(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第5907564号
(P5907564)

(45)発行日　平成28年4月26日(2016.4.26)　(24)登録日　平成28年4月1日(2016.4.1)

(51)Int.Cl.		F I		
A61K 31/437	(2006.01)	A61K	31/437	
A61K 31/444	(2006.01)	A61K	31/444	
A61P 1/16	(2006.01)	A61P	1/16	
A61P 31/14	(2006.01)	A61P	31/14	
C07D 471/04	(2006.01)	C07D	471/04	102

請求項の数 9　(全 25 頁)

(21)出願番号　特願2012-556115(P2012-556115)
(86)(22)出願日　平成23年2月25日(2011.2.25)
(65)公表番号　特表2013-521284(P2013-521284A)
(43)公表日　平成25年6月10日(2013.6.10)
(86)国際出願番号　PCT/US2011/026174
(87)国際公開番号　WO2011/109232
(87)国際公開日　平成23年9月9日(2011.9.9)
審査請求日　平成26年2月24日(2014.2.24)
(31)優先権主張番号　61/309,328
(32)優先日　平成22年3月1日(2010.3.1)
(33)優先権主張国　米国(US)

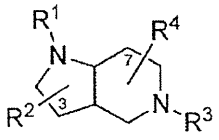
(73)特許権者　512216997
ノヴァドラッグ，エルエルシー
アメリカ合衆国，イリノイ州　６０６１２，シカゴ，スイート　２１５，２２０１　ウエスト　キャンベル　パーク　ドライブ
(74)代理人　100114775
弁理士　高岡　亮一
(74)代理人　100121511
弁理士　小田　直
(72)発明者　フーベルマン，エリエゼル
アメリカ合衆国，イリノイ州　６００６５４，シカゴ，５００　ダブリュー．　スーペリア　＃２８０２

審査官　金田　康平

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ウィルス性疾患の治療のための組成物及び方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
Ｃ型肝炎を罹患している患者の治療のための薬学的組成物であって、前記組成物は以下の化学式の化合物、
【化１】



又は、それらの薬学的に許容可能な塩を含み、式中、
Ｒ[1]が、任意に置換アリールカルボニルであり、アリールが任意に置換フェニル、チエニル、またはピリジルであり、
Ｒ[2]が、任意に置換アリールであり、アリールが任意に置換フェニルまたはチエニルであり、Ｒ[2]がＣ－３において存在し、
Ｒ[3]が、任意に置換アリールアルキルであり、アリールが任意に、置換フェニル、チエニル、ピリジル、またはピラゾール－４－イルであり、
Ｒ[4]は水素である、

化合物と、

R^1、R^2およびR^3における前記アリール基の組合せ形態が以下のものであり；

組合せ形態	R^1におけるアリール基	R^2	R^3
1	Ph	4-F-C_6H_4	4-F-C_6H_4
2	3-ピリジル	4-F-C_6H_4	4-Cl-C_6H_4
3	Ph	4-F-C_6H_4	3-MeO-C_6H_4
4	Ph	4-MeO-C_6H_4	3-F-C_6H_4
5	2-F-C_6H_4	3-チエニル	4-F-C_6H_4
6	Ph	4-F-C_6H_4	2-F-C_6H_4
7	2-チエニル	4-F-C_6H_4	4-F-C_6H_4
8	Ph	4-F-C_6H_4	Ph
9	Ph	4-F-C_6H_4	4-MeO-C_6H_4
10	Ph	4-MeO-C_6H_4	2-F-C_6H_4
11	2-F-C_6H_4	3-チエニル	3-Me-C_6H_4
12	2-F-C_6H_4	3-チエニル	3-F-C_6H_4
13	Ph	3-MeO-C_6H_4	3-チエニル
14	3-ピリジル	4-F-C_6H_4	Ph
15	2-チエニル	4-F-C_6H_4	2-F-C_6H_4

16	2-チエニル	4-F-C_6H_4	3-F-C_6H_4
17	Ph	3-MeO-C_6H_4	2-F-C_6H_4
18	Ph	3-MeO-C_6H_4	4-F-C_6H_4
19	2-F-C_6H_4	3-チエニル	3-チエニル
20	Ph	3-MeO-C_6H_4	2-Me-C_6H_4
21	Ph	3-MeO-C_6H_4	4-Me-C_6H_4
22	3-ピリジル	4-F-C_6H_4	3-Me-C_6H_4
23	Ph	4-MeO-C_6H_4	4-F-C_6H_4
24	4-ピリジル	4-F-C_6H_4	2-Cl-C_6H_4
25	Ph	3-チエニル	2-F-C_6H_4
26	Ph	4-F-C_6H_4	3-F-C_6H_4
27	Ph	3-チエニル	Ph
28	Ph	3-チエニル	4-F-C_6H_4
29	Ph	3-チエニル	4-Cl-C_6H_4
30	Ph	3-チエニル	3,4-F_2-C_6H_3
31	3-ピリジル	4-F-C_6H_4	2-MeO-C_6H_4
32	4-ピリジル	4-F-C_6H_4	3-Me-C_6H_4
33	Ph	4-F-C_6H_4	1-Me-ピラゾール-4-イル
34	Ph	4-F-C_6H_4	1,5-Me_2-ピラゾール-4-イル
35	Ph	4-F-C_6H_4	1,3-Me_2-ピラゾール-4-イル
36	Ph	3-チエニル	4-MeO-C_6H_4
37	4-ピリジル	3-チエニル	4-F-C_6H_4
38	4-ピリジル	3-チエニル	4-Cl-C_6H_4
39	4-ピリジル	3-チエニル	3-Cl-C_6H_4
40	4-ピリジル	3-チエニル	3,4-F_2-C_6H_3
41	4-F-C_6H_4	3-チエニル	Ph
42	4-F-C_6H_4	3-チエニル	4-F-C_6H_4
43	3-ピリジル	4-F-C_6H_4	3-MeO-C_6H_4
44	4-ピリジル	4-F-C_6H_4	2-MeO-C_6H_4

且つ任意に１つ以上の薬学的に許容可能な担体、アジュバント、またはビヒクルとを含む、組成物。

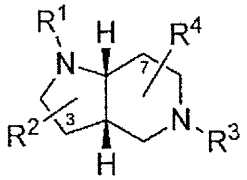
【請求項２】

前記化合物中の環状融合の立体化学がｓｙｎである、請求項１に記載の組成物。

【請求項３】

前記化合物が化学式

【化２】

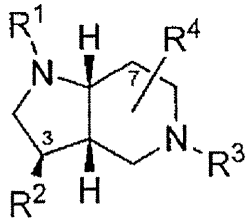


であるか、又はその薬学的に許容可能な塩である、請求項１に記載の組成物。

【請求項４】

前記化合物が化学式

【化３】



であるか、又はその薬学的に許容可能な塩である請求項１に記載の組成物。

【請求項５】

式中、Ｒ^{1}が任意に置換アリールカルボニルであり、アリールがフェニル、２－フルオロフェニル、４－フルオロフェニル、３‐ピリジル、４－ピリジル、または２－チエニルである、請求項１に記載の組成物。

【請求項６】

式中、Ｒ^{1}がベンゾイルである、請求項１に記載の組成物。

【請求項７】

式中、Ｒ^{2}が任意に置換アリールであり、アリールが４－フルオロフェニル、３－メトキシフェニル、４－メトキシフェニル、または３－チエニルである、請求項１に記載の組成物。

【請求項８】

式中、Ｒ^{3}が任意に置換アリールメチレンであり、アリールがフェニル、２－フルオロフェニル、３－フルオロフェニル、４－フルオロフェニル、３，４－ジフルオロフェニル、２－クロロフェニル、３－クロロフェニル、４－クロロフェニル、２－メチルフェニル、３－メチルフェニル、４－メチルフェニル、２－メトキシフェニル、３－メトキシフェニル、４－メトキシフェニル、３－チエニル、１－メチルピラゾール‐４－イル、１，３－ジメチルピラゾール－４－イル、１，３‐ジメチルピラゾール－４‐イル、または１，５－ジメチルピラゾール－４－イルである、請求項１に記載の組成物。

【請求項９】

Ｃ型肝炎を罹患する患者を治療するための薬剤の製造における、請求項１～８のうちのいずれか一項に記載の化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

