

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7628512号
(P7628512)

(45)発行日 令和7年2月10日(2025.2.10)

(24)登録日 令和7年1月31日(2025.1.31)

(51)国際特許分類

C 0 7 D 471/04 (2006.01)	F I	C 0 7 D 471/04	1 1 6
A 6 1 K 31/52 (2006.01)		C 0 7 D 471/04	C S P
A 6 1 K 31/537(2006.01)		A 6 1 K 31/52	
A 6 1 K 31/4985(2006.01)		A 6 1 K 31/537	
A 6 1 K 31/5365(2006.01)		A 6 1 K 31/4985	

請求項の数 10 (全45頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-575482(P2021-575482)
 (86)(22)出願日 令和2年6月17日(2020.6.17)
 (65)公表番号 特表2022-537047(P2022-537047
 A)
 (43)公表日 令和4年8月23日(2022.8.23)
 (86)国際出願番号 PCT/IB2020/055653
 (87)国際公開番号 WO2020/254985
 (87)国際公開日 令和2年12月24日(2020.12.24)
 審査請求日 令和5年6月13日(2023.6.13)
 (31)優先権主張番号 62/863,406
 (32)優先日 令和1年6月19日(2019.6.19)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

(73)特許権者 520218040
 ピーブ、ヘルスケア、ユーケー、(ナン
 バー5)、リミテッド
 V I I V H E A L T H C A R E U K
 (NO.5) L I M I T E D
 イギリス国スティーブニッジ、ガネルズ
 、ウッド、ロード、ジーエスケー、メデ
 ィンズ、リサーチ、センター
 (74)代理人 100091487
 弁理士 中村 行孝
 (74)代理人 100120031
 弁理士 宮嶋 学
 (74)代理人 100120617
 弁理士 浅野 真理
 (74)代理人 100126099

最終頁に続く

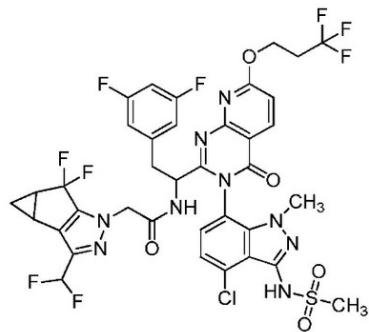
(54)【発明の名称】ヒト免疫不全ウイルス複製の阻害剤としてのピリド[2,3-D]ピリミジン誘導体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

化合物：

【化1】



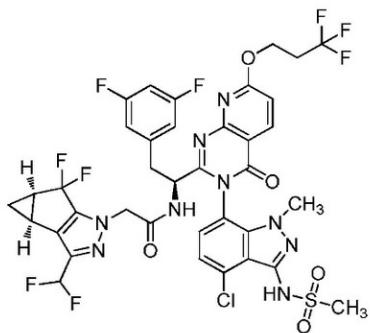
10

またはその薬学上許容可能な塩。

【請求項2】

以下に示す立体化学を有する請求項1に記載の化合物

【化 2】



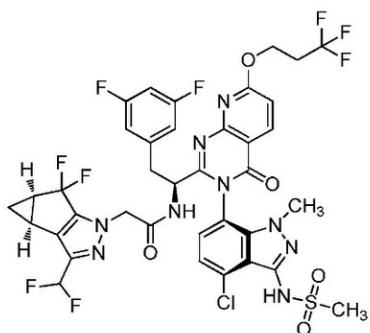
10

またはその薬学上許容可能な塩。

【請求項 3】

以下に示す立体化学を有する請求項 2 に記載の化合物

【化 3】



20

またはその薬学上許容可能な塩。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の化合物または塩を含んでなる、医薬組成物。

【請求項 5】

薬学上許容可能な賦形剤をさらに含んでなる、請求項 4 に記載の組成物。

30

【請求項 6】

経口投与、筋肉内注射、または皮下注射に好適である、請求項 4 または請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 7】

ヒトにおけるHIV感染症の治療に使用するための、請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 8】

ヒトにおけるHIV感染症の治療に使用される少なくとも1つの他の剤と組み合わせて使用するための、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

少なくとも1つの他の剤が、アバカビル、アタザナビル、ピクテグラビル、カボテグラビル、ドルテグラビル、ダルナビル、ドラビリン、フォステムサビル、ラミブジン、マラビロク、リルピビリン(rilpiverine)、テノホビルジソプロキシリ、テノホビル、テノホビルアラフェナミド(afenamide)、S - 6 4 8 4 1 4、G S K 3 6 4 0 2 5 4、抗体N 6 L S、およびG S K 3 7 3 9 9 3 7 / V H 3 7 3 9 9 3 7 からなる群から選択される、請求項 8 に記載の組成物。

40

【請求項 10】

少なくとも1つの他の剤が、ドルテグラビル、ラミブジン、フォステムサビル、カボテグラビル、抗体N 6 L S、およびG S K 3 7 3 9 9 3 7 / V H 3 7 3 9 9 3 7 からなる群から選択される、請求項 9 に記載の組成物。

50

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】****発明の分野**

本発明は、化合物、組成物およびヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染症の治療のための方法に関する。より詳しくは、本発明は、新規なHIVの阻害剤、このような化合物を含有する医薬組成物、およびHIV感染症の治療におけるこれらの化合物を使用する方法を提供する。本発明はまた、以下に記載の化合物を製造する方法に関する。

【背景技術】**【0002】****発明の背景**

後天性免疫不全症候群（AIDS）は、HIVによる感染症の結果である。HIVは、主要な世界的な公衆衛生の問題であり続いている。2015年において、推定3670万人がHIVと共に存してあり（180万人の小児を含む）、世界的なHIV有病率は0.8%であった。この数の大部分が、低所得国および中所得国で生活している。同年、110万人がAIDS関連疾患で死亡した。

【0003】

HIV感染者に対する現在の療法は、承認済みの抗レトロウイルス剤の組合せからなる。48種近くの薬剤が、単剤、固定用量配合剤または単一錠剤レジメンのいずれかとして、HIV感染症に対して現在承認されており、後者2つは、2~4種の承認済みの剤を含有する。これらの剤は、ウイルス酵素またはウイルス複製サイクル中のウイルスタンパク質の機能のいずれかを標的とした多数の異なるクラスに属する。よって、剤は、ヌクレオチド系逆転写酵素阻害剤（NRTI）、非ヌクレオチド系逆転写酵素阻害剤（NNRTI）、プロテアーゼ阻害剤（PI）、インテグラーゼ阻害剤(integrase strand transfer inhibitor)（INSTI）、または侵入阻害剤（一方はマラビロクであり、宿主CCR5タンパク質を標的とし、他方はエンフビルチドであり、これはウイルスgp160タンパク質のgp41領域を標的とするペプチドである）のいずれかに分類される。さらに、薬物動態エンハンサー（コビシスタッフまたはリトナビル）を、ブースティングを必要とする抗レトロウイルス剤（ART）と組み合わせて使用することができる。

【0004】

剤および薬剤の組合せの治療法があるにもかかわらず、新規な抗レトロウイルス剤の医学的ニーズが依然として存在する。高いウイルス異質性、薬物関連毒性、忍容性の問題、および不良なアドヒアランスは総て、治療失敗に至る場合があり、クラス全体からの1以上の抗レトロウイルス剤に対してまたは複数の薬剤に対してさえも耐性を付与する変異を有するウイルスの選択に至り得る(Beyrer, C., Pozniak A. HIV drug resistance - an emerging threat to epidemic control. N. Engl. J. Med. 2017, 377, 1605-1607; Gupta, R. K., Gregson J., et al. HIV-1 drug resistance before initiation or re-initiation of first-line antiretroviral therapy in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-regression analysis. Lancet Infect. Dis. 2017, 18, 346-355; Zazzi, M., Hu, H., Prosperi, M. The global burden of HIV-1 drug resistance in the past 20 years. PeerJ. 2018, DOI 10.7717/peerj.4848)。結果として、服用しやすく、耐性の発現に対する高い遺伝的障壁を有し、かつ現在の剤よりも改善された安全性を有する新規な薬剤が必要である。この一式の選択において、好ましい抗レトロウイルス療法（ART）の一部として使用することができる新規な作用機序（MOA）は、現在の剤に対するウイルス耐性に対して有効なはずであるため、果たすべき主要な役割を依然として有し得る。薬剤を長期間または生涯にわたってさえ服用を容易にするであろう改善は、以下の総てまたはいくつかを含み得る：副作用の減少、薬物間相互作用の減少、投与間の期間の増加、または個々の患者の好みに一致する代替投与経路。安全性の改善の目的は、投与の中止を引き起こすであろうあらゆる毒性に対する高い治療指数を確実に含むと思われ、副作用の減少または薬物間相互作用の減少も含み得る

10

20

30

40

50

。併用レジメンにおいてより少ない全体的な薬剤を使用する可能性も、コンプライアンスおよび安全性の改善をもたらす可能性が高いと思われる。抗ウイルス標的に対する効力の増大も、特にヒト血漿および血清アルブミンの存在下で維持される場合、用量の減量に至ると思われ、投与の期間ならびに副作用および毒性をしのぐ治療指數に直接的かつ正の影響を及ぼし得る。要約すると、長期のコンプライアンスおよび安全性を促進する上記の他の利益も有する新規な作用機序を有する抗HIV薬が発見されれば、HIV感染患者に対する最大限の利益が達成されるであろう。

【0005】

特定の潜在的に治療的な化合物が、現在当技術分野で記載されており、Blair, Wade S. et. al. Antimicrobial Agents and Chemotherapy (2009), 53(12), 5080-5087, Blair, Wade S. et al. PLoS Pathogens (2010), 6(12), e1001220, Thenin-Houssier, Suzie; Valente, Susana T. Current HIV Research, 2016, 14, 270-282、ならびに以下の番号のPCT特許出願：WO 2012065062、WO 2013006738、WO 2013006792、WO 2014110296、WO 2014110297、WO 2014110298、WO 2014134566、WO 2015130964、WO 2015130966、WO 2016033243、WO 2018035359、およびWO 2018203235において示されている。

10

【0006】

現在当技術分野において必要であるものは、HIVの治療において新規かつ有用なさらなる化合物である。さらに、これらの化合物は、例えば、それらの作用機序、結合、阻害有効性、標的選択性、溶解性、安全性プロファイル、バイオアベイラビリティおよび/または投与頻度の減少のうち1つ以上に関して、薬学的使用の利点を提供するはずである。新規な処方物およびこれらの化合物を利用する治療の方法も必要である。

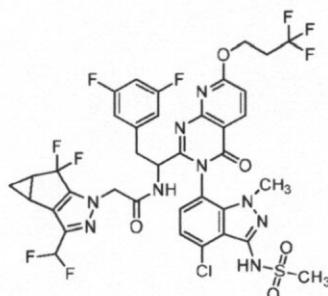
20

【発明の概要】

【0007】

簡単に述べれば、一側面において、本発明は、以下に示す化合物：

【化1】



30

およびその薬学上許容可能な塩（以下、「本発明の化合物および塩」）を開示する。

【0008】

40

別の側面において、本発明は、本発明の化合物または塩を含んでなる医薬組成物を開示する。

【0009】

別の側面において、本発明は、本発明の化合物または塩を投与することを含んでなる、ヒトにおけるHIV感染症を治療する方法を開示する。

【0010】

別の側面において、本発明は、療法において使用するための本発明の化合物または塩を開示する。

【0011】

別の側面において、本発明は、ヒトにおけるHIV感染症の治療において使用するため

50

の、本発明の化合物または塩を開示する。

【0012】

別の側面において、本発明は、ヒトにおけるHIV感染症の治療のための薬剤の製造における本発明の化合物または塩の使用を開示する。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】図1は、下記の試験でのラットにおける平均血漿中濃度時間プロファイルの要約である。

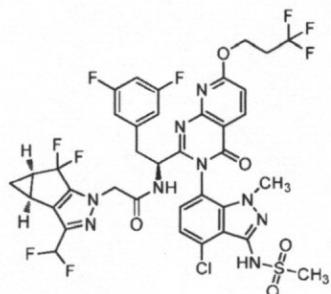
【発明を実施するための形態】

【0014】

発明の詳細な説明

好ましくは、本発明の化合物および塩は、以下に示す立体化学を有する。

【化2】



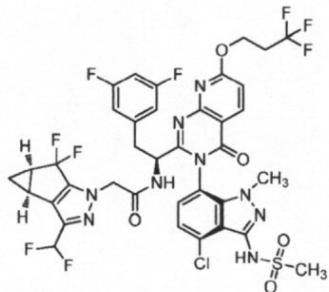
10

20

【0015】

別の側面において、本発明の化合物および塩は、以下に示す立体化学を有する。

【化3】



30

【0016】

本発明の塩は、薬学上許容可能なものである。このような塩は、酸付加塩であってもよいし、塩基付加塩であってもよい。好適な薬学上許容可能な塩のレビューについては、例えば、Berge et al, J. Pharm. Sci., 66, 1-19, 1977参照。

40

【0017】

代表的な薬学上許容可能な酸付加塩としては、限定されるものではないが、4-アセトアミド安息香酸塩、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩(ベシル酸塩)、安息香酸塩、重硫酸塩、重酒石酸塩、酪酸塩、エデト酸カルシウム、樟脑酸塩、カンファースルホン酸塩(カンシル酸塩)、カプリン酸塩(デカン酸塩)、カプロン酸塩(ヘキサン酸塩)、カブリル酸塩(オクタン酸塩)、桂皮酸塩、クエン酸塩、シクラミン酸塩、ジグルコン酸塩、2,5-ジヒドロキシ安息香酸塩、ジコハク酸塩、ドデシル硫酸塩(エストール酸塩)、エデト酸塩(エチレンジアミン四酢酸塩)、エストール酸塩(硫酸ラウリル)、エタン-1,2-ジスルホン酸

50

塩（エジシル酸塩）、エタンスルホン酸塩（エシル酸塩）、ギ酸塩、フマル酸塩、ガラクタル酸塩（ムチン酸塩）、ゲンチジン酸塩（2,5-ジヒドロキシ安息香酸塩）、グルコヘプトン酸塩（グルセプト酸塩）、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、グルタミン酸塩、グルタル酸塩、グリセロリン酸塩(glycerophosphate)、グリコール酸塩、ヘキシリレゾルシン酸塩、馬尿酸塩、ヒドラバミン（N,N'-ジ（デヒドロアビエチル）-エチレンジアミン）、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、ヒドロキシナフト工酸塩、イソ酪酸塩、乳酸塩、ラクトビオン酸塩、ラウリン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸塩、メタンスルホン酸塩（メシル酸塩）、メチル硫酸塩、ムチン酸塩、ナフタレン-1,5-ジスルホン酸塩（ナパジシル酸塩）、ナフタレン-2-スルホン酸塩（ナプシル酸塩）、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、パルミチン酸塩、p-アミノベンゼンスルホン酸塩、p-アミノサリチル酸塩、パモ酸塩（エンポン酸塩）、パントテン酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、フェニル酢酸塩、フェニルエチルバルビツール酸塩、リシン酸塩、ポリガラクトロン酸塩、プロピオン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩（トシリ酸塩）、ピログルタミン酸塩、ピルビン酸塩、サリチル酸塩、セバシン酸塩、ステアリン酸塩、スバセチン酸塩、コハク酸塩、スルファミン酸塩、硫酸塩、タンニン酸塩、酒石酸塩、テオクル酸塩（8-クロロテオフィリナート）、チオシアノ酸塩、トリエチオダイド、ウンデカン酸塩、ウンデシレン酸塩、および吉草酸塩が挙げられる。

【0018】

代表的な薬学上許容可能な塩基付加塩としては、限定されるものではないが、アルミニウム、2-アミノ-2-（ヒドロキシメチル）-1,3-プロパンジオール（トリス、トロメタミン）、アルギニン、ベネタミン（N-ベンジルフェネチルアミン）、ベンザチン（N,N'-ジベンジルエチレンジアミン）、ビス-（2-ヒドロキシエチル）アミン、ビスマス、カルシウム、クロロプロカイン、コリン、クレミゾール（1-pクロロベンジル-2-ピロリジン(pyrrolidine)-1'-イルメチルベンズイミダゾール）、シクロヘキシリアミン、ジベンジルエチレンジアミン、ジエチルアミン、ジエチルトリアミン、ジメチルアミン、ジメチルエタノールアミン、ドーパミン、エタノールアミン、エチレンジアミン、L-ヒスチジン、鉄、イソキノリン、レピジン、リチウム、リシン、マグネシウム、メグルミン（N-メチルグルカミン）、ピペラジン、ピペリジン、カリウム、プロカイン、キニーネ、キノリン、ナトリウム、ストロンチウム、t-ブチルアミン、および亜鉛が挙げられる。

【0019】

ある実施形態において、酸付加塩は、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩、リン酸水素、酢酸塩、安息香酸塩、コハク酸塩、サッカリシン酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、グルコン酸塩、カンシル酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩およびパモ酸塩から選択される。ある実施形態において、塩基付加塩としては、金属塩（例えば、ナトリウム、カリウム、アルミニウム、カルシウム、マグネシウムおよび亜鉛）ならびにアンモニウム塩（例えば、イソプロピルアミン、ジエチルアミン、ジエタノールアミンの塩）が挙げられる。他の塩（例えば、トリフルオロ酢酸塩およびシュウ酸塩）は、本発明の化合物および塩の製造において使用してもよく、本発明の範囲内に含まれる。

【0020】

本発明の化合物の塩の総ての可能性のある化学量論形態および非化学量論形態が、本発明の範囲内に含まれる。酸および塩基付加塩は、本発明の化合物を好適な溶媒中の適当な酸または塩基と処理し、次いで、結晶化および濾過を行うことにより、熟練の化学者により調製され得る。

【0021】

本発明の医薬組成物は、薬学上許容可能な担体、賦形剤、および/または希釈剤をさらに含んでなる。一実施形態において、本発明の医薬組成物は、薬学上許容可能な賦形剤をさらに含んでなる。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 2 】

本発明の方法において、好ましい投与経路は、経口および皮下または筋肉内に送達するための注射である。したがって、好ましい医薬組成物としては、経口投与に好適な組成物（例えば、錠剤）および注射、例えば、皮下注射または筋肉内注射に好適な組成物が挙げられる。

