

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6917910号  
(P6917910)

(45) 発行日 令和3年8月11日 (2021.8.11)

(24) 登録日 令和3年7月26日 (2021.7.26)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 405/14 (2006.01)

A 6 1 P 1/02 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 13/12 (2006.01)

A 6 1 P 19/02 (2006.01)

C O 7 D 405/14 C S P

A 6 1 P 1/02

A 6 1 P 3/10

A 6 1 P 13/12

A 6 1 P 19/02

請求項の数 34 (全 63 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-568018 (P2017-568018)  
 (86) (22) 出願日 平成28年7月1日 (2016.7.1)  
 (65) 公表番号 特表2018-524342 (P2018-524342A)  
 (43) 公表日 平成30年8月30日 (2018.8.30)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/040728  
 (87) 国際公開番号 W02017/004537  
 (87) 国際公開日 平成29年1月5日 (2017.1.5)  
 審査請求日 令和1年6月25日 (2019.6.25)  
 (31) 優先権主張番号 15175066.8  
 (32) 優先日 平成27年7月2日 (2015.7.2)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関  
 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 516096025  
 セントレクシオン セラピューティクス  
 コーポレイション  
 アメリカ合衆国02109マサチューセッ  
 ツ州ボストン、ステイト・ストリート20  
 0番  
 (74) 代理人 100100158  
 弁理士 鮫島 睦  
 (74) 代理人 100156144  
 弁理士 落合 康  
 (72) 発明者 マルクス・オスターマイアー  
 ドイツ55216インゲルハイム・アム・  
 ライン、ピンガー・シュトラッセ173番

最終頁に続く

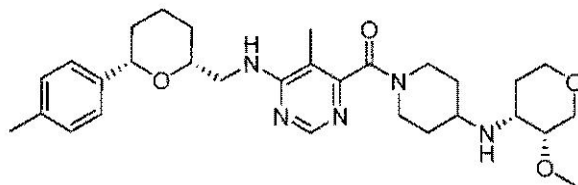
(54) 【発明の名称】 (4-((3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(P-トリル)テトラヒドロ-2H-

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

化合物I:

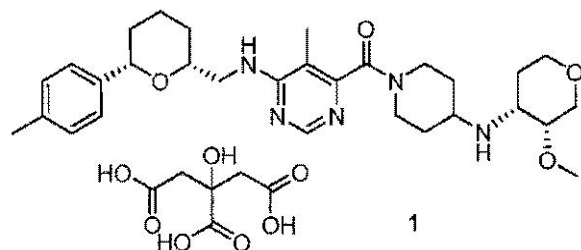
【化1】



I

のクエン酸塩であって、式

## 【化 2】



を有する、クエン酸塩。

10

## 【請求項 2】

結晶質形態である、請求項 1 に記載の塩。

## 【請求項 3】

= 1 . 5 4 0 5 6 、 4 0 k V、 4 0 m A の単色 C u K 1 放射線を使用して測定された以下の 2 値： 1 9 . 1 ° および 2 2 . 4 ° でのピークを含む X 線粉末回折パターンを示す、請求項 2 に記載の塩。

## 【請求項 4】

前記 X 線粉末回折パターンが 1 2 . 2 ° でのピークを更に含むことを特徴とする、請求項 3 に記載の塩。

## 【請求項 5】

20

前記 X 線粉末回折パターンが 1 3 . 7 ° でのピークを更に含むことを特徴とする、請求項 3 または 4 に記載の塩。

## 【請求項 6】

前記 X 線粉末回折パターンが 1 4 . 6 ° でのピークを更に含むことを特徴とする、請求項 3 ~ 5 のいずれか一項に記載の塩。

## 【請求項 7】

前記 X 線粉末回折パターンが 1 8 . 7 ° でのピークを更に含むことを特徴とする、請求項 3 ~ 6 のいずれか一項に記載の塩。

## 【請求項 8】

前記 X 線粉末回折パターンが 2 4 . 6 ° でのピークを更に含むことを特徴とする、請求項 3 ~ 7 のいずれか一項に記載の塩。

30

## 【請求項 9】

前記 X 線粉末回折パターンが 2 6 . 3 ° でのピークを更に含むことを特徴とする、請求項 3 ~ 8 のいずれか一項に記載の塩。

## 【請求項 10】

= 1 . 5 4 0 5 6 、 4 0 k V、 4 0 m A の単色 C u K 1 放射線を使用して測定された以下の 2 値： 1 2 . 2 ± 0 . 2、 1 3 . 7 ± 0 . 2、 1 4 . 6 ± 0 . 2、 1 9 . 1 ± 0 . 2、 および 2 2 . 4 ± 0 . 2 でのピークを含む X 線粉末回折パターンを示す、請求項 2 に記載の塩。

## 【請求項 11】

40

= 1 . 5 4 0 5 6 、 4 0 k V、 4 0 m A の単色 C u K 1 放射線を使用して測定された以下の 2 値： 1 2 . 2 ± 0 . 2、 1 3 . 7 ± 0 . 2、 1 4 . 6 ± 0 . 2、 1 8 . 7 ± 0 . 2、 1 9 . 1 ± 0 . 2、 2 2 . 4 ± 0 . 2、 2 4 . 6 ± 0 . 2、 および 2 6 . 3 ± 0 . 2 でのピークを含む X 線粉末回折パターンを示す、請求項 2 に記載の塩。

## 【請求項 12】

前記回折角 2 での前記ピークの相対強度が少なくとも 1 0 % である、請求項 3 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の塩。

## 【請求項 13】

前記回折角 2 での前記ピークの相対強度が少なくとも 1 5 % である、請求項 3 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の塩。

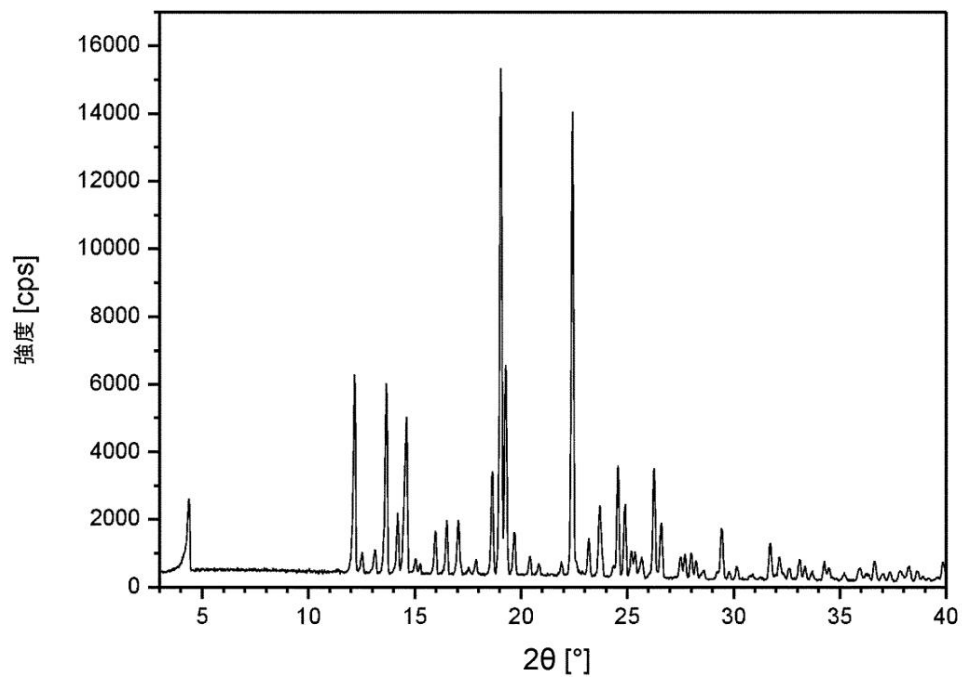
50

## 【請求項 1 4】

前記 X 線粉末回折パターンが下図に示すものである、請求項 2 に記載の塩。

## 【表 1】

図2



## 【請求項 1 5】

回折角  $2\theta$ 、格子面間隔  $d$ 、および相対強度（最も強いピークに対するパーセンテージとして表される）に関して表される以下の X 線粉末回折パターン：

【表 1】

$2\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
4.36	20.24	17
12.17	7.27	41
12.51	7.07	6
13.13	6.74	7
13.66	6.48	39
14.20	6.23	14
14.60	6.06	32
15.03	5.89	5
15.25	5.81	4
15.97	5.54	11
16.51	5.37	13
17.05	5.20	13
17.54	5.05	4
17.88	4.96	5

10

20

【表 2】

$2\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
18.65	4.75	22
19.05	4.66	100
19.68	4.51	11
20.42	4.35	6
20.84	4.26	4
21.25	4.18	3
21.90	4.06	5
22.42	3.96	92
23.19	3.83	9
23.70	3.75	16
24.34	3.65	4
24.56	3.62	23
24.89	3.57	16
25.20	3.53	7
25.36	3.51	7
25.67	3.47	6
26.26	3.39	23
26.59	3.35	12
27.51	3.24	6
27.71	3.22	6
28.01	3.18	7
28.23	3.16	5
28.57	3.12	3
29.44	3.03	12
30.15	2.96	4

10

20

30

40

によって特徴付けられる、請求項 2 に記載の塩。

【請求項 16】

$\text{cm}^{-1}$  単位の波数で表される以下のラマンシフト：1718、1242、731、662、553 の任意の 1 つまたはすべてでのピークを含むラマンスペクトルを有する、請

50

求項 2 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の塩。

【請求項 1 7】

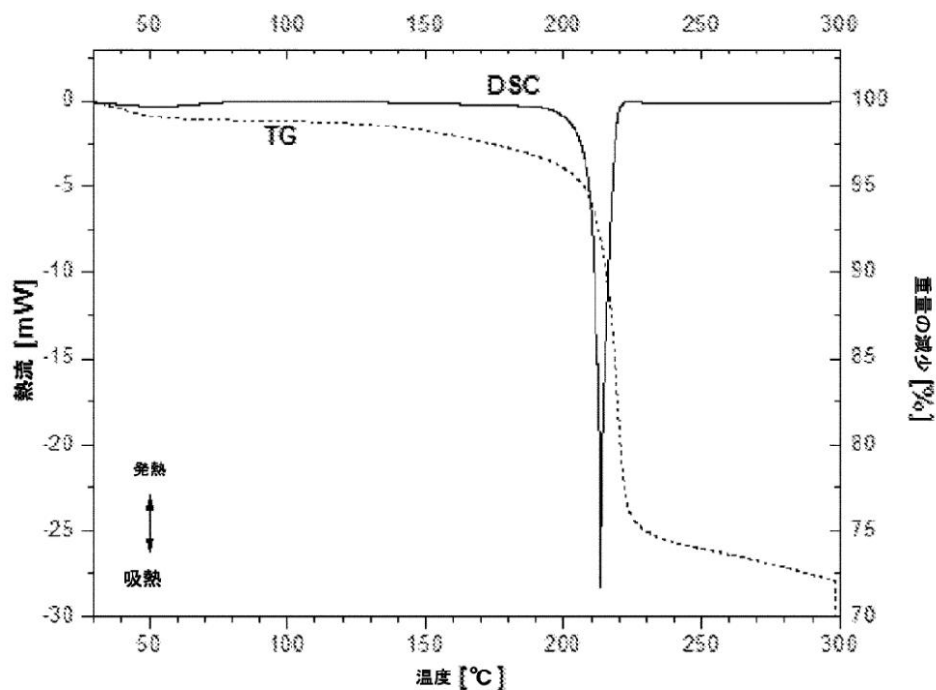
2 1 2 ± 5 の融点を有する、請求項 2 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の塩。

【請求項 1 8】

下図の示差走査熱量測定曲線を有する、請求項 2 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の塩。

【表 4】

図3



【請求項 1 9】

1 つまたは複数の不活性担体および / または希釈剤と共に請求項 1 に記載の塩を含む、医薬組成物。

【請求項 2 0】

1 つまたは複数の不活性担体および / または希釈剤と共に請求項 2 ～ 9 のいずれか一項に記載の塩を含む、医薬組成物。

【請求項 2 1】

1 つまたは複数の不活性担体および / または希釈剤と共に請求項 1 0 に記載の塩を含む、医薬組成物。

【請求項 2 2】

1 つまたは複数の不活性担体および / または希釈剤と共に請求項 1 1 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の塩を含む、医薬組成物。

【請求項 2 3】

薬物として使用するための、請求項 1 9 ～ 2 2 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 4】

疼痛、変形性関節症、糖尿病性神経障害、糖尿病性腎症、および糖尿病性多発ニューロパシーから選択される症状を治療するための請求項 19 ~ 22 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 25】

前記症状が疼痛である、請求項 24 に記載の医薬組成物。

【請求項 26】

前記症状が炎症性疼痛である、請求項 25 に記載の医薬組成物。

【請求項 27】

前記症状が慢性疼痛である、請求項 24 に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

前記症状が変形性関節症による疼痛である、請求項 24 に記載の医薬組成物。

【請求項 29】

前記症状が神経障害性疼痛または内臓痛である、請求項 24 に記載の医薬組成物。

【請求項 30】

前記症状が、急性および慢性の軽度乃至中程度の筋骨格系疼痛、腰痛、慢性腰痛、関節リウマチに関連する疼痛、肩関節痛、歯痛、変形性関節症、膝の変形性関節症、股関節部の変形性関節症、手の変形性関節症の兆候および症状、変形性関節症に伴う疼痛、癌性疼痛、糖尿病性多発ニューロパシー、内臓痛、急性疼痛、糖尿病性腎症、および神経障害性疼痛からなる群から選択される、請求項 24 に記載の医薬組成物。

【請求項 31】

前記症状が、(a) 三叉神経痛および (b) 化学療法から生じる神経障害による疼痛から選択される疼痛である、請求項 24 に記載の医薬組成物。

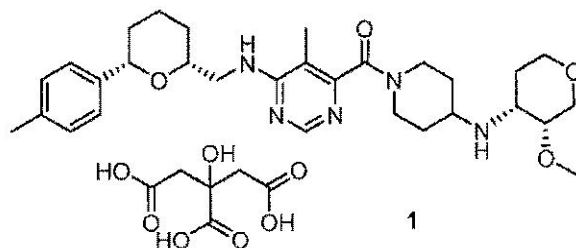
【請求項 32】

前記症状が変形性関節症である、請求項 24 に記載の医薬組成物。

【請求項 33】

化合物 1

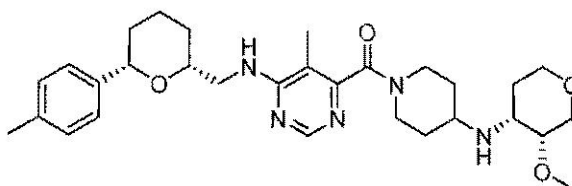
【化 3】



を製造する方法であって、以下の工程：

a) 有機溶媒中の化合物 I

【化 4】



の溶液にクエン酸を添加する工程、

b) 得られた塩 1 を純粋な形態で単離する工程

を含む、方法。

【請求項 34】

工程 a) における前記有機溶媒が、酢酸エチル、イソプロパノールおよびイソプロパノールと水との混合物からなる群から選択されることを特徴とする、請求項 33 に記載の方

法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、2015年7月2日出願の欧州特許出願公開第15175066.8号明細書の利益および優先権を主張する。

【0002】

本発明は、(4 - ((3R, 4R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ)ピペリジン - 1 - イル)((5 - メチル - 6 - ((2R, 6S) - 6 - (p - トリル)テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル)メチルアミノ)ピリミジン - 4 - イル)メタノンのクエン酸塩およびそれを製造するプロセスを提供する。本発明は、急性および慢性の軽度乃至中程度の筋骨格系疼痛、腰痛、慢性腰痛、関節リウマチに関連する疼痛、肩関節痛、歯痛、変形性関節症、膝の変形性関節症、股関節部の変形性関節症、手の変形性関節症の兆候および症状、変形性関節症に伴う疼痛、癌性疼痛、糖尿病性多発ニューロパシー、内臓痛、急性疼痛、糖尿病性腎症、神経障害性疼痛などの病状の治療において使用される同じクエン酸塩、ならびに同じの塩を含む医薬組成物も提供する。

10

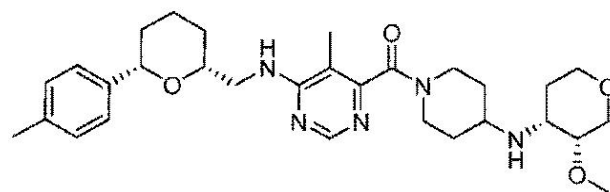
【背景技術】

【0003】

国際公開第2011/073154号パンフレットは、それに例示されている化合物の具体的な塩または結晶形を開示することなく、多くのテトラヒドロピラニル - メチル - アミノ - (ヘテロ)アリール - アミドを開示している。特に、国際公開第2011/073154号パンフレットは、化合物I

20

【化1】



I

30

を開示している。

【0004】

国際公開第2011/073154号パンフレットに開示されている化合物は強力なCCR2アンタゴニストである。しかしながら、ヒトにおいて薬物として使用するために開発可能であると証明するには、原薬およびその固体状態は、生体外および生体内での薬物動態学的および薬理学的特性および安全性プロファイルに加えて、固形特性、純度、乾燥時間、濾過性、安定性、熱安定性、吸湿性、再現性および更なる物理化学的性質、例えば溶解性および固有の溶出速度など、化学、製造および品質管理(CMC)の条件に関する一連の基準を満たさなければならない。

