

WO 2017/164407 A1



SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

免疫チェックポイント阻害作用を有するインドールアルカロイド型化合物 技術分野

[0001] 本発明は、新規インドールアルカロイド型化合物、特に免疫チェックポイント阻害作用を有するインドールアルカロイド型化合物に関する。また、本発明は、がんを含む、免疫チェックポイントに起因する疾患の予防および／または治療に有用であり得る。

背景技術

[0002] 生体は、自身の体で生じたがん細胞から体を守るための免疫機構を備えているが、がんが進行するとその免疫機能は低下し、がん細胞に対して免疫が働かなくなることが多い。近年、がん細胞は、生体の免疫機構を回避する機能を有していることが明らかになってきた。その仕組みの一つとして、がん細胞自身がIL-10、TGF- β などのサイトカインを産生し、その産生されたサイトカインによりナイーブT細胞が誘導型制御性T細胞（iTreg）へ誘導されることが挙げられる。がんに対してはキラーT細胞を中心とする細胞性免疫が重要であるが、免疫抑制に作用するiTregが増大すると、細胞膜上に発現されるCTLA-4（cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4）が作用し、キラーT細胞が減少して、がん細胞を殺すことができなくなる。CTLA-4分子とは本来、制御性T細胞の細胞表面に発現するイムノグロブリンスーパーファミリーメンバーの一つであり、負のフィードバック制御因子として、樹状細胞やマクロファージからT細胞が抗原提示を受ける際に抑制的に作用し、これを制御する分子である（非特許文献1）。

[0003] がんに対しては外科的治療、化学療法、放射線療法が主な治療法として行われているが、十分な効果が得られる治療法はいまだ確立されておらず、新たな治療法の確立が求められている。CTLA-4のように免疫に抑制的に

作用する分子のことを「免疫チェックポイント」といい、CTLA-4は、免疫チェックポイントの一つとしてがん治療法の新たな標的となっている（非特許文献2および3）。さらに、種々の免疫担当細胞から産生されるIL-10もまた、免疫系に対して抑制的に作用するものであり、また、がん細胞自身はIL-10を産生することが知られている（非特許文献4および5）。つまり、制御性T細胞（Treg）のCTLA-4発現および／または免疫抑制サイトカインIL-10産生を抑制することによってがんの治療が期待されるため、そのような作用を有する化合物が、がんの新たな治療として注目されている。

[0004] これまでに、免疫チェックポイント阻害剤として、CTLA-4およびPD-1（もしくはPD-L1）を標的とする、抗CTLA-4抗体（イピリムマブ）、抗PD-1抗体（ニボルマブ、ペンブロリズマブ）および抗PD-L1抗体（MPDL3280A、MED14736）が既に創薬されているが、これらの薬剤は抗体医薬品であり、低分子化合物の免疫チェックポイント阻害剤は知られていない。

先行技術文献

非特許文献

- [0005] 非特許文献1：Grosso JF & Kunkel NJ, Cancer Immunity 13:p.5 (2013)
非特許文献2：Pardoll D.M Nature Reviews Cancer 12: 252-264 (2012)
非特許文献3：Adams J et al., Nature Review 14: 603-621 (2015)
非特許文献4：Sky Ng TH et al., Frontiers in Immunology 4: 1-13 (2013)
非特許文献5：Itakura E et al., Modern Pathol 24: 801-809 (2011)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0006] 本発明は、CTLA-4発現および／またはIL-10産生の抑制活性を有する低分子化合物を検討すると共に、がんを含む、免疫チェックポイントに起因する疾患の治療および／または予防に有用な治療剤およびワクチンの

補助剤（アジュバント）を提供することを目的とする。

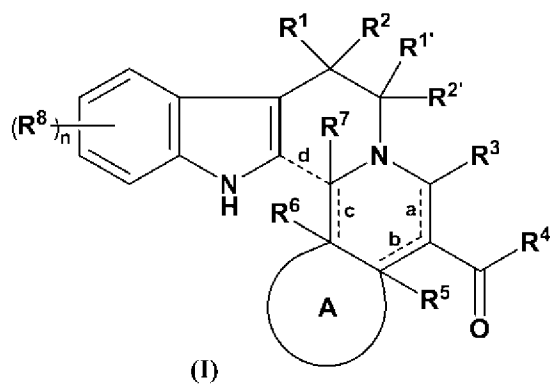
課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意検討した結果、サンシュユの偽果、クチナシの果実、センブリの全草などの植物から抽出・精製された下記式（I）で表される化合物群が、CTL A-4 発現抑制作用および IL-10 産生抑制作用を有することを見出し、本発明を完成させた。本発明によれば、下記式（I）で表されるインドールアルカロイド型化合物またはその医薬的に許容される塩（以下、「本発明の化合物」と称することもある）、およびその免疫チェックポイント阻害作用による医薬用途発明が提供される。

[0008] すなわち、本発明は、以下の態様の発明を提供するものである。

[1] 式（I）：

[化1]



[式中：

a ~ c：

[化2]

==

は、単結合または二重結合を表し、d：

[化3]

は、不存在または単結合を表すが、ただし、aが二重結合を表す場合、bは単結合を表し、bが二重結合を表す場合、aは単結合を表し、R⁵は不存在で

あり、cが二重結合を表す場合、R⁶は不存在であり、ならびに、cが二重結合を表し、dが単結合を表す場合、R⁶およびR⁷は不存在であり；

環Aは、C₃₋₆シクロアルキル環、C₃₋₆シクロアルケニル環または5員もしくは6員の単環式ヘテロ環であり、ここで、該シクロアルキル環、シクロアルケン環および単環式ヘテロ環は、置換可能な位置で、ハロゲン、ヒドロキシ、オキソ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ-C₁₋₆アルキルアミノ、C₁₋₄アシル、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆ハロアルキル、C₁₋₆ヒドロキシアルキル、C₁₋₆アルコキシ、およびC₁₋₆ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよく；

R¹、R^{1'}、R²、R^{2'}およびR³は、各々独立して、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ-C₁₋₆アルキルアミノ、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆ハロアルキル、C₁₋₆ヒドロキシアルキル、C₁₋₆アルコキシまたはC₁₋₆ハロアルコキシであり；

R⁴は、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、モノーもしくはジ-C₁₋₆アルキルアミノ、C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、C₁₋₆アルコキシ、C₃₋₆シクロアルキル、3員ないし6員のヘテロシクロアルキル、C₆₋₁₀アリールまたは6員ないし10員のヘテロアリールであり、ここで、該アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールおよびヘテロアリールは、各々独立して、置換可能な位置で、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ-C₁₋₆アルキルアミノ、C₁₋₄アシル、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆ハロアルキル、C₁₋₆ヒドロキシアルキル、C₁₋₆アルコキシ、およびC₁₋₆ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよく；

R⁵、R⁶およびR⁷は、各々独立して、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、C₁₋₃アルキル、C₁₋₃ハロアルキル、C₁₋₃ヒドロキシアルキル、C₁₋₃アルコキシまたはC₁₋₃ハロアルコキシであり；

R^8 は、各々独立して、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキル-アミノ、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{1-6} アルコキシ、ベンジルオキシ、 C_{3-6} シクロアルキル、3員ないし6員のヘテロシクロアルキル、 C_{6-10} アリールまたは6員ないし10員のヘテロアリールであり、ここで、該アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリールは、置換可能な位置で、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキル-アミノ、 C_{1-4} アシル、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシ、および C_{1-6} ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよく；および

n は、1～4である]

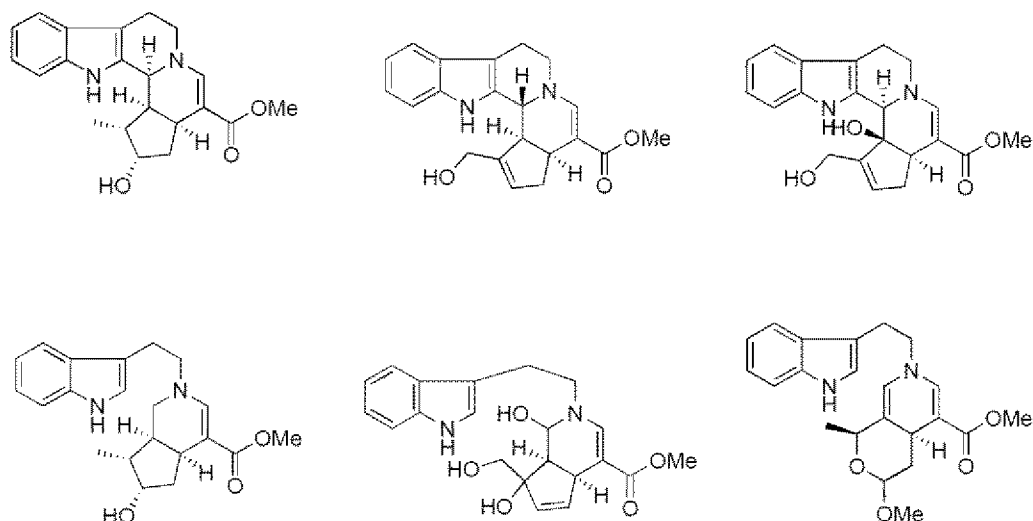
で示される化合物またはその医薬的に許容される塩。

[0009] [2] [1] の化合物またはその医薬的に許容される塩、ただし、点線 a が二重結合を表し、 R^8 が水素である化合物は除く。

[0010] [3] [1] の化合物またはその医薬的に許容される塩、ただし、点線 a が二重結合を表す化合物は除く。

[0011] [4] [1] の化合物またはその医薬的に許容される塩、ただし、下記の化合物は除く。

[化4]



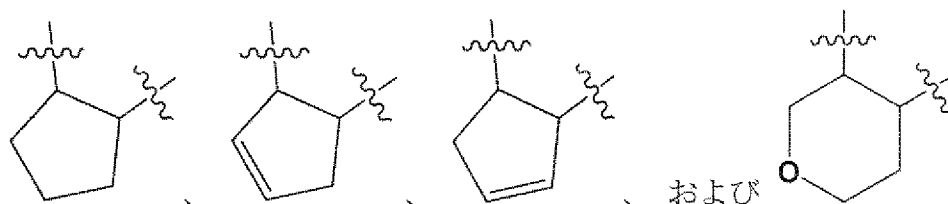
[0012] [5] R^4 が、水素、ヒドロキシ、アミノ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキル-アミノ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} ハロアルコキシである、[1]～[4]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩。

[0013] [6] R^8 が、各々独立して、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキル-アミノ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ベンジルオキシまたは C_{1-6} ハロアルコキシである、[1]～[5]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩。

[0014] [7] 環Aが、 C_{5-6} シクロアルキル環、 C_{5-6} シクロアルケニル環または5員もしくは6員の単環式飽和ヘテロ環であり、ここで、該シクロアルキル環、シクロアルケン環および単環式飽和ヘテロ環は、置換可能な位置で、ヒドロキシ、オキソ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシ、および C_{1-6} ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよい、[1]～[6]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩。

[0015] [8] 環Aが、以下：

[化5]



からなる群から選択される基であり、ここで、各基は、置換可能な位置で、ヒドロキシ、オキソ、 C_{1-3} アルキル、 C_{1-3} ヒドロキシアルキル、および C_{1-3} アルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよい、[1]～[7]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩。

[0016] [9] R^5 、 R^6 および R^7 が、各々独立して、水素またはヒドロキシである

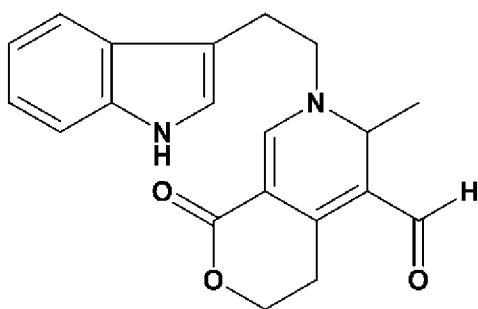
、[1]～[8]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩。

[0017] [10] R^1 、 $R^{1'}$ 、 R^2 、 $R^{2'}$ および R^8 が、水素である、[1]～[9]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩。

[0018] [11] R^3 が、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} ハロアルコキシである、[1]～[10]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩。

[0019] [12] 化合物が、

[化6]



である、[1]～[11]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩。

[0020] [13] [1]～[12]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩、および医薬的に許容される担体を含む、医薬組成物。

[0021] [14] [1]～[12]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩を有効成分とする、がんの治療剤。

[0022] [15] がんが、悪性黒色腫、神経膠芽腫、肺癌、胃癌、大腸癌、肝臓癌、膵臓癌、腎臓癌、副腎癌、胆道癌、食道癌、咽頭癌、喉頭癌、口腔癌、膀胱癌、舌癌、甲状腺癌、皮膚癌、乳癌、前立腺癌、精巣癌、子宮癌、子宮頸癌、卵巣癌、骨肉腫、軟骨肉腫、横紋筋肉腫、平滑筋肉腫、成人T細胞白血病を含む白血病、悪性リンパ腫または多発性骨髄腫である、[14]の治療剤。

[0023] [16] [1]～[12]のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩を有効成分として含む、免疫チェックポイント阻害剤。

[0024] [17] 免疫チェックポイントが、CTLA-4である、[16]の阻害

剤。

[0025] [18] [1] ~ [12] のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩を有効成分として含む、ワクチンの補助剤（アジュバント）。

[0026] [19] 治療が必要な患者に、治療上の有効量の [1] ~ [12] のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩を投与することを特徴とする、がんの治療方法。

[0027] [20] がんの治療に使用する、[1] ~ [12] のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩。

[0028] [21] がんの治療剤を製造するための、[1] ~ [12] のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩の使用。

[0029] [22] 治療が必要な患者に、治療上の有効量の [1] ~ [12] のいずれかの化合物またはその医薬的に許容される塩を投与することを特徴とする、免疫チェックポイントの阻害方法。

発明の効果

[0030] 本発明の化合物は、CTLA-4 発現抑制作用および IL-10 産生抑制作用を有しており、免疫チェックポイントに起因する疾患、特に、がん（例えば、悪性黒色腫、神経膠芽腫、肺癌、胃癌、大腸癌、肝臓癌、膵臓癌、腎臓癌、副腎癌、胆道癌、食道癌、咽頭癌、喉頭癌、口腔癌、膀胱癌、舌癌、甲状腺癌、皮膚癌、乳癌、前立腺癌、精巣癌、子宮癌、子宮頸癌、卵巣癌、骨肉腫、軟骨肉腫、横紋筋肉腫、平滑筋肉腫、成人 T 細胞白血病を含む白血病、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫）の新規な治療剤および／または予防剤として有用である。また、免疫チェックポイントを抑制することから、ワクチンの補助剤（アジュバント）としても有用である。

図面の簡単な説明

[0031] [図1]対照における、抗CTLA4（CD152）-PE抗体またはアイソタイプコントロールの IgG1-PE抗体染色したMT2細胞のFCM解析結果（ヒストグラム）を示す。

[図2]化合物1（濃度：20 μ mol/L）における、抗CTLA4（CD152）

ー P E 抗体またはアイソタイプコントロールの I g G 1 - P E 抗体染色した M T 2 細胞の F C M 解析結果（ヒストグラム）を示す。

発明を実施するための形態

[0032] 本明細書における用語について、以下に説明する。

用語「C₁₋₆アルキル」とは、1～6個の炭素原子を有する、直鎖状または分枝鎖状の飽和炭化水素を意味し、これらは、所望により本発明に含まれる1以上の基で置換されていてもよい。「C₁₋₆アルキル」は、好ましくは炭素数が1～5、1～4、または1～3であってもよい。かかる具体例として、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル等が挙げられる。

[0033] 用語「C₂₋₆アルケニル」とは、2～6個の炭素原子を有し、1以上の炭素-炭素二重結合を含有する、直鎖または分枝鎖状の脂肪族炭化水素を意味し、これらは、所望により本発明に含まれる1以上の基で置換されていてもよい。「C₂₋₆アルケニル」は、好ましくは炭素数が2～5、2～4、または2～3であってもよい。かかる具体例として、エテニル、プロペニル、ブテニル、ペンテニル、ヘキセニル等が挙げられる。

