

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7706475号  
(P7706475)

(45)発行日 令和7年7月11日(2025.7.11)

(24)登録日 令和7年7月3日(2025.7.3)

(51)国際特許分類	F I
A 6 1 K 31/554(2006.01)	A 6 1 K 31/554
A 6 1 K 31/553(2006.01)	A 6 1 K 31/553
A 6 1 K 31/5365(2006.01)	A 6 1 K 31/5365
A 6 1 K 31/513(2006.01)	A 6 1 K 31/513
A 6 1 K 31/522(2006.01)	A 6 1 K 31/522

請求項の数 6 (全48頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2022-570093(P2022-570093)  
 (86)(22)出願日 令和3年5月14日(2021.5.14)  
 (65)公表番号 特表2023-526346(P2023-526346  
 A)  
 (43)公表日 令和5年6月21日(2023.6.21)  
 (86)国際出願番号 PCT/CN2021/093769  
 (87)国際公開番号 WO2021/228213  
 (87)国際公開日 令和3年11月18日(2021.11.18)  
 審査請求日 令和6年3月12日(2024.3.12)  
 (31)優先権主張番号 202010412760.9  
 (32)優先日 令和2年5月15日(2020.5.15)  
 (33)優先権主張国・地域又は機関  
 中国(CN)  
 (31)優先権主張番号 202011633373.4  
 (32)優先日 令和2年12月31日(2020.12.31)

最終頁に続く

(73)特許権者 522057917  
 福建 広 生中霖生物科技有限公司  
 FUJIAN AKEYLINK BIO  
 TECHNOLOGY CO., LTD.  
 中華人民共和国355300福建省寧  
 徳市柘栄県富源工業  
 園区17幢綜合ベン公樓2  
 層  
 2F, COMPREHENSIVE O  
 F FICE BUILDING, BU  
 IDING 1 7, FUYUAN I  
 NDUSTRIAL ZONE, ZHE  
 RONG COUNTY, NINGDE  
 , FUJIAN 355300, CH  
 INA

最終頁に続く

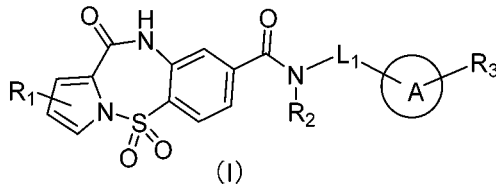
(54)【発明の名称】 三環式化合物を含む組み合わせ及びHBV治療薬物の製造におけるその使用

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

式(I)の化合物

## 【化1】



又はその薬学的に許容される塩と、以下の a ~ c の群、

a、B型肝炎表面抗原阻害剤、

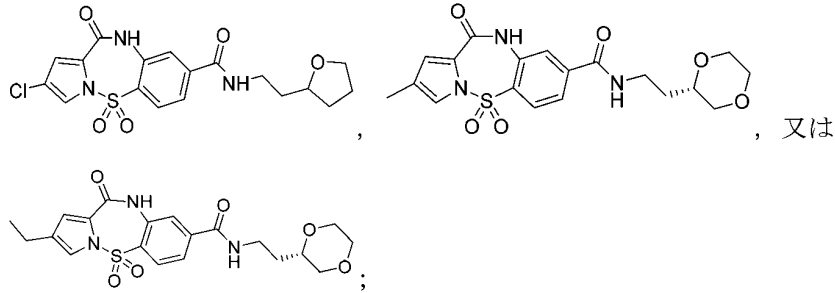
b、逆転写酵素阻害剤、

c、B型肝炎表面抗原阻害剤及び逆転写酵素阻害剤、

のいずれか1つと、からなる医薬組成物。

(ここで、式(I)の化合物は、以下の化合物

## 【化2】

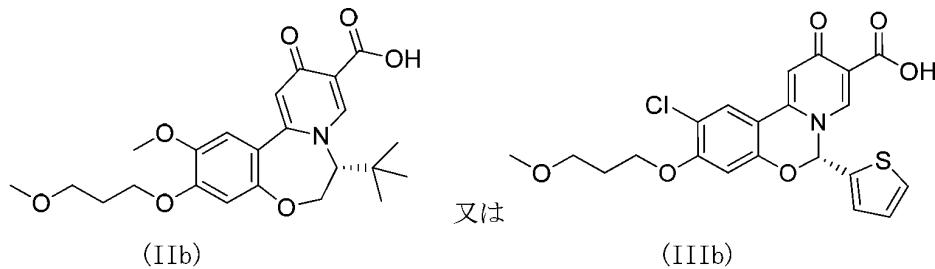


10

の1つであり、

前記B型肝炎表面抗原阻害剤は、以下の化合物

## 【化3】



20

の1つであり、

前記逆転写酵素阻害剤は、ラミブジン、アデホビルジピボキシル、エンテカビル、テノホビルジソプロキシルフマル酸塩又はテノホビルアラフェナミドフマル酸塩から選択される。

## 【請求項2】

前記逆転写酵素阻害剤は、エンテカビル及びテノホビルジソプロキシルフマル酸塩から選択される請求項1に記載の組成物。

## 【請求項3】

請求項1に記載の組成物を含む、B型肝炎ウイルス感染の治療のための医薬。

30

## 【請求項4】

請求項1に記載の組成物と少なくとも一つの薬学的に許容される担体及び/又は賦形剤とを含むこと特徴とする、医薬組成物。

## 【請求項5】

請求項1に記載の組成物、又は、請求項4に記載の組成物を含むこと特徴とする、キット。

## 【請求項6】

請求項4に記載の組成物、又は、請求項5に記載のキットを含む、B型肝炎の治療のための医薬。

## 【発明の詳細な説明】

40

## 【技術分野】

## 【0001】

本出願は出願日が2020年5月15日である中国特許出願CN202010412760.9、及び出願日が2020年12月31日である中国特許出願CN202011633373.4の優先権を主張する。本出願は上記の中国特許出願の全文を引用する。

## 【0002】

## [技術分野]

本発明は医薬組み合わせに関し、具体的には三環式構造を有する化合物又はその薬学的に許容される塩、及び任意選択でB型肝炎表面抗原阻害剤及び/又は逆転写酵素阻害剤の一つ又は二つを含む組み合わせ、及びB型肝炎治療薬物の製造における当該組み合わせの

50

使用に関する。具体的には式 ( I ) の化合物又はその薬学的に許容される塩、及び任意選択で B 型肝炎表面抗原阻害剤及び / 又は逆転写酵素阻害剤の一つ又は二つを含む組み合わせ、及び B 型肝炎治療薬物の製造における当該組み合わせの使用を開示する。

【背景技術】

【 0 0 0 3 】

B 型肝炎は B 型肝炎ウイルスの侵入による炎症反応であり、肝臓の痛み、肝臓や脾臓の腫大、肝線維症などの一連の問題を引き起こす可能性があり、重症の場合は肝硬変、乃至は肝癌を引き起こす可能性がある。統計によると、世界に於いて約 3 億 5 0 0 0 万 ~ 4 億人の B 型肝炎ウイルスキャリアがあり、そのうち 3 分の 1 が中国にあり、中国では B 型肝炎による死亡者数は毎年 5 0 万人に上る。

10

【 0 0 0 4 】

現段階では世界中で B 型肝炎の特効薬は存在せず、中国の B 型肝炎治療の第一選択薬は主にヌクレオシド系薬物、インターフェロン、漢方薬であるが、高価で根治できないなどの問題があるため、新規の抗 B 型肝炎薬物の開発が不可欠である。既存の薬物単剤療法は、薬剤耐性と治療効果が理想的ではない問題があり、B 型肝炎治療薬物の併用、特に異なるメカニズムの B 型肝炎薬物の併用は、研究のホットスポットと臨床使用の方向になる傾向がある。

【 0 0 0 5 】

特許 WO 2 0 1 8 1 5 3 2 8 5 A 1 は、B 型肝炎コアタンパク質阻害剤である式 ( I ) の化合物及びその使用を開示し；WO 2 0 1 8 2 1 4 8 7 5 A 1 及び WO 2 0 1 8 1 6 1 9 6 0 A 1 は、それぞれ式 ( I I ) の化合物、式 ( I I I ) の化合物の B 型肝炎表面抗原阻害剤及びその使用を開示した。現在臨床的に推奨されているヌクレオシド又はヌクレオチド系逆転写酵素阻害剤には、エンテカビル、テノホビルジソプロキシルフマル酸塩などがある。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【 0 0 0 6 】

【文献】国際公開第 2 0 1 8 1 5 3 2 8 5 号

【文献】国際公開第 2 0 1 8 2 1 4 8 7 5 号

【文献】国際公開第 2 0 1 8 1 6 1 9 6 0 号

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 7 】

本発明は、異なるメカニズムの薬物の組み合わせ及び使用を通じて、相乗的に H B V を治療する目的を達成することを意図する。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 8 】

本発明は、医薬組み合わせを開示し、前記組み合わせは、式 ( I ) の化合物又はその薬学的に許容される塩、及び以下の a ~ c の任意の群の医薬組み合わせである：

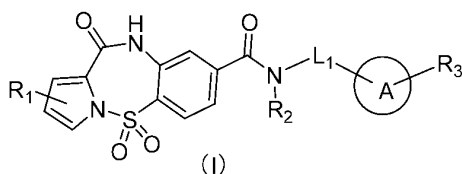
a、B 型肝炎表面抗原阻害剤、

b、逆転写酵素阻害剤、

c、B 型肝炎表面抗原阻害剤及び逆転写酵素阻害剤。

40

【化 1】



ここで、式 ( I ) において、

50

$L_1$  は単結合又は  $C_{1-6}$  アルキルであり、  
 $R_1$  は H、Cl、F、Br、I、或いは任意選択で 1、2 又は 3 個の  $R_a$  で置換された  $C_{1-3}$  アルキルであり、

環 A は、4 ~ 8 員ヘテロシクロアルキル又は  $C_{3-8}$  シクロアルキルであり、

$R_2$  は H 及び  $C_{1-3}$  アルキルであり、

$R_3$  は H 及び  $C_{1-3}$  アルキルであり、

$R_a$  はそれぞれ独立して H、F、Cl、Br、I、 $NH_2$ 、OH、CN、 $C_{1-6}$  アルキル又は  $C_{1-6}$  ヘテロアルキル、或いは任意選択で 1、2 又は 3 個の  $R'$  で置換された  $C_{1-6}$  アルキル及び  $C_{1-6}$  ヘテロアルキルであり、

$R'$  はそれぞれ独立して Cl、F、Br、I、 $NH_2$ 、 $CH_3$ 、CN 及び  $-N(CH_3)_2$  から選択され、

前記 4 ~ 8 員ヘテロシクロアルキル及び  $C_{1-6}$  ヘテロアルキルはそれぞれ、1、2、3 又は 4 個の独立して  $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$  及び N から選択されるヘテロ原子又はヘテロ原子団を含む。

【0009】

好ましくは、

ここで、 $R_a$  はそれぞれ独立して H、F、Cl、Br、I、 $NH_2$ 、OH 又は CN である。

【0010】

ここで、環 A は、5 ~ 6 員ヘテロシクロアルキルである。

【0011】

ここで、環 A は、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラニル又はジオキサニルである。

【0012】

ここで、環 A は、

【化 2】



である。

【0013】

ここで、 $R_1$  は H、Cl、F、Br、I、或いは任意選択で 1、2 又は 3 個の  $R_a$  で置換された  $CH_3$  である。より好ましくは、ここで、 $R_1$  は H、Cl 又は  $CH_3$  である。