40

【0005】

ヒトにおいて医学的に使用される薬物生成物を開発する経過における最大の課題の1つは、安全性基準を満たすと同時に、ヒト用薬物の開発に適した固体形態を有する、すなわち上記の基準を累積的に満たす強力で有効な原薬を同定することである。これは、その固体、塩およびその多型の形態のそれぞれおよびすべてが、予想できないほど予測不可能な物理化学的および薬物動態学的特性を有するためである。

【0006】

更に、固体、塩および多型の予測不可能かつ予想外の性質のために、所望の特性を有す

50



る固体形態を設計する方法について、当業者に対する一般的な指針も具体的な指針もない。したがって、幅広くかつ創造的な研究および実験が、すべての条件を満たす、選択された原薬の特定の固体形態に到達するのに必須である。重要なパラメーターを最適化した結果、もう1つのまたは他のパラメーターが低下することが多い。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明の根底にある目的の技術的問題は、ヒトにおいて薬物として使用するために開発可能である、CCR2拮抗活性を有する原薬を提供することであり、

a) その原薬は、高い薬理学的効力、有効性、生体外および生体内薬物動態学、ならびに必要な安全性を特徴とし、かつ

b) その原薬およびその固体形態は、固体形態特性、純度、乾燥時間、濾過性、安定性、熱安定性、吸湿性、再現性および更なる物理化学的性質、例えば溶解性および固有の溶出速度など、化学、製造および品質管理(CMC)の条件に関する一連の基準を満たす。

【課題を解決するための手段】

【0008】

予想外にも、化合物Iは、実証されるように(以下の生物学的データを参照)、ヒトにおいて薬物として使用するのに必要とされる上記の基準の大部分を満たすことが判明している。これらのパラメーターは、血漿タンパク質結合性(薬物動態学および薬力学に関連する)、生体外での代謝安定性(薬物動態学に関連する)、薬物動態学および安全性(hERG、循環器系の安全性および薬物誘発脂質症に関連する)を含む。

【0009】

しかしながら、化合物Iの遊離塩基は、準安定状態にあり、したがって変態を受けやすい非晶質材料であることが判明した。再現可能に製造することができる条件を満たさないことから、開発するための原薬として適していなかった。

【0010】

エタノール、エタノール/水、2-プロパノール、2-プロパノール/水、アセトン、酢酸エチル、2-ブタノンまたはテトラヒドロフランなどの通常使用されるすべての溶媒中の溶液から結晶質形態で化合物Iを得る試みは失敗した。エタノール、エタノール/水、2-プロパノール、2-プロパノール/水、アセトン、酢酸エチル、2-ブタノンまたはテトラヒドロフランなどの通常使用されるすべての溶媒中の溶液から結晶質形態で化合物Iを得るかかる試みでは、非晶質物質のみが得られた。これらの失敗から、様々な酸との化合物Iの塩形態が研究された。

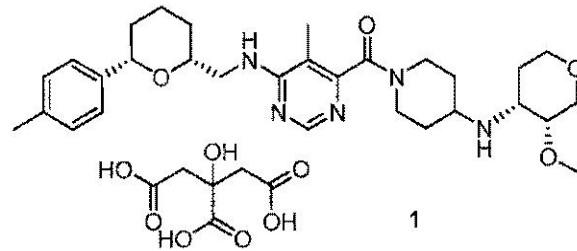
【0011】

薬剤製造プロセスにおける物理化学的性質の再現性を確保するため、原薬は、常に明瞭な結晶質形態で入手しなければならない。原薬の結晶質形態またはその塩は、異なる多型変形(多型)で存在する場合、1つの多型形態から別の多型形態への自然な転化が起こり得る。かかる自然な相互変換は許容できず、必ず防ぐべきである。したがって、薬剤製造プロセスの再現性を確保するには、1つの結晶質形態のみで存在するか、または少なくとも多型に対する傾向が低いことを特徴とする原薬の塩を同定することが必須である。

【0012】

本発明に従って、上記の技術的問題は実験および革新によって解決され、その結果として、特定の化合物(4-(3R,4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R,6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノクエン酸塩1

## 【化 2】



が同定された。クエン酸塩 1 は結晶質であり、すなわち特定の結晶変形によって定義され、したがって高純度および再現可能に高安定性で原薬を得ることが可能である。

10

## 【0013】

化合物 I の種々の塩形態が製造および分析された。例えば、化合物 I のクエン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、エタンスルホン酸塩 (esil ate) およびメタンスルホン酸塩の結晶質形態が結晶化によって得られた。これらの塩形態の分析により、予想外にも、化合物 I のクエン酸塩、エタンスルホン酸塩およびメタンスルホン酸塩は、1 つの多型形態のみを示すことが明らかとなった。これは、異なる多型変形で得られた化合物 I の臭化水素酸塩および塩酸塩と対照的である。

## 【0014】

原薬の他の重要なパラメーターは吸湿性である。製造中の収着による原薬の水の吸収によって製剤中の原薬の量が減少し、したがって有効性が低下する。更に、原薬または製剤の吸水によって原薬の分解が起こり得る。したがって、含水しないかまたはほとんど吸湿性を有さない原薬またはその塩を同定することが必須である。

20

## 【0015】

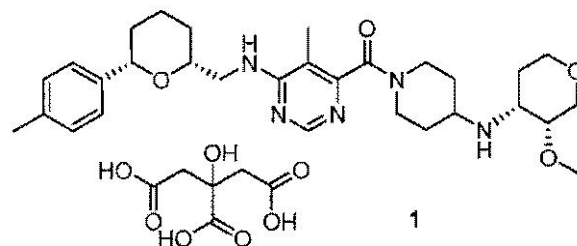
予想外にも、化合物 I のクエン酸塩 1 の結晶質形態は、90 % までの相対湿度での低いかつ可逆的な吸水を特徴とする (相対湿度 80 % で吸水 2.6 % および相対湿度 90 % で吸水 3.4 %)。一方、化合物 I の対応する臭化水素酸塩、塩酸塩、エタンスルホン酸塩およびメタンスルホン酸塩の結晶質形態は、80 % という低い相対湿度でかなりの量の水を容易に吸収し、不可逆的に潮解性となる。

## 【0016】

したがって、本発明の一態様は、以下の式 1 :

30

## 【化 3】



40

を有する化合物を提供する。特定の実施形態において、この化合物は結晶質形態で提供される。

## 【0017】

本発明の他の態様は、(i) クエン酸塩 1 などの本明細書に記載の化合物、および (ii) 1 つまたは複数の担体および / または希釈剤を含む医薬組成物を提供する。特定の実施形態において、医薬組成物は経口投与用に製剤化される。

## 【0018】

本発明の他の態様は、クエン酸塩 1、または病状を治療するのに使用される前記クエン酸塩 1 を含む医薬組成物を提供する。例示的な病状としては、例えば、疼痛 (例えば、炎症性疼痛または神経障害性疼痛) および変形性関節症が挙げられる。

50

## 【 0 0 1 9 】

本発明の他の態様は、患者における病状を治療する方法であって、それを必要とする患者に、クエン酸塩 1 などの本明細書に記載の化合物の治療有効量を投与して、病状を治療することを含む、方法を提供する。例示的な病状としては、例えば、疼痛（例えば、炎症性疼痛または神経障害性疼痛）および変形性関節症が挙げられる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【 0 0 2 0 】

【図 1】化合物（4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタノンの非晶質ベースの X 線粉末ディフラクトグラムを示す。

10

【図 2】（4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタノンクエン酸塩の X 線粉末ディフラクトグラムを示す。

【図 3】（4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタノンクエン酸塩の融点（DSC / TG）の熱分析および決定を示す。

【図 4】（4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタノンクエン酸塩の収着等温線を示す。

20

【図 5】（4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタノン臭化水素酸塩の X 線粉末ディフラクトグラムを示す。

【図 6】（4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタノン臭化水素酸塩の融点（DSC / TG）の熱分析および決定を示す。

30

【図 7】（4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタノン臭化水素酸塩の収着等温線を示す。

【図 8】4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタノン塩酸塩の X 線粉末ディフラクトグラムを示す。

【図 9】（4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタノン塩酸塩の融点（DSC / TG）の熱分析および決定を示す。

40

【図 10】（4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタノン塩酸塩の収着等温線を示す。

【図 11】（4 - （（3 R , 4 R） - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ）ピペリジン - 1 - イル）（5 - メチル - 6 - （（（2 R , 6 S） - 6 - （p - トリル）テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル）メチルアミノ）ピリミジン - 4 - イル）メタ

50

ノンエタンスルホン酸塩のX線粉末ディフラクトグラムを示す。

【図12】(4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンエタンスルホン酸塩の融点(DSC/TG)の熱分析および決定を示す。

【図13】(4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンエタンスルホン酸塩の収着等温線を示す。

【図14】(4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンメタンスルホン酸塩のX線粉末ディフラクトグラムを示す。

【図15】(4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンメタンスルホン酸塩の融点(DSC/TG)の熱分析および決定を示す。

【図16】(4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンメタンスルホン酸塩の収着等温線を示す。

【図17】(4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンクエン酸塩のFT-ラマンスペクトルを示す。

【図18】(4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンエタンスルホン酸塩のFT-ラマンスペクトルを示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

本発明は、4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンの塩形態、かかる塩形態を含有する医薬組成物、塩形態を製造する方法、ならびに疼痛および病状の治療などにおいて、かかる塩形態を使用する治療方法を提供する。本明細書に記述するように、4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンのクエン酸塩は、予想外にも、4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンの他の塩形態と比べて複数の予想外の利点を提供することが発見された。例えば、4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノンのクエン酸塩は、90%までの相対湿度で低いかつ可逆的な吸水を示すことが判明し、それは、80%という低い相対湿度でかなりの量の水を容易に吸収し、不可逆的に潮解性となる臭化水素酸塩、塩酸塩、エタンスルホン酸塩およびメタンスルホン酸塩の対応する塩形態と対照的である。更に、4-(3R, 4R)-3-メトキシテ

10

20

30

40

50

トラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンのクエン酸塩は、予想外にも、1つのみの多型結晶質形態を示すことが判明し、これは、様々な多型変形を示す臭化水素酸および塩化水素酸から形成される対応する結晶質塩と対照的である。したがって、4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンのクエン酸塩は、驚くべきことに、有益である複数の予想外の特性のために薬剤として開発するのに優れている。

【0022】

10

本発明の種々の態様は、以下のセクションで更に記述される。特定のセクションに記載の本発明の態様および実施形態は、特定のセクションに限定されるものではない。

【0023】

本発明の理解を容易にするために、多くの用語および語句が以下に定義される。

【0024】

「対象」および「患者」という用語は、本発明の方法によって治療される生物を意味する。かかる生物は、哺乳動物（例えば、マウス、サル、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ等）を含み、最も好ましくはヒトである。

【0025】

「有効量」という用語は、有益な結果または所望の結果を得るのに十分な化合物の量を意味する。有効量は、1つまたは複数の投与、適用または投薬量で投与することができるが、特定の製剤形態または投与経路に限定することを意図するものではない。

20

【0026】

「治療する」という用語は、いずれかの効果、例えば、その結果として病状、疾患、障害などの改善、またはその症状の寛解が得られる、緩和、低減、調節、寛解または解消を含む。

【0027】

本明細書全体を通して、組成物が特定の成分を有する、含む、もしくは含有すると記述される場合、または方法が特定の工程を有する、含む、もしくは含有すると記述される場合、更に、記載の成分から本質的になるまたはそれからなる本発明の組成物があることと、記載のプロセス工程から本質的になるまたはそれからなる本発明によるプロセスおよび方法があることが企図される。

30

【0028】

I. 4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンの塩形態

本発明の一態様は、4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンの塩形態を提供する。以下および作業実施例に記述されるように、本開示は、4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンを、クエン酸、臭化水素酸、塩化水素酸、エタンスルホン酸、およびメタンスルホン酸から選択される酸と反応させることによって製造される4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンの塩形態を記述する。

40

【0029】

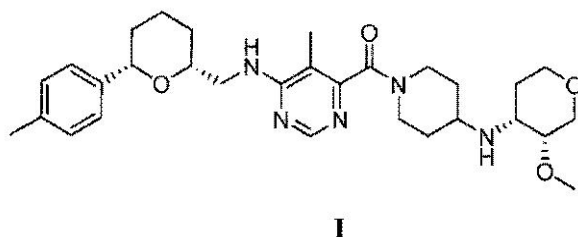
50

4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノンのクエン酸塩は、予想外にも、4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノンの他の塩形態と比べて複数の予想外の利点を提供することが発見された。例えば、4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノンのクエン酸塩は、90%までの相対湿度で低いかつ可逆的な吸水を示すことが判明し、それは、80%という低い相対湿度でかなりの量の水を容易に吸収し、不可逆的に潮解性となる対応する臭化水素酸塩、塩酸塩、エタンスルホン酸塩およびメタンスルホン酸塩の塩形態と対照的である。更に、4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノンのクエン酸塩は、予想外にも、1つのみの多型結晶質形態を示すことが判明し、それは、様々な多型変形を示す臭化水素酸および塩化水素酸から形成される対応する結晶質塩と対照的である。したがって、4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノンのクエン酸塩は、有益である複数の予想外の特性的のために薬剤として開発するのに優れている。

【0030】

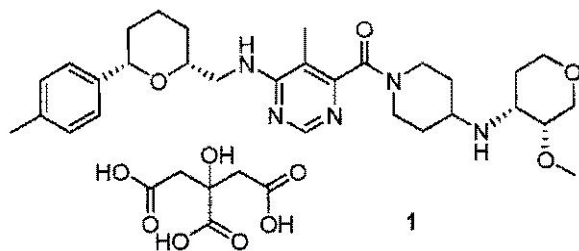
したがって、本発明の一態様は、化合物 I :

【化4】



のクエン酸塩であって、式

【化5】



を有する、クエン酸塩を提供する。

【0031】

特定の実施形態において、前記クエン酸塩は、結晶質形態である。

【0032】

特定の実施形態において、結晶質形態は、 $\lambda = 1.54056$ 、 $40\text{ kV}$ 、 $40\text{ mA}$ の単色 Cu K $\alpha$  1 放射線を用いて測定された以下の 2 値： $19.1^\circ$  および  $22.4^\circ$

でのピークを含むX線粉末回折パターンを示すことによって特徴付けられる。特定の実施形態において、結晶質形態は、X線粉末回折パターンが $12.2^\circ$ のピークを更に含むことを特徴とする。特定の実施形態において、結晶質形態は、X線粉末回折パターンが $13.7^\circ$ のピークを更に含むことを特徴とする。特定の実施形態において、結晶質形態は、X線粉末回折パターンが $14.6^\circ$ のピークを更に含むことを特徴とする。特定の実施形態において、結晶質形態は、X線粉末回折パターンが $18.7^\circ$ のピークを更に含むことを特徴とする。特定の実施形態において、結晶質形態は、X線粉末回折パターンが $24.6^\circ$ のピークを更に含むことを特徴とする。特定の実施形態において、X線粉末回折パターンが $26.3^\circ$ のピークを更に含むことを特徴とする。

#### 【0033】

10

特定の実施形態において、結晶質形態は、 $\lambda = 1.54056$ 、 $40\text{ kV}$ 、 $40\text{ mA}$ の単色CuK $\alpha$ 1放射線を用いて測定された以下の2値： $12.2 \pm 0.2$ 、 $13.7 \pm 0.2$ 、 $14.6 \pm 0.2$ 、 $19.1 \pm 0.2$ 、および $22.4 \pm 0.2$ でのピークを含むX線粉末回折パターンを示す。他の特定の実施形態において、結晶質形態は、 $\lambda = 1.54056$ 、 $40\text{ kV}$ 、 $40\text{ mA}$ の単色CuK $\alpha$ 1放射線を用いて測定された以下の2値： $12.2 \pm 0.2$ 、 $13.7 \pm 0.2$ 、 $14.6 \pm 0.2$ 、 $18.7 \pm 0.2$ 、 $19.1 \pm 0.2$ 、 $22.4 \pm 0.2$ 、 $24.6 \pm 0.2$ 、および $26.3 \pm 0.2$ でのピークを含むX線粉末回折パターンを示す。

#### 【0034】

特定の実施形態において、前記回折角 $2\theta$ でのピークの相対強度は少なくとも10%である。他の特定の実施形態において、前記回折角 $2\theta$ でのピークの相対強度は少なくとも15%である。

20

#### 【0035】

特定の実施形態において、結晶質形態は、実質的に図2に示されるX線粉末回折パターンを有する。

#### 【0036】

特定の実施形態において、結晶質形態は、回折角 $2\theta$ 、格子面間隔 $d$ 、および相対強度（最も強いピークに対するパーセンテージとして表される）に関して表される以下のX線粉末回折パターンによって特徴付けられる。

#### 【0037】

30

【表 1】

$2\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
4.36	20.24	17
12.17	7.27	41
12.51	7.07	6
13.13	6.74	7
13.66	6.48	39
14.20	6.23	14
14.60	6.06	32
15.03	5.89	5
15.25	5.81	4

10

20

【 0 0 3 8 】



【表 2】

2 $\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
15.97	5.54	11
16.51	5.37	13
17.05	5.20	13
17.54	5.05	4
17.88	4.96	5
18.65	4.75	22
19.05	4.66	100
19.68	4.51	11
20.42	4.35	6
20.84	4.26	4
21.25	4.18	3
21.90	4.06	5
22.42	3.96	92
23.19	3.83	9
23.70	3.75	16
24.34	3.65	4
24.56	3.62	23
24.89	3.57	16
25.20	3.53	7
25.36	3.51	7
25.67	3.47	6
26.26	3.39	23
26.59	3.35	12
27.51	3.24	6
27.71	3.22	6
28.01	3.18	7
28.23	3.16	5
28.57	3.12	3
29.44	3.03	12
30.15	2.96	4

