

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5183853号  
(P5183853)

(45) 発行日 平成25年4月17日(2013.4.17)

(24) 登録日 平成25年1月25日(2013.1.25)

(51) Int.Cl.

F 1

C07D 309/28	(2006.01)	C07D 309/28
A61K 9/12	(2006.01)	A61K 9/12
A61K 9/14	(2006.01)	A61K 9/14
A61K 31/13	(2006.01)	A61K 31/13
A61K 31/351	(2006.01)	A61K 31/351

請求項の数 10 (全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-542181 (P2003-542181)
(86) (22) 出願日	平成14年11月8日 (2002.11.8)
(65) 公表番号	特表2005-510519 (P2005-510519A)
(43) 公表日	平成17年4月21日 (2005.4.21)
(86) 國際出願番号	PCT/AU2002/001524
(87) 國際公開番号	W02003/040135
(87) 國際公開日	平成15年5月15日 (2003.5.15)
審査請求日	平成17年10月13日 (2005.10.13)
審判番号	不服2010-16059 (P2010-16059/J1)
審判請求日	平成22年7月16日 (2010.7.16)
(31) 優先権主張番号	PR 8798
(32) 優先日	平成13年11月9日 (2001.11.9)
(33) 優先権主張国	オーストラリア(AU)
(31) 優先権主張番号	PS 2600
(32) 優先日	平成14年5月27日 (2002.5.27)
(33) 優先権主張国	オーストラリア(AU)

(73) 特許権者 501359733

バイオタ、サイアントィフィック、マネージメント、プロプライエタリ、リミテッド  
B I O T A S C I E N T I F I C M A  
N A G E M E N T P T Y L T D  
オーストラリア連邦ビクトリア州、ノッティング、ヒル、ブラックバーン、ロード、  
10/585

(74) 代理人	100117787
(74) 代理人	弁理士 勝沼 宏仁
(74) 代理人	100091487
(74) 代理人	弁理士 中村 行孝
(74) 代理人	100107342
	弁理士 横田 修孝

最終頁に続く

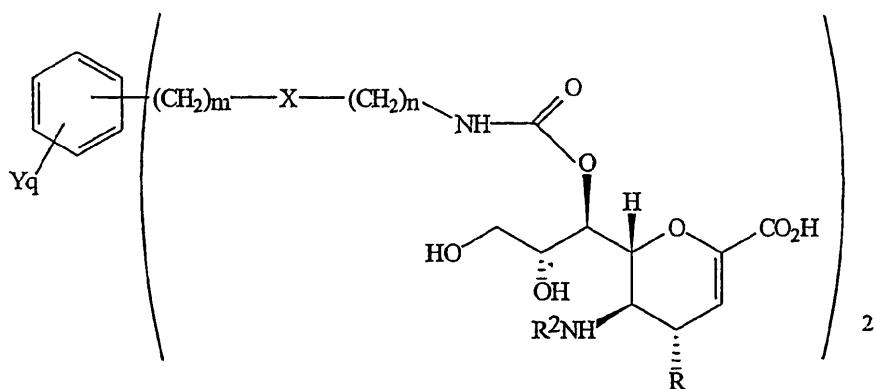
(54) 【発明の名称】二量体化合物および抗ウイルス薬としてのそれらの使用

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

下記一般式(I)の化合物、またはその医薬上許容される塩:

## 【化 1】



(I)

[ 式中、

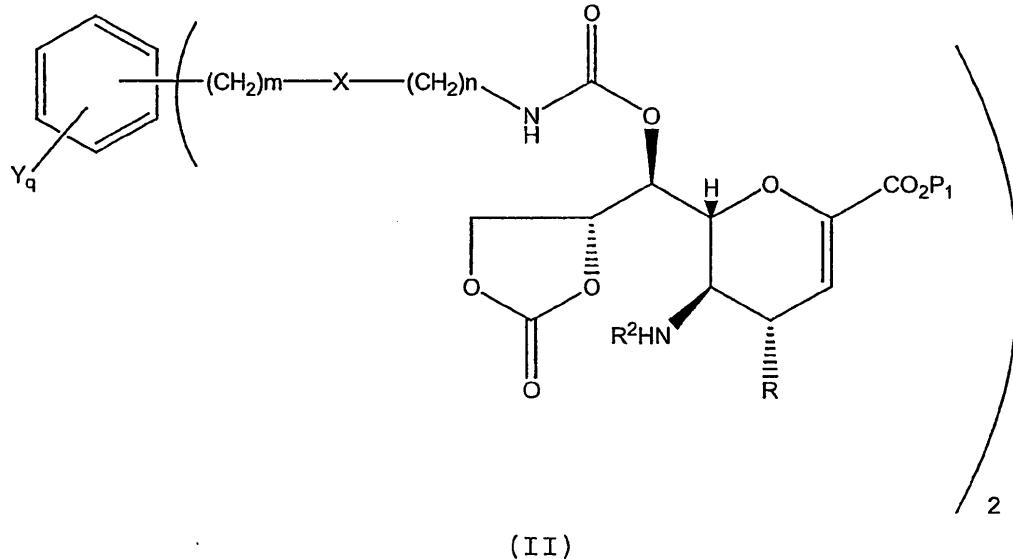
20

Rは、グアニジノ基であり；  
 R<sup>2</sup>は、アセチルであり；  
 Xは、CONH、SO<sub>2</sub>NH、NHC(O)またはNHCO(NH)であり；  
 mは、0または1のいずれかであり；  
 nは、2～6の整数であり；  
 qは、0～3の整数であり；かつ  
 Yは、水素、ハロゲン、C<sub>1</sub>～<sub>4</sub>アルキル、ヒドロキシ、C<sub>1</sub>～<sub>4</sub>アルコキシ、アミノ  
またはカルボキシである]。

## 【請求項2】

請求項1に記載の式(I)の化合物の製造方法であって、  
 下記式(II)の化合物を脱保護することを含んでなる、方法：

## 【化2】



[式中、R、R<sup>2</sup>、X、m、n、q、およびYは請求項1に記載の通りであり、かつP<sub>1</sub>はカルボン酸保護基である]。

## 【請求項3】

請求項1に記載の式(I)の化合物またはその医薬上許容される塩を、1種以上の医薬上許容される担体とともに含んでなる、医薬製剤。

## 【請求項4】

1種以上の他の治療および/または予防成分をさらに含んでなる、請求項3に記載の医薬製剤。

## 【請求項5】

請求項1に記載の化合物、または請求項3または4のいずれか一項に記載の医薬製剤を含んでなる、吸入器。

## 【請求項6】

請求項1に記載の式(I)の化合物またはその医薬上許容される塩を含んでなる、医薬剤。

## 【請求項7】

ウイルス感染症の予防または治療に用いられる、請求項6に記載の医薬剤。

## 【請求項8】

ウイルス感染症が、A型もしくはB型インフルエンザ感染症、パラインフルエンザ、流行性耳下腺炎またはニューカッスル病である、請求項7に記載の医薬剤。

## 【請求項9】

請求項1に記載の式(I)の化合物を、ウイルスを含んでいる疑いがあるサンプルと接触させることを含んでなる、ウイルス感染症のインビトロ検出方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 10】

下記化合物 1 ~ 14 から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

## 【化 3】

化合物番号	アリール置換基 Y	アリール置換基	m	X 基	n
1	H	1, 3	0	CONH	4
2	H	1, 3	1	NHCO	2
3	H	1, 3	0	SO <sub>2</sub> NH	4
4	H	1, 4	1	NHCO	2
5	H	1, 4	0	CONH	3
6	H	1, 4	0	CONH	6
7	H	1, 2	0	CONH	6
8	H	1, 3	0	CONH	6
9	5-CO <sub>2</sub> H	1, 3	0	CONH	3
10	5-CH <sub>3</sub>	1, 3	0	NHCONH	6
11	H	1, 3	0	CONH	3
12	H	1, 2	0	CONH	3
13	H	1, 4	1	CONH	3
14	H	1, 2	1	CONH	3

## 【発明の詳細な説明】

## 【発明の背景】

## 【0001】

発明の分野

本発明は新規な化学化合物およびそれらの医薬における使用に関する。特に、本発明は新規な二量体化合物、それらの製造方法、それらの医薬製剤、および抗ウイルス薬としてのそれらの使用に関する。

## 【0002】

背景技術

他の炭水化物から、シアル酸としても知られる N - アセチルノイラミン酸 (NANA) を切断する能力を有する酵素が、多くの微生物に存在している。これらとしては、コレラ菌 (*Vibrio cholera*)、ウエルシュ菌 (*Clostridium perfringens*)、肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) およびアースロバクター・シアロフィルス (*Arthrobacter sialophilus*) などの細菌、ならびにインフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、流行性耳下腺炎ウイルス、ニューカッスル病ウイルスおよびセンダイウイルスなどのウイルスが挙げられる。これらのウイルスのほとんどはオルトミクソウイルスまたはパラミクソウイルス群に属し、ウイルス粒子の表面にノイラミニダーゼ活性を有している。ノイラミニダーゼを有するこれらの生物の多くは、ヒトおよび / または動物の主要な病原体であり、インフルエンザウイルスおよびニューカッスル病ウイルスなどのいくつかのものは、極めて重大な疾病を引き起こす。

## 【0003】

長い間、ノイラミニダーゼの阻害剤によってノイラミニダーゼを有するウイルスによる感染を予防し得ると考えられてきた。知られているノイラミニダーゼ阻害剤のほとんどが、2 - デオキシ - 2 , 3 - デヒドロ - N - アセチルノイラミン酸 (DANA) およびそのいくつかの誘導体などのノイラミン酸類似体である (Meindl et al, Virology, 1974 58 4

10

20

30

40

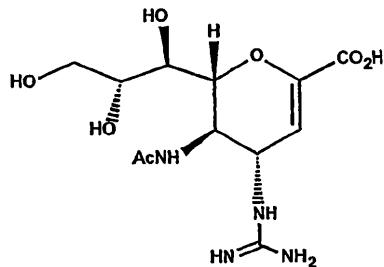
50

57)。本発明者らの国際特許公開番号 WO 91 / 16320 では、ウイルスノイラミニダーゼに有効である D A N A の多くの類似体を記載しており、特に、4 - グアニジノ - 2 - デオキシ - 2 , 3 - デヒドロ - N - アセチルノイラミン酸（化合物（A）、コード番号 G G 167）が A 型および B 型インフルエンザの治療に有用であることを示している（N. Engl. J. Med. , 1997 337 874-880）。その他の特許出願では、密接に関連した種々のシアール酸誘導体が記載されており（例えば、PCT 公開番号 WO 95 / 18800、同 WO 95 / 20583 および同 WO 98 / 06712）、また G G 167 の抗ウイルス性高分子複合体についても記述されている（国際特許出願番号 PCT / AU 97 / 00771）。

【0004】

【化1】

10



化合物（A）

20

[ A c はアセチルを表す ]。

【0005】

国際特許公開 WO 00 / 55149 では、100 原子以下の長さの共通のスペーサーまたは連結基と結合した、化合物（A）などの 2 つのノイラミニダーゼ結合分子を含んでなる二量体化合物を記載している。

【0006】

本発明者らは今般、本明細書において具体的に開示していないが、国際特許公開 WO 00 / 55149 の包括範囲に含まれ、肺滞留時間が長く、強力であるといった驚くほど有利な抗インフルエンザ活性プロフィールを示す新規な化合物種を発見した。

30

【0007】

理論に拘束されるものではないが、肺内での滞留時間が長いことについての根拠は、化合物の大きさおよび分子量が気道上皮内での結合が強いために侵入を阻まれていること、および化合物の極性が細胞膜を極めて非効率的にしか通過しないようなものであることによると考えられている。またもう 1 つの理論として、化合物自体が細胞膜のリン脂質または気道上皮のその他の成分と相互作用し、肺内での滞留時間を延長するというものがある。

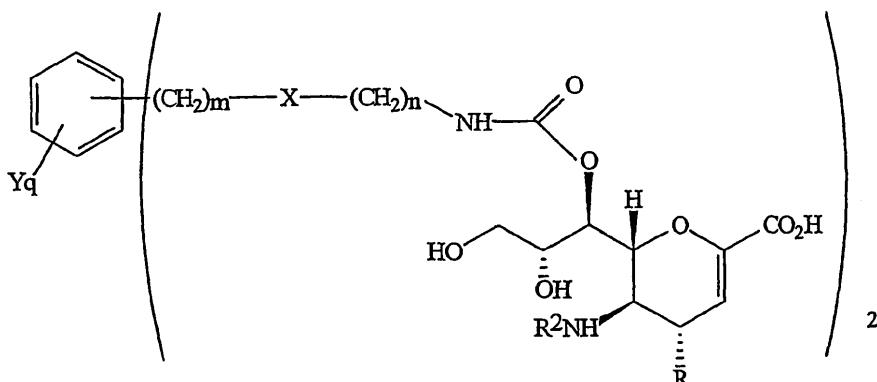
【発明の概要】

【0008】

第一の態様において、本発明は下記一般式（I）の化合物、またはその医薬上許容される誘導体を提供する。

40

## 【化2】



(I)