【背景技術】

【０００２】

関連出願の相互参照

本出願は、合衆国法典３５巻１１９条（ｅ）の下、２０１０年３月１日に出願された米

国仮出願番号第６１／３０９，３２８号明細書の利益を請求し、その全体は、参照によって本明細書に組み込まれる。

【０００３】

配列表

本出願は、ＥＦＳ－Ｗｅｂを介してＡＳＣＩＩ形式で提出された配列表を含み、その全体は参照によって本明細書中に組み込まれる。前述のＡＳＣＩＩのコピーは、２０１１年２月２５日に作成され、１１４１２３＿ＳＥＱ　ＳＴ２５．ｔｘｔと名付けられ、サイズは２，１０３バイトである。

【０００４】

技術分野

本明細書中に記載される発明は、Ｃ型肝炎ウィルス感染症を含む、ウィルス性疾患の治療における、置換ペルヒドロピロロピリジン及びその使用方法に関する。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００５】

Ｃ型肝炎ウィルス（ＨＣＶ）は、ポジティブセンス、一本鎖ＲＮＡウィルスのフラビウイルス科に属する。ＨＣＶゲノムは、構造的及び非構造的タンパク質の両方へ処理される３０００個のアミノ酸残基を有するタンパク質をコードする。ＨＣＶ感染は、重大な地球規模の健康問題であり、世界保健機関（ＷＨＯ）は１億７０００万人以上の人々がＨＣＶ感染症に罹患していると推定しており、これは最終的に慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌を発症する可能性がある。これらの合併症は、米国だけで年間約１０,０００～２０，０００人が死亡する原因となっていると報告されている。ＨＣＶは、高度な肝疾患の主要な原因の一つであり、しばしば、肝移植を必要とする患者を生じる。現在のＨＣＶ感染の治療法は、非特異的ウィルス薬、リバビリン、及びインターフェロン－ａ（ＩＦＮ）の組み合わせに依存している（例えば、ａ）Ｋ．Ｈａｎａｚａｋｉ，Ｃｕｒｒ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．：Ａｎｔｉ－Ｉｎｆｅｃｔ．Ａｇｅｎｔｓ ２００３，２，１０３；ｂ）Ｇ．Ｍ．Ｌａｕｅｒ，Ｂ．Ｄ．Ｗａｌｋｅｒ，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．２００１，３４５，４１；ｃ）Ｇ．ＩｄＮｏ，Ａ．Ｂｅｌｌｏｂｕｏｎｏ，Ｃｕｒｒ．Ｐｈａｒｍ．Ｄｅｓ．２００２，８，９５９；ｄ）Ａ．Ｍ．Ｄｉ Ｂｉｓｃｅｇｌｉｅ，Ｊ．ＭｃＨｕｔｃｈｉｓｏｎ，Ｃ．Ｍ．Ｒｉｃｅ，Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ ２００２，３５，２２４；ｅ）Ｃ．Ｅ．Ｓａｍｕｅｌ，Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｒｅｖ．２００１，１４，７７８；ｔｈｅ ｆｏｒｅｇｏｉｎｇ ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ，ａｎｄ ｅａｃｈ ａｄｄｉｔｉｏｎａｌ ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ ｃｉｔｅｄ ｈｅｒｅｉｎ，ｉｓ ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｅｄ ｈｅｒｅｉｎ ｂｙ ｒｅｆｅｒｅｎｃｅを参照されたい）。そのような治療法は、白血球減少、血小板減少、溶血性貧血などの望ましくない副作用を引き起こすことが報告されているだけではなく、約４０％の患者のみが持続的なウィルス反応を達成すると見積もられている（例えば、Ｇｏｒｄｏｎ＆Ｋｅｌｌｅｒ，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２００５，４８，１；Ｔａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ ２００２，１，８６７参照されたい）。従って、ＨＣの治療は、満たされていない医療ニーズ、特に、より効果的である、及び／又はより毒性の少ない治療のニーズが満たされていないことを表している。

【課題を解決するための手段】

【０００６】

ペルヒドロピロロピリジンは、アクティブな抗ウィルス剤であることが、本明細書中で見出されている。特に、ペルヒドロピロロピリジンは、ＨＣＶ感染に対してアクティブであることが本明細書中で見出されている。

【０００７】

例示的な一実施形態において、本明細書中に記載されているのは、ＨＣＶを含むウィルス性疾患の治療のために有用な置換ペルヒドロピロロピリジンである。別の実施形態において、本明細書中に記載されているのは、ＨＣＶを含むウィルス性疾患の治療のために有

用である置換ペルヒドロピロロピリジンを含む薬学的に許容可能な組成物である。例示的に、組成物は、一つ以上の担体、希釈剤又は賦形剤、若しくはそれらの組み合わせを含む。

【０００８】

別の実施形態において、本明細書中に記載されているのは、ＨＣＶを含むウィルス性疾患を治療するための方法であり、前述の方法は、置換ペルヒドロピロロピリジン及び／又は置換ペルヒドロピロロピリジンを含む薬学的に許容可能な組成物を投与することを含む。別の実施形態において、本明細書中に記載されているのは、ウィルス性疾患に罹患している患者を治療するための医薬の製造における、一つ以上の置換ペルヒドロピロロピリジン及び／又は置換ペルヒドロピロロピリジンを含む薬学的に許容可能な組成物の使用である。例示的に、ウィルス性疾患はＣ型肝炎である。

【図面の簡単な説明】

【０００９】

【図１】化合物例１（Ar^1＝Ｐｈ、Ar^2＝４－Ｆ－C_6H_4、Ar^3＝４－ＭｅＯ－C_6H_4）でインキュベートした培養についての細胞内のＨＣＶ　ＲＮＡレベルを示す、用量－反応曲線（μＭ）である。

【図２】化合物例２（Ar^1＝Ｐｈ、Ar^2＝４－ＭｅＯ－C_6H_4、Ar^3＝４－Ｆ－C_6H_4）でインキュベートした培養についての細胞内のＨＣＶ　ＲＮＡレベルを示す、用量－反応曲線（μＭ）である。

【図３】化合物例１（Ar^1＝Ｐｈ、Ar^2＝４－ＭｅＯ－C_6H_4、Ar^3＝３－Ｆ－C_6H_4）でインキュベートした培養についての細胞内のＨＣＶ　ＲＮＡレベルを示す、用量－反応曲線（μＭ）である。

【図４】化合物例１（Ar^1＝３－ピリジル、Ar^2＝４－Ｆ－C_6H_4、Ar^3＝４－Ｃｌ－C_6H_4）でインキュベートした培養についての細胞内のＨＣＶ　ＲＮＡレベルを示す、用量－反応曲線（μＭ）である。

【図５】化合物例２（Ar^1＝ピリジル、Ar^2＝４－Ｆ－C_6H_4、Ar^3＝２－Ｃｌ－C_6H_4）でインキュベートした培養についての細胞内のＨＣＶ　ＲＮＡレベルを示す、用量－反応曲線（μＭ）である。

【図６】化合物例２（Ar^1＝Ｐｈ、Ar^2＝４－Ｆ－C_6H_4、Ar^3＝３－Ｆ－C_6H_4）でインキュベートした培養についての細胞内のＨＣＶ　ＲＮＡレベルを示す、用量－反応曲線（μＭ）である。

【図７】化合物例１（Ar^1＝Ｐｈ、Ar^2＝４－Ｆ－C_6H_4、Ar^3＝４－Ｆ－C_6H_4）でインキュベートした培養についての細胞内のＨＣＶ　ＲＮＡレベルを示す、用量－反応曲線（μＭ）である。

【００１０】

詳細な説明

オクタヒドロ－１Ｈ－ピロロ〔３，２－ｃ〕ピリジンを含む置換ペルヒドロピロロピリジンは、ウィルス性疾患の治療において有用であることが、本明細書において見出されている。理論に拘束されることなく、置換ペルヒドロピロロピリジンが、感染細胞におけるウィルス負荷を減少させると、本明細書において考えられている。例示的に、ウィルス性疾患はＣ型肝炎ウィルス感染を含む。

【００１１】

本明細書において使用されるように、用語「ペルヒドロピロロピリジン」は、本明細書において記載された式によって表される様々な実施形態と同様に、一般的に、親化合物のみならず、酸及び／又は塩基添加塩を含むその薬学的に許容可能な塩を指す。更に、用語「ペルヒドロピロロピリジン」は、本明細書において記載されるように、化合物の様々なプロドラッグも含む。

【発明を実施するための形態】

【００１２】

一実施形態において、本明細書中に記載されているのは、一つ以上の置換ペルヒドロピ

ロロピリジンを含む薬学的に許容可能な組成物である。置換ペルヒドロピロロピリジン及びそれらを含む薬学的に許容可能な塩は、ＨＣＶなどのウィルス性疾患の治療において有用である。