10

20

30

40

結晶質形態は、そのラマンスペクトルに従って更に特徴付けることができる。したがって、特定の実施形態において、結晶質形態は、 $\text{cm}^{-1}$  単位の波数で表される以下のラマンシフト：1718、1242、731、662、553の任意の1つまたはすべてでのピークを含むラマンスペクトルを有する。

【0040】

結晶質形態は、その融点に従って更に特徴付けることができる。したがって、特定の実施形態において、結晶質形態は  $212 \pm 5$  の融点を有する。

【0041】

結晶質形態は、その示差走査熱量測定曲線に従って更に特徴付けることができる。したがって、特定の実施形態において、結晶質形態は、図3に示すものと実質的に同じ示差走査熱量測定曲線を有する。

10

【0042】

望ましくは、4 - ((3R, 4R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2R, 6S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) プリミジン - 4 - イル) メタノンのクエン酸塩において、クエン酸：4 - ((3R, 4R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2R, 6S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) プリミジン - 4 - イル) メタノンのモル比は、約1：1である。特定の実施形態では、4 - ((3R, 4R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2R, 6S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) プリミジン - 4 - イル) メタノンのクエン酸塩において、クエン酸：4 - ((3R, 4R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2R, 6S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) プリミジン - 4 - イル) メタノンのモル比は、1.2：1 ~ 1：1.2の範囲である。他の特定の実施形態において、4 - ((3R, 4R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2R, 6S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) プリミジン - 4 - イル) メタノンのクエン酸塩では、クエン酸：4 - ((3R, 4R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2R, 6S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) プリミジン - 4 - イル) メタノンのモル比は、1：1である。

20

30

【0043】

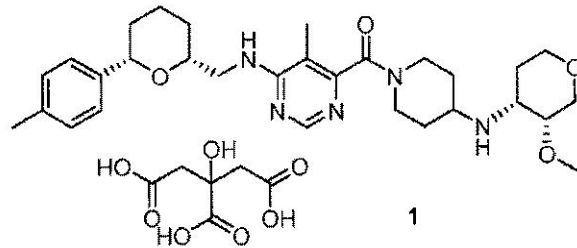
化合物(4 - ((3R, 4R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2R, 6S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) プリミジン - 4 - イル) メタノン(I) およびその製造プロセスが国際公開第2011/073154号パンフレットに開示されている。この化合物を製造するプロセスについての詳細は、国際公開第2011/073154号パンフレットに記載されている(実施例30、ページ150)。

40

【0044】

クエン酸塩1を製造するプロセスも提供される。例えば、本発明の一態様は、化合物1

## 【化 6】

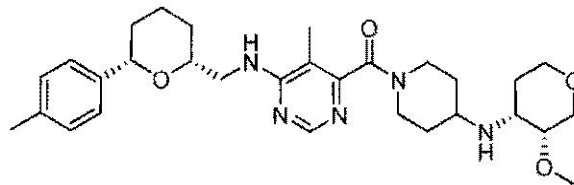


を製造する方法であって、以下の工程：

10

a) 有機溶媒中の化合物 I

## 【化 7】



の溶液にクエン酸を添加する工程、

b) 得られた塩 1 を純粋な形態で単離する工程

20

を含む、方法を提供する。

## 【0045】

特定の実施形態において、この方法は、工程 a) の有機溶媒が、酢酸エチル、イソプロパノールおよびイソプロパノールと水との混合物からなる群から選択されることを更に特徴とする。

## 【0046】

## II. 治療用途

セクション I に記載されるような化合物（例えば、クエン酸塩 1）および本明細書に記載の医薬組成物は薬物として有用である。この薬物は、CCR2 活性の抑制によって治療上の利点が見られる疾患を治療するための薬物であり得る。

30

## 【0047】

ケモカイン受容体 CCR2 は、炎症性および免疫調節性障害および疾患、ならびに自己免疫症状、例えば関節リウマチおよびアテローム性動脈硬化症の重要なメディエーターであると意味付けられると報告されている。例えば、国際公開第 2010/070032 号パンフレットを参照されたい。したがって、ケモカイン受容体 CCR2 を調節する作用物質は、かかる障害および疾患の治療に有用である。

## 【0048】

より一般的には、多くの症状および疾患が炎症プロセスを伴うことが広く受け入れられている。かかる炎症は、重要なことに、単球からの分化によって形成されるマクロファージの活性によって誘発および/または促進される。単球は、例えば膜常在性 CCR2 の高い発現を特徴とするのに対して、マクロファージにおける CCR2 発現は低いことが更に判明した。CCR2 は、単球走化性タンパク質（MCP-1、MCP-2、MCP-3、MCP-4）の勾配に沿った炎症への単球の移動として説明される単球輸送の重要な制御因子である。

40

## 【0049】

したがって、マクロファージによって誘発される炎症を低減するには、アンタゴニストによって単球 CCR2 をブロックし、その結果、単球が、マクロファージへ転化する炎症領域に向かって移動することを誘発されないようにすることが望ましいと考えられる。

## 【0050】

したがって、本発明の一態様は、患者における CCR2 関連症状を治療する方法を提供

50

し、この方法は、それを必要とする患者に、本明細書に記載の化合物（例えば、クエン酸塩 1 またはその結晶質形態）の治療有効量を投与して、症状を治療することを含む。特定の実施形態において、CCR2 関連症状は MCP-1 関連症状である。

【0051】

特定の実施形態において、CCR2 関連症状は疼痛である。治療が企図される疼痛の例示的なタイプとしては、例えば、炎症性疼痛、神経障害性疼痛、および内臓痛が挙げられる。特定の実施形態において、疼痛は慢性疼痛である。特定の実施形態において、疼痛は、変形性関節症による疼痛である。治療が企図される疼痛の他の例示的なタイプとしては、例えば、腰痛、股関節部疼痛、下肢痛、非ヘルペス性神経痛、ヘルペス後神経痛、糖尿病性神経障害、神経障害誘発痛、後天性免疫不全症候群（AIDS）関連神経障害性疼痛、頭部外傷、毒素および化学療法から生じる神経障害、幻肢痛、有痛性外傷モノニューロパシー、有痛性多発ニューロパシー、視床痛症候群、脳卒中後疼痛、中枢神経系障害、手術後疼痛、手根管症候群、三叉神経痛、乳房摘出後症候群、開胸後症候群、断端痛、反復運動疼痛、神経障害性疼痛関連痛覚過敏および異痛症、アルコール症および他の薬物誘発疼痛が挙げられる。

10

【0052】

他の特定の実施形態において、CCR2 関連症状は免疫関連疾患である。例示的な免疫関連疾患としては、例えば、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、全身発症型若年性関節リウマチ、乾癬性関節炎、強直性脊椎関節炎、胃潰瘍、セロネガティブ関節症、変形性関節症、炎症性腸疾患、および潰瘍性大腸炎が挙げられる。

20

【0053】

他の特定の実施形態において、CCR2 関連症状は繊維性症状である。例示的な繊維性症状としては、例えば、肝臓繊維症（限定されないが、アルコール誘発肝硬変、ウイルス誘発肝硬変、自己免疫誘発肝炎）；肺繊維症（限定されないが、強皮症、特発性肺線維症）；腎臓繊維症（限定されないが、強皮症、糖尿病性腎炎、糸球体腎炎、ループス腎炎）；皮膚繊維症（限定されないが、強皮症、肥厚性およびケロイド瘢痕化、火傷）；骨髓線維症；神経線維腫症；繊維腫；腸管繊維症；および外科的処置から生じる繊維性癒着が挙げられる。

【0054】

他の特定の実施形態において、CCR2 関連症状は炎症性疾患である。

30

【0055】

本発明の他の態様は、疼痛、変形性関節症、糖尿病性腎症、および糖尿病性多発ニューロパシーから選択される症状を治療する方法であって、それを必要とする患者に、本明細書に記載の化合物（例えば、クエン酸塩 1 またはその結晶質形態）の治療有効量を投与して、その症状を治療することを含む、方法を提供する。

【0056】

特定の実施形態において、その症状は疼痛である。特定の実施形態において、その症状は炎症性疼痛である。特定の実施形態において、その症状は慢性疼痛である。特定の実施形態において、その症状は、変形性関節症による疼痛である。特定の実施形態において、その症状は神経障害性疼痛または内臓痛である。

40

【0057】

特定の実施形態において、その症状は、急性および慢性の軽度乃至中程度の筋骨格系疼痛、腰痛、慢性腰痛、関節リウマチに関連する疼痛、肩関節痛、歯痛、変形性関節症、膝の変形性関節症、股関節部の変形性関節症、手の変形性関節症の兆候および症状、変形性関節症に伴う疼痛、癌性疼痛、糖尿病性多発ニューロパシー、内臓痛、急性疼痛、糖尿病性腎症、神経障害性疼痛からなる群から選択される。特定の実施形態において、その症状は、（a）三叉神経痛および（b）化学療法から生じる神経障害による疼痛から選択される疼痛である。

【0058】

特定の実施形態において、その症状は変形性関節症である。

50

## 【 0 0 5 9 】

特定の実施形態において、この方法は、クエン酸塩 1 の治療有効量を患者に投与して、その症状を治療することを含む。

## 【 0 0 6 0 】

より具体的な実施形態において、本発明は、CCR2 受容体の抑制が有益である疾患、例えば、( i ) 急性および慢性の軽度乃至中程度の筋骨格系疼痛（腰痛、慢性腰痛、関節リウマチに関連する疼痛、肩関節痛、歯痛）；( i i ) 変形性関節症兆候および症状（膝の変形性関節症および／または股関節部の変形性関節症、手の変形性関節症、変形性関節症に伴う疼痛）；( i i i ) 癌性疼痛；( i v ) 糖尿病性多発ニューロパシー；( v ) 内臓痛；( v i ) 急性疼痛；( v i i ) 糖尿病性腎症；および( v i i i ) 神経障害性疼痛などを治療するための、本明細書に記載の化合物の使用を提供する。

10

## 【 0 0 6 1 】

## I I I . 医薬組成物

本発明の他の態様は、1 種または複数種の不活性担体および／または希釈剤と共に本明細書に記載の化合物（例えば、クエン酸塩 1）を含む医薬組成物を提供する。医薬組成物は、経口投与などの特定の経路を介した投与のために製剤化され得る。

## 【 0 0 6 2 】

より一般的には、適切な投与形態は、例えば、錠剤、カプセル剤、液剤、シロップ剤、エマルジョン剤または吸入可能な粉剤またはエアロゾル剤である。それぞれの場合において薬学的に有効な化合物の含有量は、組成物全体に対して 0 . 1 ~ 9 0 重量％、好ましくは 0 . 5 ~ 5 0 重量％の範囲であるべきであり、すなわち以下に指定される投与範囲に達するのに十分な量である。

20

## 【 0 0 6 3 】

製剤は、錠剤の形態で、粉末として、カプセル（例えば、ハードゼラチンカプセル）中の粉末として、溶液または懸濁液として経口投与され得る。吸入により投与される場合、活性物質の組み合わせは、粉末として、水性溶液もしくは水性エタノール性溶液として、または噴射剤ガス配合物を用いて与えられ得る。

## 【 0 0 6 4 】

適切な錠剤は、例えば、活性物質を公知の賦形剤、例えば炭酸カルシウム、リン酸カルシウムまたはラクトースなどの不活性希釈剤、デンプンまたはアルギン酸などの崩壊剤、デンプンまたはゼラチンなどの結合剤、ステアリン酸マグネシウムまたはタルクなどの潤滑剤および／またはカルボキシメチルセルロース、酢酸フタル酸セルロース、またはポリ酢酸ビニルなどの放出を遅らせる作用剤と混合することによって得られる。錠剤は、いくつかの層も含み得る。したがって、被覆タブレットは、タブレットに類似して形成されたコアを、錠剤コーティングに通常使用される物質、例えばコリジンまたはセラック、アラビアゴム、タルク、二酸化チタンまたは糖でコーティングすることによって製造され得る。遅延放出を達成するため、または不相溶性を防ぐために、コアは多くの層からなり得る。同様に、タブレットコーティングは、場合によりタブレットについて上記の賦形剤を使用して、遅延放出を達成するために多くの層からなり得る。

30

## 【 0 0 6 5 】

本発明による活性物質またはその組み合わせを含有するシロップ剤は、甘味料、例えばサッカリン、シクラメート、グリセロールまたは糖および風味増強剤、例えば、バニリンまたはオレンジ抽出物などの風味を更に含有し得る。それらは、カルボキシメチルセルロースナトリウムなどの懸濁補助剤または増粘剤、湿潤剤、例えば、脂肪アルコールとエチレンオキシドの縮合生成物、または p - ヒドロキシベンゾエートなどの保存剤も含有し得る。

40

## 【 0 0 6 6 】

1 種または複数種の活性物質または活性物質の組み合わせを含有するカプセル剤は、例えば、ラクトースもしくはソルビトールなどの不活性担体と活性物質を混合し、それらをゼラチンカプセル内に充填することによって製造され得る。

50

## 【 0 0 6 7 】

適切な坐剤は、例えば天然脂肪もしくはポリエチレングリコールまたはその誘導体など、この目的のために提供される担体と混合することによって製造され得る。

## 【 0 0 6 8 】

使用することができる賦形剤としては、例えば、水、薬学的に許容される有機溶媒、例えばパラフィン（例えば、石油留分）、植物油（例えば、落花生油またはゴマ油）、単官能性または多官能性アルコール（例えば、エタノールまたはグリセロール）、担体、例えば、天然鉱物粉末（例えば、カオリン、粘土、タルク、チョーク）、合成鉱物粉末（例えば、高度に分散されたケイ酸およびケイ酸塩）、糖（例えば、ショ糖、ラクトースおよびグルコース）、乳化剤（例えば、リグニン、亜硫酸廃液、メチルセルロース、デンプンおよびポリビニルピロリドン）および潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ステアリン酸およびラウリル硫酸ナトリウム）が挙げられる。

10

## 【 0 0 6 9 】

経口投与について、錠剤は、当然のことながら、上記の担体の他に、デンプン、好ましくはジャガイモデンプン、ゼラチンなどの種々の添加剤と共に、クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウムおよびケイ酸二カルシウムなどの添加剤を含有し得る。更に、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウムおよびタルクなどの潤滑剤をタブレット形成プロセスに同時に使用してもよい。水性懸濁液の場合、上記の賦形剤に加えて活性物質を種々の風味増強剤と組み合わせてもよい。

## 【 0 0 7 0 】

20

## I V . 医療用途で使用されるキット

本発明の他の態様は、病状を治療するためのキットを提供する。このキットは、i ) 疼痛、変形性関節症、糖尿病性腎症、または糖尿病性多発ニューロパシー（例えば、急性および慢性の軽度乃至中程度の筋骨格系疼痛、腰痛、慢性腰痛、関節リウマチに関連する疼痛、肩関節痛、歯痛、変形性関節症に伴う疼痛、癌性疼痛、内臓痛、急性疼痛、糖尿病性腎症、および神経障害性疼痛から選択される疼痛）などの病状を治療するための説明書；およびii ) クエン酸塩 1 などの本明細書に記載の化合物を備える。このキットは、疼痛などの前記病状を治療するのに有効な量のクエン酸塩 1 を含有する 1 つまたは複数の単位用量を備え得る。

## 【 実施例 】

30

## 【 0 0 7 1 】

一般に説明される本発明は、本発明の特定の態様および実施形態を説明する目的でのみ包含され、かつ本発明を限定することを意図されない以下の実施例を参照して、より容易に理解されるであろう。

## 【 0 0 7 2 】

## 略語のリスト

A U C 血漿中濃度 - 時間曲線下の面積  
 B R 臭化水素酸塩（臭化水素酸との塩）  
 B S 塩基（定義される塩ではない）  
 $C_{m a x}$  ピーク濃度  
 C I クエン酸塩（クエン酸との塩）  
 C L クリアランス  
 C L 塩酸塩（塩化水素酸との塩）  
 E S エタンスルホン酸塩（エタンスルホン酸 1 モルとの塩）  
 d . b . 乾燥量基準（で）  
 D S C 示差走査熱量計  
 D M S O ジメチルスルホキシド  
 D M S O - d <sub>6</sub> 重水素化 D M S O  
 D V S 動的水蒸気吸収装置  
 E D T A エチレンジアミン四酢酸

40

50

E G T A エチレングリコール四酢酸  
 E S I エレクトロスプレーイオン化  
 f メス  
 F 経口バイオアベイラビリティ  
 F C S ウシ胎仔血清  
 H E P E S 4 - ( 2 - ヒドロキシエチル ) - 1 - ピペラジンエタンスルホン酸  
 h E R G ヒト遅延整流性カリウムイオンチャンネル遺伝子  
 H R 高分解能  
 I V、i . v . 静脈内  
 m オス  
 M モル / L  
 M c I l v a i n e 緩衝液 クエン酸 / リン酸緩衝液  
 M R T <sub>d i s p</sub> 静脈内投与後の平均滞留時間  
 M R T <sub>t o t</sub> 経口投与後の平均滞留時間  
 M S 質量分析  
 M S メタンスルホン酸塩 ( メタンスルホン酸 1 モルとの塩 )  
 m / z 質量電荷比  
 N M R 核磁気共鳴  
 P B S リン酸緩衝生理食塩水  
 P K 薬物動態学  
 P O、p . o . 経口  
 r . h . 相対湿度  
 R T 室温  
 S o e r e n s e n 緩衝液 N a O H / N a C L / グリシン緩衝液  
 t <sub>m a x</sub> 最高血漿中濃度の時間  
 T G 熱重量測定  
 V <sub>s s</sub> 定常状態分布容積  
 V L E 非常に低いエンドトキシン  
 X R P D X 線粉末回折

