

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6763769号
(P6763769)

(45) 発行日 令和2年9月30日(2020.9.30)

(24) 登録日 令和2年9月14日(2020.9.14)

(51) Int. Cl.

F I

C07D 487/04	(2006.01)	C O 7 D 487/04	1 4 0
A61K 31/519	(2006.01)	C O 7 D 487/04	C S P
A61P 31/12	(2006.01)	A 6 1 K 31/519	
A61P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A61P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	

請求項の数 8 (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-522487 (P2016-522487)
 (86) (22) 出願日 平成26年6月26日 (2014. 6. 26)
 (65) 公表番号 特表2016-526550 (P2016-526550A)
 (43) 公表日 平成28年9月5日 (2016. 9. 5)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2014/063467
 (87) 国際公開番号 W02014/207082
 (87) 国際公開日 平成26年12月31日 (2014. 12. 31)
 審査請求日 平成29年6月26日 (2017. 6. 26)
 (31) 優先権主張番号 13174108.4
 (32) 優先日 平成25年6月27日 (2013. 6. 27)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 510020022
 ヤンセン・サイエンシズ・アイルランド・
 アンリミテッド・カンパニー
 アイルランド国 コーク州 リングスキデ
 イ、バーナヒリー
 (74) 代理人 100092783
 弁理士 小林 浩
 (74) 代理人 100095360
 弁理士 片山 英二
 (74) 代理人 100120134
 弁理士 大森 規雄
 (74) 代理人 100176094
 弁理士 箱田 満
 (74) 代理人 100104282
 弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く

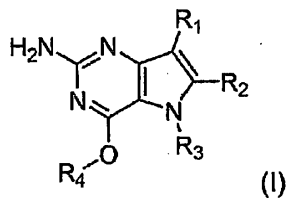
(54) 【発明の名称】 ウイルス感染症および他の疾病の処置のためのピロロ [3, 2-d] ピリミジン誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) の化合物

【化 1】



(式中、

R₁が、H、フッ素またはメチルであり、R₂が、H、ハロゲンまたはC₁~₃アルキルであり、

R₃が、アリーールオキシ、複素環、ハロゲン、アリーール、ヘテロアリーール、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、C₁~₆アルキル、-COOH、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、ニトリル、またはC₁~₆アルコキシから独立に選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されたC₁~₆アルキルであり；

または式中、

R_3 が、ハロゲン、アリールオキシ、アリール、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $-COOH$ 、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アミノスルホニル、ニトリル、または $C_1 \sim 6$ アルコキシから独立に選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されたアルキルアリールであり；

R_4 が、ヒドロキシル、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_3 \sim 7$ シクロアルキル、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_1 \sim 6$ アルキルで任意選択的にさらに置換された $C_3 \sim 7$ シクロアルキル、および $C_1 \sim 6$ アルキルで任意選択的にさらに置換されたヘテロアリールから独立に選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換された $C_1 \sim 6$ アルキルであり、前記ヘテロアリールは、N、O、およびSから選択される1つまたは2つのヘテロ原子を含み；

10

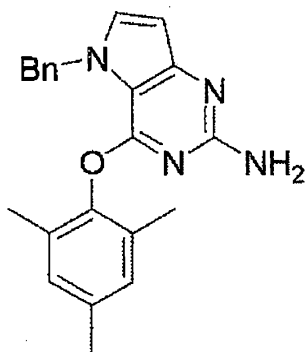
または式中、

R_4 が、ハロゲン、アリールオキシ、アリール、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $-COOH$ 、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アミノスルホニル、ニトリル、または $C_1 \sim 6$ アルコキシから独立に選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されたアルキルアリールである)

およびその薬学的に許容できる塩または溶媒和物であって、

但し、前記化合物は、下記式に示す化合物：

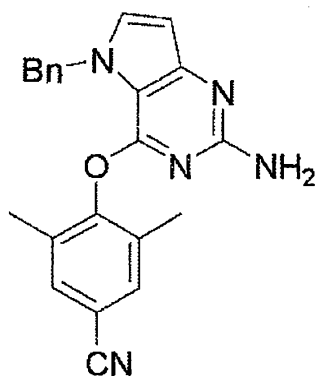
【化3】



20

5-ベンジル-4-(メシチルオキシ)-5H-ピロロ[3,2-d]ピリミジン-2-アミン

30



40

4-(2-アミノ-5-ベンジル-5H-ピロロ[3,2-d]ピリミジン-4-イルオキシ)-3,5-ジメチルベンゾニトリル

を除く化合物である、式(I)の化合物およびその薬学的に許容できる塩または溶媒和物

【請求項2】

R_3 が $-CH_2-$ アリール基(置換または非置換)または $-CH_2-$ ヘテロアリール基(置換または非置換)であり、かつ R_1 、 R_2 、および R_4 が請求項1の通りに記載される、請求項1に記載の化合物およびその薬学的に許容できる塩または溶媒和物。

50

【請求項 3】

R₃が請求項 1 に記載の通りに任意選択的にさらに置換された - C H₂ - アリール基または - C H₂ - ヘテロアリール基であり、

R₄が請求項 1 に記載の通りに任意選択的にさらに置換された - C H₂ - ヘテロアリール基であり、

R₁およびR₂が請求項 1 に記載の通りである、請求項 1 に記載の化合物およびその薬学的に許容できる塩または溶媒和物。

【請求項 4】

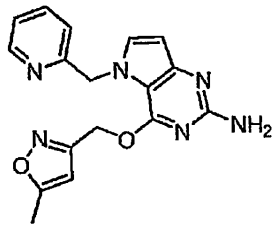
R₁がフッ素であり、R₂が水素であり、かつR₃およびR₄が請求項 1 の通りに記載される、請求項 1 に記載の化合物およびその薬学的に許容できる塩または溶媒和物。

10

【請求項 5】

下記の化学構造：

【化 2】



20

を有する請求項 1 に記載の化合物およびその薬学的に許容できる塩または溶媒和物。

【請求項 6】

1 つまたは複数の薬学的に許容できる賦形剤、希釈剤または担体と共に、請求項 1 または 5 に記載の式 (I) または (I I) の化合物またはその薬学的に許容できる塩もしくは溶媒和物を含む医薬組成物。

【請求項 7】

薬剤として使用するための、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

T L R 7 の活性化が必要である任意の障害の処置に使用するための、請求項 6 に記載の医薬組成物であって、前記式 (I) または (I I) の化合物又はその薬学的に許容できる塩もしくは溶媒和物が T L R 7 アゴニストである、医薬組成物。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ピロロ [3 , 2 - d] ピリミジン誘導体、その調製方法、医薬組成物、ならびに疾患の処置および / または治療におけるそれらの使用に関する。