[0034] 用語「C₂₋₆アルキニル」とは、2～6個の炭素原子を有し、1以上の炭素-炭素三重結合を有する、直鎖状または分枝鎖状の脂肪族炭化水素を意味し、これらは、所望により本発明に含まれる1以上の基で置換されていてもよい。「C₂₋₆アルキニル」は、好ましくは炭素数が2～5、2～4、または2～3であってもよい。かかる具体例として、エチニル、プロピニル、ブチニル、ペンチニル、ヘキシニル等が挙げられる。

[0035] 用語「C₃₋₆シクロアルキル」または「C₃₋₆シクロアルキル環」とは、3～6個の炭素原子を有する、単環式飽和炭化水素を意味し、これらは、所望により本発明に含まれる1以上の基で置換されていてもよい。かかる具体例として、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル等が挙げられる。

[0036] 用語「 C_{3-6} シクロアルケニル環」とは、3～6個の炭素原子を有し、1以上の炭素-炭素二重結合を含有する、単環式炭化水素を意味し、これらは、所望により本発明に含まれる1以上の基で置換されていてもよい。かかる具体例として、シクロプロペン、シクロブテン、シクロペンテン、シクロヘキセン等が挙げられる。

[0037] 用語「3員ないし6員のヘテロシクロアルキル」とは、窒素、酸素および硫黄からなる群から独立して選択される少なくとも1個のヘテロ原子を含む、3員ないし6員の単環式飽和複素環を意味し、これらは、所望により本発明に含まれる1以上の基で置換されていてもよい。窒素および硫黄原子は、所望により酸化されてもよく、窒素原子は、所望により四級化されてもよい。かかる具体例として、アゼチジニル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、モルホリニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル等が挙げられる。

[0038] 用語「5員もしくは6員の単環式ヘテロ環」とは、窒素、酸素および硫黄からなる群から独立して選択される少なくとも1個のヘテロ原子を含む、5員または6員の単環式複素環を意味し、これらは、所望により本発明に含まれる1以上の基で置換されていてもよい。該環は、飽和、部分的飽和または不飽和であってもよく、また、窒素および硫黄原子は、所望により酸化されてもよく、窒素原子は、所望により四級化されてもよい。かかる具体例として、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、モルホリニル、ピリジニル、ピロリル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、イミダゾリル、チアゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、チエニル、フリル等が挙げられる。

[0039] 用語「 C_{6-10} アリール」とは、芳香族環に結合する1個の水素原子が除外された、6～10個の炭素原子を有する単環または二環の芳香族炭化水素を意味し、これらは、所望により本発明に含まれる1以上の基で置換されていてもよい。かかる具体例として、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチル、アントラセニル等が挙げられる。

[0040] 用語「6員ないし10員のヘテロアリール」とは、窒素、酸素および硫黄

からなる群から独立して選択される少なくとも 1 個のヘテロ原子を含む、6 員ないし 10 員の単環式または二環式芳香族複素環を意味し、これらは、所望により本発明に含まれる 1 以上の基で置換されていてもよい。かかる具体例として、ピリジル、ピリダジニル、イソチアゾリル、ピロリル、フリル、チエニル、チアゾリル、イミダゾリル、ピリミジニル、チアジアゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、ピラジニル、トリアジニル、トリアゾリル、イミダゾリジニル、オキサジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、インドリル、インダゾリル、クロメニル、キノリル、イソキノリル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンズイソオキサゾリル、ベンズイソチアゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンズイミダゾリル等が挙げられる。

[0041] 用語「ハロゲン」とは、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を意味する。中でも好ましくは、フッ素、塩素または臭素である。

[0042] 用語「モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキルアミノ」とは、1 個または 2 個の水素原子が 1 ～ 6 個の炭素原子を有する上記のアルキル基によって置き換えられている、アミノ基を意味する。アルキル基によって 2 個置換される場合は、同一または異なるアルキル基で置換されていてもよい。かかる具体例として、メチルアミノ、エチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ等が挙げられる。

[0043] 用語「 C_{1-4} アシル」とは、水素原子、または 1 ～ 3 個の炭素原子を有する上記のアルキル基が結合している、カルボニル基 ($-C(=O)-$) を意味する。かかる具体例として、ホルミル、アセチル、プロピオニル等が挙げられる。

[0044] 用語「 C_{1-6} ハロアルキル」とは、1 個以上の水素原子がハロゲン原子（複数可）によって置き換えられている、1 ～ 6 個の炭素原子を有する上記のアルキル基を意味する。置き換えられている水素原子の数は、1 個から、最大で親アルキル基に他に存在しうる水素原子の総数の範囲まで及びうる。ハロゲン原子を複数有する場合は、同一または異なるハロゲン原子で置換されて

いてもよい。かかる具体例として、クロロメチル、トリフルオロメチル、2, 2, 2-トリフルオロエチル等が挙げられる。

[0045] 用語「C₁₋₆ヒドロキシアルキル」とは、1個以上の水素原子がヒドロキシ基（複数可）によって置き換えられている、1～6個の炭素原子を有する上記のアルキル基を意味する。置き換えられている水素原子の数は、1個から、最大で親アルキル基に他に存在しうる水素原子の総数の範囲まで及びうる。かかる具体例として、ヒドロキシメチル、2-ヒドロキシエチル、2-ヒドロキシプロピル、3-ヒドロキシプロピル、4-ヒドロキシブチル等が挙げられる。

[0046] 用語「C₁₋₆アルコキシ」とは、1～6個の炭素原子を有する上記のアルキル基が酸素原子を介して結合している基を意味する。かかる具体例として、限定されるものではないが、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブチルオキシ、ペンチルオキシ、イソペンチルオキシ、ネオペンチルオキシ、ヘキシルオキシ等が挙げられる。

[0047] 用語「C₁₋₆ハロアルコキシ」とは、1個以上の水素原子がハロゲン原子（複数可）によって置き換えられている、1～6個の炭素原子を有する上記のアルコキシ基を意味する。置き換えられている水素原子の数は、1個から、最大で親アルキル基に他に存在しうる水素原子の総数の範囲まで及びうる。ハロゲン原子を複数有する場合は、同一または異なるハロゲン原子で置換されていてもよい。かかる具体例として、クロロメトキシ、トリフルオロメトキシ、2, 2, 2-トリフルオロエトキシ等が挙げられる。

[0048] 用語「C₁₋₆ヒドロキシアルコキシ」とは、1個以上の水素原子がヒドロキシ（複数可）によって置き換えられている、1～6個の炭素原子を有する上記のアルコキシ基を意味する。置き換えられている水素原子の数は、1個から、最大で親アルキル基に他に存在しうる水素原子の総数の範囲まで及びうる。かかる具体例として、ヒドロキシメトキシ、2-ヒドロキシエトキシ、2-ヒドロキシプロポキシ、3-ヒドロキシプロポキシ、4-ヒドロキシブトキシ等が挙げられる。

[0049] 用語「免疫チェックポイント阻害剤」とは、1つ以上の免疫チェックポイント分子（例えば、CTLA-4およびPD-1）の機能を阻害し、T細胞の抑制を解除して活性化し、抗腫瘍効果を発揮する薬剤を意味する。免疫チェックポイントは、キラーT細胞の活性化を阻害し、がん細胞の免疫に対して抑制的に作用するタンパク質である。

[0050] 「免疫チェックポイントに起因する疾患」とは、がん（例えば、悪性黒色腫、神経膠芽腫、肺癌、胃癌、大腸癌、肝臓癌、膵臓癌、腎臓癌、副腎癌、胆道癌、食道癌、咽頭癌、喉頭癌、口腔癌、膀胱癌、舌癌、甲状腺癌、皮膚癌、乳癌、前立腺癌、精巣癌、子宮癌、子宮頸癌、卵巣癌、骨肉腫、軟骨肉腫、横紋筋肉腫、平滑筋肉腫、成人T細胞白血病を含む白血病、悪性リンパ腫または多発性骨髄腫）が挙げられる。本発明における疾患としては、特に悪性黒色腫が好ましい。

[0051] 「医薬的に許容される塩」とは、式（1）で表される本発明の化合物と医薬的に許容される酸または塩基により形成される塩を意味する。式（1）で表される本発明の化合物がアミノ基等の塩基性官能基を有する場合、各種の酸と塩を形成しうる。酸付加塩の具体例としては、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、過塩素酸塩、リン酸塩等の無機酸塩、シュウ酸塩、マロン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、安息香酸塩、トリフルオロ酢酸塩、酢酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩等の有機酸塩、またはグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩等のアミノ酸塩が挙げられる。

本発明の化合物が酸性官能基を有する場合、各種の塩基と塩を形成しうる。塩基付加塩の具体例としては、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩、またはアンモニウム塩等が挙げられる。

これらの塩は、本発明の化合物を酸または塩基と混合した後、再結晶等の常法により得ることができる。

本発明の化合物は、水和物および／または溶媒和物の形で存在することもある。これらの水和物および／または溶媒和物もまた本発明の化合物に包含される。溶媒和物としてはエタノール溶媒和物等が挙げられる。

[0052] 「治療」とは、哺乳動物、特にヒトにおける疾患および／または障害の治療および／または改善を意味する。例えば、（a）疾患および／または障害を予防すること；および（b）疾患および／または疾患を緩和および／または軽減すること等も含まれる。

[0053] 「患者」とは、ヒトおよび動物、例えば、イヌ、ネコ、ウマ等を意味する。その中でも、ヒトが好ましい。

[0054] 「治療上の有効量」とは、未治療対象と比べて、疾患、障害および／または副作用の改善、治癒、予防および／または軽減をもたらす量、あるいは疾患および／または障害の進行速度の遅延をもたらす量を意味する。該用語は、その範囲内に、正常な生理的機能を促進するのに有効な量も含む。療法における使用では、本発明の化合物の治療上の有効量を、化合物原体として投与することが可能である。特に限定するものではないが、通常、本発明の化合物として、1日当たり0.001～1000mg/kg（体重）の範囲が有効である。

かかる有効量として、本発明の化合物単独の量、本発明の化合物の組み合わせの量および／またはがん治療に有用な他の活性成分と組み合わせた本発明の化合物の量が挙げられる。

[0055] 式（I）で表される本発明の化合物の中のa～d、R¹、R^{1'}、R²、R^{2'}、R³～R⁸および環Aに関して、好ましいものは以下のとおりであるが、本発明の技術的範囲は下記に挙げられた化合物の範囲に限定されるものではない。

[0056] a～c：

[化7]

====

は、単結合または二重結合を表し、d：

[化8]

— — — —

は、不存在または単結合を表す。ただし、aが二重結合を表す場合、bは単結合を表し、bが二重結合を表す場合、aは単結合を表し、R⁵は不存在であり、cが二重結合を表す場合、R⁶は不存在であり、ならびに、cが二重結合を表し、dが単結合を表す場合、R⁶およびR⁷は不存在である。中でも好ましくは、aが単結合、bが二重結合、cが単結合または二重結合、そして、dが不存在または単結合であり、より好ましくは、aが単結合、bが二重結合、cが二重結合、そして、dが不存在である。また、dが不存在である場合、インドール環の2位には水素が存在する。

[0057] R¹、R^{1'}、R²およびR^{2'}としては、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ-C₁₋₆アルキル-アミノ、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆ハロアルキル、C₁₋₆ヒドロキシアルキル、C₁₋₆アルコキシまたはC₁₋₆ハロアルコキシが挙げられる。中でも好ましくは、水素、フッ素、塩素、ヒドロキシ、アミノ、メチルアミノ、ジメチルアミノ、メチル、トリフルオロメチル、メトキシまたはトリフルオロメトキシが挙げられ、より好ましくは水素が挙げられる。

[0058] R³としては、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ-C₁₋₆アルキル-アミノ、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆ハロアルキル、C₁₋₆ヒドロキシアルキル、C₁₋₆アルコキシまたはC₁₋₆ハロアルコキシが挙げられる。中でも好ましくは、水素、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆ハロアルキル、C₁₋₆ヒドロキシアルキル、C₁₋₆アルコキシまたはC₁₋₆ハロアルコキシが挙げられ、より好ましくは水素またはC₁₋₆アルキルが挙げられ、さらに好ましくは水素またはメチルが挙げられる。

[0059] R⁴としては、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、モノーもしくはジ-C₁₋₆アルキル-アミノ、C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、C₁₋₆アルコキシ、C₃₋₆シクロアルキル、3員ないし6員のヘテロシクロアルキル、C₆₋₁₀アリールまたは6員ないし10員のヘテロアリールが

挙げられ、該アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールおよびヘテロアリールは、各々独立して、置換可能な位置で、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキルアミノ、 C_{1-4} アシル、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシ、および C_{1-6} ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよい。中でも好ましくは、水素、ヒドロキシ、アミノ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキルアミノ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} ハロアルコキシが挙げられ、より好ましくは水素、メチル、トリフルオロメチル、メトキシ、トリフルオロメトキシが挙げられ、さらに好ましくは水素またはメトキシが挙げられる。

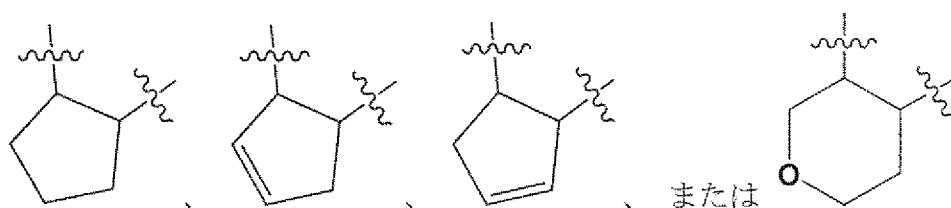
[0060] R^5 、 R^6 および R^7 としては、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-3} アルキル、 C_{1-3} ハロアルキル、 C_{1-3} ヒドロキシアルキル、 C_{1-3} アルコキシまたは C_{1-3} ハロアルコキシが挙げられる。中でも好ましくは、水素、ヒドロキシまたは C_{1-3} アルキルが挙げられ、より好ましくは水素、ヒドロキシまたはメチルが挙げられる。また、 R^5 は、 b が二重結合を表す場合、不存在となり、 R^6 は、 c が二重結合である場合、不存在となり、さらに、 R^7 は、 c が二重結合を表し、 d が単結合を表す場合、不存在となり、 c が単結合を表し、 d が不存在を表す場合、メチルとなり、そして、 c および d が単結合を表す場合、水素となる。

[0061] R^8 としては、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキルアミノ、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{1-6} アルコキシ、ベンジルオキシ、 C_{3-6} シクロアルキル、3員ないし6員のヘテロシクロアルキル、 C_{6-10} アリールまたは6員ないし10員のヘテロアリールが挙げられ、該アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリールは、置換可能な位置で、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニト

口、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキル-アミノ、 C_{1-4} アシル、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシ、および C_{1-6} ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよい。中でも好ましくは、水素、フッ素、塩素、臭素、ヒドロキシ、アミノ、メチルアミノ、ジメチルアミノ、メチル、トリフルオロメチル、メトキシ、トリフルオロメトキシまたはベンジルオキシが挙げられ、より好ましくは水素、フッ素、塩素、臭素、ヒドロキシ、メチル、メトキシまたはベンジルオキシが挙げられる。また、 R^8 が水素である場合、 n は4を表す。