10

20

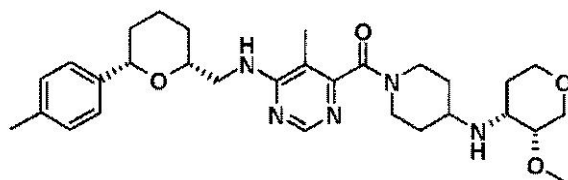
【 0 0 7 3 】

30

実施例 1 - 化合物 I の塩の製造および物理化学的特徴付け

化合物 I のクエン酸塩を含む化合物 I の複数の塩を製造し、特徴付けた。実験手順および結果を以下に示す。化合物 I は、以下の式：

【化 8】



40

を有する。

【 0 0 7 4 】

パート I：用いられた分析法の説明

化合物 I の塩を特徴付けるために使用された分析方法の詳細を以下に示す。

【 0 0 7 5 】

【表 3】

## ESI 質量分析(ESI+)

装置	QTOF 2 (Micromass, Manchester, UK)	
装置制御ソフトウェア	Masslynx 4.1	
イオン化ソース	ESI + (Lockspray ソース)	
Lockspray/DXC	オン/オフ	10
校正	アセトニトリル/水 (1:1)中の 0.1 %リン酸、ロックマス (lockmass)校正	
分解 MS1(LM/HM)	5/5	
分解能 (FWHM)	m/z 491 (W モード)にて 16000	
MCP 電圧	2200 V	
キャピラリー電圧	+ 2.8 kV	
コーン電圧	25 V	20
衝突エネルギー	5 V	
衝突ガス	アルゴン	
ソース温度	120 °C	
脱溶媒温度	150 °C	
コーンガス	窒素 75 L/h	
脱溶媒ガス	窒素 450 L/h	
スプレー溶媒	アセトニトリル/水 9:1	
シリンジポンプ	Harvard Apparatus 55-2222	30
スプレー溶媒流量	5 µL/分	
試料濃度	5 ng/µL スプレー溶媒	
試剤	アセトニトリル(ULC/MS, Biosolve) 水(Milli-Q-system で精製)	
スキャン範囲	50 ~ 1000 u (TOF スキャン, プロファイルデータ)	
スキャン時間	2.9 s	40
合計スキャン数	20	
正確な質量決定	中央 5 ポイント/80%, Np=0.35, ロックマス: 588.8692	
データ閾値	1.0 %	



【表 4】

<sup>1</sup>H NMR 分光法

装置	Bruker DRX 400
周波数	400.13 MHz
ソフトウェア	TopSpin® バージョン 1.3 PL8
パルスプログラム	zg30
溶媒	DMSO-d <sub>6</sub>
濃度	10.3 mg / 0.6 mL
温度	30 °C
校正	TMS ( $\delta$ = 0.00 ppm)
掃引幅	8013 Hz
サイズ	64 K データポイント
パルス幅	30 度
緩和待ち時間	10 s
スキャン数	32
ダミースキャン	8
アポダイゼーション	128 K データポイントに対してゼロ埋め ガウス乗算(GB: 0.25, LB: -0.25 Hz)

10

20

【 0 0 7 7 】

30

【表 5】

<sup>13</sup>C NMR 分光法

装置	Bruker DRX 400
周波数	100.61 MHz
ソフトウェア	TopSpin® バージョン 1.3 PL8
パルスプログラム	Zgpg
溶媒	DMSO-d <sub>6</sub>
濃度	10.3 mg / 0.6 ml
温度	30 °C
校正	DMSO-d <sub>6</sub> (δ = 39.5 ppm)
掃引幅	27778 Hz
サイズ	64 K データポイント
パルス幅	90 度
緩和待ち時間	4 s
スキャン数	4096
ダミースキャン	32
アポダイゼーション	128 K データポイントに対してゼロ埋め 指数関数的乗算(LB: 2.5 Hz)

10

20

## 【0078】

X線粉末(XRPD)図

単色CuK $\alpha$ 1放射線( $\lambda$  = 1.54056 Å、40 kV、40 mA)と共に、MYT HEN検出器およびX線源としてのCu-陽極を備えた、伝達モードのSTOE-STADIP-回折計を使用してX線粉末図を作成した。

30

## 【0079】

FT-ラマン分光法

Bruker RAM II FT-Raman Module装置(分解能2 cm<sup>-1</sup>、64スキャン、レーザーパワー500 mW(集束レーザー))を使用して沸点チューブ内で試料を測定した。分析: 3500 cm<sup>-1</sup> ~ 50 cm<sup>-1</sup>のスペクトル範囲でのベクターのスケーリング。

## 【0080】

示差走査熱量測定 - 融点

化合物が、示差走査熱量測定(DSC)によって決定された融点によって特徴付けられ、ピーク最大値および開始温度によって評価される。実験の加熱速度は10 °C/分である。示される値は、TA InstrumentsのQ-series(商標)からのDSC装置を使用して決定された。

40

## 【0081】

熱重量測定(TG)

TA InstrumentsのQ-seriesからのTG装置で熱重量測定データを収集した。この方法では、制御雰囲気下での温度の関数として材料の重量変化が測定される。

50

## 【 0 0 8 2 】

## 動的蒸気吸収 (DVS)

Hidden IsochemaからのIGA sorp水分収着モニターを使用して収着等温線を作成した。相対湿度が10%間隔の10~90%の範囲で、吸着および脱着等温線が25 で得られた。

## 【 0 0 8 3 】

臭化水素酸塩形態についてのみ、Surface Measurement SystemsからのDVS-1水分収着モニターで収着等温線が登録された。

## 【 0 0 8 4 】

## 溶解性

自動振盪フラスコ法(室温において)を用いて溶解性を決定し、UV分光法により、この自動化セットアップ内の溶解された原薬の定量化を行った。

## 【 0 0 8 5 】

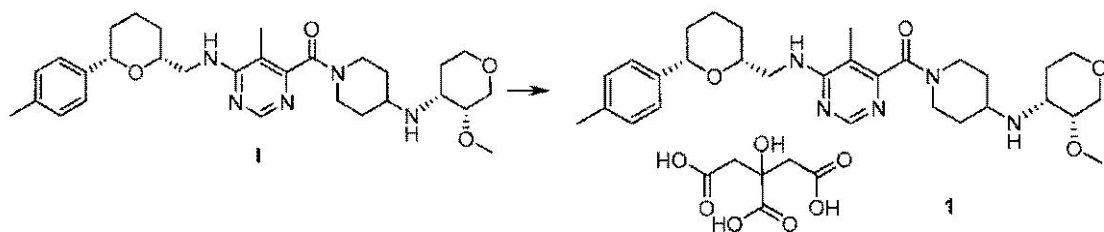
パートII: (4-((3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノクエン酸塩(1)の製造

## 【 0 0 8 6 】

標題化合物を製造する例示的な手順を物理的特徴付けデータと共に以下に示す。製造手順は、標題化合物を製造する2つの異なる経路を含む。

製造オプションa) 遊離塩基Iから出発するクエン酸塩の製造:

## 【 化 9 】



酢酸エチル(2 mL)中の遊離塩基I(200 mg、0.372 mmol)の溶液にクエン酸一水和物(78.2 mg; 0.372 mmol)を添加する。その溶液を一晩(18時間)攪拌する。懸濁液を濾過し、生成物を真空内で40 において乾燥させ、無色の結晶140 mg、0.192 mmol(52%)が形成される。クエン酸塩1の物理的特徴付けデータを以下に示す。

NMR ( $^1\text{H}$ , 400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.7 - 8.5 (2H, ブロード), 8.34 (1H, s), 7.22 (2H, m), 7.12 (2H, m), 7.08 (1H, t), 4.49 (1H, m), 4.31 (1H, d), 4.09 (1H, m), 3.85 (1H, m), 3.74 (1H, m), 3.57 - 3.44 (2H, m), 3.48 (1H, m), 3.47 (1H, m), 3.35 (3H, s), 3.35 (1H, m), 3.33 (1H, m), 3.29 (1H, m), 3.27 (1H, m), 3.04 (1H, m), 2.84 (1H, m), 2.58 (2H, d), 2.50 (2H, d), 2.28 (3H, s), 2.12 (1H, m), 1.94 (1H, m), 1.91 (3H, s), 1.88 (1H, m), 1.78 (1H, m), 1.76 (1H, m), 1.70 (1H, m), 1.66 (1H, m), 1.63 (1H, m), 1.40 (1H, m), 1.40 (1H, m), 1.37 (1H, m), 1.24 (1H, m) (回転異性体を含む)。

NMR ( $^{13}\text{C}$ , 100 MHz, DMSO- $d_6$ ): 176.6, 171, 165.4, 161.0, 156.6, 155.4, 140.3, 136.0, 128.5, 125.6, 109.3, 78.5, 75.4, 72.4, 72.2, 71.2, 64.8, 64

10

20

30

40

50

. 4, 64 . 4, 55 . 5, 55 . 5, 51 . 5, 51 . 4, 50 . 2, 45 . 6, 44 . 1, 44 . 1, 38 . 8, 33 . 3, 29 . 6, 28 . 7, 28 . 7, 25 . 1, 23 . 1, 20 . 6, 11 . 7 (回転異性体を含む)。

H R M S ( E S I ) : m / z 538 . 3400 ( [ M + H ] <sup>+</sup> ; C<sub>30</sub> H<sub>44</sub> N<sub>5</sub> O<sub>4</sub> )

F T - ラマンスペクトル (固有のバンド) [ c m <sup>-1</sup> ] : 1718、1242、731、662、553。

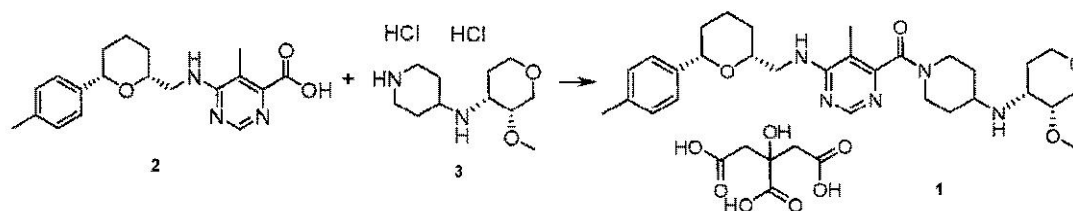
【0087】

更なる特徴付けデータについては、以下の表 I I および図 2 ~ 4 および 17 を参照されたい。

【0088】

製造オプション b ) アミドカップリングに続く、クエン酸塩の製造：

【化10】



50 の 2 - メチルテトラヒドロフラン 75 L 中の 10 . 0 k g ( 29 . 29 m o l ) の懸濁液に 1 , 1 ' - カルボニルジイミダゾール 4 . 99 k g ( 30 . 75 m o l ) を添加する。粉末漏斗を 2 - メチルテトラヒドロフラン 5 L ですすぐ。反応混合物を 50 で 70 分間攪拌する。次いで、8 . 83 k g ( 30 . 75 m o l ) の 3 を反応混合物に添加し、漏斗を 2 - メチルテトラヒドロフラン 5 L ですすぐ。次に、トリエチルアミン 7 . 41 k g ( 73 . 23 m o l ) および 2 - メチルテトラヒドロフラン 10 L を添加し、反応混合物を還流下において 1 時間攪拌する。次いで、混合物を 60 に冷却し、水 55 L 中の炭酸カリウム 6 . 07 k g ( 43 . 94 m o l ) の溶液を添加し、相を 55 で分離する。有機層を 60 L で洗浄し、真空内で蒸留することによって溶媒 80 L を除去する。得られた残留物をイソプロピルアルコール 80 L で希釈し、真空内で蒸留することによって溶媒 55 L を除去する。得られた残留物をイソプロピルアルコール 40 L で希釈し、真空内で蒸留することによって溶媒 40 L を除去する。次に、水 11 L 中のクエン酸一水和物 5 . 85 k g ( 27 . 83 m o l ) を添加し、滴下漏斗をイソプロピルアルコール 30 L ですすぐ。反応混合物を 75 に加熱し、溶液が形成するまで攪拌し、次いで濾過する。水 2 L とイソプロピルアルコール 20 L の混合物でフィルターをすすぐ。次いで、濾液をイソプロピルアルコール 30 L で希釈し、オプション a ) で得られた 100 g の 1 で 65 においてシーディング ( s e e d ) する。次に、混合物を 30 分以内に 55 に冷却し、次いで 55 において更に 1 時間攪拌する。得られた懸濁液を 55 においてイソプロピルアルコール 60 L で 1 時間以内に希釈し、次いで 3 時間以内に 20 に冷却する。次いで、懸濁液を 20 で 17 時間攪拌し、濾過によって単離する。イソプロピルアルコール 19 L と水 1 L の混合物でそれぞれ、濾過ケーキを 2 回洗浄する。生成物を 50 において真空内で乾燥させて、化合物 17 . 76 k g ( 83 % ) が形成される。クエン酸塩 1 の物理的特徴付けデータを以下に示す。

N M R ( <sup>1</sup> H , 400 M H z , D M S O - d<sub>6</sub> ) : 11 . 7 - 8 . 5 ( 2 H , ブロード ) , 8 . 34 ( 1 H , s ) , 7 . 22 ( 2 H , m ) , 7 . 12 ( 2 H , m ) , 7 . 08 ( 1 H , t ) , 4 . 49 ( 1 H , m ) , 4 . 31 ( 1 H , d ) , 4 . 09 ( 1 H , m ) , 3 . 85 ( 1 H , m ) , 3 . 74 ( 1 H , m ) , 3 . 57 - 3 . 44 ( 2 H , m ) , 3 . 48 ( 1 H , m ) , 3 . 47 ( 1 H , m ) , 3 . 35 ( 3 H , s ) , 3 . 35 ( 1 H , m ) , 3 . 33 ( 1 H , m ) , 3 . 29 ( 1 H , m ) , 3 . 27 ( 1 H , m ) , 3 . 04 ( 1 H , m ) , 2 . 84 ( 1 H , m ) , 2 . 58 ( 2 H , d ) , 2 . 50 ( 2 H , d ) , 2 . 2

8 ( 3 H , s ) , 2 . 1 2 ( 1 H , m ) , 1 . 9 4 ( 1 H , m ) , 1 . 9 1 ( 3 H , s ) , 1 . 8 8 ( 1 H , m ) , 1 . 7 8 ( 1 H , m ) , 1 . 7 6 ( 1 H , m ) , 1 . 7 0 ( 1 H , m ) , 1 . 6 6 ( 1 H , m ) , 1 . 6 3 ( 1 H , m ) , 1 . 4 0 ( 1 H , m ) , 1 . 4 0 ( 1 H , m ) , 1 . 3 7 ( 1 H , m ) , 1 . 2 4 ( 1 H , m ) ( 回 転 異 性 体 を 含 む )

。 NMR (  $^{13}\text{C}$  , 100 MHz , DMSO -  $d_6$  ) : 176 . 6 , 171 , 165 . 4 , 161 . 0 , 156 . 6 , 155 . 4 , 140 . 3 , 136 . 0 , 128 . 5 , 125 . 6 , 109 . 3 , 78 . 5 , 75 . 4 , 72 . 4 , 72 . 2 , 71 . 2 , 64 . 8 , 64 . 4 , 64 . 4 , 55 . 5 , 55 . 5 , 51 . 5 , 51 . 4 , 50 . 2 , 45 . 6 , 44 . 1 , 44 . 1 , 38 . 8 , 33 . 3 , 29 . 6 , 28 . 7 , 28 . 7 , 25 . 1 , 23 . 1 , 20 . 6 , 11 . 7 ( 回 転 異 性 体 を 含 む ) 。

HRMS ( ESI ) : m / z 538 . 3400 ( [ M + H ]  $^{+}$  ; C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> ) 。

FT - ラマンスペクトル ( 固有のバンド ) [  $\text{cm}^{-1}$  ] : 1718、1242、731、662、553。

【 0089 】

更なる特徴付けデータについては、以下の表 I I および図 2 ~ 4 および 17 を参照されたい。

【 0090 】

パート I I I : ( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノンの更なる塩の製造

( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノンの更なる塩を以下に記載のように製造し、特徴付けた。

【 0091 】

( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノン臭化水素酸塩の製造

メタノール 2 mL 中の 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノン 103 mg ( 0 . 1916 mmol ) の溶液に臭化水素酸 1 . 916 mL ( 0 . 1 M ) を添加し、50 で 2 時間攪拌する。次いで、溶媒を真空乾燥器内で 40 において除去する。次に、テトラヒドロフラン 4 mL を残留物に添加する。混合物を超音波処理し、次いで 40 で 2 時間攪拌し、その後、室温で 4 時間保管する。次いで、溶媒を真空乾燥器内で除去して、( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノンの臭化水素酸塩が形成される。

【 0092 】

特徴付けデータについては、以下の表 I I I および図 5 ~ 7 を参照されたい。

【 0093 】

( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノン塩酸塩の製造

メタノール 1 mL 中の (4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノン 30 mg (0.0557 mmol) の溶液に塩化水素酸 0.558 mL (0.1 M) を添加し、50 で 2 時間撹拌する。次いで、溶媒を真空乾燥器内で 40 において除去する。次に、テトラヒドロフラン 1.2 mL を残留物に添加する。混合物を超音波処理し、次いで 40 で 2 時間撹拌し、その後、室温で 4 時間保管する。次いで、溶媒を真空乾燥器内で除去して、(4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンの塩酸塩が形成される。

10

【0094】

特徴付けデータについては、以下の表 I V および図 8 ~ 10 を参照されたい。

【0095】

(4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンエタンスルホン酸塩の製造

メタノール 2 mL 中の (4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノン 100 mg (0.186 mmol) の溶液にエタンスルホン酸 1.860 mL (0.1 M) を添加し、50 で 2 時間撹拌する。次いで、溶媒を真空乾燥器内で 40 において除去する。次に、アセトン 4 mL を残留物に添加する。混合物を超音波処理し、次いで 40 で 2 時間撹拌し、その後、室温で 4 時間保管する。次いで、溶媒を真空乾燥器内で除去して、4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンのエタンスルホン酸塩が形成される。

20

【0096】

FT - ラマンスペクトル (固有のバンド) [ $\text{cm}^{-1}$ ] : 1637、1253、1014、740、719、534、525、219。

30

【0097】

特徴付けデータについては、以下の表 V および図 11 ~ 13 および 18 を参照されたい。

【0098】

(4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンメタンスルホン酸塩の製造

40

メタノール 1 mL 中の (4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノン 30 mg (0.0557 mmol) の溶液にメタンスルホン酸 0.558 mL (0.1 M) を添加し、50 で 2 時間撹拌する。次いで、溶媒を真空乾燥器内で 40 において除去する。次に、トルエン 1.2 mL を残留物に添加する。混合物を超音波処理し、次いで 50 で 2 時間撹拌し、その後、室温で一晩保管する。次いで、溶媒を真空乾燥器内で除去して、(4 - ((3 R, 4 R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2 R, 6 S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン -

50

4 - イル) メタノンのメタンスルホン酸塩が形成される。

【 0 0 9 9 】

特徴付けデータについては、以下の表 V I および図 1 4 ~ 1 6 を参照されたい。

【 0 1 0 0 】

パート I V : ( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンの塩についての物理的特徴付けデータ

( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンの塩についての例示的な物理的特徴付けデータを以下に提供する。

【 0 1 0 1 】

水性媒体中での溶解度

表 I に、異なる水性媒体中での 2、4 および 6 時間の時点での ( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノンクエン酸塩の溶解度を示す。

【 0 1 0 2 】

【表 6】

表 I.

