷エステルで洗浄する。生成物を DMF/水からの結晶化により洗浄する。

【0059】

20



30

参考-1

【0060】

淡黄色固体結晶材料。収率 57%。融点 253~5℃。R<sub>f</sub> (クロロホルム-メタノール; 10/1) - 0.8 (シリカゲル 60)。MS m/z 302 (M<sup>+</sup>)。

【0061】

参考実施例2: 4-アミノ-3-(フェニルアミノ)-6-フェニルピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン (代替製造)

【0062】

40

115℃ で 2.5 時間予め乾燥させたベンズアミジン塩酸塩 5.22 g を、ナトリウムメチラート 1.74 g のメタノール 100 ml 中溶液にゆっくり添加し、室温で 30 分間攪拌する。有機白色沈殿を濾過して取り除いた後、n-ブタノール 3.5 ml を添加し、体積を真空中で 3 ml に減少させる。残渣は白っぽい油であり、ベンズアミジン 4.0 g に相当する。これを次の反応ステップに直ちに使用する。

【0063】

5-アミノ-4-シアノ-3-(フェニルアミノ)-ピラゾール (6.0 g; 粉末参考-1) を n-ブタノール 10 ml に溶解し、n-ブタノール 3 ml 中ベンズアミジン 4.0 g を室温で添加する。反応を 85℃ で 20 時間にわたって行う。最後に、溶液を冷却し、黄色沈殿を濾過して取り除き、ブタノール 5 ml およびトルエン 5 ml で洗浄する。

50

## 【0064】

収率：68%

特性：融点：265～267℃（テトラヒドロフラン）；MS（m/z）302（M<sup>+</sup>）；<sup>1</sup>H NMR（DMSO-d<sub>6</sub>）：δ 12.38（1H、s、NH）、8.30～8.36（2H、q、2CH）、8.23（1H、br. s.、NH）、7.67（2H、d、2CH）、7.48（2H、br. s.、NH<sub>2</sub>）、7.42（3H、m、3CH）、7.12（2H、d、2CH）および6.98（1H、m、CH）ppm；元素分析C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>：計算%：C、67.54；H、4.67；N、27.80；実測%：C、67.49；H、4.53；N、27.74。

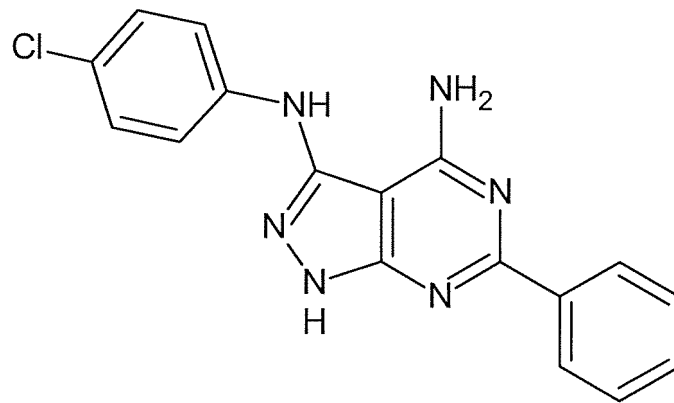
## 【0065】

参考実施例3：4-アミノ-3-(4-クロロフェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン

## 【0066】

(3-N-(4-クロロフェニル)-6-フェニル-2H-ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン-3,4-ジアミン)

## 【0067】

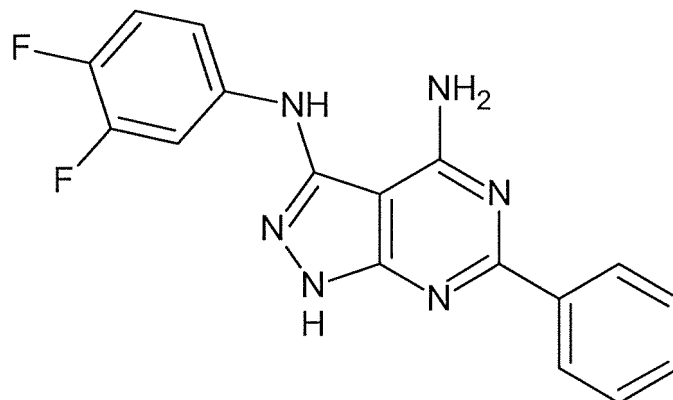


参考-3

## 【0068】

参考実施例4：4-アミノ-3-(3,4-ジフルオロフェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン (3-N-(3,4-ジフルオロフェニル)-6-フェニル-2H-ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン-3,4-ジアミン)