【００１３】

別の実施形態において、本明細書中で記載されているのは、置換ペルヒドロピロロピリジン及びそれらを含む薬学的に許容可能な組成物のウィルス性疾患の治療のための使用方法である。例示的に、これらの方法は、ウィルス感染からの救済を必要とする患者へ、治療上有効量の一つ以上の置換ペルヒドロピロロピリジン及び／又はそれらを含む薬学的に許容可能な組成物を投与することを含む。一変化形において、本明細書に記載の方法はまた、ＨＣＶを含むウィルス感染症の治療に有用であることが知られている他の治療剤との併用療法も含む。従って、本明細書に記載の、化合物、組成物、製剤、使用及び方法は、ＨＣＶ感染などのウィルス性疾患の治療のために知られている、一つ以上の任意のそのような化合物又は剤と組み合わせ得る。従って、別の実施形態において、併用療法は、本明細書に記載の一つ以上の化合物及び、ＨＣＶを含むウィルス感染症の治療において有用であることが知られている既知の化合物又は剤を併用投与することを含む。

【００１４】

本明細書において使用されるように、用語「アルキル」は、炭素原子の鎖を含み、これは任意に分岐していてもよい。本明細書において使用されるように、用語「アルケニル」及び「アルキニル」は、炭素原子の鎖を含み、これは任意に分岐していてもよく、少なくとも一つの二重結合又は三重結合をそれぞれ含む。アルキニルはまた、一つ以上の二重結合を含み得ると理解されている。更に、特定の実施形態において、アルキルは、C_1－C_{24}、C_1－C_{12}、C_1－C_8、C_1－C_6及びC_1－C_4を含む、限られた長さで有利であると理解されている。更に、特定の実施形態において、アルケニル及び／又はルキニルは、それぞれ、C_2－C_{24}、C_2－C_{12}、C_2－C_8、C_2－C_6及びC_2－C_4を含む、限られた長さで有利であり得ることが理解されている。本明細書において、より短いアルキル、アルケニル及び／又はアルキニル基は、化合物にほとんど親油性を与えることなく、従って、異なる薬物動態学的挙動を有することが明らかである。例示的なアルキル基は、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、イソブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ペンチル、２－ペンチル、３－ペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチルなどを含むがそれらに限定されない。

【００１５】

本明細書において使用されるように、用語「ヘテロアルキル」は、炭素及び少なくとも一つのヘテロ原子の両方を含む原子の鎖を含み、任意に分岐していてもよい。例示的なヘテロ原子は、窒素、酸素及び硫黄を含む。特定の変化形において、例示的なヘテロ原子はまた、リン及びセレンも含む。

【００１６】

本明細書において使用されるように、用語「シクロアルキル」は炭素原子鎖を含み、これは任意に分岐していてもよく、鎖の少なくとも一部が環状である。シクロアルキルアルキルは、シクロアルキルのサブセットであると理解されている。シクロアルキルは多環状であり得ることが理解されている。例示的なシクロアルキルは、シクロプロピル、シクロペンチル、シクロヘキシル、２－メチルシクロプロピル、シクロペンチルエーテル－２－イル（ｃｙｃｌｏｐｅｎｔｙｌｅｔｈ－２－ｙｌ）、アダマンチルなどを含むがそれらに限定されないことが理解されている。本明細書において使用されるように、用語「シクロアルケニル」は、炭素原子の鎖を含み、これは任意に分岐していてもよく、少なくとも一つの二重結合を含み、少なくとも鎖の一部は環状である。一つ以上の二重結合は、シクロアルケニルの環状部分及び／又はシクロアルケニルの非－環状部分に存在し得ることが理解されている。シクロアルケニルアルキル及びシクロアルキルアルケニルは、それぞれシクロアルケニルのサブセットである。シクロアルキルは、多環状であり得ることが理解されている。例示的なシクロアルケニルは、シクロペンテニル、シクロヘキシルエテン－２－イル、シクロヘプテニルプロペニルなどを含むがそれらに限定されないことが理解され

ている。シクロアルキル及び／又はシクロアルケニルは、C_3－C_{24}、C_3－C_{12}、C_3－C_8、C_3－C_6、及びC_5－C_6を含む、限定された長さが有利であることが更に理解されている。本明細書において、より短いアルキル並びに／又は、シクロアルキル及び／若しくはシクロアルケニルを形成するアルケニル鎖が、それぞれ、化合物にほとんど親油性を与えず、従って、異なる薬学導体挙動を有するであろうことが理解されている。

【００１７】

本明細書において使用されるように、ヘテロシクリル及びヘテロ環を含む用語「シクロヘテロアルキル」は、炭素及び、ヘテロアルキルなどの少なくとも一つのヘテロ原子を両方含み、任意に分岐していてもよく、少なくとも鎖の一部が環状である。例示的なヘテロ原子は、窒素、酸素及び硫黄を含む。特定の変化形において、例示的なヘテロ原子はまた、リン及びセレニウムを含む。例示的なシクロヘテロアルキルは、テトラヒドロフリル、ピロリジニル、テテオラヒドロピラニル、ピペリジニル、モノホリニル、ピペラジニル、ホモピペラジニル、キノクリジニルなどを含むがそれらに限定されない。

【００１８】

本明細書において使用されるように、用語「アリール」は、単環又は多環芳香族炭素環基を含み、それぞれは、任意に置換されていてもよい。本明細書中に記載の例示的な芳香族炭素環基は、フェニル、ナフチルなどを含むがそれらに限定されない。本明細書中で使用されるように、用語「ヘテロアリール」は、芳香族ヘテロ環基を含み、それぞれは任意に置換されていてもよい。例示的な芳香族ヘテロ環基は、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル、テトラジニル、キノリニル、キナゾリニル、キノキサニル、チエニル、ピラゾリル、イミダゾリル、オキサゾリル、チアゾリル、イソオキサゾリル、イソチアゾリル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、トリアゾリル、ベンジミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンズチアゾリル、ベンズイソオキサゾリル、ベンズイソチアゾリルなどを含むがそれらに限定されない。

【００１９】

本明細書において使用されるように、用語「アシル」は、ホルミル、及びアルキルカルボニル、アルケニルカルボニル、アルキニルカルボニル、ヘテロアルキルカルボニル、ヘテロアルケニルカルボニル、ヘテロアルキニルカルボニル、シクロアルキルカルボニル、シクロアルケニルカルボニル、シクロヘテロアルキルカルボニル、シクロヘテロアルケニルカルボニル、アリールカルボニル、アリールアルキルカルボニル、アリールアルケニルカルボニル、アリールアルキニルカルボニル、ヘテロアリールカルボニル、ヘテロアリールアルキニルカルボニル、ヘテロアリールアルケニルカルボニル、ヘテロアリールアルキニルカルボニル、アシルカルボニル、などを含み、それぞれは任意に置換されていてもよい。

【００２０】

本明細書において使用されるように、用語「カルボニル及びその誘導体」は、Ｃ（Ｏ）、Ｃ（Ｓ）、Ｃ（ＮＨ）基及びそれらの置換アミノ誘導体を含む。

【００２１】

本明細書において使用されるように、用語「任意に置換されていてもよい」は、任意に置換されていてもよいラジカル上の他の官能基との水素原子の置換を含む。そのような他の官能基は、例示的に、アミノ、ヒドロキシ、ハロ、チオ、アルキル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、アリールアルキル、アリールヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテルアリールヘテロアルキル、ニトロ、スルホン酸及びその誘導体、カルボン酸及びその誘導体などを含むがそれらに限定されない。例示的に、任意のアミノ、ヒドロキシル、チオ、アルキル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、アリールアルキル、アリールヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールヘテロアルキル及び／又はスルホン酸は任意に置換されていてもよい。

【００２２】

本明細書において使用されるように、用語「任意に置換されていてもよいアリール」及び「任意に置換されていてもよいヘテロアリール」は、水素原子と、任意に置換されていてもよいアリール又はヘテロアリール上の他の官能基との置換を含む。そのような他の官能基は、例示的に、アミノ、ヒドロキシ、ハロ、チオ、アルキル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、アリールアルキル、アリールヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールヘテロアルキル、ニトロ、スルホン酸及びその誘導体、カルボン酸及びその誘導体、などを含むがそれらに限定されない。例示的に、任意のアミノ、ヒドロキシ、チオ、アルキル、ハロアルキル、ヘテロアルキル、アリール、アリールアルキル、アリールヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールヘテロアルキル、及び／又はスルホン酸は任意に置換されていてもよい。