媒体	2 時間 [mg/ml]	4 時間 [mg/ml]	6 時間 [mg/ml]
水	>1	>1	>1
0.1 N HCl	>1	>1	>1
0.01 N HCl	>1	>1	>1
Mcllvaine 緩衝液 pH 2.2	>1	>1	>1
Mcllvaine 緩衝液 pH 3.0	>1	>1	>1
Mcllvaine 緩衝液 pH 4.0	>1	>1	>1
Mcllvaine 緩衝液 pH 4.5	未決定	>1	>1
Mcllvaine 緩衝液 pH 5.0	>1	>1	>1
Mcllvaine 緩衝液 pH 6.0	>1	>1	>1
Mcllvaine 緩衝液 pH 6.8	>1	>1	>1
Mcllvaine 緩衝液 pH 7.4	>1	>1	>1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -緩衝液 pH 7.4	>1	>1	>1
Sørensen pH 10	>1	>1	>1
0.1 N NaOH	>1	>1	>1
EtOH	9.2	9.8	10

## 【 0 1 0 3 】

表Ⅰのデータから、( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) プリミジン - 4 - イル ) メタノンクエン酸塩が酸性、中性および塩基性水性媒体中で高い溶解性であることが実証されている。

## 【 0 1 0 4 】

クエン酸塩 1 の固体状態の特性

クエン酸塩 1 の様々な固体状態の特性を以下に示す。

## 【 0 1 0 5 】

10

外観

固体状態において、( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) プリミジン - 4 - イル ) メタノンクエン酸塩は白色の微結晶性物質である。

## 【 0 1 0 6 】

収着挙動

( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) プリミジン - 4 - イル ) メタノンクエン酸塩のみが、80 % までの相対湿度に対して安定性を示す。水 2 . 6 % の吸水が確認される。吸水は可逆的であり、収着実験後、化合物は依然として固体状態のままである。他のすべての塩がより高い相対湿度で液相へ変化した ( 相対湿度 60 ~ 70 % で開始して、塩の形態に応じて ) 。

20

## 【 0 1 0 7 】

結晶化度および多型

クエン酸塩 1

クエン酸塩は、図 2 の X 線粉末回折図に見られるように高い結晶質である。X 線粉末反射および強度 ( 正規化された ) を表 I I に示す。

## 【 0 1 0 8 】

30



【表 7】

表 II.

2 $\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
4.36	20.24	17
12.17	7.27	41
12.51	7.07	6
13.13	6.74	7
13.66	6.48	39
14.20	6.23	14
14.60	6.06	32
15.03	5.89	5
15.25	5.81	4
15.97	5.54	11
16.51	5.37	13
17.05	5.20	13
17.54	5.05	4
17.88	4.96	5
18.65	4.75	22
19.05	4.66	100
19.68	4.51	11
20.42	4.35	6
20.84	4.26	4

10

20

30

【 0 1 0 9 】

【表 8】

2 $\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
21.25	4.18	3
21.90	4.06	5
22.42	3.96	92
23.19	3.83	9
23.70	3.75	16
24.34	3.65	4
24.56	3.62	23
24.89	3.57	16
25.20	3.53	7
25.36	3.51	7
25.67	3.47	6
26.26	3.39	23
26.59	3.35	12
27.51	3.24	6
27.71	3.22	6
28.01	3.18	7
28.23	3.16	5
28.57	3.12	3
29.44	3.03	12
30.15	2.96	4

## 【0110】

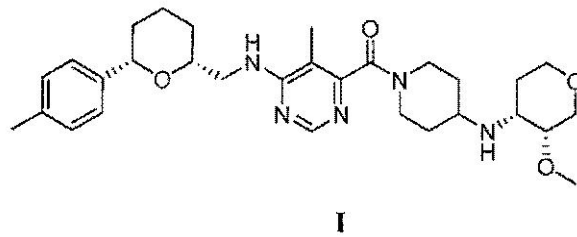
上記の表ⅠⅠにおいて、「2 [°]」の値は、回析の角度(度)を意味し、d 値「」は、格子面間の指定距離を意味する。

## 【0111】

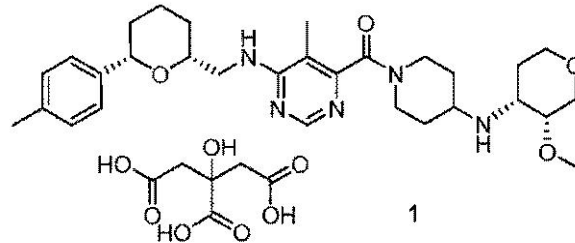
(4 - ((3R, 4R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ)ピペリジン - 1 - イル)(5 - メチル - 6 - ((2R, 6S) - 6 - (p - トリル)テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル)メチルアミノ)ピリミジン - 4 - イル)メタノンの結晶質クエン酸塩は、そのX線粉末図がとりわけ固有値2 = 19.1°(相対強度100%)、22.4°(相対強度92%)、12.2°(相対強度41%)、13.7°(相対強度39%)、および14.6°(相対強度32%)(図2の図における最も突出したピークである、表ⅠⅠ)を有することを特徴とする。

## 【0112】

その結果、第1の態様に従って、本発明は、化合物I  
【化11】



のクエン酸塩であって、次  
【化12】



を有する、クエン酸塩を提供する。

【0113】

第2の実施形態において、塩1は結晶質形態である。

【0114】

第3の実施形態において、先の実施形態のいずれか1つに従って、化合物1の結晶質形態は、 $2\theta = 15.4056^\circ$ 、 $40\text{ kV}$ 、 $40\text{ mA}$ の単色CuK $\alpha$ 放射線を使用して測定された以下の2値： $19.1^\circ$ および $22.4^\circ$ でのピークを含むX線粉末回折パターンを示す。

【0115】

先の実施形態のいずれか1つによる更なる実施形態において、結晶質形態は、 $2\theta = 12.2^\circ$ でのピークを更に含むX線粉末回折パターンを示す。

【0116】

先の実施形態のいずれか1つによる更なる実施形態において、結晶質形態は、 $2\theta = 13.7^\circ$ でのピークを更に含むX線粉末回折パターンを示す。

【0117】

先の実施形態のいずれか1つによる更なる実施形態において、結晶質形態は、 $2\theta = 14.6^\circ$ でのピークを更に含むX線粉末回折パターンを示す。

【0118】

先の実施形態のいずれか1つによる更なる実施形態において、結晶質形態は、 $2\theta = 18.7^\circ$ でのピークを更に含むX線粉末回折パターンを示す。

【0119】

先の実施形態のいずれか1つによる更なる実施形態において、結晶質形態は、 $2\theta = 24.6^\circ$ でのピークを更に含むX線粉末回折パターンを示す。

【0120】

先の実施形態のいずれか1つによる更なる実施形態において、結晶質形態は、 $2\theta = 26.3^\circ$ でのピークを更に含むX線粉末回折パターンを示す。

【0121】

先の実施形態のいずれか1つによる更なる実施形態において、結晶質形態は、 $\text{cm}^{-1}$ 単位の波数で表される以下のラマンシフト： $1718$ 、 $1242$ 、 $731$ 、 $662$ 、 $553$ の任意の1つまたはすべてでのピークを含むラマンスペクトルを示す。

【0122】

先の実施形態のいずれか 1 つによる更なる実施形態において、結晶質形態は、2 1 2 ± 5 の融点を示す。

【0 1 2 3】

クエン酸塩 1 は医薬組成物において提供される。したがって、本発明の他の態様は、任意に 1 つまたは複数の不活性担体および / または希釈剤と共に先の実施形態のいずれか 1 つによる塩を含有する医薬組成物である。

【0 1 2 4】

( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノンクエン酸塩についてのいくつかの実験から、1 種類の結晶質形態のみが得られた。

10

【0 1 2 5】

式 ( I ) の化合物の臭化水素酸塩

式 ( I ) の化合物の臭化水素酸塩は、図 5 の X 線粉末回折で実証されるように中程度の結晶性の塩である。X 線粉末の反射および強度 ( 正規化された ) を表 I I I に示す。

【0 1 2 6】

【表 9】

表 III.

2 $\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
4.73	18.67	100
7.60	11.62	37
9.48	9.32	15
12.74	6.94	34
14.46	6.12	78
15.25	5.81	62
17.38	5.10	56
18.16	4.88	17
19.36	4.58	62
20.39	4.35	83
22.01	4.03	17
22.72	3.91	25
24.05	3.70	37
24.94	3.57	26
25.23	3.53	41
25.65	3.47	27
26.35	3.38	19
27.25	3.27	19
28.00	3.18	15
28.92	3.08	21
29.49	3.02	15
29.59	3.02	16

## 【0127】

上記の表 I I I において、「2 [°]」の値は、回析の角度（度）を意味し、d 値「」は、格子面間の の指定距離を意味する。

## 【0128】

(4 - ((3R, 4R) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ) ピペリジン - 1 - イル) (5 - メチル - 6 - ((2R, 6S) - 6 - (p - トリル) テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) メチルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) メタノン臭化水素酸塩は、その X 線粉末図がとりわけ固有値 2 = 4.7° (相対強度 100%)、20.4° 相対強度 (83%)、14.5° (相対強度 78%)、15.3° (相対強度 62%)、および 19.4° (相対強度 62%) (図 5 の図における最も突出したピークである、表 I I I) を有することを特徴とする。

## 【 0 1 2 9 】

( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノン臭化水素酸塩の異なる多型変形は線粉末回折によって同定された。

## 【 0 1 3 0 】

式 ( I ) の化合物の塩酸塩

式 ( I ) の化合物の塩酸塩は、図 8 の X 線粉末回折図から分かるように、中程度の結晶性の塩である。X 線粉末の反射および強度 ( 正規化された ) を表 I V に示す。

## 【 0 1 3 1 】

【表 10】

表 IV.

$2\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
4.05	21.78	24
4.74	18.63	93
7.68	11.50	28
9.49	9.31	19
10.17	8.69	17
12.27	7.21	16
12.85	6.88	29
13.55	6.53	19
14.05	6.30	22
14.55	6.08	64
15.37	5.76	98
16.09	5.51	23
16.58	5.34	19
17.52	5.06	100
18.14	4.89	25
19.12	4.64	23
19.53	4.54	39
20.46	4.34	77
22.16	4.01	23
22.79	3.90	26
23.22	3.83	20
24.13	3.69	44
25.02	3.56	23
25.42	3.50	24
25.87	3.44	18
26.57	3.35	15
27.39	3.25	18
28.06	3.18	16
29.07	3.07	18
29.85	3.00	12

10

20

30

40

【0132】

50

上記の表ⅠⅤにおいて、「 $2\theta$  [°]」の値は、回析の角度(度)を意味し、 $d$  値「 $d$ 」は、格子面間の指定距離を意味する。

【0133】

(4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノン塩酸塩は、そのX線粉末図がとりわけ固有値 $2\theta = 17.5^\circ$  (相対強度100%)、 $15.4^\circ$  (相対強度98%)、 $4.7^\circ$  (相対強度93%)、 $20.5^\circ$  (相対強度77%)、および $14.6^\circ$  (相対強度64%) (図8の図における最も突出したピークである、表ⅠⅤ)を有することを特徴とする。

10

【0134】

(4-(3R, 4R)-3-メトキシテトラヒドロ-ピラン-4-イルアミノ)ピペリジン-1-イル)(5-メチル-6-((2R, 6S)-6-(p-トリル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチルアミノ)ピリミジン-4-イル)メタノン塩酸塩の異なる多型変形は線粉末回折によって同定された。

【0135】

式(I)の化合物のエタンスルホン酸塩

式(I)の化合物のエタンスルホン酸塩は、図11のX線粉末回折図から分かるように、高い結晶性の塩である。X線粉末の反射および強度(正規化された)を表Ⅴに示す。

【0136】

【表11】

20

表Ⅴ.

$2\theta$ [°]	$d$ 値 [Å]	強度 $I/I_0$ [%]
5.33	16.56	66
7.87	11.23	48
9.14	9.67	7
9.97	8.87	24
10.93	8.09	23
12.23	7.23	9
12.43	7.12	11
13.26	6.67	83
14.55	6.08	48
14.83	5.97	18
15.07	5.88	10

30

40

【0137】



【表 1 2】

2 $\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
15.29	5.79	17
15.77	5.61	51
16.05	5.52	25
16.18	5.47	19
16.46	5.38	12
16.88	5.25	10
17.90	4.95	100
18.32	4.84	34
18.49	4.79	22
19.29	4.60	36
19.44	4.56	40
20.03	4.43	63
20.14	4.41	45
20.85	4.26	66
21.08	4.21	11
21.37	4.15	12
21.92	4.05	18
22.22	4.00	21
22.49	3.95	16
22.71	3.91	7
23.33	3.81	10
23.53	3.78	9
23.79	3.73	8
23.98	3.71	20
24.43	3.64	15
24.68	3.60	14
25.00	3.56	17

【0 1 3 8】

上記の表Ⅴにおいて、「2 [°]」の値は、回析の角度（度）を意味し、d 値「」は、格子面間の の指定距離を意味する。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 3 9 】

( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノンエタンスルホン酸塩は、その X 線粉末図がとりわけ固有値  $2\theta = 17.9^\circ$  ( 相対強度 100 % )、 $13.3^\circ$  ( 相対強度 83 % )、 $5.3^\circ$  ( 相対強度 66 % )、 $20.9^\circ$  ( 相対強度 66 % )、および  $20.0^\circ$  ( 相対強度 63 % ) ( 図 1 1 の図における最も突出したピークである、表 V ) を有することを特徴とする。

## 【 0 1 4 0 】

式 ( I ) の化合物のメタンスルホン酸塩

10

式 ( I ) の化合物のメタンスルホン酸塩は、図 1 4 の X 線粉末回折図から分かるように、中程度の結晶性の塩である。X 線粉末の反射および強度 ( 正規化された ) を表 V I に示す。

## 【 0 1 4 1 】

【表 13】

表 VI.