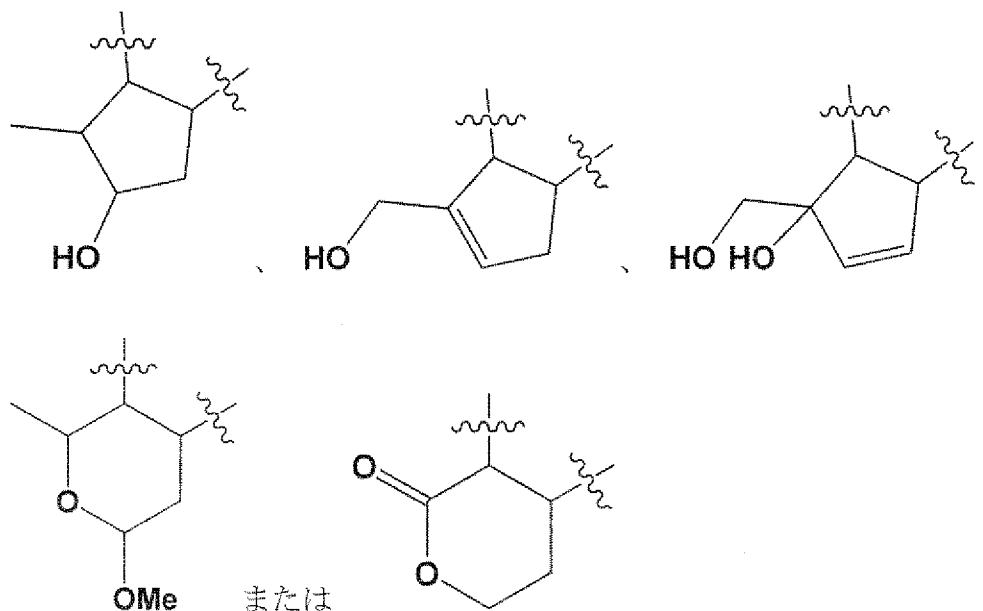
[0062] 環Aとしては、 C_{3-6} シクロアルキル環、 C_{3-6} シクロアルケニル環または5員もしくは6員の単環式ヘテロ環が挙げられ、該シクロアルキル環、シクロアルケン環および単環式ヘテロ環は、置換可能な位置で、ハロゲン、ヒドロキシ、オキソ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキル-アミノ、 C_{1-4} アシル、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシ、および C_{1-6} ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよい、中でも好ましくは、 C_{5-6} シクロアルキル環、 C_{5-6} シクロアルケニル環または5員もしくは6員の単環式飽和ヘテロ環が挙げられ、該シクロアルキル環、シクロアルケン環および単環式飽和ヘテロ環は、置換可能な位置で、ヒドロキシ、オキソ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシ、および C_{1-6} ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよく、より好ましくは、以下：

[化9]



が挙げられ、各基は、置換可能な位置で、ヒドロキシ、オキソ、 C_{1-3} アルキル、 C_{1-3} ヒドロキシアルキル、および C_{1-3} アルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよく、さらにより好ましくは、以下：

[化10]



が挙げられる。

[0063] 本発明の化合物は、1個または場合によりそれ以上の不斉炭素原子を有する場合があり、また幾何異性や軸性キラリティを生じることがあるので、数種の光学または立体異性体として存在することがある。本発明においては、これらの立体異性体、それらの混合物およびラセミ体は本発明に包含される。

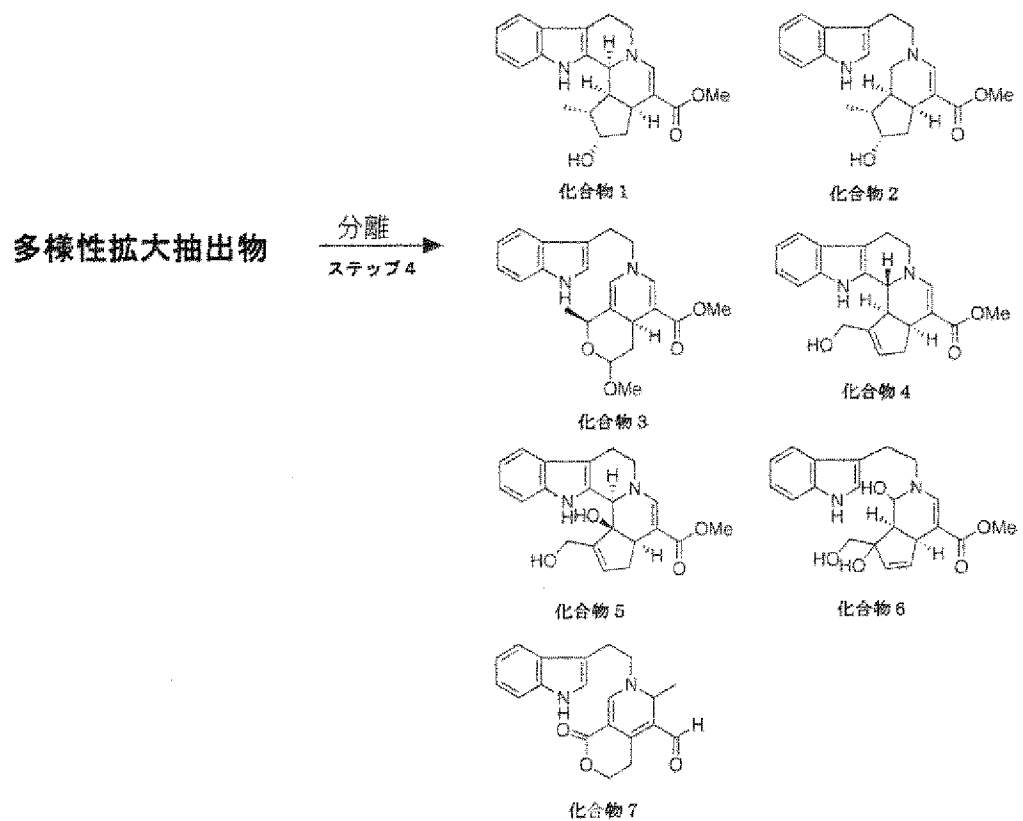
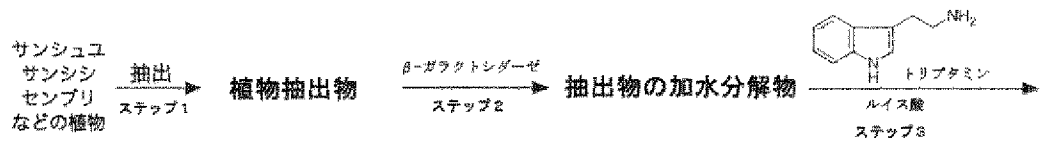
また、本発明の化合物のいずれか1つまたは2つ以上の ^1H を ^2H (D)に変換した重水素変換体も本発明に包含される。

結晶として得られる本発明の化合物およびその医薬上許容される塩には、結晶多形が存在する場合があり、その結晶多形も本発明に包含される。

[0064] 以下、本発明の化合物の製造方法について、例を挙げて説明するが、本発明はもとよりこれに限定されるものではない。式(1)で表される本発明の

代表的な化合物は、以下：

[化11]



で示されるように、化学変換を行った植物抽出物（多様性拡大抽出物：diversity-enhanced extracts）から調製することができる（Org. Lett. 2014, 16, 1916-1919）。また、ステップ3のトリプタミンを6-メトキシトリプタミン等の置換トリプタミンに置き換えることによって、化合物8～17を調製することができる。

[0065] ステップ1は、サンシュユの偽果、クチナシの果実、センブリの全草などの植物をメタノールで抽出し、その抽出物を、活性炭を担体とするカラムクロマトグラフィーに付し、イリドイド型化合物等の配糖体を多く含む粗画分

を得る工程である。

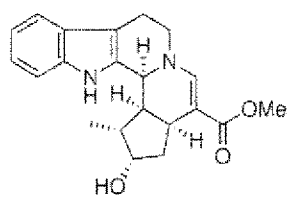
[0066] ステップ2は、ステップ1で得られた粗画分に β -グルコシダーゼを作用させることで、粗画分に含まれる化合物の加水分解を行う工程である。

[0067] ステップ3は、トリフルオロメタンスルホン酸金属塩などのルイス酸存在下でトリプタミンを作用させることでインドールアルカロイド型化合物等の化合物を含む多様性拡大抽出物を得る工程である。化合物8～17においては、トリプタミンの代わりに6-メトキシトリプタミン等の置換トリプタミンが用いられる。

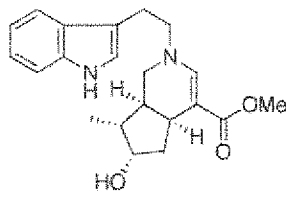
[0068] ステップ4は、得られた多様性拡大抽出物を各種カラムクロマトグラフィーにより分画・精製して、本発明の化合物を得る工程である。

[0069] 本発明の治療剤または免疫チェックポイント剤の有効成分として好ましい式(1)の化合物は、

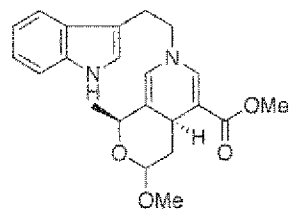
[化12]



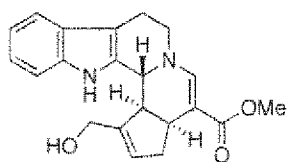
化合物 1



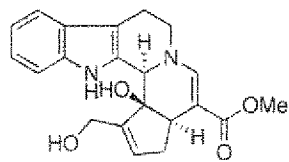
化合物 2



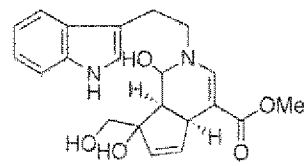
化合物 3



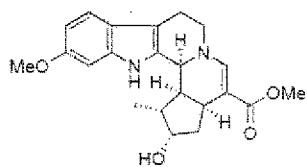
化合物 4



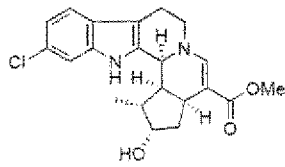
化合物 5



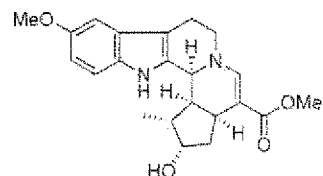
化合物 6



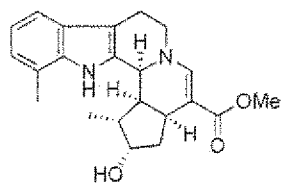
化合物 8



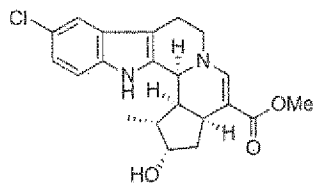
化合物 9



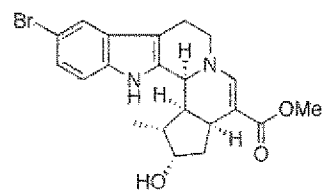
化合物 10



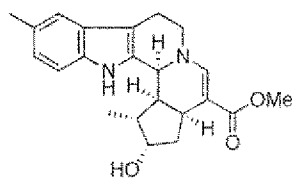
化合物 11



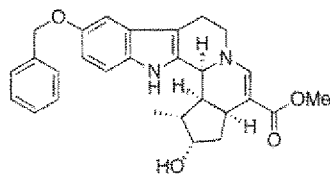
化合物 12



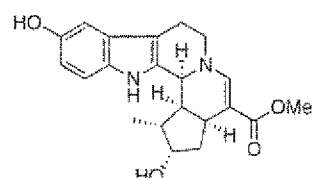
化合物 13



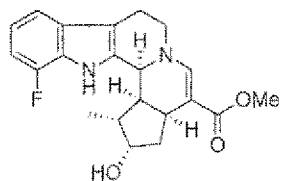
化合物 14



化合物 15



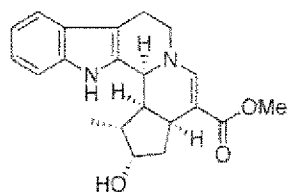
化合物 16



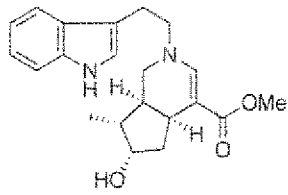
化合物 17

であり、より好ましくは、

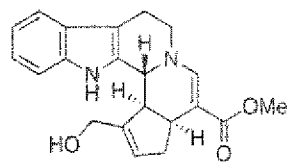
[化13]



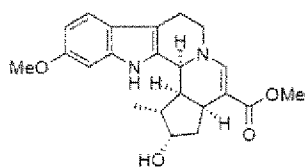
化合物 1



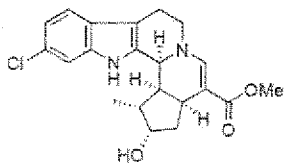
化合物 2



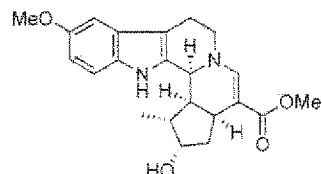
化合物 4



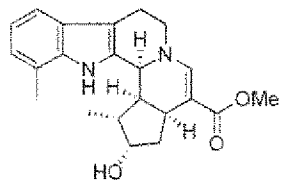
化合物 8



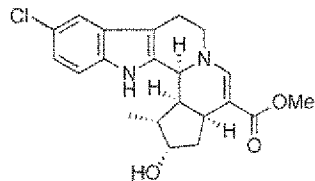
化合物 9



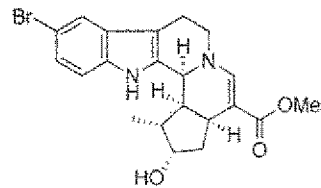
化合物 10



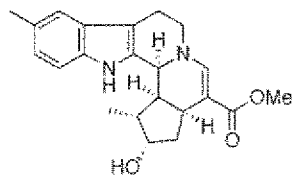
化合物 11



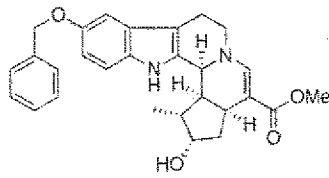
化合物 12



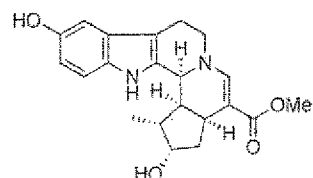
化合物 13



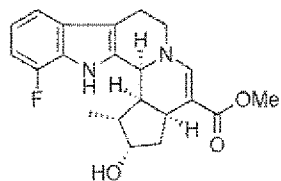
化合物 14



化合物 15



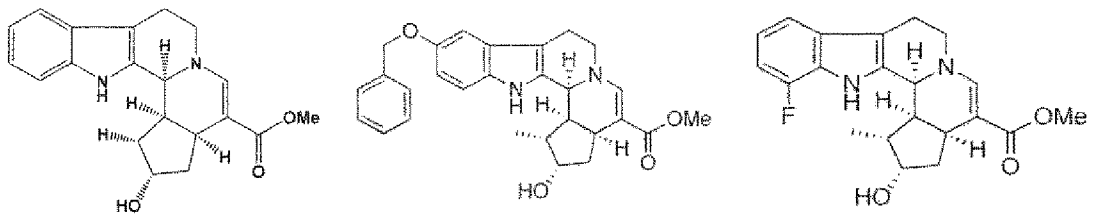
化合物 16



化合物 17

であり、さらにより好ましくは、

[化14]



である。

[0070] 本発明の治療剤または免疫チェックポイント阻害剤は、本発明の化合物を有効成分として含むものであればよく、免疫チェックポイントを阻害する作用を妨げない限り、他の成分をさらに含むものであってもよい。したがって、本発明の治療剤または免疫チェックポイント阻害剤中の本発明の化合物の割合は特に限定されるものではない。例えば、本発明の治療剤は、本発明の化合物を0.1重量%以上、または0.5重量%以上、または1.0重量%以上含むものであってもよく、0.1～70重量%が好ましい。あるいは、本発明の治療剤または免疫チェックポイント阻害剤は、本発明の化合物のみからなるものであってもよい。