【００２３】

本明細書において使用されるように、用語「プロドラッグ」は一般的に、生体系に投与された場合、一つ以上の自発的な化学反応、酵素－触媒による化学反応、及び／又は代謝による化学反応、若しくはそれらの組み合わせの結果として、生物学的に活性な化合物を生成する任意の化合物をさす。生体内で、プロドラッグは一般的に酵素（エステラーゼ、アミダーゼ、ホスファターゼなど）、単純な生物化学、又は、生体内でより薬理学的に活性な剤を解放又は再構成する任意の他のプロセスによって作用されている。この活性化は、プロドラッグの投与前、後、又は投与の間に宿主に投与される内因性の宿主酵素又は非内因性酵素の作用によって発生する可能性がある。プロドラッグの使用の更なる詳細は、米国特許第５，６２７，１６５号明細書及びＰａｔｈａｌｋらのＥｎｚｙｍｉｃ ｐｒｏｔｅｃｔｉｎｇ ｇｒｏｕｐ ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ｉｎ ｏｒｇａｎｉｃ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｓｔｅｒｅｏｓｅｌ．Ｂｉｏｃａｔａｌ．７７５－７９７（２０００）に記載されている。プロドラッグは、標的送達、安全性、安定性、などが達成されるという目標に到達するとすぐに、有利にオリジナルの薬剤に変換され、その後、プロドラッグを形成する基の放出された残基を、急速に除去することが理解されている。

【００２４】

プロドラッグは、－ＯＨ－、－ＳＨ、－CO_2H、－NR_2などの、化合物上に存在する一つ以上の官能基へ、生体内で最終的に開裂する基を結合することによって、本明細書において記載されている化合物から調製され得る。例示的なプロドラッグは、ヒドロキシル、チオール及び結合した基がアシル基であるアミンのエステル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、リン酸エステル又は硫酸エステルと同様に、基がアルキル、アリール、アラルキル、アシルオキシアルキル、アルコキシカルボニルオキシアルキルであるカルボン酸エステルを含むがそれらに限定されない。例示的なエステルは、また、活性エステルを指し、１－インダニル、Ｎ－オキシスクシンイミド；アセトキシメチル、ピバロイルオキシメチル、β－アセトキシエチル、β－ピバロイルオキシエチル、１－（アイクロヘキシルカルボニルオキシ）プロプ－１－イル、（１－アミノエチル）カルボニルオキシメチルなどのアシルオキシアルキル基；エトキシカルボニルオキシメチル、α－エトキシカルボニルオキシエチル、β－エトキシカルボニルオキシエチルなどのアルコキシカルボニルオキシアルキル基；ジメチルアミノメチル、ジメチルアミノエチル、ジエチルアミノメチル、ジエチルアミノエチルなどのジ－低級アルキルアミノアルキル基を含むジアルキルアミノアルキル基；２－（イソブトキシカルボニル）ペント－２－エニル、２－（エトキシカルボニル）ブト－２－エニルなどの２－（アルコキシカルボニル）－２－アルケニル基；フタリジル、ジメトキシフタリジルなどのラクトン基を含むがそれらに限定されない。

【００２５】

プロドラッグ自身は、顕著な生物学的活性を有さないが、その代わりに、本明細書に記載の生物学的に活性な化合物か、又は生物学的に活性な化合物の前駆体を生成するために生体内に投与した後、一つ以上の自発的な化学反応、酵素触媒化学反応、及び／又は代謝化学反応、若しくは、それらの組み合わせを受けることが理解されている。しかしながら、いくつかの例において、プロドラッグは生物学的に活性である。また、プロドラッグは

、しばしば、改良された経口生物学的利用能、薬物動態半減期などを介して薬効や安全性を向上させるために役立ち得る。プロドラッグはまた、単に望ましくない薬特性をマスクしたり、薬物送達を改善したりする基を含む、本明細書中に記載の化合物の誘導体も指す。例えば、本明細書中に記載の一つ以上の化合物は、低い経口薬物吸収、サイト特異性の欠如、化学的不安定性、毒性、患者にとっての受け入れにくさ（悪い味、臭気、注射部位の痛みなど）などの、有意にブロックされるか最小化されており、臨床薬物適用における薬理学、医薬品、又は薬物動態学的障壁となり得る、望ましくない特性を呈し得る。本明細書において、プロドラッグ又は可逆的誘導体を用いる他のストラテジが、薬剤の臨床応用の最適化に有用であり得ることが理解されている。

【００２６】

本明細書中で使用されるように、用語「治療上有効量」は、研究者、獣医師、医師又は他の臨床医によって求められている、組織系、動物又はヒトにおける生物学的、又は薬学的反応を引き出す活性化合物又は医薬品の量を指し、治療を受けている疾患又は障害の症状の緩和を含む。一態様において、治療上有効量は、任意の治療に適用される合理的な利益／リスク比で、疾患又は疾患の症状を治療又は緩和し得る量である。しかしながら、本明細書中に記載の化合物及び組成物の総一日使用量は、医学的判断の範囲内で主治医によって決定され得る。任意の特定の患者に対する特定の治療上有効な用量レベルは、治療を受けている障害と疾患の重症度、採用される特定の化合物の活性、採用される特定の組成物、年齢、体重、一般的な健康状態、患者の性別及び常食、投与時間、投与経路、及び採用される特定の化合物の排出速度、治療期間、組み合わせて使用される薬剤、又は偶然一緒に使用される特定の化合物及び、研究者、獣医師、医師、又は当業者の他の臨床医に知られている要因などを含む、様々な要因に依存するであろう。

【００２７】

治療上有効量は、また、単剤療法又は併用療法を指していようといまいと、本明細書中に記載の一つ以上の化合物の投与中に生じ得る、任意の毒性、又は他の望ましくない副作用を参照して、有利に選択される。更に、本明細書中に記載の併用療法は、そのような毒性又は他の望ましくない副作用を示す化合物の低い容量の投与を可能にし得、そのような低い投与量は毒性の閾値以下であるか、又は、そうでなければ、治療のウィンドウで、併用治療をしない場合よりも低い。

【００２８】

本明細書において使用されるように、「組成物」は一般的に、指定された量における指定された成分を含む任意の生成物、及び、指定された量における指定された成分の組み合わせから直接的又は間接的に生成される任意の生成物を指す。本明細書中に記載の組成物は、本明細書中に記載の分離された化合物、または、本明細書に記載の化合物の塩、溶液、水和物、溶媒和物及びその他の形態から調製され得ることが理解されている。また、組成物は、本明細書中に記載の化合物の様々なアモルファス、非アモルファス、部分的結晶体、結晶体、及び／又は他の形態学的な形態からも調製し得ることを理解すべきである。また、組成物は、本明細書に記載の化合物の様々な水和物及び／又は溶媒和物から調製し得る。従って、本明細書に記載の化合物を列挙する医薬組成物は、本明細書中に記載の化合物の様々な形態学的形態、及び／又は水和物、又は溶媒和物の形態のそれぞれ、又は任意の組み合わせを含むことを理解すべきである。例示的に、組成物は、一つ以上の担体、希釈剤及び／又は賦形剤を含み得る。本明細書中に記載の化合物又はそれらを含む組成物は、本明細書中に記載の方法に適切な任意の従来の投与量形態で、治療上有効な量で製剤し得る。本明細書中に記載の化合物又はそれらを含む組成物（そのような製剤を含む）は、本明細書中に記載の方法について、多種多様な従来の経路で、且つ、多種多様な投与形態で、既知の手順を利用して投与され得る（一般的に、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，（２１ｓｔ ｅｄ．，２００５）を参照されたい）。

【００２９】

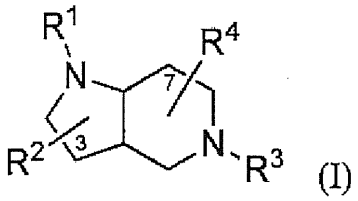
本明細書において使用されるように、用語「投与する」は、経口（ｐｏ）、静脈内（ｉ

ｖ）、筋肉内（ｉｍ）、皮下（ｓｃ）、経皮、吸入、口腔、眼、舌下、膣、直腸などを含むがそれらに限定されない、本明細書に記載の化合物及び組成物を患者へ導入する全ての手段を含む。本明細書に記載の化合物及び組成物は、単位投薬形態及び／又は、従来の非毒性の薬学的に許容される担体、アジュバント、及びビヒクルを含む製剤形態で投与され得る。

【００３０】

一実施形態において、本明細書に記載されているのは、Ｃ型肝炎に罹患した患者の治療のための化合物であり、前述の化学式Ｉの化合物

【化１】



(I)

又はその薬学的に許容可能な塩は、式中、

Ｒ^{1}はアリールアルキル又はアリールアシルであり、それぞれは任意に置換されていてもよく；

Ｒ^{2}は水素、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、シクロヘテロアルキル、アリール、又はアリールアルキルであり、それぞれは任意に置換されていてもよく；