[式中、

Rは、アミノまたはグアニジノ基であり；

R<sup>2</sup>は、アセチルまたはトリフルオロアセチルであり；Xは、CONH、SO<sub>2</sub>NH、NHC(O)またはNHC(ONH)であり；

mは、0または1のいずれかであり；

nは、2～6の整数であり；

qは、0～3の整数であり；かつ

Yは、水素または芳香族置換基である]。

【発明の具体的説明】

【0009】

好ましくは、Rはグアニジノ基である。

【0010】

好ましくは、R<sup>2</sup>はアセチル基である。

【0011】

好適な芳香族置換基としては、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ハロ、ハロアルキル、ハロアルケニル、ハロアルキニル、ハロアリール、ヒドロキシ、アルコキシ、アルケニルオキシ、アリールオキシ、カルボキシ、ベンジルオキシ、ハロアルコキシ、ハロアルケニルオキシ、ハロアリールオキシ、ニトロ、アジド、アミノ、アルキルアミノ、アルケニルアミノ、アルキニルアミノ、アリールアミノ、ベンジルアミノ、アシリアルアミノ、アシリル、アリールアシリル、アシリルアミノ、アシリルオキシ、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、スルホニルアミノ、アルキルスルホニルアミノ、アリールスルホニルアミノ、ヘテロシクリル、ヘテロシクロオキシ、ヘテロシクリルアミノ、ハロヘテロシクリル、メルカプト、スルホン酸、アルキルチオ、アリールチオ、およびアシリルチオが挙げられる。

【0012】

好ましくは、アルキル、アルケニル、アルキニルおよびアルコキシ置換基は6個以下の炭素原子を含有する。

【0013】

より好ましくは、Yは水素、ハロゲン、C<sub>1</sub>～<sub>4</sub>アルキル、ヒドロキシ、C<sub>1</sub>～<sub>4</sub>アルコキシ、アミノまたはカルボキシである。

【0014】

式(I)の化合物を、式(I)の化合物のいずれかの1以上の官能基において修飾して、その医薬上許容される誘導体とすることは、当業者ならば明らかであろう。このような誘導体として特に着目されるものは、カルボキシル官能基、ヒドロキシル官能基において、またはアミノ基において修飾された化合物である。従って、目的の化合物

10

20

30

40

50

としては、式(Ⅰ)の化合物の、メチル、エチル、プロピルまたはイソプロピルエステルなどのアルキルエステル、フェニル、ベンゾイルエステルなどのアリールエステル、およびアセチルエステルが挙げられる。

【0015】

「医薬上許容される誘導体」とは、式(Ⅰ)の化合物の、医薬上許容される塩、エーテル、エステルもしくはかかるエステルの塩、または受容者へ投与した際に式(Ⅰ)の化合物または抗ウイルス的に活性な代謝産物もしくはその残渣を提供することができる他のいずれかの化合物を意味する。誘導体として特に着目されるものは、シアル酸カルボキシもしくはグリセロールヒドロキシ基において修飾された化合物、または、アミノおよびグアニジン基において修飾された化合物である。

10

【0016】

式(Ⅰ)の化合物の医薬上許容される塩としては、医薬上許容される無機および有機酸ならびに塩基から誘導されたものが挙げられる。好適な酸の例としては、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、過塩素酸、フマル酸、マレイン酸、リン酸、グリコール酸、乳酸、サリチル酸、コハク酸、トルエン-*p*-スルホン酸、酒石酸、酢酸、クエン酸、メタンスルホン酸、蟻酸、安息香酸、マロン酸、ナフタレン-2-スルホン酸およびベンゼンスルホン酸が挙げられる。シュウ酸などのその他の酸はそれ自体では医薬上許容されるものではないが、本発明の化合物およびそれらの医薬上許容される酸付加塩を得る際に中間体として有用な塩の製造において有用であり得る。

【0017】

20

好適な塩基から誘導された塩としては、アルカリ金属(例えば、ナトリウム)、アルカリ土類金属(例えば、マグネシウム)、アンモニウム、およびNR<sub>4</sub><sup>+</sup>(ここで、RはC<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルキルである)塩が挙げられる。

【0018】

本発明の化合物は本明細書に記載の方法によって製造することができる。当業者ならば、単量体をアルキルスペーサー基と結合させる工程中にノイラミニダーゼ結合分子の1以上の官能基を保護するために保護基を用いる必要があることは明らかであろう。例えば、T. W. Green and P. G. M. Nutsによる"Protective Groups in Organic Synthesis"(John Wiley & Sons, 1991)を参照。式(Ⅰ)の化合物の医薬上許容される塩は、公知の手法によって製造することができる。

30

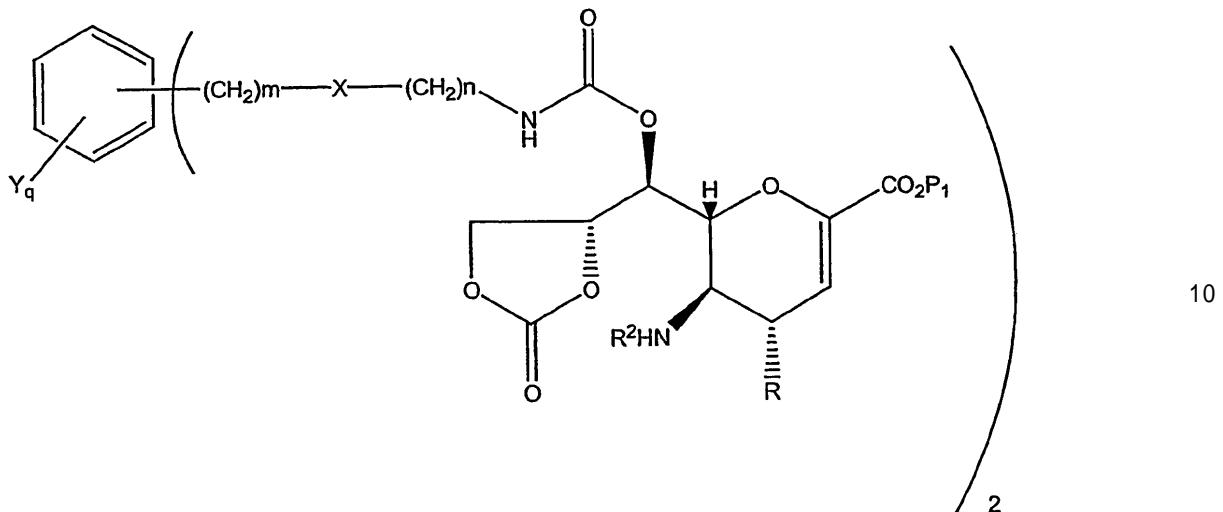
【0019】

処理および製造を容易にするため、式(Ⅰ)の化合物は結晶状であることが好ましい。

【0020】

従って、本発明はまた上記の式(Ⅰ)の化合物の製造方法であって、下記式(II)の化合物を脱保護することを含んでなる方法も提供する:

【化3】



(III)

[式中、RおよびR<sup>2</sup>は上記の通りであり、かつP<sub>1</sub>はカルボン酸保護基である]。 20

【0021】

式(I)の化合物は抗ウイルス活性を有する。特に、これらの化合物はオルトミクソウイルスおよびパラミクソウイルスのウイルスノイラミニダーゼ、例えば、A型およびB型インフルエンザ、パラインフルエンザ、流行性耳下腺炎およびニューカッスル病のウイルスノイラミニダーゼの阻害剤である。

【0022】

よって、第二の態様において、本発明は、ウイルス感染症、例えば、オルトミクソウイルス感染症およびパラミクソウイルス感染症の治療に有効な治療薬として用いる式(I)の化合物またはその医薬上許容される誘導体を提供する。

【0023】

第三の態様において、本発明は、ウイルス感染症の予防または治療方法であって、式(I)の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは誘導体の有効量を、それを必要とする被験体へ投与することを含んでなる方法を提供する。

【0024】

好ましくは、ウイルス感染症はオルトミクソウイルス感染症またはパラミクソウイルス感染症である。より好ましくは、ウイルス感染症はA型またはB型インフルエンザ感染症である。

【0025】

好ましくは、被験体は哺乳類などの動物であり、より好ましくは、ヒト、またはウマ属に属するもの、例えば、ウマ、ロバまたはラバである。最も好ましくは、哺乳類はヒトである。

【0026】

第四の態様において、本発明は、ウイルス感染症の治療用の医薬の製造のための、本発明の化合物の使用を提供する。

【0027】

本明細書において「有効量」とは、所望の治療応答を得るための、例えば、ウイルス感染症の影響を克服または軽減するための、ウイルス感染症の予防または治療に有効な式(I)の化合物の量を意味する。

【0028】

「治療上有効な量」とは、所望の治療応答を得るための式(I)の化合物の量、例えば

10

30

40

50

、ウイルス感染症を治療または予防するための式(Ⅰ)の化合物の量を意味する。

【0029】

具体的な「治療上有効な量」は、治療するウイルス感染症、被験体の健康状態、治療する動物の種類、治療期間、(実施する場合には)併用療法の性質、ならびに用いる製剤および化合物またはその誘導体の構造などの因子によって明らかに異なる。

【0030】

一般に、「治療する」、「治療」などは、本明細書においては、所望の薬理学的および/または生理学的效果を得るために被験体、組織または細胞に作用するという意味で用いられる。この効果はウイルス感染症またはその徴候もしくは症状を完全にまたは部分的に防止するという点からは予防的であることができ、かつ/または、ウイルス感染症の部分的または完全治癒という点からは治療的であることができる。本明細書において「治療する」は、脊椎動物、哺乳類、特にヒトにおけるウイルス感染症の治療または予防のいずれをも含み、さらに(a)そのウイルス感染症にかかりやすいと思われるが、まだウイルス感染症についての診断を行っておらず、まだウイルス感染症とは診断されていない被験体においてウイルス感染症の発生を予防すること;(b)ウイルス感染症を抑止すること、すなわち、その進行を止めること;または(c)その影響を緩和または改善すること、すなわち、ウイルス感染症の症状の緩解をもたらすことなどを包含する。

10

【0031】

また、本発明の化合物は診断方法、特にインフルエンザウイルスの検出方法においても用いることができる。かかる方法において使用する場合には、本発明の化合物に放射性標識、蛍光標識または化学発光標識などの標識を付けることが有利であることがある。

20

【0032】

本発明の化合物が好適である診断方法は、例えば、本発明者らの先行する出願PCT/AU97/00109およびPCT/AU97/00771に記載されている。

【0033】

第五の態様において、本発明は、本発明の化合物を、ウイルスを含んでいる疑いがあるサンプルと接触させることを含んでなる、ウイルス感染症の検出方法を提供する。

【0034】

さらに、治療用に必要な本発明の化合物の量は選択された化合物だけでなく、投与経路、治療する症状の性質、ならびに患者の年齢および状態によって異なり、最終的には医師または獣医の判断によって行われることが分かるであろう。しかしながら、一般的には好適な用量は1日あたり約0.001~100mg/体重kgの範囲、好ましくは、0.01~10mg/kg/日の範囲、最も好ましくは、0.1~1mg/kg/日の範囲である。

30

【0035】

処置は、好ましくは、感染前または感染時に開始してウイルスが気道に存在しなくなるまで続ける。しかしながら、本発明の化合物は感染後、例えば、確立された症状の出現後に施与した場合でも有効である。

【0036】

好適には、処置は1回または2回行い、好ましくは、治療だけならば1回だけ、好ましくは、予防には週1回行う。

40

【0037】

本発明の化合物は便宜には、例えば、単位投与形あたり1~100mg、より便宜には、1~20mgの有効成分を含有する単位投与形で投与する。

【0038】

治療に用いる場合には、本発明の化合物を原料化学物質として投与してもよいが、医薬製剤としての有効成分であることが好ましい。

【0039】

よって、第六の態様において、本発明は、式(Ⅰ)の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは誘導体を、1種以上の医薬上許容される担体、および必要に応じて、他の治

50

療および／または予防成分とともに含んでなる医薬製剤を提供する。担体は製剤の他の成分と適合し、その受容者に有害ではないという意味において「許容される」ものでなければならない。

**【 0 0 4 0 】**

また、本発明の化合物は、他の治療薬および／または予防薬、例えば、他の抗感染症薬と併用してもよい。特に、本発明の化合物は他の抗ウイルス薬と併用してもよい。よって、本発明は、第七の態様において、式(I)の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは誘導体を、別の治療上および／または予防上有効な薬剤、特に、抗ウイルス薬とともに含んでなる組み合わせ物を提供する。

**【 0 0 4 1 】**

上記の組み合わせ物は、便宜には、医薬製剤の形態で用いるために提供され、よって、上記の組み合わせ物をその医薬上許容される担体とともに含んでなるかかる製剤は、本発明のさらなる態様をなす。

**【 0 0 4 2 】**

かかる組み合わせ物に用いるのに好適な治療薬および／または予防薬としては、他の抗感染症薬、特に、抗菌薬および抗ウイルス薬、例えば、呼吸器感染症の治療に用いられるものが挙げられる。例えば、インフルエンザウイルスに有効である、上記のシアル酸類似体、例えば、ザナミビル(zanamivir)、オセルタミビル(oseltamivir)、アマンタジン(amtadine)、リマンタジン(rimantadine)およびリバビリン(rivavirin)、ならびにFluvaなど他の化合物またはワクチンをかかる組み合わせ物に含めてもよい。

**【 0 0 4 3 】**

かかる組み合わせ物の個々の成分は個別に投与してもよいし、逐次投与してもよいし、または個別の医薬製剤もしくは組み合わせ医薬製剤として同時に投与してもよい。

**【 0 0 4 4 】**

本発明の化合物を同じウイルスに有効な第2の治療薬および／または予防薬と併用する場合、各化合物の用量は各化合物を単独で用いる際に使用する用量と同じ場合もあるし、異なる場合もある。当業者であれば、適当な用量が容易に分かるであろう。