40

【背景技術】

【0002】

本発明は、ピロロ [3 , 2 - d] ピリミジン誘導体の使用、より具体的には、T o l l 様受容体 (T L R) の調節、またはアゴニズムが関与する、ウイルス感染症、免疫障害または炎症性障害の処置におけるピロロ [3 , 2 - d] ピリミジン誘導体の使用に関する。T o l l 様受容体は、ロイシンに富む細胞外ドメイン、および保存領域を含有する細胞質の伸長を特徴とする主要な膜貫通タンパク質である。自然免疫系は、一定のタイプの免疫細胞の細胞表面上に発現するこの T L R を介して病原体関連分子パターンを認識することができる。外来病原体を認識すると、サイトカインの産生および食細胞における共刺激分子の上方制御が活性化される。これにより、T 細胞挙動が調節される。

50

【0003】

大多数の哺乳類種には、10～15種類のToll様受容体がある。(単純にTLR1～TLR13と命名された)13種のTLRが、ヒトおよびマウスで共に確認されており、これらの多くと同等の形態が、他の哺乳類種において見出されている。しかしながら、ヒトに見られるある特定のTLRに相当するものが、全ての哺乳動物において存在するわけではない。例えば、ヒトのTLR10に類似したタンパク質をコードする遺伝子がマウスに存在するが、過去のいずれかの時点で、レトロウイルスによって損傷されたと考えられる。一方、マウスは、ヒトでは示されないTLR11、12、および13を発現する。他の哺乳動物は、ヒトに見られないTLRを発現し得る。他の非哺乳類種は、トラフグに見られるTLR14によって示されるような、哺乳動物とは異なるTLRを有し得る。これにより、ヒト自然免疫のモデルとして実験動物を使用するプロセスが複雑になる恐れがある。

10

【0004】

Toll様受容体に関する概説については、次の雑誌論文を参照されたい。Hoffmann, J. A., Nature, 426, p33-38, 2003; Akira, S., Takeda, K., and Kaisho, T., Annual Rev. Immunology, 21, p335-376, 2003; Ulevitch, R. J., Nature Reviews: Immunology, 4, p512-520, 2004.

【0005】

国際公開第2000/006577号パンフレットでは複素環誘導体、国際公開第98/01448号パンフレットおよび国際公開第99/28321号パンフレットではアデニン誘導体、ならびに国際公開第2009/067081号パンフレットではピリミジンなどの、Toll様受容体に対して活性を示す化合物が既に記載されている。

20

【0006】

C型肝炎ウイルス(HCV)の場合のように、一定のウイルス感染症の治療では、注射により定期的にインターフェロン(IFN-アルファ)を投与することができる。経口投与可能な低分子IFN誘導物質は、免疫原性の低下と投与の簡便性という利点を提供する可能性がある。このように、新規なIFN誘導物質は、ウイルス感染症の処置のための有効な新種の薬剤の可能性がある。抗ウイルス効果を有する低分子IFN誘導物質の文献中の例については、De Clercq, E.; Descamps, J.; Desome, P. Science 1978, 200, 563-565を参照されたい。

30

【0007】

インターフェロンはまた、一定の種類のがんの処置において、他の薬物と組み合わせて患者に投与される。TLR7/8アゴニストもまた、明白なTh1反応を誘導する能力があるため、ワクチンアジュバントとして着目されている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

しかし、従来技術の化合物と比較して、選択性が好ましく、安全性プロファイルが改善されている新規なToll様受容体調節剤が強く求められている。

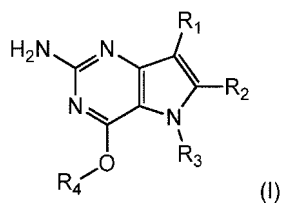
40

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明によって、式(I)の化合物

【化1】



50

(式中、

R_1 は、H、フッ素またはメチルであり、

R_2 は、H、ハロゲンまたは C_{1-3} アルキルであり、

R_3 は、アリーールオキシ、複素環、ハロゲン、アリーール、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 C_{1-6} アルキル、カルボン酸、カルボン酸エステル、カルボン酸アミド、ニトリル、または C_{1-6} アルコキシから独立に選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換された C_{1-6} アルキルであり；

または式中、

R_3 は、ハロゲン、アリーールオキシ、アリーール、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 C_{1-6} アルキル、カルボン酸、カルボン酸エステル、カルボン酸アミド、スルホンアミド、ニトリル、または C_{1-6} アルコキシから独立に選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されたアルキルアリーールであり；

R_4 は、ヒドロキシル、 C_{1-6} アルキル、 C_{3-7} シクロアルキル、 C_{2-6} アルケニル、または C_{1-6} アルキルで任意選択的にさらに置換されたアリーール、および C_{1-6} アルキルで任意選択的にさらに置換された C_{3-7} シクロアルキルから独立に選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換された C_{1-6} アルキルであり；

または式中、

R_4 は、ハロゲン、アリーールオキシ、アリーール、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 C_{1-6} アルキル、カルボン酸、カルボン酸エステル、カルボン酸アミド、スルホンアミド、ニトリル、または C_{1-6} アルコキシから独立に選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されたアルキルアリーールである)

およびその薬学的に許容できる塩、溶媒和物、またはその多形体が提供される。

【0010】

好ましい化合物は、 R_3 が CH_2 -アリーール基（置換または非置換）であり、かつ R_1 、 R_2 および R_4 が上記の通りに記載される、式(I)のものである。

【0011】

第2の実施形態では、 R_3 および R_4 が共に上記の通りに任意選択的にさらに置換された CH_2 -アリーール基であり、 R_1 および R_2 が上記の通りである、式(I)の化合物である。

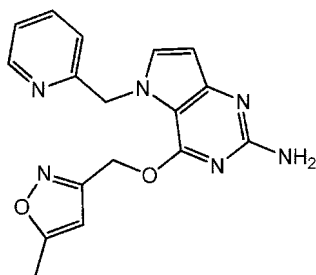
【0012】

他の好ましい実施形態は、 R_1 がフッ素であり、 R_2 が水素であり、かつ R_3 および R_4 が上記の通りに記載される、式(I)のものである。

【0013】

最も好ましい化合物は、下記の化学構造：

【化2】



(II)

を有する式(II)の化合物である。

【0014】

式(I)および(II)の化合物およびその薬学的に許容できる塩、溶媒和物または多形体は、医薬品として、特に、Toll様受容体（特に、TLR7）活性の調節剤としての活性を有する。

【0015】

さらなる態様において、本発明は、式(I)または(II)の化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物もしくは多形体を、1つまたは複数の薬学的に許容できる賦形剤、希釈剤または担体と共に含む医薬組成物を提供する。