[0071] 本発明の化合物は、経口または非経口（例えば、静脈、局所、経鼻、経肺、直腸等）投与することができる。本発明の剤形は、対象の身体状況、健康状態などに応じて適宜選択することができ、調製することができる。例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、液剤、シロップ剤などの経口投与剤、または注射剤、透析用剤、吸入剤、坐剤、点眼剤、眼軟膏剤、点耳剤、点鼻剤、外用剤、スプレー剤、軟膏剤、クリーム剤、ゲル剤、貼付剤などの非経口投与剤の剤形に、常法により調製されうる。

[0072] 本発明の治療剤または免疫チェックポイント剤は、必要に応じ、賦形剤（例えば、乳糖、白糖、D-マンニトールおよび微結晶セルロース）、崩壊剤（例えば、カルメロース、カルメロースナトリウムおよび低置換度ヒドロキシプロピルセルロース）、結合剤（例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポビドンおよび結晶セルロース）、滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウムお

よびタルク)、溶剤(例えば、水、エタノールおよびプロピレングリコール)、緩衝剤(例えば、リン酸三ナトリウム、リン酸水素ナトリウムおよびリン酸二水素ナトリウム)、懸濁化剤(例えば、アラビアゴム、トラガントおよびカルボキシメチルセルロースナトリウム)、乳化剤(例えば、グリセリン脂肪酸エステルおよびソルビタン脂肪酸エステル)など1種以上の医薬的に許容される担体を含むものであってもよい。

[0073] 本発明の化合物の投与量は、投与方法、対象の年齢、疾患の程度、症状、剤形等により適宜選択されるが、例えば、一日あたり、0.01mg~0.1mg、0.1mg~1mg、1mg~5mg、5mg~10mg、10mg~50mg、50mg~100mg、100mg~500mg、500mg~1g、1g~1.5g、1.5g~2g、2g~5g、5g~10gの用量で、経口投与されうる。1日あたりの本発明の化合物の量を、1回~数回に分けて投与してもよい。

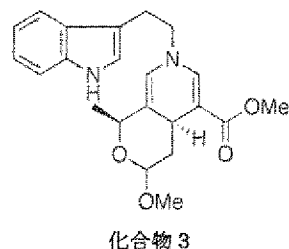
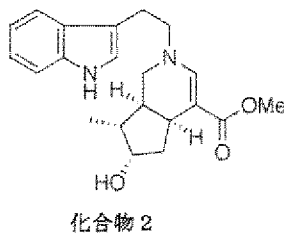
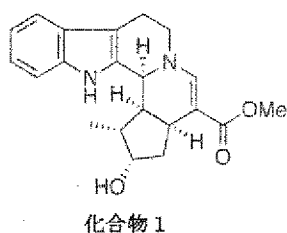
実施例

[0074] 以下に実施例および試験例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、これらは本発明を限定するものではない。なお、化合物の同定は、NMRスペクトル法、質量分析法等により行った。

[0075] 明細書の記載を簡略化するために実施例において以下に示すような略号を用いることもある。NMRに用いられる記号としては、sは一重線、dは二重線、ddは二重の二重線、dddは二重の二重の二重線、dtは二重の三重線、tは三重線、tdは三重の二重線、qは四重線、mは多重線、brは幅広い、brsは幅広い一重線およびJは結合定数を意味する。

[0076] 実施例1：化合物1~3の調製

[化15]



工程 1：サンシュユの偽果（42 g）（株式会社紀伊國屋漢薬局より購入）にメタノール（0.5 L）を加え、2日間静置し抽出した。得られた抽出液を減圧濃縮し、メタノール抽出物（21 g）を得た。メタノール抽出物を酢酸エチル（50 mL）に懸濁させ、水（50 mL）で3回抽出し、水可溶部を得た。水可溶部を活性炭素（15 g）に加え、水（0.2 L）、5%エタノール水溶液（0.2 L）、メタノール（0.2 L）で順次溶出し、メタノール溶出部を減圧濃縮することで、イリドイド型化合物等の配糖体を多く含む粗画分（1.55 g）を得た。

工程 2：得られた粗画分を、0.05 Mクエン酸バッファー（pH 6.0）（50 mL）に懸濁させ、 β -グルコシダーゼ（スイートアーモンド由来、東洋紡）（36 mg）を加え、45℃で2日間攪拌した。反応液を酢酸エチル（50 mL）で3回抽出し、抽出した酢酸エチル層を全て合わせて、水（100 mL）で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して溶媒を減圧留去することで、加水分解物（203 mg）を得た。

工程 3：得られた加水分解物を、ジクロロメタン（13.5 mL）に溶かし、トリプタミン（131 mg、0.82 mmol）およびトリフルオロメタンスルホン酸ピスマス（111）（54 mg、0.082 mmol）を加え、室温で24時間攪拌した。反応液に飽和重曹水（30 mL）を加え、酢酸エチル（50 mL）で3回抽出を行った。抽出した酢酸エチル層を全て合わせて、飽和食塩水（100 mL）で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して減圧濃縮することでインドールアルカロイド型化合物等の化合物を含む多様性拡大抽出物（197 mg）を得た。

工程4：得られた多様性拡大抽出物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィに付し、ヘキサン-酢酸エチル（4：1）で溶出して画分A（10.4 mg）、ヘキサン-酢酸エチル（2：1）で溶出して画分B（16.7 mg）、ヘキサン-酢酸エチル（1：1）で溶出して画分C（30.5 mg）、ヘキサン-酢酸エチル（1：2）で溶出して画分D（30.9 mg）、酢酸エチルで溶出して画分E（57.5 mg）をそれぞれ得た。

工程5：画分Bを再度シリカゲルカラムクロマトグラフィに付し、ヘキサン-酢酸エチル（2：1）で溶出した画分より化合物1（2.5 mg）を得た。画分Dを再度シリカゲルカラムクロマトグラフィに付し、ヘキサン-酢酸エチル（1：1）で溶出した画分より化合物2（8.4 mg）を得た。また、画分Dをヘキサン-酢酸エチル（1：2）で溶出して画分D-1（7.8 mg）を得、得られた画分D-1をさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィに付し、クロロホルム-メタノール（99：1）で溶出した画分より化合物3（2.5 mg）を得た。

[0077] 化合物1～3は、EIMS（電子衝撃質量スペクトル）法による質量分析およびNMRによって解析した。EIMSおよびNMRの結果を以下に示す。

化合物1：

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (1H, br.s), 7.56 (1H, dd, $J = 7.9, 1.0$ Hz), 7.36 (1H, dd, $J = 8.2, 1.0$ Hz), 7.35 (1H, s), 7.19 (1H, ddd, $J = 8.2, 7.6, 1.0$ Hz), 7.12 (1H, ddd, $J = 8.2, 7.6, 1.0$ Hz), 6.96 (1H, d, $J = 2.5$ Hz), 4.09-4.12 (1H, m), 3.63 (3H, s), 3.42 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.12 (1H, dd, $J = 12.2, 4.7$ Hz), 3.04 (1H, td, $J = 8.2, 7.4$ Hz), 2.98 (2H, dt, $J = 7.4, 2.5$ Hz), 2.75 (1H, dd, $J = 12.2, 6.7$ Hz), 2.20 (1H, ddd, $J = 14.2, 7.4, 1.5$ Hz), 1.87-1.92 (1H, m), 1.66-1.70 (1H, m), 1.56 (1H, ddd, $J = 14.2, 8.1, 5.6$ Hz), 1.00 (3H, d, $J = 7.0$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 169.3, 145.9, 136.3, 127.1, 122.2, 122.0, 1

19.5, 118.5, 112.5, 111.3, 99.9, 74.5, 56.2, 50.5, 47.3, 43.1, 42.0, 41.6, 32.4, 25.1, 13.0.

EIMS m/z (rel. int) 354 $[M]^+$ (40), 224 (100), 192 (36).

HREIMS m/z 354.1934 ($C_{21}H_{26}O_3N_2$ の計算値354.1943).

化合物 2 :

^1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.31 (1H, br.s), 7.45 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 7.36 (1H, s), 7.32 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 7.15 (1H, t, $J = 7.6$ Hz), 7.10 (1H, t, $J = 7.6$ Hz), 4.39 (1H, brs), 4.24 (1H, t, $J = 5.4$ Hz), 3.73 (1H, dd, $J = 15.8, 5.4$ Hz), 3.62 (3H, s), 3.46 (1H, dd, $J = 15.8, 5.8$ Hz), 2.98 (1H, ddd, $J = 9.8, 8.0, 6.7$ Hz), 2.90–2.95 (1H, m), 2.77 (1H, dd, $J = 15.1, 5.4$ Hz), 2.41 (1H, ddd, $J = 10.1, 9.8, 2.5$ Hz), 2.24 (1H, dd, $J = 14.7, 8.0$ Hz), 2.05–2.11 (1H, m), 1.80 (1H, ddd, $J = 14.7, 6.7, 5.3$), 1.20 (3H, d, $J = 6.9$ Hz).

^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 168.6, 144.7, 135.8, 133.4, 127.1, 121.9, 119.6, 118.0, 111.0, 108.6, 104.3, 74.5, 52.8, 51.5, 50.6, 44.9, 42.5, 41.5, 30.9, 22.2, 12.8.

EIMS m/z (rel. int) 352 $[M]^+$ (100), 293 (57), 279 (32), 255 (22), 224 (12), 170 (17).

HREIMS m/z 352.1806 ($C_{21}H_{24}O_3N_2$ の計算値352.1787).

化合物 3 :

^1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.08 (1H, br.s), 7.55 (1H, dd, $J = 8.0, 1.0$ Hz), 7.35 (1H, dd, $J = 8.0, 0.9$ Hz), 7.19 (1H, td, $J = 8.0, 1.0$ Hz), 7.13 (1H, td, $J = 8.0, 0.9$ Hz), 7.00 (1H, d, $J = 2.6$ Hz), 6.93 (1H, d, $J = 2.6$ Hz), 5.42 (1H, br.s), 4.75 (1H, d, $J = 2.8$ Hz), 4.21 (1H, q, $J = 6.5$ Hz), 3.92 (1H, dd, $J = 12.1, 3.9$ Hz), 3.62 (3H, s), 3.38 (2H, t, $J = 7.1$ Hz), 3.35 (3H, s), 2.98 (2H, t, $J = 7.1$ Hz), 2.23 (1H, dd, $J = 12.7, 3.9$ Hz), 1.78 (1H, ddd, $J = 12.7, 12.1, 2.8$ Hz), 1.05 (3H, d, $J = 6.5$ Hz).

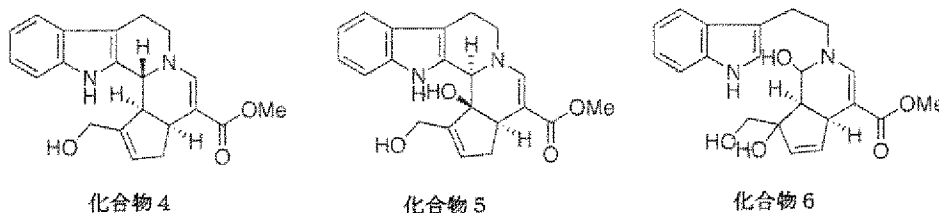
^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 168.5, 141.3, 136.3, 127.0, 122.5, 122.2, 121.1, 120.2, 119.6, 118.4, 111.9, 111.3, 99.8, 99.5, 64.6, 54.6, 54.4, 50.7, 39.0, 29.3, 26.2, 16.5.

EIMS m/z (rel. int) 382 $[\text{M}]^+$ (23), 351 (13), 323 (32), 144 (100).

HREIMS m/z 382.0962 ($\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{N}_2$ の計算値 382.1893).

[0078] 実施例 2 : 化合物 4 ~ 6 の調製

[化16]



サンシシの果実 (30 g) (株式会社紀伊國屋漢薬局より購入) にメタノール (0.5 L) を加え、2日間静置し抽出した。得られた抽出液を減圧濃縮し、メタノール抽出物 (7.5 g) を得た。得られたメタノール抽出物を用いて、実施例 1 の工程 1 ~ 3 と同様の工程にしたがって、インドールアルカロイド型化合物等の化合物を含む多様性拡大抽出物 (478 mg) を得た。

得られた多様性拡大抽出物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、ヘキサン-酢酸エチル (3 : 1) で溶出して画分 A (4.3 mg)、ヘキサン-酢酸エチル (1 : 1) で溶出して画分 B (17.5 mg)、ヘキサン-酢酸エチル (1 : 3) で溶出して画分 C (34.0 mg)、ヘキサン-酢酸エチル (1 : 9) で溶出して画分 D (74.3 mg)、酢酸エチルで溶出して画分 E (285.2 mg) をそれぞれ得た。

画分 B をオクタデシルシリル化シリカゲルを担体とするカラムクロマトグラフィーに付し、水-アセトニトリル (3 : 2) で溶出した画分より化合物 4 (2.2 mg) を得た。また、画分 D をオクタデシルシリル化シリカゲルを担体とするカラムクロマトグラフィーに付し、水-アセトニトリル (1 : 1) で溶出した画分より化合物 5 (3.0 mg) を、水-アセトニトリル (

2 : 3) で溶出した画分より化合物 6 (4.4 mg) をそれぞれ得た。

[0079] 化合物 4 ~ 6 は、EIMS (電子衝撃質量スペクトル) 法による質量分析及び NMR によって解析した。EIMS および NMR の結果を以下に示す。

化合物 4 :

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 9.99 (1H, br.s), 7.55 (1H, s), 7.45 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 7.33 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.14 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.08 (1H, dd, $J = 8.0, 7.7$ Hz), 6.01 (1H, br.s), 4.44 (1H, d, $J = 13.0$ Hz), 4.34 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 4.32 (1H, d, $J = 13.0$ Hz), 3.72 (1H, dd, $J = 15.6, 4.2$ Hz), 3.67 (3H, s), 3.56 (1H, td, $J = 12.3, 4.1$ Hz), 3.25 (1H, q, $J = 8.0$ Hz), 2.91–2.95 (1H, m), 2.88–2.91 (1H, m), 2.87 (1H, dd, $J = 8.0, 7.6$ Hz), 2.75–2.78 (1H, m), 2.56 (1H, br.s), 2.10 (1H, ddd, $J = 16.7, 8.0, 2.1$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 168.9, 145.3, 144.4, 136.2, 133.4, 133.1, 126.6, 121.8, 119.4, 117.9, 111.3, 108.8, 99.0, 60.9, 54.1, 52.1, 50.6, 47.0, 39.6, 36.8, 22.1.

EIMS m/z (rel. int) 350 $[\text{M}]^+$ (100), 319 (26), 291 (26), 279 (50), 170 (39).

HREIMS m/z 350.1619 ($\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{N}_2$ の計算値 350.1630).

化合物 5 :

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 9.58 (1H, br.s), 7.49 (1H, s), 7.46 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.31 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.15 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.08 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 6.15 (1H, br.s), 4.65 (1H, br.s), 4.37 (1H, d, $J = 12.2$ Hz), 4.23 (1H, d, $J = 12.2$ Hz), 3.72 (1H, dd, $J = 12.6, 4.7$ Hz), 3.63 (3H, s), 3.48 (1H, td, $J = 12.6, 4.4$ Hz), 2.93–2.99 (3H, m), 2.82 (1H, dd, $J = 15.3, 4.4$ Hz), 2.15–2.18 (1H, m).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 168.2, 145.9, 144.8, 135.9, 135.7, 130.1, 126.5, 122.0, 119.4, 117.9, 111.2, 110.2, 103.6, 83.3, 58.5, 56.5, 51.4, 50.8, 45.1, 37.7, 21.9.

EIMS m/z (rel. int) 366 $[M]^+$ (100), 335 (21), 305 (20), 255 (86), 169 (36), 144 (44).

HREIMS m/z 366.1586 ($C_{21}H_{22}O_4N_2$ の計算値366.1580).