**【 0 0 4 5 】**

医薬製剤としては、経口、直腸、経鼻、局所(口内および舌下など)、腔または非経口(筋肉内、皮下および静脈内など)投与に好適なもの、または気道(鼻腔など)への投与、例えば、吸入法または通気法による投与に好適な形態のものが挙げられる。製剤は、必要に応じて、便宜には、個別投与単位で提供してもよく、製薬分野では十分に公知のいずれの方法によって製造してもよい。これらの方法としては、活性化合物を液体担体または微粉固体担体、もしくはその両方と会合させた後、必要に応じて、生成物を所望の製剤に成形する工程が含まれる。

**【 0 0 4 6 】**

経口投与に好適な医薬製剤は、便宜には、各々が所定量の有効成分を含むカプセル剤、カシェ剤もしくは錠剤などの個別単位として；粉末もしくは顆粒剤として；液剤、懸濁剤としてまたは乳剤として提供してもよい。また、有効成分はボーラス、舐剤またはペースト剤として提供してもよい。経口投与用の錠剤およびカプセル剤には、結合剤、增量剤、滑沢剤、崩壊剤、または湿潤剤などの通常の賦形剤を含めてもよい。錠剤は当技術分野では十分に公知の方法に従ってコーティングしてもよい。経口液体製剤は、例えば、水性もしくは油性懸濁剤、液剤、乳剤、シロップ剤またはエリキシル剤の形態であってもよいし、または使用前に水もしくはその他の好適なビヒクルを用いて構成する乾燥製品として提供してもよい。かかる液体製剤には、沈殿防止剤、乳化剤、非水性ビヒクル(食用油を含んでもよい)、または防腐剤などの慣用の添加剤を含んでもよい。

**【 0 0 4 7 】**

また、本発明の化合物は、注射、例えば、ボーラス注射、または点滴による非経口投与用に調製してもよく、アンプルに入った単位投与形、充填済みシリンジ、少量注入剤として、または防腐剤を添加した多容量型容器で提供してもよい。組成物は油性もしくは水性

10

20

30

40

50

ビヒクル中の懸濁剤、液剤、乳剤などの形態をとってもよく、沈殿防止剤、安定剤および／または分粉末などの配合剤を含んでいてもよい。あるいは、有効成分は使用前に好適なビヒクル、例えば、滅菌、パイロジエンフリー水を用いて構成する、滅菌固体の無菌単離によってまたは溶液からの凍結乾燥によって得た粉末形態であってもよい。

#### 【0048】

表皮への局所投与には、本発明の化合物を軟膏、クリーム剤もしくはローション剤として、または経皮パッチとして調剤してもよい。軟膏およびクリーム剤は、例えば、好適な増粘剤および／またはゲル化剤を添加した水性または油性基剤を用いて調剤してもよい。ローション剤は水性または油性基剤を用いて調剤してよく、また一般には1種以上の乳化剤、安定剤、分粉末、沈殿防止剤、増粘剤、または着色剤も含む。

10

#### 【0049】

口腔内局所投与に好適な製剤としては、香味基剤、通常、スクロースおよびアラビアガムまたはトラガカントガム、中に有効成分を含んでなるトローチ剤；ゼラチンまたはスクロースおよびアラビアガムなどの不活性基剤中に有効成分を含んでなる芳香錠；ならびに好適な液体担体中に有効成分を含んでなる口内洗浄剤が挙げられる。

#### 【0050】

直腸投与に好適な、担体が固体である医薬製剤は、単位用量坐剤として提供するのが最も好ましい。好適な担体としては、ココア脂および当技術分野で一般に用いられるその他の材料が挙げられ、坐剤は、便宜には、活性化合物を軟化または融解した担体と混合した後に冷却し、成形することによって作製すればよい。

20

#### 【0051】

膣投与に好適な製剤は、有効成分の他、当技術分野で好適であることが知られている担体を含む膣坐剤、タンポン、クリーム剤、ゲル剤、ペースト剤、フォーム剤またはスプレー剤とし提供してもよい。

#### 【0052】

経鼻投与をはじめとする気道への投与には、ノイラミニダーゼ阻害剤を、当技術分野において気道への投与に用いられる方法および製剤のいずれによって投与してもよい。

#### 【0053】

従って、一般的に、本化合物は液剤もしくは懸濁剤の形態または乾燥粉末として投与してもよい。

30

#### 【0054】

液剤および懸濁剤は、一般的に、例えば、水単独（例えば、滅菌またはパイロジエンフリー水）または水および生理学上許容される補助溶媒（例えば、エタノール、プロピレングリコールまたはPEG400などのポリエチレングリコール）から調製された水性のものである。

#### 【0055】

かかる液剤または懸濁剤は、その他の賦形剤、例えば、防腐剤（塩化ベンザルコニウムなど）、可溶化剤／界面活性剤、例えば、ポリソルベート（例えば、Tween 80、Span 80、塩化ベンザルコニウム）、緩衝剤、等張性調整剤（例えば、塩化ナトリウム）、吸収促進剤および増粘剤をさらに含んでもよい。懸濁剤は、沈殿防止剤（例えば、微晶質セルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム）をさらに含んでもよい。

40

#### 【0056】

液剤または懸濁剤は、慣用の手段により、例えば、ドロッパー、ピペットまたはスプレーを用いて鼻腔に直接適用される。これらの製剤は単回または多回投与形で提供してもよい。後者の場合には計量手段が提供されることが望ましい。ドロッパーまたはピペットの場合には、患者が所定量の適当な液剤または懸濁剤を投与することによってなされる。スプレーの場合には、例えば、定量噴霧式噴霧ポンプによってなされる。

#### 【0057】

また、気道への投与は、化合物がクロロフルオロカーボン（CFC）、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタンまたはジクロロテトラフルオロエタン、

50

二酸化炭素またはその他の好適なガスなどの好適な噴射剤を加えた加圧パックで提供されるエアゾール製剤によって行ってもよい。また、エアゾールは、便宜には、レシチンなどの界面活性剤を含んでもよい。薬剤の量は定量バルブを設けることで制御することができる。

【0058】

また、本化合物は乾燥粉末の形態、例えば、化合物とラクトース、デンプン、デンプン誘導体、例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびポリビニルピロリジン(PVP)などの好適な粉末基剤との粉末混合物の形態で提供してもよい。便宜には、粉末担体は鼻腔内でゲルを形成する。この粉末組成物は単位投与形、例えば、カプセルもしくはカートリッジ(例えば、ゼラチン)、またはブリスターパック(これから粉末が吸入器によって投与される)として提供してもよい。10

【0059】

経鼻投与製剤をはじめとする気道への投与を目的とする製剤では、化合物の粒径は一般に小さく、例えば、5ミクロン以下のオーダーである。かかる粒径は当技術分野では公知の手段によって、例えば、微粉末化によって得られる。

【0060】

所望により、有効成分に徐放性を与えるようにした製剤を用いてもよい。

【0061】

好ましくは、本発明の化合物を吸入法、通気法または経鼻投与、もしくはその組み合わせによって気道に投与する。20

【0062】

「リレンザ(Relesta)」は「ディスクヘラー(Diskhaler)」を介してフリーフロー粉末として経口吸入によって投与される(オセルタミビル)。類似の製剤が本発明に好適であろう。

【0063】

よって、本発明の第八の態様によれば、上記の製剤を含有する吸入器が提供される。

【0064】

また、吸入器は定量式エアゾール吸入器の形態であってもよいことは明らかであろう。

【0065】

本明細書の目的では、「含んでなる(comprising)」とは、「限定されるものではないが、含む(including but not limited to)」を意味すること、「含んでなる(comprises)」も相当の意味を持つことは明らかであろう。30

【0066】

限定されるものではないが、本明細書の中で引用した特許および特許出願をはじめとする刊行物は総て、その個々の刊行物が、参照により、その全内容を示して具体的かつ個々に示されるように本明細書の一部とされる。

【0067】

発明の詳しい説明

以下、本発明を、単に参照として以下の限定されない実施例により詳細に説明する。

【0068】

10

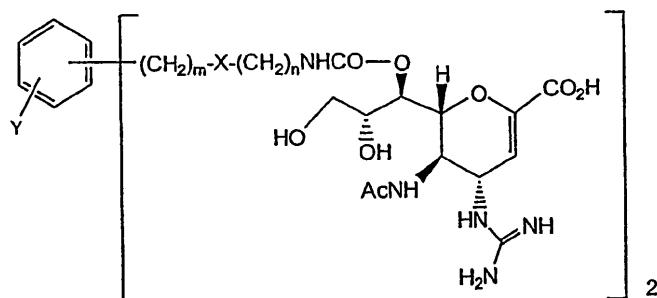
20

30

40

【表1】

表1



10

化合物番号	アリール置換基Y	アリール置換基	m	X基	n
1	H	1, 3	0	CONH	4
2	H	1, 3	1	NHCO	2
3	H	1, 3	0	SO <sub>2</sub> NH	4
4	H	1, 4	1	NHCO	2
5	H	1, 4	0	CONH	3
6	H	1, 4	0	CONH	6
7	H	1, 2	0	CONH	6
8	H	1, 3	0	CONH	6
9	5-CO <sub>2</sub> H	1, 3	0	CONH	3
10	5-CH <sub>3</sub>	1, 3	0	NHCONH	6
11	H	1, 3	0	CONH	3
12	H	1, 2	0	CONH	3
13	H	1, 4	1	CONH	3
14	H	1, 2	1	CONH	3

20

30

## 【0069】

装置による方法グリーン(green)法 (LC/MS)

Micromass プラットフォームII質量分析計を、陽イオンエレクトロスプレーモードで使用、質量範囲100~1000amu(原子質量単位)。

カラム：3.3cm×4.6mm ID、3μm ABZ+PLUS、

流速：3ml/分、

注入量：5μl、

溶媒A：95%アセトニトリル+0.05%蟻酸、

溶媒B：0.1%蟻酸+10mM酢酸アンモニウム、

勾配：0% A/0.7分、0~100% A/3.5分、100% A/1.1分、100~0% A/0.2分。

## 【0070】

パープル(purple)法 (マス用自動分取HPLC)

使用した分取カラムはSupelcosil ABZplus(10cm×2.12cm)であった。

40

50

UV 波長 : 200 ~ 320 nm、

流速 : 2.0 ml / 分、

注入量 : 1 ml、

溶媒 A : 0.1% 鎌酸、

溶媒 B : 95% アセトニトリル + 5% 鎌酸、

勾配 : 100% A / 1 分、 100 ~ 80% A / 9 分、 80 ~ 1% A / 3.5 分、 1% A / 1.4 分、 1 ~ 100% A / 0.1 分。

#### 【0071】

##### ターコイズ(turquoise)法(自動分取HPLC)

使用したプレップカラムはSupelcosil ABZplus (10 cm × 2.12 cm) であった。 10

UV 波長 : 230 nm、

流速 : 4 ml / 分、

注入量 : 2 ml、

溶媒 A : アセトニトリル + 0.05% TFA、

溶媒 B : 水 + 0.1% TFA。

#### 【0072】

##### A法(LC/MS)

Micromass プラットフォームII質量分析計を、陽イオンエレクトロスプレーモードで使用、質量範囲 100 ~ 1000 amu。

カラム : 3.3 cm × 4.6 mm ID、3 μm ABZ+PLUS、 20

流速 : 3 ml / 分、

注入量 : 5 μl、

溶媒 A : 95% アセトニトリル + 0.05% 鎌酸、

溶媒 B : 0.1% 鎌酸 + 10 mM 酢酸アンモニウム、

勾配 : 0% A / 0.7 分、 0 ~ 100% A / 3.5 分、 100% A / 1.1 分、 100 ~ 0% A / 0.2 分。

#### 【0073】

##### B法(LC/MS)

Waters ZQ 質量分析計を、陽イオンエレクトロスプレー mode で使用、質量範囲 100 ~ 1000 amu。 30

カラム : 3.3 cm × 4.6 mm ID、3 μm ABZ+PLUS、

流速 : 3 ml / 分、

注入量 : 5 μl、

溶媒 A : 95% アセトニトリル + 0.05% 鎌酸、

溶媒 B : 0.1% 鎌酸 + 10 mM 酢酸アンモニウム、

勾配 : 0% A / 0.7 分、 0 ~ 100% A / 3.5 分、 100% A / 1.1 分、 100 ~ 0% A / 0.2 分。

#### 【0074】

##### C法(自動分取HPLC)

使用したプレップカラムはSupelcosil ABZplus (10 cm × 2.12 cm) であった。 40

UV 波長 : 230 nm、

流速 : 4 ml / 分、

注入量 : 2 ml、

溶媒 A : アセトニトリル + 0.05% TFA、

溶媒 B : 水 + 0.1% TFA、

勾配 : 0 ~ 40% A / 20 分、 40% A / 20 分、 40 ~ 100% A / 0.3 分、 100% A / 1.5 分、 100 ~ 0% A / 3 分。

#### 【0075】

##### D法(マス用自動分取HPLC)

使用したプレップカラムはSupelcosil ABZplus (10 cm × 2.12 cm) であった。 50

UV 波長 : 200 ~ 320 nm、

流速 : 20 ml / 分、

注入量 : 1 ml、

溶媒 A : 0 . 1 % 醋酸、

溶媒 B : 95 % アセトニトリル + 5 % 醋酸、

勾配 : 100 % A / 1 分、 100 ~ 80 % A / 9 分、 80 ~ 1 % A / 3 . 5 分、 1 % A / 1 . 4 分、 1 ~ 100 % A / 0 . 1 分。