【0016】

さらに、本発明に係る式(I)または(II)の化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物もしくは多形体、あるいは式(I)または(II)の前記化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物もしくは多形体を含む医薬組成物は、薬剤として使用され得る。

【0017】

本発明の別の態様は、式(I)または(II)の化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物もしくは多形体、あるいは式(I)または(II)の前記化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物もしくは多形体を含む前記医薬組成物が、TLR7の調節が関与するいずれの障害の処置にも相応に使用され得ることである。

【発明を実施するための形態】

【0018】

「アルキル」という用語は、規定数の炭素原子を含有する直鎖状または分枝鎖状の飽和脂肪族炭化水素を指す。

【0019】

「ハロゲン」という用語は、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を指す。

【0020】

「アルキルアリール」という用語は、「アリール」が以下の通りに定義される、アリールで置換された規定数の炭素原子を含有する直鎖状または分枝鎖状の飽和脂肪族炭化水素を指す。

【0021】

「アルケニル」という用語は、少なくとも2つの炭素原子および少なくとも1つの炭素-炭素二重結合からなる上に定義されるアルキルを指す。

【0022】

「シクロアルキル」という用語は、規定数の炭素原子を含有する炭素環を指す。

【0023】

「アルコキシ」という用語は、例えば、メトキシ基またはエトキシ基のような、酸素原子に単結合しているアルキル(炭素と水素の鎖)基を指す。

【0024】

「アリール」という用語は、N、OおよびSから、特にNおよびOから選択される1つまたは2つのヘテロ原子を任意選択的に含む芳香環構造を意味する。前記芳香環構造は、5つ、6つまたは7つの環原子を有し得る。特に、前記芳香環構造は、5つまたは6つの環原子を有し得る。

【0025】

「アリールオキシ」という用語は、芳香環構造を指す。前記芳香族基は酸素に単結合している。

【0026】

「複素環」という用語は、飽和または部分的に飽和した分子を指し、テトラヒドロフラン、ジオキサンまたは他の環状エーテルを含む。窒素を含有する複素環としては、例えば、アゼチジン、モルホリン、ピペリジン、ピペラジン、ピロリジンなどが挙げられる。他の複素環としては、例えば、チオモルホリン、ジオキソリニル(dioxolinyl)、および環状スルホンが挙げられる。

【0027】

式(I)および(II)の化合物の薬学的に許容できる塩としては、その酸付加塩および塩基塩が挙げられる。好適な酸付加塩は、非毒性塩を生成する酸から生成される。好適な塩基塩は、非毒性塩を生成する塩基から生成される。

10

20

30

40

50

【0028】

本発明の化合物はまた、非溶媒和および溶媒和形態で存在してもよい。本明細書では、「溶媒和物」という用語は、本発明の化合物と、1種以上の薬学的に許容できる溶媒分子、例えば、エタノールとを含む分子錯体を表すために使用される。

【0029】

「多形体」という用語は、本発明の化合物が2つ以上の形態または結晶構造で存在できることを指す。

【0030】

本発明の化合物は、結晶質生成物または非晶質生成物として投与され得る。それらは、沈殿、結晶化、凍結乾燥、噴霧乾燥、または蒸発乾燥などの方法によって、例えば、固体プラグ、粉末、またはフィルムとして得ることができる。それらは、単独で、または本発明の1種以上の他の化合物と組み合わせられて、または1種以上の他の薬物と組み合わせられて投与され得る。一般に、それらは、1種以上の薬学的に許容できる賦形剤と共に製剤として投与されるであろう。本明細書では「賦形剤」という用語は、本発明の化合物以外の任意の成分を表すために使用される。賦形剤の選択は、具体的な投与形態、溶解性および安定性に対する賦形剤の影響、および剤形の性質などの要因に大きく左右される。

【0031】

本発明の化合物またはその任意のサブグループは、投与のために様々な医薬品形態へと製剤化され得る。適切な組成物として、全身投与薬物に通常使用される全ての組成物を挙げ得る。本発明の医薬組成物を調製するには、有効成分としての特定の化合物の有効量を、任意選択により付加塩形態で、薬学的に許容できる担体と組み合わせて緊密な混合物とする。この担体は、投与に所望される製剤の形態に応じて、多種多様な形態をとり得る。これらの医薬組成物は、例えば、経口、直腸内、または経皮投与に好適な単一の剤形であるのが望ましい。例えば、経口投与形態の組成物を調製する際、懸濁液、シロップ剤、エリキシル剤、乳剤および溶液剤などの経口液体製剤の場合には、例えば水、グリコール、油、アルコールなどの通常の医薬媒体の任意のものを使用することができ、また散剤、丸剤、カプセル剤および錠剤の場合には、デンプン、糖、カオリン、希釈剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤などの固体担体を使用し得る。投与が容易であるため、錠剤およびカプセル剤は最も有利な経口投与単位剤形を代表するものであり、その場合、固体医薬担体が当然使用される。使用の直前に液体形態に変換され得る固形製剤もまた含まれる。経皮投与に好適な組成物においては、担体は、浸透促進剤および/または好適な湿潤剤を、少量の、任意の性質の好適な添加剤と任意選択により組み合わせて、任意選択により含み、これらの添加剤は、有意な有害作用を皮膚に及ぼすものではない。前記添加剤は、皮膚への投与を容易にすることができ、かつ/または所望の組成物の調製に有用となり得る。これらの組成物は、様々な方法で、例えば、経皮貼付剤として、スポットオン剤として、軟膏剤として投与され得る。本発明の化合物はまた、吸入または吹送による投与のために当該技術分野において使用される方法および製剤を用いて、吸入または吹送によって投与され得る。したがって、一般に、本発明の化合物は、溶液、懸濁液または乾燥粉末の形態で肺に投与され得る。

【0032】

投与を容易にし、投与量を均一にするために、前述した医薬組成物を単位剤形に製剤化することは特に有利である。本明細書で使用される単位剤形とは、単位投与量として好適な物理的に個別の単位を指し、各単位は、必要な医薬担体と共同して所望の治療効果を生じるよう計算された所定量の有効成分を含有する。そのような単位剤形の例としては、錠剤（分割錠剤またはコーティング錠剤を含む）、カプセル剤、丸剤、粉末パッケージ、ウエハー、坐剤、注射液、または懸濁剤など、およびそれらの分離複合剤がある。

【0033】

感染症の治療の当業者は、以下に示される試験結果から有効量を決定することができるであろう。一般に、有効な日量は、 $0.01 \text{ mg/kg} \sim 50 \text{ mg/kg}$ 体重、より好ましくは $0.1 \text{ mg/kg} \sim 10 \text{ mg/kg}$ 体重であろうと考えられる。必要な用量を2、