## 【0069】



10

20

30

40

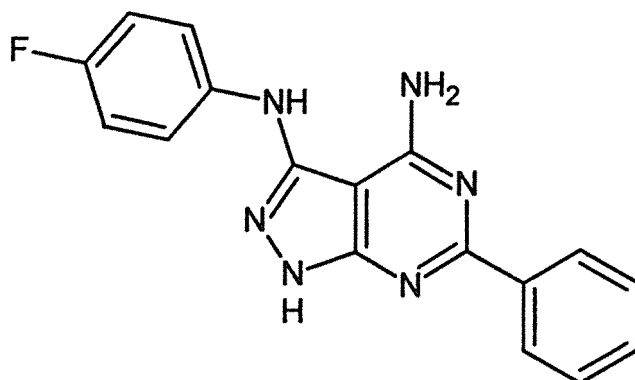
50

参考－４

【００７０】

参考実施例５：４－アミノ－３－〔（４－フルオロフェニル）アミノ〕－６－フェニルピラゾロ〔３，４－ｄ〕ピリミジン

【００７１】



10

参考－５

【００７２】

化合物参考－５は、参考実施例２に示したものと同様に製造するが、ここでは５－アミノ－４－シアノ－３－〔（４－フルオロフェニル）アミノ〕－ピラゾールを原材料として使用したので、淡黄色結晶沈殿を形成した。

【００７３】

収率：７０％

特性：融点：２６２～２６３℃（ＴＨＦ／トルエン）；ＭＳ（ｍ／ｚ）：３２０（Ｍ<sup>+</sup>）；<sup>1</sup>H NMR（ＤＭＳＯ－ｄ<sub>6</sub>）：δ １２．６９（１Ｈ、ｓ、ＮＨ）、８．３３～８．４１（４Ｈ、ｍ、４ＣＨ）、８．１８（１Ｈ、ｂｒ．ｓ．、ＮＨ）、７．５８～７．６５（５Ｈ、ｍ、ＮＨ<sub>2</sub>、３ＣＨ）、７．２７～７．３１（２Ｈ、ｎ、２ＣＨ）ｐｐｍ；元素分析Ｃ<sub>17</sub>Ｈ<sub>14</sub>ＦＮ<sub>6</sub>：計算％：Ｃ、６３．７４；Ｈ、４．０９；Ｎ、２６．２４；実測％：Ｃ、６３．８１；Ｈ、４．１１；Ｎ、２６．２７。