Ｒ^{3}はアリールアルキル又はアリールアシルであり、それぞれは任意に置換されていてもよく；且つ、

Ｒ^{4}は水素、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、シクロヘテロアルキル、アロール、又はアリールアルキルであり、それぞれは任意に置換されていてもよい。

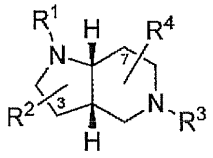
【００３１】

別の実施形態において、本明細書中に記載されているものは、上記の化学式Ｉの化合物又はその薬学的に許容可能な塩を含む、薬学的組成物である。

【００３２】

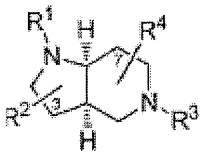
別の実施形態において、化学式Ｉの化合物の環状融合体の立体化学は、ｓｙｎである。別の実施形態において、化学式Ｉの化合物の環状融合体の立体化学は、以下の通りであり：

【化２】



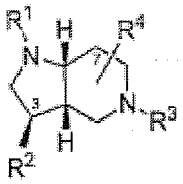
薬学的に許容可能なその塩を含む。別の実施形態において、化学式Ｉの化合物の環状融合体の立体化学は、以下の通りであり：

【化３】



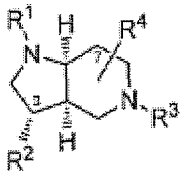
薬学的に許容可能なその塩を含む。別の実施形態において、化学式Ｉの化合物の環状融合体の立体化学及び化学式Ｉの化合物のＣ－３は以下の通りであり：

【化４】



薬学的に許容可能なその塩を含む。別の実施形態において、化学式Ｉの化合物の環状融合体の立体化学は以下の通りであり：

【化５】



薬学的に許容可能なその塩を含む。

【００３３】

別の実施形態において、本明細書中に記載される化合物の全ての立体化学の変化形を含む、本明細書中に記載される化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{1}、Ｒ^{2}、Ｒ^{3}、及びＲ^{4}は、それぞれ、本明細書中の以下から独立的に選択される。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{1}は、任意に置換アリールアシルであってもよい。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{1}は、任意に置換アリールカルボニルであってもよい。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{1}は、任意に置換ベンゾイルであってもよい。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{1}は、任意にベンゾイルであってもよい。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{1}は、任意に置換ピコリノイルであってもよい。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{1}は、ピコリノイルである。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{2}は、任意に置換アリールであってもよい。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{2}は、任意に置換フェニルであってもよい。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{2}は、ハロ、アルコキシ、又はそれらの組み合わせで置換されたフェニルである。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{3}は、任意に置換アリールアルキルであってもよい。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{3}は、任意に置換アリールメチレンであってもよい。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{3}は、任意に置換ベンゾイルであってもよい。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{3}は、電子吸引基で置換されたベンジルである。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{3}は、ハロ置換ベンジルである。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{4}は、水素又はアルキルである。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{4}は水素である。別の実施形態において、本明細書中に記載の化学式Ｉの化合物の置換基Ｒ^{2}は、Ｃ－３において存在する。

【００３４】

別の実施形態において、本明細書中に記載されているのは、本明細書中に記載の一つ以上の化合物の、ウィルス性疾患に罹患した患者を治療するための薬剤の製造における使用である。例示的に、ウィルス性疾患はＣ型肝炎である。

【００３５】

別の実施形態において、本明細書中に記載されているのは、ウィルス性疾患、例示的に

はＣ型肝炎などに罹患する患者を治療するための方法であり、前述の方法は、本明細書に記載の一つ以上の化合物のみ、又は、一つ以上の担体、希釈剤、又は賦形剤、若しくはそれらの組み合わせの治療上有効量を患者へ投与するステップを含む。

【００３６】

上述のR^1、R^2、R^3、及びR^4の選択のそれぞれは、化学式Ｉの立体化学的な実施形態のそれぞれについて、本明細書中に記載されていると理解されるべきである。上述のR^1、R^2、R^3、及びR^4の選択のそれぞれは、全ての可能性のある組み合わせにおいて、お互いに組み合わせ得、それぞれは、本発明のさらなる例示的な実施形態の説明を形成することが、更に理解されるべきである。例えば、そのような一組み合わせにおいて、本明細書中に記載されているのは、式中R^1が任意に置換アリールアシルであってもよく、且つ、R^2が任意に置換アリールであってもよい、化学式Ｉの化合物任意の立体化学的実施形態を含む、化学式Ｉの化合物である。そのような別の組み合わせにおいて、本明細書中に記載されているのは、式中、R^1は任意に置換ベンゾイルであってもよく、R^2は任意に置換アリールであってもよく、且つ、R^3は任意に置換アリールアルキルであってもよい、化学式Ｉの化合物の任意の立体化学的実施形態を含む、化学式Ｉの化合物である。そのような別の組み合わせにおいて、本明細書中に記載されているのは、式中、R^1はベンゾイルであり、R^2は任意に置換アリールであってもよく、R^3は電子吸引基と置換されたベンゾイルであり、且つ、R^4は水素である、化学式Ｉの化合物の任意の立体化学的実施形態を含む、化学式Ｉの化合物である。

実施例

【００３７】

以下の実施例は、更に、本発明の特定の実施形態を説明するが、しかしながら、以下の実施例は本発明を如何なる方法においても制限するものと解釈するべきではない。

【００３８】

実施例　試験化合物。本明細書に記載の置換ペルヒドロピロロピリジン（＞９０％純度）は、商業的供給業者から得て、そのまま使用する。

【００３９】

方法例　キメラマウスモデル。本明細書において使用するマウスモデルは、ＫｎｅｔｅｍａｎらのＨｅｐａｔｏｌｏｇｙ，２００６，４３，１３４６　ａｎｄ　Ｋｎｅｔｅｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ，２００９，４９，７４５．において従来説明されているものと同じである。使用される動物は、ホモ接合体アルブミン（Ａｌｂ）－ウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子（ｕＰＡ）／重症複合免疫不全（ＳＣＩＤ）マウスであり、使用直前までウィルスフリー／抗体フリー環境に収容する。

【００４０】

方法例　ヒト肝細胞の単離及び移植。ヒト肝組織のセグメント（～２０ｃｍ^3）を、冷温リン酸緩衝生理食塩水で洗い流し、急速に組織分離実験室に輸送した。肝細胞は、０．３８ｍｇ／ｍｌのリベラーゼＣＩ溶液（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ　Ｍａｎｎｈｅｉｍ）を用いたコラーゲナーゼベースの還流を使用して、ＭｅｒｃｅｒらのＨｅｐａｔｉｔｉｓ　Ｃ　ｖｉｒｕｓ　ｒｅｐｌｉｃａｔｉｏｎ　ｉｎ　ｍｉｃｅ　ｗｉｔｈ　ｃｈｉｍｅｒｉｃ　ｈｕｍａｎ　ｌｉｖｅｒｓ，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．２００１，７，９２７－９３３に記載の方法を使用して分離し、精製する。レイシピエントマウス（生後５～１４日、ｕＰＡ／ＳＣＩＤマウス）は、ハロタン／０２で麻酔し、１×１０６生肝細胞を、脾臓の下極に注入する。肝細胞を、次に、移植して拡張した自身の肝臓へ移行する。

【００４１】

方法例　ヒトα－１抗トリプシン分析。ヒトα－１抗トリプシン（ｈＡＡＴ）分析は、ヒト肝細胞移植の安定した継続的な機能を確認するため、及び、ＨＣＶ抗体価の変化は、肝細胞死や傷害に起因するものであるかどうかを決定するために使用する。マウス血清は、ＫｎｅｔｅｍａｎらによるＨｅｐａｔｏｌｏｇｙ，２００６，４３，１３４６に記載のように、サンドイッチ酵素免疫測定法によって分析する。簡単に言えば、マウス血清サンプル（２μｌ）をブロッキングバッファーで１／１００に希釈し、サンドイッチＥＬＩＳＡ

によってポリクローナルヤギ抗ヒトα１－アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）抗体（＃８１９０２，Ｄｉａｓｏｒｉｎ，Ｓｔｉｌｌｗａｔｅｒ　ＭＮ）を捕捉抗体として使用して分析する。同じ抗体の一部は、ホースラディッシュペルオキシダーゼにクロスリンクされており（＃３１４８９，Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）、二次抗体として使用され、３，３’－５，５’－テトラメチルベンジジンによってシグナル検出される（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）。