$2\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
5.36	16.48	30
5.57	15.85	27
7.84	11.27	43
9.91	8.92	51
11.05	8.00	21
12.33	7.17	77
13.26	6.67	26
14.69	6.03	100
14.95	5.92	50
15.78	5.61	20
16.47	5.38	23
17.74	4.99	53
18.42	4.81	38
19.09	4.65	33
19.29	4.60	41
19.91	4.46	32
20.67	4.29	55
21.23	4.18	21
22.28	3.99	28
23.74	3.74	16
24.33	3.66	23
24.84	3.58	15
25.60	3.48	21
29.79	3.00	16
17.74	16.48	30
18.42	15.85	27
19.09	11.27	43

10

20

30

40

【0142】

上記の表VIにおいて、「 $2\theta$  [°]」の値は、回析の角度(度)を意味し、d値「 $d$ 」は、格子面間の指定距離を意味する。

50

## 【 0 1 4 3 】

( ( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( p - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 - イル ) メタノメタンスルホン酸塩は、その X 線粉末図がとりわけ固有値  $2\theta = 14.7^\circ$  ( 相対強度 100 % )、 $12.3^\circ$  ( 相対強度 77 % )、 $20.7^\circ$  ( 相対強度 55 % )、 $17.7^\circ$  ( 相対強度 53 % )、および  $9.9^\circ$  ( 相対強度 51 % ) ( 図 14 の図における最も突出したピークである、表 V I ) を有することを特徴とする。

## 【 0 1 4 4 】

熱分析

10

結晶質クエン酸塩 1 の熱分析から、融点 =  $212 \pm 5$  ( 開始、DSC : 加熱速度  $10 \text{ K} \cdot \text{分}^{-1}$  ; DSC / TG 図を図 3 に示す ) が示される。乾燥すると、1.6 % の重量減少が生じる。したがって、クエン酸塩は溶媒を吸収する傾向が低い ( 水の場合、低吸湿性を意味する )。

## 【 0 1 4 5 】

化合物 I の結晶質臭化水素酸塩の熱分析から、融点 =  $248 \pm 5$  ( 開始、DSC : 加熱速度  $10 \text{ K} \cdot \text{分}^{-1}$  ; DSC / TG 図を図 6 に示す ) が示される。付随する重量減少 ( 乾燥させた場合に 2.9 % の重量減少 ) と共に広い吸熱作用が  $40 \sim 110$  で起こる。

## 【 0 1 4 6 】

化合物 I の結晶質塩酸塩の熱分析から、融点 =  $233 \pm 5$  ( 開始、DSC : 加熱速度  $10 \text{ K} \cdot \text{分}^{-1}$  ; DSC / TG 図を図 9 に示す ) が示される。広い吸熱作用が  $40 \sim 80$  で起こる。弱い吸熱作用が  $130 \sim 150$  で起こる ( 乾燥させた場合に 2.8 % の重量減少 )。

20

## 【 0 1 4 7 】

化合物 I の結晶質エタンスルホン酸塩の熱分析から、融点 =  $199 \pm 5$  ( 開始、DSC : 加熱速度  $10 \text{ K} \cdot \text{分}^{-1}$  ; DSC / TG 図を図 12 に示す ) が示される。弱く広い吸熱作用が  $40 \sim 100$  で起こる。乾燥した場合の重量減少 2.4 % は、吸熱作用と相関する。

## 【 0 1 4 8 】

化合物 I の結晶質メタンスルホン酸塩の熱分析から、融点 =  $226 \pm 5$  ( 開始、DSC : 加熱速度  $10 \text{ K} \cdot \text{分}^{-1}$  ; DSC / TG 図を図 15 に示す ) が示される。弱く広い吸熱作用が  $30 \sim 110$  で起こる。

30

## 【 0 1 4 9 】

収着等温線

結晶質クエン酸塩 1 の収着等温線は、 $10 \sim 80$  % の湿度範囲で水の吸収 2.6 % を示す ( 図 4 に示される図 )。

## 【 0 1 5 0 】

化合物 I の結晶質臭化水素酸塩の収着等温線は、 $10 \sim 80$  % の湿度範囲で水の吸収 4.5 % を示す ( 図 7 に示される図 )。

## 【 0 1 5 1 】

化合物 I の結晶質塩酸塩の収着等温線は、 $10 \sim 80$  % の湿度範囲で水の吸収 1.5 % を示す ( 図 10 に示される図 )。

40

## 【 0 1 5 2 】

化合物 I の結晶質エタンスルホン酸塩の収着等温線は、 $10 \sim 80$  % の湿度範囲で水の吸収 2.0 % を示す ( 図 13 に示される図 )。

## 【 0 1 5 3 】

化合物 I の結晶質メタンスルホン酸塩の収着等温線は、 $10 \sim 80$  % の湿度範囲で水の吸収 3.0 % を示す ( 図 16 に示される図 )。

## 【 0 1 5 4 】

化合物 I の塩について選択された物理的性質の概要

50

化合物Ⅰのクエン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、エタンスルホン酸塩およびメタンスルホン酸塩の選択された特性を表ⅤⅠⅠに示す。

【 0 1 5 5 】

【表 1 4】

表ⅤⅠⅠ

パラメーター	化合物Ⅰの塩形態				
	クエン酸塩	臭化水素酸塩	塩酸塩	エタンスルホン酸塩	メタンスルホン酸塩
結晶性	高	中	中	高	中
融点 [°C] (開始)	212 ± 5	248 ± 5	233 ± 5	199 ± 5	226 ± 5
熱的挙動	融解前の 更なる作用なし	広い吸熱作用 40 - 110 °C	広い吸熱作用 40 - 80 °C 弱い吸熱作用 130 - 150 °C	弱く広い吸熱作用 40 - 100 °C	弱く広い吸熱作用 30 - 110 °C
乾燥時の 減少[%]	1.6	2.9	2.8	2.4	
吸湿性挙動 (相対湿度 80%まで)	吸水 2.6%	吸水 4.5% 潮解性	吸水 15% 潮解性	吸水 20% 潮解性	吸水 30%
吸湿性挙動 (相対湿度 90%まで)	吸水 3.4 %	吸水 20% 潮解性	吸水 40% 潮解性	吸水 45% 潮解性	吸水 45%
多型の兆候	なし	あり	あり	なし	なし

【 0 1 5 6 】

実施例 2 - 化合物Ⅰおよびそのクエン酸塩 1 を特徴付ける生物活性データ

実験を行い、化合物Ⅰおよびそのクエン酸塩 1 の生物活性を評価した。実験手順および結果の説明を以下に示す。

【 0 1 5 7 】

パートⅠ：生物学的アッセイの記述

血漿タンパク質結合性

D i a n o r m T e f l o n 透析セル（マイクロ 0 . 2 ）が使用される。それぞれのセルは、ドナー（すなわち、緩衝液チャンバ）およびアクセプターチャンバ（すなわち、血漿チャンバ）からなり、5 k D a 分子量カットオフの超薄半透膜で分離されている。それぞれの試験化合物のストック溶液を D M S O 中で 1 m M において調製し、最終濃度 1 . 0 μ M に希釈する。透析緩衝液 2 0 0 μ L のアリコート（1 0 0 m M リン酸カリウム、p H 7 . 4 ）を緩衝液チャンバ内に分配する。試験化合物透析溶液 2 0 0 μ L のアリコート

を結晶チャンバ内に分配する。回転下において37℃でインキュベーションを2時間行う。次いで、透析液を反応チューブ内に移す。緩衝液フラクションのチューブはアセトニトリル/水(80/20(v/v))0.2mLを含有する。血漿透析液25μLのアリコートにディープウェルプレートに移し、アセトニトリル/水(80/20(v/v))25μL、緩衝液25μL、校正用溶液25μL、および内標準溶液25μLと混合する。アセトニトリル200μLを添加することによってタンパク質の沈殿を行う。緩衝透析液50μLのアリコートにディープウェルプレートに移し、ブランク血漿25μL、内標準溶液25μL、およびアセトニトリル200μLと混合する。結合(パーセント)は、式: 結合% = (血漿中濃度 - 緩衝液濃度 / 血漿中濃度) × 100で計算される。

【0158】

10

生体外代謝安定性

試験化合物の代謝分解を肝細胞懸濁液中でアッセイする。肝細胞を適切な緩衝系においてインキュベートする。インキュベータ(37℃、10%CO<sub>2</sub>)において(一般に)30分間プレインキュベーションした後、試験化合物溶液(1μM)5μLを肝細胞懸濁液395μL(0.25~5×10<sup>6</sup>細胞/mLの範囲の細胞密度、通常1×10<sup>6</sup>細胞/mL、最終DMSO濃度0.05%)に添加する。細胞を6時間インキュベートし(インキュベータ、オービタルシェーカー)、試料(25μL)を0、0.5、1、2、4および6時間の時点で採取する。試料をアセトニトリルに移し、遠心分離(5分間)によってペレット状にする。上清を新たな96ディープウェルプレートに移し、窒素下において蒸発させ、再懸濁する。親化合物の低下をHPLC-MS/MSによって分析する。以下のようにCL<sub>int</sub>を計算する:  $CL_{int} = \frac{CL_{INTRINSIC}}{AUC} = \frac{C_0}{CD} \times \frac{1}{AUD + c_{last}/k} \times 1000 / 60$ 。C<sub>0</sub>: インキュベーションにおける初期濃度[μM]、CD: ウイルス細胞の細胞密度[10<sup>6</sup>細胞/mL]、AUD: データ下の面積[μM×時]、c<sub>last</sub>: 最後のデータポイントの濃度[μM]、k: 親化合物の低下の回帰ラインの勾配[時<sup>-1</sup>]。計算された生体外の肝固有クリアランスを固有の生体内肝クリアランスにスケールアップし、それを用いて、肝臓モデル(well stirredモデル)を使用することによって生体外肝血液クリアランス(CL)を予測することができる。

20

・  $CL_{INTRINSIC\_INVIVO} [ml / 分 / kg] = (CL_{INTRINSIC} [\mu L / 分 / 10^6 \text{細胞}]) \times \text{肝細胞性 (hepatocellularity)} [10^6 \text{細胞} / g \text{肝臓}] \times \text{肝臓係数} [g / kg \text{体重}] / 1000$

30

・  $CL [ml / 分 / kg] = CL_{INTRINSIC\_INVIVO} [ml / 分 / kg] \times \text{肝臓の血流} [ml / 分 / kg] / (CL_{INTRINSIC\_INVIVO} [ml / 分 / kg] + \text{肝臓の血流} [ml / 分 / kg])$

【0159】

薬物動態学(動物実験)

静脈内(IV)または経口(PO)単回投与後の試験化合物の薬物動態学を、

- ・メスBALB/cマウス(平均体重: 25g)
- ・オスWistar(Han)ラット(平均体重: 260g)
- ・オスおよびメスGoettingenミニブタ(平均体重: 24kg)
- ・オスのビーグル犬(平均体重: 15kg)

40

において調べた。投与前にすべての非げっ歯類を一晩絶食させ、マウスおよびラットには無制限に摂取可能に食餌および水を与えた。化合物の経口用量は、0.5% Natrosol中の懸濁液として、または0.5% Natrosol/0.015% Tween 80懸濁液として通常投与された。静脈内投与では、0.9% NaCl中の溶液として、または水中に9.1% HP-シクロデキストリンを含有する溶液として用量を適用した。

【0160】

静脈サンプリングし、EDTA被覆チューブ中に血液を浸すことによって血液を採取した。試験化合物の投与から48時間後までに試料を採取した。次いで、遠心分離(4℃において約9000gで5分間)によって血漿を分離した。試験化合物を決定するために血

50

漿をPCRプレートに移した。生物分析まですべての試料を約 - 20 で保存した。血漿中の試験化合物の濃度をHPLC MS/MSによって決定した。定量化の下限は0.5 nmol/L ~ 1 nmol/Lであった。

#### 【0161】

hERG - チャネルアッセイ

細胞：

HEK (ヒト胚腎臓) 293細胞にhERG cDNAを安定にトランスフェクトした。パッチクランプ実験で使用するために決定された細胞を抗生物質なしで培養した。

#### 【0162】

ピペットおよび溶液

NaOHと共に、NaCl (137)、KCl (4.0)、MgCl<sub>2</sub> (1.0)、CaCl<sub>2</sub> (1.8)、グルコース (10)、HEPES (10)を含有 (mM)する槽溶液 (pH 7.4)で細胞を灌流した。水平プラー (DMZ - Universal Puller, Zeitz - Instrumente, Martinsried, Germany)を使用して、パッチピペットをハウケイ酸ガラス管材料 (Hilgenberg, Malsfeld, Germany)から作製し、KOHと共にアスパラギン酸カリウム (130)、MgCl<sub>2</sub> (5.0)、EGTA (5.0)、K<sub>2</sub>ATP (4.0)、HEPES (10.0)を含有 (mM)するピペット溶液 (pH 7.2)で充填した。マイクロ電極の抵抗は、2 ~ 5 MΩの範囲であった。

#### 【0163】

刺激および記録：

EPC - 10パッチクランプ増幅器 (HEKA Electronics, Lambrecht, Germany)およびPatchMasterソフトウェア (HEKA)を使用して膜電流を記録した。電流信号は、5 kHzでデジタル化する前に2.5 kHzでフィルターされたベッセル (Bessel)であった。

#### 【0164】

パッチクランプ技術の全細胞構造を用いて、hERG 伸介膜電流を通常28 で記録した。トランスフェクトされたHEK 293細胞を - 60 mVの保持電位において固定し、15秒間隔で繰り返される、固定振幅を有するパルスパターン (活性化 / 不活性化：2000 msにわたり40 mV；回復：2 msにわたり120 mV；2 msで40 mVに低下；不活性化末尾電流：50 msにわたり40 mV)を用いて、hERG 伸介不活性化末尾電流を誘発した。それぞれのパルス間隔の間に、P / nリーク電流除去 (leak subtraction) 手順のために0.2倍に縮小された4つのパルスを記録した。リングングなく安全に記録されるレベルまでR<sub>s</sub>補正を用いた。残りの未補正R<sub>s</sub>だけでなく実際の温度および保持電流も記録した。

#### 【0165】

化合物の製造および適用：

調べられる様々な細胞のそれぞれ対し、試験アイテムの濃度を逐次適用した。最初の被験物質濃度の適用前に少なくとも90秒間、ベースライン電流の定常状態レベルを測定した。

#### 【0166】

試験アイテムをDMSOに溶解して、最高最終濃度の1000倍のストック溶液を生成した。このストックをDMSO中で更に希釈し、残りの最終濃度の1000倍のストック溶液にした。実験を開始する前に1：1000希釈工程のそれぞれにより、細胞外緩衝液中の最終希釈液をこれらのストックから新たに調製した。

#### 【0167】

データ分析：

+ 40 mVに上昇した後、ピーク電流の振幅を3 ms測定した。ベースラインおよび各濃度に関して、次の濃度を適用する前に最後の3つの掃引のピーク電流を平均化した。実際の平均ピーク電流および平均ベースラインピーク電流の分数として、各細胞について残

10

20

30

40

50

留電流 ( $I / I_0$ ) を計算した。電流抑制を  $(1 - I / I_0) * 100\%$  と表した。すべての細胞の電流抑制は平均  $\pm$  SD として報告される。平均電流抑制データから、最小二乗法を用いてヒル (Hill) 等式に基づいて  $IC_{50}$  が推定される。

#### 【0168】

生体外でのリン脂質症アッセイ

##### 1. 細胞培養:

細胞系: U937。細胞密度:  $0.5 \times 10^6$  細胞/mL。培地の量: 3 mL / ウェル。

#### 【0169】

##### 2. 材料およびデバイス:

- Falcon 組織培養フラスコ  $175 \text{ cm}^2$
- 試験チューブ (Sarstedt)
- 6 ウェルマイクロプレート
- 層流
- 冷却遠心機
- ピペット
- フローサイトメーター: Coulter Epics XL / MCL (Beckman Coulter Inc., Becton, California, USA)

#### 【0170】

##### 3. 培地および添加剤:

3.1 10% FCS および 0.005% ゲンタマイシンを含む RPMI 1640 の調製:

培地:

- VLE RPMI 1640 培地 ( $1 \times$ )、2 ~ 8 °C で保存

添加剤:

- ウシ胎児血清、- 20 °C で保存
- ゲンタマイシン、Gibco (登録商標) Invitrogen、濃度 10 mg / mL (= 1% 溶液)

#### 【0171】

RPMI 1640 500 mL に FCS 56 mL および ゲンタマイシン 2.6 mL を添加する。即時使用可能な培地を 2 ~ 8 °C で保存する。

#### 【0172】

##### 3.2 ホルムアルデヒド標準溶液 (濃度 3.7%) の調製:

1 x PBS 中でホルムアルデヒド 3.7% を希釈し (希釈比 1 : 10)、3.7% 標準溶液を調製し、それを 2 ~ 8 °C で保存する。

#### 【0173】

##### 3.3 緩衝液

PBS - ダルベッコ ( $1 \times$ )、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  なし。室温で保存する。

#### 【0174】

細胞染色のための色素

##### 4.1 生細胞の染色:

4.1.1 ヨウ化プロピジウム (PI; Molecular Probes, Eugene, Oregon, USA)

PI ストック溶液: 1 mg / mL PBS (暗所で 4 °C において保存)。

#### 【0175】

PI 即時使用可能な溶液: PBS で 1 : 100 において希釈されたストック溶液 (それぞれの実験のために新たに調製された)。

#### 【0176】

4.1.2 ナイルレッド (Nile Red) (NR; Molecular Probes

10

20

30

40

50



, Eugene, Oregon)

NRストック溶液：1 mg / mL DMSO（暗所で4 において保存）。

【0177】

生細胞染色のためのNR即時使用可能な溶液：PBSで1：100において希釈されたNRストック溶液（それぞれの実験のために新たに調製された）。

【0178】

#### 4.2 固定細胞の染色

ナイルレッドのストック溶液（濃度1 mg / mL）の調製：100% DMSO 1 mLにナイルレッド1 mgを溶解し、2～8 で保存する。

【0179】

固定細胞染のためのナイルレッド標準溶液（濃度1  $\mu$ g / mL）の調製：1 x PBSにナイルレッドストック溶液を希釈する（希釈比1：1000）。細胞を染色する直前に標準溶液を調製し、使用しなければならない。