10

20

30

40

50

3、4またはそれより多いサブ用量として、一日の間に適切な間隔を置いて投与することが適切であり得る。前記サブ用量は、例えば、単位剤形当たり1～1000mg、特に、5～200mgの有効成分を含有する単位剤形として製剤化され得る。

【0034】

正確な投与量および投与頻度は、当業者に周知のように、使用する式(I)の特定の化合物、治療される特定の病態、治療される病態の重症度、特定の患者の年齢、体重および全身的な身体状態、ならびに個体が摂取している可能性のある他の薬剤に応じて決まる。さらに、有効量は、治療される対象の応答に応じて、かつ/または本発明の化合物を処方する医師の評価に応じて、減少または増加させ得ることは明らかである。したがって、上記の有効量の範囲は指針に過ぎず、本発明の範囲または使用を、いかなる程度であれ限定することは意図されていない。

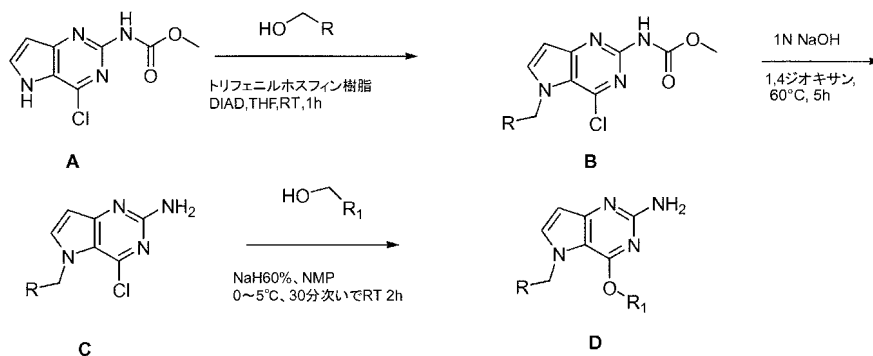
10

【0035】

実験の項

スキーム1. 全体的な反応スキーム

【化3】



20

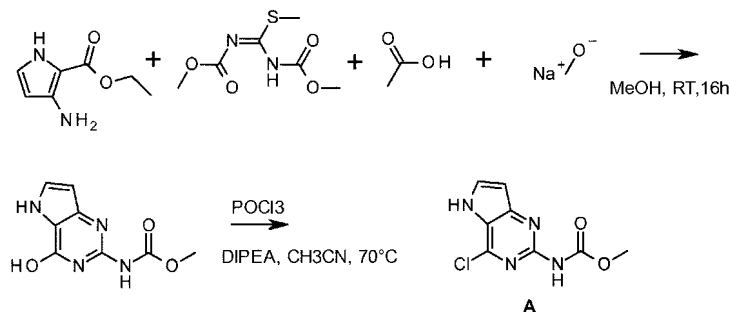
スキーム1のタイプAの化合物は、光延条件を使用して、極性非プロトン性溶媒、例えばTHF中で、アルコールで官能化することができる。カルバミン酸メチルの開裂を、1,4-ジオキサン中で、塩基性条件にて実施して中間体Cを生成した。中間体Cの塩素の置換を、極性非プロトン性溶媒(例えばNMP)中、アルコールおよび塩基(例えばNaH)で実施してタイプDの化合物を生成した。

30

【0036】

中間体Aの調製

【化4】



40

3-アミノ-2-エトキシカルボニルピロール塩酸塩(25.8g、135.3mmol)をジクロロメタンと飽和NaHCO₃との間で分配した。有機層をMgSO₄で乾燥し、固体を濾過によって除去し、濾液の溶媒を蒸発乾固させた。残渣を1,3-ビス(メトキシカルボニル)-2-メチル-2-チオプロイド尿素(32.1g、156mmol)および酢酸(39mL、677mmol)と一緒にメタノール(500mL)に溶解し、室温で1時間攪拌した。沈殿物が現れ、攪拌を終夜継続した。ナトリウムメトキシド(

50

73.1 g、1353 mmol) を添加した。発熱反応が観察され、反応混合物を終夜撹拌した。混合物を酢酸で pH 5 にし、沈殿物を濾過で単離し、フィルター上で水 (2 × 350 mL)、アセトニトリル (350 mL) およびジイソプロピルエーテル (350 mL) で研和した。得られたメチル N - (4 - ヒドロキシ - 5 H - ピロロ [3, 2 - d] ピリミジン - 2 - イル) カルバマート を乾燥器で乾燥した。

【0037】

室温で、メチル N - (4 - ヒドロキシ - 5 H - ピロロ [3, 2 - d] ピリミジン - 2 - イル) カルバマート (25 g、120 mmol) を、オーバーヘッドスターラー (300 rpm) を具備する 500 mL 多口フラスコ内のアセトニトリル 350 mL 中に分注した。POCl₃ (22.1 mL、238.2 mmol) を添加し、次いで反応混合物を撹拌しながら 70 °C に加熱した。ジイソプロピルエチルアミン (41.4 mL、240.2 mmol) をシリンジポンプにより流速 0.2 mL / 分で滴加した。

10

【0038】

反応混合物を室温まで冷却し、45 °C の撹拌した酢酸ナトリウム (78.8 g、961 mmol) の水溶液 (500 mL) に注入した。有機物を蒸発させ、残留液体を撹拌し、氷浴で冷却した。生成した固体を濾過によって単離し、アセトニトリルで洗浄し、ジイソプロピルエーテルで研和して中間体 A を得、これを真空乾燥した。LC - MS m/z = 227 (M + H)

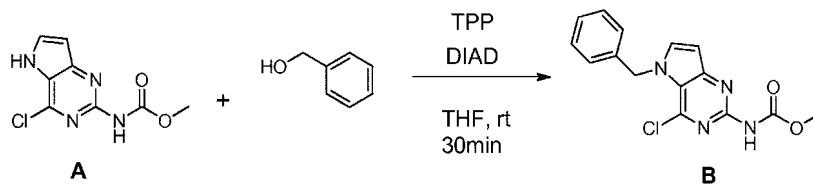
【0039】

中間体 B の調製

20

方法 1

【化 5】



室温で、無水 THF (15 mL) 中、A (500 mg、2.2 mmol)、ベンジルアルコール (0.28 mL、2.6 mmol) およびトリフェニルホスフィン (0.69 g、2.6 mmol) の懸濁液に、DIAD (0.64 mL、3.3 mmol) を添加した。反応混合物を室温で 30 分間撹拌した。混合物を減圧濃縮した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーで、ヘプタンから酢酸エチル (100 - 0 から 90 - 10) への勾配を使用して、生成物を精製した。生成物画分を回収し、濃縮した。生成物をジイソプロピルエーテル中で研和し、濾過で単離し、真空乾燥し、B を淡黄色固体として得た。LC - MS m/z = 317 (M + H)

