

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4490110号
(P4490110)

(45) 発行日 平成22年6月23日 (2010. 6. 23)

(24) 登録日 平成22年4月9日 (2010. 4. 9)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 265/30 (2006. 01)

A 6 1 K 31/5375 (2006. 01)

A 6 1 P 11/02 (2006. 01)

A 6 1 P 11/06 (2006. 01)

A 6 1 P 17/00 (2006. 01)

C O 7 D 265/30 C S P

A 6 1 K 31/5375

A 6 1 P 11/02

A 6 1 P 11/06

A 6 1 P 17/00

請求項の数 5 (全 17 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-579828 (P2003-579828)
 (86) (22) 出願日 平成15年3月27日 (2003. 3. 27)
 (65) 公表番号 特表2005-525390 (P2005-525390A)
 (43) 公表日 平成17年8月25日 (2005. 8. 25)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2003/003339
 (87) 国際公開番号 W02003/082291
 (87) 国際公開日 平成15年10月9日 (2003. 10. 9)
 審査請求日 平成18年3月24日 (2006. 3. 24)
 (31) 優先権主張番号 0207449.0
 (32) 優先日 平成14年3月28日 (2002. 3. 28)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(73) 特許権者 397009934
 グラクソ グループ リミテッド
 GLAXO GROUP LIMITED
 イギリス ミドルセックス ユービー6
 Oエヌエヌ グリーンフォード パークレ
 ー アベニュー グラクソ ウェルカム
 ハウス (番地なし)
 Glaxo Wellcome Hous
 e, Berkeley Avenue G
 reenford, Middlesex
 UB6 ONN, Great Brita
 in
 (74) 代理人 100091096
 弁理士 平木 祐輔

最終頁に続く

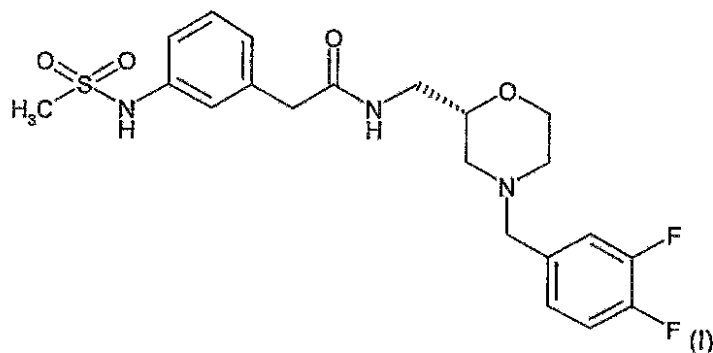
(54) 【発明の名称】 炎症性症状の治療のためのCCR3拮抗薬としての、N- { [(2S) -4- (3, 4-ジフル
 オロベンジル) モルホリン-2-イル] メチル} -2- {3- [(メチルスルホニル) アミノ]

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式(I)の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

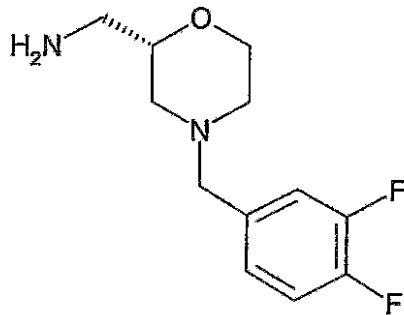
【化 1】



【請求項 2】

式(II)の化合物またはその塩と、式(III)の化合物のカップリング工程を含む、式(I)の
 化合物またはその塩もしくは溶媒和物の製造方法。

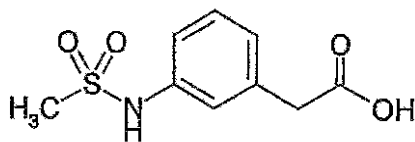
【化 2】



(II)

10

【化 3】



(III)

20

【請求項 3】

治療薬として使用するための請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

炎症疾患に罹患しているヒトまたは動物被験体を治療するための医薬の製造における、
請求項 1 に記載の化合物の使用。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の化合物およびそのための生理学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

新規化合物

本発明は、新規化合物、その製造方法、これを含む医薬組成物、および治療でのその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

炎症は組織の損傷または微生物の侵入に対する一次応答であって、白血球の内皮への接着、血管外漏出および組織内での活性化に特徴がある。白血球の活性化の結果、毒性酸素種(スーパーオキシドアニオンなど)の産生、および顆粒産物 (granule products) (ペルオキシダーゼおよびプロテアーゼなど)の放出がもたらされることがある。循環白血球には、好中球、好酸球、好塩球、単球およびリンパ球が含まれる。別種の炎症形態には別種の白血球の浸潤が関与し、その特有のプロフィルは組織内での接着分子、サイトカインおよび化学走性因子の発現のプロフィルによって調節される。

40

【0003】

白血球の主要な機能は、細菌および寄生生物などの侵入生物に対する宿主の防御である。組織が損傷するか感染を受けると、罹患した組織中への循環系からの白血球の局所的動員をもたらす、一連の事象が発生する。白血球の動員は、外来または死滅細胞の整然とした破壊および捕食の後、組織の修復および炎症性浸潤物の消散を可能にするように、制御される。しかし、慢性的炎症状態では、動員が不十分で、消散が適切に制御されずに、炎

50

症反応が組織の破壊をもたらすことが多い。

【 0 0 0 4 】

喘息に特徴的な気管支の炎症が、T-ヘルパー2(Th2)リンパ球によって放出されるIL-4およびIL-5などのサイトカイン産物が顆粒球、特に好酸球、およびより少量の好塩球、の蓄積と活性化とを調整する細胞仲介免疫の特定の形態であることが示されつつある。細胞毒性塩基性タンパク質、前炎症性仲介体および酸素ラジカルの放出を介して、好酸球が粘膜損傷をもたらして、気管支の反応亢進の基礎となる機序を開始させる。したがって、Th2細胞および好酸球の動員と活性化をブロックすることは、喘息において抗炎症特性を持つと見られる。その上、好酸球は、鼻炎、湿疹、過敏腸管症候群および寄生生物感染などの、その他の疾患タイプにも関係があるとされてきている。

