

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

**特許第6154026号  
(P6154026)**

(45) 発行日 平成29年6月28日(2017.6.28)

(24) 登録日 平成29年6月9日(2017.6.9)

(51) Int.Cl.

F 1

C 07 H 17/08	(2006.01)	C 07 H	17/08	C S P B
A 61 K 31/706	(2006.01)	A 61 K	31/706	
A 61 P 43/00	(2006.01)	A 61 P	43/00	1 1 1
A 61 P 35/00	(2006.01)	A 61 P	35/00	
A 61 P 29/00	(2006.01)	A 61 P	29/00	

請求項の数 20 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-550082 (P2015-550082)	(73) 特許権者	501241380 バジリア ファルマスチカ アーゲー B a s i l e a P h a r m a c e u t i c a A G スイス国、ツェーハー-4 0 0 5 バーゼ ル、グレンツアーヘルストラッセ 4 8 7
(86) (22) 出願日	平成25年12月27日 (2013.12.27)	(74) 代理人	110001508 特許業務法人 津国
(65) 公表番号	特表2016-504343 (P2016-504343A)	(72) 発明者	ケレンベルガー, ヨハネス・ローレンツ スイス国、ツェーハー-4 1 2 5 リーエ ン、ホールヴェーク 7
(43) 公表日	平成28年2月12日 (2016.2.12)	(72) 発明者	ドレイアー, ユルク スイス国、ツェーハー-4 1 0 8 ヴィック タースヴィル、ヴァイスキルヒヴェーク 2
(86) 國際出願番号	PCT/EP2013/078040		
(87) 國際公開番号	W02014/102315		
(87) 國際公開日	平成26年7月3日 (2014.7.3)		
審査請求日	平成28年12月8日 (2016.12.8)		
(31) 優先権主張番号	12199801.7		
(32) 優先日	平成24年12月31日 (2012.12.31)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		
(31) 優先権主張番号	13158812.1		
(32) 優先日	平成25年3月12日 (2013.3.12)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		

早期審査対象出願

最終頁に続く

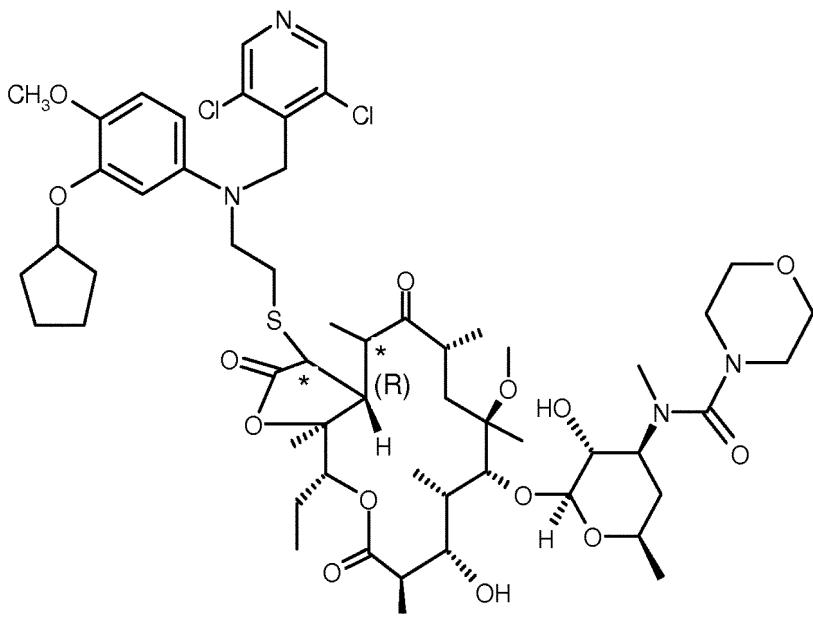
(54) 【発明の名称】 P D E 4 阻害活性を有する選ばれたマクロライド

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 ( I ) :

## 【化1】



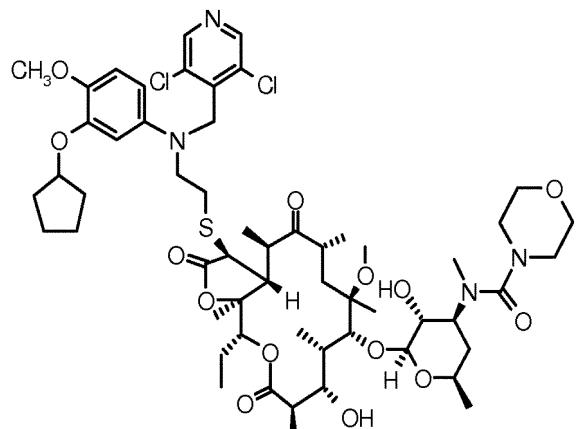
20

[式中、\*は、(R)または(S)配置にある立体中心を示す]  
のマクロライド化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

## 【請求項2】

式(I-A)：

## 【化2】



を有する請求項1に記載のマクロライドまたはその薬学的に許容可能な塩。

40

## 【請求項3】

塩の形態でない請求項1または2に記載のマクロライド化合物。

## 【請求項4】

請求項1～3のいずれか一項に記載のマクロライド化合物またはその薬学的に許容可能な塩と薬学的に許容可能な不活性キャリアとを含む薬学的組成物。

## 【請求項5】

請求項1～3のいずれか一項に記載のマクロライド化合物またはその薬学的に許容可能な塩と任意選択で薬学的に許容可能な不活性キャリアとを含む経口投与のための剤形。

## 【請求項6】

動物から選択される被験体における医学的治療における使用のための、前記医学的治療

50

は、前記被験体におけるホスホジエステラーゼ4（PDE4）の阻害に基づくものである、請求項1～3のいずれか一項に記載のマクロライド化合物又はその薬学的に許容可能な塩。

【請求項7】

動物から選択される被験体における障害および／または疾患の予防および／または処置のための使用のための、前記予防および／または処置は、前記被験体におけるホスホジエステラーゼ4（PDE4）の阻害に基づくものである、請求項1～3のいずれか一項に記載のマクロライド化合物又はその薬学的に許容可能な塩。

【請求項8】

ヒトから選択される被験体における障害および／または疾患の予防および／または処置のための使用のための、前記予防および／または処置は、前記被験体におけるホスホジエステラーゼ4（PDE4）の阻害に基づくものである、請求項1～3のいずれか一項に記載のマクロライド化合物又はその薬学的に許容可能な塩。 10

【請求項9】

被験体における癌、炎症疾患、アレルギー疾患または自己免疫疾患の処置における使用のための、請求項1～3のいずれか一項に記載のマクロライド化合物もしくはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項10】

慢性閉塞性肺疾患（COPD）、乾癬、乾癬性関節炎、狼瘡、関節リウマチ、アルツハイマー、パーキンソン病、ハンチントン病、間質性膀胱炎、喘息、慢性気管支炎、気腫、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、敗血症性ショック、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、例えば、クローン病、成人呼吸窮迫症候群、強直性脊椎炎、ブドウ膜炎、または多発性硬化症の処置における使用のための、請求項1～3のいずれか一項に記載のマクロライド化合物もしくはその薬学的に許容可能な塩。 20

【請求項11】

慢性閉塞性肺疾患（COPD）または乾癬の処置における使用のための、請求項1～3のいずれか一項に記載のマクロライド化合物もしくはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項12】

ヒトホスホジエステラーゼ4の阻害によって改善され得る障害または疾患の処置のための医薬の製造のための、請求項1～3のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の使用。 30

【請求項13】

癌、炎症疾患、アレルギー疾患または自己免疫疾患の処置のための医薬の製造のための、請求項1～3のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の使用。

【請求項14】

前記医薬が、経口投与のための医薬である、請求項12又は13に記載の使用。

【請求項15】

動物から選択される被験体における医学的治療における使用のための、前記医学的治療は、前記被験体におけるホスホジエステラーゼ4（PDE4）の阻害に基づくものである、請求項4に記載の薬学的組成物、または請求項5に記載の剤形。 40

【請求項16】

動物から選択される被験体における障害および／または疾患の予防および／または処置のための使用のための、前記予防および／または処置は、前記被験体におけるホスホジエステラーゼ4（PDE4）の阻害に基づくものである、請求項4に記載の薬学的組成物、または請求項5に記載の剤形。

【請求項17】

ヒトから選択される被験体における障害および／または疾患の予防および／または処置のための使用のための、前記予防および／または処置は、前記被験体におけるホスホジエステラーゼ4（PDE4）の阻害に基づくものである、請求項4に記載の薬学的組成物、または請求項5に記載の剤形。 50

**【請求項 18】**

被験体における癌、炎症疾患、アレルギー疾患または自己免疫疾患の処置における使用のための、請求項 4 に記載の薬学的組成物、または請求項 5 に記載の剤形。

**【請求項 19】**

慢性閉塞性肺疾患（COPD）、乾癬、乾癬性関節炎、狼瘡、関節リウマチ、アルツハイマー、パーキンソン病、ハンチントン病、間質性膀胱炎、喘息、慢性気管支炎、気腫、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、敗血症性ショック、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、例えば、クローン病、成人呼吸窮迫症候群、強直性脊椎炎、ブドウ膜炎、または多発性硬化症の処置における使用のための、請求項 4 に記載の薬学的組成物、または請求項 5 に記載の剤形。

10

**【請求項 20】**

慢性閉塞性肺疾患（COPD）または乾癬の処置における使用のための、請求項 4 に記載の薬学的組成物、または請求項 5 に記載の剤形。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、新規マクロライド化合物、前記化合物の特に炎症疾患およびアレルギー疾患の処置または予防のための医薬としての使用、前記化合物を含有する薬学的組成物、ならびにその調製のための方法に関する。本発明は特に、主としてホスホジエステラーゼ 4（PDE4）の阻害によってもたらされる抗炎症活性を有し、これにより、炎症疾患およびアレルギー疾患（例えば、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、喘息、関節リウマチ、アトピー性皮膚炎、乾癬または炎症性腸疾患）または増殖性疾患（例えば、癌）の処置および/または予防に有用となる、マクロライド化合物に関する。