30

【0040】

樹脂結合トリフェニルホスフィンを用いた方法 2

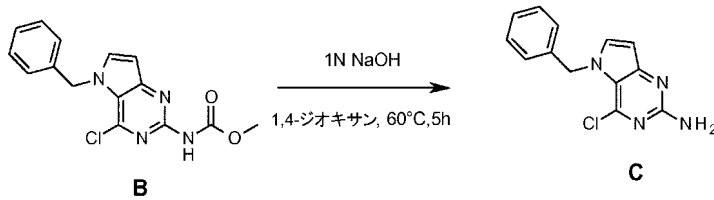
室温で、無水 THF (21 mL) 中、A (700 mg、3.1 mmol)、ベンジルアルコール (0.39 mL、3.7 mmol) およびトリフェニルホスフィン樹脂 (2.6 g、7.7 mmol) の懸濁液に、DIAD (0.90 mL、4.6 mmol) を添加した。反応混合物を室温で 1 時間撹拌した。混合物を充填デカライトで濾過し、メタノールで洗浄した。濾液を真空濃縮した。生成物をジイソプロピルエーテル中で研和し、濾過で単離し、真空乾燥し、淡黄色固体 B を得た。LC - MS m/z = 317 (M + H)

40

【0041】

中間体 C の調製

【化6】



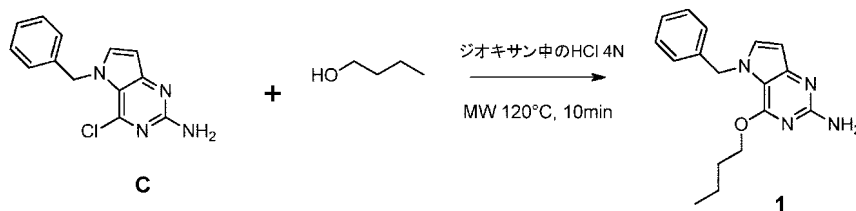
B (738 mg、2.3 mmol) を、50 mL ガラス管内の 1,4 - ジオキサン (11 mL) に溶解し、NaOH (5.6 mL、1 N 水溶液) を添加した。混合物を 60 に 5 時間加熱した。混合物を冷却し、真空濃縮した。残渣を水で処理し、沈殿物を濾過で単離し、真空乾燥して C を固体として得た。生成物をそのまま次の工程に使用した。LC-MS $m/z = 259$ (M + H)

【0042】

1 および 2 の調製

方法 1

【化7】

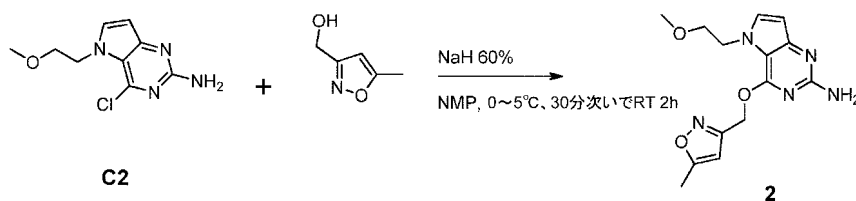


ジオキサン (0.46 mL、1.9 mmol) 中の、中間体 C (240 mg、0.93 mmol)、n - ブチルアルコール (3.2 mL、35 mmol)、および 4 N HCl を、7 mL マイクロウェーブバイアルに入れた。バイアルを密封し、混合物を電子レンジ内、120 で 10 分間、加熱した。混合物を冷却し、真空濃縮した。残渣を飽和 NaHCO₃ 溶液で中和し、ジクロロメタンで抽出した。有機層を分離し、乾燥させ (MgSO₄)、固体を濾過で除去し、濾液を減圧濃縮した。生成物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで、ジクロロメタン - メタノール (100 - 0 から 95 - 5) の勾配を使用して精製した。最良画分を回収し、減圧濃縮した。生成物をジイソプロピルエーテル中で研和し、固体を濾過で単離して真空乾燥し、1 を白色固体として得た。

【0043】

方法 2

【化8】



中間体 C2 (250 mg、1.1 mmol)、および 3 - ヒドロキシメチル - 5 - メチルイソキサゾール (0.16 mL、1.65 mmol) を、7 mL バイアル内の NMP (3 mL) に溶解した。混合物を氷浴で冷却し、NaH (66 mg、1.65 mmol、鉱油中 60% 分散) を N₂ 下で添加し、混合物を 0 ~ 5 で 30 分間攪拌し、次いで室温まで昇温し、2 時間攪拌し続けた。次いで、粗反応混合物を分取 HPLC (固定相: RP

10

20

30

40

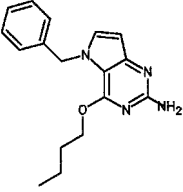
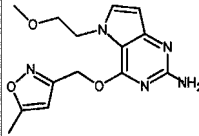
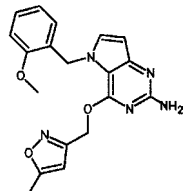
50

Vydac Denali C18 (10 μm, 200 g, 5 cm)、移動相：0.25% NH₄OAc水溶液、CH₃CN)で精製し、所望の画分を回収して、真空濃縮した。生成物をCH₃CNから結晶化し、濾過で単離し、真空乾燥して白色固体2を得た。

【0044】

【表1】

表1.式(I)の化合物および対応する分析データ。化合物を実験項に記載した方法に従って調製した。

#	構造	¹ H NMR	LC法、 室温(分)	確認された LC-MS質量(M+H)
1		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.85 (t, J=7.37 Hz, 3 H) 1.26 (dq, J=15.02, 7.39 Hz, 2 H) 1.56 - 1.63 (m, 2 H) 4.30 (t, J=6.38 Hz, 2 H) 5.39 (s, 2 H) 5.72 (s, 2 H) 6.08 (d, J=3.08 Hz, 1 H) 7.03 - 7.08 (m, 2 H) 7.19 - 7.25 (m, 1 H) 7.26 - 7.32 (m, 2 H) 7.48 (d, J=3.08 Hz, 1 H)	B, 1.98	297
2		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2.41 (d, J=0.66 Hz, 3 H) 3.17 (s, 3 H) 3.57 (t, J=5.50 Hz, 2 H) 4.29 (t, J=5.50 Hz, 2 H) 5.50 (s, 2 H) 5.82 (s, 2 H) 6.03 (d, J=2.86 Hz, 1 H) 6.37 (d, J=0.88 Hz, 1 H) 7.35 (d, J=2.86 Hz, 1 H)	A, 0.69	304
3		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2.33 - 2.38 (m, 3 H) 3.79 (s, 3 H) 5.34 (s, 2 H) 5.38 (s, 2 H) 5.75 (s, 1 H) 5.86 (s, 2 H) 6.12 (d, J=3.08 Hz, 1 H) 6.40 - 6.47 (m, 1 H) 6.78 (td, J=7.48, 0.66 Hz, 1 H) 7.00 (d, J=7.92 Hz, 1 H) 7.24 (td, J=7.80, 1.80 Hz, 1 H) 7.43 (d, J=2.86 Hz, 1 H)	B, 1.62	366