【００４２】

方法例　ＨＣＶ単離及び定量化。マウス血清分析は、リコアコバスアンプＨＣＶモニターシステム（Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ社）を用いて盲検で行う。定量下限は６００ＩＵ／ｍｌである。ウィルスのＲＮＡは、製造元の指示に従ってＱｉａｇｅｎ（１９０７３）からバッファＡＶＬを使用して抽出する。ＲＮＡは、製造元の指示に従って、高容量ＲＮＡ　ｔｏ　ｃＤＮＡキット（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍ、＃４３６９０１６）を用いて、ＨＣＶ特異的プライマー（５’－ＡＧＧＴＴＡＧＧＡＴ　ＣＧＴＧＣＴＣＡＴ（配列番号：１））でｃＤＮＡに転写される。ＲＴ－ＰＣＲは、ＡＢＩ　７３００リアルタイムＰＣＲシステム及びＴａｑｍａｎ　ｃｈｅｍｉｓｔｒｙを使用して実施し、行った全ての測定はドュプリケートで行った。６－ＦＡＭ－ＣＡＣＣＣＴＡＴＣＡＧＧＣＡＧＴＡＣＣＡＣＡＡＧＧＣＣ－ＴＡＭＲＡ（配列番号：２）を、ＨＣＶ特異的検出プローブ及び、ＨＣＶの保存的５’ＵＴＲ領域（５’－ＴＧＣＧＧＡＡＣＣＧＧＴＧＡＧＴＡＣＡ（配列番号：３）、５’－ＡＧＧＴＴＴＡＧＧＡＴＴＣＧＴＧＣＴＣＡＴ（配列番号：４））を検出するプライマーセットとして使用する。絶対定量のために、ＨＣＶバリアントｈ７７Ｃ（ＰＣＶ－Ｈ７７Ｃ）の配列を含む、プラスミドの既知の希釈液の標準曲線を、Ｏｐｔｉｑｕａｎｔ　ＨＣＶ　ＲＮＡ　ｈｉｇｈ　ｃｏｎｔｒｏｌ（Ｏｐｔｉｑｕａｎｔ社）を用いて作成する。

【００４３】

方法例　実験の実施。肝細胞移植六週間後、マウスは、血清ｈＡＡＴについてスクリーニングされ、１００μｇ／ｍＬ以上のカットオフ値の動物に、１００μｇの遺伝子１ａＨＣＶを含んだヒト血清（約2×10^{5}コピー／ｍＬ）を腹腔内注射により接種する。ベースラインのＨＣＶレベルは、接種後１及び２週間後に得、力価2×10^{4}コピー／ｍＬ以上のマウスを、実験群へ割り当てる。割り当ては、優先度の低下とともにＨＣＶ抗体価、ＨＡＡＴレベル、性別、体重についての、群のバランスをとることが求められている。

【００４４】

方法例　以下のプロトコルは、ＰＫパラメータ及び試験化合物についての動物の耐久力を評価するために使用される。プロトコルは、腹腔内（ＩＰ）注射により一日一回５ｍＬ／ｋｇの量で投与された化合物のそれぞれの３つの段階的用量レベルを含む。許容差は、１４日間の治療経過を介して決定される。試験動物は、３つの５匹のマウスの群を含む。また、５ｍＬのビヒクルを注射された一つの５匹のマウスの対照群も含む。マウスの群は、体重の範囲≧１２．０ｇのｍｕｒｉｎｅ　ＫＭＴ　ｍｉｃｅ（商標）などの、オス及びメスの両方の生後３ヶ月のマウスを含む。血液サンプルを、化合物投与（投与後７日の２４時間のトラフサンプル）直前の８日目の朝（投与後最後の１４日の２４時間のトラフサンプル）及び１５日目の朝に、置換ペルヒドロピロロピリジンの血清中濃度の測定のための動物の中央の尾動脈を経由して引き抜く。およそ１００μＬの量をチューブに収集し、２～８℃で凝固させ、遠心分離し、上述の血栓ペレットから血清を取り除き、濃度測定の準備ができるまで、－８０℃で凍結保存した。

【００４５】

方法例　以下のプロトコルは、ＨＣＶ感染に対する置換ペルヒドロピロロピリジンの効果的評価のために使用される。プロトコルは、本明細書中に記載の研究からの耐性及びＰＫ結果に基づいて選択される３つの用量を含む。各置換ペルヒドロピロロピリジンの効果は、１４日以上の治療過程及び、腹腔内注射による１日１回の５ｍＬ／ｋｇの容積での薬剤投与の３つの用量レベルを採用した７日間のフォローアップ期間に渡って決定する。ベースラインの動物の受入基準は、以下の通りである：最小ｈＡＡＴ値＝８０；最小ＨＣＶ値

＝１×１０^{4}ＩＵ／ｍＬ；健康状態カットオフ値≦１～２。研究動物は、３つの５匹のマウスの群を含む。また、５ｍＬ／ｋｇのビヒクルを接種した、一つの５のマウスの対照群を含む。マウスの群は、体重範囲≧１２．０ｇのｍｕｒｉｎｅ　ＫＭＴ　ｍｉｃｅ（商標）などの、オス及びメスの両方の生後３ヶ月のマウスを含む。血液サンプルを、３日目のｈＡＡＴ及びＨＣＶのベースラインの血清中濃度を測定するために、中央の尾動脈を経由して引き抜く。その後の血液は、化合物の投与直前に７日目の朝、及び、前日のおよそ０８００時に最終用量の化合物を投与した２４時間後に１４日目の朝、及び、最終化合物投与の７日後の２１日目に引き抜いた。およそ１００μＬの量をチューブに収集し、２～８℃で凝固させ、遠心分離し、上述の血栓ペレットから血清を取り除き、濃度測定の準備ができるまで、－８０℃で凍結保存した。

【００４６】

方法例　抗ＨＣＶ効果についてのアッセイ。従来、ＨＣＶ研究は主に感染患者及びチンバンジーを含んでいた。現在、強固なＨＣＶ感染システムは、Ｈｕｈ－７ヒト肝癌細胞株に由来する細胞で開発された（例えば、成長ウィルス株、Ｈｕｈ－７細胞の維持、感染パラメータ、及びＨＣＶ抗体価の決定に関する詳細については、Ｙｕらの、「Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ　ｏｆ　ａ　ｃｅｌｌ－ｂａｓｅｄ　ｈｅｐａｔｉｔｉｓ　Ｃ　ｖｉｒｕｓ　ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ　ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ　ｒｅｓｏｎａｎｃｅ　ｅｎｅｒｇｙ　ｔｒａｎｓｆｅｒ　ａｓｓａｙ　ｆｏｒ　ｈｉｇｈ－ｔｈｒｏｕｇｈｐｕｔ　ａｎｔｉｖｉｒａｌ　ｃｏｍｐｏｕｎｄ　ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ　Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ　Ａｇｅｎｔｓ　Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．　２００９　５３：４３１１－４３１９」及び、Ｙｕ＆Ｕｐｒｉｃｈａｒｄの「Ｃｅｌｌ－ｂａｓｅｄ　ｈｅｐａｔｉｔｉｓ　Ｃ　ｖｉｒｕｓ　ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ　ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｃｅ　ｒｅｓｏｎａｎｃｅ　ｅｎｅｒｇｙ　ｔｒａｎｓｆｅｒ　（ＦＲＥＴ）ａｓｓａｙ　ｆｏｒ　ａｎｔｉｖｉｒａｌ　ｃｏｍｐｏｕｎｄ　ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ　Ｃｕｒｒ　Ｐｒｏｔｏｃ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．２０１０；Ｃｈａｐｔｅｒ　１７：Ｕｎｉｔ　１７．５」を参照されたい）。簡単に言えば、このアッセイは、ＨＣＶ患者由来のユニークなＪＦＨ－１　ＨＣＶのコンセンサスのｃＤＮＡに基づいている。逆遺伝学を使用して、このＨＣＶクローンから感染ウィルスを解放することができる。回復生存ＪＦＨウィルスは、Ｈｕｈ－７細胞に連続的に継代することができる。この理由のために、このシステムは、それらの抗ＨＣＶ効果の潜在的な薬剤の活性を試験するために適している。本明細書に記載の化合物の抗ウィルス活性は、このシステムにおいて試験する。