20

**【背景技術】****【0002】**

環状アデノシン一リン酸（cAMP）は、細胞における重要な二次メッセンジャーである。環状AMPの高いレベルは、様々な種類の炎症性細胞および免疫細胞（リンパ球、単球、マクロファージ、好中球、好酸球、好塩基球および肺上皮細胞を含む）における炎症促進性応答を抑制することが知られている。cAMPの細胞内濃度は、アデニrilシクラーゼおよび環状ヌクレオチドホスホジエステラーゼ（PDE）によって調節される。PDEは、環状ヌクレオチドcAMPおよびcGMPをAMPおよびGMPへの加水分解によって不活性化する酵素のファミリーである。cAMP特異的酵素PDE4は、炎症細胞および免疫細胞中に遍在する。PDE4は、炎症過程に関与することが示されている（例えば、Lipworth B.J., Lancet (2005) 365, p. 167; Houslay M.D. et al. Drug Discovery Today (2005) 10(22), p. 1503; Halpin D.M.G. Int. J. COPD (2008) 3(4), p. 543またはSanz M.J. et al. Pharmacology & Therapeutics (2005) 106, p. 269参照）。したがって、PDE4の阻害剤は、炎症疾患およびアレルギー疾患（例えば、喘息、慢性気管支炎、気腫、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、乾癬、関節リウマチ、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、敗血症性ショック、潰瘍性大腸炎、クローン病、成人呼吸窮迫症候群および多発性硬化症）の処置および/または予防において有用である。PDE4阻害剤はまた、増殖性疾患（例えば、ヒト癌）の処置にも有用である（例えば、Cancer Research, 2007, 67, p. 5248参照）。

30

**【0003】**

多数のPDE4阻害剤が文献に開示されている。（例えば、J.O. Odingo, Expert Opin. Ther. Patents, 2005, 15(7), 773; M. Hendrix, C. Kallus, Methods and Principles in Medicinal Chemistry (2004), Vol. 22 (Chemogenomics in Drug Discovery), 243 - 288 (Wi

40

50

ley - VCH) を参照されたい)。知られている PDE4 阻害剤の多くは、用量制限副作用(例えば、嘔吐および頭痛)を示す。

#### 【0004】

マクロラクトン環の 11, 12 位に縮合した 5員ラクトン環を有するエリスロマイシン誘導体が、例えば、国際公開第 02/16380 号パンフレット、国際公開第 03/004509 号パンフレット、国際公開第 03/042228 号パンフレット、国際公開第 03/072588 号パンフレット、国際公開第 03/024986 号パンフレット、米国特許出願公開第 2004/0038915 号明細書および国際公開第 2005067919 号パンフレットに開示されている。文献国際公開第 02/16380 号パンフレット、国際公開第 03/072588 号パンフレット、国際公開第 03/024986 号パンフレットおよび米国特許出願公開第 2004/0038915 号明細書は専ら、エリスロマイシン骨格の 3 位にカルボニル基を有する所謂ケトライドについて記載している。国際公開第 03/042228 号パンフレット、国際公開第 03/004509 号パンフレットおよび国際公開第 2005/067919 号パンフレットは、11, 12 位に縮合した 11, 12 ラクトン環を有し、エリスロマイシン骨格の 3 位にクラジノース糖置換基を有するマクロライド誘導体を開示している。10

#### 【0005】

エリスロマイシン骨格の 2, 3 位に二重結合を有するエリスロマイシン誘導体、所謂アンハイドロライドが、例えば、国際公開第 97/42205 号パンフレットおよび米国特許第 6720308 号明細書に開示されている。エリスロマイシン骨格の 3 位にヒドロキシル基を有する化合物は、上述した種々の化合物の合成において中間体として見出されており、例えば、国際公開第 2004/013153 号パンフレットにも開示されている。3-アシル誘導体の生成は、例えば、J. Med. Chem. 2003, 46, 2706 に記載されている。20

#### 【0006】

薬物の経口投与は、一般的に、薬物の投与のための最も好都合かつ最も一般的な方法であると考えられる。したがって、薬物の経口バイオアベイラビリティは、薬物の非常に重要な薬理学的パラメータである。マクロライドの経口バイオアベイラビリティは大きく異なり、多くの場合、かなり乏しい。30

#### 【0007】

薬物開発においておよび市販の薬物についてもしばしば直面する問題は、心血管副作用である。多くの場合において、これらの作用は、潜在的に致死的な不整脈すなわち「トルサーダー・ド・ポワント」と関連付けられる、化合物誘発性の心電図 (ECG) QT 間隔延長によるものである。いくつかの抗感染剤(例えば、マクロライド、ケトライドおよびフルオロキノロン)が、QT 延長と関連付けられてきた。30

#### 【0008】

QT 間隔は、いくつもの膜イオンチャネルおよびトランスポーターが関与する心室の脱分極および再分極の持続期間の尺度である。多くの場合において、ヒトエーテルアゴーゴー (Ether-a-go-go) 関連遺伝子 (hERG) カリウムチャネルが関与する遅延整流性 K<sup>+</sup>電流 (IKr) の阻害が、薬物誘発性 QT 延長と関連付けられてきた。したがって、hERG チャネルの阻害が、化合物誘発性 QT 延長のリスクを予測するために使用される。40

#### 【0009】

上で引用された参考文献に記載される分子のほとんどが、かなりの抗感染活性を有している。しかしながら、エリスロマイシン誘導体を病原細菌に起因するものではない疾患の長期にわたる処置に向けることが予測される場合は、抗生素質耐性細菌の発生を回避するために、抗感染活性のない化合物があることが望ましい。デソサミン部分の改変が、抗菌活性の喪失に繋がり得ることが報告されている。以下の刊行物：国際公開第 2007/129646 号パンフレット、国際公開第 2004/013153 号パンフレットおよび Biologicals. Med. Chem. 2007, 15, 3266 によって例示されるように、50

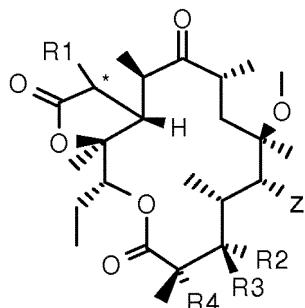
エリスロマイシン誘導体のデソサミン糖部分の様々な改変形態が、文献に記載されている。

【0010】

国際公開第2009/106419号パンフレットは、エリスロマイシン骨格に縮合した5員ラクトン環を有し、特定の側鎖で置換されているマクロライド化合物を開示しており、このマクロライド化合物は、著しい抗菌活性を有しておらず、ホスホジエステラーゼを阻害し、特に選択的にPDE4を阻害する。これらのマクロライドは、炎症疾患およびアレルギー疾患、加えて増殖性疾患（例えば、癌など）の処置および／または予防に有用である。国際公開第2009/106419号パンフレットに従う好ましいマクロライド化合物は、以下の式：

10

【化1】



20

を有し、式中、例えば、

R1は、残基-Y-X-Qであり；

Yは、S、SOまたはSO<sub>2</sub>であり；

Xは、結合、または水素原子とC、N、OおよびSから選択される1～9個の原子（このうち2個までの原子はNであり得、1個の原子はOまたはSであり得、1個の炭素原子はCO基として現れ得、硫黄原子はSO<sub>2</sub>基として現れ得、2個の隣接するC原子は-CH=CH-または-C=C-として存在し得る）とからなる直鎖状基であり、基Xは、非置換であるかまたは-COO-Wもしくは-C(=O)NH-Wで置換されており；

Qは、残基-V-A1-L-A2-Wであるか、またはXが結合を表さない場合は-NR10R11であり；

30

Vは、置換されていてもよい二価の芳香族または複素環式基であり；

Wは、置換されていてもよいアリールまたはヘテロシクリルであり；

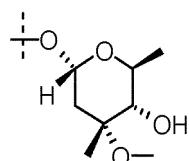
A1およびA2は、互いに独立して、不在またはC<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキレン基のいずれかであり；

Lは、-O-、-S-、-SO<sub>2</sub>-、-NH-、-CO-、-(CO)O-、-O(OC)-、-(CO)NH-、-NH(CO)-、-(SO<sub>2</sub>)NH-、-HN(SO<sub>2</sub>)-、-HN(CO)NH-、-O(CO)NH-、-NH(CO)O-であるか、またはA1および／もしくはA2が存在する場合は不在であることもあり得；

R2は、OR2aまたは

40

【化2】



[式中、

## 【化3】



は、連結結合を表す]であり；

R<sub>2</sub>aは、水素、アセチル、-(C=O)CH<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>bR<sub>2</sub>c、または-(C=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>bR<sub>2</sub>cであり；

R<sub>2</sub>bおよびR<sub>2</sub>cは、互いに独立して、水素またはC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル（これは置換または非置換であり得、ここにおいて2個までの原子はN、OまたはSであり得、1個の炭素原子はC=Oとして現れ得る）であるか、またはそれらが連結している窒素原子と共に4～7員の環（このうち2個までの原子はN、OまたはSであり得、1個の炭素はC=Oとして現れ得る）を形成し；

R<sub>3</sub>は、水素であるか、または

R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>は、それらが連結している炭素原子と共にC=O基を表し；

R<sub>4</sub>は、水素であるか、または

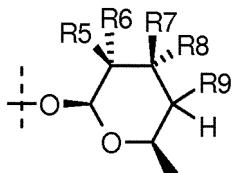
R<sub>2</sub>およびR<sub>4</sub>は、それらが連結している炭素原子間の結合と共に前記炭素原子間の二重結合を表し；

Zは、

## 【化4】

10

20



[式中、

## 【化5】

30



は、連結結合を表す]であり；

R<sub>5</sub>は、水素または-OR<sub>5</sub>aもしくは-NR<sub>5</sub>bR<sub>5</sub>cであり；

R<sub>6</sub>は、水素または-OR<sub>6</sub>aもしくは-NR<sub>6</sub>bR<sub>6</sub>cであるか；または

R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>は、それらが連結している炭素原子と共にC=O基を表し；