【 0 0 2 3 】

別の側面において、本発明は、本発明の化合物または塩を投与することを含んでなる、ヒトにおけるHIV感染症を予防する、または感染症のリスクを低減する方法を開示する。曝露前予防（またはPrEP）は、HIV感染症のリスクにあるヒトが、HIV感染症に罹る可能性を低くするために、毎日薬剤を服用する場合のものである。PrEPは、感染症のリスクの低減に有効であることが示されている。本明細書で使用する場合、「HIV」または「ヒト免疫不全ウイルス」は、HIV-1および/またはHIV-2を指す。

10

【 0 0 2 4 】

本発明の化合物および塩は、それらの生物学的標的としてHIVカプシドを有すると考えられており、よって、それらの作用機序は、1以上の様式でHIVカプシドの機能を修飾することである。例えば、本発明の化合物および塩は、カプシド阻害剤として作用し得る。

【 0 0 2 5 】

本発明の化合物および塩は、単独で用いてもよいし、他の治療剤と組み合わせて用いてもよい。よって、本発明に係る併用療法は、本発明の少なくとも1つの化合物または塩の投与、およびHIV感染症の治療において有用であり得る少なくとも1つの他の剤の投与を含んでなる。本発明の化合物および塩ならびに任意の他の1つまたは複数の薬学上有効な剤は、一緒に投与してもよいし、別々に投与してもよく、別々に投与する場合、投与は、同時にあってもよいし、任意の順序で逐次的に行ってもよい。例えば、本発明の化合物または塩、および他の剤は、单一の医薬組成物中で一緒に処方および投与してもよいし、別々に処方および投与してもよい。

20

【 0 0 2 6 】

本発明の化合物および塩ならびに他の1つまたは複数の薬学上有効な剤の量、ならびに投与の相対的タイミングを、所望の併用治療効果を達成するために選択する。本発明の化合物およびその塩、溶媒和物、または他の薬学上許容可能な誘導体と他の治療剤との組合せでの投与は、(1)複数の化合物を含む単位医薬組成物；または(2)それぞれ化合物の1つを含む別々の医薬組成物中の同時投与による組合せであってもよい。あるいは、組合せは、一方の治療剤が1番目に投与され、他方が2番目に投与される、またはその逆という逐次的な様式で別々に投与してもよく、適当な場合、異なる剤を異なるスケジュールで投与することもできる。このような逐次投与は、時間が近くてもよいし、時間が離れていてもよい。本発明の化合物、またはその塩および他の1つまたは複数の薬学上有効な剤の量、ならびに投与の相対的タイミングを、所望の併用治療効果を達成するために選択する。

30

【 0 0 2 7 】

このようなものとして、本発明の化合物および塩は、HIVの予防または治療において有用な1以上の剤と組み合わせて使用してもよい。このような剤としては、例えば、ヌクレオシドHIV逆転写酵素阻害剤、非ヌクレオシドHIV逆転写酵素阻害剤、HIVプロテアーゼ阻害剤、HIV融合阻害剤、HIV接着阻害剤、CCR5阻害剤、CXCR4阻害剤、HIV出芽または成熟阻害剤、およびHIVインテグラーゼ阻害剤が挙げられる。好適な他の剤としては、例えば、アバカビル、アタザナビル、ビクテグラビル、カボテグラビル、ダルナビル、デラビルジン、ジダノシン、ジデオキシイノシン、ドルテグラビル、ドラビリン、エファビレンツ、エルビテグラビル、エムトリシタビン、エトラビリン(etavirine)、ホスアンプレナビル、フォステムサビル、GSK3640254、インジナビル、イスラトラビル(slatravir)、ラミブジン、ロピナビル、マラビロク、ネルフィナビル、ネビラピン、ラルテグラビル、リルピビリン(rilpivirine)、リトナビル、サキナビル、

40

50

イスラトラビル(slatravir)、スタブジン、チプラナビル、テノホビル、テノホビルアラフェナミド、テノホビルジソプロキシルフル酸塩、ザルシタビン、ジドブジン、抗体 N 6 L S、G S K 3 7 3 9 9 3 7 / V H 3 7 3 9 9 3 7、および S - 6 4 8 4 1 4 が挙げられる。さらなる好適な他の剤としては、ドルテグラビル、ラミブジン、フォステムサビル、カボテグラビル、マラビロク、リルピビリン(rilpiverine)、レイアタツ、テノホビル、アラフェナミド(afenamide)、E f D A、ドラビリン、およびプレジスタ(Preziata)が挙げられる。さらに好適な他の剤としては、ドルテグラビル、ラミブジン、フォステムサビル、およびカボテグラビルが挙げられる。好ましい剤としては、例えば、ビクテグラビル、カボテグラビル、ドルテグラビル、フォステムサビル、イスラトラビル、およびラミブジンが挙げられる。特に好ましい剤としては、例えば、ビクテグラビル、カボテグラビル、ドルテグラビル、フォステムサビル、およびラミブジンが挙げられる。

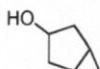
10

【実施例】

【0028】

ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-オールの製造

【化4】



20

0 ~ 5 ℃、N₂雰囲気下で、DCM (1200 mL) 中、シクロ pentan - 3 - エノール (130 g、1545 mmol) の攪拌溶液に、ヘキサン中ジエチル亜鉛の溶液 (1.0 M、3091 mL、3091 mmol) を3時間かけて滴下した。0 ℃の溶液に、DCM (300 mL) 中、ジヨードメタン (249 mL、3091 mmol) の溶液を1時間かけて滴下した。反応混合物を27 ℃に温め、白色沈殿の形成が認められた。混合物を16時間攪拌した。反応の進行を、TLC (SiO₂、20% EtOAc / pet、R_f = 0.3、UV不活性、PMA活性)によりモニタリングした。反応混合物を、飽和NH₄C₁水溶液 (1.5 L) の慎重な添加によりクエンチした。混合物をセライトのパッドで濾過した。水層をDCM (2 × 1 L) で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、次いで、減圧下で濃縮し、粗ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-オールを赤色液体、180 gとして得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 4.41 - 4.35 (m, 1H), 2.18 - 2.05 (m, 2H), 1.73 (d, J = 13.9 Hz, 2H), 1.35 - 1.25 (m, 2H), 1.21 - 1.14 (m, 1H), 0.57 - 0.43 (m, 2H)。GCMS: m/z = 98.1)。

30

【0029】

ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-オンの製造

【化5】



40

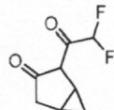
0 ℃、N₂雰囲気下で、DCM (5000 mL) 中、ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-オール (210 g、2054 mmol) の攪拌溶液に、デス・マーチンペルヨージナン (954 g、225 mmol) を少量ずつ加えた。混合物を27 ℃に温め、次いで、16時間攪拌した。反応の進行を、TLC (SiO₂、20%アセトン/ヘキサン、R_f = 0.3、UV不活性、PMA活性)によりモニタリングした。反応混合物をセライトのパッドで濾過し、濾液をNaOH水溶液 (1 N、8 × 1 L) で洗浄した。合わせた水相をDCM (5 × 1 L) で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、次いで、減圧下で濃縮し(浴温度: 20 ℃)、粗ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-オンを褐色液体として得た。液体を70 ℃での下方蒸留によりさらに精製し、ビシクロ

50

[3.1.0]ヘキサン-3-オンを淡黄色の粘稠な液体、125g(62%)として得た。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) = 2.61 - 2.54 (m, 2H), 2.17 - 2.12 (m, 2H), 1.54 - 1.46 (m, 2H), 0.92 - 0.86 (m, 1H), -0.01 --0.08 (m, 1H); GCMS: M/Z = 96.1。

【0030】

2-(2,2-ジフルオロアセチル)ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-オンの製造
【化6】



10

-78°C、N₂雰囲気下で、THF(1500 mL)中、ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-オン(125g、1274 mmol)の攪拌溶液に、LDA(THF中、2.0M、0.701 L、1402 mmol)を加えた。溶液を-78°Cで1時間攪拌した。この溶液に、-78°Cの温度を維持したTHF(300 mL)中、ジフルオロ酢酸エチル(174g、1402 mmol)の溶液を30分かけて徐々に加えた。反応混合物を27°Cに温め、次いで、1時間攪拌した。反応の進行を、TLC(SiO₂、20%アセトン/ヘキサン、R_f = 0.3、UV活性)によりモニタリングした。反応混合物を、HCl水溶液(1N、2000 mL)の添加によりクエンチした。混合物を30分間攪拌し、次いで、EtOAc(3 × 1000 mL)で抽出した。合わせた有機層をブライン(1000 mL)で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過した。濾液を減圧下で濃縮し、2-(2,2-ジフルオロアセチル)ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-オンを淡黄色の粘稠な液体、180g(71%)として得た。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) = 6.18 (t, J = 54.8 Hz, 1H), 2.70 - 2.62 (m, 1H), 2.35 (d, J = 19.4 Hz, 1H), 2.14 (br s, 1H), 1.26 - 1.21 (m, 1H), 1.04-1.03 (m, 1H), 0.22-0.21 (m, 1H), LCMS: M/Z = 173.17)。

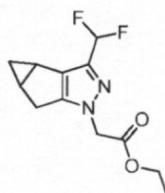
20

【0031】

2-(3-(ジフルオロメチル)-3b,4a,5-テトラヒドロ-1H-シクロプロパ[3,4]シクロペンタ[1,2-c]ピラゾール-1-イル)酢酸エチルの製造

30

【化7】



27°C、N₂雰囲気下で、エタノール(2 L)中、2-(2,2-ジフルオロアセチル)ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-オン(180g、910 mmol)の攪拌溶液に、2-ヒドラジニル酢酸エチル塩酸塩(422g、2729 mmol)に次いで、硫酸(20 mL、375 mmol)を加えた。混合物を30分間攪拌し、次いで、100°Cに加熱し、16時間攪拌した。反応の進行を、TLC(SiO₂、20%アセトン/ヘキサン、R_f = 0.3、UV活性)によりモニタリングした。反応混合物を減圧下で濃縮した。残渣をEtOAc(2000 mL)に溶解し、水(2 × 1 L)、ブライン(1.0 L)で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、次いで、減圧下で濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(pept.:アセトン100:0 98:2)に付して、2-(3-(ジフルオロメチル)-3b,4a,5-テトラヒドロ-1H-シクロプロパ[3,4]シクロペンタ[1,2-c]ピラゾール-1-イル)酢酸エチル

40

50

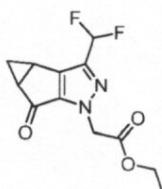
チルを灰白色固体、110 g (46%) として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) = 6.86 (t, J = 54.8 Hz, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.14 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 2.88 - 2.79 (m, 1H), 2.76 - 2.68 (m, 1H), 2.14 - 2.04 (m, 2H), 1.19 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.10 - 1.03 (m, 1H), 0.14 (q, J = 4.3 Hz, 1H)。

【0032】

2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 5 - オキソ - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸エチルの製造

【化8】

10



0 のシクロヘキサン (3.5 L) 中、2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸エチル (110 g、422 mmol) およびセライト (395 g) の攪拌溶液に、ニクロム酸ピリジニウム (794 g、2110 mmol) を少量ずつ加えた。窒素雰囲気下で、混合物に t e r t - ブチルヒドロペルオキシド (355 mL、2130 mmol) を10分かけて滴下した。反応混合物を27に温め、次いで、その温度で48時間攪拌した。反応の進行を、TLC (SiO₂、30%アセトン / p e t、R_f = 0.4、UV活性) によりモニタリングした。反応混合物を濾過し、濾過ケーキを EtOAc (1000 mL) で抽出した。濾液を、飽和Na₂S₂O₃水溶液 (2 × 500 mL)；飽和FeSO₄水溶液 (300 mL)；および次いでブライン (500 mL) で洗浄した。有機層を無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮し、粗標題化合物 (150 g)を得た。

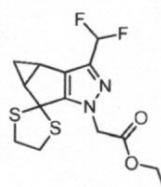
【0033】

20

2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 4 , 4 a - ジヒドロスピロ [シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 5 , 2 ' - [1 , 3] ジチオラン] - 1 (3 b H) - イル) 酢酸エチルの製造

【化9】

30



27、窒素雰囲気下で、DCM (1500 mL) 中、2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 5 - オキソ - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸エチル (75 g、269 mmol) の攪拌溶液に、エタン - 1 , 2 - ジチオール (43.0 mL、511 mmol) を加え、次いで、三フッ化ホウ素酢酸 (72.6 mL、511 mmol) を加えた。溶液を16時間攪拌した。反応の進行を、TLC (SiO₂、20%アセトン / P e t、R_f = 0.35、UV活性) によりモニタリングした。完了後、反応混合物を0に冷却し、飽和NaHCO₃水溶液 (500 mL) の添加によりクエンチした。混合物をDCM (2 × 1000 mL) で抽出した。合せた有機物をブライン (1000 mL) で洗浄し、無水Na

40

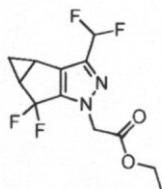
50

2 SO_4 で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮し、褐色液体を得た。この材料をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Pet. : EtOAc 95 : 5 90 : 10) に付して、2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 4 , 4 a - ジヒドロスピロ [シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 5 , 2 ' - [1 , 3] ジチオラン] - 1 (3bH) - イル) 酢酸エチルを灰白色固体、80g (74%) として得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl₃) = 6.61 (t, J = 55.2 Hz, 1H), 5.00 - 4.85 (m, 2H), 4.29 - 4.19 (m, 2H), 3.55 - 3.46 (m, 4H), 2.63 - 2.53 (m, 1H), 2.49 - 2.38 (m, 1H), 1.30 - 1.24 (m, 4H), 0.65 - 0.60 (m, 1H)。LCMS M+H = 346.9。

【0034】

2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - ジフルオロ - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸エチルの製造

【化10】



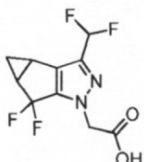
10

-70°C、N₂雰囲気下で、DCM (20mL) 中、1 , 3 - ジブロモ - 5 , 5 - ジメチルイミダゾリジン - 2 , 4 - ジオン (26.3g、92mmol) の攪拌溶液に、HF - ピリジン (2.460g、24.83mmol) を加えた。溶液は30分間であった。この溶液に、DCM (20mL) 中、2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 4 , 4 a - ジヒドロスピロ [シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 5 , 2 ' - 1 , 3] ジチオラン] - 1 (3bH) - イル) 酢酸エチル (10g、25mmol) の溶液を加えた。反応混合物を -40°C に温め、次いで、その温度で1時間攪拌した。反応の進行を、TLC (SiO₂、30% EtOAc / Pet. Rf = 0.3、UV不活性) によりモニタリングした。反応混合物を、飽和NaHCO₃水溶液 (200mL) の添加によりクエンチした。混合物を室温に温め、次いで、EtOAc (2 × 100mL) で抽出した。合わせた有機物をブライン (50mL) で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮し、褐色固体を得た。この材料を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Pet. : EtOAc 100 : 0 75 - 25) に付して、2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - ジフルオロ - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸エチルを淡黄色固体、8.5g (91%) として得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl₃) = 6.62 (t, J = 55.2 Hz, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.30 - 4.18 (m, 2H), 2.51 - 2.37 (m, 2H), 1.42 - 1.35 (m, 1H), 1.31 - 1.23 (m, 3H), 1.14 - 1.08 (m, 1H)。LCMS M+H = 293.07。

【0035】

2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - ジフルオロ - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸の製造

【化11】



30

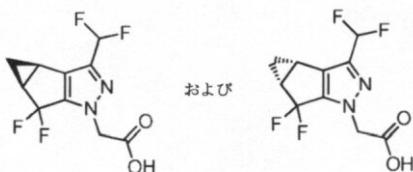
40

50

0 、 N_2 雰囲気下で、 THF (17 mL) および MeOH (66 mL) 中、 2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - デトライドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペニタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸カルボン酸 (15 g、 50 mmol) の搅拌溶液に、水 (66 mL) 中、 LiOH (1.788 g、 74.7 mmol) の溶液を加えた。反応混合物を 27 ℃ に温め、次いで、その温度で 3 時間搅拌した。反応の進行を、 TLC (SiO_2 、 5% MeOH / DCM、 $R_f = 0.2$ 、 UV活性) によりモニタリングした。完了後、反応混合物を減圧下で濃縮し、水 (50 mL) で希釈し、 EtOAc (2 × 250 mL) で洗浄して不純物を除去した。水層を、 HCl 水溶液 (1 M) を用いて pH 2 ~ 3 に調整し、次いで、 EtOAc (3 × 1000 mL) で抽出した。合わせた有機物を無水 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮し、 2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - デトライドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペニタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸を灰白色固体、 14 g (98%) として得た。LCMS $M+H = 265.15$ 。
 【0036】

2 - ((3bS, 4aR) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - デトライドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペニタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸 および 2 - ((3bR, 4aS) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - デトライドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペニタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸を得るための分離

【化12】



2 - (3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - デトライドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペニタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸 (5.5 g) をイソプロパノール (20 mL) に溶解した。溶液を、以下のように SFC キラル分離に少量ずつ供した：機器 = Thar 80；カラム = Chiralpak IC 30 × 250 mm、5 ミクロン；溶媒 A = 超臨界 CO_2 ；溶媒 B = 0.5% イソブロピルアミン (v/v) 含有イソプロパノール；溶出剤の組成 = 70% A : 30% B；流速 = 6.5 g / 分；背压 = 100 バール；温度 = 30 ℃；注入量 = 2.5 mL；検出 = 220 nm。2 - ((3bS, 4aR) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - デトライドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペニタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸は、7.5 分 ~ 14 分で溶出するピークとして回収し、2 - ((3bR, 4aS) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - デトライドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペニタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸は、2.7 分 ~ 5.8 分で溶出するピークとして回収した。各鏡像異性体に関して、得られた溶液を減圧下で濃縮し、得られた固体を EtOAc に溶解した後、クエン酸水溶液 (1 M)、次いで水、次いでブラインで 2 回洗浄した。有機溶液を Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、次いで真空で濃縮し、分離した鏡像異性体を回収率 80 ~ 90% で得た。

【0037】

3 - ブロモ - 6 - クロロ - 2 - フルオロベンゾニトリルの製造

10

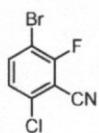
20

30

40

50

【化13】



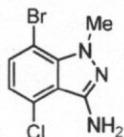
室温の水(2.1L)中、3-ブロモ-6-クロロ-2-フルオロベンズアルデヒド(210.0g、0.89mol、1.0当量)の攪拌溶液に、ヒドロキシリアルアミン-O-スルホン酸(175.15g、1.55mol、1.75当量)を加えた。反応混合物を50℃に加熱し、18時間攪拌した。混合物を室温に冷却し、1~1.5時間攪拌した。固体を濾過により単離し、次いで、水で洗浄した。湿固体を50℃で12~15時間真空下で乾燥させ、3-ブロモ-6-クロロ-2-フルオロベンズアルデヒド、190.0g(91%)を得た。