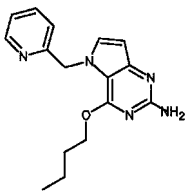
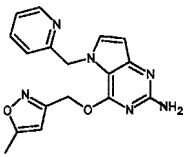
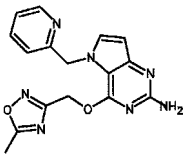
【0045】

10

20

30

【表 2】

#	構造	¹ H NMR	LC法、 室温(分)	確認された LC-MS 質量 (M+H)
4		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 0.77 (t, J=7.4 Hz, 3 H), 1.12 (dq, J=15.0, 7.4 Hz, 2 H), 1.40 - 1.50 (m, 2 H), 4.21 (t, J=6.4 Hz, 2 H), 5.49 (s, 2 H), 5.73 (s, 2 H), 6.11 (d, J=2.9 Hz, 1 H), 6.65 (d, J=7.9 Hz, 1 H), 7.21 - 7.28 (m, 1 H), 7.47 (d, J=3.1 Hz, 1 H), 7.69 (td, J=7.7, 1.8 Hz, 1 H), 8.47 - 8.53 (m, 1 H)	A, 0.81	298
5		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2.35 (s, 3 H) 5.37 (s, 2 H) 5.47 (s, 2 H) 5.84 - 5.90 (m, 3 H) 6.14 (d, J=2.86 Hz, 1 H) 6.72 (d, J=7.92 Hz, 1 H) 7.24 (dd, J=6.93, 4.95 Hz, 1 H) 7.52 (d, J=3.08 Hz, 1 H) 7.65 (td, J=7.70, 1.76 Hz, 1 H) 8.47 (d, J=4.18 Hz, 1 H)	B, 1.29	337
6		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2.57 (s, 3 H) 5.45 (s, 2 H) 5.51 (s, 2 H) 5.85 (s, 2 H) 6.13 (d, J=2.86 Hz, 1 H) 6.85 (d, J=7.70 Hz, 1 H) 7.22 (dd, J=7.04, 5.06 Hz, 1 H) 7.52 (d, J=3.08 Hz, 1 H) 7.64 (td, J=7.65, 1.65 Hz, 1 H) 8.43 (d, J=4.18 Hz, 1 H)	B, 1.14	338

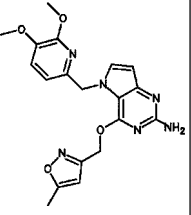
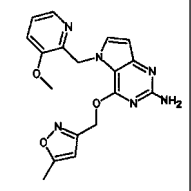
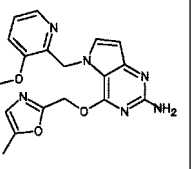
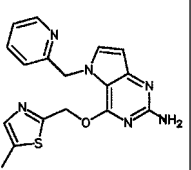
10

20

30

【 0 0 4 6 】

【表 3】

#	構造	¹ H NMR	LC法、 室温(分)	確認された LC-MS 質量 (M+H)
7		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2.36 (s, 3 H) 3.74 (s, 3 H) 3.71 (s, 3 H) 5.29 (s, 2 H) 5.40 (s, 2 H) 5.85 (s, 2 H) 5.93 (s, 1 H) 6.12 (d, J=3.08 Hz, 1 H) 6.29 (d, J=7.92 Hz, 1 H) 7.11 (d, J=7.92 Hz, 1 H) 7.50 (d, J=3.08 Hz, 1 H)	B, 1.45	397
8		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2.36 (s, 3 H) 3.80 (s, 3 H) 5.31 (s, 2 H) 5.48 (s, 2 H) 5.75 - 5.81 (m, 3 H) 6.07 (d, J=2.86 Hz, 1 H) 7.25 (dd, J=8.25, 4.73 Hz, 1 H) 7.36 - 7.41 (m, 2 H) 7.90 (dd, J=4.73, 0.99 Hz, 1 H)	A, 0.72	367
9		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2.23 (d, J=1.10 Hz, 3 H) 3.77 (s, 3 H) 5.32 (s, 2 H) 5.45 (s, 2 H) 5.77 (s, 2 H) 6.07 (d, J=2.86 Hz, 1 H) 6.79 (d, J=1.10 Hz, 1 H) 7.21 (dd, J=8.25, 4.73 Hz, 1 H) 7.33 (dd, J=8.36, 1.32 Hz, 1 H) 7.37 (d, J=2.86 Hz, 1 H) 7.88 (dd, J=4.73, 1.21 Hz, 1 H)	B, 1.26	367
10		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 2.34 - 2.41 (m, 3 H) 5.49 (s, 2 H) 5.58 (s, 2 H) 5.88 (s, 2 H) 6.15 (d, J=2.86 Hz, 1 H) 6.72 (d, J=7.92 Hz, 1 H) 7.20 - 7.25 (m, 1 H) 7.43 (d, J=1.10 Hz, 1 H) 7.52 (d, J=2.86 Hz, 1 H) 7.63 (td, J=7.70, 1.76 Hz, 1 H) 8.46 (dd,	B, 1.28	353

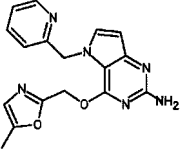
10

20

30

【 0 0 4 7 】

【表4】

#	構造	¹ H NMR	LC法、 室温(分)	確認された LC-MS質量(M+H)
		J=4.73, 0.77 Hz, 1 H)		
11		¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 2.24 (s, 3 H) 5.39 (s, 2 H) 5.43 (s, 2 H) 5.85 (s, 2 H) 6.13 (d, J=2.86 Hz, 1 H) 6.76 (d, J=7.70 Hz, 1 H) 6.81 (s, 1 H) 7.21 (dd, J=6.93, 5.17 Hz, 1 H) 7.52 (d, J=2.86 Hz, 1 H) 7.62 (td, J=7.65, 1.43 Hz, 1 H) 8.40 - 8.45 (m, 1 H)	B , 1.18	337