R<sub>7</sub>は、水素または-OR<sub>7</sub>aもしくは-NR<sub>7</sub>bR<sub>7</sub>cであり；

R<sub>8</sub>は、水素または-OR<sub>8</sub>aもしくは-NR<sub>8</sub>bR<sub>8</sub>cであるか；または

R<sub>7</sub>およびR<sub>8</sub>は、それらが連結している炭素原子と共にC=O基を表すか；または

R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>のうちの1つは

R<sub>7</sub>およびR<sub>8</sub>のうちの1つと共に式-NR<sub>5</sub>6(CO)O-または-O(CO)NR<sub>7</sub>8-の基を表し；

R<sub>9</sub>は、水素であるか、または

R<sub>8</sub>およびR<sub>9</sub>は、それらが連結している炭素原子間の結合と共に前記炭素原子間の二重結合を表し；

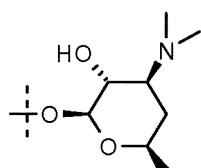
R<sub>5</sub>a、R<sub>6</sub>a、R<sub>7</sub>aおよびR<sub>8</sub>aは、互いに独立して、水素またはC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル（これは置換または非置換であり得、ここにおいて1個以上の単結合は二重結合および/または三重結合に置き換えられ得、1個の炭素原子はC=Oとして現れ得、2個までの原子はN、OまたはSであり得る）であり；

40

50

R 5 6 および R 7 8 は、水素または C 1 ~ C 6 アルキルであり；  
 R 5 b、R 5 c、R 6 b、R 6 c、R 7 b、R 7 c、R 8 b および R 8 c は、互いに独立して、水素、C 1 ~ C 6 アルキル（これは置換または非置換であり得、2 個までの原子は N、O または S であり得、1 個の炭素原子は C = O として現れ得る）もしくは - (C = O) ヘテロシクリルであるか、またはそれらが連結している窒素原子と共に 4 ~ 7 員の環（このうち 2 個までの原子は N、O または S であり得、1 個の炭素は C = O として現れ得る）を形成し；  
 R 1 0 および R 1 1 は、水素、メチルから；アリール基；アラルキル基；ヘテロシクリル基およびヘテロシクリルアルキル基から選択される置換されていてもよい基から独立して選択され、R 1 0 および R 1 1 のうちの一方は、基 - L - A 2 - W であることもあり得；  
 および

\* は、(R) または (S) 形にあるキラル中心を示し；ここで、  
 Z は、かなりの抗菌活性を示す従来のマクロライド化合物中に存在する式  
 【化 6】



10

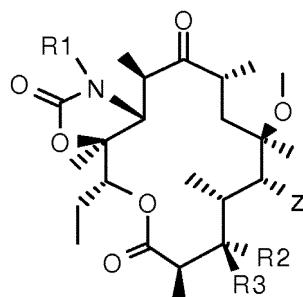
20

の基または前記部分のヒドロキシルが保護された変形以外の部分である。

## 【0011】

国際公開第 2011 / 018510 号パンフレットは、式

## 【化 7】



30

[式中、R 1 は、残基 - X - Q であり、X、Q および Z ならびに他の残基は、国際公開第 2009 / 106419 号パンフレットにおいてと同じまたは同様の意味を有する] を有する 11, 12 - 環状カルバメート部分構造を有するマクロライド化合物を開示している。これらの化合物もまた、著しい抗菌活性を有することなく、ホスホジエステラーゼ、特に PDE4 の阻害剤として有効である。

40

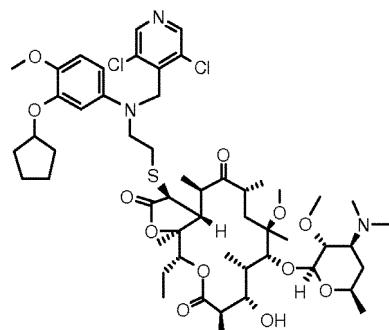
## 【0012】

国際公開第 2009 / 106419 号パンフレットおよび国際公開第 2011 / 018510 号パンフレットに開示されたマクロライド化合物は、多くの有利な適用技術特性を示すが、依然としてさらなる改善の余地を残す。

## 【0013】

例えば、以下の式：

【化 8】



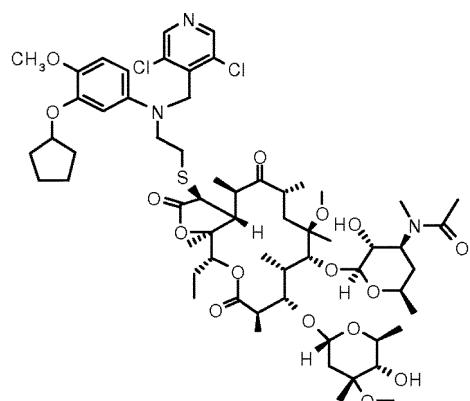
10

を有する国際公開第 2009 / 106419 号パンフレットの実施例 9 の化合物は、良好ないし中程度の PDE4 阻害活性を示し、細菌の多くの病原種に対して抗菌的に不活性であり、中程度のバイオアベイラビリティを示すが、他方において、かなり強力に hERG チャネルの活性を阻害する。

【0014】

以下の式：

【化 9】



20

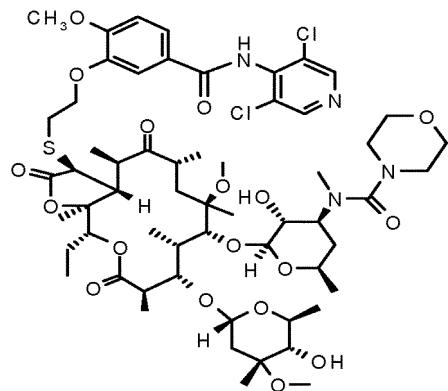
30

を有する国際公開第 2009 / 106419 号パンフレットの実施例 10 の化合物は、優れた PDE4 阻害活性および特に良好な経口バイオアベイラビリティを示すが、他方において、依然として特定の種類の細菌に対して強力な残存抗菌活性を示す。

【0015】

他方において、以下の式：

【化 10】



40

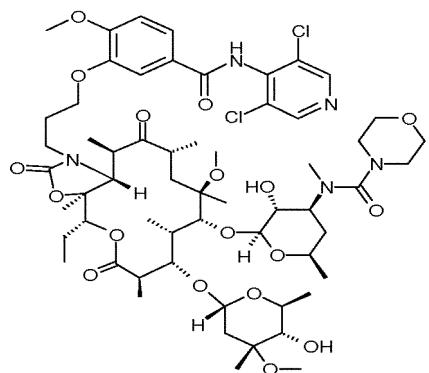
50

を有する実施例 15 国際公開第 2009 / 106419 号パンフレットの化合物は、優れた PDE4 阻害活性を、この場合は、広い範囲の様々な種類の細菌に対して強く低減された抗菌活性と組み合わせて示す。しかしながら、その経口バイオアベイラビリティはかなり低い。

**【0016】**

同様に、式：

**【化11】**



10

を有する国際公開第 2001 / 018510 号パンフレットの実施例 2 の化合物は、中程度ないし良好な経口バイオアベイラビリティおよび許容可能な hERG チャネル阻害活性を示す。他方において、その PDE4 阻害活性はなお一層良好であり得、その抗菌活性は多くの細菌菌株に対して低いものの、例えばプロピオニバクテリウム・アクネス (*Propionibacterium acnes*) の特定の菌株のような、前記化合物が依然として非常に活性であり、したがってそれがマクロライドに対する耐性を誘発し得る菌株がいくつか存在する。

20

**【発明の概要】**

**【課題を解決するための手段】**

**【0017】**

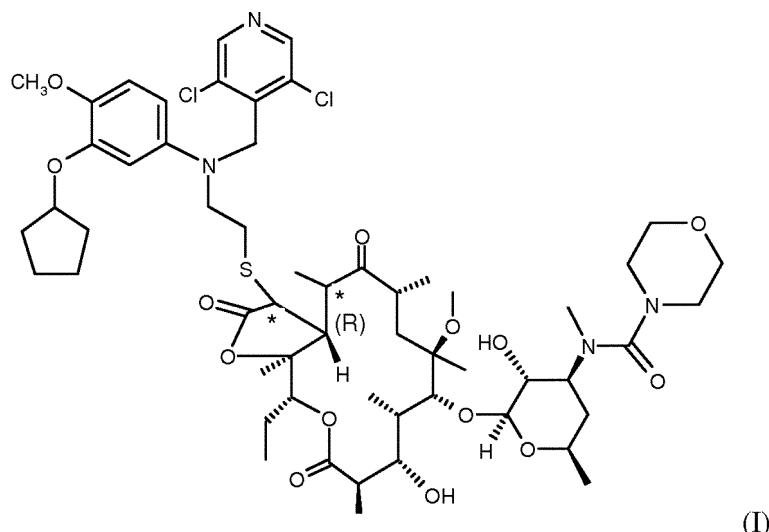
下に示される式(I)の新規のマクロライド化合物が、優れた全体的な薬学的プロファイルを提供することがこれまでに見出された。特に、これは、優れた PDE4 阻害活性を、非常に広い範囲の様々な種類の細菌に対して強く低減された抗菌活性および特に良好な経口バイオアベイラビリティと組み合わせて示す。さらに、これは hERG チャネル活性を阻害しない。