10

【0038】

7-ブロモ-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-アミンの製造

【化14】



20

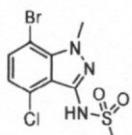
エタノール(1.08L)中、3-ブロモ-6-クロロ-2-フルオロベンゾニトリル(360.0g、1.55mol、1.0当量)の溶液に、メチルヒドラジン硫酸塩(1.11kg、7.73mol、5.0当量)を加え、次いで、25~35℃でトリエチルアミン(1.3L、9.3mol、6.0当量)を加えた。反応混合物を110℃に加熱し、15時間維持した(反応をTLCによりモニタリングした)。反応の完了後、混合物を室温に冷却した。水(3.0L)を加え、混合物を室温で1時間攪拌した。固体を濾過により単離し、水で洗浄した。湿固体を50℃で12~15時間真空下で乾燥させた。粗固体をカラムクロマトグラフィー(10%EA/ヘキサン~40%EA/ヘキサン)により精製し、生成物を淡黄色固体として得た。収率: 185.0g(46.0%)。

30

【0039】

N-(7-ブロモ-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)メタンスルホンアミドの製造

【化15】



40

DCM(30mL)中、7-ブロモ-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-アミン(1.40g、5.37mmol)の溶液に、ヒューニッヒ塩基(3.75mL、21.5mmol)を加え、次いで、反応物を氷浴中で冷却し、塩化メタンスルホニル(1.26mL、16.1mmol)を加えた。反応混合物をこの温度で1時間攪拌した(沈殿が形成された)。次いで、混合物をジクロロメタン(100mL)で希釈し、水

50

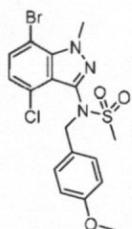
、1 M HCl およびブラインで洗浄し、乾燥させ (Na_2SO_4)、濾過し、真空で濃縮した。残渣を EtOH (30 mL) および 10 mL の 20% NaOH 水溶液に取った。得られた混合物を、それが均一な溶液となるまでヒートガンで加熱し、室温で 30 分間攪拌した。混合物を水 (80 mL) で希釈し、1 N HCl (60 mL) で酸性化した。沈殿を濾過し、水で洗浄し、真空で乾燥させ、標題生成物 (1.5 g) を灰白色固体として得た。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.48 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.24 (br s, 1H), 6.95 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 4.38 (s, 3H), 3.42 (s, 3H)。LC/MS ($M+\text{H})^+ = 337.80$ 。

【0040】

N - (7 - ブロモ - 4 - クロロ - 1 - メチル - 1H - インダゾール - 3 - イル) - N - (4 - メトキシベンジル) メタンスルホンアミドの製造

10

【化16】



20

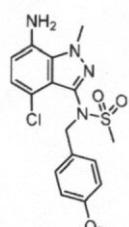
DMF (30 mL) 中、N - (7 - ブロモ - 4 - クロロ - 1 - メチル - 1H - インダゾール - 3 - イル) メタンスルホンアミド (1.3 g、3.84 mmol) および 1 - (クロロメチル) - 4 - メトキシベンゼン (0.625 mL、4.61 mmol) の混合物に、炭酸セシウム (1.626 g、4.99 mmol) を加え、混合物を 80°で 2 時間加熱した。混合物を水 (100 mL) に注ぎ、EtOAc (50 mL、2×) で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、 MgSO_4 で乾燥させ、濾過し、真空で濃縮した。残渣を Bioatdeg (0~35% EtOAc - ヘキサン) により精製し、標題生成物 (1.5 g) を白色泡沫として得た。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.44 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 6.99 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 4.99 (br s, 1H), 4.76 (br s, 1H), 4.40 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.01 (s, 3H)。

30

【0041】

N - (7 - アミノ - 4 - クロロ - 1 - メチル - 1H - インダゾール - 3 - イル) - N - (4 - メトキシベンジル) メタンスルホンアミドの製造

【化17】



40

参考文献 : Andersen, Jacob et al, Synlett 2005 (14), 2209-2213 に従う。NMP (10 mL) 中、N - (7 - ブロモ - 4 - クロロ - 1 - メチル - 1H - インダゾール - 3 - イル) - N - (4 - メトキシベンジル) メタンスルホンアミド (600.0 mg、1.308 mmol)、ヨウ化銅 (I) (49.8 mg、0.262 mmol)、アスコルビン酸ナトリウム (518 mg、2.62 mmol) および (1R, 2R) - N1, N2 - デミチルシクロヘキサン - 1, 2 - ディアミン (46.5 mg、0.327 mmol) の混合物に、水 (2.0 mL) 中、アジ化ナトリウム (255 mg、3.92 mmol) の溶

50

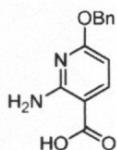
液を加えた。次いで、混合物を密閉し、マイクロ波システムにおいて 120 °C で 2.5 時間加熱した。次いで、混合物をセライトのパッドで濾過し、パッドを EtOAc で洗浄した。濾液を水 (100 mL) に注ぎ、EtOAc (50 mL, 2×) で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、MgSO₄ で乾燥させ、濾過し、真空中で蒸発させた。残渣を Bioatge (5~100% EtOAc / ヘキサン) により精製し、標題生成物 (400 mg) を灰白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.33 - 7.29 (m, 2H), 6.89 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.85 - 6.79 (m, 2H), 6.48 (d, J=7.8 Hz, 1H), 5.11 (br.s, 1H), 4.81 (br.s, 1H), 4.30 (s, 3H), 3.80 (br.s, 2H), 3.79 (s, 3H), 2.99 (s, 3H)。LC/MS (M+H)⁺ = 395.00。

【0042】

10

2-アミノ-6-(ベンジルオキシ)ニコチニ酸の製造

【化18】



ベンジルアルコール (97 mL) 中、2-アミノ-6-クロロニコチニ酸 (5 g, 29 mmol) およびカリウムtert-ブトキシド (9.75 g, 87 mmol) の溶液を、120 °C に 3 時間加熱した。周囲温度に冷却した後、濃暗色の反応混合物を水に加え、エーテル (×3) で洗浄した。次いで、水層を 0.5 M クエン酸で酸性化した。黄褐色の沈殿を濾過し、生成物 (4.4 g, 62%)を得、これをさらに精製することなく次の反応に使用した。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ 12.40 (br.s, 1H), 7.94 (d, J=8.55 Hz, 1H), 7.06-7.52 (m, 5H), 6.04 (d, J=8.24 Hz, 1H), 5.33 (s, 2H)。LC/MS: m/z = 245.15 [M+1]⁺。

20

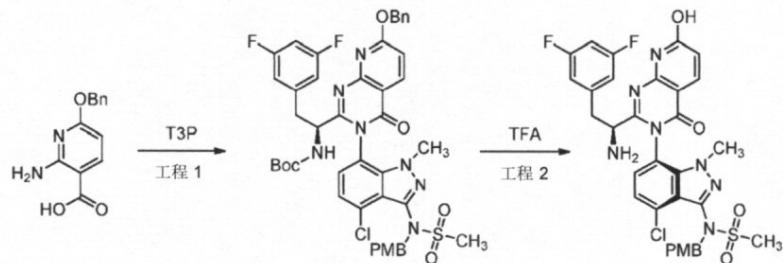
【0043】

N-[(6P)-7-{2-[(1S)-1-アミノ-2-(3,5-ジフルオロフェニル)エチル]-7-ヒドロキシ-4-オキソ-3H,4H-ピリド[2,3-d]ピリミジン-3-イル}-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-イル]-N-[(4-メトキシフェニル)メチル]メタンスルホンアミドの製造

30

スキーム：

【化19】



40

【0044】

工程1：

-25 のアセトニトリル (92 mL) (黄色溶液) 中、(S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-3-(3,5-ジフルオロフェニル)プロパン酸 (5.49 g, 18.23 mmol) および 2-アミノ-6-(ベンジルオキシ)ニコチニ酸 (4.45 g, 18.23 mmol) の懸濁液に、ピリジン (9.83 mL, 122 mmol)

50

1)、次いで、2, 4, 6 - トリプロピル - 1, 3, 5, 2, 4, 6 - トリオキサトリホスフィナン 2, 4, 6 - トリオキシド(「T3P」、45.2 mL、76 mmol)を加えた。反応混合物(T3P添加後に澄明な液となった)を-25 ~ 10 で4.5時間かけて攪拌し、次いで、N-(7-アミノ-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)-N-(4-メトキシベンジル)メタンスルホンアミド(6 g、15.19 mmol)を加え、混合物を室温に温めながら18時間攪拌した。反応混合物を酢酸エチルで希釈し、1 N NaOH、次いで水、次いで0.5 M クエン酸、次いで水で洗浄した後、Na₂SO₄で乾燥させ、真空で濃縮した。得られた残渣を、15 CVのヘキサン中0~60%酢酸エチルを用い、次いで、10 CVの60%EtOAcで保持して、シリカ(330 g RediSep Goldカラム)で精製した。所望の画分をプールし、濃縮し、淡黄色固体(8.1 g、9.14 mmol、収率60.1%)、N-[(1S) - 1 - [(3P, 3P) - 7 - (ベンジルオキシ) - 3 - (4 - クロロ - 3 - {N - [(4 - メトキシフェニル) メチル] メタンスルホンアミド} - 1 - メチル - 1H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 3H, 4H - ピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 2 - イル] - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル) エチル] カルバミン酸tert-ブチル(メジャ-)およびN-[(1S) - 1 - [(3M, 3M) - 7 - (ベンジルオキシ) - 3 - (4 - クロロ - 3 - {N - [(4 - メトキシフェニル) メチル] メタンスルホンアミド} - 1 - メチル - 1H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 3H, 4H - ピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 2 - イル] - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル) エチル] カルバミン酸tert-ブチル(マイナー)の混合物を得た。LC/MS: m/z = 886.25 [M+1]⁺。

【0045】

工程2:

TFA(21.1 mL、274 mmol)を、ジクロロメタン(45.7 mL)中、(S) - (1 - (7 - (ベンジルオキシ) - 3 - (4 - クロロ - 3 - (N - (4 - メトキシベンジル) メチルスルホンアミド) - 1 - メチル - 1H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 3, 4 - ジヒドロピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 2 - イル) - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル) エチル) カルバミン酸tert-ブチル(工程1からの生成物、8.1 g、9.14 mmol)の溶液に加えた。混合物を室温で2時間攪拌した。得られた淡黄色溶液を濃縮した。残渣を酢酸エチルに取り、次いで、1 N NaOHで3回洗浄し、次いで、Na₂SO₄で乾燥させ、次いで、真空で濃縮し、油状残渣を得た。この残渣を、溶媒A:溶媒B 65:35 0:100(2 CV)、次いで0:100(9 CV); 溶媒A=ヘキサン; 溶媒B=9:9:2ヘキサン:酢酸エチル:MeOHのグラジエント法によりシリカゲル(330 g RediSep Goldカラム)で精製した。最初に溶出する異性体(メジャー)を回収し、真空で濃縮し、N-[(6P) - 7 - { 2 - [(1S) - 1 - アミノ - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル) エチル] - 7 - ヒドロキシ - 4 - オキソ - 3H, 4H - ピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 3 - イル} - 4 - クロロ - 1 - メチル - 1H - インダゾール - 3 - イル] - N - [(4 - メトキシフェニル) メチル] メタンスルホンアミド(4.1 g、5.89 mmol、収率64.5%)を得た。¹H NMR(500 MHz, DMSO-d6) 7.86 - 7.98 (m, 1 H) 7.15 - 7.37 (m, 4 H) 6.97 - 7.06 (m, 1 H) 6.70 - 6.89 (m, 4 H) 6.40 - 6.48 (m, 1 H) 4.70 - 4.88 (m, 2 H) 3.41 - 3.81 (m, 7 H) 3.20 - 3.28 (m, 1 H) 3.08 - 3.12 (m, 3 H) 2.71 - 2.79 (m, 1 H) 1.69 - 2.00 (m, 2 H)。LC/MS: m/z = 696.20 [M+1]⁺。

【0046】

N - ((S) - 1 - ((3P) - 3 - (4 - クロロ - 3 - (N - (4 - メトキシベンジル) メチルスルホンアミド) - 1 - メチル - 1H - インダゾール - 7 - イル) - 7 - ヒドロキシ - 4 - オキソ - 3, 4 - ジヒドロピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 2 - イル) - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル) エチル) - 2 - ((3bS, 4aR) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5, 5 - ジフルオロ - 3b, 4, 4a, 5 - テトラヒドロ - 1H - シクロプロパ [3, 4] シクロペンタ [1, 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) アセトアミドの製造

10

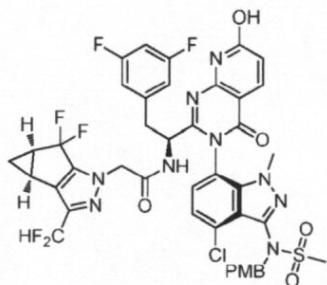
20

30

40

50

【化 2 0】



10

D M F (1 3 m l) 中、 N - [(6 P) - 7 - { 2 - [(1 S) - 1 - アミノ - 2 - (3 , 5 - ジフルオロフェニル) エチル] - 7 - ヒドロキシ - 4 - オキソ - 3 H , 4 H - ピリド [2 , 3 - d] ピリミジン - 3 - イル } - 4 - クロロ - 1 - メチル - 1 H - インダゾール - 3 - イル] - N - [(4 - メトキシフェニル) メチル] メタンスルホンアミド (0 . 9 2 6 g 、 1 . 3 3 0 m m o l) の攪拌溶液に、 2 - ((3 b S , 4 a R) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - ジフルオロ - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) 酢酸 (0 . 3 5 1 g 、 1 . 3 3 0 m m o l) 、 2 - (3 H - [1 , 2 , 3] トリアゾロ [4 , 5 - b] ピリジン - 3 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルイソウロニウムヘキサフルオロホスフェート (V) (「 H A T U 」 、 0 . 5 3 1 g 、 1 . 3 9 7 m m o l) 、 および D I P E A (0 . 5 8 1 m l 、 3 . 3 3 m m o l) を加えた。反応混合物を 2 時間攪拌し、その後、反応混合物を水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。合わせた E t O A c 抽出物をブラインで洗浄し、 N a 2 S O 4 で乾燥させ、真空で濃縮した。粗生成物を、ヘキサン中 1 0 ~ 1 0 0 % 酢酸エチルを用いたシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、 N - ((S) - 1 - ((3 P) - 3 - (4 - クロロ - 3 - (N - (4 - メトキシベンジル) メチルスルホンアミド) - 1 - メチル - 1 H - インダゾール - 7 - イル) - 7 - ヒドロキシ - 4 - オキソ - 3 , 4 - ジヒドロピリド [2 , 3 - d] ピリミジン - 2 - イル) - 2 - (3 , 5 - ジフルオロフェニル) エチル) - 2 - ((3 b S , 4 a R) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - ジフルオロ - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) アセトアミド (1 . 1 g 、 8 8 %) を灰白色泡沢状固体として得た。LC/MS: m/z = 942.25 [M+1]⁺。

【 0 0 4 7 】

例 1 : N - ((S) - 1 - ((3 P) - 3 - (4 - クロロ - 1 - メチル - 3 - (メチルスルホンアミド) - 1 H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 7 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ) - 3 , 4 - ジヒドロピリド [2 , 3 - d] ピリミジン - 2 - イル) - 2 - (3 , 5 - ジフルオロフェニル) エチル) - 2 - ((3 b S , 4 a R) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - ジフルオロ - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) アセトアミドの製造

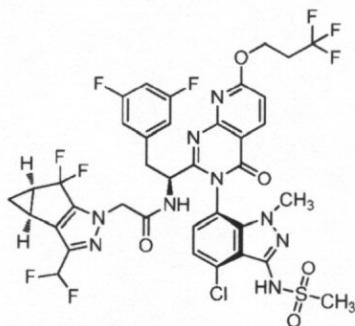
20

30

40

50

【化21】



10

THF (0.2 mL) 中、(E)-ジアゼン-1,2-ジカルボン酸ジイソプロピル(「D I A D」、0.125 mL、0.637 mmol) の溶液を、室温で、テトラヒドロフラン (2.1 mL) 中、N-(1-((3P)-3-(4-クロロ-3-(N-(4-メトキシベンジル)メチルスルホンアミド)-1-メチル-1H-インダゾール-7-イル)-7-ヒドロキシ-4-オキソ-3,4-ジヒドロピリド [2,3-d] ピリミジン-2-イル)-2-(3,5-ジフルオロフェニル)エチル)-2-((3bS,4aR)-3-(ジフルオロメチル)-5,5-ジフルオロ-3b,4,4a,5-テトラヒドロ-1H-シクロプロパ [3,4] シクロペンタ [1,2-c] ピラゾール-1-イル)アセトアミド (0.2 g、0.212 mmol))、3,3,3-トリフルオロプロパン-1-オール (0.073 g、0.637 mmol) およびトリフェニルホスフィン (0.178 g、0.679 mmol) の混合物に滴下した。反応混合物を室温で18時間攪拌し、次いで、真空で濃縮した。残渣を、15 CV のヘキサン中 0~60% 酢酸エチルのグラジエントを用い、次いで、5 CV のヘキサン中 60% 酢酸エチルで保持して、シリカゲル (24 g RediSep Gold カラム) で精製した。純生成物を含有する画分をプールし、次いで、濃縮し、黄色固体を得た。この固体を DCM (1 mL) : TFA (0.5 mL) に取り、溶液を 0 に冷却し、この溶液にトリフリン酸 (0.057 mL、0.637 mmol) を加えた。混合物を1時間攪拌し、次いで、真空で濃縮した。残渣を酢酸エチルに取り、1N NaOH で洗浄し、0.5M クエン酸で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、次いで、真空で濃縮した。残渣を、20 CV のヘキサン中 0~60% 酢酸エチルを用い、次いで、10 CV の 60% 酢酸エチルでのシリカゲルクロマトグラフィー (24 g RediSep Gold カラム) に付した。純生成物を含有する画分をプールし、次いで、真空で濃縮し、N-(1-((6P)-3-(4-クロロ-1-メチル-3-(メチルスルホンアミド)-1H-インダゾール-7-イル)-4-オキソ-7-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)-3,4-ジヒドロピリド [2,3-d] ピリミジン-2-イル)-2-(3,5-ジフルオロフェニル)エチル)-2-((3bS,4aR)-3-(ジフルオロメチル)-5,5-ジフルオロ-3b,4,4a,5-テトラヒドロ-1H-シクロプロパ [3,4] シクロペンタ [1,2-c] ピラゾール-1-イル)アセトアミド (0.078 g、0.081 mmol、収率 38.0%) を褐色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, メタノール-d₄) ppm 8.46 - 8.53 (m, 1 H) 7.28 - 7.34 (m, 1 H) 7.19 - 7.24 (m, 1 H) 7.03 - 7.09 (m, 1 H) 6.53 - 6.81 (m, 4 H) 4.80 (dd, J=5.96, 2.98 Hz, 3 H) 4.49 - 4.62 (m, 2 H) 3.58 - 3.62 (m, 3 H) 3.40 - 3.49 (m, 1 H) 3.22 - 3.24 (m, 3 H) 3.06 - 3.14 (m, 1 H) 2.80 - 2.89 (m, 2 H) 2.37 - 2.44 (m, 2 H) 1.32 - 1.37 (m, 1 H) 0.96 - 1.01 (m, 1 H)。LCMS 分析法：カラム = Acquity UPLC BEH C18、2.1 × 100 mm、1.7 μm 粒子；注入量 = 5.00 μL；流速 = 0.80 mL / 分；溶媒 A = 95:5 水: MeCN w / 0.1% v / v ギ酸；溶媒 B = 5:95 水: MeCN w / 0.1% v / v ギ酸；溶出プロファイル = 開始 B %: 0、終了 B %: 100、グラジエント時間：3.5 分、次いで B 100% で 1 分間保持；検出波長 1 = 220 nm、波長 2 = 254 nm。LCMS 保