【0014】

ここで、 $R_2$  は H 又は  $CH_3$  である。

【0015】

$R_3$  は H 又は  $CH_3$  である。

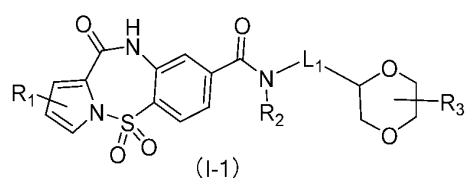
【0016】

ここで、 $L_1$  は  $-CH_2-$  又は  $-CH_2CH_2-$  である。

【0017】

一つの実施形態において、式 (I) の化合物は、式 (I-1) で表される構造を有する：

【化 3】

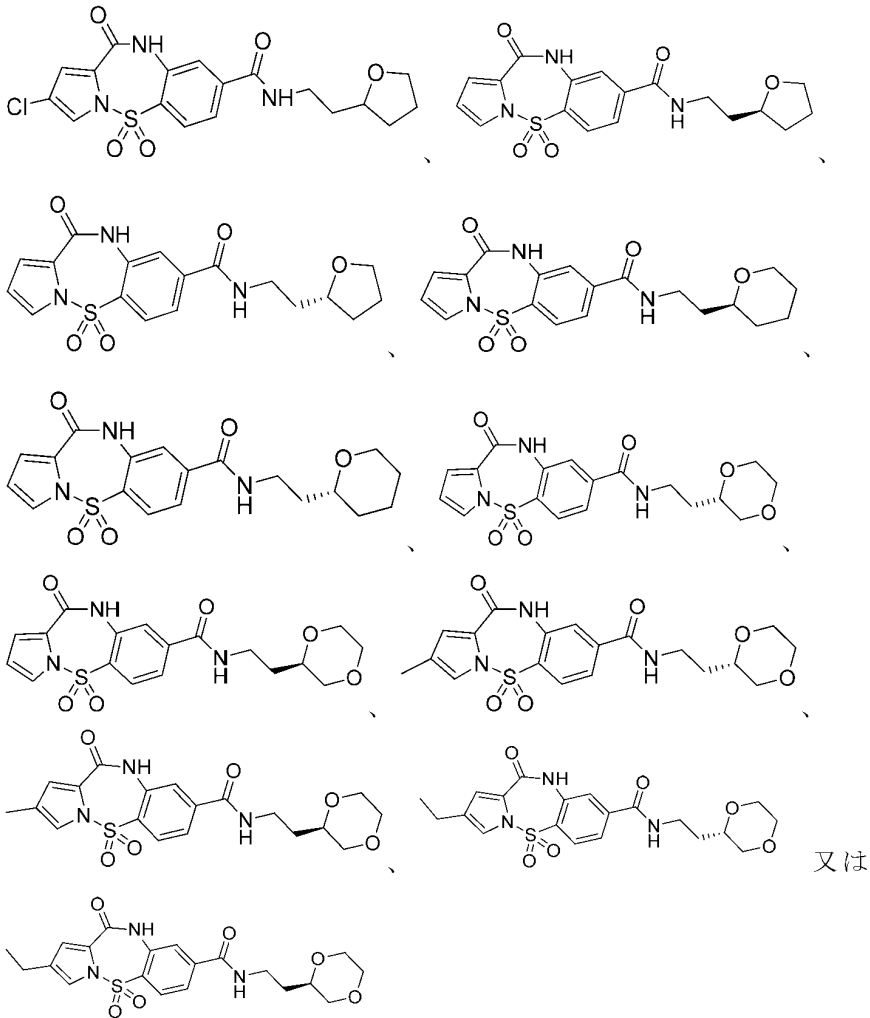


ここで、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  及び  $L_1$  の定義は、上記と同じである。

## 【0018】

本発明の特に好ましい式(I)の化合物は、下記式の特定の化合物から選択される：

## 【化4】



10

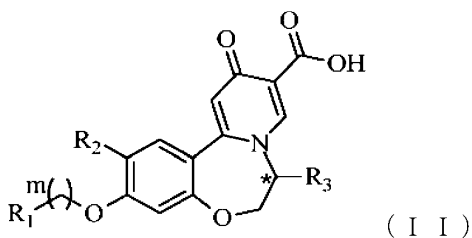
20

30

## 【0019】

本発明のいくつかの態様において、上記の組み合わせにおいて、前記B型肝炎表面抗原阻害剤は、式(II)の化合物のうちの一つ又はその薬学的に許容される塩から選択される。

## 【化5】



40

ここで、

R<sub>1</sub>はH、OH、CN、NH<sub>2</sub>から選択され、或いは任意選択で1、2又は3個のRで置換されたC<sub>1</sub>-6アルキル、C<sub>1</sub>-6ヘテロアルキル、C<sub>2</sub>-5アルケニル、C<sub>2</sub>-5ヘテロアルケニル、C<sub>3</sub>-6シクロアルキル又は3~6員ヘテロシクロアルキルから選択される。

。

R<sub>2</sub>はH、OH、CN、NH<sub>2</sub>、ハロゲンから選択され、或いは任意選択で1、2又は3個のRで置換されたC<sub>1</sub>-3アルキル、C<sub>1</sub>-3ヘテロアルキル、C<sub>3</sub>-6シクロアルキ

50

ル又は3～6員ヘテロシクロアルキルから選択され、

$R_3$ は任意選択で1、2又は3個のRで置換された $C_{1-6}$ アルキル、 $C_{3-6}$ シクロアルキルから選択され、

mは、0、1、2、3、4又は5から選択され、

mが0の場合、 $R_1$ はOH、CN、 $NH_2$ から選択されなく、

RはH、ハロゲン、OH、CN、 $NH_2$ から選択され、或いは任意選択で1、2又は3個のR'で置換された $C_{1-3}$ アルキル、 $C_{1-3}$ ヘテロアルキルから選択され、

R'はF、Cl、Br、I、OH、CN、 $NH_2$ 、 $CH_3$ 、 $CH_3CH_2$ 、 $CH_3O$ 、 $CF_3$ 、 $CHF_2$ 、 $CH_2F$ から選択され、

「ヘテロ」は、ヘテロ原子又はヘテロ原子団を表し、前記 $C_{1-6}$ ヘテロアルキル、 $C_{2-5}$ ヘテロアルケニル、3～6員ヘテロシクロアルキル、 $C_{1-3}$ ヘテロアルキルの「ヘテロ」は、それぞれ独立して $-C(=O)N(R)-$ 、 $-N(R)-$ 、 $-C(=NR)-$ 、 $-(R)C=N-$ 、 $-S(=O)_2N(R)-$ 、 $-S(=O)N(R)-$ 、N、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $=O$ 、 $=S$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-S(=O)_2-$ 、 $-N(R)C(=O)N(R)-$ から選択され、

上記の場合のいずれにおいても、ヘテロ原子又はヘテロ原子団の数は、それぞれ独立して1、2又は3から選択される。

**【0020】**

本発明のいくつかの実施形態において、上記の組み合わせにおいて、前記式(II)の化合物は、下記式の化合物のうちの一つから選択される。

10

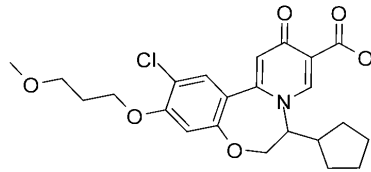
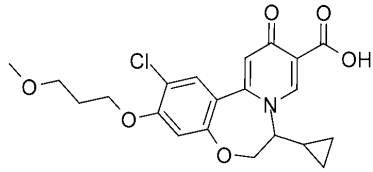
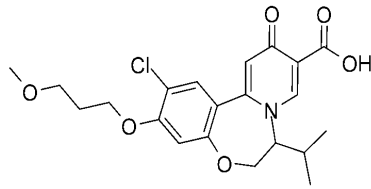
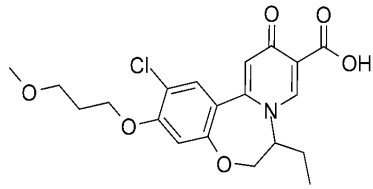
20

30

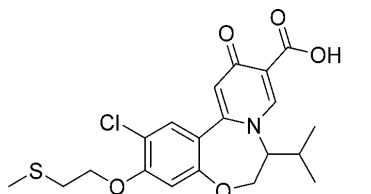
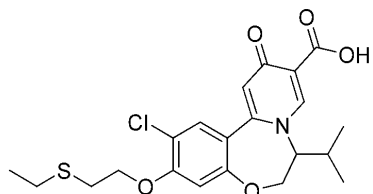
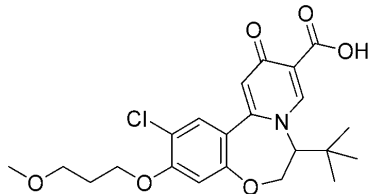
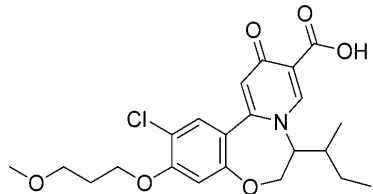
40

50

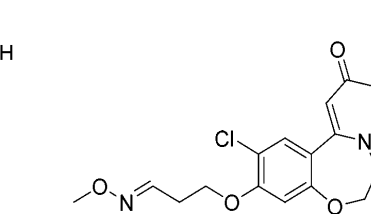
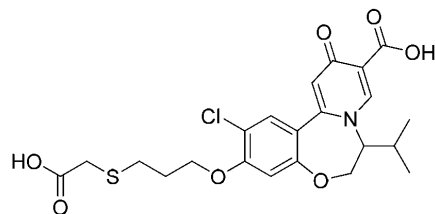
## 【化 6 - 1】



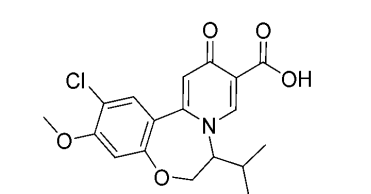
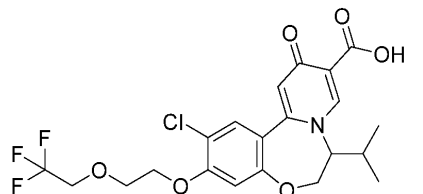
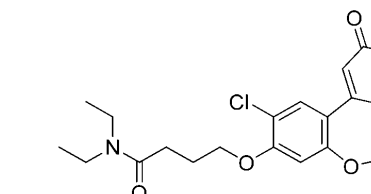
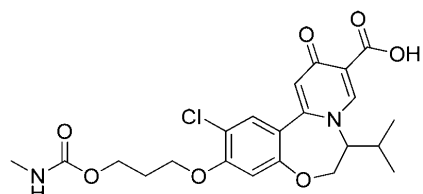
10



20



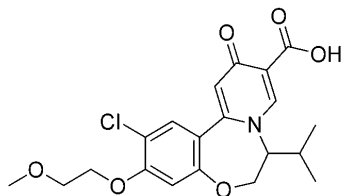
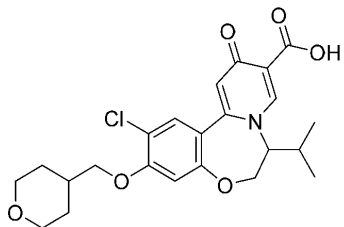
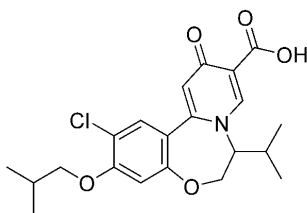
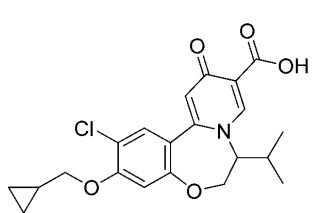
30



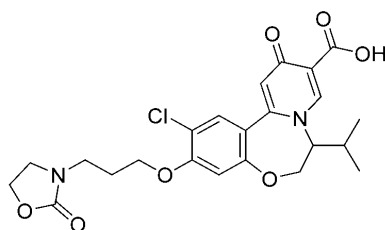
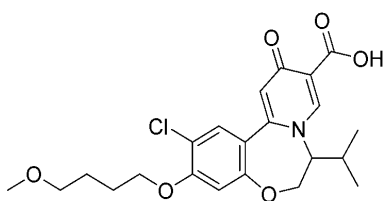
40

50

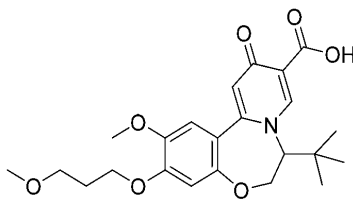
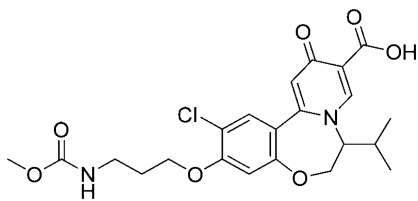
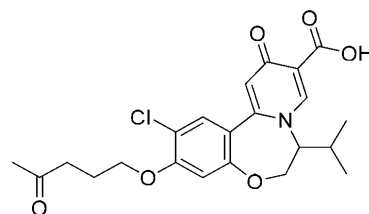
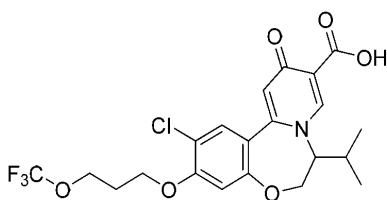
## 【化 6 - 2】



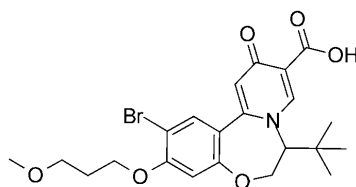
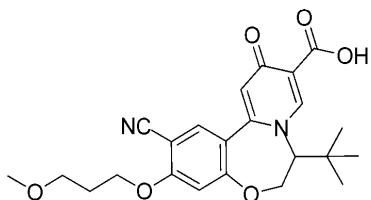
10