30

**【0018】**

したがって、本発明の主題は、式(I)：

【化12】

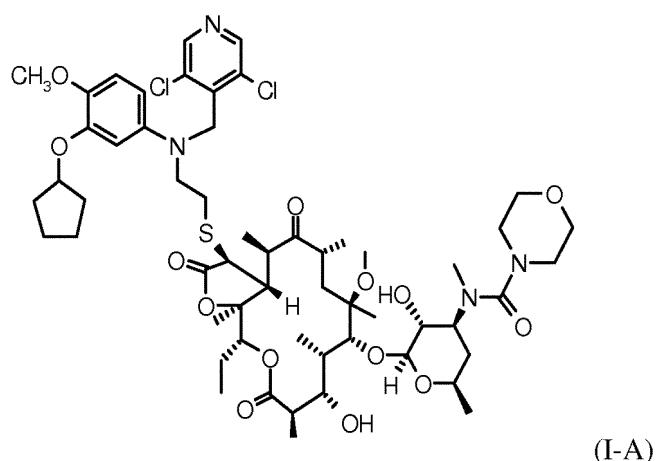


[式中、\*は、(R)または(S)配置にある立体中心を示す]  
のマクロライド化合物またはその薬学的に許容可能な塩もしくはエステルである。

【0019】

本発明のより具体的な主題は、式(I-A)：

【化13】



のマクロライドまたはその薬学的に許容可能な塩もしくはエステルである。

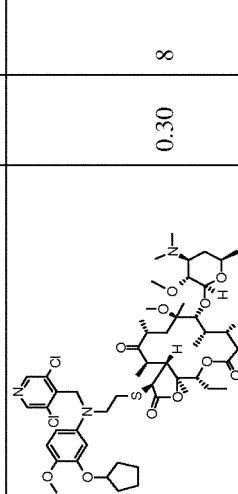
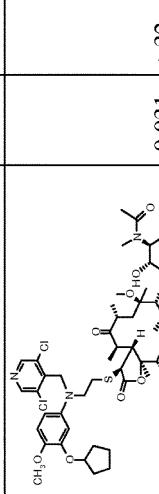
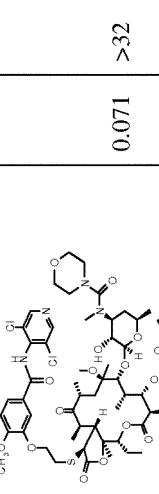
【0020】

表1は、上述の密接に関連した先行技術のマクロライド化合物および同様の構造の他のマクロライド誘導体と比べた上述の薬物特性の比較を示している。

【0021】

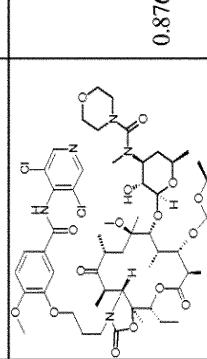
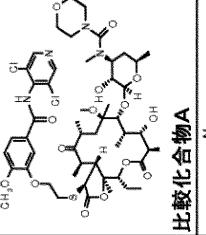
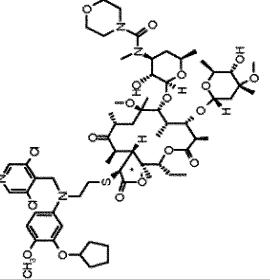
40

【表1】

化合物	IC <sub>50</sub> PDE4 ( $\mu$ M) (U937)	MIC( $\mu$ g/ml) S.アーレウス ( <i>S.aureus</i> ) ATCC29213	MIC( $\mu$ g/ml) S.ピオゲネス ( <i>S.pyogenes</i> ) ATCC19615	MIC( $\mu$ g/ml) M.カタラーアス ( <i>M.catarrhalis</i> ) QK34	MIC( $\mu$ g/ml) H.インフルエンザ ( <i>H.influenzae</i> ) 3168	MIC( $\mu$ g/ml) <i>P.granulosum</i> ( <i>P.acnes</i> ) EG7NS	経口 バイオアベイ (マウスF%)	1 $\mu$ Mでの hERGの遮断 (%残存末尾 電流)	10 $\mu$ Mでの hERGの遮断 (%残存末尾 電流)
	0.30	8	32	>32			9	23.7	3.7
国際公開第2009/106419号,パンフレット、 実施例9									
	0.031	>32	8	8	32	4	2	25.5	95.9
国際公開第2009/106419号,パンフレット、 実施例10									
	0.071	>32	>32	>32	>32	>32	4.6	100	98.6
国際公開第2009/106419号,パンフレット、 実施例15									

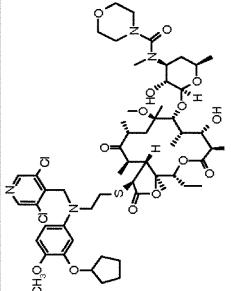
【 0 0 2 2 】

【表2】

表1 続き 化合物	[C]50 PDE4 ( $\mu$ M) (U937)	MIC( $\mu$ g/ml) S.アーレウス (S.aureus) ATCC29213	MIC( $\mu$ g/ml) S.ピオゲネス (S.pyogenes) ATCC19615	MIC( $\mu$ g/ml) M.カタラーリス (M.catarrhalis) QK34	MIC( $\mu$ g/ml) H.インフルエンザ (H.influenzae) 3168	MIC( $\mu$ g/ml) P.アクネス (P.acnes) EG7/NS	MIC( $\mu$ g/ml) P.グラヌロサム (P.granulosum) EG13NS	絶対 バイオアベイ ラビリティ (マウスF%)	10 $\mu$ Mでの hERGの遮断 電流 (%残存末尾 電流)
	0.876	>32	>32	>32	2	>32	16.2	99	84
国際公開第2011/018510号パブリックレット、 実施例3									
	0.0001	>32	>32	>32	11.5	>32	11.5	99.9	100
比較化合物A									
	0.043	>32	>32	>32	1.5	>32	1.5	99.2	82.9
比較化合物B									

【0023】

【表3】

表1 続き 化合物	IC50 PDE4 ( $\mu$ M) (U937)	MIC( $\mu$ g/ml) S.アーレウス (S.aureus) ATCC29213	MIC( $\mu$ g/ml) S.ピオゲネス (S.pyogenes) ATCC19615	MIC( $\mu$ g/ml) M.カターリス (M. catarrhalis) QK34	MIC( $\mu$ g/ml) H.インフルエンザ (H.influenzae) 3168	MIC( $\mu$ g/ml) P.アクネス (P.acnes) EG7NS	経口 バイオアベイ ラビリティ (マウスF%)	1 $\mu$ Mでの hERGの遮断 (%残存末尾 電流)	10 $\mu$ Mでの hERGの遮断 (%残存末尾 電流)
				0.035	>32	>32			

本発明に従う  
式(1-A)の化合物

【発明を実施するための形態】

【0024】

本発明において、用語「マクロライド化合物」は、その化合物の個々の立体異性(s,t

10

20

30

40

50

ereomer ic) 形態およびジアステレオマー混合物を含むものと理解される。

【0025】

本発明に従うマクロライド化合物は、必要な場合は、薬学的に許容可能な酸付加塩として存在し使用され得る。無機酸との塩だけでなく、有機酸との塩もまた、考慮される。塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸水素塩を含む硫酸塩、硝酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩などが、そのような塩の例である。

【0026】

本明細書において理解される薬学的に許容可能なエステルは、特にインビボで切断可能なエステル（例えば、特に糖部分の2'-ヒドロキシ基のエステル）である。好適なエステルは、例えば、酢酸エステル、ピバロイルエステル、酒石酸エステル、マレイン酸エステル、コハク酸エステルなどである。

【0027】

特に好ましいのは、式(I)それ自体、すなわち、塩またはエステルの形態ではない化合物である。

【0028】

本発明の化合物は、ホスホジエステラーゼ(PDE)、特にPDE4、特にヒトホスホジエステラーゼ(PDE)、および特に炎症過程に関与することが示されているヒトPDE4（例えば、Lipworth B.J., Lancet(2005)365, p.167またはGiembycz M.A., Curr. Opin. Pharmacol.(2005), 5, p.238参照）に対する優れた阻害活性を示す。したがって、動物（例えば、哺乳動物、特にヒト）から選択される被験体における、ホスホジエステラーゼ、特にホスホジエステラーゼ4(PDE4)の阻害によって改善または軽減され得る疾患および障害の処置のための本発明に従う化合物の使用が、本発明のさらなる態様である。この活性に基づき、本発明の化合物は、炎症疾患の予防および/または処置ならびにアレルギー疾患および自己免疫疾患の処置および/または予防ならびにそのような被験体の細胞の制御されていない成長、増殖および/または生存と関連する疾患（例えば、癌）の予防および/または処置に特に有用である。ヒトのための使用が好ましい。

【0029】

本発明の化合物またはその薬学的に許容可能な酸付加塩もしくはエステルが使用され得る疾患の特に重要な例は、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、喘息、関節リウマチ、乾癬、アトピー性皮膚炎、炎症性腸疾患、ならびにそのような被験体の細胞の制御されていない成長、増殖および/または生存に関連するヒトまたは動物疾患（すなわち、癌疾患）の処置である。

【0030】

しかしながら、本発明の化合物およびその薬学的に許容可能な酸付加塩またはエステルは、慢性気管支炎、気腫、蕁麻疹、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、敗血症性ショック、成人呼吸窮迫症候群および多発性硬化症などの疾患の予防および/または処置のためにも使用され得る。

【0031】

最も好ましいのは、慢性閉塞性肺疾患(COPD)または乾癬の処置のための本発明の化合物またはその薬学的に許容可能な酸付加塩もしくはエステルの使用である。

【0032】

したがって、本発明のさらなる実施形態は、動物（例えば、哺乳動物、好ましくは、ヒト）から選択される被験体の炎症疾患、アレルギーもしくは自己免疫疾患、または細胞の制御されていない成長、増殖および/もしくは生存と関連する疾患の予防のためおよび好ましくは処置のための、式(I)の化合物またはその薬学的に許容可能な酸付加塩もしくはエステルを含む医薬、特に経腸（経口）投与用製剤形態にある医薬である。本発明に従う製品は、例えば錠剤、フィルムコート錠、糖衣錠、硬および軟カプセル剤、水剤、乳剤または懸濁剤の形態で特に経口的に投与され得るが、例えば坐剤の形態で直腸内に、また