【0180】

#### 5. 細胞のシーディングおよび処理：

細胞のシーディングおよび処理は以下に行われ得る：

- 100% DMSOに試験化合物を溶解して最終濃度の100倍にし、計画された実験に従ってそれを希釈する。

- 最初に、6ウェルプレートの関連するウェルにストック溶液30  $\mu$ Lを充填し、0.5 x 10<sup>6</sup> 細胞 / mLを含有する細胞浮遊液3 mL / ウェルに再懸濁する（DMSO最終濃度 = 1%）。

- 1種類の化合物および濃度につき1つのウェルを使用する。

- 培地を交換することなく、37、5% CO<sub>2</sub> および相対湿度95%において48時間インキュベートする。

【0181】

#### 細胞収集：

細胞収集は以下に行われ得る：

- Sarstedtチューブ（氷上）に細胞浮遊液を移す。
- 130 x g、4 で4分間遠心分離し、上清を廃棄する。
- PBS 3 mL / チューブ（氷冷）に再懸濁する。
- フローサイトメトリーで決定するために、Sarstedtチューブ（氷上）に細胞浮遊液1 mLを満たす（ヨウ化プロピジウムには0.5 mLおよびナイルレッド生細胞染色には0.5 mL）。

- 残留物を130 x g、4 で4分間遠心分離し、上清を廃棄する。

- 3.7%ホルムアルデヒド溶液1 mL / チューブを添加する。

- 30分間固定化する（室温で固定化した後の細胞を）。

- 130 x g、室温で4分間遠心分離し、上清を廃棄する。

- 固定細胞の染色のために、ナイルレッド標準溶液1.3 mL中に各チューブで再懸濁する。

- 色素を5分間インキュベートする。

- 130 x g、室温で4分間遠心分離し、上清を廃棄する。

- PBS 3 mLに再懸濁する。

- 130 x g、室温で4分間遠心分離し、上清を廃棄する。

- PBS 0.5 mLに再懸濁し（=ナイルレッド染色固定細胞のフラクション）、フローサイトメトリー法を用いてリン脂質症を決定する。

【0182】

#### 7. 細胞染色およびフローサイトメトリー測定

フローサイトメトリー測定のために、各試料から細胞の3 x 0.5 mL懸濁液を調製する（バイアピリティ決定用の非固定細胞、リン脂質症分析用の非固定細胞および固定細胞）。

## 【 0 1 8 3 】

## 7 . 1 バイアビリティ決定のための P I 染色およびフローサイトメトリー測定

測定直前に、1 試料（非固定細胞浮遊液 0 . 5 m L ）につき P I 即時使用可能な溶液 1 2 . 5  $\mu$  L を添加し、測定前に更に 1 5 分間氷上に維持する。

## 【 0 1 8 4 】

1 試料につき一万（ 1 0 , 0 0 0 ）個の細胞を高流量において以下のパラメーターについて分析する：

- 収集されていない、1 0 , 0 0 0 細胞を測定する時間、
- 収集されていない、横方向の点在（直線）に対する前方向の点在（直線）、
- 収集されていない、細胞数（直線）に対する黄色蛍光（ = 5 6 8 ~ 5 9 0 n m ; 10  
対数）。

## 【 0 1 8 5 】

1 0 , 0 0 0 細胞を測定する時間は、試料中の細胞密度に相関する。

## 【 0 1 8 6 】

生細胞および死細胞の蛍光依存性分化のカットオフゲートは、細胞培地 + 賦形剤曝露コントロール細胞の分析に基づいて定義される。カットオフよりも低い蛍光を有する細胞は、生存細胞と定義される。試料の絶対バイアビリティは、全細胞数に対する生細胞の関係であり、パーセンテージで表される。

## 【 0 1 8 7 】

## 7 . 2 P L 決定のためのナイルレッド染色およびフローサイトメトリー測定 20

## 7 . 2 . 1 ナイルレッド生細胞染色

測定直前に、1 試料（非固定細胞浮遊液 0 . 5 m L ）につき生細胞染色用の N R 即時使用可能な溶液 5 0  $\mu$  L を添加する。試料を更に 5 分間氷上に維持する。その後、それを P B S 4 m L （ 4 、 2 5 0  $\times$  G において 8 分間）で 1 回洗浄し、最後に P B S 4 0 0  $\mu$  L に再懸濁する。

## 【 0 1 8 8 】

## 7 . 2 . 2 ナイルレッド固定細胞染色

上記の説明を参照されたい（ 6 . 細胞収集）。ナイルレッド染色非固定細胞およびナイルレッド染色固定細胞を以下の手順に従って測定する。

## 【 0 1 8 9 】

1 試料につき 1 0 , 0 0 0 個の細胞を高流量において以下のパラメーターについて分析する：

- 収集されていない、横方向の点在（直線）に対する前方向の点在（直線）、
- 収集されていない、細胞数（直線）に対する緑色蛍光（ = 5 0 4 ~ 5 4 1 n m ; 30  
対数）、
- 収集されていない、細胞数（直線）に対する近赤外蛍光（ = 6 6 0 ~ 6 8 0 n m ; 対数）。

## 【 0 1 9 0 】

## 8 . シグナル分析

リン脂質形成可能性の分析から、試験化合物の相対バイアビリティ 9 0 % 未満の試料を 40  
排除する。すべての分析パラメーターおよび絶対蛍光強度の一致性に応じてケースバイケースで、バイアビリティ 9 0 ~ 9 5 % を有する試料が評価ケースに選択される。

## 【 0 1 9 1 】

コントロールに対するバイアビリティ > 9 0 % （ P I 排除に基づく）を有する試料のすべてに関して、N R 染色後の平均絶対蛍光強度は、緑色蛍光および近赤外蛍光について計算される。

## 【 0 1 9 2 】

各チャンネルに関して、特定の試料の絶対蛍光強度は、それぞれの実験のすべての細胞培地 + 賦形剤曝露コントロール細胞の平均絶対蛍光強度と相関する。チャンネル毎に、試料の相対強度は、1 0 0 で設定されるコントロールの平均絶対蛍光強度に対するこの試料 50

の絶対蛍光強度の関係であり、コントロール細胞蛍光強度に対するパーセンテージで表される。

【 0 1 9 3 】

#### 9. リン脂質症の評価

試験化合物のリン脂質形成可能性の評価は、固定細胞および非固定細胞に関して両方の波長においてシグナル強度に基づいて手作業で行われる。

【 0 1 9 4 】

パート I I : 化合物 I (遊離塩基) およびそのクエン酸塩 1 についての生物活性アッセイの結果

上述のアッセイにおいて決定された、化合物 I およびそのクエン酸塩 1 についての生物学的データを以下の表に示す。

【 0 1 9 5 】

【表 1 5 】

#### 化合物 I の生体外(*In vitro*)血漿タンパク質結合

種	マウス	ラット	イヌ	ミニブタ	ヒト
結合したフラクション [%]	95.1	68.9	70.4	60.8	84.7
未結合のフラクション [%]	4.9	31.1	29.6	39.2	15.3

20

【 0 1 9 6 】

【表 1 6 】

#### 肝細胞のインキュベーションにおける化合物 I の生体外(*In vitro*)代謝安定性

種	マウス	ラット	イヌ	ミニブタ	ヒト
CL 固有, 生体外 [μL/分 /10e6 細胞]	16.4	8.77	3.15	2.73	4.11
CL, 生体外 [mL/分 /kg]	49	26	14	6.8	7.9

30

【 0 1 9 7 】

【表 17】

## 動物における化合物 I の静脈内薬物動態

種	マウス	ラット	イヌ	ミニブタ
動物の数/性別	$n = 2f$	$n = 2m$	$n = 3m$	$n = 1m/1f$
静脈内 PK パラメーター (平均値)				
IV 用量 ( $\mu\text{mol/kg}$ )	10	5	5	5
AUC(0-inf) ( $\text{nM}\cdot\text{h}$ )	1990	1490	5990	4310
CL (mL/分 /kg)	86.0	56.1	14.0	20.0
$V_{ss}$ (L/kg)	3.29	5.04	4.94	5.07
MRT <sub>disp</sub> (h)	0.623	1.49	6.40	4.15

10

【 0 1 9 8 】

【表 18】

## 動物における化合物 I の経口薬物動態

種	マウス	ラット	イヌ	ミニブタ
動物の数/性別	$n = 3m/0f$	$n = 3m/0f$	$n = 3m/0f$	$n = 3m/0f$
経口 PK パラメーター (平均値)				
経口用量 ( $\mu\text{mol/kg}$ )	20	20	5	実施せず
$C_{max}$ (nM)	974	580	317	実施せず
$t_{max}$ (h)	1.00	1.50	0.917	実施せず
AUC(0-inf) ( $\text{nM}\cdot\text{h}$ )	3160	2270	1500	実施せず
MRT <sub>tot</sub> (h)	3.99	5.49	5.77	実施せず
F (%)	79	38	25	算出せず

20

30

【 0 1 9 9 】

【表 19】

## ラットにおけるクエン酸塩 1 の経口薬物動態

種	ラット
動物の数/性別	$n = 3m/0f$
経口 PK パラメーター <sup>c</sup> (平均値)	
経口用量 ( $\mu\text{mol/kg}$ )	20
$C_{max}$ (nM)	454
$t_{max}$ (h)	1.08
AUC(0-inf) (nM·h)	1710
MRT <sub>tot</sub> (h)	3.3

40

50

## 【 0 2 0 0 】

h E R G 仲介カリウム電流の抑制

化合物 I は、 $IC_{50} > 30 \mu M$  で h E R G 仲介カリウム電流を抑制した ( $10 \mu M$  で 12 % 抑制、 $30 \mu M$  で 28 % 抑制)。

## 【 0 2 0 1 】

生体外でのリン脂質症アッセイ

化合物 I は、生体外リン脂質症アッセイにおいてリン脂質形成性である傾向を示し、この生体外アッセイにおける化合物 I の脂質形成最低濃度は  $200 \mu M$  である。

## 【 0 2 0 2 】

参照による組み込み

本明細書で参照される特許文書および科学論文のそれぞれの開示全体が、すべての目的のために参照により本明細書に組み込まれる。

## 【 0 2 0 3 】

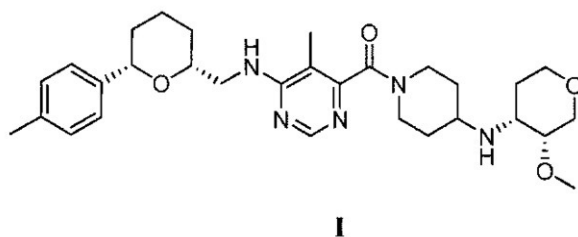
均等物

本発明は、その趣旨または本質的な特徴から逸脱することなく、他の特定の形態で具体化され得る。したがって、前述の実施形態は、本明細書に記載の本発明を限定するものではなく、すべての点で考察されるべきである。したがって、本発明の範囲は、上記の本明細書ではなく、むしろ添付の特許請求の範囲によって示され、特許請求の範囲と均等な意味および範囲内にあるすべての変更形態がその中に含まれることが意図される。

さらに、本発明は次の態様を包含する。

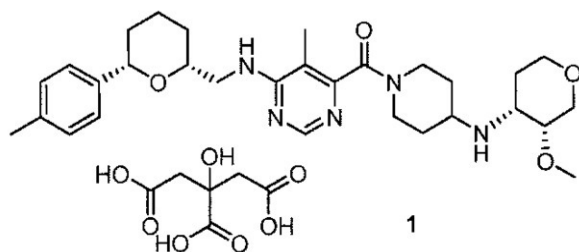
1. 化合物 I :

【 化 1 3 】



のクエン酸塩であって、式

【 化 1 4 】



を有する、クエン酸塩。

2. 結晶質形態である、項 1 に記載の塩。

3.  $\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$ 、 $40 \text{ kV}$ 、 $40 \text{ mA}$  の単色 Cu K  $\alpha$  放射線を使用して測定された以下の 2 値： $19.1^\circ$  および  $22.4^\circ$  でのピークを含む X 線粉末回折パターンを示す、項 2 に記載の結晶質形態。

4. 前記 X 線粉末回折パターンが  $12.2^\circ$  でのピークを更に含むことを特徴とする、項 3 に記載の結晶質形態。

5. 前記 X 線粉末回折パターンが  $13.7^\circ$  でのピークを更に含むことを特徴とする、項 3 または 4 に記載の結晶質形態。

6. 前記 X 線粉末回折パターンが  $14.6^\circ$  でのピークを更に含むことを特徴とする、項 3 ~ 5 のいずれか一項に記載の結晶質形態。

7. 前記 X 線粉末回折パターンが  $18.7^\circ$  でのピークを更に含むことを特徴とする、項 3 ~ 6 のいずれか一項に記載の結晶質形態。

8. 前記 X 線粉末回折パターンが  $24.6^\circ$  でのピークを更に含むことを特徴とする、項 3 ~ 7 のいずれか一項に記載の結晶質形態。

9. 前記 X 線粉末回折パターンが  $26.3^\circ$  でのピークを更に含むことを特徴とする、項 3 ~ 8 のいずれか一項に記載の結晶質形態。

10.  $\lambda = 1.54056$ 、 $40\text{ kV}$ 、 $40\text{ mA}$  の単色  $\text{Cu K}\alpha$  放射線を使用して測定された以下の 2 値： $12.2 \pm 0.2$ 、 $13.7 \pm 0.2$ 、 $14.6 \pm 0.2$ 、 $19.1 \pm 0.2$ 、および  $22.4 \pm 0.2$  でのピークを含む X 線粉末回折パターンを示す、項 2 に記載の結晶質形態。

10

11.  $\lambda = 1.54056$ 、 $40\text{ kV}$ 、 $40\text{ mA}$  の単色  $\text{Cu K}\alpha$  放射線を使用して測定された以下の 2 値： $12.2 \pm 0.2$ 、 $13.7 \pm 0.2$ 、 $14.6 \pm 0.2$ 、 $18.7 \pm 0.2$ 、 $19.1 \pm 0.2$ 、 $22.4 \pm 0.2$ 、 $24.6 \pm 0.2$ 、および  $26.3 \pm 0.2$  でのピークを含む X 線粉末回折パターンを示す、項 2 に記載の結晶質形態。

12. 前記回折角  $2\theta$  での前記ピークの相対強度が少なくとも  $10\%$  である、項 3 ~ 11 のいずれか一項に記載の結晶質形態。

13. 前記回折角  $2\theta$  での前記ピークの相対強度が少なくとも  $15\%$  である、項 3 ~ 11 のいずれか一項に記載の結晶質形態。

14. 前記 X 線粉末回折パターンが実質的に図 2 に示すようなものである、項 2 に記載の結晶質形態。

20

15. 回折角  $2\theta$ 、格子面間隔  $d$ 、および相対強度（最も強いピークに対するパーセンテージとして表される）に関して表される以下の X 線粉末回折パターン：

【表 2 0】

$2\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
4.36	20.24	17
12.17	7.27	41
12.51	7.07	6
13.13	6.74	7
13.66	6.48	39
14.20	6.23	14
14.60	6.06	32
15.03	5.89	5
15.25	5.81	4
15.97	5.54	11
16.51	5.37	13
17.05	5.20	13
17.54	5.05	4
17.88	4.96	5

10

20

【表 2 1】

$2\theta$ [°]	d 値 [Å]	強度 I/I <sub>0</sub> [%]
18.65	4.75	22
19.05	4.66	100
19.68	4.51	11
20.42	4.35	6
20.84	4.26	4
21.25	4.18	3
21.90	4.06	5
22.42	3.96	92
23.19	3.83	9
23.70	3.75	16
24.34	3.65	4
24.56	3.62	23
24.89	3.57	16
25.20	3.53	7
25.36	3.51	7
25.67	3.47	6
26.26	3.39	23
26.59	3.35	12
27.51	3.24	6
27.71	3.22	6
28.01	3.18	7
28.23	3.16	5
28.57	3.12	3
29.44	3.03	12
30.15	2.96	4

10

20

30

40

によって特徴付けられる、項 2 に記載の結晶質形態。

16.  $\text{cm}^{-1}$  単位の波数で表される以下のラマンシフト：1718、1242、731、662、553 の任意の 1 つまたはすべてでのピークを含むラマンスペクトルを有する

50



、項 2 ～ 15 のいずれか一項に記載の結晶質形態。

17. 212 ± 5 の融点を有する、項 2 ～ 16 のいずれか一項に記載の結晶質形態。

18. 図 3 に示すものと実質的に同じ示差走査熱量測定曲線を有する、項 2 ～ 16 のいずれか一項に記載の結晶質形態。

19. 1 つまたは複数の不活性担体および / または希釈剤と共に項 1 に記載の塩を含む、医薬組成物。

20. 1 つまたは複数の不活性担体および / または希釈剤と共に項 2 ～ 9 のいずれか一項に記載の結晶質形態を含む、医薬組成物。

21. 1 つまたは複数の不活性担体および / または希釈剤と共に項 10 に記載の結晶質形態を含む、医薬組成物。

22. 1 つまたは複数の不活性担体および / または希釈剤と共に項 11 ～ 18 のいずれか一項に記載の結晶質形態を含む、医薬組成物。

23. 薬物として使用するための、項 2 に記載の塩または項 2 ～ 18 のいずれか一項に記載の結晶質形態。

24. 疼痛、変形性関節症、糖尿病性腎症、および糖尿病性多発ニューロパシーから選択される症状を治療する方法であって、それを必要とする患者に、項 1 に記載の塩または項 2 ～ 18 のいずれか一項に記載の結晶質形態の治療有効量を投与して、前記症状を治療することを含む、方法。