10

【 0 0 0 5 】

ケモカインは白血球の移送および動員に関与する小タンパク質の大きなファミリーである(総説については以下参照:Luster, New Eng.J.Med., 338, 436-445(1998))。これらは多種の細胞から放出されて、以下のような多様な細胞型を誘引および活性化する:好酸球、好塩球、好中球、マクロファージ、TおよびBリンパ球。ケモカインには、2つの主要なファミリー、CXC-()ケモカインおよびCC-()ケモカインがある。これはケモカインタンパク質のアミノ末端近くの2つの保存システイン残基間の距離にしたがって分類されるものである。ケモカインは、Gタンパク質結合型7回膜貫通ドメインタンパク質のファミリーに属する特定の細胞表面受容体に結合する(総説について、Luster, 1998、参照)。ケモカイン受容体の活性化の結果、その他の応答の中でも、細胞内カルシウムの増加、細胞形状の変化、細胞接着分子の発現の増加、顆粒消失、および細胞遊走(化学走性)の促進がもたらされる。

20

【 0 0 0 6 】

今日まで、多数のCCケモカイン受容体が同定されているが、本発明にとって特に重要なものは、CC-ケモカイン受容体-3(CCR-3)であり、これは好酸球上で優先的に、また好塩球、マスト細胞およびTh2細胞上でも発現する。RANTES、MCP-3およびMCP-4などのCCR-3において作用するケモカインは好酸球を動員して活性化することが知られている。特に興味深いのは、CCR-3に特異的に結合するエオタキシンおよびエオタキシン-2である。CCR-3ケモカイン類の所在および機能は、これらが喘息などのアレルギー疾患の発症で中心的役割を持つことを意味している。たとえば、CCR-3は炎症性アレルギー応答に関与するすべての主要な細胞型で特異的に発現する。CCR-3において作用するケモカインは炎症性刺激にตอบสนองして生成され、これらの細胞型を炎症部位に動員して、そこで活性化を引き起こすように作用する(例えば、Griffithら、J.Exp.Med., 179, 881-887(1994), Lloydら、J.Exp.Med., 191, 265-273(2000))。その上、抗CCR-3モノクローナル抗体はエオタキシンの好酸球との相互作用を完全に阻害し(Heath,Hら、J.Clin.Invest.99(2), 178-184(1997))、一方このCCR-3特異的ケモカイン、エオタキシンに対する抗体の1つが、喘息の動物モデルにおいて、気管支反応亢進および肺好酸球増加症の両方を低下させた(Gonzaloら、J.Exp.Med., 188, 157-167(1998))。こうして、多くの方面での証拠から、CCR-3受容体の拮抗薬がある範囲の炎症性症状の治療のための治療薬としての用途を持つという見込みが高いことが示される。

30

40

【 0 0 0 7 】

炎症性障害でのキイとなる役割の他に、ケモカインおよびその受容体は感染症でもある役割を持つ。哺乳動物のサイトメガロウイルス、ヘルペスウイルスおよびポックスウイルスはケモカイン受容体の相同体を発現し、RANTESおよびMCP-3などのヒトCCケモカインの受容体によって活性化されることが可能である(総説について、Wells and Schwartz, Curr.Opin.Biotech., 8, 741-748, 1997、参照)。その上、ヒトケモカイン受容体、CXCR-4、CCR-5およびCCR-3など、はヒト免疫不全ウイルス(HIV)などの微生物の哺乳動物細胞への感染のための補助受容体として作用し得る。こうして、ケモカイン受容体拮抗薬、CCR-3拮抗薬など、はHIVによるCCR-3発現性細胞への感染の遮断、またはサイトメガロウイルスなどのウイルスによる免疫細胞応答の操作を防止するのに有用であるものと見られる。

50

【 0 0 0 8 】

国際特許出願公開公報 WO 01/24786(Shionogi & Co.Ltd.)に、糖尿病の治療のためのいくつかのアリールおよびヘテロアリール誘導体が開示されている。WO 00/69830(Torrey Pines Institute for Molecular Studies)に、生物学的スクリーニングのための、いくつかのジアザ環式化合物、およびこれらを含むライブラリーが開示されている。WO 00/18767(Neurogen Corporation)に、ドーパミンD4受容体拮抗薬としてのいくつかのピペラジン誘導体が開示されている。米国特許第6,031,097号およびWO 99/21848(Neurogen Corporation)に、ドーパミン受容体リガンドとしてのいくつかのアミノイソキノリン誘導体が開示されている。WO 99/06384(Recordati Industria Chimica)に、下部尿路の神経筋機能障害の治療に有用なピペラジン誘導体が開示されている。WO 98/56771(Schering Aktiengesellschaft)に、抗炎症薬としてのいくつかのピペラジン誘導体が開示されている。WO 97/47601(Yoshitomi Pharmaceutical Industries Ltd.)に、ドーパミンD-受容体遮蔽薬としてのいくつかの縮合ヘテロ環式化合物が開示されている。WO 96/39386(Schering Corporation)に、ニューロキニン拮抗薬としてのいくつかのピペリジン誘導体が開示されている。WO 96/02534(Byk Gulden Lomberg Chemische Fabrik GmbH)に、ヘリコバクター細菌の制御に有用な、いくつかのピペラジンチオピリジンが開示されている。WO 95/32196(Merck Sharp & Dohme Limited)に、5-HT1D-アルファ拮抗薬としてのいくつかのピペラジン、ピペリジン、およびテトラヒドロピリジン誘導体が開示されている。米国特許第5,389,635号(E.I.Du Pont de Nemours and Company)に、アンギオテンシン-II拮抗薬としてのいくつかの置換イミダゾールが開示されている。ヨーロッパ特許出願公開公報 0 306 440(Schering Aktiengesellschaft)に、心臓血管薬としてのいくつかのイミダゾール誘導体が開示されている。