化合物 6 :

^1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.04 (1H, br.s), 7.56 (1H, dd, $J = 8.1, 0.9$ Hz), 7.35 (1H, dd, $J = 8.1, 0.8$ Hz), 7.30 (1H, s), 7.19 (1H, td, $J = 8.1, 0.9$ Hz), 7.11 (1H, td, $J = 8.1, 0.8$ Hz), 6.97 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.10 (1H, dd, $J = 5.4, 2.1$ Hz), 5.61 (1H, dd, $J = 5.4, 2.7$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 6.9$ Hz), 3.82 (1H, d, $J = 9.4$ Hz), 3.81–3.83 (1H, m), 3.67 (3H, s), 3.60–3.65 (1H, m), 3.59 (1H, d, $J = 9.4$ Hz), 3.50–3.56 (1H, m), 3.02–3.11 (2H, m), 2.43 (1H, dd, $J = 9.1, 6.9$ Hz).

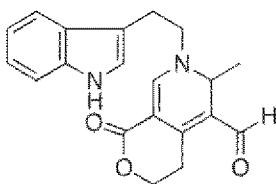
^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 168.5, 142.2, 139.3, 136.3, 131.1, 127.2, 122.2, 122.1, 119.5, 118.6, 112.5, 111.2, 97.4, 94.5, 87.4, 72.3, 54.7, 50.8, 47.4, 39.3, 25.9.

EIMS m/z (rel. int) 366 $[M-H_2O]^+$ (50), 236 (100), 206 (240).

HREIMS m/z 366.1596 ($C_{21}H_{24}O_5N_2$ の計算値366.1580).

[0080] 実施例 3 : 化合物 7 の調製

[化17]



化合物 7

センブリの全草 (73 g) (株式会社紀伊國屋漢薬局より購入) にメタノール (0.8 L) を加え、2日間静置し抽出した。得られた抽出液を減圧濃縮し、メタノール抽出物 (21.6 g) を得た。得られたメタノール抽出物を用いて、実施例 1 の工程 1～3 と同様の工程にしたがって、インドールアルカロイド型化合物等の化合物を含む多様性拡大抽出物 (737 mg) を得た。

得られた多様性拡大抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィに付し、クロロホルム-メタノール（99：1）で溶出して画分A（243.1mg）、クロロホルム-メタノール（197：3）で溶出して画分B（59.5mg）、クロロホルム-メタノール（49：1）で溶出して画分C（91.7mg）、クロロホルム-メタノール（19：1）で溶出して画分D（59.8mg）、メタノールで溶出して画分E（196.2mg）をそれぞれ得た。

得られた画分Bをオクタデシルシリル化シリカゲルを担体とするカラムクロマトグラフィに付し、水-アセトニトリル（3：2）で溶出した画分より化合物7（3.5mg）を得た。

[0081] 化合物7は、EIMS（電子衝撃質量スペクトル）法による質量分析及びNMRによって解析した。EIMSおよびNMRの結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 9.61 (1H, s), 8.10 (1H, br.s), 7.55 (1H, s), 7.45 (1H, dd, $J = 7.9, 0.9$ Hz), 7.34 (1H, dd, $J = 8.2, 0.8$ Hz), 7.18 (1H, ddd, $J = 8.2, 8.0, 0.9$ Hz), 7.07 (1H, td, $J = 8.0, 0.8$ Hz), 6.96 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 4.79 (1H, q, $J = 6.4$ Hz), 4.20-4.28 (2H, m), 3.75-3.82 (1H, m), 3.56-3.63 (1H, m), 3.10-3.16 (2H, m), 2.94 (1H, dt, $J = 16.4, 4.6$ Hz), 2.85 (1H, ddd, $J = 16.4, 8.8, 5.4$ Hz), 1.13 (3H, d, $J = 6.4$ Hz).

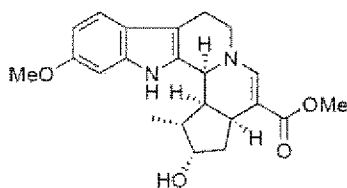
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 184.4, 165.2, 151.9, 147.7, 136.2, 126.9, 122.5, 122.2, 119.7, 118.1, 115.1, 111.4, 110.9, 95.2, 64.8, 56.2, 51.3, 25.0, 23.1, 18.5.

EIMS m/z (rel. int) 336 $[\text{M}]^+$ (18), 321 (26), 144 (100), 130 (39).

HREIMS m/z 336.1454 ($\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{N}_2$ の計算値336.1474).

[0082] 実施例4：化合物8の調製

[化18]



化合物 8

工程3のトリプタミンの代わりに6-メトキシトリプタミン（126mg、0.66mmol）を用いること以外は、実施例1の工程1～3と同様の工程にしたがって、インドールアルカロイド型化合物を含む多様性拡大抽出物（213mg）を得た。得られた多様性拡大抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィに付し、クロロホルム-メタノール（49：1）で溶出して画分A（102mg）を得た。画分Aをリサイクル高速液体クロマトグラフィ（カラム：YMC-GPC T-2000、溶出溶媒：酢酸エチル、流速8mL／分）に付し、溶出時間12分～13分の画分を、5回繰り返し同一のカラムで分離することによって、化合物8（65mg）を得た。

[0083] 化合物8は、EIMS（電子衝撃質量スペクトル）法による質量分析及びNMRによって解析した。EIMSおよびNMRの結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 8.61 (1H, br.s), 7.34 (1H, s), 7.29 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 6.81 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 6.75 (1H, dd, $J = 8.5, 2.2$ Hz), 4.32 (1H, br.s), 4.20 (1H, t, $J = 4.8$ Hz), 3.79 (3H, s), 3.66 (1H, dd, $J = 13.1, 5.9$ Hz), 3.60 (3H, s), 3.40 (1H, ddd, $J = 13.1, 12.0, 4.4$ Hz), 2.91–2.97 (1H, m), 2.83–2.90 (1H, m), 2.68 (1H, dd, $J = 15.2, 4.4$ Hz), 2.39 (1H, ddd, $J = 9.7, 8.2, 4.0$ Hz), 2.23 (1H, ddd, $J = 14.7, 7.9, 0.9$ Hz), 1.99–2.05 (1H, m), 1.77 (1H, dt, $J = 14.7, 5.9$ Hz), 1.15 (3H, d, $J = 7.0$ Hz).

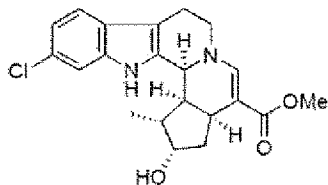
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 168.8, 156.2, 144.9, 136.6, 132.2, 121.5, 118.4, 109.0, 108.1, 104.0, 95.2, 74.3, 55.7, 52.8, 51.5, 50.6, 44.7, 42.3, 41.4, 30.8, 22.2, 12.8.

EIMS m/z (rel. int) 382 $[M]^+$ (100), 365 (24), 323 (77), 311 (30), 200 (22).

HREIMS m/z 382.1851 ($C_{22}H_{26}O_4N_2$ の計算値382.1893).

[0084] 実施例5：化合物9の調製

[化19]



化合物9

工程3の6-メトキシトリプタミン (126 mg、0.66 mmol) の代わりに6-クロロトリプタミン (110 mg、0.57 mmol) を用いること以外は、実施例4と同様の方法にしたがって、化合物9 (4.3 mg) を得た。

[0085] 化合物9は、EIMS (電子衝撃質量スペクトル) 法による質量分析及びNMRによって解析した。EIMSおよびNMRの結果を以下に示す。

^1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.20 (1H, br.s), 7.32 (1H, d, $J = 1.3$ Hz), 7.30 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.28 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 7.04 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz), 4.35 (1H, br.s), 4.22 (1H, t, $J = 4.6$ Hz), 3.71 (1H, d, $J = 13.3, 5.5$ Hz), 3.61 (3H, s), 3.43 (1H, ddd, $J = 13.3, 11.8, 4.8$ Hz), 2.92–2.97 (1H, m), 2.85–2.91 (1H, m), 2.70 (1H, dd, $J = 15.3, 4.8$ Hz), 2.38 (1H, ddd, $J = 9.8, 8.2, 4.0$ Hz), 2.22 (1H, ddd, $J = 14.8, 7.8, 1.1$ Hz), 2.02–2.08 (1H, m), 1.79 (1H, dt, $J = 14.8, 5.7$ Hz), 1.17 (3H, d, $J = 7.1$ Hz).

^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 168.5, 144.4, 136.1, 134.1, 127.7, 125.8, 120.4, 118.8, 111.0, 108.8, 104.8, 74.5, 52.7, 51.3, 50.7, 44.8, 42.5, 41.4, 30.9, 22.0, 12.7.

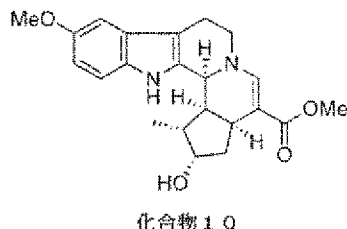
EIMS m/z (rel. int) 388 $[M+2]^+$ (33), 386 $[M]^+$ (100), 327 (72), 313 (48)

), 289 (39), 204 (30).

HREIMS m/z 386.1431 ($C_{21}H_{23}O_3N_2^{35}Cl$ の計算値 386.1397).

[0086] 実施例 6 : 化合物 10 の調製

[化20]



工程 3 の 6-メトキシトリプタミン (126 mg、0.66 mmol) の代わりに 5-メトキシトリプタミン (26 mg、0.14 mmol) を用いること以外は、実施例 4 と同様の方法にしたがって、化合物 10 (9.5 mg) を得た。

[0087] 化合物 10 は、EIMS (電子衝撃質量スペクトル) 法による質量分析及び NMR によって解析した。EIMS および NMR の結果を以下に示す。

^1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.20 (1H, br. s), 7.33 (1H, s), 7.19 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.87 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.79 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz), 4.35 (1H, br. s), 4.20 (1H, t, $J = 5.5$ Hz), 3.82 (3H, s), 3.70 (1H, dd, $J = 13.1, 5.7$ Hz), 3.59 (3H, s), 3.43 (1H, ddd, $J = 13.1, 12.0, 4.7$ Hz), 2.91–2.96 (1H, m), 2.85–2.91 (1H, m), 2.70 (1H, dd, $J = 15.1, 4.7$ Hz), 2.36 (1H, ddd, $J = 9.7, 8.1, 3.8$ Hz), 2.18 (1H, ddd, $J = 14.7, 8.1, 1.2$ Hz), 2.00–2.07 (1H, m), 1.77 (1H, dt, $J = 14.7, 5.9$ Hz), 1.16 (3H, d, $J = 7.0$ Hz).

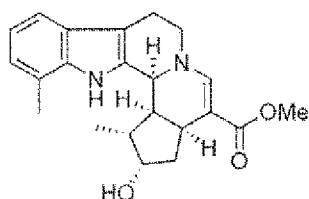
^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 168.6, 154.2, 144.6, 134.2, 130.9, 127.5, 111.74, 111.73, 108.4, 104.4, 100.2, 74.5, 56.0, 52.9, 51.5, 50.6, 44.8, 42.5, 41.4, 30.9, 22.2, 12.8.

EIMS m/z (rel. int) 382 $[M]^+$ (100), 364 (90), 323 (66), 200 (52), 129 (81).

HREIMS m/z 382.1896 ($C_{22}H_{26}O_4N_2$ の計算値382.1893).

[0088] 実施例 7 : 化合物 1 1 の調製

[化21]



化合物 1 1

工程 3 の 6-メトキシトリプタミン (126 mg、0.66 mmol) の代わりに 7-メチルトリプタミン (71 mg、0.40 mmol) を用いること以外は、実施例 4 と同様の方法にしたがって、化合物 1 1 (10.1 mg) を得た。

[0089] 化合物 1 1 は、EIMS (電子衝撃質量スペクトル) 法による質量分析及び NMR によって解析した。EIMS および NMR の結果を以下に示す。

^1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.10 (1H, br. s), 7.34 (1H, s), 7.29 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.01 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 6.95 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 4.39 (1H, br. s), 4.22 (1H, t, $J = 5.4$ Hz), 3.70 (1H, dd, $J = 13.1, 6.0$ Hz), 3.60 (3H, s), 3.44 (1H, ddd, $J = 13.1, 12.0, 4.5$ Hz), 2.95–3.00 (1H, m), 2.88–2.95 (1H, m), 2.74 (1H, dd, $J = 14.5, 5.6$ Hz), 2.47 (3H, s), 2.40–2.44 (1H, m), 2.23 (1H, ddd, $J = 14.8, 8.2, 0.9$ Hz), 2.02–2.10 (1H, m), 1.78 (1H, dt, $J = 14.8, 5.4$ Hz), 1.20 (3H, d, $J = 7.0$ Hz).

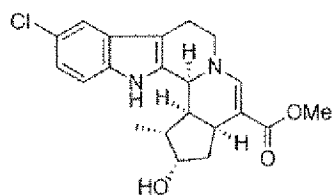
^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 168.6, 144.7, 135.3, 133.0, 126.6, 122.6, 120.3, 119.9, 115.6, 109.1, 104.3, 74.5, 52.9, 51.5, 50.6, 44.7, 42.5, 41.6, 31.0, 22.3, 16.8, 12.7.

EIMS m/z (rel. int) 366 $[M]^+$ (100), 348 (41), 305 (80), 293 (91).

HREIMS m/z 366.1968 ($C_{22}H_{26}O_3N_2$ の計算値366.1943).

[0090] 実施例 8 : 化合物 1 2 の調製

[化22]



化合物 12

工程3の6-メトキシトリプタミン（126mg、0.66mmol）の代わりに5-クロロトリプタミン（114mg、0.59mmol）を用いること以外は、実施例4と同様の方法にしたがって、化合物12（2.0mg）を得た。

[0091] 化合物12は、EIMS（電子衝撃質量スペクトル）法による質量分析及びNMRによって解析した。EIMSおよびNMRの結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 8.09 (1H, br.s), 7.38 (1H, d, $J = 1.9$ Hz), 7.31 (1H, d, $J = 1.0$ Hz), 7.20 (1H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.08 (1H, dd, $J = 8.6, 1.9$ Hz), 4.37 (1H, br.s), 4.22 (1H, t, $J = 5.2$ Hz), 3.71 (1H, dd, $J = 13.3, 6.7$ Hz), 3.60 (3H, s), 3.42 (1H, ddd, $J = 13.3, 11.9, 4.6$ Hz), 2.92–2.97 (1H, m), 2.84–2.90 (1H, m), 2.74 (1H, dd, $J = 15.4, 4.6$ Hz), 2.36 (1H, ddd, $J = 9.7, 8.1, 3.7$ Hz), 2.23 (1H, ddd, $J = 14.8, 8.0, 1.2$ Hz), 2.01–2.08 (1H, m), 1.79 (1H, dt, $J = 14.8, 5.2$ Hz), 1.17 (3H, d, $J = 7.0$ Hz).

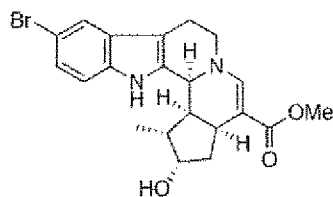
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 168.4, 144.3, 134.9, 134.1, 128.3, 125.5, 122.2, 117.7, 111.9, 108.5, 104.9, 74.5, 52.7, 51.3, 50.7, 44.8, 42.5, 41.4, 30.8, 22.0, 12.7.

EIMS m/z (rel. int) 388 $[\text{M}+2]^+$ (22), 386 $[\text{M}]^+$ (99), 368 (69), 327 (71), 313 (100), 289 (68), 204 (71).

HREIMS m/z 386.1369 ($\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}_2^{35}\text{Cl}$ の計算値386.1397).