10

【0048】

分析方法

LCMS基本手順

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）測定は、各方法に記載したLCポンプ、ダイオードアレイ（DAD）検出器またはUV検出器およびカラムを使用して行った。必要に応じて、その他の検出器も含まれた（下の方法の表を参照）。

20

【0049】

カラムからの流れを、大気圧イオン源を備える質量分析計（MS）に導入した。化合物の公称モノアイソトピック分子量（MW）の特定を可能にするイオンを得るために、調整パラメーター（例えば、走査範囲、滞留時間など）を設定することは、当業者の知識の範囲内である。適切なソフトウェアを用いてデータ取得を行った。

【0050】

化合物は、それらの実験保持時間（R_t）およびイオンで表される。データの表に別段記載されていない場合は、報告された分子イオンは、[M+H]⁺（プロトン化分子）および/または[M-H]⁻（脱プロトン化分子）に相当する。化合物が直接イオン化できなかった場合、付加物の種類が明記される（即ち、[M+NH₄]⁺、[M+HCOO]⁻等）。同位体パターンが複数ある分子（例えばBr、Cl）については、報告された値は最低同位体質量について得られたものである。得られた結果全てに、使用した方法に通常関連する実験的不確実性が伴った。

30

【0051】

以下では、「SQD」はシングル四重極検出器を意味し、「MSD」は質量選択検出器を意味し、「RT」は室温を意味し、「BEH」は架橋エチルシロキサン/シリカハイブリッドを意味し、「DAD」はダイオードアレイ検出器を意味し、「HSS」は高強度シリカを意味し、「Q-ToF」は四重極飛行時間型質量分析計を意味し、「CLND」は化学発光窒素検出器を意味し、「ELSD」は蒸発光走査検出器を意味する。

40

【0052】

【表 5】

LC-MS 法コード (mL/分で表した流れ; カラム温度 (Col T)(°C);実行時間(分)。

方法コード	機器	カラム	移動相	勾配	流れ ----- Col T	実行時間
A	Waters: Acquity® UPLC® -DAD および SQD	Waters : BEH C18 (1.7µm, 2.1*50mm)	A: 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN 中 10mM CH ₃ COONH ₄ B: CH ₃ CN	1.3 分で 95% A から 5% A へ 0.7 分間 保持	0.8 ----- 55	2
B	Waters: Acquity® UPLC® -DAD および SQD	Waters : HSS T3 (1.8µm, 2.1*100m m)	A: 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN 中 10mM CH ₃ COONH ₄ B: CH ₃ CN	2.10 分で 100% A から 5% A へ、 0.90 分で 0% A へ、 0.5 分で 5% A へ	0.8 ----- 55	3.5

10

【0053】

式 (I) および (II) の化合物の生物学的活性
生物学的アッセイの説明

20

TLR7 および TLR8 活性の評価

化合物がヒト TLR7 および / または TLR8 を活性化する能力を、TLR7 または TLR8 発現ベクターおよび NF- κ B レポーター構築物を一過的にトランスフェクトした HEK293 細胞を使用して、細胞レポーターアッセイで評価した。

【0054】

簡潔に述べると、HEK293 細胞を、培養培地 (10% FCS および 2 mM グルタミンが補充された DMEM) 中で成長させた。15 cm 皿内での細胞のトランスフェクションについては、細胞をトリプシン-EDTA で剥離し、CMV-TLR7 または TLR8 プラスミド (1700 ng) と、NF- κ B レポータープラスミド (850 ng) と、トランスフェクション試薬との混合物をトランスフェクトし、加湿した 5% CO₂ 雰囲気中 37

30

で 48 時間インキュベートした。次に、トランスフェクトした細胞を PBS 中で洗浄し、トリプシン-EDTA で剥離し、 1.25×10^5 個の細胞/mL の密度で培地に再懸濁した。次に、40 マイクロリットルの細胞を、100% DMSO 中 200 nL の化合物が既に存在する、384 ウェルプレートの各ウェル中に分注した。37、5% CO₂ で 6 時間インキュベートした後、15 μ L の Steady Lite Plus 基質 (Perkin Elmer) を各ウェルに添加し、ViewLux ultra HTS マイクロプレートイメージャー (Perkin Elmer) で読み取りを実施してルシフェラーゼ活性を求めた。4 通り実施した測定値から用量反応曲線を作成した。最低有効濃度 (LEC) 値を、アッセイの標準偏差より少なくとも 2 倍高い効果を誘発する濃度として定義し、各化合物について求めた。

40

【0055】

384 ウェルプレート中で、CMV-TLR7 構築物のみをトランスフェクトした、1 ウェル当たり 40 μ L の細胞 (1.25×10^5 個の細胞/mL) と共に、同様の希釈系列の化合物を使用して、化合物の毒性を、並行して決定した。37、5% CO₂ で 6 時間インキュベートした後、1 ウェル当たり 15 μ L の ATP lite (Perkin Elmer) を添加し、ViewLux ultra HTS マイクロプレートイメージャー (Perkin Elmer) で読み取ることによって、細胞生存率を求めた。データを CC₅₀ として報告した。

【0056】

並行して、NF- κ B レポーター構築物のみをトランスフェクトした、1 ウェル

50

当たり40 μ Lの細胞 (1.25×10^5 個の細胞/mL) と共に、同様の希釈系列の化合物 (100% DMSO中、200 nLの化合物) を使用した。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ でインキュベートした6時間後、15 μ LのSteady Lite Plus基質 (Perkin Elmer) を各ウェルに添加し、ViewLux ultraHTSマイクロプレートイメージャー (Perkin Elmer) で読み取りを実施して、ルシフェラーゼ活性を求めた。カウンタースクリーンデータをLECとして報告する。

【0057】

ISREプロモーター配列の活性化

PBMCからの調整培地によるインターフェロン刺激応答配列 (ISRE) の活性化を測定することにより、化合物のIFN- γ 誘導能力も評価した。配列GAAACTGAAACTのISRE配列はSTAT1-STAT2-IRF9転写因子に対する応答性が高く、それはIFN- γ がその受容体IFNAR (Clontech、PT3372-5W) に結合すると活性化される。Clontech製のプラスミドpISRE-Luc (ref. 631913) は、このISRE配列を5コピー、その後ホタルルシフェラーゼORFを含有する。pISRE-Lucを安定トランスフェクトしたHEK293細胞株 (HEK-ISRELuc) を、調整PBMC細胞培養培地のプロファイルに合うように樹立した。