### 【0076】

#### 略語

E t O A c	酢酸エチル	10
M e O H	メタノール	
H P L C	高压液体クロマトグラフィー	
S P E	固相抽出	
L C / M S	液体クロマトグラフィー / 質量分析	
D M F	N , N - ジメチルホルムアミド	
W S C D I	1 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) - 3 - エチルカルボジイミドメチオジド	
H O B t	1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール	
D I P E A	N , N - ジイソプロピルエチルアミン	
M e C N	アセトニトリル	20
R T	室温	
E t O A c	酢酸エチル	
M g S O 4	硫酸マグネシウム	
D M F	ジメチルホルムアミド	

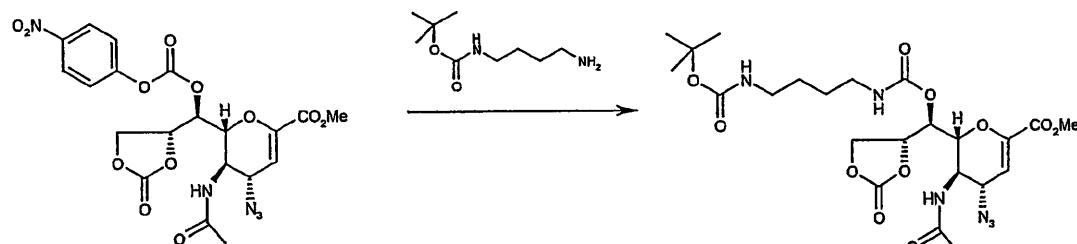
### 【実施例】

### 【0077】

#### 例 1 : 化合物 1 の製造

#### 中間体 1

#### 【化 4】



中間体 1

( 4 S , 5 R , 6 R ) - 5 - アセチルアミノ - 4 - アジド - 6 - [ ( S ) - 4 - ニトロフェノキシカルボニルオキシ ) - ( 2 - オキソ - [ 1 , 3 ] ジオキソラン - 4 R - イル ) - メチル ] - 5 , 6 - ジヒドロ - 4 H - ピラン - 2 - カルボン酸メチルエステル ( Eur. J. Med. Chem. 1999, 34, 563-574 参照 ) ( 2 . 0 0 g , 3 . 8 m m o l ) を、無水トルエンとの共沸を 3 回行うことによって乾燥させた後、3 オングストロームのモレキュラーシーブペレット数個を添加して無水アセトニトリル ( 20 ml ) に溶かした。この攪拌溶液を N - t - プトキシカルボニル 1,4 - ジアミノブタン ( 0 . 7 2 g , 3 . 8 m m o l ) およびトリエチルアミン ( 0 . 4 3 g , 4 . 2 m m o l ) で処理した。混合物を窒素雰囲気下にて 16 時間攪拌した。揮発性物質を真空除去し、黄色の残渣を得た。これを E t O A c ( 50 ml ) に再び溶かし、0 . 5 M H C l ( 30 ml ) 、次ぎにブライン ( 30 ml ) で洗浄した。溶液を乾燥させ ( N a 2 S O 4 ) 、溶媒を真空蒸発させ、クリーム色 40

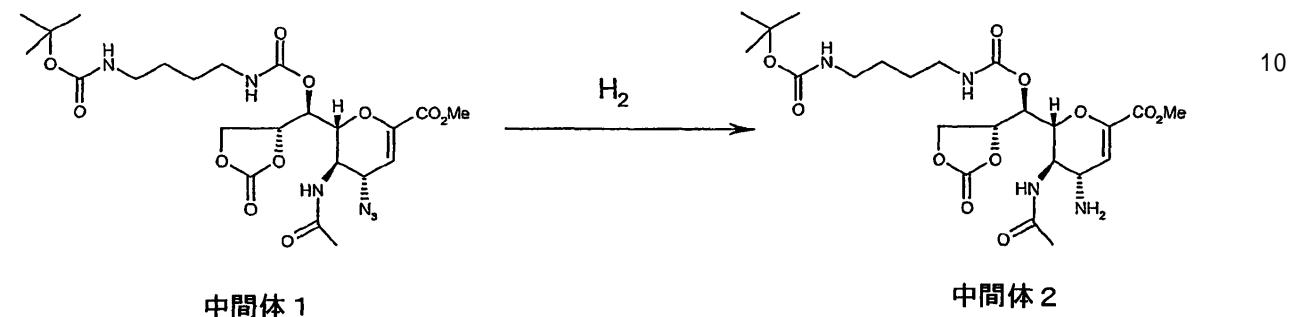
50

の泡沫物質を得た。さらなる精製は Biotope フラッシュクロマトグラフィーにより、最初に EtOAc : シクロヘキサン (1:1)、次ぎに EtOAc を溶離液として行った。溶媒を真空蒸発させ、白色の固体として中間体 1 (1.26 g, 58% 収率)を得た。LC/MS (B 法) では、 $MH^+ = 571$ ;  $T_{REF} = 2.87$  分であった。

[ 0 0 7 8 ]

中間体 2

【化 5】

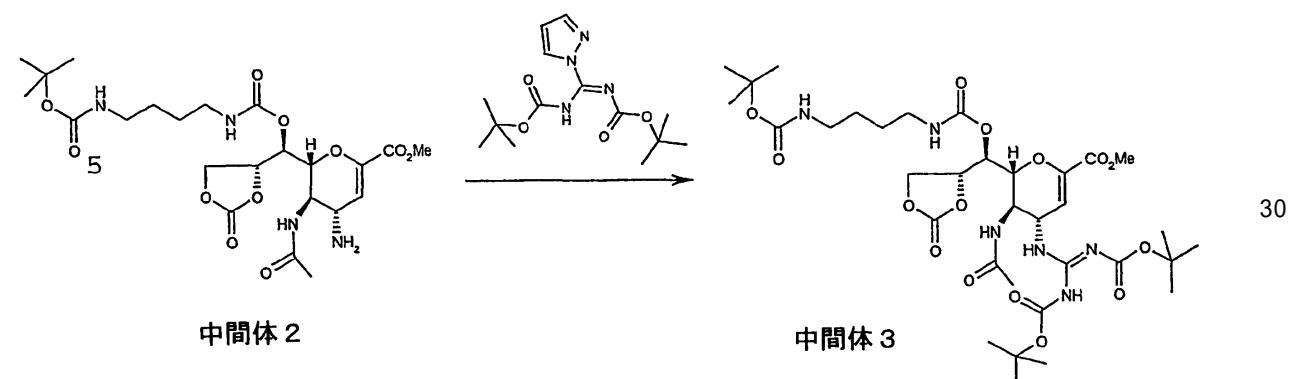


中間体1(0.76g, 1.33mmol)をエタノール(24ml)に溶かし、リンドラー触媒(0.095g)上で16時間、触媒による水素化を行った。触媒を濾去し、溶媒を真空蒸発させ、クリーム色の泡沢物質として中間体2(0.72g, 99%収率)を得た。LC/MS(A法)では、 $MH^+ = 545$ ;  $T_{REF} = 2.24$ 分であった。

[ 0 0 7 9 ]

中間体 3

【化 6】

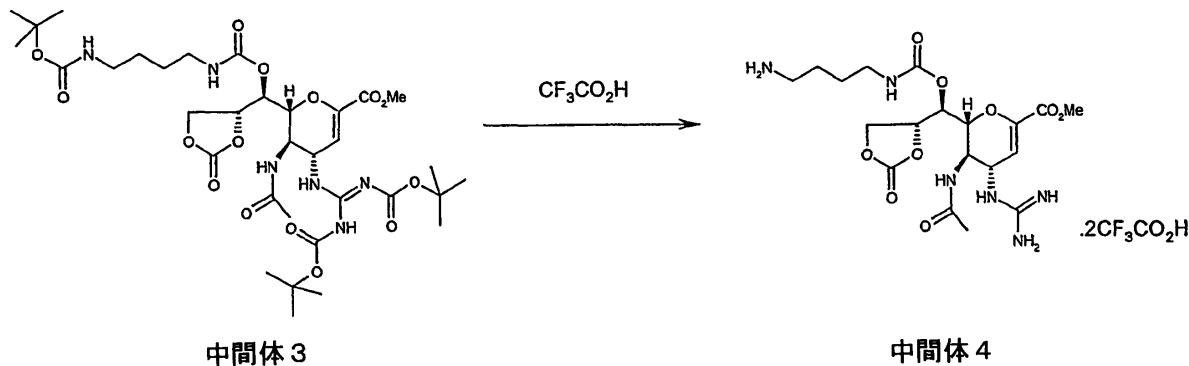


中間体2(0.72g, 1.32mmol)をテトラヒドロフラン(7ml)に溶かし、N,N'-ビス-(t-ブトキシカルボニル)-1-グアニルピラゾール(0.45g, 1.45mmol)で処理した。混合物を窒素雰囲気下にて16時間攪拌した。揮発性物質を真空除去して固体残渣を得、これをBiotopeフラッシュクロマトグラフィーにより、最初にEtOAc:シクロヘキサン(1:1)、次ぎにEtOAc:シクロヘキサン(5:3)を溶離液として精製した。溶媒を真空蒸発させ、白色の固体として中間体3(0.48g, 46%収率)を得た。LC/MS(A法)では、MH<sup>+</sup>=787; T<sub>RE</sub>=3.64分であった。

【 0 0 8 0 】

中間体 4

【化7】

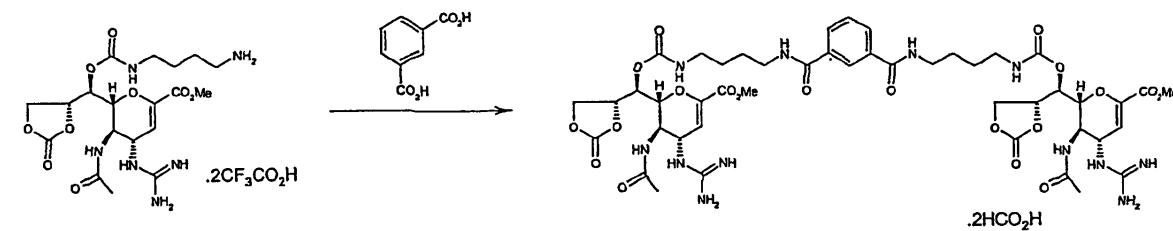


中間体3(0.48g, 0.61mmol)をジクロロメタン(19ml)に溶かした。溶液を氷浴で冷却し、トリフルオロ酢酸(19ml)を5分かけて少量ずつ加えた。次いで、混合物を窒素雰囲気下にて1時間攪拌した後、周囲温度まで温め、さらに16時間攪拌した。揮発性物質を真空除去し、残渣をトルエンと共に沸し、残留するトリフルオロ酢酸を除去した。ジエチルエーテル(20ml)でトリチュレートして白色の固体を得、これを分離し、中間体4(0.50g)を得た。LC/MS(B法)では、(M-H)<sup>-</sup>=485; T<sub>REF</sub>=0.52分であった。

【 0 0 8 1 】

中間体 5

【化 8】

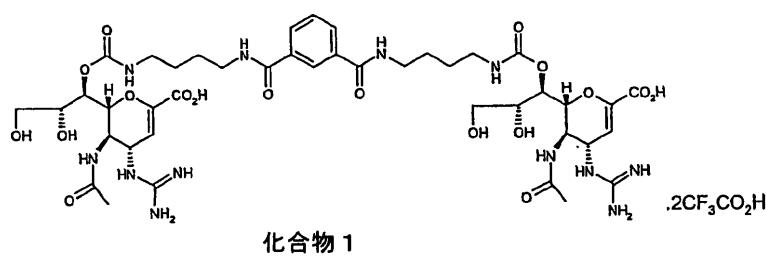
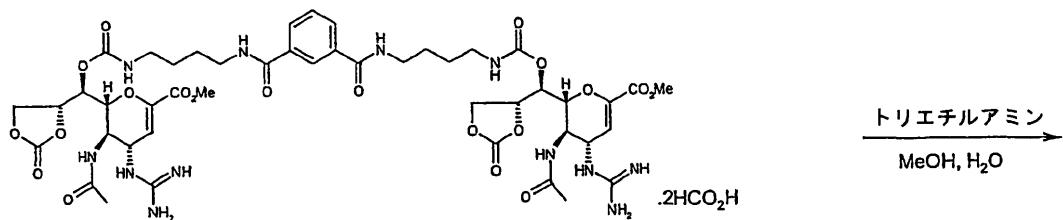


中間体4(0.050g, 0.07mmol)を、無水トルエンとの共沸を3回行うことによって乾燥させた後、無水アセトニトリル(2ml)および無水DMF(1ml)の混合物に溶かした。この溶液をイソフタル酸(0.005g, 0.03mmol)、HOBT(0.010g, 0.07mmol)、WSCDI(0.013g, 0.07mmol)およびDIPAEA(0.026g, 0.20mmol)で連続的に処理した。この混合物を窒素雰囲気下にて16時間攪拌した。揮発性物質を真空除去して黄色の残渣を得、これをマス用分取HPLC(D法)により精製し、白色の固体として中間体5(0.013g)を得た。LC/MS(A法)では、 $(M + 2H^+)/2 = 552$ ;  $T_{RET} = 2.05$ 分であった。