20



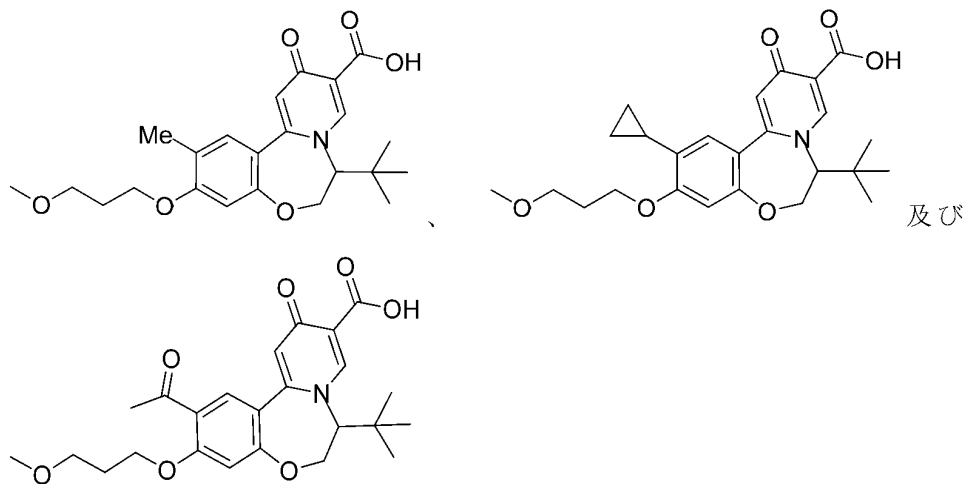
30



40

50

【化6-3】

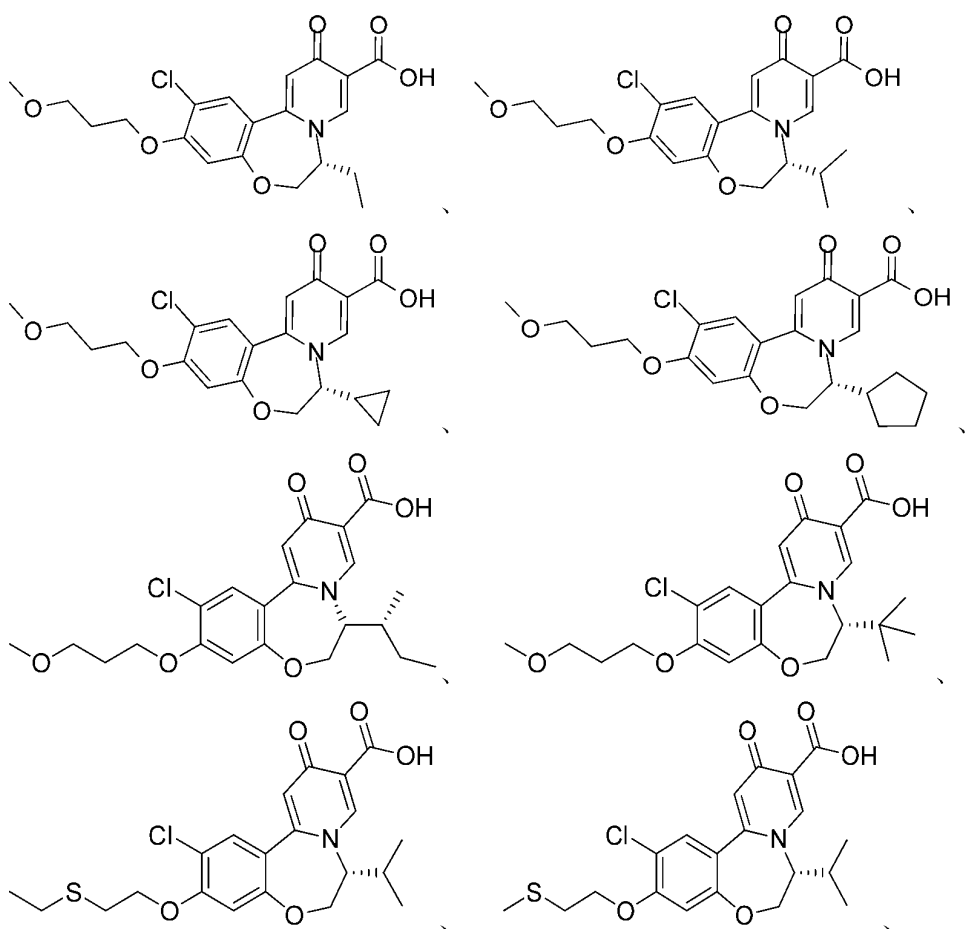


10

【0021】

本発明のいくつかの実施形態において、上記の組み合わせにおいて、前記式(II)の化合物は、下記式の化合物のうちの一つから選択される。

【化7-1】



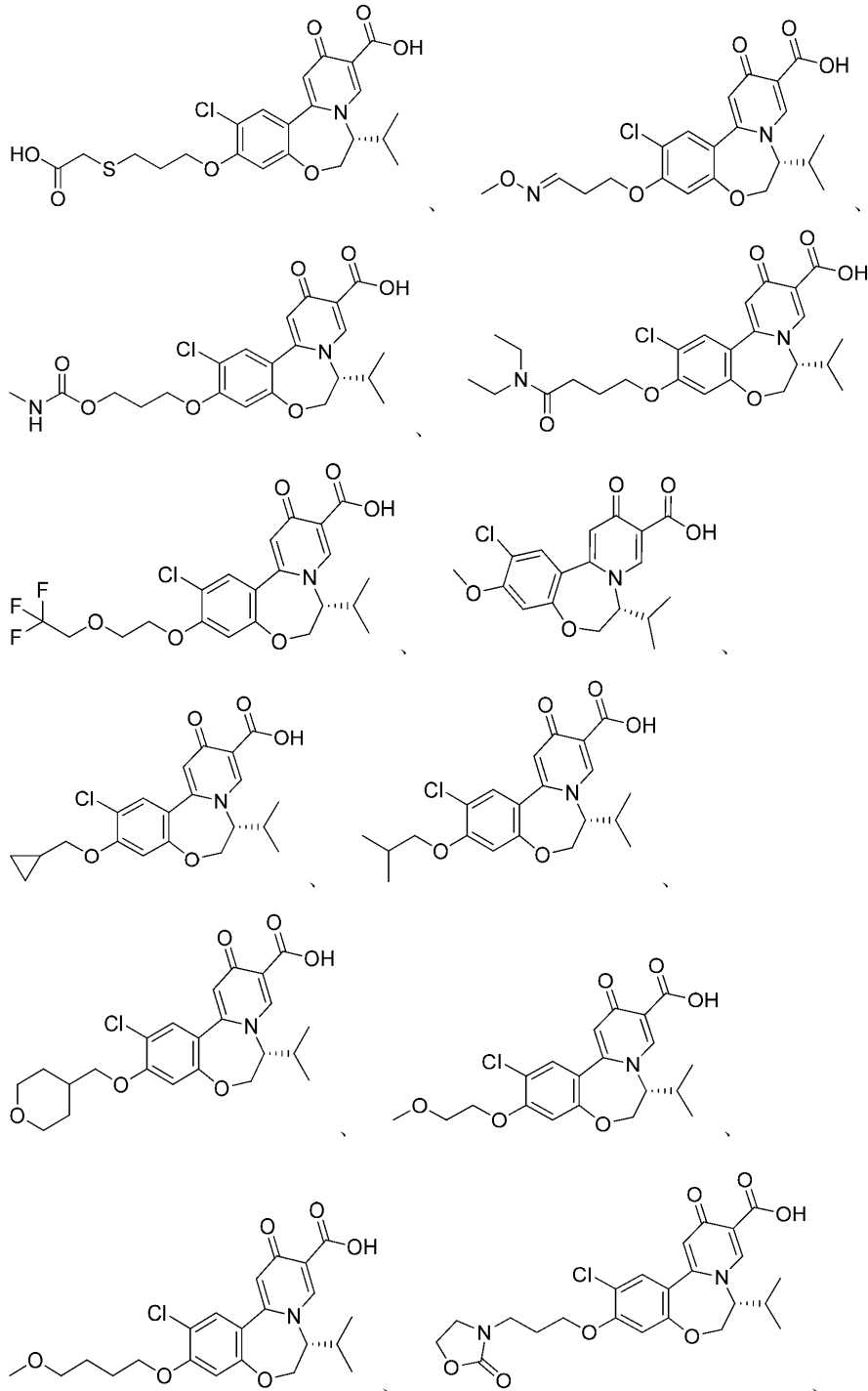
20

30

40

50

【化7 - 2】



10

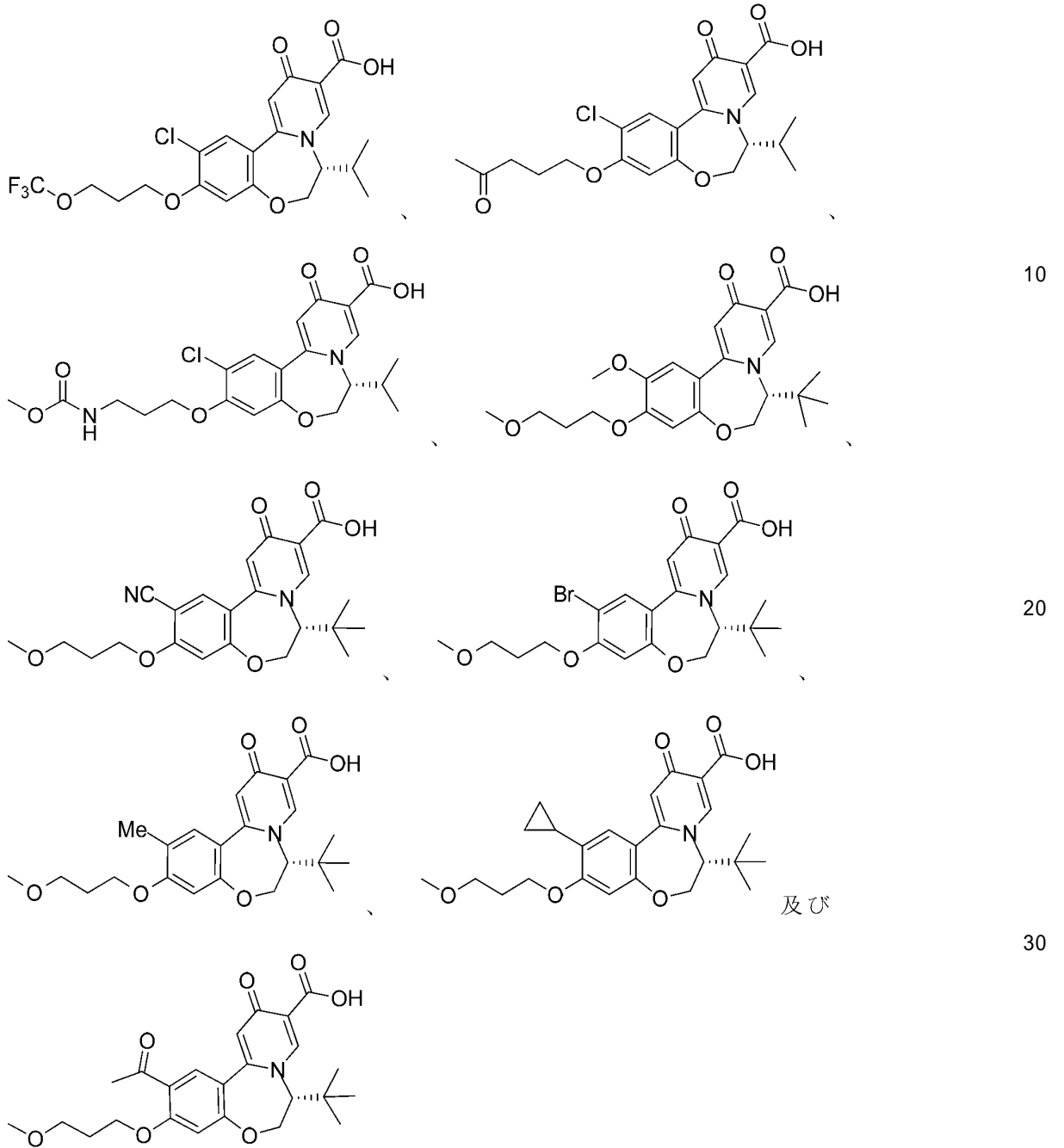
20

30

40

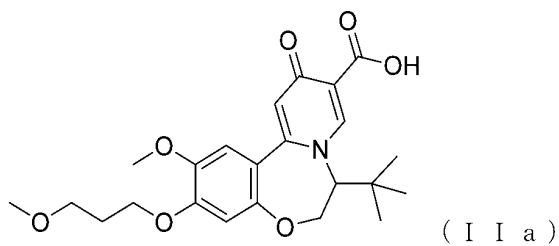
50

## 【化7-3】



## 【0022】

好ましくは、前記B型肝炎表面抗原阻害剤は、下記の式(IIa)で表される構造を有し、



好ましくは、前記B型肝炎表面抗原阻害剤は、下記の式(IIb)で表される構造を有する。

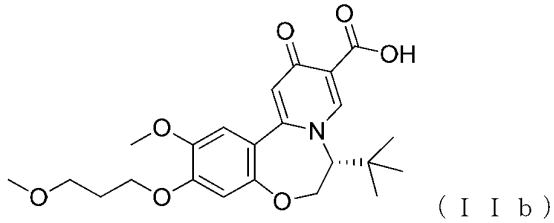
10

20

30

40

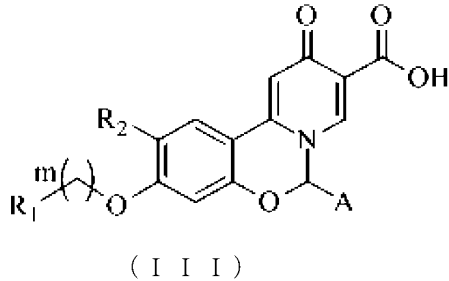
50



## 【 0 0 2 3 】

もう一つの実施形態において、前記 B 型肝炎表面抗原阻害剤は、下記式 ( I I I ) の化合物のうちの一つ又はその薬学的に許容される塩から選択される。

10



20

ここで、

$R_1$  は H、OH、CN、 $NH_2$  から選択され、或いは任意選択で 1、2 又は 3 個の R で置換された  $C_{1-5}$  アルキル、 $C_{1-5}$  ヘテロアルキル、 $C_{2-5}$  アルキニル、 $C_{3-6}$  シクロアルキル及び 3 ~ 6 員ヘテロシクロアルキルから選択され、