20

30

40

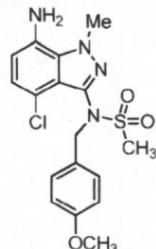
50

持時間 = 3 . 0 9 7 分; m/z = 918.05 [M+1]⁺。

【0048】

N - (7 - アミノ - 4 - クロロ - 1 - メチル - 1H - インダゾール - 3 - イル) - N - (4 - メトキシベンジル) メタンスルホンアミドの代替製造

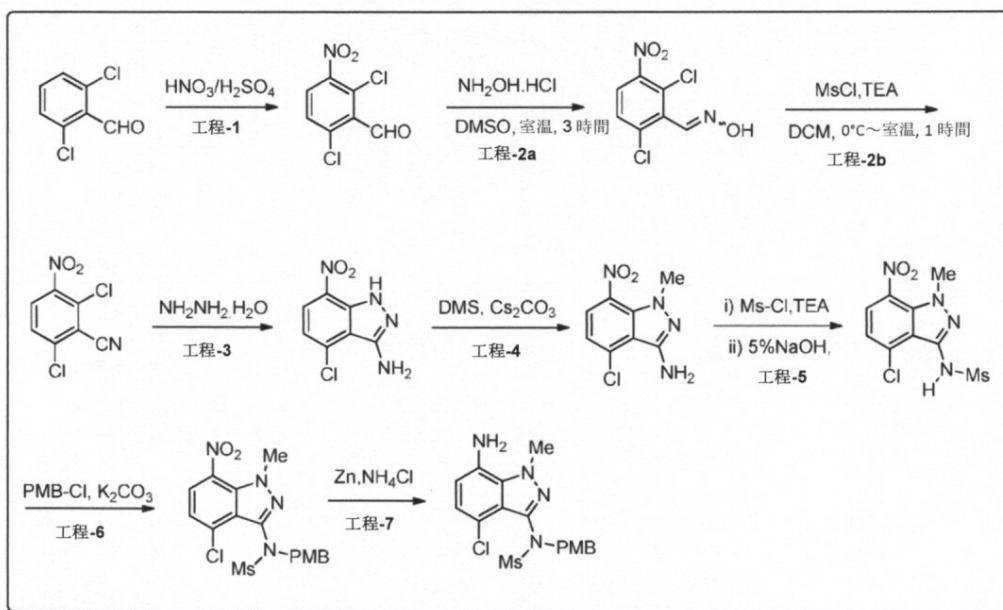
【化22】



10

合成スキーム:

【化23】



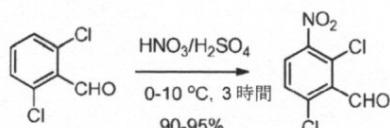
20

30

【0049】

工程1：2,6-ジクロロ-3-ニトロベンズアルデヒドの製造

【化24】



40

0 ~ 5 の丸底フラスコ中の硫酸 (H₂SO₄) (5 . 6 3 L、4 . 5 V) の溶液に、2 , 6 - ディクロロベンズアルデヒド (1 . 2 5 k g、7 . 1 0 m o l、1 . 0 当量) を15 未満で少量ずつ加えた。反応生成物を0 ~ 5 で30分間攪拌した。新たに製造したニトロ化混合物 [0 で濃縮H₂SO₄ (0 . 4 2 5 L、0 . 3 4 V) および7 0 % HNO₃ (0 . 8 5 k g、1 3 . 4 9 m o l、1 . 3 0 当量) から製造] の溶液を、1 0 未満で上記の反応混合物に加えた [注：反応はわずかに発熱性である (3 ~ 6) ため、より低い温度での添加が好ましい]。反応混合物を5 ~ 1 0 で2 ~ 3 時間攪拌した。反応の

50

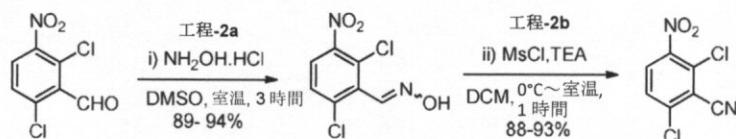
完了後 (TLCによりモニタリング)、これを25未満で、氷冷水(18.75L、15V)でクエンチした。次いで、反応生成物を室温に温め、2時間攪拌した。固体を濾過により単離し、次いで、水(2.5L、2.0V)で洗浄した。真空濾過を60~90分間維持することにより、バルク残留水を固体から除去した。粗湿固体を、最初に空気雰囲気で乾燥させ、次いで、50~55の熱風炉で10~12時間乾燥させ(水分含量が5.0%以下となるまで)、乾燥標題生成物、2,6-ジクロロ-3-ニトロベンズアルデヒド(1.44kg、収率92%)を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 10.44 (s, 1H), 7.88 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.56 (d, J = 8.8 Hz, 1H)。

【0050】

工程2：2,6-ジクロロ-3-ニトロベンゾニトリルの製造

10

【化25】



(工程2a) 丸底フラスコ中のDMSO(5.9L、5.0V)の溶液に、室温で、2,6-ジクロロ-3-ニトロベンズアルデヒド(1.17kg、5.31mol、1.0当量)を加えた。室温で30分間攪拌した後、塩酸ヒドロキシルアミン(0.63kg、9.04mol、1.70当量)を加え、反応生成物を室温で3時間攪拌した。反応の完了後(TLCによりモニタリング)、温度を30未満に維持するのに十分な速度で加えた氷冷水(18.0L、15.0V)の添加により、反応生成物をクエンチした(観察:水の添加時に固体が形成された)。反応生成物を室温で60~90分間攪拌した。固体を濾過により単離し、水(2.5L、2.0V)で洗浄し、次いで、アセトンおよびヘキサンの混合物(6.0L、比1:1)で洗浄した。真空濾過を60~90分間維持することにより、バルク残留水を固体から除去した。湿固体を、最初に風乾させ、次いで、50~55の熱風炉で10~12時間最後に乾燥させ(水分含量が1.0%以下となるまで)、乾燥目的生成物、2,6-ジクロロ-3-ニトロベンズアルデヒドオキシム(1.22kg、収率92%)を灰白色固体として得た。粗生成物(10~20%の2,6-ジクロロ-3-ニトロベンゾニトリルを含有)を、さらに精製することなく次の工程に直接使用した。

20

【0051】

(工程2b) 0~5のDCM(9.04L、8.0V)中、粗オキシム(上記で製造、1.13kg、4.80mol、1.0当量)の攪拌溶液に、トリエチルアミン('TEA'、1.02kg、10.09mol、2.1当量)を加えた。5分間攪拌した後、塩化メタンスルホニル(0.60kg、5.29mol、1.1当量)を15で徐々に加えた(観察:添加中に発熱が認められた)。次いで、反応生成物を室温で30~45分間攪拌した。反応の完了後(反応の進行をTLCによりモニタリングした;移動相:ヘキサン中20%酢酸エチル)、反応生成物を水(6.78L、6.0V)で希釈し、有機層を分離し、水層をDCM(3.4L、3.0V)で抽出した。合わせた有機層をブライン(5.65L、5.0V)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、真空下で濃縮した。得られた粗固体を室温で、ヘキサン(4.50L、4.0V)で摩碎した。湿材料を50~55の熱風炉で5~6時間乾燥させ、乾燥生成物、2,6-ジクロロ-3-ニトロベンゾニトリル(0.95kg、収率91%)を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.07 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 8.8 Hz, 1H)。

30

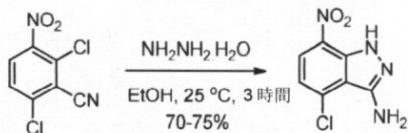
【0052】

工程3：4-クロロ-7-ニトロ-1H-インダゾール-3-アミンの製造

40

50

【化26】

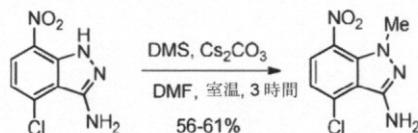


15 ~ 20 のエタノール (7.5 L、10.0 V) 中、2,6-ジクロロ-3-ニトロベンゾニトリル (750.0 g、3.45 mol、1.0 当量) の攪拌溶液に、反応生成物を 25 未満に維持しながら、ヒドラジン水和物 (519.0 g、10.36 mol、3.0 当量) を徐々に加えた (観察: 添加はわずかに発熱性であり、添加時に固体の形成が始まる)。反応混合物の温度を室温まで徐々に上げ、次いで、混合物を 3 時間攪拌した (観察: この時間中、固体の量が増加する)。反応の完了後 (TLCによりモニタリング)、混合物を水 (7.5 L、10.0 V) で希釈し、室温で 1 時間さらに攪拌した。固体を濾過により単離し、次いで、水 (2.25 L、3.0 V) で洗浄した。湿固体を、アセトン (1.875 L、2.5 V) およびヘキサン (1.875 L、2.5 V) の 1:1 の比の混合物で洗浄した。真空濾過を 60 ~ 90 分間維持することにより、バルク残留水を固体から除去した。湿固体を 50 の熱風炉で 7 ~ 8 時間最後に乾燥させ (水分含量が 1.5 % 未満に達するまで)、乾燥生成物、4-クロロ-7-ニトロ-1H-インダゾール-3-アミン (549.0 g、収率 75 %) を赤れんが色の固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 10.36 (bs, 1H), 8.20 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.73 (bs, 2H)。

【0053】

工程 4 : 4-クロロ-1-メチル-7-ニトロ-1H-インダゾール-3-アミンの製造

【化27】



5 ~ 10 の DMF (5.0 L、10.0 V) 中、4-クロロ-7-ニトロ-1H-インダゾール-3-アミン (500 g、0.42 mol、1.0 当量) の攪拌溶液に、反応生成物を 10 未満に維持しながら、炭酸セシウム (Cs₂CO₃) (1.91 kg、5.88 mol、2.5 当量) を徐々に加えた。5 ~ 10 分間攪拌した後、反応生成物を 10 未満に維持しながら、硫酸ジメチル (326.3 g、2.59 mol、1.1 当量) を加えた (注: より好ましい位置選択性を得るために、緩徐な添加が好ましい)。次いで、反応温度を室温まで徐々に上げ、攪拌を同じ温度でさらに 2 時間続けた。反応の完了後 (TLCによりモニタリング)、氷冷水 (15.0 L、30.0 V) の添加により反応生成物をクエンチし、次いで、得られた混合物を室温で 6 ~ 8 時間攪拌した。固体を濾過により単離し、次いで、水 (1.5 L、3.0 V) で洗浄した。湿固体を IPA (1.5 L、3.0 V)、次いでヘキサン (1.0 L、2.0 V) で洗浄した。真空濾過を 60 ~ 90 分間維持することにより、バルク残留水を固体から除去した。湿固体を 50 の熱風炉で 7 ~ 8 時間乾燥させた (水分含量が 1.0 % 未満となるまで)。単離された材料、4-クロロ-1-メチル-7-ニトロ-1H-インダゾール-3-アミン (319.0 g、収率 60 %) を、さらに精製することなく次の工程に使用した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.97 (d, J = 8.32 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 4.63 (bs, 2H), 3.96 (s, 3H)。

【0054】

10

20

20

30

40

50

工程 5 : N - (4 - クロロ - 1 - メチル - 7 - ニトロ - 1 H - インダゾール - 3 - イル)
メタンスルホンアミドの製造

【化 2 8】



10

(工程 5 a) 0 ~ 5 の D C M (6 . 2 5 L、1 0 . 0 V) 中、4 - クロロ - 1 - メチル - 7 - ニトロ - 1 H - インダゾール - 3 - アミン (6 2 5 . 0 g、2 . 7 6 m o l、1 . 0 当量) の溶液に、トリエチルアミン (T E A) (8 3 7 . 0 g、8 . 2 7 m o l、3 . 0 当量) を加え、次いで、4 - ジメチルアミノピリジン (D M A P) (2 0 . 6 0 g、0 . 1 6 5 m o l、0 . 0 6 当量) を加えた。反応生成物を 5 ~ 1 0 分間攪拌し、次いで、反応生成物を 1 0 未満に維持しながら、塩化メタンスルホニル (M s C l) (7 9 0 . 0 g、6 . 8 9 m o l、2 . 5 当量) を徐々に加えた。反応混合物を室温に温め、次いで、1 . 5 ~ 2 . 0 時間攪拌した。反応の完了後 (T L C によりモニタリング)、混合物を水 (6 . 2 5 L、1 0 . 0 V) で希釈し、次いで、室温で 1 5 分間攪拌した。有機層を分離し、水層を D C M (6 . 2 5 L、1 0 . 0 V) で抽出した。合わせた有機層をブライン (1 . 2 5 L、2 . 0 V) で洗浄し、N a 2 S O 4 で乾燥させ、濃縮し、粗固体を得た。固体を室温で、ヘキサン (1 . 2 5 L、2 . 0 V) で摩碎し、中間体、N - (4 - クロロ - 1 - メチル - 7 - ニトロ - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - N - (メチルスルホニル) メタンスルホンアミドを得、これを次の工程に直接使用した。

20

【0 0 5 5】

(i i) 室温のエタノール (1 0 . 5 L、2 0 . 0 V) 中、N - (4 - クロロ - 1 - メチル - 7 - ニトロ - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - N - (メチルスルホニル) メタンスルホンアミド (上記で製造) の攪拌溶液に、5 % N a O H 水溶液 (4 . 3 8 L、7 . 0 V) を徐々に加えた [注 : 滴下漏斗による緩徐な添加が好ましい]。反応生成物を同じ温度で 3 時間攪拌した。反応の完了後 (T L C によりモニタリング) [T L C 分析のためのサンプル調製 : 約 1 . 0 m l のサンプルを 2 . 0 N H C l 水溶液で酸性化し、p H : 2 ~ 3 に到達させ、それを酢酸エチルで抽出し、T L C により有機層を分析する]、反応生成物を 0 ~ 5 に冷却し、反応温度を 1 0 未満に維持しながら、2 . 0 N H C l 水溶液 (3 . 1 3 L、5 . 0 V) の添加により、p H を 2 ~ 3 に調整した [注 : H C l の添加時に沈殿が生じ、攪拌により増加した]。反応混合物を室温に温め、次いで、1 . 5 ~ 2 . 0 時間攪拌した。得られた固体を濾過により単離し、次いで、水 (1 . 2 5 L、2 . 0 V) で洗浄し、次いで、ヘキサン (1 . 2 5 L、2 . 0 V) で洗浄した。真空濾過を 6 0 ~ 9 0 分間維持することにより、バルク残留水を固体から除去した。湿材料を 5 0 の熱風炉で 6 ~ 7 時間乾燥させ (水分含量が 1 . 0 % 未満となるまで)、乾燥生成物、N - (4 - クロロ - 1 - メチル - 7 - ニトロ - 1 H - インダゾール - 3 - イル) メタンスルホンアミド (6 4 0 . 0 g、7 6 %) を黄色固体として得た。¹H N M R (4 0 0 M H z, C D C l 3): 8.05 (d, J = 8.32 H z, 1 H), 7.32 (b s, 1 H), 7.17 (d, J = 8.28 H z, 1 H), 4.15 (s, 3 H), 3.45 (s, 3 H)。

30

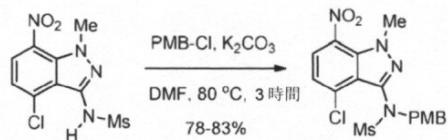
【0 0 5 6】

工程 6 : N - (4 - クロロ - 1 - メチル - 7 - ニトロ - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - N - (4 - メトキシベンジル) メタンスルホンアミドの製造

40

50

【化 2 9】

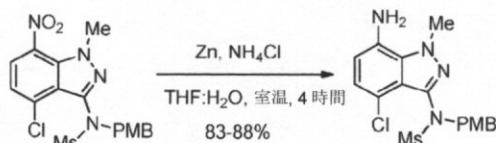


室温のDMF (6.35 L、10.0 V) 中、N-(4-クロロ-1-メチル-7-ニトロ-1H-インダゾール-3-イル)メタンスルホンアミド (635.0 g、2.08 mol、1.0当量) および 1-(クロロメチル)-4-メトキシベンゼン (359.0 g、2.30 mol、1.1当量) の混合物に、炭酸カリウム (374.7 g、2.70 mol、1.3当量) を加えた。反応混合物を 80~90 に加熱し、その温度で 3 時間維持した。反応の完了後 (TLC によりモニタリング)、混合物を氷冷水 (19.05 L、30.0 V) に注いだ [注：生成物が沈殿する際の凝集を避けるために、激しく攪拌しながら徐々にクエンチすることが好ましい]。得られた固体を濾過により単離し、水 (1.90 L、3.0 V) で洗浄し、次いで、固体をヘキサン (1.27 L、2.0 V) で洗浄した。真空濾過を 60~90 分間維持することにより、バルク残留水を固体から除去した。単離された固体を酢酸エチル (12.7 L、20.0 V) に溶解し、木炭を加えた (63.5 g)。混合物を 60~70 に加熱し、次いで、その温度で 30~45 分間攪拌した。混合物を、熱いままで (40~50)、セライトのパッドで濾過し、次いで、セライトパッドを酢酸エチル (3.17 L、5.0 V) で抽出した。合わせた濾液を 50 未満で、減圧下で濃縮乾固した。酢酸エチル (0.635 L、1.0 V) を室温で固体に加えた。得られた固体懸濁液を 30 分間攪拌した。固体を濾過により単離し、次いで、ヘキサン (1.27 L、2.0 V) で洗浄した。真空濾過を 45~60 分間維持することにより、残留水を固体から除去し、生成物 N-(4-クロロ-1-メチル-7-ニトロ-1H-インダゾール-3-イル)-N-(4-メトキシベンジル)メタンスルホンアミド (705.0 g、収率 80%) を黄色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.99 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.68 Hz, 2H), 7.19 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 8.44 Hz, 2H), 4.95-4.76 (m, 2H), 4.17 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.01 (s, 3H)。