【 0 0 8 2 】

## 化合物 1

## 【化9】



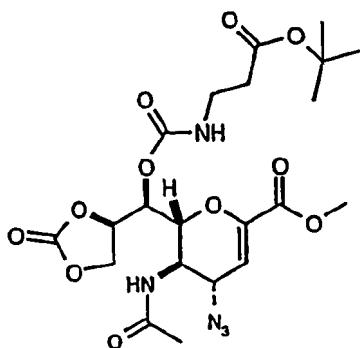
中間体 5 (0.012 g, 0.01 mmol) を水 (0.5 ml) およびメタノール (0.5 ml) の混合物に溶かした。得られた溶液をトリエチルアミン (0.090 g, 過剰) で処理した。この混合物を 50 分間攪拌した後、揮発性物質を迅速に真空除去し、白色の固体残渣を得た。分取 HPLC (C 法) により精製し、白色の固体として化合物 1 (0.002 g) を得た。LC / MS (B 法) では、(M + 2H<sup>+</sup>) / 2 = 512; T<sub>RE</sub><sub>T</sub> = 1.77 分であった。

## 【0083】

例 2：化合物 2 の製造

## 中間体 6

## 【化10】



(4S, 5R, 6R)-5-アセチルアミノ-4-アジド-6-[ (S)-4-ニトロフェノキシカルボニルオキシ]-(2-オキソ-[1,3]ジオキソラン-4R-イル)-メチル]-5,6-ジヒドロ-4H-ピラン-2-カルボン酸メチルエステル (Eur. J. Med. Chem. 1999, 34, 563-574 参照) (4.0 g) をトルエン (50 mL) と共に沸し、MeCN (40 mL) およびトリエチルアミン (1.12 mL) に溶かし、3-アミノブロピオン酸 t - ブチルエステルヒドロクロリド (1.396 g) を添加した。室温にて 3 日後、溶媒を除去し、残渣を EtOAc (150 mL) で希釈した。これを 5% クエン酸溶液 (2 × 50 mL) で洗浄し、乾燥させ (MgSO<sub>4</sub>)、濃縮した。1 : 1 シクロヘキサン : EtOAc、次ぎに 60 : 40、続いて 65 : 35 シクロヘキサン : EtOAc で溶出する Biotage により精製し、無色の泡沢物質として中間体 6 (3.45 g) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6.72 (d, 1H), 5.97 (d, 1H), 5.53 (t, 1H), 5.40 (t, 1H)

10

20

30

40

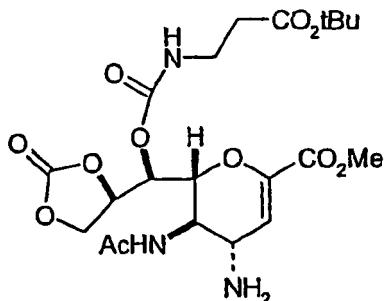
50

, 5.03-4.95 (m, 2H), 4.92 (dd, 1H), 4.74-4.64 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.64-3.54 (m, 1H), 3.38-3.27 (m, 2H), 2.65-2.56 (m, 1H), 2.52-2.43 (m, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.70 (s, 1H), 1.48 (s, 9H).

## 【0084】

中間体7

【化11】



10

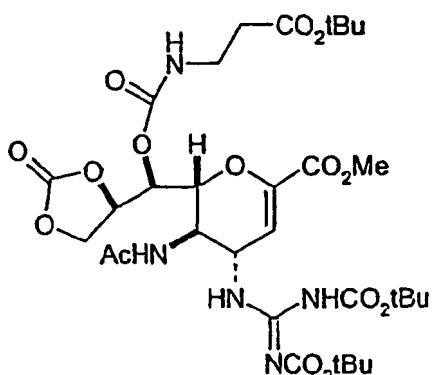
中間体2と同様に、中間体6から製造した。

L C / M S (グリーン法)  $M H^+$  504,  $T_{R E T}$  = 2.22分

## 【0085】

中間体8

【化12】



20

30

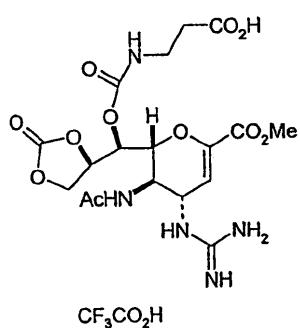
中間体8は中間体3と同様に、中間体7から製造した。

L C / M S (グリーン法)  $M H^+$  744,  $T_{R E T}$  = 3.66分

## 【0086】

中間体9

【化13】



40

中間体8(1.44g)、トリフルオロ酢酸(20mL)、ジクロロメタン(20mL)およびアニソール(2mL)を室温にて3時間攪拌し、その後、揮発性物質を真空除去

50

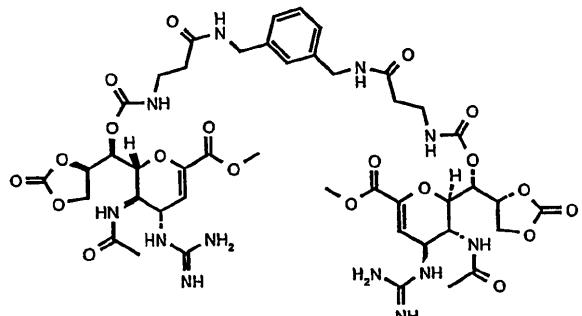
した。残渣を  $\text{Et}_2\text{O}$  ( $2 \times 25 \text{ mL}$ ) でトリチュレートした後、真空乾燥し、白色の固体として中間体 9 (1.22 g) を得た。

L C / M S (グリーン法)  $\text{MH}^+ = 488$ ,  $T_{\text{RET}} = 1.25 \text{ 分}$

【0087】

中間体 10

【化 14】



10

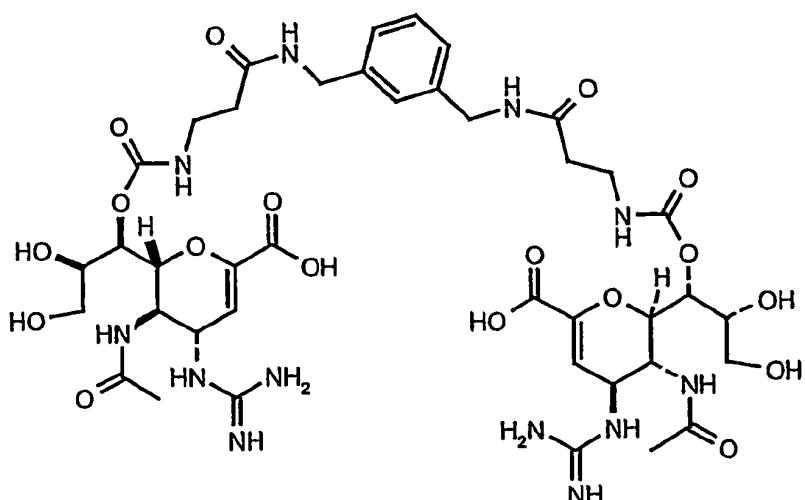
中間体 9 (0.12 g)、DIPSEA (0.14 mL)、m-キシリレンジアミン (0.0132 mL) およびヘキサフルオロリン酸ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリスピロリジノホスホニウム (0.104 g) を室温にて 2 日間混合した後、真空濃縮した。マス用 HPLC (パープル法) により精製し、中間体 10 (0.038 g) を得た。

L C / M S (グリーン法)  $\text{MH}^+ / 2 = 538$ ,  $T_{\text{RET}} = 1.74 \text{ 分}$

【0088】

化合物 2

【化 15】



30

中間体 10 (0.038 g)、水 (1.5 mL)、メタノール (1.5 mL) およびトリエチルアミン (0.5 mL) を室温にて 1 時間混合した。揮発性物質を真空除去し、水性残渣をトリフルオロ酢酸を用いて pH 4 に酸性化した。30 分かけて 0 ~ 17.5% MeCN で溶出する逆相 HPLC (ターコイズ法) により、化合物 2 (7.6 mg) を得た。

L C / M S (グリーン法)  $\text{MH}^+ / 2 = 497$ ,  $T_{\text{RET}} = 1.64 \text{ 分}$

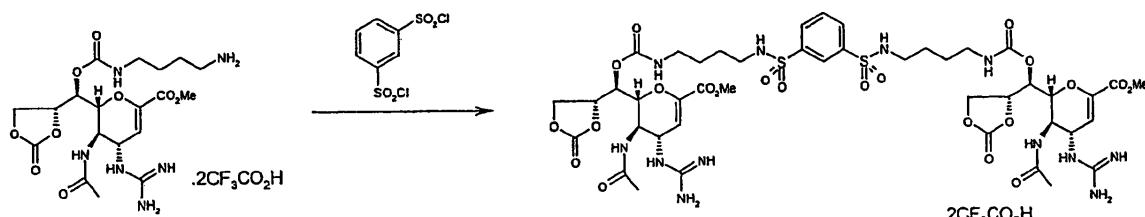
【0089】

例 3：化合物 3 の製造

中間体 11

40

## 【化16】



中間体4

中間体11

10

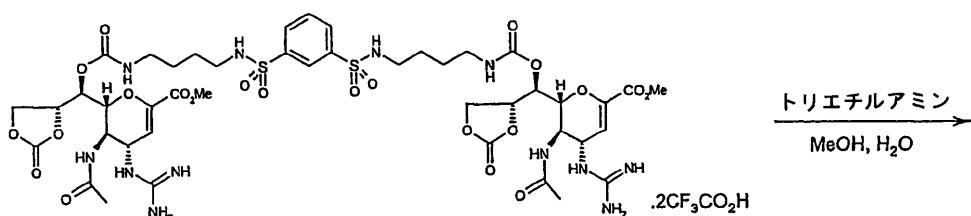
中間体4(0.075g, 0.11mmol)を、無水トルエンとの共沸を3回行うことによって乾燥させた。乾燥させた固体をD I P E A(0.056g, 0.43mmol)を添加した無水クロロホルム(2ml)および無水DMF(1ml)の混合物に溶かした。得られた透明溶液を塩化1,3-ベンゼンジスルホニル(0.014g, 0.05mmol)に添加し、混合物を窒素雰囲気下にて1時間攪拌した。揮発性物質を真空除去して残渣を得、これを逆相SPE(溶離液15%水性アセトニトリル)によりさらに精製し、白色の固体として中間体11(0.020g)を得た。LC/MS(B法)では、 $(M + 2H^+)/2 = 588$ ;  $T_{RET} = 2.09$ 分であった。

## 【0090】

20

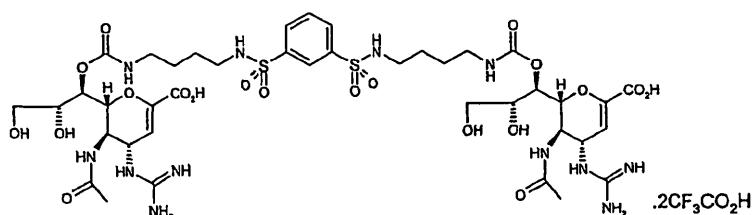
化合物3

## 【化17】



中間体11

30



例3

中間体11(0.020g, 0.014mmol)を水(0.5ml)およびメタノール(0.5ml)の混合物に溶かした。得られた溶液をトリエチルアミン(0.090g, 過剰)で処理した。この混合物を50分間攪拌した後、揮発性物質を迅速に真空除去し、白色の固体残渣を得た。分取HPLC(C法)により精製し、白色の固体として化合物3(0.006g)を得た。LC/MS(A法)では、 $(M + 2H^+)/2 = 548$ ;  $T_{RET} = 1.99$ 分であった。

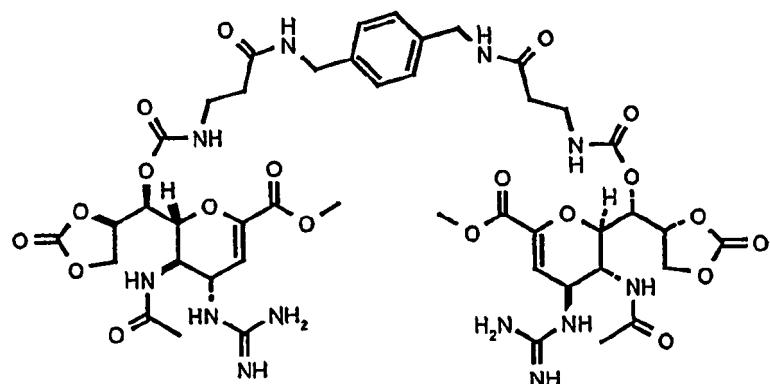
## 【0091】

40

例4：化合物4の製造

## 中間体12

【化18】



10

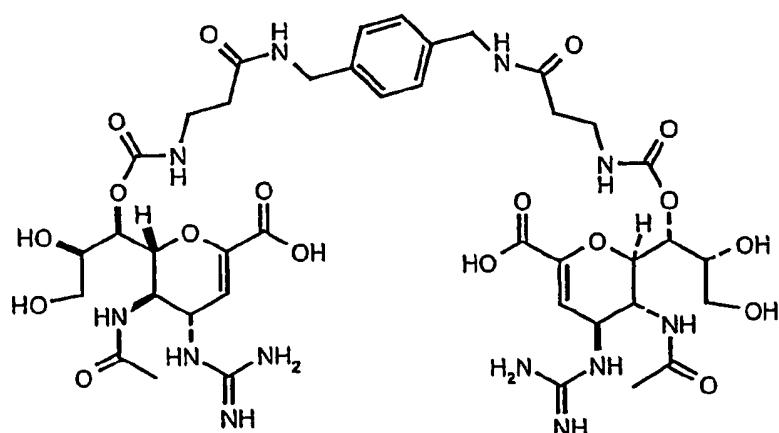
中間体 10 と同様に、中間体 9 および p - キシリレンジアミンから製造し、中間体 12 ( 0 . 0 3 8 g ) を得た。