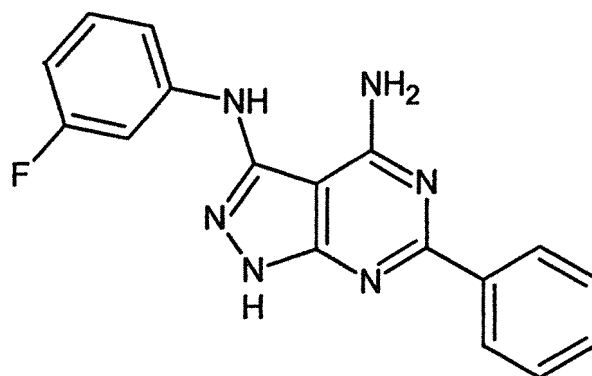
20

30

【００７４】

参考実施例６：４－アミノ－３－〔（３－フルオロフェニル）アミノ〕－６－フェニルピラゾロ〔３，４－ｄ〕ピリミジン

【００７５】



40

参考－６

【００７６】

化合物参考－６は、参考実施例２で得たものと同様に製造するが、ここでは５－アミノ－４－シアノ－３－〔（３－フルオロフェニル）アミノ〕－ピラゾールを原材料として使

50

用したので、淡黄色結晶沈殿を形成した。

【0077】

収率：76%

特性：融点：278～279℃（THF／トルエン）；MS（m/z）：320（M<sup>+</sup>）；<sup>1</sup>H NMR（DMSO-d<sub>6</sub>）：δ 12.61（1H、s、NH）、8.34～8.42（2H、q、2CH）、8.14（1H、br. s.、NH）、7.48（2H、br. s.、NH<sub>2</sub>）、7.3～7.43（6H、m、6CH）、6.60（1H、s、CH）ppm；元素分析C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>6</sub>：計算%：C、63.74；H、4.09；N、26.24；実測%：C、63.81；H、4.11；N、26.27。

【実施例1】

【0078】

4-アミノ-3-（4-トリフルオロメチル-フェニル）アミノ-6-フェニルピラゾロ[3,4-d]ピリミジン（CRCV-340）

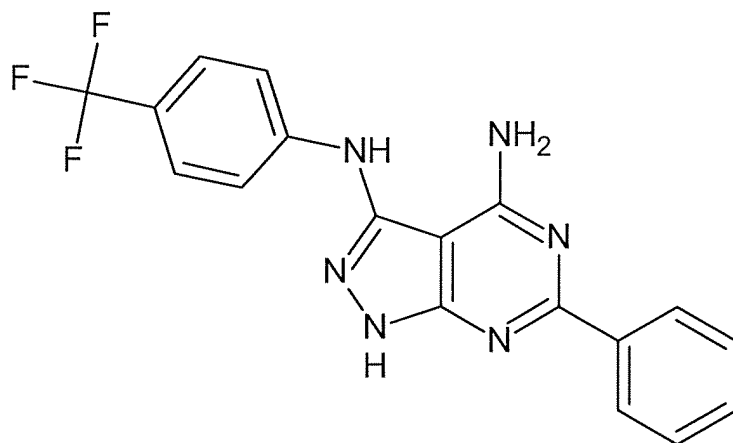
【0079】

（6-フェニル-3-N-〔4-（トリフルオロメチル）フェニル〕-2H-ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン-3,4-ジアミン）

【0080】

対応する置換前駆体化合物を使用して、参考実施例1に記載のように製造を行った。

【0081】



CRCV-340

【実施例2】

【0082】

4-アミノ-6-フェニル-3-〔4-（トリフルオロメチル）-フェニル〕アミノ-ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン

【0083】

化合物CRCV-340も、参考実施例2に示す反応スケジュールと同様に製造したので、淡黄色結晶沈殿を形成した。

【0084】

収率：58%

特性：融点：313～314℃（THF／トルエン）；MS（m/z）：370（M<sup>+</sup>）；<sup>1</sup>H NMR（DMSO-d<sub>6</sub>）：δ 12.77（1H、s、NH）、8.91（1H、s、NH）、8.47（2H、s、NH<sub>2</sub>）、7.81、7.79、7.63、7.58および7.47（9H、m、C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>およびC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>）ppm；元素分析C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub>：計算%：C、58.38；H、3.54；N、22.69；実測%：C、58.41；H、3.58；N、22.74；HPLC：99.30%（Sauler Luna C18（2）、アセトニトリル／水-90：10、流れ0.6ml／分、UV254nm；t<sub>R</sub>=5.3分）

## 【実施例 3】

## 【0085】

4-アミノ-3-フェニルアミノ-6-[4-(トリフルオロメトキシ)-フェニル]ピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン (MS-112)

## 【0086】

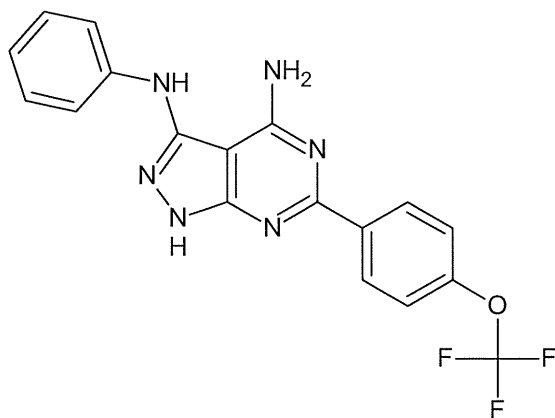
(3-N-フェニル-6-[4-(トリフルオロメトキシ)フェニル]-2H-ピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン-3, 4-ジアミン)