$R_2$  は H、ハロゲンから選択され、或いは任意選択で 1、2 又は 3 個の R で置換された  $C_{1-3}$  アルキル及び  $C_{1-3}$  ヘテロアルキルから選択され、

$m$  は、0、1、2、3、4 及び 5 から選択され、

A は任意選択で 1、2 又は 3 個の R で置換されたフェニル又は 5 ~ 6 員ヘテロアリールから選択され、

R は H、ハロゲン、OH、CN、 $NH_2$ 、=O、 $CH_3$ 、 $CH_3CH_2$ 、 $CH_3O$ 、 $CF_3$ 、 $CHF_2$ 、 $CH_2F$  から選択され、

30

前記  $C_{1-5}$  ヘテロアルキル、3 ~ 6 員ヘテロシクロアルキル、 $C_{1-3}$  ヘテロアルキル、5 ~ 6 員ヘテロアリールの「ヘテロ」は、それぞれ独立して N、-O-、=O、-S-、-NH-、-(C=O)-、-(S=O)-、-(S=O)<sub>2</sub>- から選択され、

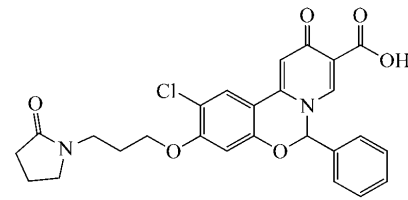
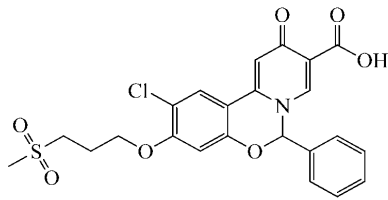
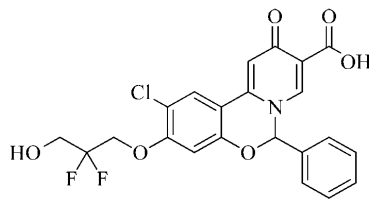
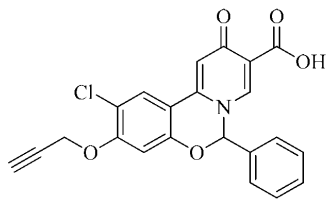
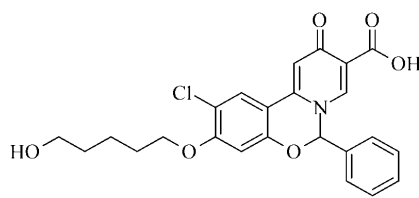
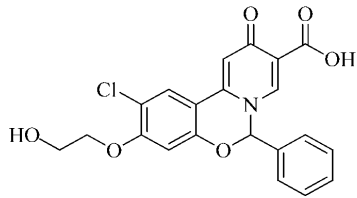
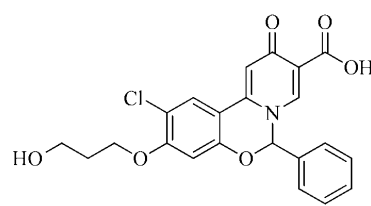
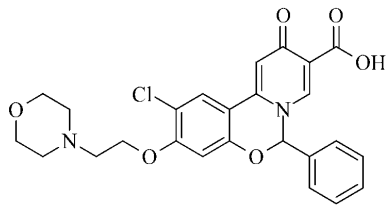
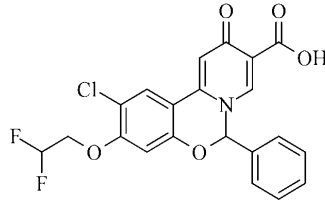
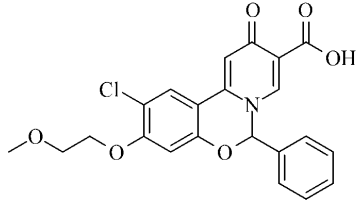
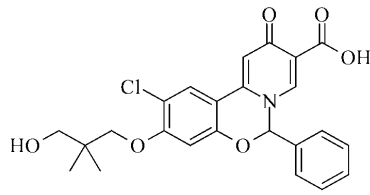
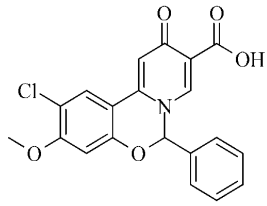
上記の場合のいずれにおいても、ヘテロ原子又はヘテロ原子団の数は、それぞれ独立して 1、2 又は 3 から選択される。

## 【 0 0 2 4 】

本発明のいくつかの実施形態において、上記の組み合わせにおいて、前記式 ( I I I ) の化合物は、以下の化合物のうちの一つから選択される。

40

## 【化 8 - 1】



10

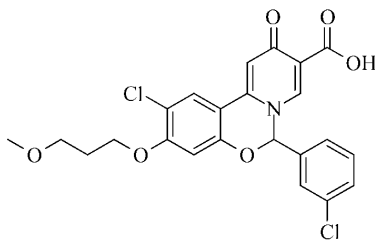
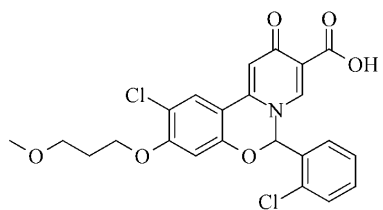
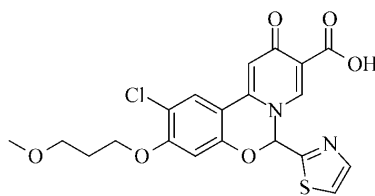
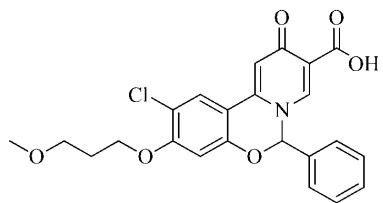
20

30

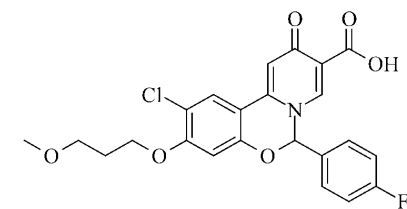
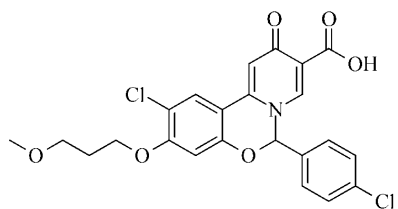
40

50

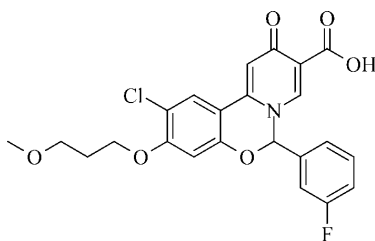
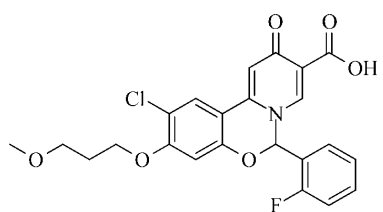
【化 8 - 2】



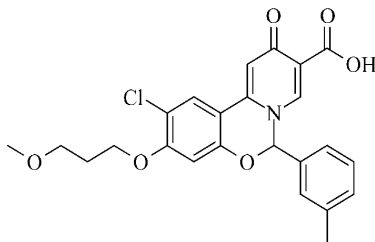
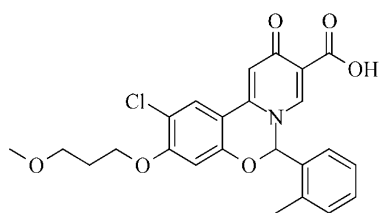
10



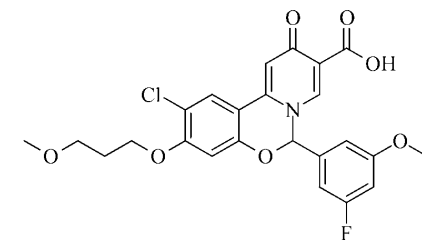
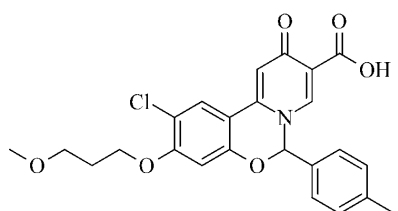
20



30

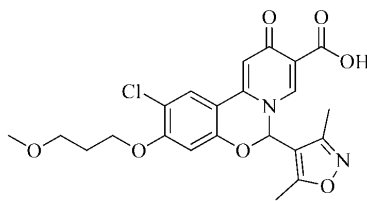
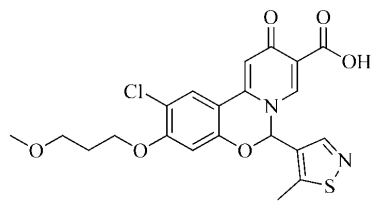
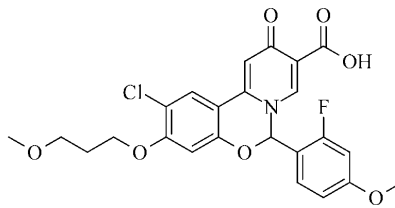
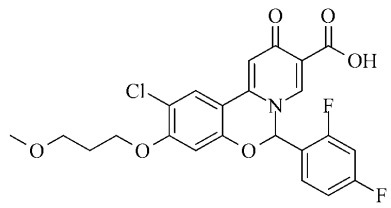
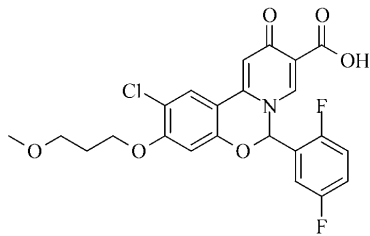
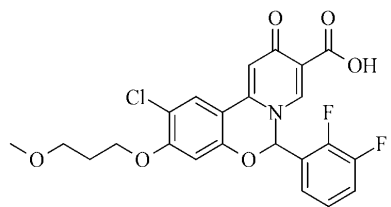
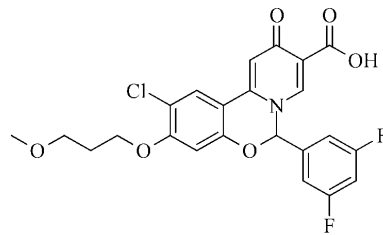
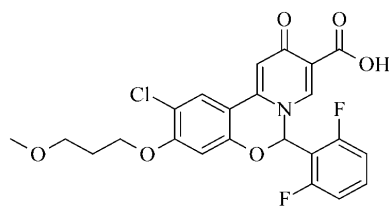
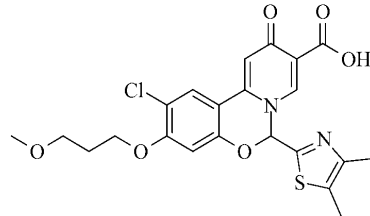
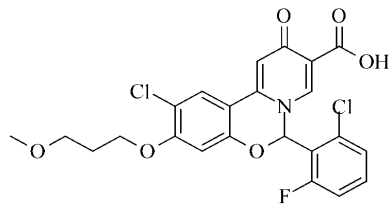
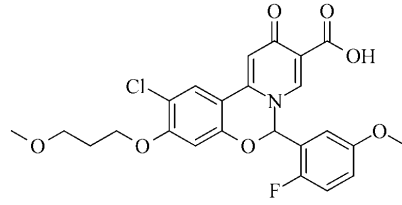
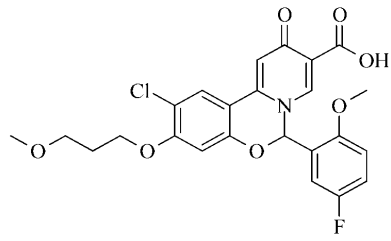