【００４７】

最初に、６×１０^{3}個のＨｕｈ７－１細胞を、１０％胎児ウシ血清を添加したダルベッコ変法イーグル培地から構成される０．２ｍＬの１０％の培地中で、コラーゲンコートしたＢｉｏＣｏａｔ９６－ウェルプレート（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｂｅｄｆｏｒｄ，ＭＡ）の各ウェル中で一晩中インキュベートする。その後、２日間隔で、培養は、新鮮な０．２ｍＬ、１０％培地を補充する。一旦培養が周密的になると、絶えず１％のジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）も含む、０．２ｍＬ、１０％の新鮮な培地を２日間の間隔で補充する。これらの補充の２０日後、Ｈｕｈ７－１培養を、０．０５フォーカス形成単位（ｆｆｕ）／細胞の感染多重度（ＭＯＩ）のＨＣＶを含む、新鮮な１％培地（血清レベルが１％であることを除き１０％培地と同じ）でインキュベートする。ＨＣＶ（ＪＦＨ－１ｗｔ　Ｈｕｈ７）株力価は、１．５×１０^{5}ｆｆｕ／ｍＬである。翌日（注射後１日）及び２日後（注射後３日）に、培地へＤＭＳＯに溶解した試験化合物を含有する新鮮な１％の培地を補充する。化合物を用いた処理の５日目に、細胞溶解物をＲＮＡの分離とリアルタイム定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（ＲＴ－ＱＰＣＲ）のために収集し、培地を細胞毒性分析のために収集する。

【００４８】

全ＲＮＡは、標準プロトコルを使用してチオシアン酸グアニジン法により細胞から分離する。１μｇのＲＮＡを、ＴａｑＭａｎ逆転写試薬を用いてｃＤＮＡ合成に使用し（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，ＣＡ）、その後、アプラ

イドバイオシステムズ７３００リアルタイムサーマルサイクラーを用いてリアルタイムＰＣＲを行う。例示的なサーマルサイクルは、９５℃で１０分間の初期変性の後、変性を４０サイクル（９５℃で１５秒）、及びアニーリング／伸長（６０℃で１分）から成る。ＨＣＶ及びヒトグリセルアルデヒド－３－リン酸デヒドロゲナーゼ（ＧＡＰＤＨ）ＲＮＡレベルは、ＪＦＨ－１　ＨＣＶ又はＧＡＰＤＨｃＤＮＡを含む、プラスミドの希釈系列の検量線に対して決定する。ＧＡＰＤＨ及びＨＣＶを検出するために使用したＰＣＲプライマーの例示は次の通りである：ＧＡＰＤＨ（ＮＭＸ００２０４６）５’－ＧＡＡＧＧＴＧＡＡＧＧＴＣＧＧＡＧＴＣ－３’（配列番号：５）（センス）及び、５’－ＧＡＡＧＡＴＧＧＴＧＡＴＧＧＧＡＴＴＴＣ－３’（配列番号：６）（アンチセンス）ＪＦＨ－１　ＨＣＶ（ＡＢ０４７６３９）５’－ＴＣＴＧＣＧＧＡＡＣＣＧＧＴＧＡＧＴＡ－３’（配列番号：７）（センス）及び、５’－ＴＣＡＧＧＣＡＧＴＡＣＣＡＣＡＡＧＧＣ－３’（配列番号：８）（アンチセンス）。

【００４９】

試験化合物はまた、従来の細胞毒性アッセイにおいて評価した。それぞれの場合において、試験化合物は５μＭで細胞毒性を呈さなかった。細胞毒性の欠損は、ウィルス力価を減少させる試験化合物の活性は、ウィルス性疾患に固有のものであることをサポートしている。

【００５０】

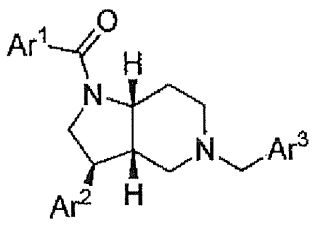
図１～７は、培養が示された容量での選択された試験化合物でインキュベートする場合、細胞内のＨＣＶ　ＲＮＡレベルを示す。ＨＣＶ　ＲＮＡレベルをサンプル間で比較すると、データは、モック処理（化合物追加せず）ＨＣＶ感染制御に対して化合物が、ＨＣＶ　ＲＮＡ濃度の用量依存性の減少を引き起こすことを含み得る。

【００５１】

化合物実施例１

以下の化合物を本明細書に記載する：

【化６】



【表１】

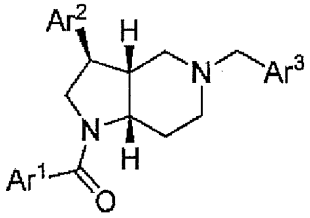
Ar^1	Ar^2	Ar^3	活性
Ph	4-F-C_6H_4	4-F-C_6H_4	+++
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	4-Cl-C_6H_4	+++
Ph	4-F-C_6H_4	3-MeO-C_6H_4	+++
Ph	4-MeO-C_6H_4	3-F-C_6H_4	+++
2-F-C_6H_4	３－チエニル	4-F-C_6H_4	+++
Ph	4-F-C_6H_4	2-F-C_6H_4	++
２－チエニル	4-F-C_6H_4	4-F-C_6H_4	++
Ph	4-F-C_6H_4	Ph	++
Ph	4-F-C_6H_4	4-MeO-C_6H_4	++
Ph	4-MeO-C_6H_4	2-F-C_6H_4	++
2-F-C_6H_4	３－チエニル	3-Me-C_6H_4	++
2-F-C_6H_4	３－チエニル	3-F-C_6H_4	++
Ph	3-MeO-C_6H_4	３－チエニル	++
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	Ph	++
２－チエニル	4-F-C_6H_4	2-F-C_6H_4	+
２－チエニル	4-F-C_6H_4	3-F-C_6H_4	+
Ph	3-MeO-C_6H_4	2-F-C_6H_4	+
Ph	3-MeO-C_6H_4	4-F-C_6H_4	+
2-F-C_6H_4	３－チエニル	３－チエニル	+
Ph	3-MeO-C_6H_4	2-Me-C_6H_4	+
Ph	3-MeO-C_6H_4	4-Me-C_6H_4	+
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	3-Me-C_6H_4	+
２－ピリジル	4-F-C_6H_4	4-Cl-C_6H_4	−
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	4-MeO-C_6H_4	−
Ph	4-MeO-C_6H_4	Ph	−
２－ピリジル	4-F-C_6H_4	4-MeO-C_6H_4	−
２－ピリジル	4-F-C_6H_4	3-MeO-C_6H_4	−

Ph	4-MeO-C_6H_4	2－チエニル	－
2－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-F-C_6H_4	－
Ph	3-MeO-C_6H_4	3-F-C_6H_4	－
Ph	3－チエニル	2－チエニル	－
Ph	3－チエニル	3－チエニル	－
4－ピリジル	3－チエニル	2－チエニル	－
4－ピリジル	3－チエニル	3－チエニル	－
2-F-C_6H_4	3－チエニル	Ph	－
2-F-C_6H_4	3－チエニル	2-F-C_6H_4	－
2-F-C_6H_4	3－チエニル	2－チエニル	－
2-F-C_6H_4	3－チエニル	4-Me-C_6H_4	－
2-F-C_6H_4	3－チエニル	4－ピリジル	－
2-F-C_6H_4	3－チエニル	3－ピリジル	－
2-F-C_6H_4	3－チエニル	2－ピリジル	－
4-F-C_6H_4	3－チエニル	2－チエニル	－
Ph	3-MeO-C_6H_4	Ph	－
Ph	3-MeO-C_6H_4	2－チエニル	－
Ph	3-MeO-C_6H_4	4－ピリジル	－
Ph	3-MeO-C_6H_4	3－ピリジル	－
Ph	3-MeO-C_6H_4	2－ピリジル	－
3－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-Me-C_6H_4	－
3－ピリジル	4-F-C_6H_4	3－ピリジル	－
2－ピリジル	4-F-C_6H_4	Ph	－
3－ピリジル	4-F-C_6H_4	3－ピリジル	－
2－ピリジル	4-F-C_6H_4	2－ピリジル	－
3－ピリジル	4-F-C_6H_4	3-Me-C_6H_4	－
2－チエニル	4-F-C_6H_4	Ph	－
2－チエニル	4-F-C_6H_4	3－ピリジル	－
2－チエニル	4-F-C_6H_4	2－ピリジル	－
2－チエニル	4-F-C_6H_4	2-Me-C_6H_4	－
Ph	4-MeO-C_6H_4	2－ピリジル	－
Ph	4-MeO-C_6H_4	3－チエニル	－

３－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-F-C_6H_4	－
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	4-F-C_6H_4	－
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-Cl-C_6H_4	－
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	２－チエニル	－
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	４－ピリジル	－
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	３－チエニル	－
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	4-MeO-C_6H_4	－
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	２－チエニル	－
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	３－チエニル	－