【0057】

工程 7 : N-(7-アミノ-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)-N-(4-メトキシベンジル)メタンスルホンアミドの製造

【化 3 0】



室温のTHF (3.50 L、10.0 V) および水 (7.0 L、20.0 V) の混合物中、亜鉛粉末 (540.0 g、8.23 mol、10.0 当量) の攪拌懸濁液に、塩化アンモニウム (NH₄Cl) (449.0 g、8.23 mol、10.0 当量) を加えた。この混合物に、THF (7.0 L、20.0 V) 中、N-(4-クロロ-1-メチル-7-ニトロ-1H-インダゾール-3-イル)-N-(4-メトキシベンジル)メタンスルホンアミド (350 g、0.823 mol、1.0 当量) を加えた。反応混合物を室温で 3~4 時間攪拌した。反応の完了後 (工程内 TLC / HPLC によりモニタリング)、混合物を酢酸エチル (3.5 L、10.0 V) および水 (1.12 L、2.5 V) で希釈し

10

20

30

40

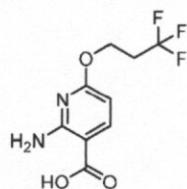
50

た。混合物を15分間攪拌した。反応生成物をセライトベッドのパッドで濾過し、酢酸エチル(1.75L、5.0V)で洗浄した。二相性の濾液を回収し、相を分離した。水層を酢酸エチル(3.50L、10.0V)で抽出した。合わせた有機層をブライン(3.50L、10V)で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、次いで、真空で濃縮し、粗固体を得た。粗生成物にMTBE(3.25L、10V)を加え、懸濁液を室温で30分間攪拌した。固体を濾過により単離した。真空濾過を30~45分間維持することにより、バルク残留水を固体から除去した。湿生成物を熱風炉(50)で2時間乾燥させ、標題生成物、N-(7-アミノ-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)-N-(4-メトキシベンジル)メタンスルホンアミド(276.0g、収率85%)を灰白色固体として得た。 ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): 7.29-7.26(m, 2H), 6.86-6.79(m, 2H), 6.42(d, $J = 7.80\text{ Hz}$, 1H), 4.99-4.70(m, 2H), 4.25(s, 3H), 3.77(s, 5H), 2.98(s, 3H)。

【0058】

2-アミノ-6-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸の製造

【化31】

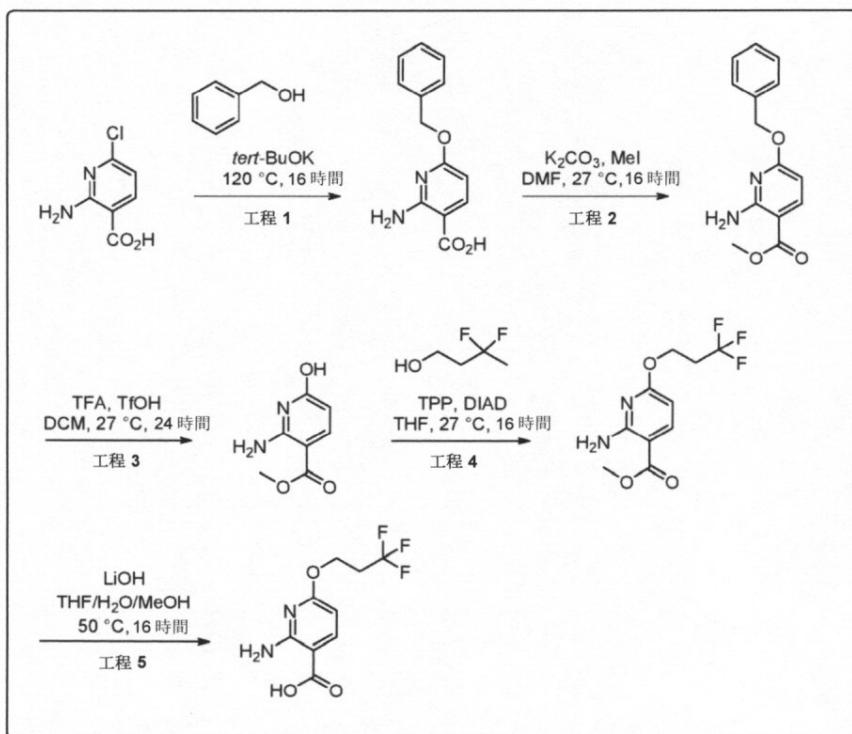


10

20

合成スキーム：

【化32】



30

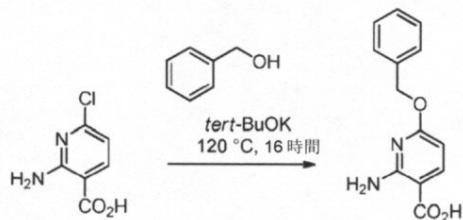
40

【0059】

工程1：2-アミノ-6-(ベンジルオキシ)ニコチン酸の製造

50

【化33】



10

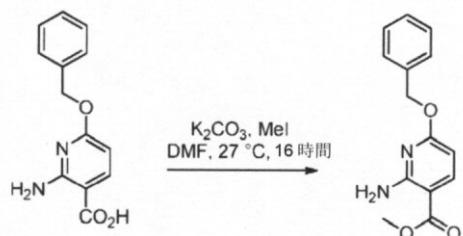
26、N₂雰囲気下で、ベンジルアルコール(1400mL、13464mmol)中、2-アミノ-6-クロロニコチン酸(200g、1159mmol)の攪拌溶液に、カリウムtert-ブトキシド(390g、3477mmol)を加えた。反応混合物を120に加熱し、その温度で16時間攪拌した。反応の進行をTLCによりモニタリングした(SiO₂、DCM中10%MeOH、R_f=0.5)。完了時、反応混合物を水(3L)で希釈し、ジエチルエーテル(2×1000mL)で抽出した。有機層を分離し、クエン酸水溶液(0.5M)を用いて、水層をpH4に酸性化した。沈殿した固体を濾過により回収し、次いで、減圧下で乾燥し、2-アミノ-6-(ベンジルオキシ)ニコチン酸を灰白色固体(220g、収率=72%)として得た。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) = 12.56-12.32(m, 1H), 7.97-7.91(m, 1H), 7.52-7.41(m, 2H), 7.38-7.11(m, 5H), 6.03(d, J=8.5Hz, 1H), 5.39-5.31(m, 2H)。LCMS純度=93%; m/z=245.29(M+H)。

20

【0060】

工程2：2-アミノ-6-(ベンジルオキシ)ニコチン酸メチルの製造

【化34】



30

26、N₂雰囲気下で、DMF(2.5L)中、2-アミノ-6-(ベンジルオキシ)ニコチン酸(220g、901mmol)の攪拌溶液に、炭酸カリウム(373g、2702mmol)およびヨードメタン(0.282L、4504mmol)を徐々に加えた。反応混合物を27で16時間攪拌した。反応の進行をTLCによりモニタリングした(SiO₂、40%EtOAc/Pet.、R_f=0.6)。完了時、反応混合物を水(5L)で希釈した。沈殿した固体を濾過により単離し、次いで、真空下で乾燥させ、2-アミノ-6-(ベンジルオキシ)ニコチン酸メチルを灰白色固体(220g、収率=92%)として得た。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) = 8.00(d, J=8.4Hz, 1H), 7.42-7.40(m, 2H), 7.39-7.35(m, 2H), 7.34-7.31(m, 1H), 6.01(d, J=8.4Hz, 1H), 5.33(s, 2H), 3.84(s, 3H)。LCMS純度=97%、m/z=259.30(M+H)。

40

【0061】

工程3：2-アミノ-6-ヒドロキシニコチン酸メチルの製造

50

【化35】



10

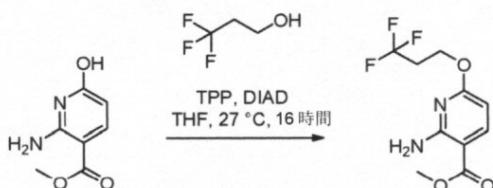
26、N₂雰囲気下で、DCM(500mL)中、2-アミノ-6-(ベンジルオキシ)ニコチン酸メチル(50g、190mmol)の攪拌溶液に、TFA(800mL)およびトリフリン酸(25mL、282mmol)を徐々に加えた。反応混合物を26で16時間攪拌した。反応の進行をTLCによりモニタリングした(SiO₂、EtOAc、Rf = 0.2)。完了時、揮発物を真空下で除去し、粗生成物を得た。この材料をジエチルエーテル(3×1000mL)で摩碎し、次いで、沈殿した固体を濾過により単離した。この固体に水(2L)を加え、次いで、混合物を5時間とした。固体を濾過により回収し、水で洗浄した。固体を真空下で乾燥させ、2-アミノ-6-ヒドロキシニコチン酸メチルを灰白色固体(25g、収率=78%)として得た。¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆) = 10.92-10.76(m, 1H), 7.65(d, J = 9.5 Hz, 1H), 7.43-6.87(m, 2H), 5.51(d, J = 9.5 Hz, 1H), 3.69(s, 3H)。LCMS純度 = 99.32%; m/z = 169.32(M+H)。生成物中のTFAおよびトリフリン酸の非存在を、¹⁹F-NMRにより確認した。生成物を、さらに精製することなく次の工程に直接使用した。

20

【0062】

工程4：2-アミノ-6-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸メチルの製造

【化36】



30

27、窒素雰囲気下で、THF(1000mL)中、2-アミノ-6-ヒドロキシニコチン酸メチル(50g、297mmol)の攪拌溶液に、トリフェニルホスフィン(156g、595mmol)を加えた。反応生成物を0℃に冷却し、反応生成物にアゾジカルボン酸ジイソプロピル(「DIAZ」116mL、595mmol)を滴下した。溶液を30分間攪拌した。0℃の溶液に、THF(200mL)中、3,3,3-トリフルオロプロパン-1-オール(52.4mL、595mmol)の溶液を加えた。次いで、反応生成物を27℃に徐々に温め、次いで、その温度で16時間攪拌した。反応の進行をTLCによりモニタリングした(SiO₂、10%EtOAc/Pet. Rf = 0.5)。完了時、反応混合物を水(500mL)で希釈し、EtOAc(2×500mL)で抽出した。合わせた有機物を水(500mL)、次いでブライン溶液(500mL)で洗浄した。有機層を無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、次いで、減圧下で濃縮し、粗生成物を黄色半固体(100g)として得た。この材料を、pet中、5~10%EtOAcで溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。所望の生成物を含有する画分をプールし、減圧下で濃縮し、2-アミノ-6-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸メチルを黄色液体(50g、収率60%)として得た。¹H-NMR(400MHz,

40

50

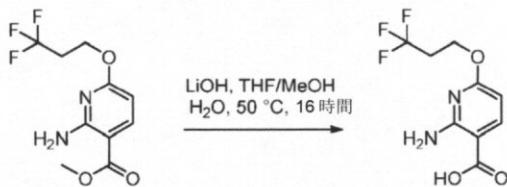
, CDCl₃) : 8.01 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.21-6.85 (brs, 1H), 6.04 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.50 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 2.63-2.55 (m, 2H)。LCMS分析法：カラム = Acquity BEH C18 (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm)；移動相A = 水中0.05%ギ酸；移動相B = CAN中0.05%ギ酸；グラジエント = 時間(分) / %B : 0 / 3、0.4 / 3、2.5 / 9.8、3.4 / 9.8、3.5 / 3、4 / 3；カラム温度 = 35；流速 = 0.6 mL/分。LCMSの結果：保持時間 = 2.03分；観測イオン = 265.15 (M + H)；LCMS純度 = 93%。

【0063】

工程5：2-アミノ-6-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸の製造

【化37】

10



0、窒素雰囲気下で、テトラヒドロフラン (THF) (500 mL)、メタノール (150 mL) および水 (80 mL) 中、2-アミノ-6-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸メチル (50 g, 189 mmol) の攪拌溶液に、水酸化リチウム一水和物 (22.66 g, 946 mmol) を加えた。反応混合物を 50 °C で 16 時間攪拌した。反応の進行を TLC によりモニタリングした (SiO₂、50% EtOAc / Pet. Rf = 0.3)。完了時、反応混合物を減圧下で濃縮し、水性残渣を得た。次いで、この残渣を 1 N HCl の添加により pH 4 に酸性化した。得られた沈殿を濾過により回収し、水 (500 mL)、次いで n-ヘキサン (400 mL) で洗浄した後、乾燥させ、2-アミノ-6-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸を灰白色固体 (45 g、収率 90%) として得た。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 12.47 (brs, 1H), 7.93 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.35 (brs, 2H), 5.98 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.44 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 2.84-2.73 (m, 2H)。生成物を、さらに精製することなく次の工程に直接使用した。

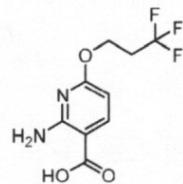
20

【0064】

2-アミノ-6-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸の代替製造

【化38】

30

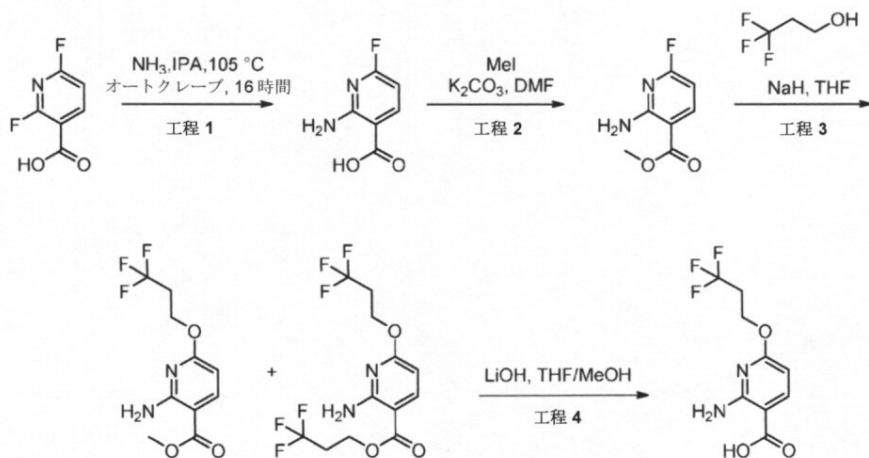


40

合成スキーム：

50

【化39】



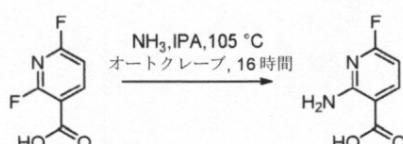
10

【0065】

工程1：2-アミノ-6-フルオロニコチン酸の製造

【化40】

20



0 の水（「H₂O中25%NH₃」、1L、4V）およびイソプロパノール（6.5 L、26V）中、NH₃の混合物にアンモニアガスを1時間スパージした。オートクレーブ（25L）中の混合物に、2,6-ジフルオロニコチン酸（250g、1571mmol）を加えた。次いで、反応混合物を105で20時間攪拌した。反応の進行をTLCによりモニタリングした（SiO₂、80%EtOAc/Pet. Rf = 0.3）。完了時、反応混合物を20に放冷し、次いで、20未満で、減圧下で濃縮し、4~6V（1.5L）の容量とした。残渣を水（5L）に溶解し、2N HCl（700mL）の添加によりpH2~3に酸性化し、次いで、2時間攪拌した。得られた沈殿を濾過により回収し、水（4000mL）、次いでn-ヘキサン（5000mL）で洗浄した後、50の真空オーブンで乾燥させ、2-アミノ-6-フルオロニコチン酸を灰白色固体（250g、収率92%）として得た。この生成物を、同じ方法により製造した他のバッチの生成物と混合し、2000gの合わせた生成物を得た。トルエン（10L）に固体を懸濁させ、次いで、蒸留によりトルエンを除去することにより、残留溶媒を固体から除去した。得られた固体を60の真空オーブンで7日間乾燥させ、2-アミノ-6-フルオロニコチン酸を灰白色固体（1.6kg、収率77%）として得た。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : δ 12.94 (brs, 1H), 8.17 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 7.56 (brs, 2H), 6.25 (dd, J = 8.2, 2.8 Hz, 1H)。LCMS法：カラム = Acuity BEH C18 (50mm × 2.1mm、1.7μm)；移動相A = 水中0.05%ギ酸；移動相B = アセトニトリル中0.05%ギ酸；グラジエント = 時間(分) / %B : 0 / 3、0.4 / 3、2.5 / 9.8、3.4 / 9.8、3.5 / 3、4 / 3；カラム温度 = 35；流速 = 0.6 mL / 分。LCMSの結果：保持時間 = 1.24分；観測イオン = 157.04 (M + H)；LCMS純度 = 96%。