【0058】

簡潔に述べると、標準的なFicoll遠心分離プロトコルを使用して、少なくとも2供与体の軟膜からPBMCを調製した。単離したPBMCを、10%ヒトAB血清が補充されたRPMI培地に再懸濁させ、 2×10^5 個の細胞/ウェルを、化合物を含有する384ウェルプレート中に分注した (全体積70 μ L)。終夜インキュベートした後、30 μ L中 5×10^3 個のHEK-ISRELuc細胞/ウェルが入った (前日に播種した) 384ウェルプレートに上清10 μ Lを移した。24時間インキュベートした後、40 μ L/ウェルのSteady Lite Plus基質 (Perkin Elmer) を使用してルシフェラーゼ活性をアッセイし、ViewLux ultraHTSマイクロプレートイメージャー (Perkin Elmer) で測定することにより、ISRE配列の活性化を測定した。HEK-ISRELuc細胞に対する各化合物の刺激活性をLEC値として報告したが、これを、PBMCに適用するとアッセイの標準偏差よりも少なくとも2倍高いルシフェラーゼ活性が得られる化合物濃度と定義した。ここで、LECは、規定量のPBMC培養培地の移入に対するISRE活性化の程度を示す。組み換えインターフェロン- γ (Roferon-A) を標準対照化合物として使用した。

【0059】

10

20

30

【表 6】

表 2. 式(1)の化合物の活性。

全ての化合物が $CC_{50} > 24 \mu\text{M}$ を示した。

#	ヒト TLR 7 (LEC) μM	ヒト TLR 8 (LEC) μM	HEK-ISRE luc (LEC) μM
1	0.6	>25	0.4
2	2.7	>25	0.5
3	0.1	>25	0.03
4	1.4	>25	0.6
5	0.4	>25	0.1
6	3.9	>25	2
7	0.08	>25	0.03
8	0.03	>25	0.01
9	0.07	>25	NA
10	0.5	>25	NA
11	0.6	>25	NA

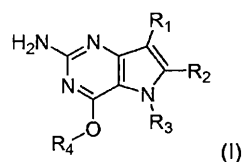
NA = 該当せず

本発明は以下の態様を含む。

< 1 >

式 (I) の化合物

【化 1】



(式中、

R_1 が、H、フッ素またはメチルであり、

R_2 が、H、ハロゲンまたは C_{1-3} アルキルであり、

R_3 が、アリーールオキシ、複素環、ハロゲン、アリーール、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 C_{1-6} アルキル、カルボン酸、カルボン酸エステル、カルボン酸アミド、ニトリル、または C_{1-6} アルコキシから独立に選択される 1 つまたは複数の置換基で任意選択

的に置換された C_{1-6} アルキルであり；

または式中、

R_3 が、ハロゲン、アリーロキシ、アリール、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 C_{1-6} アルキル、カルボン酸、カルボン酸エステル、カルボン酸アミド、スルホンアミド、ニトリル、または C_{1-6} アルコキシから独立に選択される 1 つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されたアルキルアリールであり；

R_4 が、ヒドロキシル、 C_{1-6} アルキル、 C_{3-7} シクロアルキル、 C_{2-6} アルケニル、または C_{1-6} アルキルで任意選択的にさらに置換されたアリール、および C_{1-6} アルキルで任意選択的にさらに置換された C_{3-7} シクロアルキルから独立に選択される 1 つまたは複数の置換基で任意選択的に置換された C_{1-6} アルキルであり；

10

または式中、

R_4 が、ハロゲン、アリーロキシ、アリール、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 C_{1-6} アルキル、カルボン酸、カルボン酸エステル、カルボン酸アミド、スルホンアミド、ニトリル、または C_{1-6} アルコキシから独立に選択される 1 つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されたアルキルアリールである）

およびその薬学的に許容できる塩、溶媒和物、またはその多形体。

< 2 >

R_3 が CH_2 -アリール基（置換または非置換）であり、かつ R_1 、 R_2 、および R_4 が < 1 > の通りに記載される、< 1 > に記載の化合物。

< 3 >

R_3 および R_4 が共に < 1 > に記載の通りに任意選択的にさらに置換された CH_2 -アリール基であり、 R_1 および R_2 が < 1 > に記載の通りである、式 (I) の化合物。

20

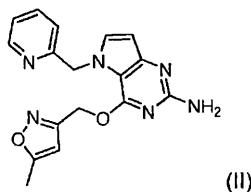
< 4 >

R_1 がフッ素であり、 R_2 が水素であり、かつ R_3 および R_4 が < 1 > の通りに記載される、< 1 > に記載の化合物。

< 5 >

下記の化学構造：

【化 2】



30

を有する < 1 > に記載の化合物。

< 6 >

1 つまたは複数の薬学的に許容できる賦形剤、希釈剤または担体と共に、< 1 > または < 5 > に記載の式 (I) または (II) の化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物もしくは多形体を含む医薬組成物。

40

< 7 >

薬剤として使用するための、< 1 > または < 5 > に記載の式 (I) または (II) の化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物もしくは多形体、あるいは式 (I) または (II) の前記化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物もしくは多形体を含む < 6 > に記載の医薬組成物。

< 8 >

TLR7 の調節が関与するいずれの障害の処置にも使用するための、< 1 > または < 5 > に記載の式 (I) または (II) の化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物

50

もしくは多形体、あるいは式 (I) または (I I) の前記化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物もしくは多形体を含む < 6 > に記載の医薬組成物。

フロントページの続き

- (51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 43/00 1 1 1
- (72)発明者 マク ゴワン, デイビッド クレイグ
ベルギー国 ベー - 1 1 5 0 ブリュッセル, ドゥ ビオレラン 8 0
- (72)発明者 ピーターズ, セルジュ マリア アロイシウス
オランダ国 エヌエル - 4 5 6 2 エーアール ハルスト, ピザーロストラート 2
- (72)発明者 ラスト, シュテファーン ジュリエン
ベルギー国 ベー - 2 5 4 7 リント, クラウウエルショープ 5 9
- (72)発明者 エンブレッツ, ベルナー
ベルギー国 ベー - 2 3 4 0 ベーアセ, プレムストラート 7
- (72)発明者 ジョンカーズ, ティム ユーゴ マリア
ベルギー国 ベー - 2 2 2 0 ハイスト - オプ - デン - ベルグ, ポロストラート 2 エー
- (72)発明者 ラボワソン, ピエール ジャン - マリー ベルナルド
ベルギー国 ベー - 1 3 3 1 ロジェール, リュ ジョリー 3

審査官 薄井 慎矢

- (56)参考文献 特開2008 - 222557 (JP, A)
特表2008 - 540454 (JP, A)
特表2000 - 502723 (JP, A)
特表2003 - 502272 (JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C 0 7 D A 6 1 K A 6 1 P
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)