## 【0087】

対応する置換前駆体化合物を使用して、参考実施例 1 に記載のように製造を行った。

## 【0088】

10



20

MS-112

## 【実施例 4】

## 【0089】

4-アミノ-6-フェニル-3-[(4-(トリフルオロメトキシ)-フェニルアミノ)-ピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン]

## 【0090】

この化合物も、参考実施例 2 に示す反応スケジュールと同様に製造し、ここでは原材料から 5-アミノ-4-シアノ-3-[(4-トリフルオロメトキシフェニル)アミノ]ピラゾールを使用したので、白色結晶沈殿を形成した。

30

## 【0091】

収率：68%

特性：融点：260~262℃(テトラヒドロフラン/DMF)；MS (m/z)：386 (M<sup>+</sup>)；<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)：δ 12.56 (1H, s, NH) 8.82 (2H, q, 2CH)、8.16 (1H, br. s., NH)、7.48 (2H, br. s., NH<sub>2</sub>)、7.3~7.43 (4H, m, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)、7.05~7.11 (2H, 2s, 2CH)、6.98 (1H, m, CH) ppm；元素分析 C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>N<sub>6</sub>O：計算%：C、55.96；H、3.39；N、21.75；実測%：C、56.07；H、3.36；N、21.61。

40

## 【実施例 5】

## 【0092】

4-アミノ-6-フェニル-3-[4-(トリフルオロメチル)-フェニル]アミノ-ピラゾロ[3, 4-d]ピリミジンの洗浄

## 【0093】

参考実施例 2 に記載の方法にしたがって合成した乾燥 4-アミノ-6-フェニル-3-[(4-トリフルオロメチル)-フェニル]アミノ-ピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン 50g を、加温しながら THF 300ml に溶解する。この溶液を冷トルエン 300ml で処理する。得られた溶液を冷凍庫中 0℃未満の温度で 6 時間にわたって維持する。黄色

50

結晶の4-アミノ-3-(4-トリフルオロフェニル)アミノ-6-フェニルピラゾロ[3, 4-d]ピリミジン36gが濾過により得られる。

【0094】

融点：313～314℃(THF/DMF)

HPLC：99.16%(Sauler Luna C18(2)、アセトニトリル/水=90:10、流れ0.6ml/分、UV254nm;  $t_R$ =5.3分)

【0095】

インビトロでのOBR5-340の代謝についてのADMET試験

目的：インビトロでのOBR5-340の吸収、分布、代謝、排出および毒性(ADMETと略す)を調査すること、ならびに血漿タンパク質結合と血漿および肝ミクロソーム中でのおよび安定性についてのインビトロ試験

10

試験：CRCV-340で行ったインビトロ試験ならびに得られたデータを、参考2と比較して表2に要約する。

【0096】

表2：参考2と比較したCRCV-340についてのADMET試験の結果の要約

【表2】

| 試験パラメータ       | 参考-2    | CRCV-340 |
|---------------|---------|----------|
| 血漿タンパク質との結合   | 99.5 %  | 96.7 %   |
| 血漿タンパク質の放出    | 61.0 %  | 122.3 %  |
| 血漿安定性         | 117.0 % | 100.0 %  |
| 肝ミクロソーム中での安定性 | 32.0 %  | 112.0 %  |

20

要約：物質CRCV-340は、参考-2と比較して、肝ミクロソーム中での優れた安定性ならびに血漿タンパク質の放出増加により特徴付けられる。

30

【0097】

マウスにおけるCRCV-340の薬物動態の検査

目的：CRCV-340についての薬物動態データを回収すること。

試験：物質および参考物質を、10% Cremophor 溶液0.5ml中、100mg/kg KGの濃度でマウスに経口的にそれぞれ1回施用した。0.5、1、2、3、4、5、6および7時間後、血清を採取し、HPLC分析により、マウスの血漿中のCRCV-340、参考-2および参考-3の濃度を測定した。