[0092] 実施例9：化合物13の調製

[化23]



化合物 13

工程3の6-メトキシトリプタミン（126mg、0.66mmol）の代わりに5-ブロモトリプタミン（133mg、0.56mmol）を用いること以外は、実施例4と同様の方法にしたがって、化合物13（1.4mg）を得た。

[0093] 化合物13は、EIMS（電子衝撃質量スペクトル）法による質量分析及びNMRによって解析した。EIMSおよびNMRの結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (1H, br.s), 7.55 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 7.31 (1H, s), 7.22 (1H, dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz), 7.17 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 4.37 (1H, br.s), 4.22 (1H, t, $J = 5.1$ Hz), 3.71 (1H, dd, $J = 13.3, 5.8$ Hz), 3.60 (3H, s), 3.42 (1H, ddd, $J = 13.3, 12.0, 4.6$ Hz), 2.92–2.98 (1H, m), 2.84–2.90 (1H, m), 2.74 (1H, dd, $J = 15.4, 4.6$ Hz), 2.36 (1H, ddd, $J = 9.9, 8.3, 3.7$ Hz), 2.21 (1H, ddd, $J = 14.8, 8.1, 0.9$ Hz), 2.02–2.09 (1H, m), 1.79 (1H, dt, $J = 14.8, 5.1$ Hz), 1.17 (3H, d, $J = 7.0$ Hz).

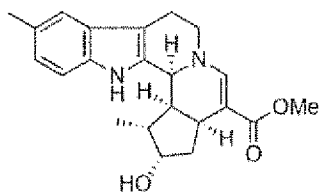
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 168.4, 144.3, 134.8, 134.4, 129.0, 124.7, 120.8, 113.0, 112.4, 108.5, 104.9, 74.4, 52.7, 51.3, 50.7, 44.8, 42.5, 41.4, 30.8, 22.0, 12.7.

EIMS m/z (rel. int) 432 $[\text{M}+2]^+$ (72), 430 $[\text{M}]^+$ (100), 371 (90), 359 (95), 333 (56), 248 (50).

HREIMS m/z 430.0885 ($\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}_2^{79}\text{Br}$ の計算値430.0892).

[0094] 実施例10：化合物14の調製

[化24]



化合物 14

工程3の6-メトキシトリプタミン（126mg、0.66mmol）の代わりに5-メチルトリプタミン（96mg、0.55mmol）を用いること以外は、実施例4と同様の方法にしたがって、化合物14（9.3mg）を得た。

[0095] 化合物14は、EIMS（電子衝撃質量スペクトル）法による質量分析及びNMRによって解析した。EIMSおよびNMRの結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 8.15 (1H, br.d), 7.33 (1H, d, $J = 0.9$ Hz), 7.22 (1H, d, $J = 1.1$ Hz), 7.19 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.95 (1H, dd, $J = 8.3, 1.1$ Hz), 4.35 (1H, br.s), 4.21 (1H, t, $J = 4.7$ Hz), 3.69 (1H, dd, $J = 12.9, 5.9$ Hz), 3.59 (3H, s), 3.43 (1H, ddd, $J = 12.9, 11.9, 4.7$ Hz), 2.92–2.97 (1H, m), 2.85–2.92 (1H, m), 2.71 (1H, dd, $J = 15.2, 4.7$ Hz), 2.41 (3H, s), 2.31–2.37 (1H, m), 2.20 (1H, ddd, $J = 14.7, 7.8, 1.1$ Hz), 2.01–2.09 (1H, m), 1.76 (1H, dt, $J = 14.7, 5.6$ Hz), 1.17 (3H, d, $J = 7.0$ Hz).

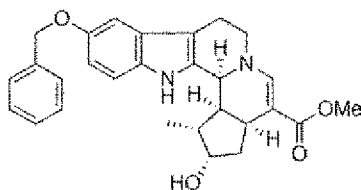
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 168.6, 144.7, 134.1, 133.5, 128.9, 127.3, 123.4, 117.7, 110.7, 108.1, 104.2, 74.4, 52.9, 51.5, 50.6, 44.9, 42.5, 41.5, 31.0, 22.2, 21.4, 14.2, 12.8.

EIMS m/z (rel. int) 366 $[\text{M}]^+$ (100), 307 (55), 295 (35), 269 (21), 184 (15).

HREIMS m/z 366.1956 ($\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{N}_2$ の計算値366.1943).

[0096] 実施例11：化合物15の調製

[化25]



化合物 15

工程3の6-メトキシトリプタミン（126mg、0.66mmol）の代わりに5-ベンジルオキシトリプタミン（102mg、0.38mmol）を用いること以外は、実施例4と同様の方法にしたがって、化合物15（10.3mg）を得た。

[0097] 化合物15は、EIMS（電子衝撃質量スペクトル）法による質量分析及びNMRによって解析した。EIMSおよびNMRの結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 8.20 (1H, br.s), 7.45 (2H, dd, $J = 7.3, 1.1$ Hz), 7.36 (2H, t, $J = 7.3$ Hz), 7.33 (1H, d, $J = 1.0$ Hz), 7.29 (1H, t, $J = 7.3$ Hz), 7.20 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.97 (1H, d, $J = 2.3$ Hz), 6.87 (1H, dd, $J = 8.7, 2.3$ Hz), 5.07 (2H, s), 4.35 (1H, br.s), 4.20 (1H, t, $J = 5.0$ Hz), 3.69 (1H, dd, $J = 12.9, 5.8$ Hz), 3.60 (3H, s), 3.43 (1H, td, $J = 12.9, 4.5$ Hz), 2.92–2.97 (1H, m), 2.83–2.90 (1H, m), 2.71 (1H, dd, $J = 15.3, 4.5$ Hz), 2.33–2.38 (1H, m), 2.19 (1H, ddd, $J = 14.7, 9.0, 1.2$ Hz), 2.00–2.08 (1H, m), 1.78 (1H, dt, $J = 14.7, 5.8$ Hz), 1.16 (3H, d, $J = 6.9$ Hz).

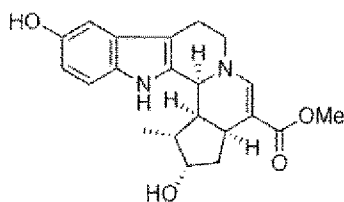
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 168.6, 153.4, 144.6, 137.6, 134.3, 131.1, 128.5 (2C), 127.7, 127.5 (3C), 112.4, 111.7, 108.4, 104.3, 101.9, 74.4, 71.0, 52.9, 51.5, 50.6, 44.8, 42.5, 41.5, 30.9, 22.2, 12.8.

EIMS m/z (rel. int) 458 $[\text{M}]^+$ (100), 440 (54), 399 (52), 367 (79).

HREIMS m/z 458.2194 ($\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{N}_2$ の計算値458.2206).

[0098] 実施例12：化合物16の調製

[化26]



化合物 16

化合物 15 (4.0 mg、8.72 μmol) をメタノール (0.5 mL) に溶かし、20%水酸化パラジウム-炭素 (1.0 mg) を加えて、水素雰囲気 (1 気圧) 下室温で 15 時間攪拌した。反応液を濾過し、その濾液を減圧留去した。残渣をオクタデシルシリカゲルカラムクロマトグラフィに付し、アセトニトリル-水 (7 : 3) で溶出した画分より化合物 16 (2.9 mg、7.88 μmol) を得た。

[0099] 化合物 16 は、EIMS (電子衝撃質量スペクトル) 法による質量分析及び NMR によって解析した。EIMS および NMR の結果を以下に示す。

^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 7.45 (1H, d, $J = 0.6$ Hz), 7.15 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.76 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.62 (1H, dd, $J = 8.7, 2.1$ Hz), 4.42 (1H, br.s), 4.15 (1H, td, $J = 5.5, 2.2$ Hz), 3.77 (1H, dd, $J = 12.8, 6.0$ Hz), 3.60 (3H, s), 3.47 (1H, td, $J = 12.8, 4.2$ Hz), 2.87–2.91 (1H, m), 2.77–2.85 (1H, m), 2.66 (1H, dd, $J = 15.0, 4.2$ Hz), 2.36 (1H, ddd, $J = 9.5, 8.0, 4.1$ Hz), 2.14 (1H, ddd, $J = 14.3, 7.7, 2.2$ Hz), 2.06–2.11 (1H, m), 1.80 (1H, dt, $J = 14.3, 5.8$ Hz), 1.14 (3H, d, $J = 7.0$ Hz).

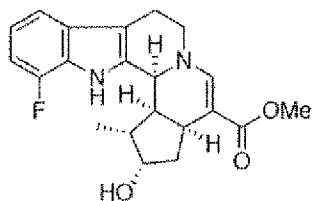
^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 171.0, 151.4, 147.1, 135.8, 132.8, 129.1, 112.5, 112.0, 108.1, 104.4, 103.0, 74.7, 54.7, 52.7, 51.1, 46.8, 43.1, 42.4, 32.3, 23.5, 13.4.

EIMS m/z (rel. int) 368 $[\text{M}]^+$ (100), 351 (15), 309 (48), 297 (27), 271 (18), 186 (11).

HREIMS m/z 368.1753 ($\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{N}_2$ の計算値 368.1736).

[0100] 実施例 13 : 化合物 17 の調製

[化27]



化合物 17

工程3の6-メトキシトリプタミン（126mg、0.66mmol）の代わりに6-フルオロトリプタミン（101mg、0.57mmol）を用いること以外は、実施例4と同様の方法にしたがって、化合物17（12.3mg）を得た。

[0101] 化合物17は、EIMS（電子衝撃質量スペクトル）法による質量分析及びNMRによって解析した。EIMSおよびNMRの結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 8.50 (1H, br.d), 7.32 (1H, s), 7.31 (1H, dd, $J = 8.6, 5.1$ Hz), 6.99 (1H, dd, $J = 7.6, 2.1$ Hz), 6.82 (1H, ddd, $J = 8.6, 7.3, 2.1$ Hz), 4.35 (1H, br.s), 4.21 (1H, t, $J = 4.9$ Hz), 3.70 (1H, dd, $J = 12.9, 5.9$ Hz), 3.59 (3H, s), 3.43 (1H, td, $J = 12.9, 4.5$ Hz), 2.91–2.96 (1H, m), 2.84–2.91 (1H, m), 2.70 (1H, dd, $J = 15.3, 4.5$ Hz), 2.40 (1H, td, $J = 9.5, 3.5$ Hz), 2.20 (1H, ddd, $J = 14.7, 8.0$ Hz), 1.99–2.05 (1H, m), 1.77 (1H, dt, $J = 14.7, 5.7$ Hz), 1.15 (3H, d, $J = 6.8$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 168.6, 159.8 (d, $J = 237.3$ Hz), 144.6, 135.8 (d, $J = 12.2$ Hz), 133.6 (d, $J = 2.9$ Hz), 123.7, 118.5 (d, $J = 10.0$ Hz), 108.5, 108.1 (d, $J = 24.4$ Hz), 104.6, 97.5 (d, $J = 25.8$ Hz), 74.5, 52.7, 51.4, 50.7, 44.7, 42.4, 41.4, 30.8, 22.1, 12.7.

EIMS m/z (rel. int) 370 $[\text{M}]^+$ (100), 311 (76), 297 (53), 273 (35), 188 (40).

HREIMS m/z 370.1685 ($\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}_2\text{F}$ の計算値370.1693).

[0102] 薬理試験

以下に、本発明の実施例化合物についての薬理試験方法およびその結果を示す。

[実験材料]

(1) 細胞

ヒト成人T細胞白血病由来MT2細胞を使用した。ヒト成人T細胞白血病(ATL)の白血病細胞はCD4分子およびCD25分子を細胞表面に発現しており、Treg由来であると考えられている(Chen S. et al., International Immunology 18:269-277 (2005))。MT2細胞はATL由来の細胞で、CD4陽性、CD25陽性、FOXP3陽性細胞であることからTregのモデルとして実験に使用した。

(2) 被験試料

本発明の実施例化合物(化合物1~17)をジメチルスルホキシド(DMSO)によって50mmol/L溶液とし、-80℃で保存した。

[0103] 試験例1：ELISAキットによる培養上清中のヒトIL-10量の測定

本発明の実施例化合物のIL-10産生抑制効果を評価するために、以下の手順に従って、対照および実施例化合物におけるIL-10産生量を測定した。

(1) MT2細胞を10%ウシ胎児血清(FCS)および1%ペニシリン・ストレプトマイシン(P/S)を添加したRPMI1640培地(培地)に 3×10^5 細胞/mLとなるよう懸濁し、24ウェルプレートの各ウェルに1mLずつ分注、播種した。これに、被験試料(化合物1~7)を培地で50倍希釈した希釈液20 μ Lまたは10 μ L加えて、炭酸ガス培養器(37℃、5%CO₂条件下)で48 $\pm$ 2時間培養した。また、被験試料(化合物8~17)を培地で50倍希釈した希釈液25.0 μ Lまたは12.5 μ L加えて、炭酸ガス培養器(37℃、5%CO₂条件下)で48 $\pm$ 2時間培養した。化合物1~7の対照として、DMSOを培地で50倍希釈したものを20 μ L加えた。また、化合物8~17の対照として、DMSOを培地で50倍希

釈したものを25.0 μ L加えた。

(2) 細胞培養液の一部を採取し、セルカウンター (BIO RAD TC-20) で細胞を計数した。細胞培養液を300 $\times$ gで5分間遠心分離し、上清を1L-10測定用試料として採取した。当日測定しない場合には-80 $^{\circ}$ Cのフリーザーで保存した。

(3) 測定には、Human IL-10 ELISA kit II (BD OptEIA)を使用した。キットには抗IL-10抗体処理済ウェル(8ウェル/ストリップ)、Standard/Sample diluent、凍結乾燥のIL-10 Standard含有バイアル(1280 pg/バイアル)、ELISA diluent、20 x Wash Buffer、Detection antibody、Enzyme Concentrate、TMB One Step Substrate Reagent、Stop Solution、カバーシートが含まれている。

(4) IL-10 Standard含有バイアルに、2.3 mL Standard/Sample diluentを加え、15分間室温放置後に溶解した(標準試料原液1L-10濃度:500 pg/mL)。

(5) 検量線用の各濃度の標準試料を以下のように調製した。最初に300 μ Lの培地に標準試料原液を300 μ L加え、ボルテックスミキサー(vortex mixer)で混合した(250 pg/mL)。次に250 pg/mLの標準試料300 μ Lを300 μ Lの培地に加え、ボルテックスミキサーで混合した(125 pg/mL)。同様の操作を順次繰り返し、62.5、31.25、15.625、7.8125 pg/mLの濃度の標準試料を調製した。0 pg/mLには培地を使用した。

(6) キットの抗IL-10抗体処理ウェル(8ウェルが1ストリップ)を室温に戻し、各ウェルにキットに含まれるELISA diluentを50 μ Lずつ加えた。

(7) ELISA diluentの入った各ウェルに、各濃度の標準試料および被験試料(培地で50-100倍希釈)を100 μ Lずつウェルに添加した。

(8) ウェルにカバーシールを貼り、軽くタッピング後に2時間室温放置した。

(9) 20 x Wash Bufferを水で20倍希釈し、1 x Wash Bufferを調製した。

(10) 2時間の反応後、ウェルの中の溶液をアスピレーションし、300 μ Lの1 x Wash Bufferで5回洗浄した。

(11) Enzyme Concentrate (8ウェル当たり4 μ L) をDetection antibody (8ウェル当たり1 mL) に加えた後、ボルテックスミキサーで混合し、必要量のWorking Detectorを調製した。

(12) Working Detectorを各ウェルに100 μ Lずつ加え、カバーシートをし、1時間室温放置した。

(13) 1時間の反応後、ウェルの中の溶液をアスピレーションし、300 μ Lの1 x Wash Bufferで7回洗浄した。

(14) 100 μ LのTMB One Step Substrate Reagentを加え、暗所に30分間放置した。

(15) 50 μ LのStop solutionを加え、30分以内に570nmにおける吸光度をバックグラウンドとして差し引いた470nmにおける吸光度をマイクロプレートリーダー(Thermo Scientific;Varioskan Flash)で測定した。