10

20

【 発明の開示 】

【 0 0 0 9 】

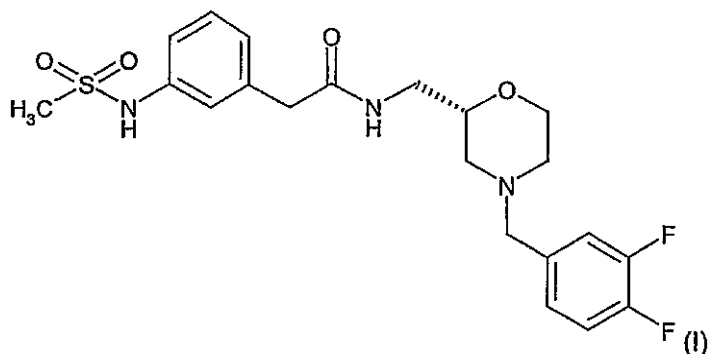
ここで、CCR-3拮抗薬である新規化合物が発見された。この化合物は好酸球の遊走 / 化学走性を遮蔽するので、抗炎症特性を保有している。したがって、この化合物は好酸球、好塩球およびTh2細胞型が関与する疾病、特にアレルギー疾患において、こうした細胞が誘発する組織の損傷に対して治療上の利益があり、特に防御を提供する可能性を持つ。こうした疾患として、限定するわけではないが、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、およびアトピー性皮膚炎が含まれる。

30

【 0 0 1 0 】

こうして、本発明の一態様として、式(I)の化合物、ならびにその塩および溶媒和物が提供される。

【 化 1 】



40

【 0 0 1 1 】

これは、N-{[(2S)-4-(3,4-ジフルオロベンジル)モルホリン-2-イル]メチル}-2-{3-[(メチルスルホニル)アミノ]フェニル}アセトアミドである。

【 0 0 1 2 】

式(I)の化合物の好適な塩として、生理学的に許容される塩、ならびに生理学的に許容

50

されないとしても式(I)の化合物および生理学的に許容されるその塩の調製に有用であり得る塩が含まれる。適切な場合には、例えば以下のような、無機または有機酸から酸付加塩を誘導することができる：塩酸、臭素酸、硫酸、リン酸、酢酸、安息香酸、クエン酸、コハク酸、乳酸、酒石酸、フマル酸、マレイン酸、1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸、パモ酸、メタンスルホン酸、ギ酸またはトリフルオロ酢酸。

【0013】

溶媒和物の例として水和物が含まれる。

【0014】

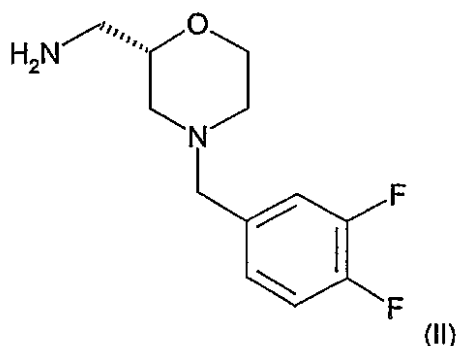
式(I)の化合物ならびにその塩および溶媒和物は、本発明の別の態様を構成する、これ以後記載する方法論によって、調製することができる。

10

【0015】

式(I)の化合物の本発明にしたがう製造方法は、式(II)の化合物

【化2】

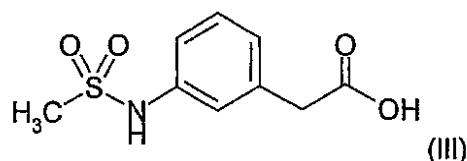


20

【0016】

またはその塩と、
式(III)の化合物

【化3】



30

【0017】

のカップリング工程、

ならびに、その後必要ならば、以下の1以上の任意工程の実施を含む：

- (i) いずれかの保護基(群)の除去；
- (ii) 形成された化合物の適切な塩または溶媒和物の調製。

【0018】

式(II)および(III)の化合物のカップリングは任意の好適な溶媒、例えばN,N-ジメチルホルムアミドなどの極性有機溶媒中、カルボジイミド試薬などの好適な脱水剤、例えば1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩、および場合によって好適な活性化剤、例えば1-ヒドロキシベンゾトリアゾールなどの活性化ヒドロキシ化合物の存在中、また場合によっては第3級アミンなどの塩基、例えばN,N-ジイソプロピルエチルアミンの存在中、所望の産物の好適な形成速度を提供する任意の温度での常套的なカップリング条件下で、好適な反応時間、例えば12-24時間かけて、実施する。

40

【0019】

好適な反応温度として18 ~ 25 の範囲のものが含まれる。

【0020】

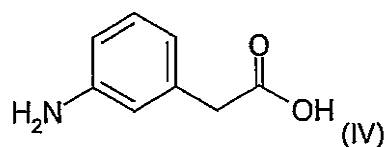
常套的方法を使用して、反応生成物を単離および精製する。

【0021】

50

式(III)の化合物は式(IV)の化合物のスルホニル化によって調製することができる。

【化4】



【0022】

スルホニル化は常套的なスルホニル化剤、例えば塩化メタンスルホンなどの塩化スルホンを使用し、好適な塩基、例えば水性炭酸ナトリウムの存在中で実施することができる。

10

【0023】

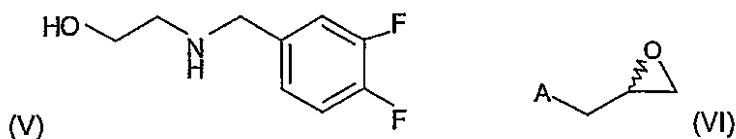
式(II)の化合物は反応(a)、反応(b)、または反応(c)のいずれかによって調製することができる。

【0024】

反応(a).

式(V)の化合物を式(VI)の化合物と反応させ、

【化5】

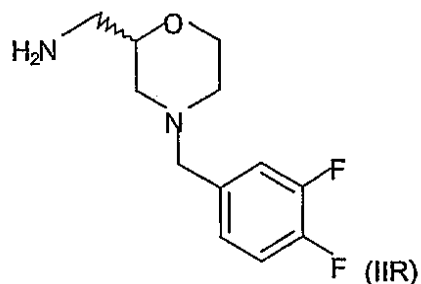


20

【0025】

[式中、Aは保護されたアミノ基、好適にはフタルイミドである]、その後アミノ基を脱保護して、式(IIR)の化合物を取得し、

【化6】



30

【0026】

その後生成した式(IIR)の化合物の鏡像体を分割する。

【0027】

または、

40

反応(b).

前記定義の式(V)の化合物を式(VIA)と反応させ、

【化7】



【0028】

[式中、Aは式(VI)について前記で定義した通りである]、その後アミノ基を脱保護して、式(II)の化合物を取得する。

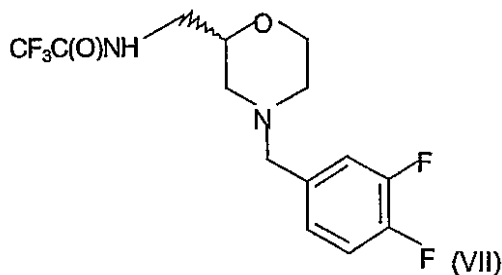
50

【 0 0 2 9 】

反応(c).