【0098】

HPLCにより測定した血漿中の物質濃度を使用して、物質の薬物動態パラメータを、コンピュータプログラムESTRIPを用いて計算した(表3)。

40

【0099】

表3：マウスにおける100mg/kg CRCV-340、参考-2および参考-3の単回胃内施用後の薬物動態データ

【表 3】

| 物質       | $C_{\max}$<br>(ng/ml) | $T_{\max}$<br>(h) | MRT<br>(h) | $T_{1/2}$<br>(h) | $K_{el}$<br>(h <sup>-1</sup> ) | CL<br>(ml×h<br>/kg) | $V_d$<br>(ml/kg) | $AUC_{0-t}$<br>(ng×ml<br>/h) | $AUC_{0-\infty}$<br>(ng×ml/<br>h) | $C_{\max}/AUC_{0-t}$<br>(h <sup>-1</sup> ) |
|----------|-----------------------|-------------------|------------|------------------|--------------------------------|---------------------|------------------|------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------|
| 参考-2     | 1295.4                | 1.0               | 2.14       | 2.96             | 0.23                           | 36.6                | 156.7            | 2354.5                       | 2732.1                            | 0.55                                       |
| 参考-3     | 424.5                 | 0.5               | 2.44       | 1.47             | 0.55                           | 91.8                | 168.1            | 1085.7                       | 1089.4                            | 0.39                                       |
| CRCV-340 | 1254.4                | 3.0               | 3.54       | 3.54             | 0.18                           | 10.4                | 52.7             | 6418.3                       | 9598.5                            | 0.20                                       |

10

 $C_{\max}$  血中最大濃度 $T_{\max}$  血中最大濃度に達するまでの時間

MRT 平均滞留時間

 $T_{1/2}$  半減期 $K_{el}$  排出速度定数

CL クリアランス

 $V_d$  分布容積

AUC 曲線下面積

 $C_{\max}/AUC$  胃から血液への吸収速度

20

結果：CRCV-340についてのマウスにおける薬物動態についての試験により、参考-2および参考-3よりも有意に優れた生物学的利用能が得られた。

## 【0100】

マウスにおけるCRCV-340の急性毒性についての試験

目的：CRCV-340の50%致死量を決定すること。

試験：物質CRCV-340の急性毒性を、体重19.5～20.5gのマウスで試験した。この物質を、40、60、80または120mg物質/マウス（1物質および1濃度当たり5匹のマウス）で経口投与した。これは、体重1kg当たり約2g、3g、4gまたは6gの用量に相当する。結果で認められた毒性効果は、投与した物質に相関していた。物質を投与した最大3時間後に40および60mg/マウスの用量で、協調障害および活動亢進が副作用として観察された。2つのより高用量の投与後には、呼吸困難、攻撃行動および運動亢進もあった。CRCV-340については、3120mg/kgのLD<sub>50</sub>が決定された（表4）。

30

## 【0101】

表4：マウスにおける単回経口投与後の物質CRCV-340の急性毒性についての試験の結果

【表 4】

| 用量               | 投与72時間後の死亡/生存            |                          |
|------------------|--------------------------|--------------------------|
|                  | 参考-2                     | CRCV-340                 |
| 40 mg/マウス        | 0/5                      | 1/5                      |
| 60 mg/マウス        | 1/5                      | 1/5                      |
| 80 mg/マウス        | 3/5                      | 3/5                      |
| 120 mg/マウス       | 4/5                      | 5/5                      |
| LD <sub>50</sub> | 78.6 mg/マウス (3930 mg/kg) | 62.4 mg/マウス (3120 mg/kg) |

40

結果：生存率について得られたデータにより、両試験物質の極めて優れた耐容性が明ら

50

かになった。

#### 【0102】

マウスにおける毒性についての長期試験

目的：28日間にわたるCRCV-340の亜急性投与により生じるおそれがある、例えば、全身状態、体重、内臓および代謝に対する可能な副作用を明らかにするために、マウスにおける亜急性毒性を決定すること。