(16) 吸光値より、Microsoft Excel 2013を使用し、各濃度の標準試料の吸光値から回帰直線を求め(検量線)、検量線から対照及び各化合物処置検体の値を求めた。実験はn = 3で行ったので、各群の値は平均値と標準偏差値を示した。

[0104] 本発明の実施例化合物を上述の薬理試験で評価したところ、本発明の化合物がIL-10産生抑制効果を示すことを見出した。対照および各化合物のIL-10産生抑制活性ならびに対照に対する抑制率(%)を、下表1に示す。

[表1-1]

表1. 実施例化合物によるMT2細胞のIL-10産生抑制効果

化合物番号 および添加濃度	IL-10 (ng/10 ⁶ 細胞) ± 標準偏差 (n=3)	対照に対する%
対照(DMSO)	18.5 ± 0.6	100.0%
化合物1 10 μmol/L	10.4 ± 0.2	56.1%
化合物1 20 μmol/L	7.3 ± 0.3	39.3%
化合物2 10 μmol/L	14.5 ± 0.3	78.5%
化合物2 20 μmol/L	11.0 ± 0.2	59.3%
化合物3 10 μmol/L	14.8 ± 0.3	80.0%
化合物3 20 μmol/L	11.8 ± 0.3	63.7%
化合物4 10 μmol/L	8.0 ± 0.2	42.9%
化合物4 20 μmol/L	4.3 ± 0.5	23.0%
化合物5 10 μmol/L	19.7 ± 0.2	106.3%
化合物5 20 μmol/L	14.9 ± 0.4	80.5%
化合物6 10 μmol/L	17.6 ± 0.7	95.2%
化合物6 20 μmol/L	15.2 ± 0.4	81.8%
化合物7 10 μmol/L	17.9 ± 0.6	96.5%
化合物7 20 μmol/L	15.4 ± 0.4	83.1%
対照(DMSO)	18.5 ± 0.6	100.0%
化合物8 12.5 μmol/L	15.5 ± 1.2	94.6%
化合物8 25.0 μmol/L	7.9 ± 0.4	48.4%
化合物9 12.5 μmol/L	11.1 ± 1.3	67.7%
化合物9 25.0 μmol/L	6.1 ± 1.3	37.5%

[表1-2]

対照 (DMSO)	9.4 ± 0.2	100.0%
化合物 1 0 12.5 μmol/L	8.8 ± 0.4	93.5%
化合物 1 0 25.0 μmol/L	5.6 ± 0.3	59.6%
化合物 1 1 12.5 μmol/L	7.4 ± 0.2	78.2%
化合物 1 1 25.0 μmol/L	5.6 ± 0.3	55.4%
化合物 1 2 12.5 μmol/L	7.1 ± 0.2	75.7%
化合物 1 2 25.0 μmol/L	4.8 ± 0.3	50.9%
化合物 1 3 12.5 μmol/L	7.7 ± 0.6	81.2%
化合物 1 3 25.0 μmol/L	4.2 ± 0.2	44.0%
対照 (DMSO)	11.0 ± 1.2	100.0%
化合物 1 4 12.5 μmol/L	7.4 ± 0.3	67.7%
化合物 1 4 25.0 μmol/L	4.3 ± 1.0	39.2%
化合物 1 5 12.5 μmol/L	6.5 ± 0.2	59.3%
化合物 1 5 25.0 μmol/L	0.6 ± 0.4	5.1%
化合物 1 6 12.5 μmol/L	9.8 ± 0.3	88.90%
化合物 1 6 25.0 μmol/L	8.6 ± 0.1	77.90%
化合物 1 7 12.5 μmol/L	7.0 ± 0.2	64.20%
化合物 1 7 25.0 μmol/L	6.0 ± 0.2	54.20%

[0105] 試験例 2 : 蛍光抗体標識抗 CTLA-4 抗体による細胞内染色とフローサイトメーターによる測定

試験例 1 において IL-10 阻害活性を示す上記化合物のうち、特に優れた阻害活性を有する化合物 1、2、4 および 8～17 について、以下の手順

にしたがって、CTLA-4の発現量を測定し、免疫チェックポイント阻害活性を評価した。

(1) MT2細胞を10%ウシ胎児血清(FCS)および1%ペニシリン・ストレプトマイシン(P/S)を添加したRPMI 1640培地(以下、培地)に 3×10^5 細胞/mLとなるよう懸濁し、6ウェルプレートの各ウェルに3 mLずつ分注、播種した。これに試験化合物(化合物1、2および4)溶液を0.6 μ Lまたは1.2 μ L、試験化合物(化合物9)溶液を0.75 μ Lまたは1.5 μ L、そして、試験化合物(化合物8および10~17)溶液を1.5 μ L加えて、炭酸ガス培養器(37℃、5%CO₂条件下)で48±2時間培養した。化合物1、2および4の対照として、DMSOのみを1.2 μ L加えた。また、化合物8~17の対照として、DMSOのみを1.5 μ L加えた。

(2) 細胞培養液の一部を採取し、セルカウンター(BIO RAD TC-20)で細胞を計数した。細胞培養液を300×gで5分間遠心分離し、上清を除去した。細胞濃度が5~10×10⁶細胞/mLとなるように1%ウシ血清アルブミン(BSA)添加カルシウム・マグネシウム不含リン酸緩衝生理的食塩液(1%BSA/PBS)で懸濁した。

(3) 5 mLチューブに、細胞懸濁液を各50 μ L加えた。

(4) FOXP3/Transcription Factor Staining kit (TONBO biosciences)に含まれるFoxp3/Transcription Factor Fix/Perm Concentrate(4X)(Cat. No. TNB-1020-L050)(A液)をFoxp3/Transcription Factor Fix/Perm Diluent (1X)(Cat. No. TNB-1022-L160)(A希釈用液)で希釈し、1×A液を調製した。

(5) 1×A液を各チューブに1 mLずつ加え、軽くピペティングして攪拌した。続いて、室温で30分間放置し、300×gで5分間遠心分離し、上清を捨てた。

(6) キットに含まれるFlow Cytometry Perm Buffer (10X)(Cat. No. TNB-1213-L150)(B液)を水で10倍希釈し、1×B液を調製した。

(7) 1×B液を2 mL加え、300×gで5分間遠心分離した。上清を捨

て、2%正常マウス血清／PBSを2 μ L加え、軽くピペティングした。
続いて、室温で15分間静置した。

(8) CTLA-4測定では、抗CTLA-4抗体(BECKMAN COULTER, CD152-PE clone BN13I M2282)または対照としてマウスIgG2a(BECKMAN COULTER, IgG2a(Mouse)-PE A09142)を20 μ L加え、軽く攪拌した。続いて、室温・暗所で30分間放置し、1 $\times$ B液を2mL加え、300 $\times$ gで5分間遠心分離し、上清を捨てた。再度、1 $\times$ B液を2mL加え、300 $\times$ gで5分間遠心分離し、上清を捨てた。

(9) 該溶液を0.5mLの1%BSA／PBSに懸濁させ、フローサイトメーター(ソニー:Cell Sorter SH800)を用いて、励起波長488nmで575nmの蛍光を2時間以内に測定した。結果は、ソフトウェアのFlowJo(Tree Star Inc.)で解析した。測定した蛍光の強度と細胞数のヒストグラムからCTLA-4のピーク中間蛍光値(MFI)とアイソタイプコントロールのIgG2aのピーク中間蛍光値を求め、CTLA-4の中間蛍光値からIgG2aの中間蛍光値を差し引いた。実験はn=3で行い、平均値を示した。

[0106] 本発明の化合物1、2および4(10 μ mol/Lおよび20 μ mol/L)、化合物9(12.5 μ mol/Lおよび25.0 μ mol/L)ならびに化合物8および10~17(25.0 μ mol/L)を上述の薬理試験で評価したところ、本発明の化合物1、4および8~17、特に化合物1、15および17がCTLA-4発現抑制効果を示すことを見出した。対照および各化合物のCTLA-4発現抑制活性ならびに対照に対する抑制率(%)を、下表2に示す。

[表2]

表2. 被験化合物によるMT2細胞のCTLA-4発現抑制効果

化合物番号および濃度	CTLA-4ピークのMFI	対照に対する%
対照 (DMSO)	800.5	100.0%
化合物1 10 μ mol/L	608.5	76.0%
化合物1 20 μ mol/L	358.5	44.8%
対照 (DMSO)	1138.0	100.0%
化合物2 10 μ mol/L	1225.0	107.6%
化合物2 20 μ mol/L	1139.5	100.1%
対照 (DMSO)	852.0	100.0%
化合物4 10 μ mol/L	796.0	93.4%
化合物4 20 μ mol/L	621.0	72.9%
対照 (DMSO)	1020	100.0%
化合物9 12.5 μ mol/L	778	76.3%
化合物9 25.0 μ mol/L	539	52.8%
対照 (DMSO)	723	100.0%
化合物8 25.0 μ mol/L	361	50.0%
対照 (DMSO)	1011	100.0%
化合物10 25.0 μ mol/L	570	56.3%
化合物11 25.0 μ mol/L	602	59.5%
対照 (DMSO)	848	100.0%
化合物12 25.0 μ mol/L	485	57.2%
化合物13 25.0 μ mol/L	775	91.6%
化合物14 25.0 μ mol/L	450	53.0%
対照 (DMSO)	753	100.0%
化合物15 25.0 μ mol/L	284	37.7%
化合物16 25.0 μ mol/L	529	70.3%
化合物17 25.0 μ mol/L	339	45.0%

[0107] 上記結果より、本発明の化合物は、CTLA-4阻害活性、すなわち、免疫チェックポイント阻害活性を有することが確認された。

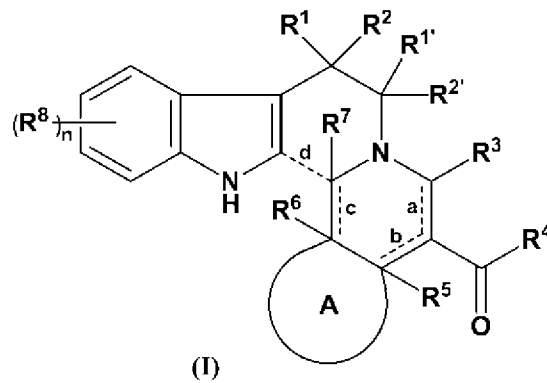
産業上の利用可能性

[0108] 本発明の化合物は、CTLA-4発現抑制作用およびIL-10産生抑制作用を有しており、免疫チェックポイントに起因する疾患、特に、がんの予防および／または治療に有用である。また、ワクチンの補助剤（アジュバント）として有用である。

請求の範囲

[請求項1] 式 (I) :

[化1]



[式中:]

a ~ c :

[化2]

=====

は、単結合または二重結合を表し、d :

[化3]

は、不存在または単結合を表すが、ただし、aが二重結合を表す場合、bは単結合を表し、bが二重結合を表す場合、aは単結合を表し、R⁵は不存在であり、cが二重結合を表す場合、R⁶は不存在であり、ならびに、cが二重結合を表し、dが単結合を表す場合、R⁶およびR⁷は不存在であり；

環Aは、C₃₋₆シクロアルキル環、C₃₋₆シクロアルケニル環または5員もしくは6員の単環式ヘテロ環であり、ここで、該シクロアルキル環、シクロアルケン環および単環式ヘテロ環は、置換可能な位置で、ハロゲン、ヒドロキシ、オキソ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ-C₁₋₆アルキルアミノ、C₁₋₄アシル、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆ハロアルキル、C₁₋₆ヒドロキシアルキル、C₁₋₆アルコキシ、お

よびC₁₋₆ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよく；

R¹、R^{1'}、R²、R^{2'} およびR³は、各々独立して、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ- C₁₋₆アルキル-アミノ、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆ハロアルキル、C₁₋₆ヒドロキシアルキル、C₁₋₆アルコキシまたはC₁₋₆ハロアルコキシであり；

R⁴は、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、モノーもしくはジ- C₁₋₆アルキル-アミノ、C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、C₁₋₆アルコキシ、C₃₋₆シクロアルキル、3員ないし6員のヘテロシクロアルキル、C₆₋₁₀アリールまたは6員ないし10員のヘテロアリールであり、ここで、該アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールおよびヘテロアリールは、各々独立して、置換可能な位置で、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ- C₁₋₆アルキルアミノ、C₁₋₄アシル、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆ハロアルキル、C₁₋₆ヒドロキシアルキル、C₁₋₆アルコキシ、およびC₁₋₆ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよく；

R⁵、R⁶およびR⁷は、各々独立して、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、C₁₋₃アルキル、C₁₋₃ハロアルキル、C₁₋₃ヒドロキシアルキル、C₁₋₃アルコキシまたはC₁₋₃ハロアルコキシであり；

R⁸は、各々独立して、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ- C₁₋₆アルキル-アミノ、C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、C₁₋₆アルコキシ、ベンジルオキシ、C₃₋₆シクロアルキル、3員ないし6員のヘテロシクロアルキル、C₆₋₁₀アリールまたは6員ないし10員のヘテロアリールであり、ここで、該アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロア

リールは、置換可能な位置で、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキルアミノ、 C_{1-4} アシル、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシ、および C_{1-6} ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよく；および

n は、1～4である]

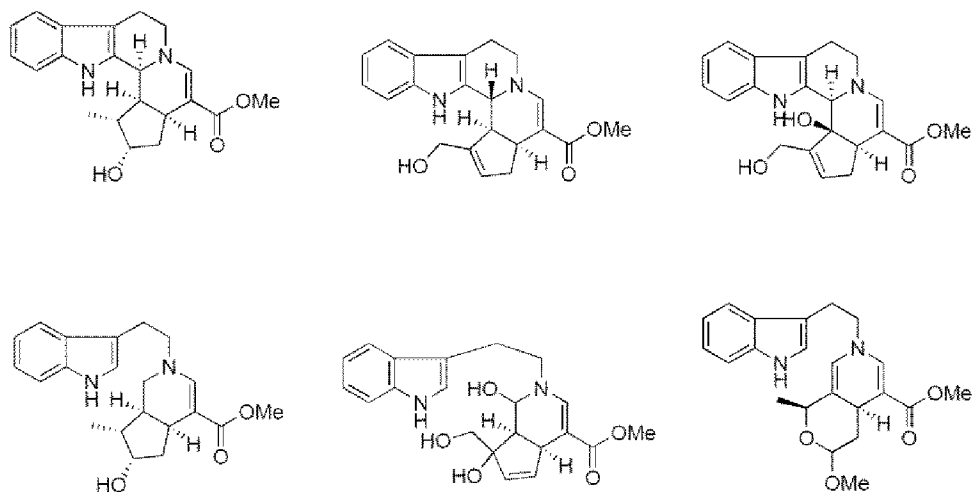
で示される化合物またはその医薬的に許容される塩。

[請求項2] 請求項1記載の化合物またはその医薬的に許容される塩、ただし、点線aが二重結合を表し、 R^8 が水素である化合物は除く。

[請求項3] 請求項1記載の化合物またはその医薬的に許容される塩、ただし、点線aが二重結合を表す化合物は除く。

[請求項4] 請求項1記載の化合物またはその医薬的に許容される塩、ただし、下記の化合物は除く。

[化4]



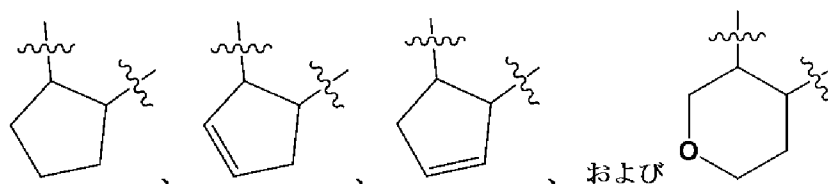
[請求項5] R^4 が、水素、ヒドロキシ、アミノ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキルアミノ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} ハロアルコキシである、請求項1～4のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