式(VII)の化合物を加水分解し、

【化8】



10

【 0 0 3 0 】

その後生成した式(IIR)の化合物の鏡像体を分割する。

【 0 0 3 1 】

反応(a)および(b)の両方について、式(V)の化合物と式(VI)もしくは式(VIA)の化合物の反応中の中間体ジオール(IIBR)および(IIB)の環状化は典型的にはMitsunobu条件下で以下のように実施される：

典型的には、テトラヒドロフランなどの好適な溶媒中の式(V)の化合物および式(VI)もしくは式(VIA)の化合物の混合物を、不活性雰囲気中、好適には窒素雰囲気中、好適な温度、好適には溶媒の還流温度で、好適には20-24時間攪拌する。次に溶媒をさらに添加し、混合物を好適には0-5℃に冷却する。好適なホスフィン、好適にはトリフェニルホスフィンを追加し、混合物を全固体が溶解するまで攪拌する。次に、好適なアゾ化合物、好適にはジイソプロピルアゾジカルボキシレートを一時間、好適には10-15分間かけて、温度を<7℃に維持しながら、添加する。混合物を一時間、好適には2-3時間静置し、その後好適には20-25℃に加温する。さらに一時間、好適には4-6時間静置し、さらにホスフィンおよびアゾ化合物を追加する。さらに一時間、好適には20-24時間静置した後、反応混合物をほぼ乾固するまで濃縮する。好適なアルコール、好適にはプロパン-2-オールを追加して、濃縮ステップを反復する。次にアルコールの添加および濃縮ステップを反復する。次にさらにアルコールを追加し、混合物を好適には65-75℃まで加熱する。好適な時間後、好適には20-45分後、生成したスラリーを好適には20-25℃に冷却し、その後、好適には1.5-3時間静置し、この時間後、生成物をろ過によって単離する。ろ床を新たなアルコールで洗浄し、その後35-45℃で真空乾燥して、それぞれ式(IIR)または式(II)の化合物の保護形態を取得する。

20

30

【 0 0 3 2 】

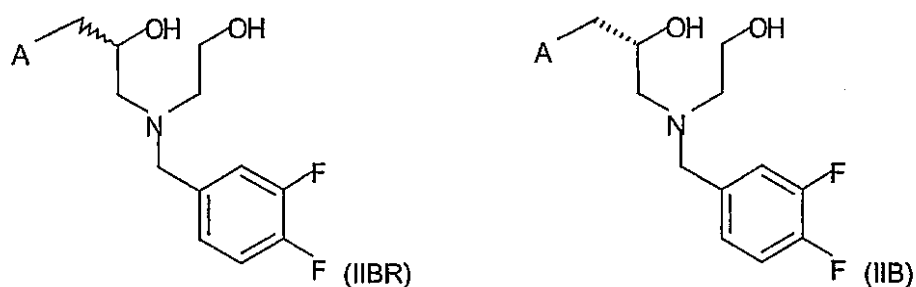
生成物からの保護基の除去は典型的には以下のように実施される。適切な極性溶媒中、好適には水中の式(IIR)または式(II)の化合物の保護形態のスラリーを好適には70-75℃の温度まで加熱し、その後濃縮硫酸、好適には濃硫酸を滴下して処理する。次に混合物を好適な温度、好適には溶媒の還流温度で、好適な時間、好適には20-24時間加熱し、その後反応混合物を20-25℃に冷却し、次に好適な極性溶媒、好適にはジクロロメタンで処理する。次に、温度を20-25℃に維持しながら、塩基、好適には0.880アンモニア溶液を滴下する。その後、さらに極性溶媒を追加し、次に水性相を分離して、新たな極性溶媒で抽出する。1つにまとめた有機相を水で洗浄し、その後蒸発乾固させる。残渣を再溶解させ、極性溶媒を蒸発させて、式(IIR)または式(II)の化合物を取得する。

40

【 0 0 3 3 】

上記の式(IIR)または式(II)の化合物の保護形態の調製工程は、2つの段階を経ることもできる。その場合、それぞれ式(IIBR)または式(IIB)である中間体化合物を単離する。

【化 9】



10

【0034】

[式中、Aは式(VI)および(VIA)について前記で定義した通りである]

典型的には、テトラヒドロフランなどの好適な溶媒中の式(V)の化合物および式(VI)もしくは式(VIA)の化合物の混合物を、不活性雰囲気下、好適には窒素雰囲気下、好適な温度、好適には溶媒の還流温度で、好適には20-24時間攪拌する。次に式(V)の化合物をさらに添加し、混合物を不活性雰囲気下、好適には窒素雰囲気下、好適な温度、好適には溶媒の還流温度で、好適な時間、好適には3-6時間加熱する。次に反応混合物を好適には20-25℃に冷却し、好適な共溶媒、好適にはジイソプロピルエーテルの添加によって、化合物を沈殿させる。それぞれ式(IIBR)または式(IIB)の化合物をろ過によって単離し、新たな共溶媒で洗浄し、真空乾燥する。

20

【0035】

次に、式(IIBR)または式(IIB)の化合物から、ホスフィンおよびアゾ化合物の添加前の還流期間を省略した以外は、前記の式(V)と式(VI)もしくは(VIA)の化合物との反応の条件と同様の条件下で、式(IIR)または式(II)の化合物の保護形態を調製することができる。

【0036】

反応(c)は典型的には、好適な溶媒、例えばメタノールと水の混合物中で式(VII)の化合物の溶液を攪拌し、好適な塩基、例えば炭酸カリウムを添加することによって、実施される。混合物を好適な温度、例えば20-25℃の範囲で、好適な時間、例えば16-20時間攪拌し、その後有機溶媒を真空除去する。次に水を添加し、混合物を好適な有機溶媒、例えば酢酸エチルで抽出する。まとめた有機相を水、および飽和水性塩化ナトリウム溶液で洗浄した後、好適な乾燥剤、例えば硫酸ナトリウム上で乾燥し、ろ過し、溶媒を真空蒸発させる。次に粗生成物をフラッシュクロマトグラフィーによって精製する。