10

20

30

40

50

は例えは注射により非経口的に、または経鼻的に、または吸入によりもしくは経皮的に、または例えは局所投与により局所的にも投与され得る。特に好ましくは、この化合物は、局所的にまたはより好ましくは経口的に投与される。

#### 【 0 0 3 3 】

本発明に従う化合物またはその薬学的に許容可能な塩もしくはエステルを含有する薬学的組成物は、当業者によく知られている従来の手順を用いて、例えは、成分を、好適な、非毒性の、不活性な、治療適合性の固体または液体のキャリア材料および必要な場合は1種以上の通常の薬学的佐剤と合わせて剤形とすることにより調製され得る。

#### 【 0 0 3 4 】

本発明の化合物は、例えは好適な経口剤形の組成物に具現化されることが企図される。本発明の組成物は、任意選択の成分として、製剤の製造において通常使用される種々の佐剤のうちの任意のものを含有し得る。したがって、例えは、本発明の組成物を所望の経口剤形へと処方する際には、任意選択の成分として、賦形剤（例えは、微結晶性セルロース、リン酸カルシウムまたはラクトース）；崩壊剤（例えは、デンプン、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウムまたは架橋ポリビニルピロリドン）；および滑沢剤（例えは、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウムなど）が使用され得る。しかしながら、本明細書において挙げられた任意選択の成分は例としてのみ示されており、本発明はこれらの使用に限定されないことが、十分に理解されるべきである。当該技術分野においてよく知られている他のこのような佐剤が、本発明を実施する際に使用され得る。

10

20

#### 【 0 0 3 5 】

そのようなキャリア材料としては、無機キャリア材料だけでなく、有機キャリア材料もまた好適である。したがって、錠剤、フィルムコート錠、糖衣錠および硬カプセル剤のために、例えは、ラクトース、トウモロコシデンプンまたはその誘導体、タルク、ステアリン酸またはその塩が使用され得る。軟カプセル剤のための好適なキャリアは、例えは、（活性物質の性質に応じて）植物油、蝋、脂肪ならびに半固体および液体のポリオールである。水剤およびシロップ剤の調製に好適なキャリア材料は、例えは、水、アルコール、ポリオール、サッカロース、転化糖およびグルコースである。

#### 【 0 0 3 6 】

薬学的佐剤としては、通常の保存剤、可溶化剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、甘味料、着色料、着香料、浸透圧を調整するための塩、緩衝剤、コーティング剤および酸化防止剤が企図される。

30

#### 【 0 0 3 7 】

哺乳動物、ヒトおよび非ヒトにおける炎症疾患およびアレルギー疾患の処置および／または予防のためには、約10mg～約2000mg、特に約50mg～約1000mgの1日投薬量が通常であるが、当業者は、投薬量が哺乳動物の年齢、状態、および予防または処置される疾患の種類にも依存することを理解する。1日投薬量は、単回用量で投与され得るか、またはいくつかの用量に分割され得る。約10mg、50mg、100mg、250mg、500mgおよび1000mgの平均単回用量が企図され得る。

#### 【 0 0 3 8 】

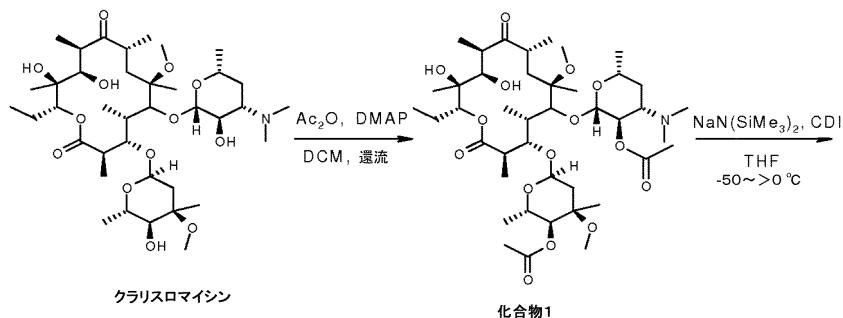
40

式Iの化合物の調製は、例えは国際公開第2009/106419号パンフレットに記載される方法に従ってまたはそれと同様に実施され得、この文献の全開示が、本明細書の一部と見なされる。

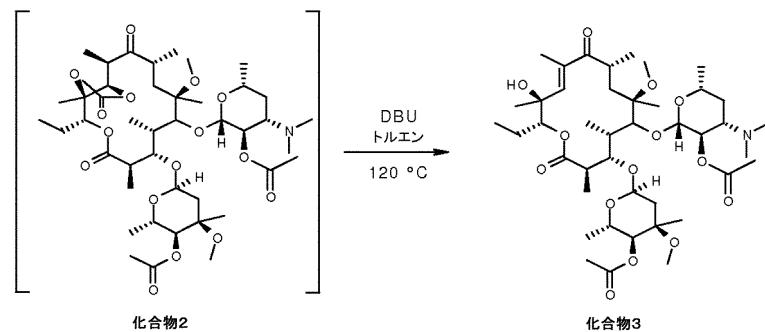
#### 【 0 0 3 9 】

本出願の式(I)の化合物を調製するための好ましい方法は、クラリスロマイシンから出発する以下の反応スキームにおいて示される〔スキーム中、アステリックス＊は、(R)または(S)配置にある、化合物の立体中心を示す〕。

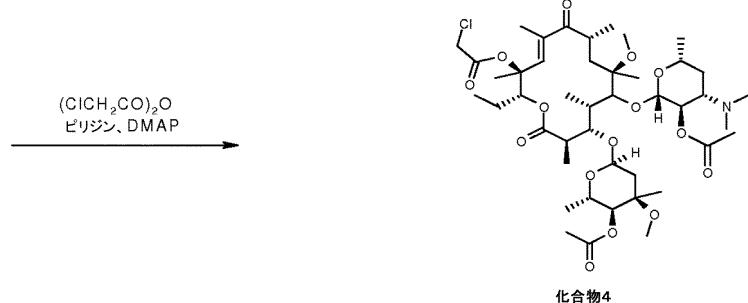
【化14】



10

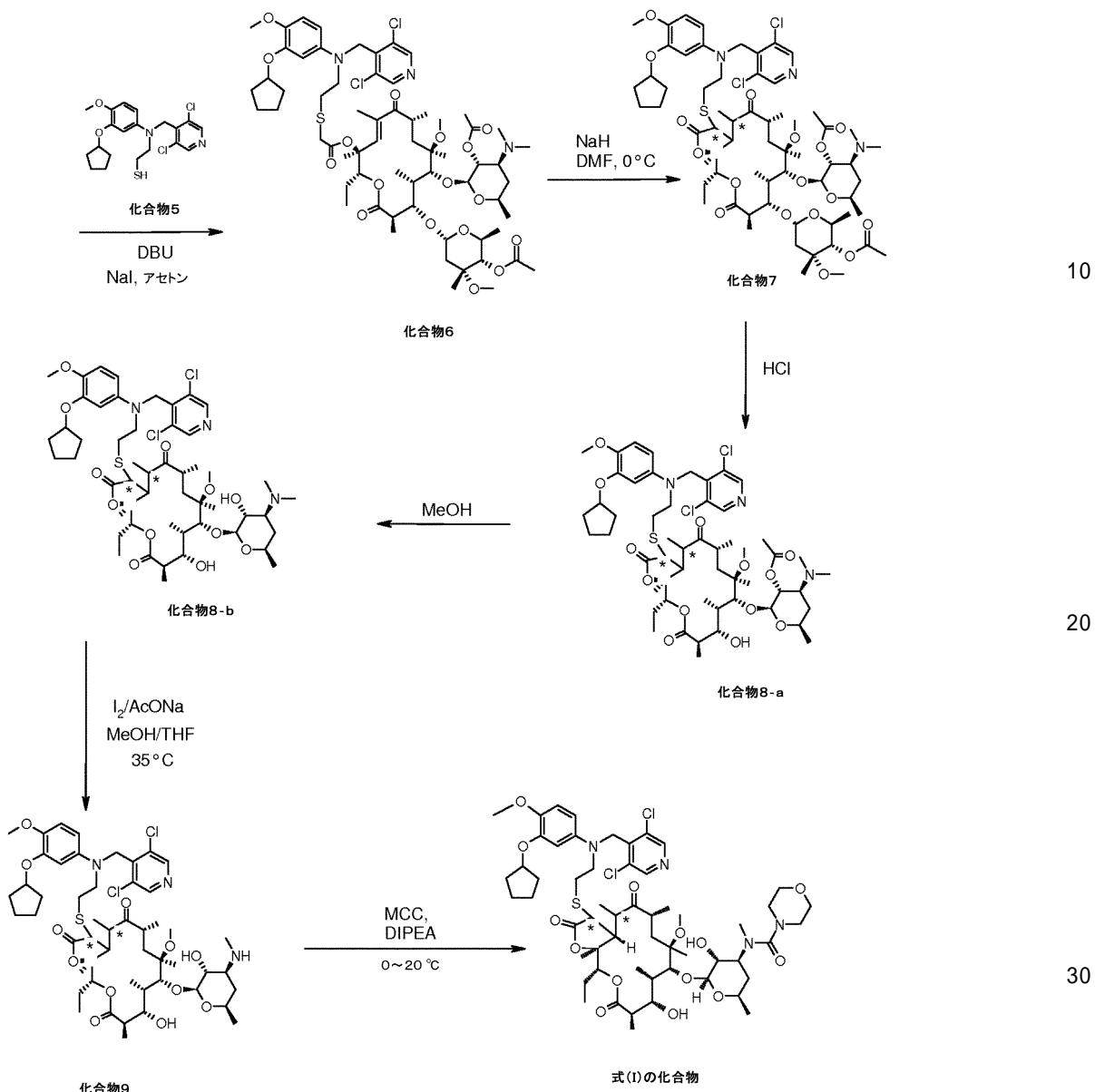


20



30

## 【化15】



## 【0040】

クラリスロマイシンを、無水酢酸および4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)を含むジクロロメタン(DCM)中でそれを還流することにより化合物1に変換する。