試験：例えば、体重約20gの雄および雌マウスは、チューブを通して胃内投与で1日1回28日間にわたって、12.5、50または200mg/kgのCremophor製剤中物質CRCV-340を受け、コントロール群は、Cremophorを受けた。実験の全期間中、毛皮および粘膜の状態、排泄物、ならびに全身状態を評価した。体重の記録は7、14、21および28日に行った。最後の物質投与の約24時間後、動物の方向感覚を検査した。血清中の以下の生化学的パラメータを分析した：タンパク質含量、尿素、クレアチニン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼおよびアルカリホスファターゼの血清活性。ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット、赤血球および白血球ならびに血小板の数を血液塗抹標本で測定した。実験の最後に、マウスを麻酔下でと殺および解剖し、内臓の状態を巨視的に評価し、臓器重量を決定し、その後の組織学的試験用の試料をホルマリンに漬け込んだ。

10

#### 【0103】

結果要約：結果は、検査した物質濃度の極めて優れた耐容性を証明した。動物の全身状態、毛皮、排泄物も方向感覚または可動性のいずれも与えられた物質の結果として変化しなかった。また、体重動力学に関して、CRCV-340で処置した動物は、コントロール群と異ならなかった。生化学的血液パラメータの点で、血液塗抹標本において物質で処置した試験群と媒体処置群との間に差はなかった。内臓（肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、膵臓および精巣）の巨視的評価、臓器の重量ならびに心臓、肺、肝臓、脾臓、胸腺、膵臓、腎臓、腺、精巣、胃および腸組織試料の組織学試験の結果にも同じことが当てはまる（結果不掲載）。

20

#### 【0104】

ライノウイルスに対する抗ウイルススペクトルの決定

目的：50種の異なるヒトライノウイルス血清型およびCVB3患者分離株に関するCRCV-340の抗ウイルス有効スペクトルを決定すること。

30

試験：50種のHRV血清型および20種の臨床CVB3分離株を、HeLa、HeLa-Wisおよび／またはLF細胞で増殖させ、その力価を決定し、配列決定を使用して血清型を確認した。こうして、HRVを用いたzpe（細胞変性（zytotoxicity）効果）阻害試験またはCVB3分離株を用いたプラーク減少試験を確立した。対応する抗ウイルス試験では、参考-3およびCRCV-340を用いた用量効果試験を行った。表5および6は、平均50%阻害濃度の概要を説明する。

#### 【0105】

表5：HRVに関する参考-3およびCRCV-340の有効スペクトルの概説。全50種の試験した血清型ならびに45種のプレコナリル感受性および5種のプレコナリル耐性血清型についての平均値および標準偏差を別々に要約した。

40

【表 5】

| 物質       | IC <sub>50</sub> [μM] |        | IC <sub>50</sub> [μM] プレコナリ |        | IC <sub>50</sub> [μM] プレコナリ |        | 感受性HRVの数 |
|----------|-----------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|----------|
|          | 全HRV                  |        | ル感受性HRV                     |        | ル耐性HRV                      |        |          |
|          | (n = 50)              |        | (n = 45)                    |        | (n = 5)                     |        |          |
|          | 平均                    | 標準偏差   | 平均                          | 標準偏差   | 平均                          | 標準偏差   |          |
| 参考－3     | 16. 11                | 11. 94 | 18. 52                      | 10. 88 | 0. 07                       | 0. 01  | 23       |
| CRCV-340 | 25. 73                | 21. 49 | 26. 09                      | 18. 98 | 22. 62                      | 40. 69 | 49       |

10

## 【0106】

表6：臨床CVB3-分離株に関する参考-3およびCRCV-340の有効スペクトルの概説。全20種の試験した分離株ならびに19種のプレコナリル感受性分離株および1種のプレコナリル耐性血清型についての平均値および標準偏差を別々に要約した。

【表 6】

| 物質       | IC <sub>50</sub> [μM] |      | IC <sub>50</sub> [μM] プレコナリ |      | IC <sub>50</sub> [μM] プレコナリ |      | 感受性CVB3の数 |
|----------|-----------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------|
|          | 全CVB3                 |      | ル感受性CVB3                    |      | ル耐性CVB3                     |      |           |
|          | (n = 20)              |      | (n = 19)                    |      | (n = 1)                     |      |           |
|          | 平均                    | 標準偏差 | 平均                          | 標準偏差 | 平均                          | 標準偏差 |           |
| 参考－3     | 0.68                  | 0.90 | 0.71                        | 0.91 | 0.13                        |      | 20        |
| CRCV-340 | 4.97                  | 4.05 | 5.16                        | 4.10 | 1.39                        |      | 18*       |