30

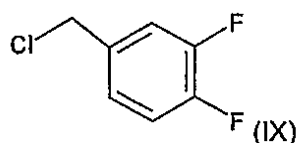
【0037】

ラセミ生成物、すなわち式(IIR)の化合物からの式(II)の化合物の分割は、当業者に周知の技法、例えば分取用キラル高速液体クロマトグラフィー(キラルHPLC)を使用するか、ジアステレオアイソマー塩の分画結晶化によって、実行することができる。

【0038】

式(V)の化合物は式(IX)の化合物

【化10】



40

【0039】

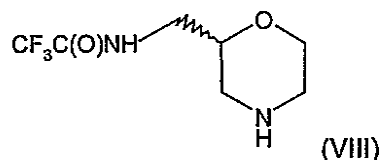
からエタノールアミンとの反応によって調製することができる。好適には、反応を加温下、例えば40-60℃で、溶媒不在下で実施する。

【0040】

式(VII)の化合物は式(VIII)の化合物

50

【化 1 1】



【0041】

と3,4-ジフルオロベンジルクロライドとの反応によって、調製することができる。

【0042】

式(VIII)の化合物と3,4-ジフルオロベンジルクロライドとの反応は、典型的には好適な溶媒、例えばN,N-ジメチルホルムアミド中、不活性雰囲気下、例えば窒素雰囲気下で、好適な塩基、例えば炭酸カリウム、および好適な活性化剤、ヨウ化ナトリウムなど、を添加して、実施する。次に混合物を好適な温度、例えば20-25 の範囲で、好適な時間、例えば16-20時間攪拌し、その後揮発性成分を真空除去する。

10

【0043】

式(VIII)の化合物は、好適な有機溶媒中、例えばメタノール中のモルホリン-2-イルメチルアミン溶液を、不活性雰囲気下、例えば窒素雰囲気下で、好適な有機溶媒中、例えばエーテル中の、 -トリフルオロ酢酸エチル溶液で処理することによって、調製することができる。次に混合物を好適な時間、例えば20-40時間、好適な温度、例えば20-25 の範囲で、攪拌し、揮発成分を真空除去する。次に残渣を好適な溶媒、例えばメタノールに溶解し、揮発成分を真空除去する。

20

【0044】

式(IV)および式(VI)の化合物は市販の化合物であるが、既知の操作法、たとえば以下のような合成方法論の標準的参考書に開示されているものから類推して、調製することができる：J. March, *Advanced Organic Chemistry*, 3rd Edition(1985), Wiley Interscience。

【0045】

式(II)、(IIBR)、(IIB)および(V)の化合物は新規であるものと考えられる。

【0046】

したがって、式(II)の化合物が提供される。

30

【0047】

式(IIBR)の化合物も提供される。

【0048】

式(IIB)の化合物も提供される。

【0049】

式(V)の化合物も提供される。

【0050】

上記のいずれの反応中でも、好適な保護基は当分野で常套的に使用されるものである。こうした保護基の形成方法および除去方法は、保護する分子について適切な常套的方法であり、例えば以下のような合成方法論の標準的参考書で考察されている方法である：P J Kocienski, *Protecting Groups*, (1994), Thieme。

40

【0051】

前記の反応または工程のいずれについても、慣用の加熱および冷却方法、例えばそれぞれ電気式加熱板および氷/塩浴を使用することができる。常套的精製方法、例えば結晶化およびカラムクロマトグラフィーを必要に応じて使用することができる。

【0052】

式(I)の化合物の塩および溶媒和物は、慣用操作法にしたがって式(I)の化合物または好適なその塩もしくは溶媒和物から調製して、単離することができる。

【0053】

本発明の化合物を以下のアッセイにしたがって、in vitro生物活性について試験するこ

50

とができる。

【 0 0 5 4 】

(a) CCR-3結合アッセイ

CCR-3拮抗結合SPA(シンチレーション接近度アッセイ)を使用して、新規化合物のCCR-3に対する親和性を評価した。CCR-3を安定的に発現するK562細胞から調製した膜(2.5 µg/ウェル)を、麦芽アグルチニンSPAビーズ(Amersham) 0.25 mg/ウェルと混合して、結合バッファー(HEPES 50 mM、CaCl₂ 1 mM、MgCl₂ 5 mM、0.5% BSA)中、4 で1.5時間、インキュベートした。インキュベーション後、[¹²⁵I]エオタキシン(Amersham) 20 pMおよび濃度を漸増させた(1 pM ~ 30 µM)化合物を添加し、96ウェルプレート中、22 で2時間インキュベートし、その後Microbetaプレートカウンターでカウントした。合計アッセイ容量は100 µlだった。拮抗結合データを、このデータを4変数算定式に適合させることによって、分析した。データは少なくとも2回の実験からの平均pIC₅₀値([¹²⁵I]エオタキシンの結合を50%阻害する化合物の濃度の負対数)として表現した。

【 0 0 5 5 】

(b) 好酸球化学走性アッセイ

化合物を好酸球化学走性に対するその阻害効果について評価した。既述(Motegi & Kita, 1998; J. Immunology. 161:4340-6)のように、Miltenyi細胞分離カラムおよび磁性Super Macs マグネットを使用する、標準的CD16細胞劣化によって、ヒト末梢血から好酸球を精製した。細胞をRPMI 1640/10% FCS溶液中に再懸濁させ、カルセイン-AM(Molecular Probes)とともに、37 で30分インキュベートした。インキュベーション後、好酸球を400 gで5分間遠心分離し、RPMI/FCSに 2,200,000/mlで再懸濁させた。次に細胞を、濃度を漸増させた(1 pM ~ 30 µM)化合物の存在中、37 で30分インキュベートした。対照応答については、細胞をRPMI/FCSのみとインキュベートした。96ウェル化学走性プレート(5 µmフィルター: Receptor Technologies)の下部チャンバーに、アゴニスト、エオタキシン(EC₈₀濃度)を添加した。フィルタープレートの上部チャンバーに、好酸球(2,000,000/ml細胞 50 µl)を添加し、37 で45分インキュベートした。化学走性フィルターの上部に残留する細胞を除去し、蛍光プレートリーダー上でプレートを読み取ることによって、遊走した好酸球の数を定量した。データを4変数算定式に適合させることによって、好酸球の化学走性に対する化合物の効果についての阻害曲線を分析した。下記式(Lazareno & Birdsall, 1995. Br. J. Pharmacol 109:1110-9)を使用して、関数pK_i値(fpK_i)を取得した。