## 【0041】

次いで、化合物1を-50℃でTHFに溶解させ、THF中のナトリウムビス(トリメチルシリル)アミドの溶液で処理する。次いで、THF中のカルボニルジイミダゾール(CDI)を添加する。反応混合物を15分~1時間にわたり約-50℃で保持し、次いで0℃に温め、数時間(1~6)にわたり0~5℃で保持し、得られた化合物2を任意選択で単離し、任意選択で精製する。

## 【0042】

THF中の化合物2を、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン(DBU)の存在下で数時間(5~30)にわたり80~130℃に加熱し、得られた化合物3を単離し、任意選択で精製する。

## 【0043】

化合物3の12位のヒドロキシ基を、例えば2-クロロ酢酸、活性化剤(例えば、DCPおよびDMAP)での処理、または溶媒(例えば、塩化メチレン)中の2-クロロ酢酸

無水物、ピリジン、D M A P での処理による、標準的な方法に従ってエステル化して、化合物 4 を得る。

【 0 0 4 4 】

次いで、化合物 4 を、塩基（例えば、D B U およびヨウ化ナトリウム）の存在下においてアセトン中で化合物 5（これは、例えば以下に記載されるように調製される）で処理して、化合物 6 を得る。

【 0 0 4 5 】

次いで、化合物 6 を、非プロトン溶媒（例えば、D M F またはT H F ）中で約 - 2 0 ~ 5 の間の温度にてアルカリ金属塩基（例えば、N a H またはカリウム t e r t . - ブトキシドまたはL D A ）で処理して、化合物 7 を得る。

10

【 0 0 4 6 】

化合物 7 を溶媒（例えば、アセトニトリル）中の酸（例えば、塩酸）で処理することにより化合物 7 の保護されたクラジノース糖部分を切断して化合物 8 - a を得、これを当該技術分野でよく知られている方法に従って（例えば、2 0 ~ 4 0 の間の温度でメタノールを用いて）脱保護して、化合物 8 - b を得る。

【 0 0 4 7 】

次いで、化合物 8 - b の 3 ' - ジメチルアミノ基を、5 ~ 7 2 時間にわたる、約 - 1 0 ~ 5 0 の温度での、塩基（例えば、アルカリ水酸化物、または特に酢酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウムもしくは安息香酸ナトリウム）の存在下における、不活性溶媒（例えば、メタノール、ジオキサン、ジオキサン水、T H F 、T H F 水もしくはD M F またはそれらの混合物）中での、ハロゲン、好ましくはヨウ素との反応によってモノ脱メチル化して、化合物 9 を得る。この変換は、例えば米国特許第3,725,385号明細書に記載されている。好ましくは、この変換は、約3 0 ~ 4 0 の温度で塩基としての酢酸ナトリウムの存在下においてメタノールとT H F との混合物中でヨウ素を用いて行われる。

20

【 0 0 4 8 】

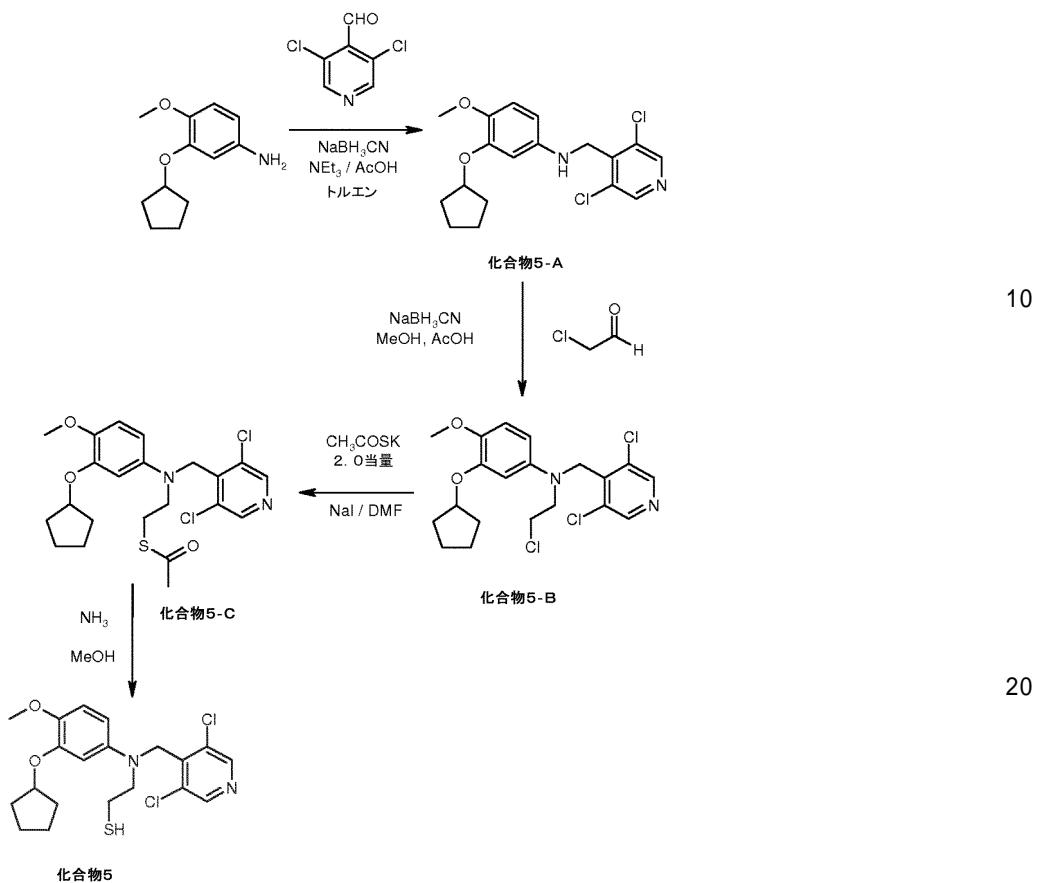
最後に、化合物 9 を、不活性溶媒（例えば、T H F またはD M F ）中で塩基（例えば、N a H または好ましくはジイソプロピルエチルアミン（D I P E A ））の存在下において約0 ~ 2 5 の温度で4 - モルホリンカルボニルクロリド（M C C ）と反応させて、所望の最終生成物である式（I）の化合物を得、次いで、必要な場合は、これを、当該技術分野でよく知られている方法に従って薬学的に許容可能な酸付加塩またはエステルにさらに変換し得る。

30

【 0 0 4 9 】

化合物 4 から化合物 6 への変換に必要とされる化合物 5 は、例えば以下の反応スキームに従って調製され得る。

## 【化16】



## 【0050】

不活性溶媒（例えば、THF）中の3-シクロペンチルオキシ-4-メトキシ-フェニルアミン（例えば、Garcia et al., JOC, 2005, 70, p 1050に従って得られる）と3,5-ジクロロ-4-ピリジンカルボキシアルデヒドとの混合物に、トリエチルアミンおよび酢酸酢酸を添加し、次いでシアノ水素化ホウ素ナトリウム（NaBH<sub>3</sub>CN）を添加する。混合物を約30分～約2時間にわたりおよそ室温にて攪拌して、直接的還元的アミノ化により化合物5-Aを得る。

## 【0051】

次いで、メタノールに溶解させた化合物5-Aを、約3～10時間にわたり、NaBH<sub>3</sub>CNおよび酢酸の存在下において、クロロアセトアルデヒドと水との混合物とおよそ室温で反応させて、化合物5-Bを得る。

## 【0052】

化合物5-Bを、約50～60の温度にて、不活性溶媒（例えば、DMFなど）中で、ヨウ化ナトリウムの存在下において、約2当量のチオ酢酸カリウムと反応させて化合物5-Cを得、最後にこれを、約0～20の温度にてアンモニア/メタノールで鹹化して、化合物5を得る。

## 【実施例】

## 【0053】

略語：ジアザビシクロウンデカンに対してDBU；ジクロロメタンに対してDCM；ジイソプロピルエチルアミン（Huenig塩基）に対してDIPA；ジメチルホルムアミドに対してDMF；メタノールに対してMeOH；テトラヒドロフランに対してTHF；質量分析に対してMS；核磁気共鳴に対してNMR。

## 【0054】

実施例において参照される化合物の番号は、上記の反応スキームで言及された化合物の

番号と一致する。

### 【0055】

#### 化合物6の合成

国際公開第2006084410号パンフレットの実施例1のA]～D]に従って調製された1.8g(2.02mmol)の化合物4および後述されるように調製された0.9g(2.02mmol)の化合物5を、20mlのDMFに溶解させ、次いで0.92g(6.06mmol)のDBUおよび121mg(0.81mmol)のNaIを添加する。溶液を室温で1.0時間にわたり攪拌する。溶媒を真空中で除去し、残渣を50mlの0.5MのKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>水溶液中に注入し、結果として生じる混合物を50mlのDCMで2回抽出する。合わせた有機層を水およびブラインで洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上で乾燥させ、真空中で濃縮して粗生成物を得、これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶離液：DCM/MeOH=100/1～50/1)によって精製して、淡黄色の泡沫体として1.7gの所望の生成物を得る。  
10

MS(ESI) : 640.9 [M+2H]<sup>2+</sup>

1H-NMR(CDC13) : (特徴的なシグナルのみ) 8.44(s, 2H); 6.74(d, 1H); 6.59(s, 1H); 6.50(s, 1H); 6.48(dd, 1H); 5.68(d, 1H); 4.97(bs, 1H); 4.66-4.72(m, 3H); 4.60(m, 1H); 4.48(s, 2H); 4.35(bs, 1H); 3.78(bs, 4H); 3.63(bs, 1H); 3.56(dd, 1H); 3.20-3.33(m, 6H); 3.16(s, 3H); 2.66-2.76(m, 3H); 2.40(d, 1H); 2.26(bs, 6H); 2.14(s, 3H); 2.04(s, 3H); 0.92-0.99(m, 3H); 0.85(t, 3H).  
20