20

\*最大試験濃度13.5 μM

結果要約：HRVに関するCRCV-340の有効スペクトルは、参考-3と比較して有意に広がった。

## 【0107】

30

CVB3-誘発型慢性心筋炎のマウスモデルにおけるインビボでの抗ウイルス効果の試験

## 【0108】

目的：マウスモデルにおけるCRCV-340の抗ウイルス効果を確認すること。

試験：CRCV-340の効果を、8週齢雄NMRIマウスのCVB3-誘発型心筋炎のモデルで試験した。さらに、CVB3 31-1-93またはCVB3 H3-感染動物に、水（プラセボ）中1%CMC中50%または20%PEG-400中100mg/kgの物質を1日1回または2回、7日間にわたって投与した。治療効果を評価するためのパラメータには、体重、全身状態、心臓および脾臓組織におけるウイルス力価の変化ならびに心臓および脾臓における病理組織学的変化が含まれていた。感染の経過にわたって、偽感染、プラセボ処置またはCRCV-340処置動物がネガティブコントロールとして作用し、感染、プラセボまたはプレコナリル処置動物がポジティブコントロールとして作用する。

40

## 【0109】

結果要約：プラセボおよびプレコナリルと対照的に、CRCV-340は、NMRIマウスのCVB3 31-1-93-誘発型慢性心筋炎のモデルで有効であった。プロセスにおいて、全ての試験したパラメータ（p.i. 7日での体重、全身状態、心臓および脾臓組織におけるウイルス力価、p.i. 7日および21日での心臓および脾臓の組織病理学）についての臨床的および統計的に有意な効果が認められた。

## 【0110】

参考物質プレコナリルと比較した致死マウスモデルにおけるCRCV-340のインビボ

50

有効性についての試験

【0111】

目的：致死マウスモデルにおけるCRCV-340の抗ウイルス効果を検証すること。

試験：開発候補薬CRCV-340の効果を、6～7週齢雄BALB/cマウスのCVB-誘発型心筋炎のモデルで感染量の試験後に試験した。さらに、CVB3 31-1-93またはCVB3 H3-感染動物に、水（プラセボ）中1%CMC中20%PEG-400中100mg/kgの物質を1日2回、7日間にわたって投与した。体重、全身状態、代用マーカー、体重の25%損失を通して定義される致死率が、治療効果を評価するためのパラメータとして作用した。感染の経過にわたって、偽感染、プラセボ処置またはCRCV-340-処置動物がネガティブコントロールを表し、感染、プラセボまたはプレコナリル-処置動物がポジティブコントロールを表した。

10

【0112】

結果要約：プラセボおよびプレコナリルと対照的に、CRCV-340は、CVB3 31-1-93の感染後の致死BALB/cマウスモデルで有効であった。プロセスにおいて、全ての試験したパラメータ（体重、全身状態ならびに致死率）についての臨床的および統計的に有意な効果が認められた。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
A 6 1 K 31/519

(72)発明者 シュミットケ, ミヒャエラ  
ドイツ国 0 7 7 4 3 イエナ フリューベルスタイグ 6 アー

(72)発明者 マカロフ, ヴァディム  
ロシア連邦 1 1 5 0 3 5 モスクワ サドヴニチェスカヤ シュトラーセ 4 7

審査官 早乙女 智美

(56)参考文献 特表2009-541230 (JP, A)  
特表平07-509728 (JP, A)  
国際公開第00/043394 (WO, A1)  
都野 雄甫, Hammett則, 有機合成化学協会誌, 1965年, 23(8), pp. 631-642  
<化学の領域増刊 122号> 薬物の構造活性相関 ドラッグデザインと作用機作研究への指針,  
株式会社南江堂, 1979年 1月10日, pp. 96-103

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
C 0 7 D  
A 6 1 K  
CAplus/REGISTRY (STN)