L C / M S ( グリーン法 )  $MH^+ / 2 \quad 538$ ,  $T_{R E T} = 1 . 94$  分

【0092】

化合物4

【化19】



20

化合物 4 は化合物 2 と同様に、中間体 12 から製造した。

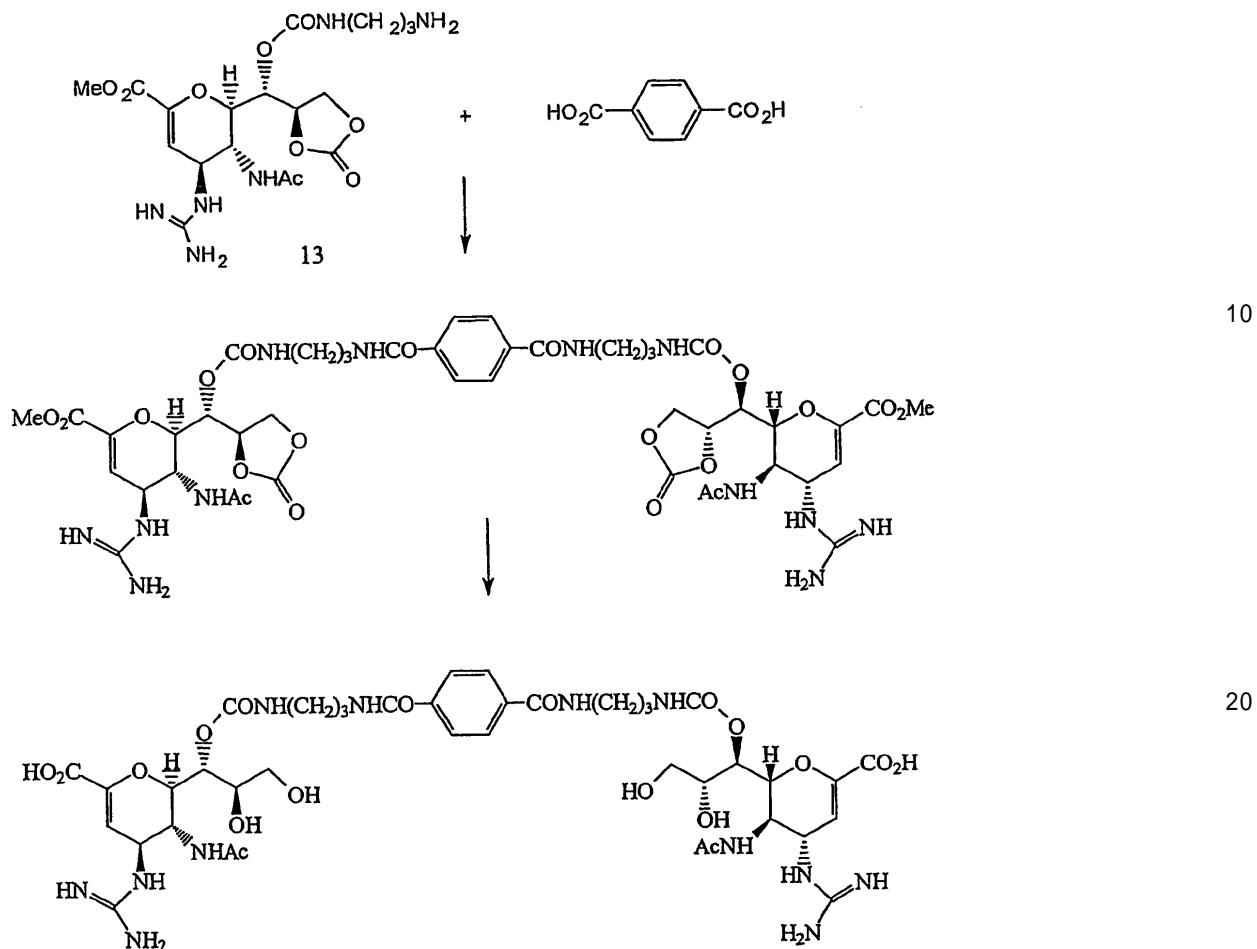
L C / M S ( グリーン法 )  $MH^+ / 2 \quad 497$ ,  $T_{R E T} = 1 . 62$  分

【0093】

例5：中間体13とテレフタル酸との反応による化合物5の製造

30

## 【化 2 0】



アミノプロピル中間体 13 は、例 1 で類似のアミノブチル中間体 4 に関して記載したものとの同様の一連の工程に従って製造した。

## 【0094】

テレフタル酸 (5.93 mg, 0.0357 ミリモル)、中間体 13 (5.0 mg, 0.071 ミリモル) およびヘキサフルオロリン酸ベンゾトリアゾール - 1 - イルオキシ - トリス (ジメチルアミノ) ホスホニウム (BOP) (37.7 mg, 0.0852 ミリモル) を DMF (2 ml) に溶かし、これにジイソプロピルエチルアミン (DIEA, 91.8 mg, 0.71 ミリモル) を添加した。得られた混合物を室温にて 5 時間攪拌した。反応混合物を Waters Symmetry C18 カラム (5 ミクロン 19 × 100 mm)、および下表に示す勾配溶出を用いた逆相 HPLC により精製し、保護された二量体 (19.5 mg, 51%)、MS 1075 (M + H)<sup>+</sup>を得た。

## 【0095】

【表2】

時間(分)	A%	B%	流速(ml/分)
0	100	0	6
2	100	0	6
22	40	60	6
32	40	60	6
35	100	0	6
42	100	0	6

10

A = 0 . 1 % トリフルオロ酢酸を含有する水

B = 0 . 0 6 % トリフルオロ酢酸を含有するアセトニトリル

## 【0096】

保護された二量体化合物(19.5mg, 0.0182ミリモル)を水 / メタノール / トリエチルアミンの4 : 4 : 1比混合物(2ml)に溶かし、室温にて1時間攪拌した後、減圧下にて蒸発乾固させた。残留するトリエチルアミンを、水を添加し、減圧下にて蒸発させることを繰り返して除去した。残渣をWaters Symmetry C18カラム(5ミクロン19×100mm)、および下表に示す勾配溶出を用いた逆相HPLCにより精製し、凍結乾燥後、白色の固体として二量体5(10.8mg, 60%)を得た。

20

## 【0097】

【表3】

時間(分)	A%	B%	流速(ml/分)
0	100	0	6
2	100	0	6
22	60	40	6
32	60	40	6
35	100	0	6
42	100	0	6

30

A = 0 . 1 % トリフルオロ酢酸を含有する水

B = 0 . 0 6 % トリフルオロ酢酸を含有するアセトニトリル

MS 498 . 3 (M + 2H)<sup>2+</sup>, 995 . 2 (M + H)<sup>+</sup>

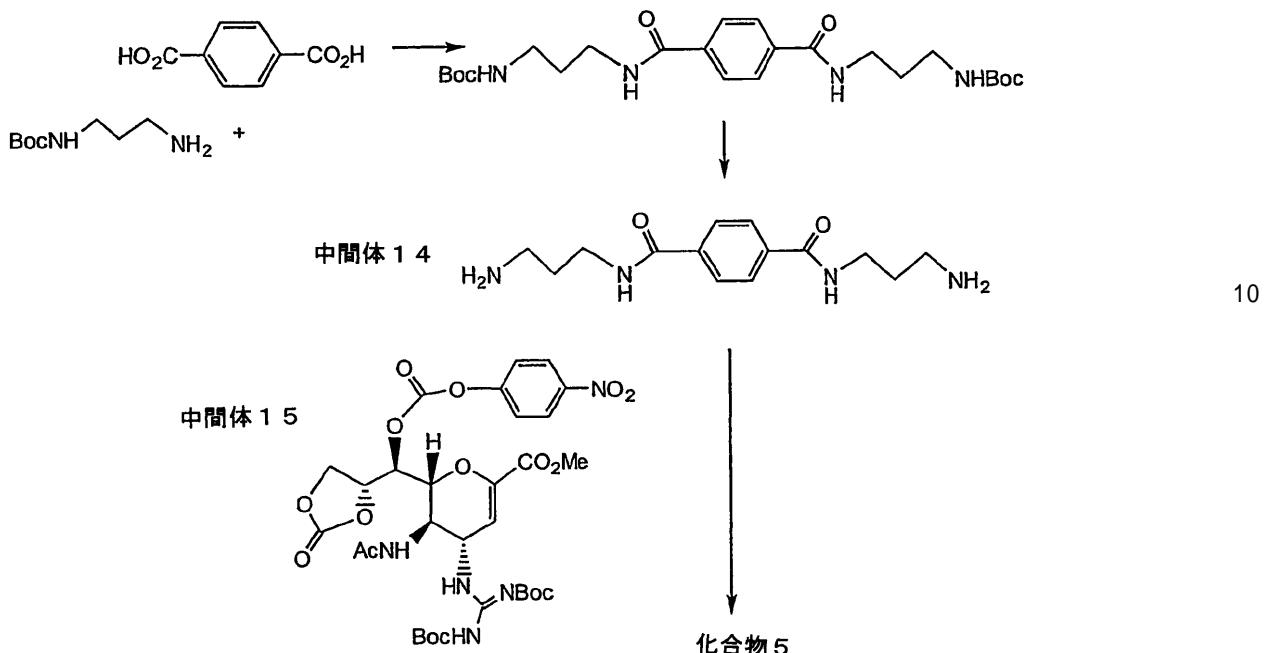
<sup>1</sup>H-nmr(D<sub>2</sub>O)(ppm): 1.79(t, 4H); 1.90(s, 6H); 3.14(t, 4H); 3.42(m, 6H); 3.62(dd, 2H); 3.98(m, 2H); 4.08(dd, 2H); 4.37(dd, 2H); 4.52(dd, 2H); 4.88(d, 2H); 5.92(d, 2H); 7.79(s, 4H).

40

## 【0098】

例6：中間体14と15との反応による化合物5の製造

## 【化21】



## 【0099】

中間体 14

D M F (12 m l) 中のテレフタル酸 (141.9 m g, 0.85 ミリモル) および N - B o c - 1 , 3 - ジアミノプロパン (300 m g, 1.72 ミリモル) の懸濁液に室温にて攪拌しながらトリエチルアミン (392 m g, 3.88 ミリモル) を添加した。この白色の懸濁液に B O P (771 m g, 1.74 ミリモル) を数回に分けて添加した。1回目のB O P (約 300 m g) を添加した後、反応混合物は透明溶液となった。反応混合物を室温にて 16 時間攪拌した後、真空蒸発させて D M F を除去した。残渣を水 (10 m l) 中で、室温にて 3 時間攪拌した後、固体を濾過により回収した。固体を水 (4 × 5 m l) で洗浄し、濾過した。濾過ケーキを温メタノール (4 m l) に溶かした後、水 (9 m l) で希釈した。懸濁液を室温にて 3 時間攪拌した後、濾過した。固体を水 (4 × 5 m l) で洗浄した後、沸騰メタノール (4 m l) に溶かし、室温まで冷却した。結晶懸濁物を室温にて一晩振盪した。固体を濾別し、冷メタノールで洗浄し、風乾し、白色の固体としてビス - アミド生成物 (365 m g, 89.7%) を得た、M S 479 (M + H)<sup>+</sup>。B o c 保護したビス - アミド (360 m g) をトリフルオロ酢酸 (T F A) (2 m l) およびジクロロメタン (2 m l) の混合物中で、室温にて 4 時間攪拌した後、真空下にて蒸発乾固させた。残渣を水 (6 m l) に溶かし、凍結乾燥して過剰な T F A を除去し、白色の固体として中間体 14 (T F A 塩) (379 m g, 98%)、M S 279 (Base + H)<sup>+</sup>を得た。

## 【0100】

中間体 15

4 - ジメチルアミノピリジン (120 m g, 0.982 m m o l) を含有する乾燥ピリジン (3 m l) 中、(2R, 3R, 4S) - 3 - (アセチルアミノ) - 4 - {[(t - プトキシカルボニル)アミノ] [(t - プトキシカルボニル)イミノ]メチル}アミノ) - 2 - { (S) - ヒドロキシ [(4R) - 2 - オキソ - 1 , 3 - ジオキソラン - 4 - イル]メチル} - 3 , 4 - ジヒドロ - 2H - ピラン - 6 - カルボン酸メチル (113 m g, 0.197 m m o l) の溶液を 22 ℃ にてクロロ蟻酸 4 - ニトロフェニル (199 m g, 0.987 m m o l) で処理した。混合物を 22 ℃ にて 17 時間攪拌した後、ピリジンを真空除去した。残渣をシクロヘキサン - 酢酸エチル (4 : 1 ~ 2 : 1) で溶出する S P E クロマトグラフィー (5 g カートリッジ) により精製し、淡黄色のガム質として中間体 15

(96 mg, 66%)を得た。

NMR (CDCl<sub>3</sub>) 11.3 (1Hs, NH), 8.58 (1H brd, NH), 8.26 (2H, AA'BB', 芳香族 CH's), 7.56 (2H, AA'BB', 芳香族 CH's), 6.82 (1H brd, NH), 5.93 (1Hd, =CH), 5.54 (1Hdd, CH), 5.20 (1Hdt, CH), 5.10 (1Hdt, Ch), 4.78 (2Hm, 2xCH), 4.44 (1H brq, CH), 4.28 (1Hdd, CH), 3.82 (3Hs CH3), 1.91 (3Hs, CH3), and 1.48 (18Hs, 2x tert butyl).