【数 1】

$$fpK_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[アゴニスト]}{EC_{50}}}$$

【 0 0 5 6 】

本発明の化合物をCCR-3結合アッセイおよび/または好酸球化学走性アッセイ(アッセイ(a)および(b))で試験した。本発明の化合物をCCR-3結合アッセイで試験したところ、8.0のpIC₅₀値を持っていた。CCR-3好酸球化学走性アッセイで試験した本発明の化合物は8.4のfpK_i値を持っていた。

【 0 0 5 7 】

本発明の化合物が有益な抗炎症効果を持つ可能性がある病状の例として、以下のような気道疾患が含まれる: 気管支炎(慢性気管支炎を含む)、気管支拡張症、喘息(アレルゲン誘発喘息反応を含む)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、のう胞性線維症、副鼻腔炎および鼻炎。

【 0 0 5 8 】

以下のような腸炎症疾患などの消化管の疾病も含まれる: 炎症性腸疾患(例えばクローン病または潰瘍性大腸炎)および放射線曝露もしくはアレルゲン曝露に二次的な腸炎症疾患。

【 0 0 5 9 】

さらに、本発明の化合物を以下の治療に使用することができる：腎炎；乾癬、湿疹、アレルギー性皮膚炎および過敏性反応などの皮膚疾患；ならびに炎症性要素を持つ中枢神経系の疾患（例えばアルツハイマー病、髄膜炎、多発硬化症）、HIVおよびAIDS痴呆。

【0060】

本発明の化合物は鼻ポリポーシス、結膜炎または掻痒症の治療にも有用である。

【0061】

本発明の化合物が有益な効果を持つ可能性がある病状の別の例として、アテローム性動脈硬化症などの心血管症状、末梢血管疾患および特発性高好酸球症候群が含まれる。

【0062】

本発明の化合物は免疫抑制剤として有用であると考えられ、したがって移植後の同種移植片組織拒絶、リウマチ様関節炎および糖尿病などの自己免疫疾患の治療に用途がある。本発明の化合物は転移を阻止するためにも有用であると考えられる。主要な対象疾患として、喘息、COPDならびに季節性および通年性鼻炎が関与する上気道の炎症性疾患が挙げられる。

【0063】

当業者は、本明細書での治療への言及が、確定された症状の治療と同様に予防にも拡張されることを理解するであろう。

【0064】

上記のように、式(1)の化合物は治療薬として有用である。

【0065】

こうして、本発明の別の態様として、活性治療薬としての使用のための、式(1)の化合物または生理学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物が提供される。

【0066】

したがって、炎症性症状、例えば喘息または鼻炎の治療での使用のための、式(1)の化合物または生理学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物が提供される。

【0067】

本発明の別の態様において、炎症性症状、例えば喘息または鼻炎を持つ患者の治療用の医薬の製造のための、式(1)の化合物または生理学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物の使用が提供される。

【0068】

さらに別の態様中、炎症性症状、例えば喘息または鼻炎を持つヒトまたは動物被験体の治療法であって、有効量の式(1)の化合物または生理学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物の投与を含む方法が提供される。

【0069】

本発明の化合物を投与用にどんな慣用方法によっても製剤化することができる。

【0070】

こうしてさらに、式(1)の化合物または生理学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、および場合によって1種以上の生理学的に許容される希釈剤もしくは担体を含む医薬組成物が提供される。

【0071】

また、式(1)の化合物または生理学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物と1種以上の生理学的に許容される希釈剤もしくは担体を混合することを含む、こうした医薬組成物の製造方法が提供される。

【0072】

本発明の化合物は例えば経口、吸入、鼻内、バツカル、腸管外または直腸投与用、好ましくは経口投与用に製剤化することができる。

【0073】

経口投与用の錠剤またはカプセルには以下のような慣用の賦形剤を含ませることができる：結合剤、例えばシロップ、アラビアゴム、ゼラチン、ソルビトール、トラガカント、澱粉糊、セルロースまたはポリビニルピロリドン；充填剤、例えばラクトース、微結晶セ

10

20

30

40

50

ルロース、ショ糖、トウモロコシ澱粉、リン酸カルシウムまたはソルビトール；潤滑剤、例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルク、ポリエチレングリコールまたはシリカ；崩壊剤、例えばジャガイモ澱粉、クロスカルメロース(croscarmellose)ナトリウムまたはグリコール酸ナトリウム澱粉；あるいは湿潤剤、例えばラウリル硫酸ナトリウム。錠剤は周知の方法によってコーティングしてもよい。

【0074】

経口液体調製物を、例えば水性もしくは油性懸濁液、溶液、エマルジョン、シロップまたはエリキシルの形態とするか、使用前に水またはその他の好適なベヒクルで組成するための乾燥製品として調製することができる。こうした液体調製物には、以下のような慣用の添加剤を含ませることができる：懸濁剤、例えばソルビトールシロップ、メチルセルロース、グルコース/ショ糖シロップ、ゼラチン、ヒドロキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ステアリン酸アルミニウムゲルまたは水素化食用脂肪；乳化剤、例えばレシチン、モノオレイン酸ソルビタンまたはアラビアゴム；非水性ベヒクル(食用油を含む)、例えばアーモンド油、ヤシ油、油状エステル、プロピレングリコールまたはエチルアルコール；あるいは保存剤、例えばp-ヒドロキシ安息香酸メチルもしくはプロピルまたはソルビン酸。また調製物には適宜、バッファー塩類、香味剤、着色剤および/または甘味剤(例えばマンニトール)を含ませてもよい。

【0075】

バツカル投与用には、組成物を慣用の手法で錠剤またはトローチ製剤の形態とすることができる。

【0076】

化合物を、例えばカカオバターまたはその他のグリセリドなどの慣用の坐剤基剤を含ませた坐剤として製剤化することもできる。

【0077】

本発明の化合物を、ボラス注射または連続輸液による腸管外投与用に製剤化することができ、そして単位投与剤形、例えばアンプル、バイアル、輸液用小容器、または充填済み注射器で、あるいは保存剤を添加した多回投与容器で提供することができる。組成物は水性もしくは非水性ベヒクル中の溶液、懸濁液、またはエマルジョンの形態とすることができ、抗酸化剤、バッファー、抗微生物剤および/または等張性調整剤などの製剤化剤を含ませてもよい。あるいは活性成分を、使用前に好適なベヒクル、例えば滅菌したパイロジェンフリー水、で組成するための、粉末形態とすることができる。乾燥固形製剤は、滅菌粉末を無菌下で各滅菌容器に充填するか、滅菌溶液を無菌下で各容器に充填した後、凍結乾燥することによって、調製することができる。