30

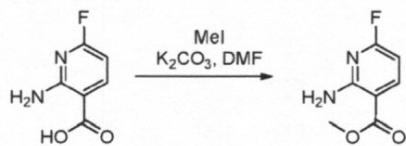
【0066】

工程2：2-アミノ-6-フルオロニコチン酸メチルの製造

40

50

【化41】

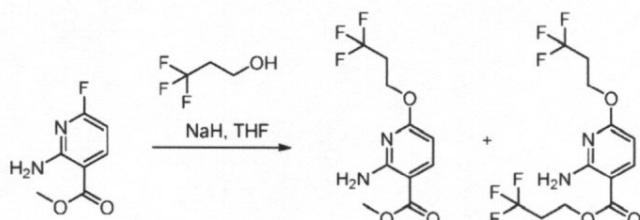


DMF (1500 mL) 中、2 - アミノ - 6 - フルオロニコチン酸 (150 g、961 mmol) および炭酸カリウム (398 g、2882 mmol) の攪拌溶液に、ヨードメタン (300 mL、4804 mmol) を加えた。反応混合物を窒素雰囲気下で、27 10 時間攪拌した。反応の進行を TLC によりモニタリングした (SiO₂、30% EtOAc / Pet. Rf = 0.7)。完了時、反応混合物を氷冷水 (5000 mL) の添加によりクエンチした。得られた沈殿を濾過により回収し、水 (2000 mL)、次いで n - ヘキサン (1000 mL) で洗浄した後、乾燥させ、2 - アミノ - 6 - フルオロニコチン酸メチルを褐色固体 (120 g、収率 70%) として得た。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) : 8.20 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 7.54 (brs, 2H), 6.29 (dd, J = 8.4, 2.8 Hz, 1H), 3.82 (m, 3H)。LCMS 法：カラム = Acuity BEH C18 (50 mm × 2.1 mm、1.7 μm)；移動相 A = 水中 0.05% ギ酸；移動相 B = アセトニトリル中 0.05% ギ酸；グラジエント = 時間 (分) / % B : 0 / 3、0.4 / 3、2.5 / 9.8、3.4 / 9.8、3.5 / 3、4 / 3；カラム温度 = 35；流速 = 0.6 mL / 分。LCMS の結果：保持時間 = 1.55 分；観測イオン = 171.07 (M + H)；LCMS 純度 = 96%。生成物を、さらに精製することなく次の工程に直接使用した。

【0067】

工程 3 : 2 - アミノ - 6 - (3,3,3 - トリフルオロプロポキシ) ニコチン酸メチルおよび 2 - アミノ - 6 - (3,3,3 - トリフルオロプロポキシ) ニコチン酸 3,3,3 - トリフルオロプロピルの製造

【化42】



0、窒素雰囲気下で、THF (500 mL) 中、2 - アミノ - 6 - フルオロニコチン酸メチル (25 g、147 mmol) および 3,3,3 - トリフルオロプロパン - 1 - オール (15.54 mL、176 mmol) の攪拌溶液に、水素化ナトリウム (油中 60% 分散体、8.82 g、220 mmol) を少量ずつ加えた。反応混合物を 0 40 度 30 分間攪拌し、次いで、27 に徐々に温め、その温度で 16 時間攪拌した。反応の進行を TLC によりモニタリングした (SiO₂、10% EtOAc / Pet. Rf = 0.5)。完了時、反応混合物を 0 に冷却し、飽和 NH₄Cl 水溶液 (300 mL) でクエンチした。混合物を EtOAc (2 × 500 mL) で抽出した。合わせた有機物をブライン溶液 (200 mL) で洗浄し、無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、次いで、減圧下で濃縮し、2 - アミノ - 6 - (3,3,3 - トリフルオロプロポキシ) ニコチン酸メチルを黄色液体 (40 g) として得た。エステル交換反応の副生成物 2 - アミノ - 6 - (3,3,3 - トリフルオロプロポキシ) ニコチン酸 3,3,3 - トリフルオロプロピルの形成も、反応において認められた。LCMS 法：カラム = Acuity BEH C18 (50 mm × 2.1 mm、1.7 μm)；移動相 A = 水中 0.05% ギ酸；移動相 B = アセトニトリル中 0.05% ギ酸；グラジエント = 時間 (分) / % B : 0 / 3、0.4 / 3、2.5 / 9.8、3.4 / 9.8、3.5 / 3、4 / 3；カラム温度 = 35；流速 = 0.6 mL / 分。LCMS の結果：保持時間 = 1.55 分；観測イオン = 171.07 (M + H)；LCMS 純度 = 96%。生成物を、さらに精製することなく次の工程に直接使用した。

10

20

30

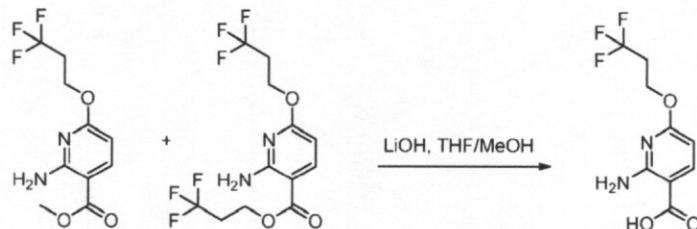
40

50

$\times 2$. 1 mm、1 . 7 um) ; 移動相A = 水中0 . 05% ギ酸 ; 移動相B = アセトニトリル中0 . 05% ギ酸 ; グラジエント = 時間(分) / %B : 0 / 97、0 . 4 / 97、2 . 5 / 2、3 . 4 / 2、3 . 5 / 97、4 . 0 / 97 ; カラム温度 = 35 ; 流速 = 0 . 6 mL / 分。LCMSの結果：保持時間 = 2 . 04および2 . 22分；観測イオン = 265 . 18および347 . 29(M + H) ; LCMS純度 = 57%の2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸メチルおよび15%の2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸3 , 3 , 3 - トリフルオロプロピル。この粗生成物混合物を、同じ方法により製造した粗生成物の2つの他のバッチ(40gおよび50g)と混合した。合わせた材料(130g)を、pet中、10~20% EtOAcで溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。所望の生成物を含有する画分をプールし、減圧下で濃縮し、2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸メチルおよび2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸3 , 3 , 3 - トリフルオロプロピルの6 : 1の混合物を淡黄色液体(100g、収率90%)として得た。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) : 8.02-7.97(m, 1H), 7 . 04-6.48(m, 1H), 6.08-6.03(m, 1H), 4.52-4.47(m, 2H), 3.83(s, 3H), 2.64-2.54(m, 2H)。LCMS法：カラム = Acuity BEH C18(50mm × 2 . 1 mm、1 . 7 um) ; 移動相A = 水中0 . 05% ギ酸 ; 移動相B = アセトニトリル中0 . 05% ギ酸 ; グラジエント = 時間(分) / %B : 0 / 97、0 . 4 / 97、2 . 5 / 2、3 . 4 / 2、3 . 5 / 97、4 . 0 / 97 ; カラム温度 = 35 ; 流速 = 0 . 6 mL / 分。LCMSの結果：保持時間 = 2 . 02および2 . 21分；観測イオン = 264 . 97および346 . 97(M + H) ; LCMS純度 = 66%の2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸メチルおよび11%の2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸3 , 3 , 3 - トリフルオロプロピル。¹⁰²⁰

【0068】

工程4：2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸の製造
【化43】



27、窒素雰囲気下で、テトラヒドロフラン(THF)(800mL)、メタノール(300mL)および水(200mL)中、2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸メチルおよび2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸3 , 3 , 3 - トリフルオロプロピル(6 : 1、100g、310m mol)の攪拌溶液に、水酸化リチウム - 水和物(37 . 2 g、1552mmol)を加えた。反応混合物を50 °Cで8時間攪拌した。反応の進行をTLCによりモニタリングした(SiO₂、50% EtOAc / Pet. Rf = 0 . 3)。完了時、反応混合物を減圧下で濃縮し、次いで、得られた水性残渣を1N HClの添加によりpH 4に酸性化した。得られた沈殿を濾過により回収し、水(2000mL)、次いでn - ヘキサン(1000mL)で洗浄した後、乾燥させ、2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸を灰白色固体(80g、収率97%)として得た。¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆) : 12.47(brs, 1H), 7.93(d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.33(brs, 2H), 5.99(d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.45(t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.83-2.74(m, 2H)。LCMS法：カラム = Acuity BEH C18(50mm × 2 . 1 mm、1 . 7 um) ; 移動相A = 水中0 . 05% ギ酸 ; 移動相B = アセトニトリル中0 . 05% ギ酸 ; グラジエント = 時間(分) / %B : 0 / 97、0 . 4 / 97、2 . 5 / 2、3 . 4 / 2、3 . 5 / 97、4 . 0 / 97 ; カラム温度 = 35 ; 流速 = 0 . 6 mL / 分。LCMSの結果：保持時間 = 2 . 04および2 . 22分；観測イオン = 265 . 18および347 . 29(M + H) ; LCMS純度 = 57%の2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸メチルおよび15%の2 - アミノ - 6 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸3 , 3 , 3 - トリフルオロプロピル。¹⁰²⁰

10

20

30

40

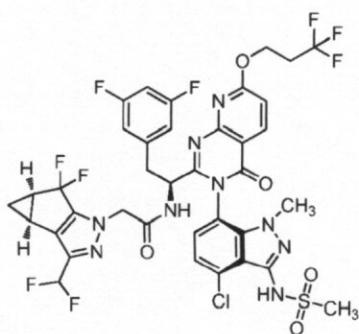
50

= 時間(分) / % B : 0 / 3、0 . 4 / 3、2 . 5 / 9 8、3 . 4 / 9 8、3 . 5 / 3、4 / 3 ; カラム温度 = 35 ; 流速 = 0 . 6 mL / 分。LCMSの結果: 保持時間 = 1 . 73分; 観測イオン = 251 . 17 (M + H) ; LCMS純度 = 94%。生成物を、さらに精製することなく次の工程に直接使用した。

【化44】

例1: N - ((S) - 1 - ((3 P) - 3 - (4 - クロロ - 1 - メチル - 3 - (メチルスルホンアミド) - 1 H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 7 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ) - 3 , 4 - ジヒドロピリド [2 , 3 - d] ピリミジン - 2 - イル) - 2 - (3 , 5 - ジフルオロフェニル) エチル) - 2 - ((3 b S , 4 a R) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - ジフルオロ - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) アセトアミドの代替製造

【化44】

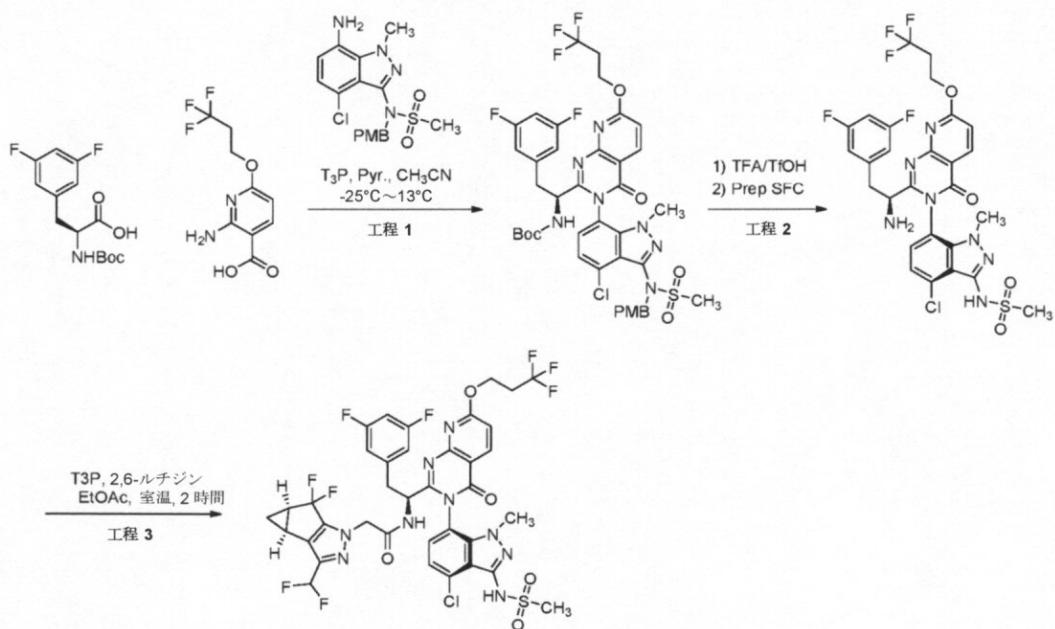


10

20

合成スキーム:

【化45】



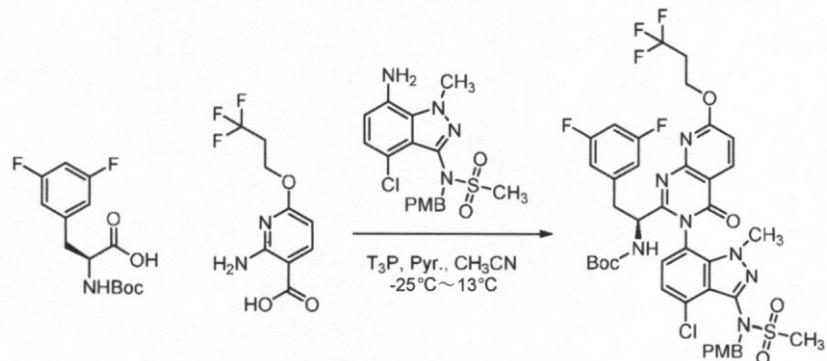
30

40

工程1: (S) - (1 - (3 - (4 - クロロ - 3 - (N - (4 - メトキシベンジル) メチルスルホンアミド) - 1 - メチル - 1 H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 7 - (3 , 3 , 3 - トリフルオロプロポキシ) - 3 , 4 - ジヒドロピリド [2 , 3 - d] ピリミジン - 2 - イル) - 2 - (3 , 5 - ジフルオロフェニル) エチル) カルバミン酸 t e r

50

t - プチルの製造
【化 4 6】



10

- 25 、窒素雰囲気下で、アセトニトリル (600 mL) 中、(S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-3-(3,5-ジフルオロフェニル)プロパン酸 (62.3 g、207 mmol) および2-アミノ-6-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ニコチン酸 (55 g、207 mmol) の攪拌溶液に、ピリジン (41.8 mL、517 mmol) を加えた。得られた混合物に、2,4,6-トリプロピル-1,3,5,2,4,6-トリオキサトリホスフィナン 2,4,6-トリオキシド (「T3P」、EtOAc 中 50% wt、609 mL、1033 mmol) を15分かけて滴下した。この溶液を -25 で1時間攪拌し、次いで、13 に徐々に温め、5時間攪拌した。13 の溶液に、N-(7-アミノ-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)-N-(4-メトキシベンジル)メタンスルホンアミド (82 g、207 mmol) を加えた。次いで、反応生成物を 27 に徐々に温め、次いで、その温度で 16 時間攪拌した。反応の進行を TLC によりモニタリングした (SiO₂、40% EtOAc / Pet. Rf = 0.4)。完了時、反応混合物を減圧下で濃縮した。残渣を EtOAc (500 mL) に溶解した後、クエン酸水溶液 (0.5 M、2 × 500 mL)、次いで NaOH 水溶液 (1 N、3 × 500 mL) で洗浄した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、次いで、減圧下で濃縮し、粗生成物 (180 g) を得、これを pet 中、40~50% EtOAc で溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。所望の生成物を含有する画分をプールし、減圧下で濃縮し、(S)-(1-(3-(4-クロロ-3-(N-(4-メトキシベンジル)メチルスルホンアミド)-1-メチル-1H-インダゾール-7-イル)-4-オキソ-7-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)-3,4-ジヒドロピリド [2,3-d]ピリミジン-2-イル)-2-(3,5-ジフルオロフェニル)エチル)カルバミン酸 tert - プチルを灰白色固体 (85 g、収率 39%) として得た。生成物は、ホモキラルアトロブ異性体 (ジアステレオマー) の混合物である。

LCMS 法：カラム = Acuity BEH C18 (50 mm × 2.1 mm, 1.7 u m)；移動相 A = 水中 0.05% ギ酸；移動相 B = アセトニトリル中 0.05% ギ酸；グラジェント = 時間 (分) / % B : 0 / 3、0.4 / 3、2.5 / 98、3.4 / 98、3.5 / 3、4 / 3；カラム温度 = 35 ；流速 = 0.6 mL / 分。LCMS の結果：保持時間 = 2.46 分；観測イオン = 892.53 (M + H)；LCMS 純度 = 85%。

【0070】

工程 2 : (S)-N-((6P)-7-((3P)-2-(1-アミノ-2-(3,5-ジフルオロフェニル)エチル)-4-オキソ-7-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ピリド [2,3-d]ピリミジン-3(4H)-イル)-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)メタンスルホンアミドの製造

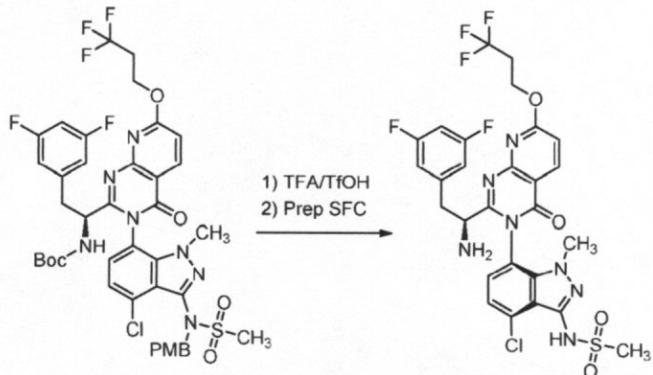
20

30

40

50

【化47】



10

0 の DCM (300 mL) 中、(S)-{(1-(3-(4-クロロ-3-(N-(4-メトキシベンジル)メチルスルホニアミド)-1-メチル-1H-インダゾール-7-イル)-4-オキソ-7-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)-3,4-ジヒドロピリド[2,3-d]ピリミジン-2-イル)-2-(3,5-ジフルオロフェニル)エチル)カルバミン酸tert-ブチル(85 g、95 mmol)の攪拌溶液に、トリフルオロ酢酸(TFA、294 mL、3810 mmol)、次いでトリフリン酸(25.4 mL、286 mmol)を加えた。この溶液を27℃に温め、窒素雰囲気下で1時間攪拌した。反応の進行を TLCによりモニタリングした(SiO₂、80% EtOAc/Pet. R_f = 0.3)。完了時、揮発物を窒素ガスの緩流下で除去した。残渣をEtOAc(1000 mL)に溶解し、2N NaOH(2 × 500 mL)、次いでブライン(500 mL)で洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、次いで、減圧下で濃縮し、粗生成物を得、これをPet中、50~99% EtOAcで溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。所望の生成物を含有する画分をプールし、減圧下で濃縮し、(S)-N-(7-(2-(1-アミノ-2-(3,5-ジフルオロフェニル)エチル)-4-オキソ-7-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ピリド[2,3-d]ピリミジン-3(4H)-イル)-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)メタンスルホニアミドを淡黄色固体(63 g)として得た。材料は、LCMSにより決定された64:26の比のホモキラルアトロブ異性体(ジアステレオマー)の混合物である。この生成物を、以下の同じ手順により製造した生成物の3つの追加のバッチと混合した。合わせた生成物(195 g)をメタノール:アセトニトリル(80:20、1300 mL)に溶解し、この溶液を以下の方法を用いたprep-SFCにより精製した:カラム=(R,R)Whe1k-01(250 × 30 × 5 μ); 溶出剤=CO₂:MeOH(65:35); 流速=90 g/分; 背圧=120 バール; 検出=214 nm(UV); スタック時間=14分; 注入あたりのロード=430 mg。純粋な主要ピークを回収し、減圧下で濃縮し、单一立体異性体(S)-N-(6P)-7-(3P)-2-(1-アミノ-2-(3,5-ジフルオロフェニル)エチル)-4-オキソ-7-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ピリド[2,3-d]ピリミジン-3(4H)-イル)-4-クロロ-1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)メタンスルホニアミドを灰白色固体(113 g、收率63%)として得た。¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.42 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.06 (d, J = 8.8 Hz, 1H) 7.03-6.97 (m, 1H), 6.75-6.70 (m, 2H), 4.73-4.69 (m, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.58-3.52 (m, 1H), 3.28-3.24 (m, 1H), 3.22 (s, 3H), 2.97-2.83 (m, 3H)。LCMS法:カラム=XBridge C18(75 mm × 4.6 mm, 3.5 μm); 移動相A=水中5 mM重炭酸アンモニウム; 移動相B=アセトニトリル; グラジエント=時間(分)/%B:0/5、0.5/5、1.0/15、4.0/98、7.0/98、7.5/5、8.0/5; カラム温度=35℃; 流速=1.3 mL/分。LCMSの結