[請求項6] R^8 が、各々独立して、水素、ハロゲン、ヒドロキシ、アミノ、モノーもしくはジ- C_{1-6} アルキル-アミノ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ベンジルオキシまたは C_{1-6} ハロアルコキシである、請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

[請求項7] 環Aが、 C_{5-6} シクロアルキル環、 C_{5-6} シクロアルケニル環または5員もしくは6員の単環式飽和ヘテロ環であり、ここで、該シクロアルキル環、シクロアルケン環および単環式飽和ヘテロ環は、置換可能な位置で、ヒドロキシ、オキソ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシ、および C_{1-6} ハロアルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよい、請求項1～6のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

[請求項8] 環Aが、以下：

[化5]



からなる群から選択される基であり、ここで、各基は、置換可能な位置で、ヒドロキシ、オキソ、 C_{1-3} アルキル、 C_{1-3} ヒドロキシアルキル、および C_{1-3} アルコキシからなる群から選択される1つまたは同一もしくは異なる2つ以上の基で置換されていてもよい、請求項1～7のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

[請求項9] R^5 、 R^6 および R^7 が、各々独立して、水素またはヒドロキシである、請求項1～8のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

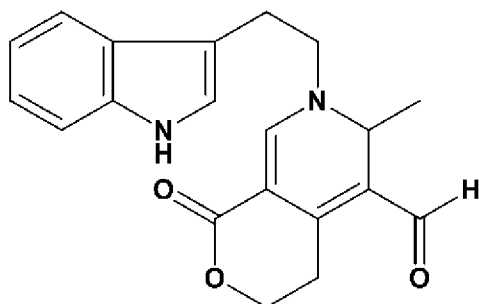
[請求項10] R^1 、 $R^{1'}$ 、 R^2 、 $R^{2'}$ および R^8 が、水素である、請求項1～9の

いずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

[請求項11] R^3 が、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} ハロアルキル、 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} ハロアルコキシである、請求項1～10のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

[請求項12] 化合物が、

[化6]



である、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩。

[請求項13] 請求項1～12のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩、および医薬的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項14】 請求項1～12のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩を有効成分とする、がんの治療剤。

[請求項15] がんが、悪性黒色腫、神経膠芽腫、肺癌、胃癌、大腸癌、肝臓癌、
膵臓癌、腎臓癌、副腎癌、胆道癌、食道癌、咽頭癌、喉頭癌、口腔癌
、膀胱癌、舌癌、甲状腺癌、皮膚癌、乳癌、前立腺癌、精巣癌、子宮
癌、子宮頸癌、卵巣癌、骨肉腫、軟骨肉腫、横紋筋肉腫、平滑筋肉腫
、成人T細胞白血病を含む白血病、悪性リンパ腫または多発性骨髄腫
である、請求項14記載の治療剤。

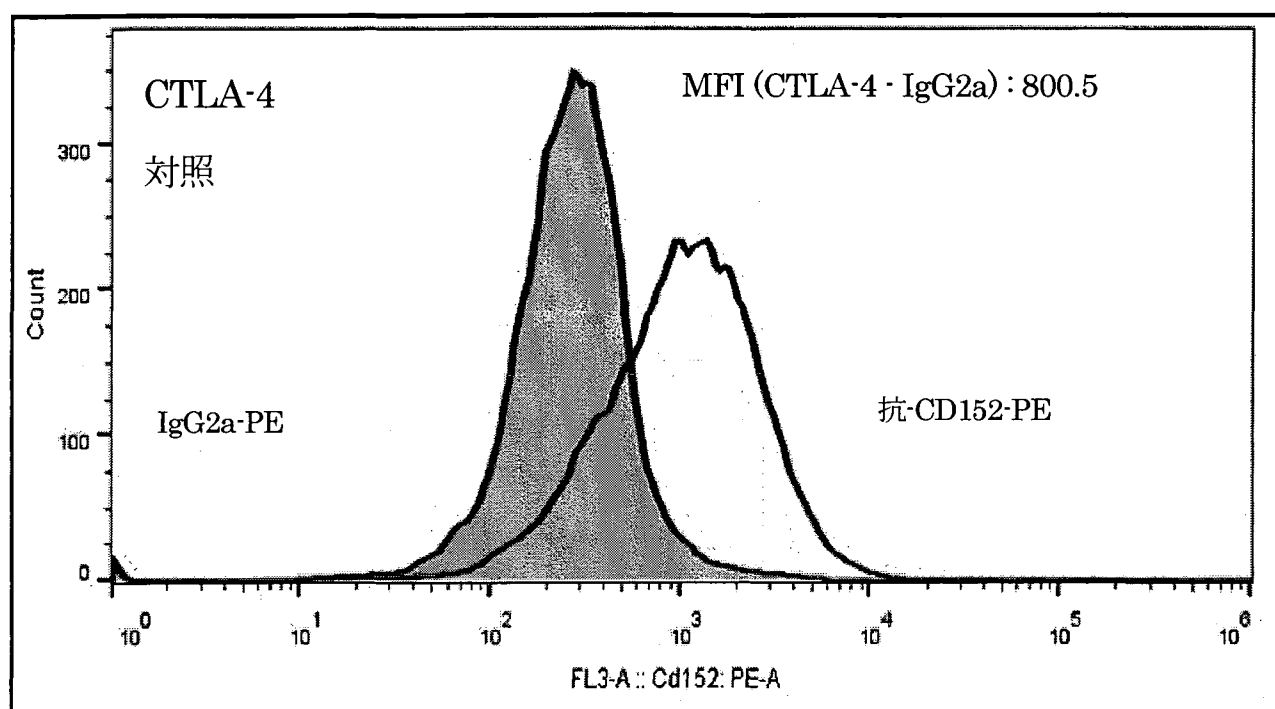
[請求項16] 請求項1～12のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩を有効成分として含む、免疫チェックポイント阻害剤。

【請求項17】 免疫チェックポイントが、CTLA-4である、請求項16記載の阻害剤。

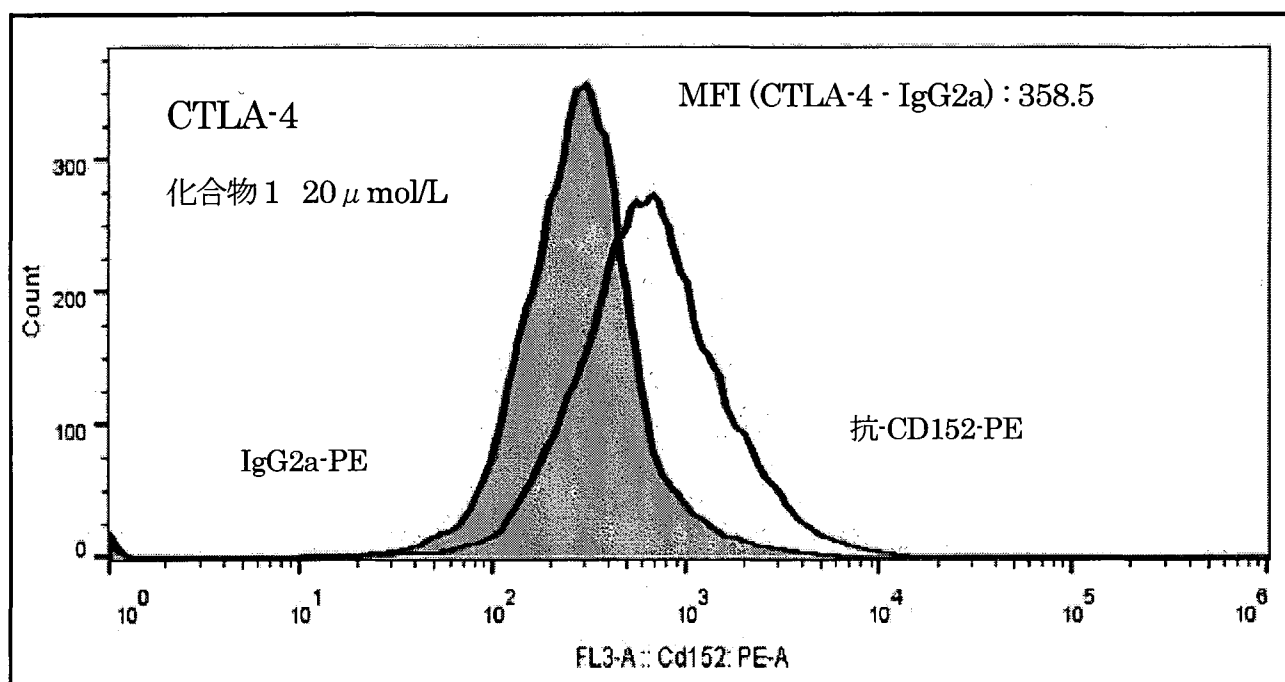
[請求項18] 請求項1～12のいずれか一項に記載の化合物またはその医薬的に許容される塩を有効成分とする、ワクチンの補助剤（アジュバント）

。

[図 1]



[図 2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/012157

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D401/06(2006.01)i, A61K31/435(2006.01)i, A61K31/436(2006.01)i,
A61K31/437(2006.01)i, A61K39/39(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i,
A61P35/02(2006.01)i, A61P37/04(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i,
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D401/06, A61K31/435, A61K31/436, A61K31/437, A61K39/39, A61P35/00,
A61P35/02, A61P37/04, A61P43/00, C07D471/14, C07D491/052

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN),
JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDREAMIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TIKIDRE, Arlette et al., Condensation of iridoid monoterpenes with tryptamine, Comptes Rendus des Seances de l'Academie des Sciences, Serie C: Sciences Chimiques, 1979, Vol.288, No.1, pp.57-60, ISSN: 0567-6541, particularly, Compounds 5, 7-10	1-10, 13
X	DATABASE REGISTRY [online] US: American Chemical Society [retrieved on 2017.06.06], Retrieved from STN, Registry No. 1809495-50-8, 1809490-11-6, 1809476-35-4 (Entered STN: 2015.10.08)	1-2, 4-6, 9-10, 13

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
07 June 2017 (07.06.17)

Date of mailing of the international search report
27 June 2017 (27.06.17)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/012157

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KOCSIS, Akos et al., Synthetic modification of iridoids to non-natural indole alkaloids, Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization, [Proceedings of the IUPAC International Conference on Biodiversity], 3rd, Antalya, Turkey, Nov.3-8, 2001, 2002, Meeting Date 2001, pp.375-377, particularly, Compound 2, 4	1, 4-10, 13
X	BAXTER, Ellen W. et al., Formal total synthesis of deserpidine demonstrating a versatile amino-Claisen rearrangement/Wenkert cyclization strategy for the preparation of functionalized yohimbane ring systems, Journal of the American Chemical Society, 1990, Vol.112, No.21, pp.7682-7692, ISSN 0002-7863, particularly, Compounds 20, 33	1, 4-7, 9-10, 13
X	WENKERT, Ernest et al., General methods of synthesis of indole alkaloids. V. Syntheses of d,l-corynantheidol and d,l-epialloyohimbane, Journal of the American Chemical Society, 1965, Vol.87, No.23, pp.5461-5467, ISSN 0002-7863, particularly, Compound XVIII	1, 4-7, 9-10, 13
A	WO 2009/029206 A1 (WAKE FOREST UNIVERSITY HEALTH SCIENCES), 05 March 2009 (05.03.2009), entire text & US 2010/0239522 A1	1-18
A	CN 101406701 A (UNIV PLA 3RD MILITARY MEDICAL), 15 April 2009 (15.04.2009), entire text (Family: none)	1-18
A	JP 2009-503045 A (Cambridge Laboratories (Ireland) Ltd.), 29 January 2009 (29.01.2009), entire text & US 2009/0275605 A1 & WO 2007/017643 A1 & EP 1861100 A1 & EP 1964565 A1 & CA 2620952 A & KR 10-2008-0033501 A & CN 101321528 A & ZA 200801171 A & ZA 200801170 A & NZ 566010 A & AU 2006277836 A & MX 2008001546 A & RU 2008108516 A & HK 1111084 A	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/012157

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	KIKUCHI, Haruhisa et al., Monoterpene Indole Alkaloid-Like Compounds Based on Diversity-Enhanced Extracts of Iridoid-Containing Plants and Their Immune Checkpoint Inhibitory Activity, Organic Letters, 2016.11.10, Vol.18, No.22, pp.5948-5951, ISSN: 1523-7052, Compounds 1-7, 9, 10, 12	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/012157

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

C07D471/14(2006.01)i, C07D491/052(2006.01)i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07D401/06(2006.01)i, A61K31/435(2006.01)i, A61K31/436(2006.01)i, A61K31/437(2006.01)i, A61K39/39(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P35/02(2006.01)i, A61P37/04(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C07D471/14(2006.01)i, C07D491/052(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07D401/06, A61K31/435, A61K31/436, A61K31/437, A61K39/39, A61P35/00, A61P35/02, A61P37/04, A61P43/00, C07D471/14, C07D491/052

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 7 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 7 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 7 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	TIXIDRE, Arlette et al., Condensation of iridoid monoterpenes with tryptamine, Comptes Rendus des Seances de l'Academie des Sciences, Serie C: Sciences Chimiques, 1979, Vol.288, No.1, pp.57-60, ISSN: 0567-6541, 特に、Compounds 5, 7-10	1-10, 13

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

0 7 . 0 6 . 2 0 1 7

国際調査報告の発送日

2 7 . 0 6 . 2 0 1 7

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

新留 素子

4 P

2 9 3 9

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 9 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	DATABASE REGISTRY [online] US: American Chemical Society [retrieved on 2017.06.06], Retrieved from STN, Registry No. 1809495-50-8, 1809490-11-6, 1809476-35-4 (Entered STN: 2015.10.08)	1-2, 4-6, 9-10, 13
X	KOCSIS, Akos et al., Synthetic modification of iridoids to non-natural indole alkaloids, Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization, [Proceedings of the IUPAC International Conference on Biodiversity], 3rd, Antalya, Turkey, Nov.3-8, 2001, 2002, Meeting Date 2001, pp.375-377, 特に、Compound 2, 4	1, 4-10, 13
X	BAXTER, Ellen W. et al., Formal total synthesis of deserpidine demonstrating a versatile amino-Claisen rearrangement/Wenkert cyclization strategy for the preparation of functionalized yohimbane ring systems, Journal of the American Chemical Society, 1990, Vol.112, No.21, pp.7682-7692, ISSN 0002-7863, 特に、Compounds 20, 33	1, 4-7, 9-10, 13
X	WENKERT, Ernest et al., General methods of synthesis of indole alkaloids. V. Syntheses of d,l-corynantheidol and d,l-epialloyohimbane, Journal of the American Chemical Society, 1965, Vol.87, No.23, pp.5461-5467, ISSN 0002-7863, 特に、Compound XVIII	1, 4-7, 9-10, 13
A	WO 2009/029206 A1 (WAKE FOREST UNIVERSITY HEALTH SCIENCES) 2009.03.05, 全文 & US 2010/0239522 A1	1-18
A	CN 101406701 A (UNIV PLA 3RD MILITARY MEDICAL) 2009.04.15, 全文 (ファミリーなし)	1-18

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2009-503045 A (ケンブリッジ、ラボラトリーズ、(アイルランド)、 リミテッド) 2009.01.29, 全文 & US 2009/0275605 A1 & WO 2007/017643 A1 & EP 1861100 A1 & EP 1964565 A1 & CA 2620952 A & KR 10-2008-0033501 A & CN 101321528 A & ZA 200801171 A & ZA 200801170 A & NZ 566010 A & AU 2006277836 A & MX 2008001546 A & RU 2008108516 A & HK 1111084 A	1-18
P, X	KIKUCHI, Haruhisa et al., Monoterpene Indole Alkaloid-Like Compounds Based on Diversity-Enhanced Extracts of Iridoid-Containing Plants and Their Immune Checkpoint Inhibitory Activity, Organic Letters, 2016.11.10, Vol.18, No.22, pp.5948-5951, ISSN: 1523-7052, Compounds 1-7, 9, 10, 12	1-18