### 【0056】

#### 化合物7の合成

2.0g(1.56mmol)の化合物6を、30mlのDMFに窒素雰囲気下において溶解させ、溶液を-20℃に冷却し、54mg(1.4mmol、油中60%の分散液)のNaHを添加し、出発物質が残存していないことをHPLCが示すまで-20℃で混合物を攪拌する。次いで、100mlの水を添加し、混合物を50mlのDCMで3回抽出し、合わせた有機層を水およびブラインで洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上で乾燥させ、真空中で濃縮して、褐色の油状体として2.6gの粗生成物を得、これをDCM/MeOH(V/V、60/1)で溶離するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、黄色の泡沫体として1.1gの所望の生成物を得る。  
30

MS(ESI) : 1282.5 [MH]<sup>+</sup> および 641.7 [M+2H]<sup>2+</sup>

1H-NMR(CDC13) : (特徴的なシグナルのみ) 8.40(s, 2H); 6.70(d, 1H); 6.46(s, 1H); 6.42(dd, 1H); 5.38(d, 1H); 4.93(bs, 1H).  
30

### 【0057】

#### 化合物8-aの合成

600mg(0.47mmol)の化合物7を15mlのアセトニトリルに溶解させ、次いで24mlの1Nのヒドロクロリド酸(hydrochloride acid)を添加する。反応混合物を、16時間にわたり30℃で攪拌する。水相を、2NのNaHC<sub>3</sub>O<sub>3</sub>水溶液でpH=7に調整する。結果として生じる混合物を30mlのDCMで2回抽出し、合わせた有機層を水およびブラインで洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上で乾燥させ、真空中で濃縮して、黄色の泡沫体として0.5gの粗生成物を得る。  
40

MS(ESI) : 1080.4 [MH]<sup>+</sup> および 540.9 [M+2H]<sup>2+</sup>

### 【0058】

#### 化合物8-bの合成

1.5g(1.39mmol)の化合物4を30mlのMeOHに溶解させ、溶液を30℃で16時間にわたり攪拌する。次いで、溶媒を真空中で除去し、残差をシリカゲル上でフラッシュクロマトグラフィー(DCM/MeOH 60:1)によって精製して、450

0.0 mg の所望の生成物を得る。

MS (ESI) : 1038.4 [MH]<sup>+</sup> および 519.9 [M + 2H]<sup>2+</sup>

1H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : (特徴的なシグナルのみ) 8.43 (s, 2H); 6.75 (d, 1H); 6.50 (s, 1H); 6.44 (dd, 1H); 5.52 (d, 1H); 4.71 (bs, 1H); 4.58 - 4.61 (m, 3H); 4.40 (s, 1H); 3.77 (s, 3H); 3.71 (s, 1H); 3.47 - 3.60 (m, 5H); 3.37 - 3.42 (m, 1H); 2.83 - 2.88 (m, 1H); 2.47 - 2.49 (m, 1H); 2.06 - 2.08 (m, 1H); 1.44 (s, 3H); 1.25 - 1.38 (m, 9H); 1.08 - 1.14 (m, 9H); 0.83 (t, 3H).

#### 【0059】

10

#### 化合物9の合成

200mg (0.15mmol) の化合物5をMeOHとTHFとの混合物 (MeOH 10ml / THF 2ml) に溶解させ、63mg (0.77mmol) の酢酸ナトリウムを添加する。混合物を30~35または30分間で攪拌し、次いで177mgのI<sub>2</sub> (0.70mmol) を添加する。黒色の反応混合物を、5時間にわたり30~35で攪拌する。飽和Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>水溶液を、I<sub>2</sub>の色が消えるまで添加する。溶媒を真空中で除去し、残渣を30mlの水中に注入し、50mlのDCMで2回抽出する。合わせた有機層を水およびブラインで洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上で乾燥させ、真空中で濃縮して粗生成物を得、これを、シリカゲル上でのフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH 100 : 1~20 : 1) によって精製して、黄色の泡沫体として70mgの所望の生成物を得る。

MS (ESI) : 1026.4 [MH]<sup>+</sup> および 513.8 [M + 2H]<sup>2+</sup>

#### 【0060】

20

#### 本発明に従う式(I)の化合物の合成

150mlのTHF中の10.0g (4.88mmol) の化合物9の溶液に、窒素雰囲気下において0~5で1.89g (14.63mmol) のDIPPEAを添加する。混合物を30分間にわたり攪拌し、1.46g (9.75mmol) の4-モルホリニルカルボニルクロリド (MCC) を添加する。混合物を20時間にわたり20で攪拌する。溶媒を減圧下で除去する。残渣を200mlのDCMに溶解させ、水およびブラインで洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上で乾燥させ、真空中で濃縮して粗生成物を得、これを、シリカゲル上でのフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH = 200 : 1~50 : 1) によって精製して、黄色の泡沫体として4.6gの所望の生成物を得る。

30

MS (ESI) : 1137.5 [M + H]<sup>+</sup>, 569.2 [M + 2H]<sup>2+</sup>

1H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) : 8.59 (s, 1H); 8.59 (s, 1H); 6.79 (d, 1H); 6.49 (d, 1H); 6.44 (dd, 1H); 5.33 (dd, 1H); 5.23 (d, 1H); 4.90 (d, 1H); 4.71 (m, 1H); 4.67 (d, 1H); 4.62 (d, 1H); 4.56 (d, 1H); 4.25 (s, 1H); 3.68 (s, 1H); 3.65 (m, 1H); 3.65 (s, 3H); 3.61 (m, 1H); 3.56 (m, 4H); 3.52 (m, 1H); 3.39 (m, 1H); 3.24 (dd, 1H); 3.20 (m, 1H); 3.12 (m, 2H); 3.08 (m, 1H); 3.05 (m, 2H); 2.93 (m, 1H); 2.88 (s, 3H); 2.78 (m, 1H); 2.71 (s, 3H); 2.59 (s, 1H); 2.56 (dd, 1H); 2.34 (m, 1H); 1.90 (m, 1H); 1.87 (m, 1H); 1.78 (m, 2H); 1.68 (1H); 1.67 (m, 2H); 1.66 (m, 2H); 1.63 (m, 1H); 1.55 (1H); 1.52 (m, 2H); 1.46 (m, 1H); 1.45 (m, 1H); 1.41 (s, 3H); 1.17 (s, 3H); 1.15 (d, 3H); 1.11 (d, 3H); 1.05 (d, 3H); 0.98 (d, 3H); 0.94 (d, 3H); 0.75 (t, 3H);

40

#### 【0061】

#### 化合物5-Cの合成

50

30 ml の D M F 中の国際公開第 2 0 0 9 0 9 8 3 2 0 号パンフレットの実施例 15 の A ] および B ] に従って調製された 2 . 6 g ( 6 . 0 5 m m o l ) の化合物 5 - B の溶液に、 1 . 3 8 g ( 1 2 . 1 m m o l ) のチオ酢酸カリウムおよび 1 8 1 m g ( 1 . 2 1 m m o l ) のヨウ化ナトリウムを添加する。反応混合物を 5 時間にわたり 6 0 °で攪拌し、次いで 1 0 0 m l の水を添加する。混合物を、 1 0 0 m l の酢酸エチルで 2 回抽出する。合わせた有機層を水およびブラインで洗浄し、 N a<sub>2</sub> S O<sub>4</sub> 上で乾燥させ、真空中で濃縮して、黄色の固体として 2 . 8 g の所望の生成物を得る。

M S ( E S I ) : 4 6 9 . 1 [ M H ]<sup>+</sup>

#### 【 0 0 6 2 】

#### 化合物 5 の合成

8 . 0 g ( 1 7 . 0 m m o l ) の化合物 5 - C を 1 5 0 m l のメタノールに溶解させ、次いで溶液中に 5 °でアンモニアガスを通気する。結果として生じる溶液を、アンモニア雰囲気下においてこの温度で 4 時間にわたり攪拌し、次いで真空下でエバポレートして、黄色の固体として 7 . 5 g の所望の生成物を得る。生成物を、アルゴン雰囲気下で貯蔵する。

M S ( E S I ) : 4 2 7 . 2 [ M H ]<sup>+</sup>

#### 【 0 0 6 3 】

表 1 に示された本発明に従う式 ( I ) の化合物および比較化合物の生物活性データは、次のように決定される。

#### 【 0 0 6 4 】

#### 酵素調製 :

P D E 4 を、 T h o r p y et al . 1 9 9 2 ( J . P h a r m a c o l . E x p . T h e r . 2 6 3 : 1 1 9 5 ) に従い未分化のヒト単球細胞 ( U 9 3 7 ) から部分精製する。細胞を、 5 % 牛胎児血清 ( G I B C O ) および 1 0 0 μ g / m L のペニシリン - ストレプトマイシン ( G I B C O ) を含む I s c o v e 改変ダルベッコ培地 ( G I B C O ) 中で増殖させる。細胞を音波処理によって破壊し、 P D E 4 を D E A E - S e p h a r o s e C L - 6 B ( G E H e a l t h c a r e ) 上でのアニオン交換クロマトグラフィーによって精製する。最終調製物は c A M P に特異的であり、アッセイの検出限界を超える c G M P を加水分解しない。さらに、 P D E 4 調製物は、 P D E 4 特異的および非特異的 P D E 阻害剤を用いた阻害研究によって検証される。

#### 【 0 0 6 5 】

#### 酵素アッセイ :

P D E は、 c A M P および / または c G M P を特異的に加水分解し、生成物 A M P および / または G M P を放出する。試験化合物による P D E 阻害の効力は、市販のインピトロ酵素アッセイ ( I M A P ( 登録商標 ) F l u o r e s c e n c e P o l a r i z a t i o n アッセイ、 M o l e c u l a r D e v i c e s C o r p . ) を用いて測定される。蛍光標識された c A M P または c G M P が P D E 調製物によって加水分解され、第 2 の工程において、標識された生成物が大きな結合パートナーに結合することにより、蛍光偏光 ( F P ) 測定による生成物検出が可能になる。