20

30

40

50

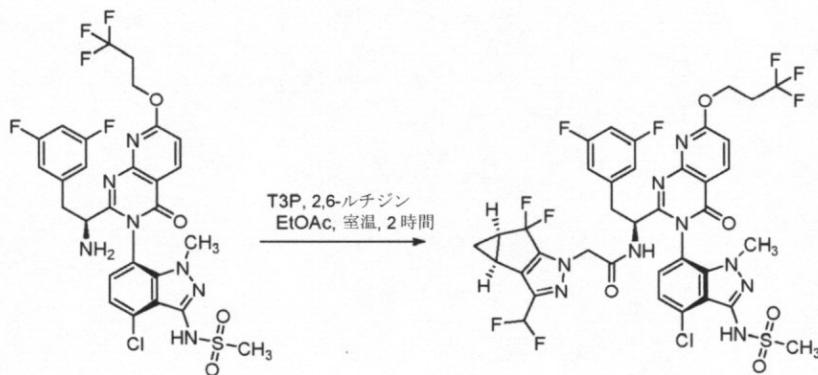
果：保持時間 = 4 . 0 3 分；観測イオン = 6 7 2 . 0 7 (M + H) ; L C M S 純度 = 9 8 % ; H P L C 純度 = 9 8 % ; キラルH P L C 純度 = 9 8 %。

【0071】

工程3 : N - ((S) - 1 - ((3P) - 3 - (4 - クロロ - 1 - メチル - 3 - (メチルスルホンアミド) - 1 H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 7 - (3, 3, 3 - トリフルオロプロポキシ) - 3, 4 - ジヒドロピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 2 - イル) - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル)エチル) - 2 - ((3bS, 4aR) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5, 5 - ジフルオロ - 3b, 4, 4a, 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3, 4] シクロペンタ [1, 2 - c] ピラゾール - 1 - イル)アセトアミドの製造

10

【化48】



20

酢酸エチル (818 mL) 中、(S) - N - ((6P) - 7 - ((3P) - 2 - (1 - アミノ - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル)エチル) - 4 - オキソ - 7 - (3, 3, 3 - トリフルオロプロポキシ)ピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 3 (4H) - イル) - 4 - クロロ - 1 - メチル - 1 H - インダゾール - 3 - イル)メタンスルホンアミド (55 g、82 mmol) および 2 - ((3bS, 4aR) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5, 5 - ジフルオロ - 3b, 4, 4a, 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3, 4] シクロペンタ [1, 2 - c] ピラゾール - 1 - イル)酢酸 (22.70 g、86 mmol) の搅拌溶液に、2, 6 - ルチジン (23.83 mL、205 mmol) を加えた。混合物に、内部温度を 17 から 24 に上昇させた 2, 4, 6 - トリプロピル - 1, 3, 5, 2, 4, 6 - トリオキサトリホスフィナン 2, 4, 6 - トリオキシド (「T3P」、酢酸エチル(ethyl acetate)中 50% w t.) (97 mL、164 mmol) を滴下した。混合物を室温で 2 時間搅拌した。反応を、水 (500 mL) の添加によりクエンチした。相を分配し、有機相を水 (500 mL) で洗浄し、次いで、Na₂SO₄ で乾燥させた。混合物を濾過し、濾液を最初の容量の 1 / 4 に濃縮し、粗生成物を酢酸エチル中の溶液として得た。

30

【0072】

生成物の第 2 のバッチを、以下のように改変した同じ手順に従って製造した：反応を、(S) - N - ((6P) - 7 - ((3P) - 2 - (1 - アミノ - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル)エチル) - 4 - オキソ - 7 - (3, 3, 3 - トリフルオロプロポキシ)ピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 3 (4H) - イル) - 4 - クロロ - 1 - メチル - 1 H - インダゾール - 3 - イル)メタンスルホンアミド (53.4 g、79 mmol) を用いて実施し、総ての他の試薬の量をそれに合うように調整した。MgSO₄ で乾燥させる前に、ブライン (300 mL) での洗浄によりワークアップを完了した。

40

【0073】

粗生成物を合わせ、次いで、セライトに吸着させた。得られた粉末を、ヘキサン中 30 ~ 85% 酢酸エチルで溶出するシリカゲルクロマトグラフィー (3 kg ReadySep

50

G o l d カラム) に付した。所望の生成物を含有する画分をプールし、減圧下で濃縮し、黄色泡沫を得た。材料を高真空下に 18 時間置いた。材料を、乳鉢および乳棒を用いて微粉末に変換し、固体を 50 の真空オーブンに 48 時間入れ、N - ((S) - 1 - ((3 P) - 3 - (4 - クロロ - 1 - メチル - 3 - (メチルスルホンアミド) - 1 H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 7 - (3, 3, 3 - トリフルオロプロポキシ) - 3, 4 - ジヒドロピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 2 - イル) - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル) エチル) - 2 - ((3 b S, 4 a R) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5, 5 - ジフルオロ - 3 b, 4, 4 a, 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3, 4] シクロペンタ [1, 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) アセトアミドを黄色粉末 (134.1 g、収率 90 %) として得た。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) ppm 9.84 - 9.91 (1 H, m) 9.49 (1 H, d, J=8.34 Hz) 8.47 (1 H, d, J=8.35 Hz) 7.79 (1 H, d, J=7.75 Hz) 7.49 (1 H, d, J=8.05 Hz) 7.11 (1 H, d, J=8.64 Hz) 6.80 - 7.09 (2 H, m) 6.66 (2 H, dd, J=8.20, 2.24 Hz) 4.69 - 4.75 (3 H, m) 4.57 (1 H, d, J=16.39 Hz) 4.48 (1 H, ddd, J=11.03, 8.35, 2.68 Hz) 3.51 (3 H, s) 3.42 (1 H, dd, J=14.01, 2.38 Hz) 3.20 (3 H, s) 3.05 (1 H, dd, J=14.01, 11.03 Hz) 2.89 - 2.99 (2 H, m) 2.42 - 2.48 (2 H, m) 1.32 - 1.40 (1 H, m) 0.81 - 0.86 (1 H, m)。LCMS 法：カラム = A quality UPLC BEH C18 (2.1 × 100 mm, 1.7 μm 粒子)；溶媒 A = 0.1% v/v ギ酸含有の、水 : MeCN (95:5)；溶媒 B = 0.1% v/v ギ酸含有の、MeCN : 水 (95:5)；グラジェント = 時間(分) / % B : 0 / 0、3.5 / 100、4.5 / 100；流速 = 0.8 mL/min。LCMS の結果：保持時間 = 3.173 分；観測質量 = 917.95 (M + H)。UPLC 純度 = 99.8%。¹⁰

【0074】

例 1 の命名：

上記で製造した例 1 の化合物は、軸不斉を有するホモキラル材料である。軸不斉は、IUPAC Gold Book (doi:10.1351/goldbook.A00547) に詳述されている P/M 命名法を用いて説明することができる。しかしながら、現時点では、P/M 命名法を有する化学名を生成することができる利用可能なソフトウェアツールの数はごく限られており、この命名法を用いた化学名を分子の構造的表現に変換するために利用可能な選択肢も少ない。したがって、明瞭性および利便性のために、例 1 に関するいくつかの名称を以下に提供する：²⁰

【0075】

ChemDraw Ultra 12 (P/M 命名法なし) により生成された例 1 の名称：N - ((S) - 1 - (3 - (4 - クロロ - 1 - メチル - 3 - (メチルスルホンアミド) - 1 H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 7 - (3, 3, 3 - トリフルオロプロポキシ) - 3, 4 - ジヒドロピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 2 - イル) - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル) エチル) - 2 - ((3 b S, 4 a R) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5, 5 - ジフルオロ - 3 b, 4, 4 a, 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3, 4] シクロペンタ [1, 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) アセトアミド

【0076】

JChem for Excel (P/M 命名法を含む) により生成された例 1 の化学名：³⁰
N - [(1 S) - 1 - [(3 P, 3 P) - 3 - (4 - クロロ - 3 - メタンスルホンアミド) - 1 - メチル - 1 H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 7 - (3, 3, 3 - トリフルオロプロポキシ) - 3 H, 4 H - ピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 2 - イル] - 2 - (3, 5 - ジフルオロフェニル) エチル] - 2 - [(2 S, 4 R) - 9 - (ジフルオロメチル) - 5, 5 - ジフルオロ - 7, 8 - ジアザトリシクロ [4.3.0.0^{2,4}] ノナ - 1 (6), 8 - ジエン - 7 - イル] アセトアミド

【0077】

手動で P/M 命名法を加えた ChemDraw Ultra 12 により生成された化学名：
N - ((S) - 1 - ((3 P) - 3 - (4 - クロロ - 1 - メチル - 3 - (メチルスルホンアミド) - 1 H - インダゾール - 7 - イル) - 4 - オキソ - 7 - (3, 3, 3 - トリフ

ルオロプロポキシ) - 3 , 4 - ジヒドロピリド [2 , 3 - d] ピリミジン - 2 - イル) - 2 - (3 , 5 - ジフルオロフェニル) エチル) - 2 - ((3 b S , 4 a R) - 3 - (ジフルオロメチル) - 5 , 5 - ジフルオロ - 3 b , 4 , 4 a , 5 - テトラヒドロ - 1 H - シクロプロパ [3 , 4] シクロペンタ [1 , 2 - c] ピラゾール - 1 - イル) アセトアミド

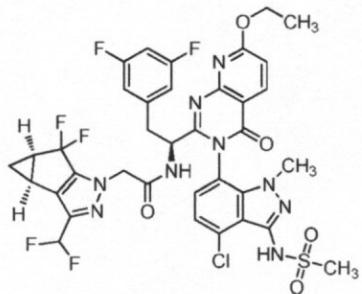
【 0078 】

比較試験 :

例 1 の化合物を、多数の試験において WO 2018203235 (スキーム 1) に記載の例 60 . 2 の化合物と比較した。これらの比較の目的で、本発明者らは、このレベルの純度がヒト臨床試験において使用されるもののうち最も代表的なものであるため、各化合物のホモキラル材料を使用することを選択した。具体的には、インダゾールの示された C - N 結合を軸とした束縛回転が、クロマトグラフィーにより分離することができ、かつ室温で相互変換しない例 1 および例 60 . 2 の両方におけるアトロブ異性体 (ジアステレオマー) を生じさせる。よって、クロマトグラフィーを用いて、本発明者らは、スキーム 2 に示される立体異性体を純粋な形態で単離した。

【 化 4 9 】

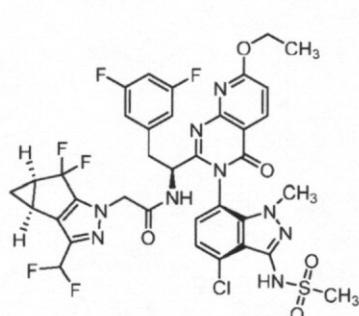
スキーム 1



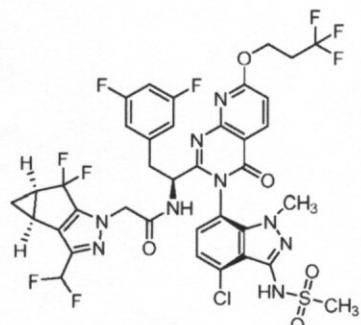
WO2018203235 に示される
例 60.2

【 化 5 0 】

スキーム 2



記載の比較試験において使用されたホモキラル材料の立体化学を示す例 60.2。



記載の比較試験において使用されたホモキラル材料の立体化学を示す本特許の例 1。

【 0079 】

LC - MS / MS により化合物を定量化する一般的手順 :

総ての in vitro サンプルを Exion LC 4500 Triple Quad (商標) LC - MS / MS システムに注入した。使用した分析カラムは、室温に維持した Phenomenex C18 (C18, 4 . 6 mm × 50 mm, 5 μm) であった。

10

20

30

40

50

移動相Aは、M i l l i Q水中0.1% (v/v) ギ酸からなるものであった。移動相Bは、100%メタノールからなるものであった。流速は1mL/分であった。グラジエントは、以下の通りであった：移動相Bを、0.7分かけて5%から90%に直線的に増加させ、90%に1.4分間維持し、5%に0.7分間維持した。

【0080】

総てのin vivoサンプルを、カラムを60に維持したTriple Quad(商標)6500LC-MS/MSシステムに注入した。移動相Aは、H₂O、1mM NH₄OAc、0.025%ギ酸からなるものであった。移動相Bは、MeOH、5mM NH₄OAcからなるものであった。流速は0.6mL/分であった。カラムおよび溶出グラジエントは、以下に記載の一般的分析法のうちの1つから選択した。

10

【0081】

一般的分析法A：

カラム=Waters X-Bridge BEH C18 (2.1×50mm、1.7μm粒子)；グラジエント：時間(分)/%B=0.0/10、0.2/10、0.8/90、1.3/90、1.31/10、2.0/10。

【0082】

一般的分析法B：

カラム=Waters BEH C18 (2.1×50mm、2.5μm粒子)；グラジエント：時間(分)/%B=0.0/10、0.2/10、0.8/90、1.3/90、1.31/10、2.0/10。

20

【0083】

一般的分析法C：

カラム=Waters BEH C18 (2.1×50mm、1.7μm粒子)；グラジエント：時間(分)/%B=0.0/2、0.40/2、0.7/65、1.3/90、1.9/90、1.91/2、2.5/2。

【0084】

効力および細胞毒性を測定するための手順：

MT-2細胞、293T細胞およびNL4-3ウイルスのプロウイルスDNAクローンを、NIH AIDS Research and Reference Reagent Programから得た。MT-2細胞を、10%非働化ウシ胎仔血清(FBS)、100mg/mlペニシリングおよび最大100単位/mlのストレプトマイシンを補充したRPMI1640培地において増殖させた。293T細胞を、10%非働化FBS、100mg/mlペニシリングおよび100mg/mlストレプトマイシンを補充したDMEM培地において増殖させた。nef遺伝子のセクションをウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子と置き換えた組換えNL4-3プロウイルスクローンを用いて、これらの試験において使用する参照ウイルスを作製した。Mirus Bio LLC(マディソン、ウィスコンシン州)のTransit-293 Transfection Reagentを用いて、組換えNL4-3プロウイルスクローンを293T細胞にトランスフェクションすることにより、組換えウイルスを作製した。2~3日後に上清を回収し、存在するウイルスの量を、ルシフェラーゼ酵素活性を測定することにより、ルシフェラーゼ酵素活性をマーカーとして用いて、MT-2細胞において測定した。ルシフェラーゼを、Promega社(マディソン、ウィスコンシン州)のEndure Live Cell Substrateを用いて定量化した。化合物の段階希釈の存在下で組換えウイルスに4~5日間感染させたMT-2細胞におけるルシフェラーゼ活性を測定することにより、組換えウイルスに対する化合物の抗ウイルス活性を定量化した。

30

【0085】

(Fa)=1/[1+(ED₅₀/薬物濃度)m]である半有効式の指數関数形式(Johnson VA, Byington RT. Infectivity Assay. In Techniques in HIV Research. ed. Allevi A, Walker BD. 71-76. New York: Stockton Press. 1990)を用いて、50%有効濃度(EC₅₀)を算出した。阻害パーセント=1/[1+(EC₅₀/薬物濃度)m]

40

50

] (式中、mは、濃度反応曲線の傾きを反映するパラメータである)である半有効式の指數関数形式を用いて、50%阻害濃度(E_{C50})を算出した。

【0086】

非感染細胞を使用したことを除き、抗ウイルスアッセイに記載のものと同じプロトコールを用いて、化合物の細胞毒性および対応する CC_{50} 値を決定した。XTT(2,3-ビス[2-メトキシ-4-ニトロ-5-スルホフェニル]-2H-テトラゾリウム-5-カルボキシアニド分子内塩)ベースの比色アッセイ(Sigma-Aldrich社、セントルイス、ミズーリ州)を使用することにより、細胞毒性を非感染MT2細胞において4日目に評価した。

【0087】

結果:

例1および例60.2の効力は、最初の抗HIVウイルス学的アッセイの誤差の範囲内である(例1の $E_{C50} = 25 \pm 8 \mu M$ 、例60.2の $E_{C50} = 18 \pm 13 \mu M$)。例1の E_{C50} は、最初に試験した際、 $0.034 nM$ であったが、さらに試験した結果、 $25 \pm 8 \mu M$ と平均が修正されたことに留意されたい。測定された細胞毒性 CC_{50} は、例1および例60.2でそれぞれ $0.5 \mu M$ 超および $10 \mu M$ 超である。

【0088】

肝ミクロソームにおける代謝を測定するための手順:

ヒト、ラット、イヌおよびサル由来の肝ミクロソームを解凍し、 $100 mM$ リン酸カリウム緩衝液(pH 7.4)中、終濃度 $1 mg / mL$ に希釈した。試験化合物および対照を、1:1アセトニトリル:水(v/v)中、100倍終濃度 $1 \mu M$ で調製し、ミクロソーム混合物に分注した。混合物を、振盪水浴中で37にて10分間プレインキュベートした。インキュベーションは、二重反復で行った。ワルファリン、フェナセチン、およびベラパミルの3つの対照をインキュベーションに含めた。プレインキュベーション後、反応を終濃度 $1 mM$ のNADPHで開始した。0、5、15、30、45および60分において、 $25 \mu L$ のサンプルを除去し、内部標準(テルミサルタン)を含有するアセトニトリル $300 \mu L$ でクエンチした。サンプルを $1200 rpm$ で5分間ボルテックスし、次いで、 $4000 rpm$ で10分間遠心分離した。上清の $100 \mu L$ アリコートを水で3倍希釈し、Exion LC 4500 Triple Quad LC-MS/MSシステムに注入した。結果は、残存する親試験化合物のパーセンテージとして報告し、各時点において残存する試験化合物のピーク面積比から算出し、ゼロ時間のインキュベーションと比較した。

【0089】

結果:

例1は、例60.2よりもイヌ肝ミクロソームにおいて6倍安定性が高く、例1は、例60.2よりもサル肝ミクロソームにおいて少なくとも2倍安定性が高い。このデータは、例1は、イヌおよびサルにおけるin vivoでの代謝に対して、例60.2よりも有意に安定性が高いはずであることを示唆している。

【0090】

【表1】

肝ミクロソームの安定性	例1	例60.2
ヒト肝ミクロソームの $T_{1/2}$	> 120 分	> 120 分
ラット肝ミクロソームの $T_{1/2}$	> 120 分	> 120 分
イヌ肝ミクロソームの $T_{1/2}$	105 分	17 分
サル肝ミクロソームの $T_{1/2}$	> 120 分	55 分

【0091】

ヒト肝細胞における代謝を測定するための手順:

10

20

30

40

50

ヒト、サル、イヌ、ラットおよびマウス由来の懸濁液中の凍結保存肝細胞を解凍し、予熱したウィリアム培地E (pH 7.4) で希釈した。肝細胞懸濁液のアリコートを、予熱したウィリアム培地E (pH 7.4) 中で調製した試験化合物標準溶液に加え、 0.5×10^6 細胞 / ミリリットル中 0.5 μM および 0.25% 以下の DMSO の終濃度を達成した。これらのサンプルを 5% 二酸化炭素で 37° にてインキュベートし、200 rpm で振り混ぜた。インキュベーションは、1回で行った。0、10、30、60、120 および 240 分の時点において、インキュベーション混合物の 50 μL アリコートを除去し、内部標準を含有するアセトニトリルの 100 μL 溶液に加え、混合物をボルテックスし、次いで、4° および 3500 rpm で 15 分間遠心分離した。実験の完了後、サンプルを LC - MS / MS により分析した。代謝安定性の結果は、残存する親試験化合物のパーセンテージとして報告した。このパーセンテージは、インキュベーション後 (t_x) の試験化合物のピーク面積比を、インキュベーション直前のゼロ時点 (t_0) における試験化合物のピーク面積比で割ることにより、算出した。

消失速度定数 (k 、min⁻¹) は、以下の式に適合する非線形回帰を用いて算出する：
【数1】

$$C_t = C_0 \times e^{(-k \times t)}$$

10

20

式中、

C_0 は、ピーク面積比（試験化合物のピーク面積 / 内部標準のピーク面積）として表される初濃度であり、

C_t は、面積比（試験化合物のピーク面積 / 内部標準のピーク面積）として表される t における濃度であり、

e は、自然対数の底であり、

t は、時間（分）であり、

k は、消失速度定数 (min⁻¹) である。

半減期 ($t_{1/2}$ 、分) は、以下の式を用いて算出する：

【数2】

30

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{k}$$

式中、

k は、消失速度定数 (min⁻¹) である。

in vitro 固有クリアランス (CL_{int}、mL / 分 / 100 万個の細胞) は、以下の式を用いて算出する：

【数3】

40

$$CL_{int} = 0.693 / t_{1/2} / n$$

式中、

$t_{1/2}$ は、半減期であり、

n は、mLあたりの細胞の数である。

【0092】

結果：

ヒト肝細胞における例1の半減期は、480分超と算出され、一方、ヒト肝細胞におけ

50

る例 60 . 2 の半減期は、350 分と算出された。ヒト肝細胞における例 60 . 2 の固有クリアランスは、例 1 で認められた 0 . 312 mL / 分 / g 肝臓のクリアランスより 1 . 5 倍速い 0 . 465 mL / 分 / g 肝臓である。

【0093】

in vivo における薬物動態パラメータ (PK) を測定する手順：

雄 CD1 マウス、Wistar Han 系ラット、カニクイザル、およびビーグル犬において PK を検討した。2 群の動物（群あたり N = 3 ）が、静脈内 (IV) 投与 (1 mg / kg) または強制経口投与 (5 mg / kg の溶液および懸濁液) のいずれかで試験化合物の投与を受けた。薬剤は、IV 投与では 90% PEG 400、10% エタノール、PO 投与では 90% PEG 400、5% エタノール中で処方された。血液サンプルを、IV では投与後 0 . 167、0 . 25、0 . 5、0 . 75、1、2、3、5、7、24、48、72 および 96 時間に、経口では投与後 0 . 25、0 . 5、0 . 75、1、2、3、5、7、24、48、72 および 96 時間に採取した。血液サンプルを K3 EDTA チューブに採取し、1500 ~ 2000 × g で遠心分離して、血漿を得た。血漿サンプルは、LC - MS / MS による分析まで -20° で保存した。総ての in vivo サンプルを、カラムが 60 に維持され、流速が 0 . 6 mL / 分であった ESION LC 4500 Triple Quad (商標) LC - MS / MS システムに注入した。総ての LC - MS / MS 分析パラメータは、生データファイルに電子的に取り込まれている。ラット IV、イヌ IV、サル IV、サル PO の PK サンプルは、一般的分析法 A により分析した。マウス IV、マウス PO、およびイヌ PO の PK サンプルは、一般的分析法 B により分析した。ラット PO サンプルは、一般的分析法 C により分析した。

10

20

30

【0094】

PK パラメータは、血漿中濃度対時間データ (Phoenix WinNonlin v 8 . 1) のノンコンパートメント解析により得た。ピーク濃度 (C_{max}) および C_{max} 到達時間 (T_{max}) を、実験的観察から直接記録した。ゼロ時間から最終サンプリング時間までの曲線下面積 [AUC_{0 - t}] およびゼロ時間から無限時間までの曲線下面積 [AUC_{INF}] を、線形対数台形法を用いて算出した。全身血漿クリアランス (CL_{Tp}) 、定常状態分布容積 (V_{ss}) 、見かけの消失半減期 (T - HALF) 、および平均滞留時間 (MRT) を、IV 投与後に推定した。AUC および T - HALF の推定は、定量可能濃度を有する最低 3 つの時点を用いて行った。絶対経口バイオアベイラビリティ (F) は、経口投与および IV 投与後の用量補正 AUC 値の比として推定した。

30

【0095】

結果：

例 1 および例 60 . 2 の IV 薬物動態 (PK) パラメータを、4 つの前臨床種：マウス、ラット、イヌおよびサルにおいて測定した。例 1 は、例 60 . 2 と比較して、全 4 種において改善したクリアランスを示した。上記の肝ミクロソームアッセイの結果と一致して、クリアランスの差は、イヌおよびサルで最も有意であり、クリアランスがそれぞれ 4 . 9 倍および 2 . 6 倍改善した。同様に、イヌおよびサルにおける循環中の例 1 の半減期は、それぞれ例 60 . 2 よりも 3 . 4 倍および 2 倍高かった。

【0096】

40

【表 2】

例 1 PK パラメータ	単位	マウス	ラット	サル	イヌ
CL	mL/分/kg	0.50	2.64	8.50	1.68
V _{ss}	L/kg	0.24	3.34	1.18	0.83
T _{1/2}	時間	7.6	17.4	3.0	8.6

50

【0097】

【表3】

例 60.2 PK パラメータ	単位	マウス	ラット	サル	イヌ
CL	mL/分/kg	5.20	5.89	22.2	8.21
Vss	L/kg	2.14	2.86	1.34	0.96
T _{1/2}	時間	5.2	11.0	1.4	2.5

10

【0098】

予定された薬剤がヒト臨床試験に入ることができる前に、化合物の安全性を一般に、2つの前臨床種：1種は齧歯類、1種は非齧歯類において評価すべきである。これらの種は通常、ラット、およびイヌまたはサルのいずれかである。in vivo 安全性試験の1つの目的は、ヒトが有効量の薬物を投与された場合に予想される濃度よりも数倍高い循環中の薬物の濃度を達成することである。安全性試験において達成された薬物濃度と有効量の薬物を服用するヒトにおいて予想される薬物濃度との間の倍数差は、「マージン」という。マージンが増加するにつれて、薬物関連有害事象が生じ得るならば、それが前臨床安全性評価中に観察されるであろうという信頼度が高くなることから、安全性試験において高いマージンを達成することが重要である。

20

【0099】

ラット、イヌまたはサルにおける改善されたPKパラメータは、これらの前臨床種に関して、循環中の薬物の高濃度を達成するためには、より低用量の化合物が必要であることを意味する。したがって、例1の用量を投与されたサルまたはイヌは、同じサイズの用量の例60.2を投与された場合よりも高いマージンを達成すると思われる。用量サイズの実施上の制約のために、非齧歯類安全性評価試験において例1で達成され得るマージン（およびしたがって信頼度）は、例60.2で達成され得るマージンより高い。

【0100】

ヒトにおける用量の予測を提供するための前臨床PKパラメータのアロメトリックスケーリングの手順：

30

Phoenix WinNonlin (v8.0) ソフトウェア、および母集団モデリングのためのModelRiskアドインを使用したMicrosoft Excelを用いて、ヒト用量予測を行った。各化合物のCL_{T_p}に対するヒト推定値を、マウス、ラット、サルおよびイヌIVデータの平均アロメトリックスケーリング（体重スケーリング因子0.75）およびV_{ss}に関する全種の平均（体重スケーリング因子1.0）に基づいて得た。ヒトV_{ss}およびCL_{T_p}推定値を使用した前臨床種（マウス、ラット、イヌおよびカニクイザル）からの平均滞留時間（MRT）スケーリングを用いて、ヒトイVパラメータ（V_c、K_a、K₁₂、K₂₁、K_{e1}）を決定した。吸収（K_a）を、デコンボリューション（PO）により、または前臨床種における半減期（SC）から決定した（K_a = LN(2) / t_{1/2}）。POおよびSCに関する予測ヒト用量は、ヒトのばらつきを考慮して算出し、ヒト集団の95%を網羅するように算出する。

40

【0101】

結果：

前臨床種PKパラメータは、ヒト臨床試験の前にヒトPKパラメータを予測するために一般に使用される。この予測(predication)に使用される方法は、「アロメトリックスケーリング」と呼ばれ、文献において一般に考察および実施されている。アロメトリックスケーリングを用いると、ヒトにおける薬物の有効な血漿中濃度を維持するのに必要な予測1日1回経口用量は、例1で例60.2よりも7倍低い。具体的には、例1の予測ヒトQD PO用量は10mg未満であり、一方、例60.2の予測ヒトQD PO用量は30m

50

g 超である。

【0102】

薬物特異体質反応（すなわち、過敏性反応）は、予測不可能であり、性質上深刻なものであるため、重大な臨床的問題を呈するが、1日量10mg以下で投与される薬剤は、薬物特異体質反応の高い発現率と関連するとしてもまれであることが述べられている(Uetrecht, J. P. New Concepts in Immunology Relevant to Idiosyncratic Drug Reactions: The "Danger Hypothesis" and Innate Immune System. *Chem. Res. Toxicol.* 1999, 12(5), 387-395, DOI:10.1021/tx980249i)。

【0103】

皮下 in vivo 実験における薬物動態パラメータを測定する手順：

薬剤を、1% Kolliiphor P188 / 1% PEG3350 / 3.5% マンニトール / 94.5% 水中で処方し、次いで、20mg/kg の用量で皮下注射として Wistar Han 系ラットに投与した。血液サンプルを、0.167、0.25、0.5、0.75、1、2、3、5、7、24、48、72、96 時間に、次いで 3 日毎に最大 122 日間採取した。血液サンプルを K₃EDTA チューブに採取し、1500 ~ 2000 × g で遠心分離して、血漿を得た。血漿サンプルは、LC - MS / MS による分析まで -20° で保存した。

【0104】

結果：

皮下(SC) 投与に対する各化合物の適合性を、ラット SC PK 実験において評価した。この実験で決定されたように、血漿中の化合物の見かけの半減期は、例 1 で 13 日、例 60.2 で 11.5 日であった。例 1 の AUC_{0 - infinity} は、4,941 ng/mL (外挿された AUC の 2.89%) であった。例 60.2 の AUC_{0 - infinity} は、609 ng/mL (外挿された AUC の 12.8%) であった。バイオアベイラビリティは、例 1 で 93%、例 60.2 で 25% であった。薬物濃度は、例 1 で 73 日間、例 60.2 で 24 日間、全動物に関して 7ng/mL 超に維持された (図 1)。アロメトリックスケーリングから導出した予測ヒトクリアランス値とともに、SC ラット PK から導出した見かけの半減期およびバイオアベイラビリティを用いて、ヒトの予測月 1 回皮下 (Q1M SC) 用量を算出した。ヒトにおける薬物の有効な血漿中濃度を維持するのに必要な予測 Q1M SC 用量は、例 1 で例 60.2 よりも 1.5 倍低い。

【0105】

凍結保存ヒト肝細胞におけるシトクロム P450 誘導を測定する手順：

FDA のガイダンス (「in vitro 代謝およびトランスポーターを介した薬物間相互作用試験の業界向けガイダンス (In Vitro Metabolism- and Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction Studies Guidance for Industry)」) に従い、例 1 および例 60.2 が、CYP2B6 発現を誘導する能力を、同じ 3 例の個々のドナー (プールドナーではなく) 由来の肝細胞を用いて試験し、酵素 mRNA レベルの変化を、「倍率変化法」を用いて評価した。この試験において、2 倍未満の mRNA レベルの倍率変化を陰性所見とみなし、一方、2 倍以上の変化を陽性所見とみなす。

【0106】

CYP2B6 の誘導 (mRNA 転写の増加により測定) を引き起こす能力を判定するために、3 例のドナー由来の誘導性凍結保存ヒト初代肝細胞を用いた CYP 誘導アッセイにおいて、化合物を試験した。種々の CYP 酵素の発現レベルの調節に関する総ての核内受容体を天然に発現する初代ヒト肝細胞とともに、試験化合物 (終濃度 0.12 ~ 30 μM) を 48 時間インキュベートした。試験化合物および対照の新鮮溶液をアッセイ培地で希釈し、24 時間毎に 2 日連続で加え、最終 DMSO 濃度 0.1% とした。インキュベーションの終了時に、細胞毒性作用を評価するために、細胞単層の完全性、細胞密度および生存率を評価した。次いで、細胞を細胞溶解バッファーで可溶化し、全 RNA を各アッセイサンプルから精製した。次いで、サンプルを逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT - PCR) において使用し、ヒト CYP2B6 遺伝子をコードする特異的 mRNA 種の量を定量

10

20

30

40

50

化した。

【 0 1 0 7 】

試験化合物および対照の誘導能を、既知の C Y P 2 B 6 誘導物質フェノバルビタール(1000 μM)と比較した。このアッセイの結果は、誘導倍率として表す。誘導倍率は、D M S O (溶媒対照)単独で処理した細胞におけるm R N A レベル、すなわち基礎m R N A レベルに対する、試験化合物で処理した細胞におけるm R N A レベルの比として算出し、よって、試験化合物の誘導能を表す。誘導倍率値を用いて、対照活性値のパーセントを算出し、次いでこれを4パラメータロジスティック回帰モデルに当てはめ、E C₅₀およびE_{max}の値(誘導が観察された場合)を決定した。細胞毒性に起因する偽陽性のC Y P 誘導の結果を回避するために、細胞毒性も並行して評価した。細胞毒性濃度でのC Y P 誘導能の評価および解釈は避けるべきである。10

【 0 1 0 8 】

結果 :

試験したいずれの濃度(最大30 μM)のいずれの化合物においても、細胞毒性は認められなかった。例1では、全3例のドナーにおいて陰性所見(誘導なし)が認められた。例60.2では、3例のドナー中2例において、陽性所見(誘導)が認められた(1.5 μMおよび1.8 μMのE C₅₀値)。

【 0 1 0 9 】

C Y P 酵素発現の誘導は、誘導されたC Y P アイソフォームにより代謝が支配される犠牲薬のクリアランス増加に至る、薬物間相互作用の根本原因として認識されている。C Y P アイソフォームのうち、C Y P 2 B 6 がH I V 治療の文脈において特に重要であるが、その理由は、H I V の治療に広く使用される薬剤であるエファビレンツ(E F V)(2019年世界保健機関必須医薬品リストに含まれる)は、C Y P 2 B 6 により主に代謝されるからである(Ward, B. A., Gorski, J. C., Jones, D. R., Hall, S. D., Flockhard, D. A., Desta, Z. The Cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) Is the Main Catalyst of Efavirenz Primary and Secondary Metabolism: Implication for HIV/AIDS Therapy and Utility of Efavirenz as a Substrate Marker of CYP2B6 Catalytic Activity, J. Pharmacol. Exp. Ther., 2003, 306, 287-300, DOI: 10.1124/jpet.103.049601)。20

30

40

50

【図面】

【図1】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

	F I	
A 6 1 K 31/635 (2006.01)	A 6 1 K	31/5365
A 6 1 K 31/4545 (2006.01)	A 6 1 K	31/635
A 6 1 K 31/675 (2006.01)	A 6 1 K	31/4545
A 6 1 K 31/513 (2006.01)	A 6 1 K	31/675
A 6 1 K 31/439 (2006.01)	A 6 1 K	31/513
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K	31/439
A 6 1 P 31/18 (2006.01)	A 6 1 K	31/519
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/18
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00 121
A 6 1 K 31/451 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
	A 6 1 K	31/451

弁理士 反町 洋

(72)発明者 エリック、ピー・ギリス

アメリカ合衆国コネチカット州、ブランフォード、インダストリアル、ロード、36、イー

(72)発明者 クリストィアナ、イワグウ

アメリカ合衆国コネチカット州、ウォーリンフォード、リサーチ、パークウェイ、5

審査官 土橋 敬介

(56)参考文献 国際公開第2018/203235 (WO, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 07 D

A 6 1 K

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)