“＋＋＋”＝５μＭにおけるウィルス力価≦３０％
“＋＋”＝５μＭにおけるウィルス力価≦６０％
“＋”＝１５μＭにおけるウィルス力価≦６０％
“－”＝１５μＭにおけるウィルス力価＞６０％（最高濃度試験）

【００５２】
化合物実施例２
以下の化合物を本明細書中に記載する：
【化７】



【表２】

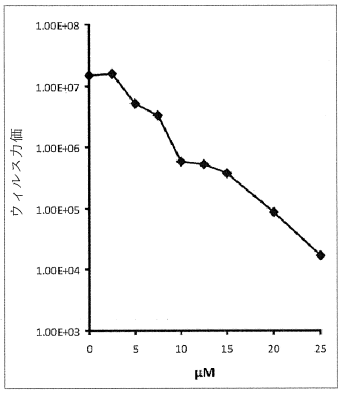
Ar^1	Ar^2	Ar^3	Activity
Ph	4-MeO-C_6H_4	4-F-C_6H_4	+++
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-Cl-C_6H_4	+++
Ph	３－チエニル	2-F-C_6H_4	+++
Ph	4-F-C_6H_4	3-F-C_6H_4	++
Ph	３－チエニル	Ph	++
Ph	３－チエニル	4-F-C_6H_4	++
Ph	３－チエニル	4-Cl-C_6H_4	++
Ph	３－チエニル	3,4-F_2-C_6H_3	++
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-MeO-C_6H_4	++
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	3-Me-C_6H_4	++
Ph	4-F-C_6H_4	4-Me-ピラゾール-4-イル	+
Ph	4-F-C_6H_4	1,5-Me_2-ピラゾール-4-イル	+
Ph	4-F-C_6H_4	1,3-Me_2-ピラゾール-4-イル	+
Ph	３－チエニル	4-MeO-C_6H_4	+

4－ピリジル	3－チエニル	4-F-C_6H_4	+
4－ピリジル	3－チエニル	4-Cl-C_6H_4	+
4－ピリジル	3－チエニル	3-Cl-C_6H_4	+
4－ピリジル	3－チエニル	3,4-F_2-C_6H_3	+
4-F-C_6H_4	3－チエニル	Ph	+
4-F-C_6H_4	3－チエニル	4-F-C_6H_4	+
3－ピリジル	4-F-C_6H_4	3-MeO-C_6H_4	+
4－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-MeO-C_6H_4	+
2－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-Cl-C_6H_4	−
4－ピリジル	4-F-C_6H_4	4-F-C_6H_4	−
2－ピリジル	4-F-C_6H_4	4-F-C_6H_4	−
2－ピリジル	4-F-C_6H_4	3-F-C_6H_4	−
Ph	3－チエニル	2-Cl-C_6H_4	−
Ph	3－チエニル	3－ピリジル	−
Ph	3－チエニル	3-MeO-C_6H_4	−
Ph	3－チエニル	2-MeO-C_6H_4	−
Ph	3－チエニル	3-Cl-C_6H_4	−
Ph	3－チエニル	2-Me-C_6H_4	−
Ph	3－チエニル	3-Me-C_6H_4	−
Ph	3－チエニル	3-F-C_6H_4	−
Ph	3－チエニル	2,3-F_2-C_6H_4	−
4－ピリジル	3－チエニル	Ph	−
4－ピリジル	3－チエニル	2-F-C_6H_4	−
4－ピリジル	3－チエニル	2-Cl-C_6H_4	−
4－ピリジル	3－チエニル	4-MeO-C_6H_4	−
4－ピリジル	3－チエニル	4-Me-C_6H_4	−
4－ピリジル	3－チエニル	4-*i*-Pr-C_6H_4	−
4－ピリジル	3－チエニル	3-MeO-C_6H_4	−
4－ピリジル	3－チエニル	2-MeO-C_6H_4	−
4－ピリジル	3－チエニル	2-Me-C_6H_4	−
4－ピリジル	3－チエニル	2,3-F_2-C_6H_4	−
4-F-C_6H_4	3－チエニル	2-F-C_6H_4	−

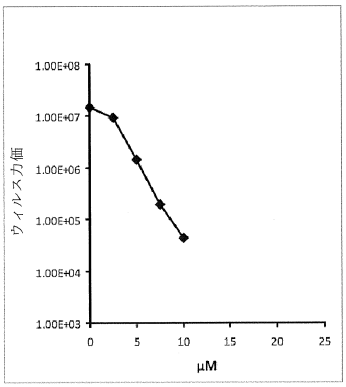
4-F-C_6H_4	３－チエニル	4-Me-C_6H_4	－
4-F-C_6H_4	３－チエニル	4-Pyridyl	－
4-F-C_6H_4	３－チエニル	3-Pyridyl	－
4-F-C_6H_4	３－チエニル	2-Pyridyl	－
4-F-C_6H_4	３－チエニル	2-Me-C_6H_4	－
4-F-C_6H_4	３－チエニル	3-Me-C_6H_4	－
4-F-C_6H_4	３－チエニル	3-F-C_6H_4	－
２－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-Me-C_6H_4	－
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	３－ピリジル	－
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	２－ピリジル	－
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	3-F-C_6H_4	－
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	1,5-Me_2-ピアゾール-4-イル	－
３－ピリジル	4-F-C_6H_4	1,3-Me_2-ピアゾール-4-イル	－
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	Ph	－
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-F-C_6H_4	－
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	４－ピリジル	－
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	3-MeO-C_6H_4	－
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	２－ピリジル	－
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	2-Me-C_6H_4	－
４－ピリジル	4-F-C_6H_4	3-F-C_6H_4	－

“＋＋＋”＝５μＭにおけるウィルス力価≦３０％
“＋＋”＝５μＭにおけるウィルス力価≦６０％
“＋”＝１５μＭにおけるウィルス力価≦６０％
“－”＝１５μＭにおけるウィルス力価＞６０％（最高濃度試験）

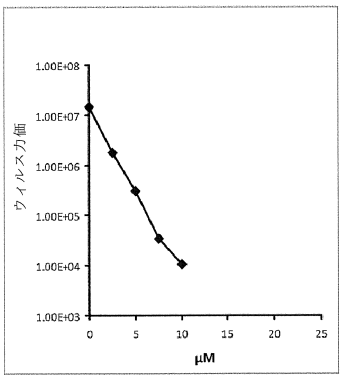
【図１】



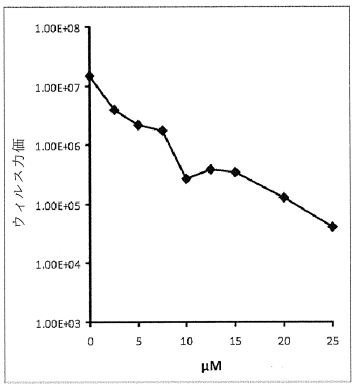
【図２】



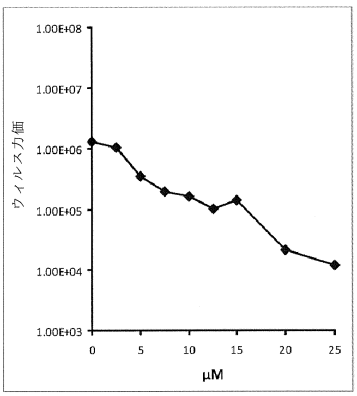
【図３】



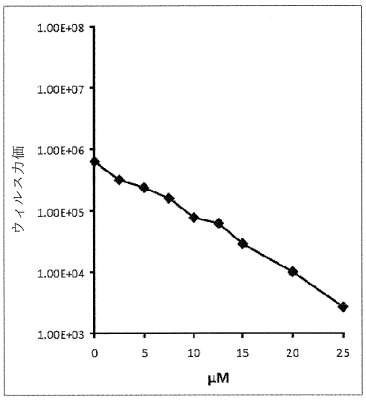
【図４】



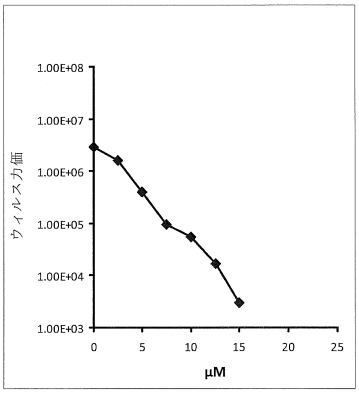
【図５】



【図６】



【図７】



【配列表】
0005907564000001.app

フロントページの続き

(56)参考文献 特表２００９－５２９０４７（ＪＰ，Ａ）
特表２００９－５３４４２０（ＪＰ，Ａ）
米国特許出願公開第２００８／０２０７６７８（ＵＳ，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ３１／００－３３／４４
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）