【0078】

本発明の化合物および医薬組成物を例えば以下のようなその他の治療薬と組み合わせて使用することもできる：抗ヒスタミン薬、抗コリン作動薬、コルチコステロイドなどの抗炎症薬、例えばプロピオン酸フルチカゾン、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、フランカルボン酸モメタゾン、トリアムシノロンアセトニド、もしくはブデソニド；または非ステロイド抗炎症薬(NSAID類)、例えばクロモグリク酸ナトリウム、ネドクロミルナトリウム、PDE-4阻害薬、ロイコトリエン拮抗薬、iNOS阻害薬、トリプターゼ阻害薬およびエラスターゼ阻害薬、ベータ-2インテグリン拮抗薬およびアデノシン2a作動薬；またはベータアドレナリン作動薬、例えばサルメテロール、サルブタモール、フォルモテロール、フェノテロールもしくはテルブタリンおよびこれらの塩；または抗感染薬、例えば抗生物質もしくは抗ウイルス薬。本発明の化合物を、普通は吸入または鼻内経路によって投与されるその他の治療薬と組み合わせて投与する場合、生成した医薬組成物は吸入または鼻内経路で投与できるものと解釈されるべきである。

【0079】

本発明の化合物を便宜的には、例えば0.001~500 mg/kg体重、好ましくは0.01~500 mg/kg体重、さらに好ましくは0.01~100 mg/kg体重の量を、いずれかの適切な頻度で、例えば1日に1~4回、投与することができる。正確な投与計画は当然、治療症候、患者の年齢

10

20

30

40

50

および症状、ならびに選択した特定の投与経路などの要因に応じて決まることになる。

【 0 0 8 0 】

本説明および添付する特許請求の範囲を通して、文脈からそれ以外が要求される場合を除いて、用語「含む」ならびにその三人称および進行形などの変化形は、指定した整数もしくは工程または整数の群を含むことを意味するが、それ以外のあらゆる整数もしくは工程または整数もしくは工程の群を排除することを意味するものではないと理解すべきである。

【実施例】

【 0 0 8 1 】

一般的な実験の詳細

10

液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)システム

以下のシステム(LC/MC)を使用した：

3 μ m ABZ+PLUS(3.3 cm x 4.6 mm 内径)カラム、溶媒：A - 水中0.1% v/v ギ酸 + 0.077% w/v 酢酸アンモニウム；およびB - 95:5 アセトニトリル：水 + 0.05% v/v ギ酸、流速 3 ml/分。以下の勾配プロトコルを使用した：100% Aを7 分；A+B混合物（3.5 分間かけて0-100% Bの勾配プロファイル）；100% Bで1.1分間維持；0.2分間かけて100% Aに戻す。

【 0 0 8 2 】

固相抽出(イオン交換)

「SCX」はIsolute Flash SCX-2スルホン酸固相抽出カートリッジを意味する。

【 0 0 8 3 】

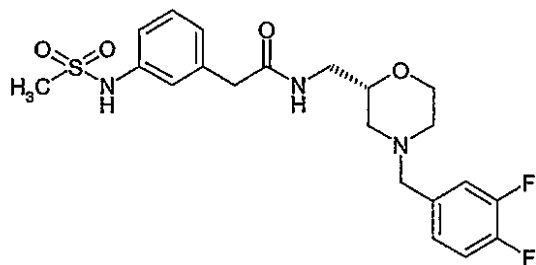
20

全温度は である。

【 0 0 8 4 】

実施例 1：N-{[(2S)-4-(3,4-ジフルオロベンジル)モルホリン-2-イル]メチル}-2-{3-[(メチルスルホニル)アミノ]フェニル}アセトアミド

【化 1 2】



30

【 0 0 8 5 】

N,N-ジメチルホルムアミド(1 ml)中の説明4の化合物(0.0242 g)の攪拌溶液に、22 °で、N,N-ジメチルホルムアミド(1 ml)中の1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(0.0304 g)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(0.0171 g)、および説明3の化合物(0.0243 g)の溶液を添加した。この混合物にN,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.0368 ml)を添加し、次にこれを22 °で18時間攪拌した。混合物を、メタノールで予備処理した2 g SCXイオン交換カートリッジ(IST Isolute Flash SCX-2)に適用した。カートリッジをメタノールおよびメタノール中の10% 0.880アンモニア溶液で溶出させた。最初のアノニア画分を真空蒸発させ、残渣をさらに、シリカゲル上のBiotageTMフラッシュクロマトグラフィーおよび200:8:1 ジクロロメタン/エタノール/0.880アンモニア溶液での溶出によって、精製した。必要な画分をまとめて、溶媒を真空蒸発させて、無色ガラス状の表記化合物(0.0353 g)を取得した。LC/MS: R_t =2.16分、 m/z 454[MH⁺]

40

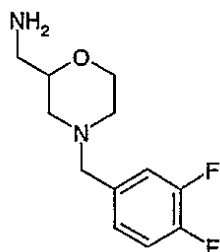
説明 1：2-(3,4-ジフルオロベンジルアミノ)-エタノール

OCCNCc1ccc(F)c(F)c1

エタノールアミン(325.8 ml)を40 ℃、窒素下で攪拌し、この反応温度を維持するように冷却しながら、これに4-クロロメチル-1,2-ジフルオロベンゼン(90.0 g)(Fluorochemicals/Journal of Organic Chemistry, 1961, (26), 2353-2355)を滴下した。混合物を約50 ℃に加熱しながら3 時間攪拌した後、室温まで冷却した。混合物を酢酸エチルと飽和水性炭酸水素ナトリウム溶液間で分配した。相を分離し、有機相を新たな飽和水性炭酸水素ナトリウム溶液(100 ml)で洗浄した。まとめた水性相を少量の酢酸エチル(100 ml)でさらに抽出し、まとめた有機相を水(2 x 500 ml)および飽和水性塩化ナトリウム溶液で洗浄した。有機相を真空濃縮し、トルエンの添加後、再濃縮して、白色固体として表記化合物(92.5 g)を取得した。