40



50

【化 8 - 3】



10

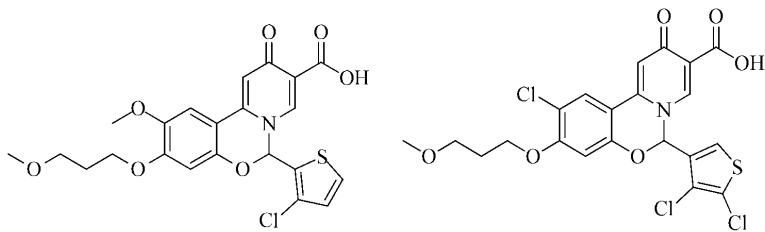
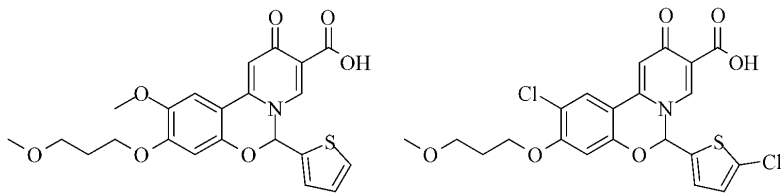
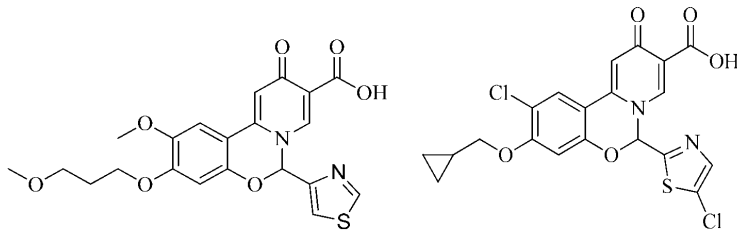
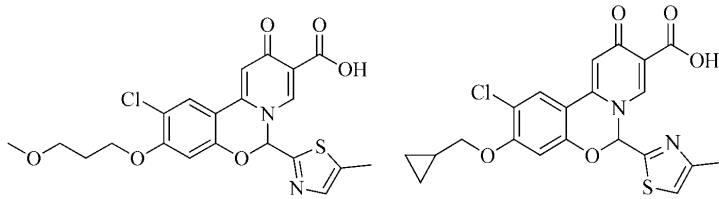
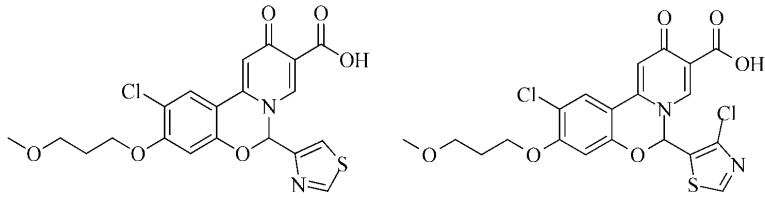
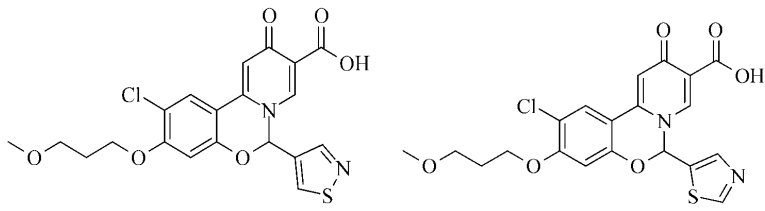
20

30

40

50

## 【化 8 - 4】



10

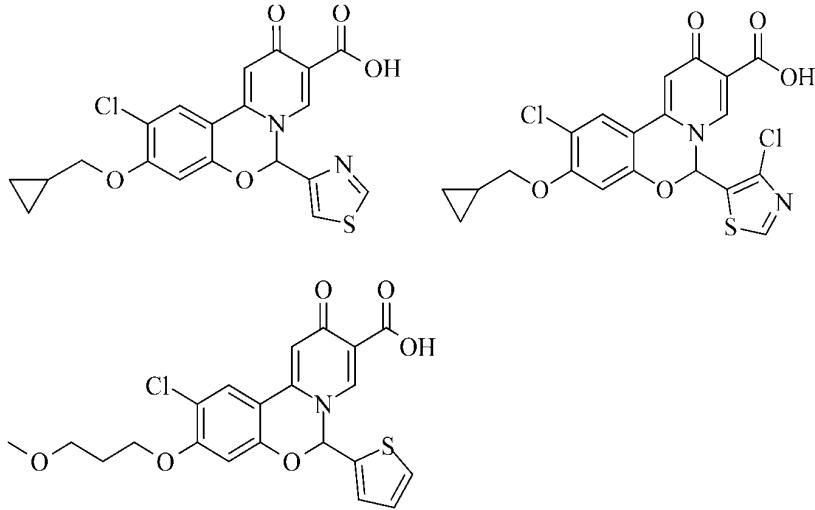
20

30

40

50

## 【化 8 - 5】



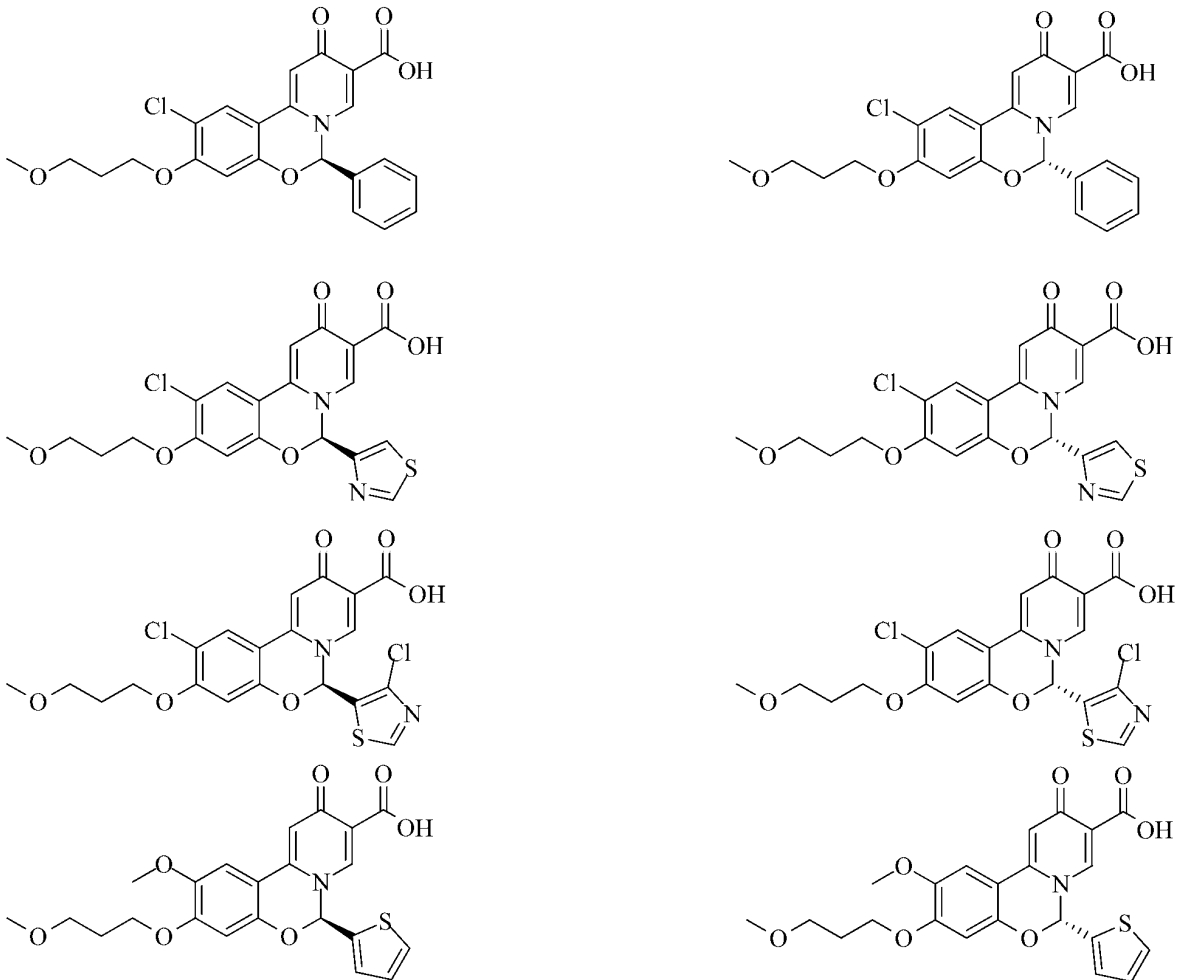
10

## 【 0 0 2 5】

本発明のいくつかの実施形態において、上記の組み合わせにおいて、前記式 ( I I I ) の化合物は、下記式の化合物のうちの一つから選択される。

## 【化 9 - 1】

20

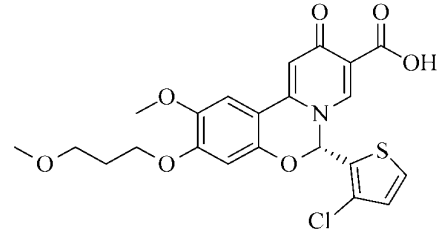
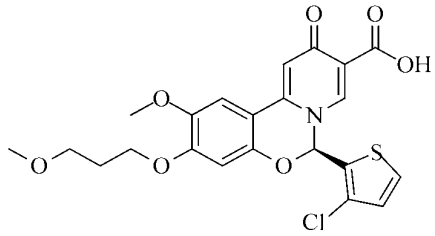
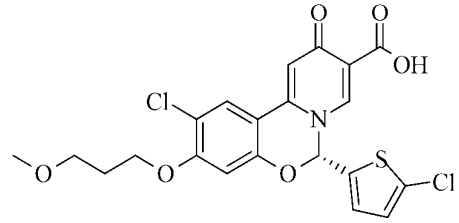
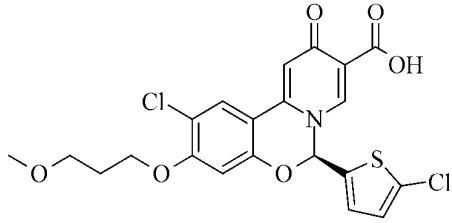


30

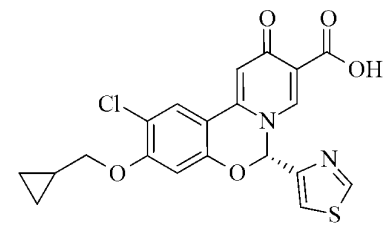
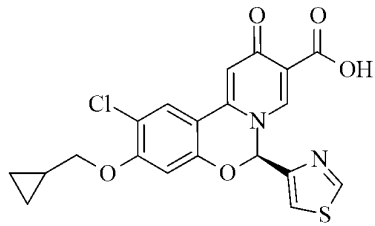
40

50

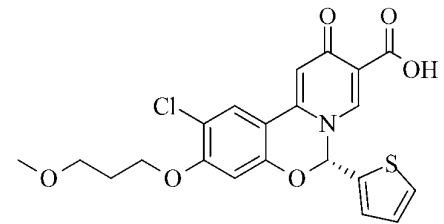
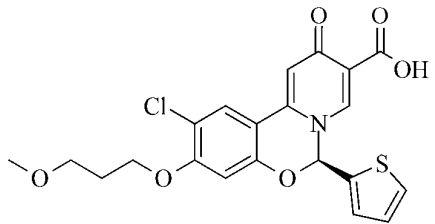
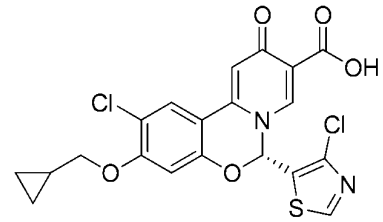
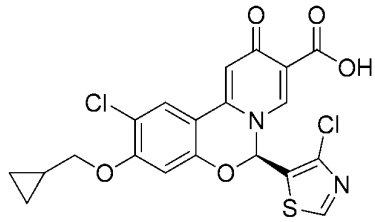
## 【化9 - 2】



10



20

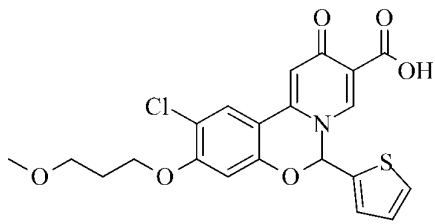


30

## 【0026】

好ましくは、前記B型肝炎表面抗原阻害剤は、下記の式(III a)で表される構造を有し、

## 【化10】



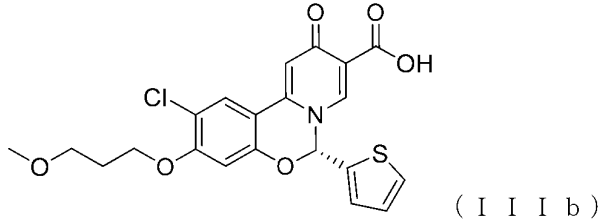
(III a)