L C M S R<sub>t</sub> = 3.87分. (M H<sup>+</sup> = 738, M H<sup>-</sup> = 736)

### 【0101】

#### 化合物5

中間体14(38.9mg, 0.0768ミリモル)および中間体15(2当量)をピリジン(0.5ml)に溶かし、得られた混合物を室温にて16時間攪拌した後、真空下にて蒸発乾固させた。この残渣をジクロロメタン(15ml)と水(3ml)とで分液した。有機層を水(2×2ml)で洗浄した後、蒸発乾固させてガム状残渣を得、これをシリカゲルクロマトグラフィー(20g、溶媒 酢酸エチル/メタノール 10/1)に付した。このようにして、保護された形の化合物5を白色の泡沢物質として単離した(56mg, 49%).

この保護された化合物(50mg, 0.0339ミリモル)を、例5で記載したようにTFA、次ぎに水性トリエチルアミンで処理し、化合物5(16.8mg, 50%)、MS 995(M+H)<sup>+</sup>を得た。

### 【0102】

#### 例7:

本発明の化合物6~14(表1)を上記の例と同様の方法で製造し、NMRおよび/またはマススペクトルデータを以下に示す。

### 【0103】

10

20

【表 4】

化合物 6MS 540.6 (M+2H)<sup>2+</sup>

<sup>1</sup>H-nmr (D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 1.43 (br, 8H); 1.51 (br, 4H); 1.65 (br, 4H); 2.00 (s, 6H); 3.12 (m, 4H); 3.41 (m, 4H); 3.43 (dd, 2H); 3.70 (dd, 2H); 4.07 (dd, 2H); 4.18 (dd, 2H); 4.46 (dd, 2H); 4.58 (dd, 2H); 4.98 (dd, 2H); 5.98 (d, 2H); 7.85 (s, 4H). 10

化合物 7MS 1079 (M+2H)<sup>2+</sup>, 540.6 (M+2H)<sup>2+</sup>, 360.5 (M+3H)<sup>3+</sup>化合物 8MS 1079.5 (M+2H)<sup>2+</sup>, 540.25 (M+2H)<sup>2+</sup>, 360.5 (M+3H)<sup>3+</sup> 20

<sup>1</sup>H-nmr (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 1.35 (br, 8H); 1.45 (br, 4H); 1.55 (br, 4H); 1.90 (s, 6H); 3.03 (m, 4H); 3.35 (m, 4H); 3.44 (dd, 2H); 3.56 (dd, 2H); 3.95 (m, 2H); 4.15 (dd, 2H); 4.35 (dd, 2H); 4.52 (dd, 2H); 4.90 (dd, 2H); 5.82 (d, 2H); 7.48 (t, 1H); 7.88 (d, 2H); 8.19 (s, 1H).

化合物 9MS 1039.1 (M+H)<sup>+</sup>, 520.3 (M+2H)<sup>2+</sup> 30

<sup>1</sup>H-nmr (D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 1.79 (t, 4H); 1.90 (s, 6H); 3.19 (t, 4H); 3.46 (m, 6H); 3.60 (dd, 2H); 4.00 (m, 2H); 4.08 (dd, 2H); 4.37 (dd, 2H); 4.47 (dd, 2H); 4.88 (dd, 2H); 5.88 (d, 2H); 8.28 (s, 1H); 8.49 (s, 2H).

化合物 10MS 1123.7 (M+H)<sup>+</sup>, 562.3 (M+2H)<sup>2+</sup> 40

<sup>1</sup>H-nmr (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 1.40 (br, 8H); 1.51 (br, 8H); 1.93 (s, 6H); 2.19 (s, 3H); 3.08 (br, 4H); 3.19 (br, 4H); 3.52 (dd, 2H); 3.65 (dd, 2H); 4.01 (m, 2H); 4.16 (dd, 2H); 4.35

(dd, 2H); 4.53 (dd, 2H); 4.98 (dd, 2H); 5.89 (d, 2H); 7.10 (dd, 2H); 7.40 (s, 1H).

### 化合物 1 1

MS 995.1 ( $M+H$ )<sup>+</sup>, 498.3 ( $M+2H$ )<sup>2+</sup>

<sup>1</sup>H-nmr ( $D_2O$ ) δ (ppm): 1.75 (t, 4H); 1.90 (s, 6H); 3.15 (t, 4H); 3.45 (m, 6H); 3.60 (dd, 2H); 3.98 (m, 2H); 4.05 (dd, 2H); 4.35 (dd, 2H); 4.45 (dd, 2H); 4.92 (dd, 2H); 5.91 (d, 2H); 7.50 (t, 1H); 7.92 (d, 2H); 8.07 (s, 1H).

10

### 化合物 1 2

MS 995.3 ( $M+H$ )<sup>+</sup>, 498.3 ( $M+2H$ )<sup>2+</sup>

<sup>1</sup>H-nmr ( $D_2O$ ) δ (ppm): 1.78 (t, 4H); 1.92 (s, 6H); 3.15 (t, 4H); 3.40 (t, 4H); 3.46 (dd, 2H); 3.60 (dd, 2H); 3.95 (m, 2H); 4.00 (dd, 2H); 4.35 (dd, 2H); 4.50 (dd, 2H); 4.93 (dd, 2H); 5.83 (d, 2H); 7.62 (dd, 4H).

20

### 化合物 1 3

MS 1023.1 ( $M+H$ )<sup>+</sup>, 512.3 ( $M+2H$ )<sup>2+</sup>

<sup>1</sup>H-nmr ( $D_2O$ ) δ (ppm): 1.65 (t, 4H); 1.85 (s, 6H); 3.02 (t, 4H); 3.15 (t, 4H); 3.42 (dd, 6H); 3.52 (s, 4H); 3.59 (dd, 2H); 3.98 (m, 2H); 4.12 (dd, 2H); 4.40 (dd, 2H); 4.50 (dd, 2H); 4.90 (dd, 2H); 5.90 (d, 2H); 7.30 (s, 4H).

30

### 化合物 1 4

MS 1023.3 ( $M+H$ )<sup>+</sup>, 512.4 ( $M+2H$ )<sup>2+</sup>

<sup>1</sup>H-nmr ( $D_2O$ ) δ (ppm): 1.61 (t, 4H); 1.91 (s, 6H); 3.00 (t, 4H); 3.13 (t, 4H); 3.40 (dd, 6H); 3.57 (s, 4H); 3.58 (dd, 2H); 3.99 (m, 2H); 4.10 (dd, 2H); 4.40 (dd, 2H); 4.50 (dd, 2H); 4.90 (dd, 2H); 5.88 (d, 2H); 7.32 (m, 4H).

40

### 【0104】

例8：化合物5の大規模製造および精製

TFA塩からHCl塩へ

例6で製造した化合物5の2TFA塩(10g)をMeOH/水(1:1 v/v)(150ml)に溶かし、予洗したAmberlite IRA-410(塩化物型)イオン交換カラム(4×50cm)に注入した。MeOH/水(1:1 v/v)を用いてこのカラムから化合物5の2HCl塩を溶出させた。2HCl塩を含有する画分を真空濃縮し、白色の

50

泡沫物質を得た。

**【0105】**

脱保護

2HCl塩(10.4g)をメタノール(144ml)および水(144ml)に溶かし、氷冷した。トリエチルアミン(7.75ml)を3回に分け、10分かけて添加した。この反応を逆相HPLCによりモニタリングした。反応が完了したら、反応混合物を真空にて蒸発乾固させた。

**【0106】**

トリエチルアミンを含有する不純な化合物5の溶液を蒸発乾固させ、固体(10.5g)を得た。この固体を80mlの水に溶かし、5mlのオルトリン酸を添加してサンプル溶液がpH2となるようにした。この溶液(約100ml)を7ミクロンのKromasil C8カラム(25cm×5cm内径)を用いた分取HPLCに付した。化合物5のクロマトグラフィー分離は、イオン対勾配溶出(最初の移動相Aは8g/lのラウリル硫酸ナトリウム(SLS)および2ml/lのH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>を添加したH<sub>2</sub>Oとした)を用いて行った。最終移動相Bは8g/lのSLSおよび2ml/lのH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>を添加した60%CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>Oであった。グラジエント時間は0~100%Bを70分とし、100%Bで20分間保持した。流速は80ml/minに設定した。合計4回、各25mlを注入した。検出器は260nmに設定した。各50mlの画分をHPLCにより測定されたそれらの分析純度に従って量を見積もったところ、>97.5%であった。4回のクロマトグラフィー分離でのこの見積もり量は約1800mlであった。大部分の硫酸およびラウリル硫酸イオンを除去するため、塩化物型のIRA-410イオン交換樹脂1200mlに水性バルクを添加し、この溶液を1時間攪拌した。樹脂を濾別し、400mlのH<sub>2</sub>Oで洗浄し、これを濾液と合わせた。次いで、水相を塩化物型IRA-410カラム(15cm×2.5cm内径)に通し、残留する硫酸またはラウリル硫酸イオンの夾雑物を除去した。次いで、カラムを50mlのH<sub>2</sub>Oで洗浄し、濾液と合わせた。40での回転蒸発によりCH<sub>3</sub>CNを除去した後、pHを7.0に調整した。水相を2分した。一方の画分をAmberchrom CG-161カラム(25cm×2.5cm)に通し、化合物5を吸着させた。このカラムは逆相充填材料としての機能を果たすポリスチレンジビニルベンゼン樹脂である。このカラムを、洗液に塩化物イオンが存在しなくなるまで(これはAgNO<sub>3</sub>溶液との反応が起こらないことで確認した)、300mlのH<sub>2</sub>Oで洗浄した。カラムを30%CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O(500ml)で溶出した。この工程をもう一方の画分でも繰り返し、溶出物を合わせた。回転蒸発により溶媒(11)を除去し、5.7gの固体を得た。

**【0107】**

精製した材料を水(300ml)に溶かし、ジクロロメタン(3×200ml)で洗浄した。次いで、この水性溶液を凍結乾燥し、標題の化合物を得た。

<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O) 7.85 (s, 4H, 4x ArH), 5.67, 5.57 (2xd, 2H, J=2.1Hz, 2xCH), 4.95 (dd, 2H, J=9.0, 1.6Hz, 2xCH), 4.52 (dd, 2H, J=10.5, 1.6Hz, 2xCH), 4.42 (dd, 2H, J=9.3, 2.2Hz, 2xCH), 4.14-4.04 (m, 4H, 4xCH), 3.67 (dd, 2H, J=12, 3Hz, 2xCH), 3.54-3.44 (m, 6H, 2xCH +2xCH<sub>2</sub>), 3.21 (t, 4H, J=6.7Hz, 2xCH<sub>2</sub>), 1.96 (s, 6H, 2xCH<sub>3</sub>), 1.85 (m, 4H, 2xCH<sub>2</sub>). 40

**【0108】**

微量分析

理論値： C 45.02% ; H 6.23% ; N 15.75%

測定値： C 44.80% ; H 6.68% ; N 14.89%

L C - M S (A法)では、(M+2H)<sup>2+</sup>=498; T<sub>RET</sub>=1.67分であった。

**【0109】**

例9：式(I)の化合物の評価 - インフルエンザウイルス複製の阻害

細胞変性作用(CPE)アッセイを、基本的にはWatanabe et al.(J. Virological Methods, 1994 48 257)によって記載されたように行った。MDCK細胞を本発明の化合物の連続希釈物の存在下で所定の接種量のウイルス(試験によって、72時間以内に十分なC

10

20

30

40

50

P E を引き起こすに足る最少量であり、公開された標準と一致すると考えられる濃度で対照化合物に感受性を示すと判断されたもの)に感染させた。培養物を 5 % CO<sub>2</sub> 霧囲気下、37 にて最大 72 時間インキュベートした。公開された方法(例えば、Watanabe et al., 1994 参照)に従って、ウイルス染色剤、臭化 3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウム(MTT)の代謝を介して、CPE の程度、さらにはウイルス複製を調べた。CPE を 50 % 阻害した化合物濃度(ID<sub>50</sub>)を曲線の当てはめに関するコンピュータープログラムを用いて算出した。インフルエンザ A / シドニー / 5 / 97 および B / ハルビン / 7 / 95 ウィルスをアッセイし、その結果を表 2 に示している。また、WO00/55149 にて明示された化合物および化合物 A との比較データも下記表 2 に示す。

10

【0110】

【表 5】

表 2

	ID <sub>50</sub> μg/ml	ID <sub>50</sub> μg/ml
種類	A / シドニー / 5 / 97 +	B / ハルビン / 7 / 95
化合物 A	0.023+/-0.024	0.013+/-0.011
化合物 2	0.0002	0.0004
化合物 3	0.0001	0.00007
化合物 4	0.0003	0.0004
化合物 5	0.0002	0.0007
化合物 6	0.0002	0.0009
化合物 7	0.0007	0.0008
化合物 8	0.0004	0.0009
化合物 9	0.0001	0.0003
化合物 10	0.0002	0.0006
化合物 11	0.0001	0.0001
化合物 12	>0.1	0.0001
化合物 13	0.0001	0.0003
化合物 14	0.0002	0.0003
化合物番号 8*	0.0007, 0.0005	0.007+/-0.01
化合物番号 10*	0.057	>0.1