25. 前記症状が疼痛である、項 24 に記載の方法。

26. 前記症状が炎症性疼痛である、項 25 に記載の方法。

27. 前記症状が慢性疼痛である、項 24 に記載の方法。

28. 前記症状が変形性関節症による疼痛である、項 24 に記載の方法。

29. 前記症状が神経障害性疼痛または内臓痛である、項 24 に記載の方法。

30. 前記症状が、急性および慢性の軽度乃至中程度の筋骨格系疼痛、腰痛、慢性腰痛、関節リウマチに関連する疼痛、肩関節痛、歯痛、変形性関節症、膝の変形性関節症、股関節部の変形性関節症、手の変形性関節症の兆候および症状、変形性関節症に伴う疼痛、癌性疼痛、糖尿病性多発ニューロパシー、内臓痛、急性疼痛、糖尿病性腎症、および神経障害性疼痛からなる群から選択される、項 24 に記載の方法。

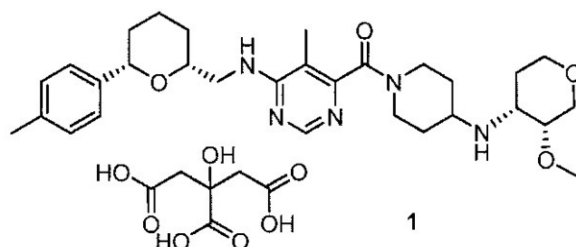
31. 前記症状が、( a ) 三叉神経痛および ( b ) 化学療法から生じる神経障害による疼痛から選択される疼痛である、項 24 に記載の方法。

32. 前記症状が変形性関節症である、項 24 に記載の方法。

33. 項 1 に記載の塩の治療有効量を前記患者に投与して、前記症状を治療することを含む、項 24 ～ 32 のいずれか一項に記載の方法。

34. 化合物 1

【化 15】



を製造する方法であって、以下の工程：

c) 有機溶媒中の化合物 I

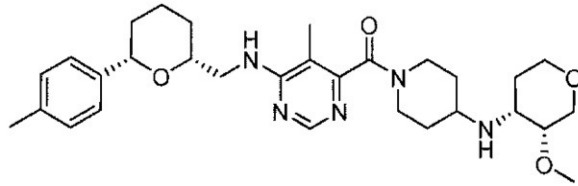
10

20

30

40

## 【化 1 6】



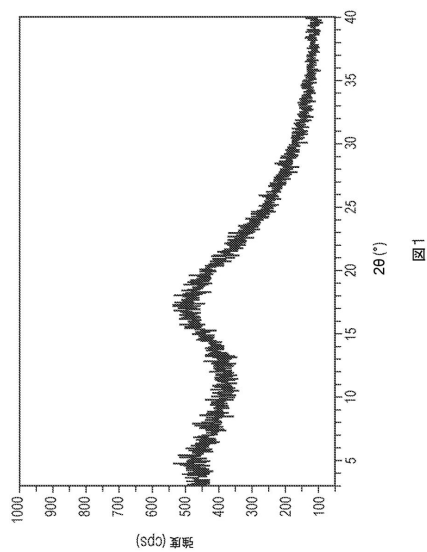
の溶液にクエン酸を添加する工程、

d) 得られた塩 1 を純粋な形態で単離する工程を含む、方法。

35. 工程 a) における前記有機溶媒が、酢酸エチル、イソプロパノールおよびイソプロパノールと水との混合物からなる群から選択されることを特徴とする、項 34 に記載の方法。

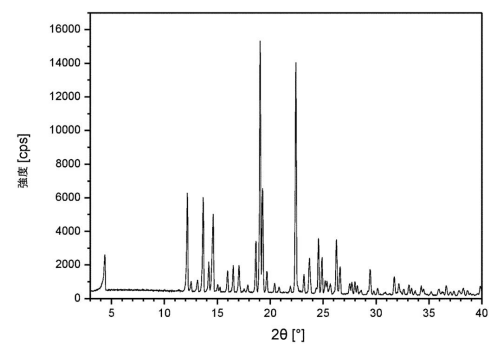
10

## 【図 1】



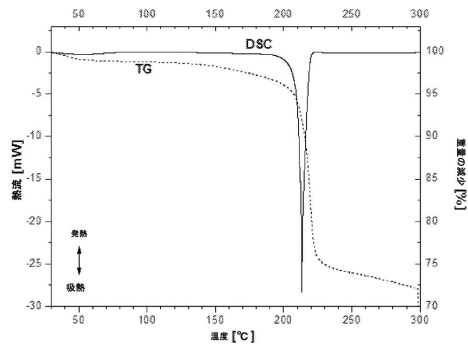
## 【図 2】

図2



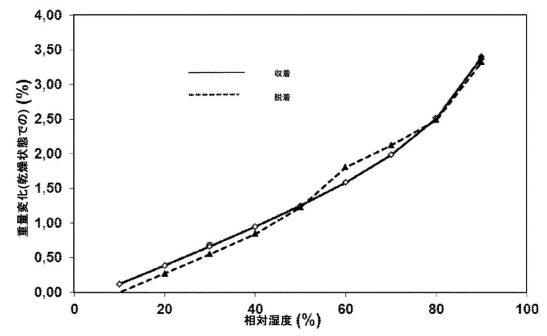
【図 3】

図 3



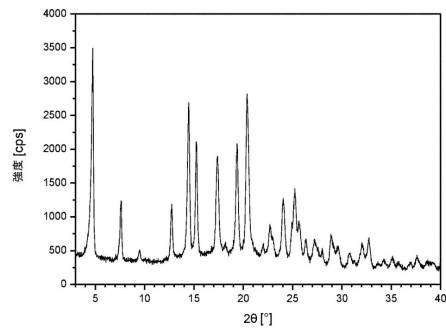
【図 4】

図 4



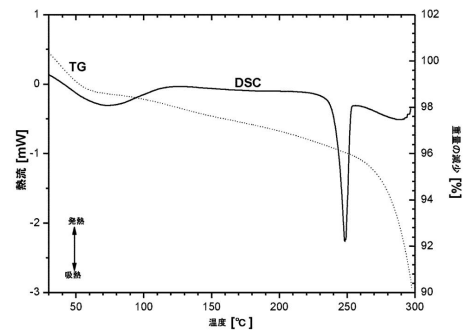
【図 5】

図 5

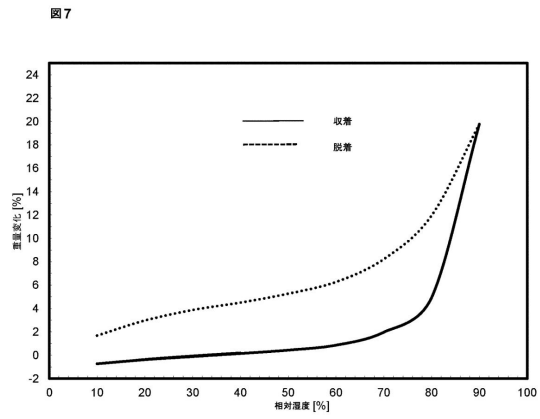


【図 6】

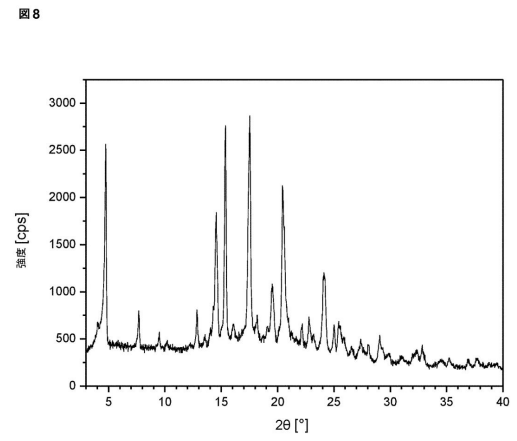
図 6



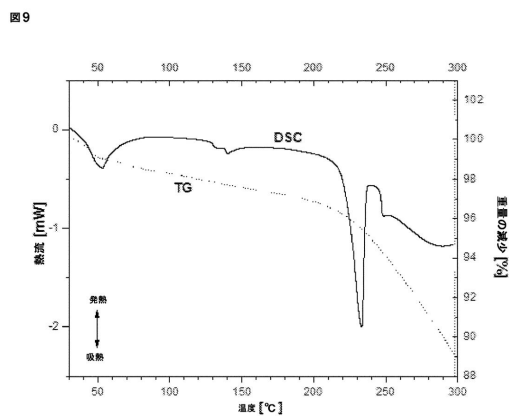
【図 7】



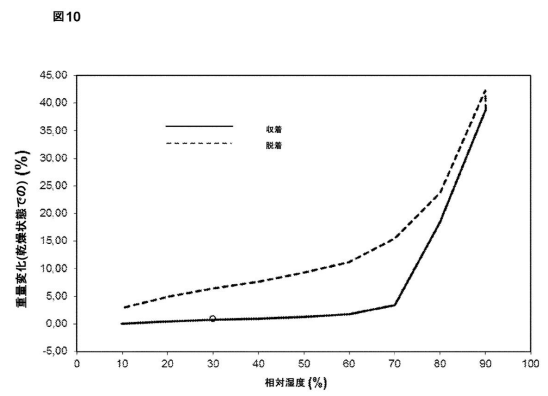
【図 8】



【図 9】

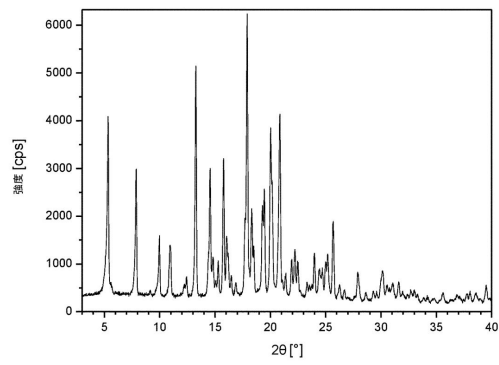


【図 10】



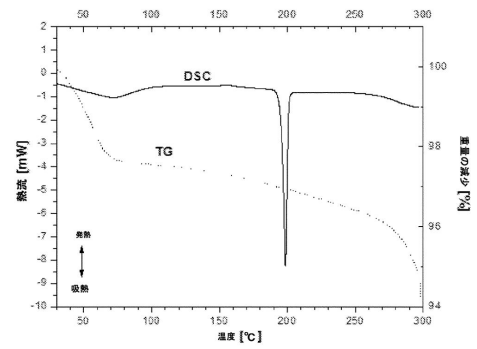
【図 1 1】

図 11



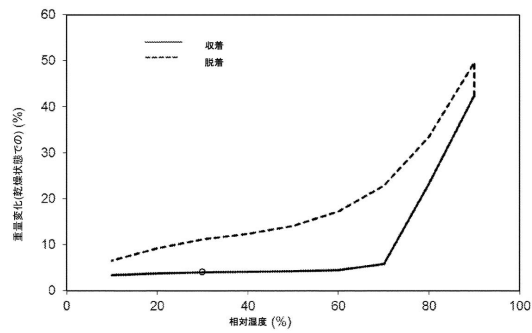
【図 1 2】

図 12



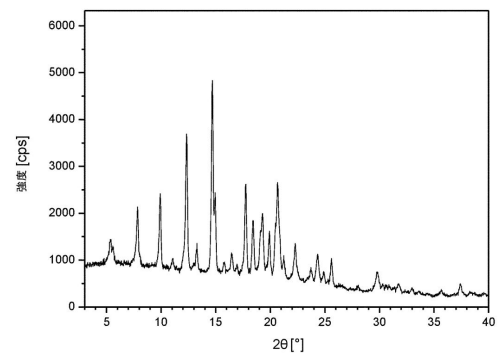
【図 1 3】

図 13



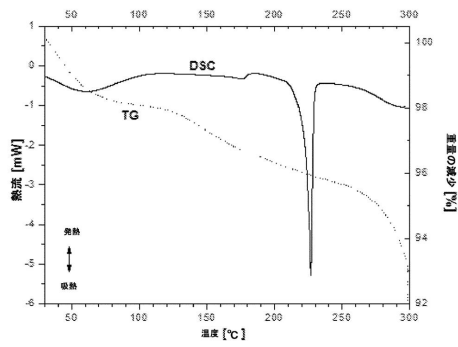
【図 1 4】

図 14



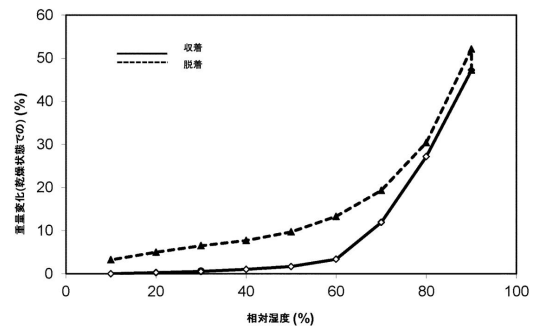
【図 15】

図15



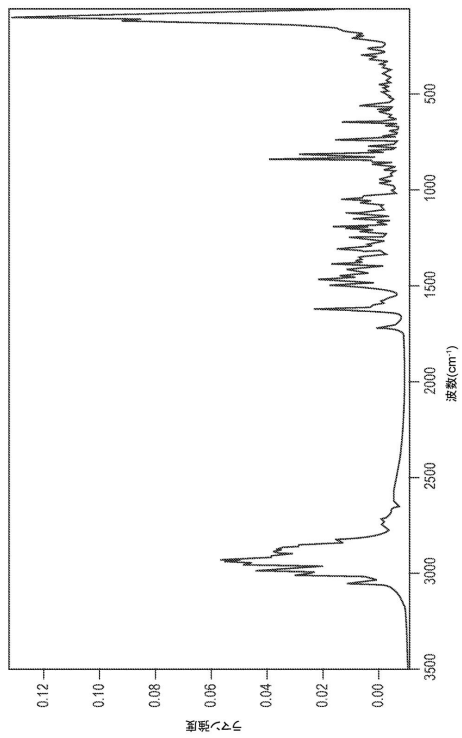
【図 16】

図16



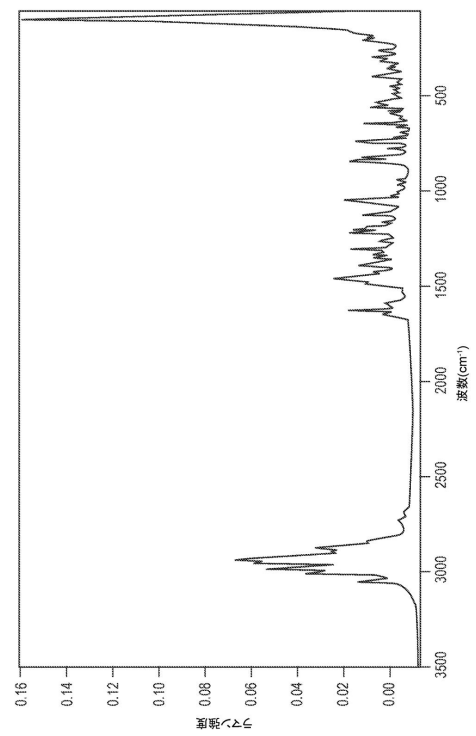
【図 17】

図17



【図 18】

図18



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/02	(2006.01)	A 6 1 P 25/02	
A 6 1 P 25/04	(2006.01)	A 6 1 P 25/04	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 K 31/506	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
C 0 7 C 59/265	(2006.01)	A 6 1 K 31/506	
C 0 7 C 51/41	(2006.01)	C 0 7 C 59/265	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	C 0 7 C 51/41	
		A 6 1 P 43/00	1 1 1

- (72)発明者 ウルリケ・ヴェルトマン  
ドイツ 5 5 2 1 6 インゲルハイム・アム・ライン、ピンガー・シュトラッセ 1 7 3 番
- (72)発明者 ハイナー・エベル  
ドイツ 5 5 2 1 6 インゲルハイム・アム・ライン、ピンガー・シュトラッセ 1 7 3 番
- (72)発明者 リッカルド・ジョヴァンニニ  
ドイツ 5 5 2 1 6 インゲルハイム・アム・ライン、ピンガー・シュトラッセ 1 7 3 番
- (72)発明者 シュテファン・ショイラー  
ドイツ 5 5 2 1 6 インゲルハイム・アム・ライン、ピンガー・シュトラッセ 1 7 3 番
- (72)発明者 サラ・フラッティニー  
ドイツ 5 5 2 1 6 インゲルハイム・アム・ライン、ピンガー・シュトラッセ 1 7 3 番

審査官 阿久津 江梨子

- (56)参考文献 特表 2 0 1 3 - 5 1 4 3 0 1 ( J P , A )

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 D 4 0 5 / 1 4  
A 6 1 K 3 1 / 5 0 6  
A 6 1 P 1 / 0 2  
A 6 1 P 3 / 1 0  
A 6 1 P 1 3 / 1 2  
A 6 1 P 1 9 / 0 2  
A 6 1 P 2 5 / 0 0  
A 6 1 P 2 5 / 0 2  
A 6 1 P 2 5 / 0 4  
A 6 1 P 2 9 / 0 0  
C 0 7 C 5 1 / 4 1  
C 0 7 C 5 9 / 2 6 5  
A 6 1 P 4 3 / 0 0  
C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )

- (54)【発明の名称】( 4 - ( ( 3 R , 4 R ) - 3 - メトキシテトラヒドロ - ピラン - 4 - イルアミノ ) ピペリジン - 1 - イル ) ( 5 - メチル - 6 - ( ( ( 2 R , 6 S ) - 6 - ( P - トリル ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル ) メチルアミノ ) ピリミジン - 4 イル ) メタノンクエン酸塩