40

好ましくは、前記B型肝炎表面抗原阻害剤は、下記の式(III b)で表される構造を有する。

50

## 【化 1 1】



## 【 0 0 2 7 】

本発明に記載の組み合わせにおいて、前記逆転写酵素阻害剤は、ラミブジン、アデホビルジピボキシル、エンテカビル、テノホビルジソプロキシルフマル酸塩又はテノホビルアラフェナミドフマル酸塩から選択される。

10

## 【 0 0 2 8 】

好ましくは、ここで、前記逆転写酵素阻害剤は、エンテカビル又はテノホビルジソプロキシルフマル酸塩から選択される。

## 【 0 0 2 9 】

本発明に記載の組み合わせは、式 ( I ) の化合物又はその薬学的に許容される塩と a ~ c のいずれかの群の医薬を医薬活性成分として混合して、医薬組成物を製造することである。

## 【 0 0 3 0 】

ここで、前記薬物活性成分として混合し、医薬組成物を製造することは、二つ又は三つの異なる薬物を医薬活性成分として一緒に混合して、複合医薬組成物を製造することである。

20

## 【 0 0 3 1 】

本発明に記載の組み合わせは、式 ( I ) の化合物又はその薬学的に許容される塩と a ~ c のいずれかの群の薬物をそれぞれ医薬活性成分として、それぞれ医薬組成物を製造し、さらに別々の包装し、服用時に別々に服用するものであってもよい。

## 【 0 0 3 2 】

ここで、前記別々に服用することは、1種又は2種を先に服用し、次に別の1種又は2種を服用し、及び2種又は3種を同時に服用することを含む。

30

## 【 0 0 3 3 】

B型肝炎ウイルス感染症治療薬物の製造における本発明に記載の組み合わせの使用である。

## 【 0 0 3 4 】

本発明に記載の組み合わせ及び少なくとも一つの薬学的に許容される担体及び/又は賦形剤である、本発明に記載の薬物製剤組成物である。

## 【 0 0 3 5 】

本発明はさらに、本発明に記載の組み合わせ、又は本発明に記載の薬物製剤組成物を含むキットを提供する。

## 【 0 0 3 6 】

本発明はさらに、B型肝炎を治療するための薬物の製造における前記医薬組成物又はキットの使用を提供する。

40

## 【 0 0 3 7 】

本発明の組み合わせにおける別々の包装し、服用時に別々に服用する方法は、以下の方法から選択されることができる。

## 【 0 0 3 8 】

## [ 投与方法 ]

以下の内容は、本発明の組み合わせの投与方法を限定するものではない。

## 【 0 0 3 9 】

本発明の組み合わせの成分は、別々に医薬組成物に製剤化することができ、又はそれら

50

の一部又は全部と一緒に医薬組成物に製剤化することができる。いくつかの態様において、本発明の組み合わせは、単回又は複数回の投与に適した医薬組成物に製剤化することができる。

【0040】

本発明の組み合わせの成分は、それぞれ単独で投与することができ、又はそれらの一部又は全部と一緒に投与することができる。本発明の組み合わせの成分は、実質的に同時に投与しないことができ、又はそれらの一部又は全部を実質的に同時に投与することができる。本発明の組み合わせの成分は、同じ又は異なる投与サイクルを有してもよい。

【0041】

本発明の組み合わせの成分はそれぞれ独立して適切な様々な経路で投与することができ、経口又は非経口投与（静脈内、筋肉内、皮下、腹腔内、脊髄又は他の非経口投与による経路であり、例えば注射又は注入による投与である）を含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本発明の組み合わせの成分は、それぞれ独立して経口投与又は注射投与することができ、例えば、静脈内又は腹腔内注射である。

10

【0042】

本発明の組み合わせの成分は、それぞれ独立して適切な剤形であってもよく、錠剤、トローチ、丸薬、カプセル（例えば、ハードカプセル、ソフトカプセル、腸溶性カプセル、マイクロカプセル）、エリキシル剤、顆粒剤、シロップ、注射剤（筋肉内、静脈内、腹腔内）、顆粒剤、乳剤、懸濁液、溶液、分散液及び経口又は非経口投与の徐放性製剤の剤形を含むが、これらに限定されない。

20

【0043】

本発明の組み合わせの成分は、それぞれ独立して薬学的に許容される担体及び/又は賦形剤を含むことができる。

【発明の効果】

【0044】

[技術効果]

本発明の式(I)の化合物は、B型肝炎コアタンパク質阻害剤であり、ウイルスcccDNAライブラリーを妨害し、HBVウイルスの複製を阻害することができ；本発明の式(II)及び式(III)の化合物は、B型肝炎表面抗原阻害剤であり、HBsAgを効果的に低減することができ、式(I)の化合物と前記B型肝炎表面抗原阻害剤を併用するか、又は式(I)の化合物とヌクレオシド系又はヌクレオチド系逆転写酵素阻害剤を併用するか、又はこれら3種類のメカニズムの薬物を併用することにより、HBVウイルスの複製プロセスをマルチチャンネルで阻害し、治療効果の向上、毒性副作用の低減、治療サイクル及び投与量の短縮、薬剤耐性の低減等の目的を達成することができる。HBV負荷量の低下、HBsAgの減少、さらには除去の効果を達成することができる。

30

【0045】

[定義及び説明]

別途に説明しない限り、本明細書で用いられる以下の用語及び連語は以下の意味を含む。一つの特定の用語又は連語は、特別に定義されない場合、不確定又は不明瞭ではなく、普通の定義として理解されるべきである。本明細書で商品名が出た場合、相応の商品又はその活性成分を指す。

40

【0046】

本明細書で用いられる「薬学的許容される」は、それらの化合物、材料、組成物及び/又は剤形に対するもので、これらは信頼できる医学判断の範囲内にあり、ヒト及び動物の組織との接触に適し、毒性、刺激性、アレルギー反応又はほかの問題又は合併症があまりなく、合理的な利益/リスク比に合う。

【0047】

用語「薬学的に許容される塩」とは、本発明の化合物の塩で、本発明で発見された特定の置換基を有する化合物と比較的に無毒の酸又は塩基とで製造される。本発明の化合物に比較的に酸性の官能基が含まれる場合、単独の溶液又は適切な不活性溶媒において十分な

50

量の塩基でこれらの化合物と接触することで塩基付加塩を得ることができる。薬学的許容される塩基付加塩は、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、有機アミン又はマグネシウム塩あるいは類似の塩を含む。本発明で化合物に比較的塩基性の官能基が含まれる場合、単独の溶液又は、適切な不活性溶媒において十分な量の酸でこれらの化合物と接触することで酸付加塩を得ることができる。薬学的に許容される酸付加塩の実例は、無機酸塩及び有機酸塩、さらにアミノ酸（例えばアルギニンなど）の塩、及びグルクロン酸のような有機酸の塩を含み、上記無機酸は、例えば塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、炭酸水素イオン、リン酸、リン酸一水素イオン、リン酸二水素イオン、硫酸、硫酸水素イオン、ヨウ化水素酸、亜リン酸などを含み、上記有機酸は、例えば酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、スベリン酸、フマル酸、乳酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸、クエン酸、酒石酸やメタンスルホン酸などの類似の酸を含む。本発明の一部の特定の化合物は、塩基性及び酸性の官能基を含有するため、任意の塩基付加塩又は酸付加塩に転換することができる。

10

【 0 0 4 8 】

本発明の薬学的許容される塩は、酸基又は塩基性基を含む母体化合物から通常の方法で合成することができる。通常の場合、このような塩の製造方法は、水又は有機溶媒あるいは両者の混合物において、遊離酸又は塩基の形態のこれらの化合物を化学量論量の適切な塩基又は酸と反応させて製造する。

【 0 0 4 9 】

用語「医薬組成物」とは、本明細書の一つ又は複数の活性成分又はそれらの薬物組み合わせと、薬学的に許容される賦形剤との混合物を指す。医薬組成物の目的は、本明細書の化合物又はその薬物組み合わせの被験者への投与を容易にすることである。

20

【 0 0 5 0 】

用語「薬学的に許容される担体」は、有効量の本発明の活性物質を送達することができ、活性物質の生物学的活性を妨害せず、且つ宿主又は患者に毒性・副作用を有さない任意の製剤又は水、油、野菜及びミネラル、クリームベース、ローションベース、軟膏ベースなどを含む担体媒体を指す。これらの基剤には、懸濁剤、粘着付与剤、浸透促進剤などが含まれる。それらの製剤は、化粧品又は局所医薬品分野の当業者によく知られている。

【 0 0 5 1 】

用語「賦形剤」とは、一般に、有効な医薬組成物の製剤化に必要な担体、希釈剤及び/又は媒体を指す。

30

【 0 0 5 2 】

用語「含む」又は「含まれる」とは、オープンで非排他的な意味、即ち「含むが、これらに限定されない」として理解されるべきである。

【 0 0 5 3 】

用語「治療」とは、疾患又は当該疾患に関連する一つ又は複数の症状を予防、改善、又は排除するために、本明細書に記載の化合物又は製剤を投与することを意味し、以下を含む：

- ( 1 ) 哺乳動物における疾患又は疾患状態の出現を予防すること、特にそのような哺乳動物が当該疾患状態にかかりやすいが、その疾患状態に罹患したと診断されていない場合、
- ( 2 ) 疾患又は疾患状態を阻害すること、即ち、その進行を阻止すること、
- ( 3 ) 疾患又は疾患状態を緩和すること、即ち、疾患又は疾患状態を退行させること。

40

【 0 0 5 4 】

医薬又は薬理学的に活性な薬剤に関する「有効量」又は「治療有効量」という用語は、所望の効果を達成するための無毒であるが十分な量の医薬又は薬剤を指す。本発明の経口剤形の場合、組成物中の一つの活性物質の「有効量」は、組成物中の別の活性物質と組み合わせて使用される際に所望の効果を達成するために必要な量を指す。有効量の決定は、人によって異なり、被検者の年齢及び一般状態に依存し、また、特定の活性物質にも依存し、個々の場合の適切な有効量は、日常的な実験に基づいて当業者によって決定され得る。

【 0 0 5 5 】

50

用語「投与」とは、当業者に知られている様々な方法及び送達システムのいずれか一つを使用して、治療薬を含む組成物を対象に物理的に導入することを指す。投与経路は、静脈内、筋肉内、皮下、腹腔内、脊髄又は他の非経口投与による経路を含み、例えば、注射又は注入による投与である。本明細書に用いられる「非経口投与」という語句は、通常、注射による腸内及び局所投与以外の投与パターンを意味し、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、リンパ管内、病巣内、嚢内、眼窩内、心内、真皮内、腹膜内、経気管、皮下、皮下、関節内、嚢胞下、くも膜下、脊椎内、硬膜外と胸骨内注射と注入、及び生体内電気穿孔を含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、前記組み合わせは非経口ではない経路によって投与され、いくつかの実施形態において、経口投与される。他の非経口ではない経路は、局所、表皮又は粘膜投与経路、例えば、鼻腔内、膣、直腸、舌下又は局所投与を含む。投与はまた、例えば、1回、複数回、及び/又は一つ又は複数の延長期間にわたって行うことができる。

10

## 【0056】

用語「被験者」とは哺乳動物である。いくつかの実施形態において、前記被験者はマウスである。いくつかの実施形態において、前記被験者はヒトである。

## 【0057】

本明細書で使用されるように、「併用」又は「組み合わせて使用」は、二つ以上の活性物質がそれぞれ、単一の製剤として同時に対象に投与され得るか、又はそれぞれが単一の製剤として任意の順序で連続的に投与され得ることを意味する。

## 【0058】

用語「活性成分」「治療剤」「活性物質」又は「活性剤」とは、標的の障害、疾患又は状態を治療するのに有効な化学物質を指す。

20

## 【0059】

本発明の化合物は、特定の幾何又は立体異性体の形態が存在してもよい。本発明は、全てのこのような化合物を想定し、シス及びトランス異性体、( - ) - 及び( + ) - エナンチオマー、( R ) - 及び( S ) - エナンチオマー、ジアステレオマー、( D ) - 異性体、( L ) - 異性体、及びそのラセミ混合物並びに他の混合物、例えばエナンチオマー又は非エナンチオマーを多く含有する混合物を含み、全てのこれらの混合物は本発明の範囲内に含まれる。アルキル等の置換基に他の不斉炭素原子が存在してもよい。全てのこれらの異性体及びこれらの混合物はいずれも本発明の範囲内に含まれる。