#### 【 0 0 6 6 】

試験化合物の原液を D M S O 中で作製し、アッセイ緩衝液 ( 1 0 m M の T r i s - H C l 、 1 0 m M の M g C l<sub>2</sub> 、 0 . 1 % の B S A 、 0 . 0 5 % の N a N<sub>3</sub> 、 pH 7 . 2 ) で所望の濃度に希釈する。アッセイで使用される溶液は、 2 % の D M S O を含むアッセイ緩衝液中に試験化合物を含有する。 5 μ l のこの予め希釈された試験化合物溶液を、製造業者により推奨される濃度の 1 0 μ l の基質 ( F L - c A M P または F L - c G M P ) および 5 μ l の適切に希釈された P D E と混合する。 2 % の D M S O を含む 5 μ l の反応緩衝液をコントロール反応のために使用する。アッセイにおける D M S O の最終濃度は、 P D E 活性を著しく変えない 0 . 5 % である。室温での 9 0 分間にわたるインキュベーション後に、製造業者によって指定されるとおりに 6 0 μ l の結合試薬を添加する。結合を 3 0 分間進行させ、蛍光偏光を測定する。 P D E 阻害の用量依存性を、試験化合物の希釈系列

10

20

30

40

50

をアッセイすることにより測定する。測定された活性から、曲線の当て嵌めによって MIC<sub>50</sub> 値を決定する。

#### 【0067】

##### MIC測定：

臨床・検査標準協会 (CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA, USA) によるガイドラインに従う微量液体希釈によって全てのMIC値を決定する。スタフィロコッカス・アウレウス (*Staphylococcus aureus*) ATCC29213は、Mueller-Hinton寒天 (MHA) (Becton Dickinson) 上で増殖させ、次いでカチオン調整Mueller Hintonプロス (CaMHB) (Becton Dickinson) 中で37にて24時間増殖させる。ストレプトコッカス・ピオゲネス (*Streptococcus pyogenes*) ATCC19615およびモラクセラ・カタラーリス (*Moraxella catarrhalis*) QK34は、2.5%の溶血ウマ血液 (Oxoid) を含むMHA上で増殖させる。CaMHB + 5%のウマ血清 (Sigma) 中の液体培養物を、5%CO<sub>2</sub>霧囲気中で35にて24時間にわたりインキュベートする。ヘモフィルス・インフルエンザ (*Haemophilus influenzae*) 3168は、MHA + 2.5% Fildesエキス (Oxoid) 上で増殖させる。5%CO<sub>2</sub>霧囲気中において35にてCaMHB + 5% Fildesエキス中で、液体培養物を増殖させる。

#### 【0068】

プロピオニバクテリウム (*Propionibacteria*) は、嫌気条件下において72時間にわたりWilkins-Chalgren寒天 (WCA) (Oxoid) 上で増殖させる。35にて48時間にわたりWilkins-Chalgrenプロス (WCB) (Oxoid) 中で、液体培養物を嫌気的に増殖させる。WC B (嫌気性菌用MICプロス、Diffco) を用いた微量液体希釈によってMIC値を得る。嫌気霧囲気発生器 (Biomerieux) およびドライ嫌気インジケーターストリップ (BBL) を装着した7LのGENbox嫌気インキュベーションジャー (Biomerieux) に、マイクロタイタープレートを入れる。これらの条件下において、2.5時間までに<0.1%のO<sub>2</sub>濃度が達成され、24時間までに>15%のCO<sub>2</sub>濃度が達成される。48時間にわたる35~37でのインキュベーション後に、MIC値を読み取る。

#### 【0069】

##### 経口バイオアベイラビリティ：

血液または血漿中の薬物濃度を、薬物動態研究において時間の関数として測定する。マウスを規定用量の試験化合物で処置した。10mg/kgを経口投与に使用し、1mg/kgを静脈内投与に用いる。血液または血漿試料を規定された時点で採取し、薬物含有量をLC-MS/MSによって測定する。薬物濃度を時間の関数としてプロットし、非静脈内(経口)および静脈内の曲線下面積 (AUC) を線形台形公式を用いて算出する。次いで、経口バイオアベイラビリティを、用量正規化AUCを用い、以下の式：

$$F [\%] = AUC_{\text{経口}} / AUC_{\text{静脈内}} * 100$$

を用いて算出する。

#### 【0070】

##### hERGチャネルの遮断：

ホールセルパッチクランプ法を、安定トランスフェクトされたHEK293細胞 (B'SYS GmbH, CH-4108 Witterswil, Switzerland) からのhERG末尾電流に対する試験化合物の影響を測定するために使用する。0.1%DMSOをビヒクリルとして使用し、10nMの選択的I<sub>Kr</sub>プロッカーE-4031を用いてこの系を検証する。

#### 【0071】

培養フラスコ中において5%CO<sub>2</sub>を含む加湿霧囲気中で37にて細胞を増殖させ、50~80%がコンフルエントになった時に継代する。培養培地は、9%の牛胎児血清お

10

20

30

40

50

より 0.9% のペニシリン / ストレプトマイシン溶液を補充した、ダルベッコ改変イーグル培地と栄養素混合物 F - 12 との 1 : 1 混合物 (D - MEM / F - 12 1 x, L - グルタミンを含む) である。電気生理学的測定のために、抗生物質を含む 2 ml の培養培地 (完全培地に 100 µg / ml のヒグロマイシン B および 15 µg / ml のプラスチシジンを補充した) を含有する 35 mm の滅菌培養皿中に細胞を播種する。電気的に結合した細胞による不確かさを回避するために、単一の細胞が測定されることを可能にする密度で細胞を培養する (Pritchett et al. 1988, Verdoorn et al. 1990)。試験化合物の DMSO 原液を、浴溶液 (10 mM の HEPES pH 7.4, 137 mM の NaCl, 4 mM の KCl, 1.8 mM の CaCl<sub>2</sub>, 1 mM の MgCl<sub>2</sub>, 10 mM の D - グルコース) で適宜希釈する。ピペット溶液 (10 mM の HEPES pH 7.2, 130 mM の KCl, 1 mM の MgCl<sub>2</sub>, 5 mM の Mg - AT P, 5 mM の EGTA) を調製し、-10 ~ -30 の間で凍結アリコートとして貯蔵した。

#### 【0072】

35 mm 培養皿を顕微鏡の下に置き、それに浴溶液をおよそ 1 ml / 分で連続的に灌流させる。ピペット溶液を含む細胞に適用される全ての溶液を、室温 (19 ~ 30) で維持する。パッチ電極と個々の細胞との間ににおけるギガオームシールの形成 (ピペット抵抗範囲 : 2.0 MW ~ 7.0 MW; シール抵抗範囲 : > 1 GW) 後に、ピペットチップと交わる細胞膜を破って細胞内部への電気的アクセスを確保する (ホールセルパッチ構成)。安定なシールを確立するとすぐに、-80 mV の保持電位から +20 mV までの 2 秒間の細胞膜の脱分極 (チャネルの活性化) 時、およびその後の -40 mV までの 3 秒間の再分極時に、hERG の外向き末尾電流を測定する。この電圧プロトコルを、10 秒間隔で少なくとも 10 回実施する。電流密度が低すぎて測定できない場合には、別の細胞を分析する。コントロール記録を達成すると、細胞に、試験化合物を含有する浴溶液を連続的に灌流させる。試験化合物の流入 (wash-in) の間、遮断の安定状態レベルに達するまで、電圧プロトコルを 10 秒間隔で連続的に実施する。

#### 【0073】

外向き末尾電流のピーク振幅の値 (単位 pA / nA) を各電圧工程について生成し、編集および分析のために印刷する。電流阻害の安定状態レベルで記録された電流振幅を、同じ細胞の処置前の段階において測定されたコントロール条件からの振幅と比較する。電流遮断を、コントロールに対する百分率として算出する。観察された電流阻害が試験物と hERG チャネルとの相互作用によるものであるのか、それとも電流ランダウによるものであるのかを決定するために、これらの残留電流を、ビヒクルで処置した細胞において測定したものと比較する。各化合物について、少なくとも 2 つの別個の細胞からのデータを用いて平均値を算出する。

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P	37/08	(2006.01) A 6 1 P 37/08
A 6 1 P	37/06	(2006.01) A 6 1 P 37/06
A 6 1 P	37/00	(2006.01) A 6 1 P 37/00
A 6 1 P	11/00	(2006.01) A 6 1 P 11/00
A 6 1 P	17/06	(2006.01) A 6 1 P 17/06
A 6 1 P	19/02	(2006.01) A 6 1 P 19/02
A 6 1 P	17/02	(2006.01) A 6 1 P 17/02
A 6 1 P	25/28	(2006.01) A 6 1 P 29/00 1 0 1
A 6 1 P	25/16	(2006.01) A 6 1 P 25/28
A 6 1 P	25/14	(2006.01) A 6 1 P 25/16
A 6 1 P	13/10	(2006.01) A 6 1 P 25/14
A 6 1 P	11/06	(2006.01) A 6 1 P 13/10
A 6 1 P	11/04	(2006.01) A 6 1 P 11/06
A 6 1 P	11/16	(2006.01) A 6 1 P 11/04
A 6 1 P	17/04	(2006.01) A 6 1 P 11/16
A 6 1 P	11/02	(2006.01) A 6 1 P 17/04
A 6 1 P	27/14	(2006.01) A 6 1 P 11/02
A 6 1 P	1/04	(2006.01) A 6 1 P 27/14
A 6 1 P	19/04	(2006.01) A 6 1 P 1/04
A 6 1 P	27/02	(2006.01) A 6 1 P 19/04
A 6 1 P	25/00	(2006.01) A 6 1 P 27/02
		A 6 1 P 25/00

審査官 三上 晶子

(56)参考文献 特表2011-511043(JP, A)  
国際公開第2011/018510(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

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