質量分析 m/z 188[MH⁺]

【化 1 4】

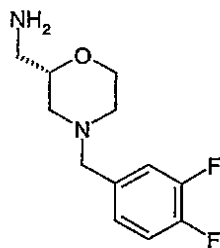


説明1の化合物(128.12 g)を80-90℃、窒素下で攪拌しながら、これに、2-(オキシラン-2-イルメチル)-1H-イソインドール-1,3(2H)-ジオン(166.8 g)を50分かけて少しずつ添加した。混合物をさらに3時間、80-90℃で攪拌した後、濃硫酸(200 ml)を40分かけて滴下した。混合物を150℃に加熱し、一晚攪拌した。室温まで冷却した後、混合物を酢酸エチル(2 x 400 ml)で洗浄した。水性相を10℃まで冷却し、飽和水性塩化ナトリウム(400 ml)を30分かけて注意深く添加した。水性相にさらに飽和水性塩化ナトリウム(400 ml)を添加し、混合物をさらに別量(3 x 500 ml)の酢酸エチルで洗浄した。水性相を10℃まで冷却し、10 N水性水酸化ナトリウムでpHを12-13に調整した。混合物を酢酸エチル(3 x 500 ml)で抽出し、まとめた有機相を「Hyflo」フィルターによってろ過した。まとめた有機抽出物を水(3 x 500 ml)および飽和水性塩化ナトリウムで洗浄した。有機相を真空濃縮し、トルエンの添加(3 x 150 ml)後、再濃縮(x 3)して、琥珀色油として表記化合物(94 g)を取得した。

質量分析 m/z 243[MH⁺]

説明 3 : 1-[(2S)-4-(3,4-ジフルオロベンジル)モルホリン-2-イル]メチルアミン

【化 1 5】



【0090】

10

説明 2 の化合物 (4.5 g) (ラセミ混合物) を、分取用キラルHPLCによって、単一鏡像体に分離した。分離は以下を使用して実施した：2"x 22 cm Chiralpak AD 20 μ m カラム、Merck self pack DAC システム、95:5:0.1(v/v) ヘプタン:無水エタノール:ジエチルアミン(流速:50 ml/分、所要40分、UV 検出 220 nm)で溶出；負荷用サンプル調製物:1:1(v/v) 無水エタノール:システムの溶出剤 10 ml 中のサンプル 300 mg。必要な画分から溶媒を真空除去し、生成物をジクロロメタンおよび2N 水性塩酸間で分配し、相を分離し、有機相を新たな2N水性塩酸で抽出した(x 2)。まとめた水性抽出物を固体炭酸カリウムの添加によってpH12に調整し、溶液を固体塩化ナトリウムで飽和させた。溶液をジクロロメタンで抽出(x 3)し、まとめた有機抽出物を水で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、溶媒を真空除去して、黄色油として表記化合物(1.84 g)を取得した。

20

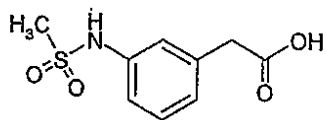
【0091】

分取用HPLC保持時間:28.5分。

【0092】

説明 4 : 3-[(メチルスルホニル)アミノ]フェニル酢酸

【化 1 6】



【0093】

30

脱イオン水(36 ml)中の3-アミノフェニル酢酸(3.2 g)および炭酸ナトリウム(5.44 g)の攪拌溶液に、メタンスルホニルクロライド(1.7 ml)を添加した。この混合物を攪拌しながら85 $^{\circ}$ に4時間加熱した後、室温になるまで放置し、濃塩酸でpH2まで酸性化し、4 $^{\circ}$ の冷蔵庫内に一晚放置した。沈殿した固体をろ過し、水およびエーテルで洗浄し、まとめたろ液および洗浄液を真空で蒸発乾固させた。生成した残渣を熱水に溶解し、4 $^{\circ}$ の冷蔵庫内に置いて、一晚で再結晶化させた。結晶をろ過し、少量の冷水で洗浄し、真空乾燥して、無色結晶の表記化合物(0.417 g)を取得した。

【0094】

LC/MS: R_t =2.00分、 m/z 228[MH $^{-}$]、 m/z 247[MNH $_4^{+}$]。

フロントページの続き

- | | |
|-------------------------|---------------|
| (51)Int.Cl. | F I |
| A 6 1 P 29/00 (2006.01) | A 6 1 P 29/00 |
| A 6 1 P 37/08 (2006.01) | A 6 1 P 37/08 |
- (74)代理人 100096183
弁理士 石井 貞次
- (74)代理人 100118773
弁理士 藤田 節
- (74)代理人 100122389
弁理士 新井 栄一
- (72)発明者 アンクリフ, レイチェル, アン
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 クック, キャロライン, メアリ
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 エルドレド, コリン, デイヴィッド
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ゴア, ボール, マーティン
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ハリソン, リー, アンドリュー
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ヘイズ, マーティン, アリスティア
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ホジソン, シモン, ティーンバイ
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ジャド, ダンカン, ブルース
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 キーリング, スザンヌ, エレイン
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 リウエル, シャオ, キン
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ミルズ, ゲイル
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ロバートソン, グラエム, マイケル
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 スワンソン, スティーブン
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ

- ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ウォルカー, アンドリュー, ジョン
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン
- (72)発明者 ウィルキンソン, マーク
イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー, スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン

審査官 植原 克典

- (56)参考文献 国際公開第 01 / 019832 (WO, A1)
特開平 01 - 117882 (JP, A)
特表平 04 - 270272 (JP, A)
特表平 03 - 291274 (JP, A)
国際公開第 00 / 035877 (WO, A1)
欧州特許出願公開第 00023959 (EP, A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D 265/30
A61K 31/5375
A61P 11/02
A61P 11/06
A61P 17/00
A61P 29/00
A61P 37/08
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)

- (54)【発明の名称】炎症性症状の治療のためのCCR3拮抗薬としての、N - { [(2 S) - 4 - (3 , 4 - ジフル
オロベンジル) モルホリン - 2 - イル] メチル } - 2 - { 3 - [(メチルスルホニル) アミノ]
フェニル } アセトアミド