30

## 【0060】

別途に説明しない限り、用語「エナンチオマー」又は「光学異性体」とは互いに鏡像の関係にある立体異性体である。

## 【0061】

別途に説明しない限り、用語「シス - トランス異性体」又は「幾何異性体」とは二重結合又は環構成炭素原子の単結合が自由に回転できないことによるものである。

## 【0062】

別途に説明しない限り、用語「ジアステレオマー」とは分子が二つ又は複数のキラル中心を有し、かつ分子同士は非鏡像の関係にある立体異性体である。

## 【0063】

別途に説明しない限り、「( + )」は右旋性を意味し、「( - )」は左旋性を意味し、「( ± )」はラセミ体を意味する。

40

## 【0064】

別途に説明しない限り、楔形実線結合

## 【化12】



及び、  
楔形点線結合

50

## 【化 1 3】



で一つの立体中心の絶対配置を、  
棒状実線結合

## 【化 1 4】



及び、  
棒状点線結合

## 【化 1 5】



で立体中心の相対配置を、  
波線

## 【化 1 6】



で  
楔形実線結合

## 【化 1 7】



又は、  
楔形点線結合

## 【化 1 8】



を、或いは、  
波線

## 【化 1 9】



で、  
棒状実線結合

## 【化 2 0】



及び  
棒状点線結合

## 【化 2 1】



を表す。

## 【0065】

用語「置換された」は特定の原子における任意の一つ又は複数の水素原子が置換基で置換されたことで、特定の原子価状態が正常でかつ置換後の化合物が安定していれば、重水素及び水素の変形体を含んでもよい。置換基がケト基（即ち = O）である場合、二つの水素原子が置換されたことを意味する。ケト基置換は、芳香族基で生じない。用語「任意に置換される」は、置換されてもよく、置換されなくてもよく、別途に定義しない限り、置

10

20

30

40

50

置換基の種類と数は化学的に安定して実現できれば任意である。

【0066】

変量（例えばR）のいずれかが化合物の組成又は構造に1回以上現れた場合、その定義はいずれの場合においても独立である。そのため、例えば、一つの基が0～2個のRで置換された場合、上記基は任意に2個以下のRで置換され、かついずれの場合においてもRは独立して選択肢を有する。また、置換基及び/又はその変形体の組み合わせは、このような組み合わせであれば安定した化合物になる場合のみ許容される。

【0067】

連結基の数が0の場合、例えば、 $-(CRR)_0-$ は、当該連結基が単結合であることを意味する。

【0068】

そのうち一つの変量が単結合の場合、それで連結する二つの基が直接連結し、例えばA-L-ZにおけるLが単結合を表す場合、この構造は実際にA-Zになる。

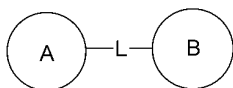
【0069】

置換基がない場合、当該置換基が存在しないことを表し、例えば、A-XのXがない場合、当該構造が実際にAとなることを表す。挙げられた置換基に対してどの原子を通して置換された置換基が明示しない場合、このような置換基はその任意の原子を通して結合することができ、例えば、置換基としてのピリジニル基は、ピリジン環の任意の炭素原子を通して置換基に結合してもよい。

【0070】

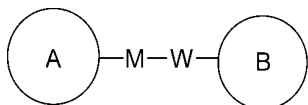
挙げられた連結基がほかの連結方向を明示しない場合、その連結方向は任意であり、例えば、

【化22】



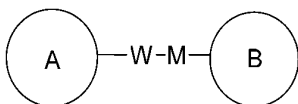
における連結基Lは-M-W-であり、この時-M-W-は左から右への読み取る順序と同じ方向に環Aと環Bを構成

【化23】



することができ、また、左から右への読み取る順序と逆方向に環Aと環Bを構成

【化24】



することもできる。上記連結基、置換基及び/又はその変形体の組み合わせは、このような組み合わせであれば安定した化合物になる場合のみ許容される。

【0071】

特に明記しない限り、ある基が一つ以上の結合可能な部位を有する場合、該基の任意の一つ以上の部位は、化学結合によって他の基に結合することができる。該化学結合の結合方式が非局在であり、且つ結合可能な部位にH原子が存在する場合、化学結合を結合すると、該部位のH原子の個数は、結合された化学結合の個数に応じて相応の価数の基に減少する。前記部位が他の基と結合する化学結合は、  
直線実線結合

10

20

30

40

50

【化 2 5】



直線破線結合

【化 2 6】



又は、

波線

【化 2 7】



10

で表すことができる。例えば、 $-OCH_3$ の直線実線結合は、該基の酸素原子を介して他の基に結合されていることを意味する。

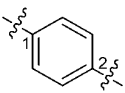
【化 2 8】



中の直線の破線結合は、該基内の窒素原子の両端が他の基に結合されていることを意味する。

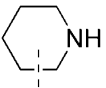
20

【化 2 9】



中の波線は、当該フェニル基の部位 1 と 2 の炭素原子を介して他の基に結合されていることを意味する。

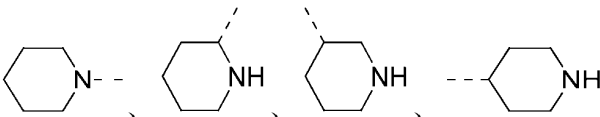
【化 3 0】



30

は、当該ピペリジニル基の任意の結合可能な部位が一つの化学結合によって他の基に結合できることを意味し、少なくとも

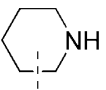
【化 3 1】



40

の四つの結合形態を含み、H原子が - N - に描かれていても、

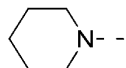
【化 3 2】



には

50

## 【化 3 3】



この結合形態の基が含まれるが、一つの化学結合が接続されると、その部位のHは一つ減少して対応する一価ピペリジン基になる。

## 【0072】

別途に説明しない限り、環内の原子数は一般に環員の数として定義され、例えば、「5～7員環」とは、その周囲に配置された5～7個の原子の「環」を指す。

## 【0073】

別途に定義しない限り、用語「C<sub>1</sub>～<sub>3</sub>アルキル」は直鎖又は分枝鎖の1～3個の炭素原子で構成された飽和炭化水素基を表す。前記C<sub>1</sub>～<sub>3</sub>アルキル基にはC<sub>1</sub>～<sub>2</sub>とC<sub>2</sub>～<sub>3</sub>アルキル基などが含まれ、それは1価（例えばメチル基）、2価（例えばメチレン基）及び多価（例えばメチン基）であってもよい。C<sub>1</sub>～<sub>3</sub>アルキル基の実例は、メチル基（Me）、エチル基（Et）、プロピル（n-プロピル及びイソプロピルを含む）を含むが、これらに限定されない。別途に定義しない限り、「C<sub>2</sub>～<sub>8</sub>アルケニル」は直鎖又は分枝鎖の少なくとも一つの炭素-炭素二重結合を含む2～8個の炭素原子で構成された飽和炭化水素基を表し、炭素-炭素二重結合は基中の任意の位置にあってもよい。

## 【0074】

別途に定義しない限り、用語、「4～6員のヘテロシクロアルキル」自体又は他の用語と組み合わせて4～6個の環原子で構成された飽和環状基であり、その1、2、3及び4個の環原子は独立してO、S及びNから選ばれるヘテロ原子であり、残りは炭素原子である。ここで、窒素原子が任意に四級化されており、窒素及び硫黄ヘテロ原子は任意に酸化される（即ち、NO及びS(O)<sub>p</sub>、pは1又は2である）。それは、単環式及び二環式環系を含み、ここで、二環式環系にはスピロ環、縮合環及び架橋環が含まれる。さらに、「4～6員のヘテロシクロアルキル」に関して、ヘテロ原子はヘテロシクロアルキルと分子他の部分の連結される位置を占めることができる。前記4～6員のヘテロシクロアルキルは5～6員、4員、5員及び6員のヘテロシクロアルキルなどを含む。4～6員のヘテロシクロアルキルの実例は、アゼチジニル、オキサタニル、チエタニル、ピロリジニル、ピラゾリジニル、イミダゾリジニル、テトラヒドロチエニル（テトラヒドロチエン-2-イル及びテトラヒドロチエン-3-イルなどを含む）、テトラヒドロフランニル（テトラヒドロフラン-2-イルなどを含む）、テトラヒドロピラニル、ピペリジニル（1-ピペリジニル、2-ピペリジニル及び3-ピペリジニルなどを含む）、ピペラジニル（1-ピペラジニル及び2-ピペラジニルなどを含む）、モルホリニル（3-モルホリニル及び4-モルホリニルなどを含む）、ジオキサニル、ジチアニル、イソキサゾリジニル、イソチアゾリジニル、1,2-オキサジニル、1,2-チアジニル、ヘキサヒドロピリダジニル、ホモピペラジニル又はホモピペリジニルを含むが、これらに限定されない。

## 【0075】

別途に説明しない限り、本明細書で用いられる以下の用語及び連語は以下の意味を含む。一つの特定の連語又は用語は、特別に定義されない場合、不確定又は不明瞭ではなく、普通の定義として理解されるべきである。本明細書で商品名が出た場合、相応の商品又はその活性成分を指す。

## 【0076】

本発明の中間体化合物は当業者に熟知の様々な合成方法によって製造することができ、以下に挙げられた具体的な実施形態、他の化学合成方法と合わせた実施形態及び当業者に熟知の同等の代替方法を含み、好適な実施形態は本発明の実施例を含むが、これらに限定されない。

## 【0077】

本発明の具体的な実施形態の化学反応は適切な溶媒で完成され、前記の溶媒は本発明の化学変化及びそれに必要な試薬と材料に適するべきである。本発明の化合物を得るため、

当業者が既存の実施形態に基づいて合成工程又は反応スキームを変更又は選択することが必要であることもある。

【0078】

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらの実施例は本発明の何らの制限にもならない。

【0079】

本発明に使用されたすべての溶媒は市販品で、さらに精製せずにそのまま使用してもよい。

【0080】

本発明に使用されたすべての溶媒は市販品から得ることができる。本発明は下記の略語を用いる：EtOHはエタノールを表し、MeOHはメタノールを表し、TFAはトリフルオロ酢酸を表し、TsOHはp-トルエンスルホン酸を表し、mpは融点を表し、EtSO<sub>3</sub>Hはエタンスルホン酸を表し、MeSO<sub>3</sub>Hはメタンスルホン酸を表し、THFはテトラヒドロフランを表し、EtOAcは酢酸エチルを表し、THFはテトラヒドロフランを表し、EAは酢酸エチルを表し、DMApは4-ジメチルアミノピリジンを表し、DCMはジクロロメタンを表し、DIPEAはN,N-ジイソプロピルエチルアミンを表す。

【図面の簡単な説明】

【0081】

【図1】図1は化合物1とTDFの体外併用投与効果図である。

【図2】図2はAAV/HBVマウスの血清HBV DNAに対する試験化合物の28日間の治療効果図である。

【図3】図3はAAV/HBVマウスの肝臓HBV DNAに対する試験化合物の治療効果図である。

【図4】図4はAAV/HBVマウスの血清HBV RNAに対する試験化合物の治療効果図である。

【図5】図5はAAV/HBVモデルマウスの血清における試験化合物の濃度図である。

【図6】図6は各群のマウスの体重変化図である。

【発明を実施するための形態】

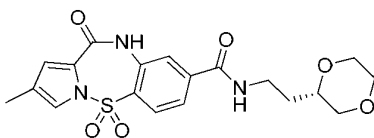
【0082】

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、本発明の不利な制限を意味するものではない。本発明は本明細書で詳細に説明されており、その特定の実施形態も開示されており、当業者にとって、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく、本発明の特定の実施形態において様々な変更及び修正を行うことができることは明らかである。