\* WO00/55149 から引用

+ WO00/55149 に記載のデータはウイルス A 型 H3N2 单離株 A / シドニー / 5 / 97 ではなく、H3N2 单離株 A / ピクトリア / 3 / 75 に関するものである。このようなデータを比較することで、in vitro において数種類の異なるウイルスに対して分析する際、当業者ならば、ある化合物の抗ウイルス力値が異なることが珍しくないことが分かるであろう。例えば、Woods et al(Antimicrob Agents Chemother 1993 37: 1473-9)は、最近の臨床单離株に関する in vitro アッセイにおいて化合物 A が広範な EC<sub>50</sub> 値(0.02 ~ 0.16 μM)を示すことを報告している。よって、化合物 8 がこれまでの H3N2 单離株 A / ピクトリア / 3 / 75 よりも最近のインフルエンザ A 型 H3N2 单離株 A / シドニー / 5 / 97 に関する CPE アッセイにおいて有効であることが分かった。

20

【0111】

表 2 に示したデータは、化合物 2 ~ 14 が、極めて有効な化合物 A よりも実質的に有効であることに加え、WO00/55149 の化合物 8 および 10 よりも A / シドニー / 5 / 97 に対していっそう有効であり、かつ最近のインフルエンザ B 单離株 B / ハルビン / 7 / 95 に対しても実質的に有効であることを示している。

40

50

## 【0112】

例10：プラーク減少アッセイ

Mardin Darbyイヌ腎臓(MDCK)細胞を6ウェル組織培養プレートに播種し、常法によって密集するまで増殖させる。インフルエンザウイルスを最少量の0.2%ウシ血清アルブミンを添加したリン酸緩衝生理食塩水で希釈し、各ウェル当たり推定力価50~100プラーク形成単位(pfu)とした。5%CO<sub>2</sub>雰囲気下、37にて1時間、MDCK細胞に吸着させた後、ウイルス接種材料を吸引し、プラークが形成されるまで(一般に2~4日)5%CO<sub>2</sub>雰囲気下、37にて、室温で培地を固化するのに十分な塞天またはアガロース(一般に1~2%)を含有するウイルス増殖培地(至適濃度のBSA、トリプシンおよびインスリン/トランスフェリン/セレンを添加した最少イーグル培地)で置き換える。プラークは計数前に好適な染色剤(例えば、ホルマリン加生理食塩水中0.4%クリスタルバイオレット)を用いて可視化することができる。抗ウイルス力価はプラーク数を未処理の対照値を50%減少させる被験物質の濃度として表される(EC<sub>50</sub>)。

## 【0113】

## 【表6】

例	EC <sub>50</sub> ng/ml					
	PRA					
	A/WSN*	A/Vic*	A/Syd*	A/New*	A/Pan*	A/Bay*
化合物 A 5	56, >100 0.02	5.5 +/- 8.2 0.003	2.4 0.05	0.27, 0.23 0.06	2.7, 3 0.03	35 0.009
アマンタジン オセルタミビル		220 0.11		11 0.23	157 0.3	

\* A / W S N / 3 3 B V L V 0 9 ( H 1 N 1 )

A / ビクトリア / 3 / 7 5 B V L V 0 1 7 ( H 3 N 2 )

A / シドニー / 5 / 9 7 B V L V 0 1 5 ( H 3 N 2 )

A / ニューカレドニア / 2 0 / 9 9 B V L V 0 0 8 ( H 1 N 1 )

A / パナマ / 2 0 0 7 / 9 9 B V L V 0 0 8 ( H 3 N 2 )

A / バイエルン / 7 / 9 5 B V L 0 0 6 ( H 1 N 1 )

## 【0114】

## 【表7】

例	EC <sub>50</sub> ng/ml	
	PRA	
	B/HongK*	B/Yam*
A 5	21 +/- 6 0.316	0.2, 3.1 0.022
アマンタジン タミフル	>10000 32	2061 0.7

\* B / ビクトリア / 1 / 6 7

B / ホンコン / 5 / 7 2 B V L V 0 1 2

B / ハルビン / 7 / 9 5 B V L V 0 0 8

B / 山梨 / 1 6 6 / 9 8 B V L V 0 0 7

## 【0115】

例11：長時間作用性の評価

10

20

30

40

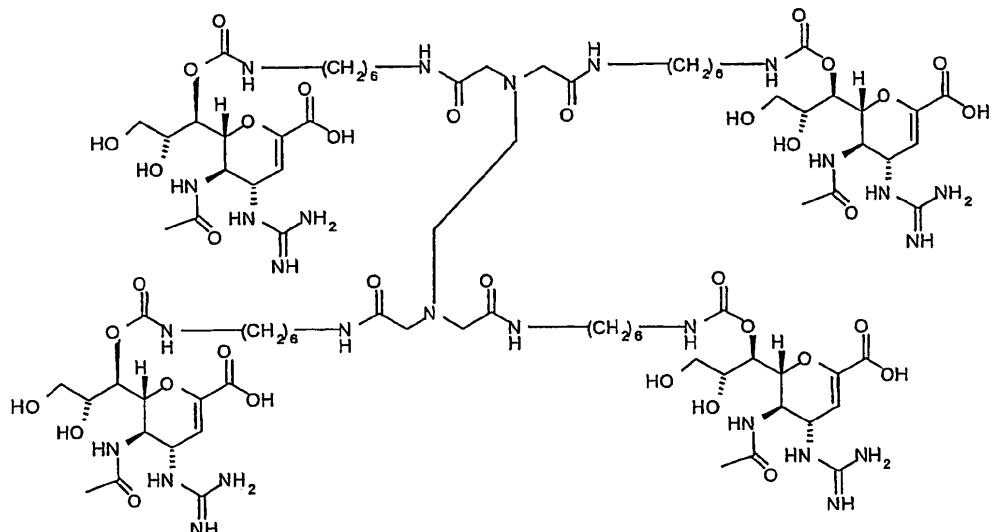
50

齧歯類を麻酔し、目的化合物を気管内経路によって 0.8 ml / kg の用量で投与する。次いで、完全に回復するまで齧歯類を垂直位に保つ。投与後、種々の時点、例えば、2、8、24 および 48 時間の時点で肺組織における化合物のレベルを分析法によって評価する。この種の化合物の検出に好適なものであればいずれの分析法を用いてもよい。化合物のレベルが特定の分析法の感度の範囲を下回った時間によって肺組織における化合物の滞留時間を決定する。

**【0116】**

選択された化合物のラット肺滞留データを以下に示す。全ての試験では、比較のため、同時投与した内部標準、すなわち、国際特許公開 WO 02 / 20514 の化合物 3 が含まれることに留意のこと。データは以下に示す構造を持つこの化合物に対する比率として表される。

**【化 22】**



化合物 3

**【0117】**

比較のため、化合物 A のデータも示している。標準濃度に対する化合物濃度の比率として表した場合、本発明の化合物は 7 日時点での滞留が化合物 A よりも有意に高い。

**【0118】**

10

20

30

【表8】

## ラット肺滞留アッセイの結果

時点	化合物	用量 [cmpd]	平均 [cmpd]	[PCT AU 01/01128 化合物3]	平均[PCT AU 01/01128 化合物3]	比率平均 [肺]
時間		mg/kg	ng/g	ng/g	ng/g	[cmpd]/PCT AU01/01128 化合物3
48	化合物5	0.1	1325		1888	
48	化合物5	0.1	750	951	1138	1403
48	化合物5	0.1	778		1184	
168	化合物5	0.1	636		1479	
168	化合物5	0.1	300	403	761	984
168	化合物5	0.1	272		712	
48	化合物1	0.1	2281		4802	
48	化合物1	0.1	650	1278	1406	2874
48	化合物1	0.1	902		2413	
168	化合物1	0.1	280		629	
168	化合物1	0.1	611	372	1568	915
168	化合物1	0.1	227		549	
48	化合物3	0.1	2457		4802	
48	化合物3	0.1	675	1410	1406	2874
48	化合物3	0.1	1097		2413	
168	化合物3	0.1	245		629	
168	化合物3	0.1	544	329	1568	915
168	化合物3	0.1	199		549	
48	化合物A (ザナミビル)	0.1	421		698	
48	化合物A (ザナミビル)	0.1	369	352	1901	1368
48	化合物A (ザナミビル)	0.1	267		1507	
168	化合物A (ザナミビル)	0.1	91		815	
168	化合物A (ザナミビル)	0.1	47	61	925	750
168	化合物A (ザナミビル)	0.1	45		512	

## 【0119】

## 例12：長時間作用性および効果の別の評価

マウス感染プロトコールについてはこれまでに記載した(1~4)。軽く麻酔したマウスの外鼻孔にインフルエンザウイルスを接種する。

処置法および管理 一用量の化合物を所定の時点で、感染最大10日前、好ましくは、感染4~7日前、または感染後、好ましくは、感染直後および感染後最大48時間の時点で投与する。ほとんどの試験では、効果は、非致死株のインフルエンザを用い、肺におけるウイルス力値の低下によって評価する。感染前に化合物を投与したマウスでは、感染後1日で、または感染後数日で、好ましくは、感染1~4日後に肺を摘出する。ホモジナイズした肺サンプルを確立された方法によりウイルスについて評価し、ウイルス量の力値を推定し、未処置マウスの肺のウイルス力値と比較する。

## 【0120】

10

20

30

40

50

マウス馴化致死株のインフルエンザを用いる試験では、効果は、未処置のマウスと比べた場合の生存率および／または生存数の増加によって評価する。

【0121】

参照文献

【表9】

1. Ryan, D.M., J. Ticehurst, M.H. Dempsey, and C.R. Penn, 1994. Inhibition of influenza virus replication in mice by GG167 (4-guanidino-2,4-dideoxy-2,3-dehydro-N-acetylneuraminic acid) is consistent with extracellular activity of viral neuraminidase (sialidase). *Antimicrob. Agents and Chemother.* 38 (10):2270-2275. 10
2. von Itzstein M., W. -Y. Wu, G.B. Kok, M. S. Pegg, J.C. Dyason, B. Jin, T.V. Phan, M.L. Smythe, H.F. White, S.W. Oliver, P.M. Colman, J.N. Varghese, D.M. Ryan, J.M. Woods, R.C. Bethell, V.J. Hogham, J.M. Cameron, and C.R. Penn. 1993. Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication. *Nature (London)* 363:418-423. 20
3. Woods, J.M., R.C. Bethell, J.A.V. Coates, N. Healey, S.A. Hiscox, B.A. Pearson, D.M. Ryan, J. Ticehurst, J. Tilling, S.A. Walcott, and C.R. Penn. 1993. 4-Guanidino-2,4-dideoxy-2,3-dehydro-N-acetylneuraminic acid is a highly effective inhibitor both of the sialidase (neuraminidase) and of growth of a wide range of influenza A and B viruses *in vitro*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37:1473-1479. 30
4. Robert J Fenton, Peter J Morley, Ian J Owens, David Gower, Simon Parry, Lee Crossman and Tony Wong (1999). Chemoprophylaxis of influenza A virus infections, with single doses of zanamivir, demonstrates that zanamivir is cleared slowly from the respiratory tract. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 43, 11, 2642-2647. 40

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 61 K 31/7052 (2006.01)	A 61 K 31/7052
A 61 K 45/00 (2006.01)	A 61 K 45/00
A 61 P 31/04 (2006.01)	A 61 P 31/04
A 61 P 31/12 (2006.01)	A 61 P 31/12
A 61 P 43/00 (2006.01)	A 61 P 43/00 121

(74)代理人 100111730

弁理士 伊藤 武泰

(72)発明者 マイケル、ディー、ドール

イギリス国ハートフォードシャー、スティープネージ、グネルズ、ウッド、ロード、ケアオブ、グラクソスミスクライン、パブリック、リミテッド、カンパニー

(72)発明者 ベティー、ジン

オーストラリア連邦ビクトリア州、マウント、ウェイバリー、ムンロ、ストリート、34

(72)発明者 サイモン、ジェイ・エフ・マクドナルド

イギリス国ハートフォードシャー、スティープネージ、グネルズ、ウッド、ロード、ケアオブ、グラクソスミスクライン、パブリック、リミテッド、カンパニー

(72)発明者 アンドリュー、マックエム、メイソン

イギリス国ハートフォードシャー、スティープネージ、グネルズ、ウッド、ロード、ケアオブ、グラクソスミスクライン、パブリック、リミテッド、カンパニー

(72)発明者 ダリル、マックコーネル

オーストリア国ウィーン、シュペックバッハガッセ、17/28

(72)発明者 パン、ティー・ティー・ゲン

オーストラリア連邦ビクトリア州、ノーブル、パーク、アクランド、コート、2

(72)発明者 スティーブン、イー・シャナハン

イギリス国ハートフォードシャー、スティープネージ、グネルズ、ウッド、ロード、ケアオブ、グラクソスミスクライン、パブリック、リミテッド、カンパニー

(72)発明者 ウエン・ヤン、ウー

オーストラリア連邦ビクトリア州、マウント、ウェイバリー、ムンロ、ストリート、34

## 合議体

審判長 中田 とし子

審判官 斎藤 恵

審判官 大畠 通隆

(56)参考文献 国際公開第00/55149(WO,A1)

国際公開第99/60400(WO,A1)

国際公開第97/06157(WO,A1)

国際公開第97/32214(WO,A1)

特開2010-270130(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D309/00-28

A61K 31/00-7052