【0083】

実施例1 化合物1の製造

【化34】



1

【0084】

合成ルート：

10

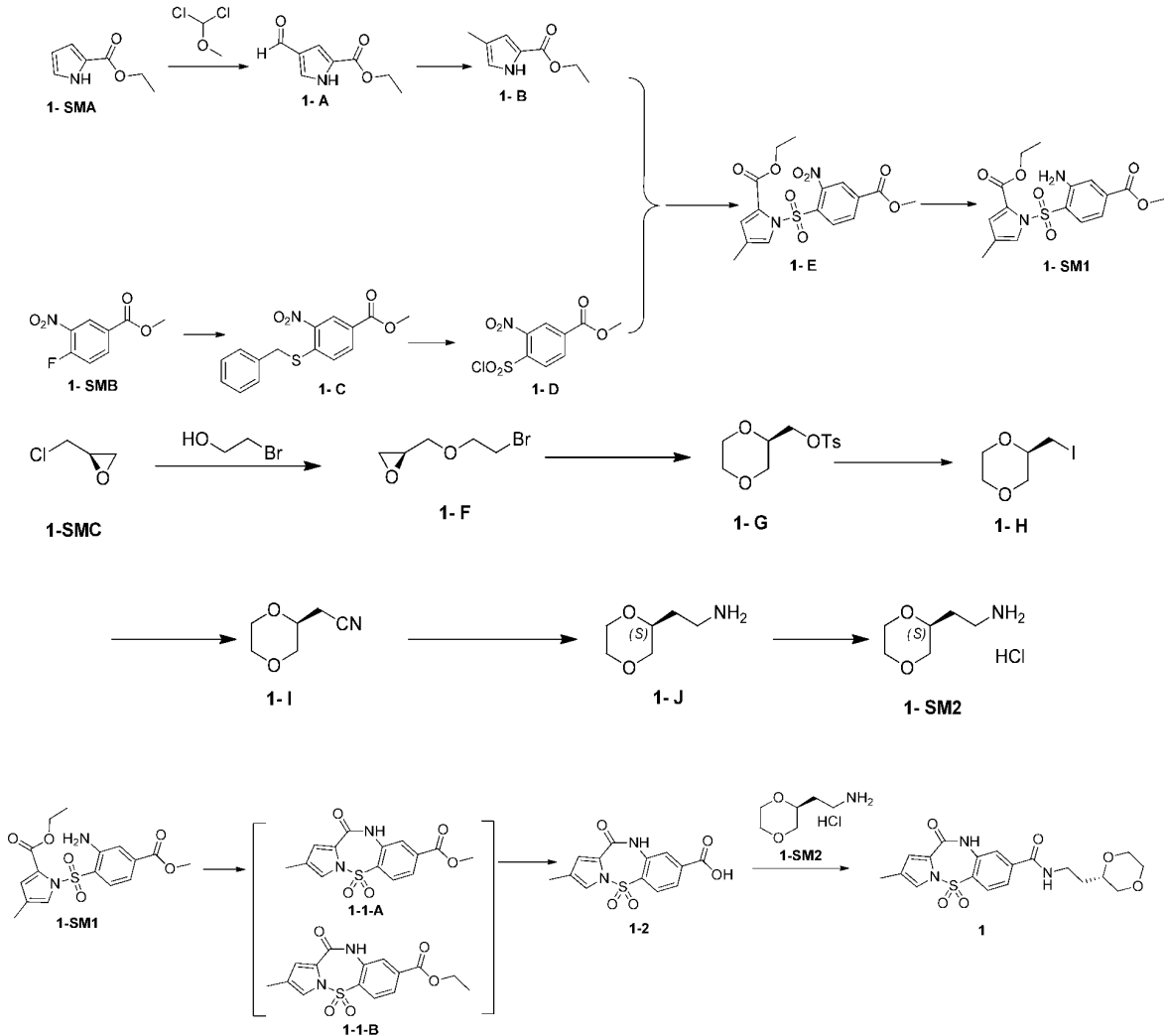
20

30

40

50

## 【化 3 5】



10

20

## 【0085】

ステップ 1：化合物 1 - A の合成

乾いた 10 L の三口フラスコに無水ジクロロメタン (5 L) を加え、攪拌を開始し、化合物 1 - SMA (500.00 g) とニトロメタンを三口フラスコに順次添加し、反応系をドライアイスエタノール浴に入れ、 $-10$  に冷却させた。温度を  $-10 \sim 0$  に制御し、三塩化アルミニウム (1.15 kg) を反応フラスコにゆっくりと添加し、温度を  $-0$  以下に制御し、ジクロロジメチルメチルエーテル (495.00 g) を反応釜にゆっくりと加え、室温までゆっくりと上昇させ、18 時間攪拌した。TLC (PE : EA 3 : 1) モニタリングにより、原料点が消失し、極性の大きい新しい点が生成された。反応液を抜き出し、10% 硫酸水素カリウム溶液 (3 L) にゆっくりと滴下し、20 分間攪拌し、過熱を防ぐためにクラッシュアイスを加えた。混合溶液を 25 L 分液ロートに移し、静置して分離させ、ジクロロメタン層を分離して得、水相をジクロロメタン (2 L  $\times$  2) で抽出した。有機相を 10% 硫酸水素カリウム溶液 (5 L  $\times$  2) で洗浄し、有機相を分離し、無水硫酸ナトリウム (1 kg) で乾燥させた。有機相を減圧濃縮して、暗緑色固体化合物 1 - A を得た。

40

## 【0086】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, 重水素化クロロホルム)  $\delta$  = 9.97 (br s, 1H), 9.87 - 9.82 (m, 1H), 7.58 (dd,  $J = 1.5, 3.3$  Hz, 1H), 7.36 - 7.29 (m, 1H), 4.37 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.38 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

## 【0087】

50

## ステップ 2 : 化合物 1 - B の合成

化合物 1 - A ( 2 k g , 1 1 . 9 6 m o l ) の T H F ( 2 0 L ) 溶液に p - トルエンシルホニルヒドラジド ( 2 . 2 3 k g , 1 1 . 9 6 m o l ) を加えた。2 0 °C で約 1 時間攪拌した。T L C で原料の消失を確認した後、反応系を 6 0 °C に加熱し、その後、シアノ水素化ホウ素ナトリウム ( 9 0 2 g , 1 4 . 3 6 m o l ) をバッチで添加し、添加完了後、反応を 7 0 °C に加熱して 3 時間攪拌した。加熱を停止し、室温まで冷却させた後、5 L の水を加えて反応をクエンチし、T H C の大部分を減圧下で除去し、残留物を E A ( 1 . 5 L × 3 ) で抽出した。有機相を合わせ、飽和塩化ナトリウムで洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。ろ過し、溶媒を減圧下で除去し、粗生成物をカラムクロマトグラフィーで分離して淡黄色固体化合物 1 - B を得た。

10

【 0 0 8 8 】

## ステップ 3 : 化合物 1 - C の合成

メタノール ( 3 2 L ) を 5 0 L ジャケット釜に加え、攪拌を開始し、化合物 1 - S M B ( 4 0 0 0 . 0 0 g ) とジイソプロピルエチルアミン ( 5 . 2 5 L ) を順次に加え、内部温度を 5 ~ 1 0 °C に下げ、ベンジルメルカプタン ( 2 4 9 0 . 0 0 g ) をゆっくりと滴下し、内部温度を 5 ~ 1 5 °C に維持させた。滴下終了後、冷却システムを閉じ、自然に昇温させ、2 . 5 時間攪拌を続けた。攪拌を停止し、回転速度を 1 0 0 r p m に調節し、反応液を放出し、卓上フィルターで濾過し、ケーキを水 ( 5 L ) で 3 回洗浄し、次いで E t O H ( 3 L ) を加えて 1 回洗浄し、ケーキが粘稠でなくなるまで吸引濾過して、淡黄色固体化合物 1 - C を得た。

20

【 0 0 8 9 】

## ステップ 4 : 化合物 1 - D の合成

ジクロロメタン ( 7 . 5 L ) を 5 0 L のジャケット釜に加え、攪拌を開始し、化合物 1 - C ( 1 5 0 0 g ) を加え、内部温度を 0 ~ 1 0 °C に下げ、H C l 溶液 ( 6 M , 4 . 1 2 L ) を加えた。0 ~ 1 0 °C の条件で、次亜塩素酸ナトリウム溶液 ( 市販の 8 % 溶液、2 3 . 0 k g ) を開口で滴下し、滴下終了後、冷却システムを閉じ、開口で約 1 7 時間攪拌を続けた。次いで亜硫酸水素ナトリウム溶液 ( 1 0 0 0 g , 5 L 水溶液 ) をそれに滴下し、ヨウ化カリウムデンプン試験紙で水相に酸化剤が残っていないことを検出した。攪拌を停止し、静置して分離し、ジクロロメタン層を収集し、水層をジクロロメタン ( 2 . 5 L ) で抽出し、ジクロロメタン層を合わせた。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、溶媒を減圧下で除去して白色固体化合物 1 - D を得た。

30

【 0 0 9 0 】

$^1\text{H NMR}$  ( 4 0 0 M H z , 重水素化クロロホルム ) = 8 . 5 0 - 8 . 4 3 ( m , 2 H ) , 8 . 3 4 ( d , J = 8 . 2 H z , 1 H ) , 4 . 0 4 ( s , 3 H ) 。

【 0 0 9 1 】

## ステップ 5 : 化合物 1 - E の合成

テトラヒドロフラン ( 1 0 L ) を乾いた 5 0 L ジャケット釜に加え、攪拌を開始し、化合物 1 - B ( 2 0 0 0 g ) を加え、内部温度を 0 ~ 1 0 °C に下げた。約 1 . 5 時間以内で、温度を 0 ~ 1 5 °C に維持して、カリウム tert - ブトキシド ( 1 M の T H F 溶液、1 5 . 6 7 L ) を加え、終了後、温度を約 2 0 °C まで上げ、1 時間攪拌を続けた。温度を 0 ~ 1 0 °C に下げ、化合物 1 - D ( 4 3 8 0 g ) のテトラヒドロフラン ( 1 0 L ) 溶液をゆっくりと加えた。滴下終了後、ゆっくりと 1 5 °C まで昇温させ、約 1 6 時間攪拌を続けた。酢酸エチル ( 1 0 L ) を加えて抽出し、有機相を飽和塩化ナトリウム溶液 ( 1 0 L ) で 2 回洗浄し、水相を合わせ、E A ( 5 L ) 抽出し、有機相を合わせた。有機相を減圧下で溶媒を除去して、淡黄色固体化合物 1 - E を得た。

40

【 0 0 9 2 】

$^1\text{H NMR}$  ( 4 0 0 M H z , D M S O - d <sub>6</sub> ) = 8 . 5 5 ( d , J = 1 . 4 H z , 1 H ) , 8 . 3 7 ( d d , J = 1 . 5 , 8 . 3 H z , 1 H ) , 7 . 9 1 ( d , J = 8 . 3 H z , 1 H ) , 7 . 6 0 ( s , 1 H ) , 7 . 1 3 ( d

50

,  $J = 1.8 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $4.02$  ( $q$ ,  $J = 7.0 \text{ Hz}$ ,  $2 \text{ H}$ ),  $3.93$  ( $s$ ,  $3 \text{ H}$ ),  $2.10$  ( $s$ ,  $3 \text{ H}$ ),  $1.08$  ( $t$ ,  $J = 7.1 \text{ Hz}$ ,  $3 \text{ H}$ ).

【0093】

ステップ6：化合物1 - SM1の合成

化合物1 - E (1000.0 g)を乾いた10 L三口フラスコに加え、攪拌を開始し、氷酢酸(5 L)を加え、反応内温を25 ~ 30 に制御した。鉄粉末(1 eq、140.9 g)をゆっくりと加え、30分攪拌した後、第2バッチの鉄粉末(0.5 eq、70.44 g)をゆっくりと加え、30分攪拌を続けた後、第3バッチの鉄粉末(0.5 eq、70.44 g)をゆっくりと加え、再び30分攪拌した後、第4バッチの鉄粉末(0.5 eq、70.44 g)を加え、原料が消失するまで攪拌を続けて反応させ、極性の大きな新たな点を生成した。攪拌を停止し、反応液を25 L分液フラスコに移し、10 L酢酸エチルを加え、飽和硫酸水素ナトリウム水溶液5 L × 2で洗浄し、分離し、水相を酢酸エチル5 Lで逆抽出した。有機相を合わせ、10% NaOH水溶液でpH > 8まで洗浄し、有機相を分離して収集した。有機相を減圧濃縮して、白色固体化合物1 - SM1を得た。

10

【0094】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) =  $7.79 - 7.71$  ( $m$ ,  $2 \text{ H}$ ),  $7.50$  ( $d$ ,  $J = 1.8 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $7.14$  ( $dd$ ,  $J = 1.7$ ,  $8.5 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $6.96$  ( $d$ ,  $J = 2.0 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $6.42$  ( $s$ ,  $2 \text{ H}$ ),  $4.11$  ( $q$ ,  $J = 7.2 \text{ Hz}$ ,  $2 \text{ H}$ ),  $3.84$  ( $s$ ,  $3 \text{ H}$ ),  $2.04$  ( $s$ ,  $3 \text{ H}$ ),  $1.16$  ( $t$ ,  $J = 7.1 \text{ Hz}$ ,  $3 \text{ H}$ )

20

【0095】

ステップ7：化合物1 - Fの合成

トルエン(12 L)を乾いた50 Lジャケット釜に加え、攪拌を開始し、2 - プロモエタノール(9930 g)を加え、次いで三フッ化ホウ素エチルエーテル(268 g)を加え、反応を30 ~ 35 に昇温させた。化合物1 - SMC(3500 g)をゆっくりと滴下し、約1.5時間で滴下を完了させ、この時、反応の内部温度は約55 ~ 65 に上げ、ヒーター温度を60 に調節し、内部温度を55 ~ 65 に1時間維持させた。反応系の内部温度を約10 に下げ、反応系内に約20 の水酸化ナトリウム水溶液(3783 g、水17.5 L)をゆっくりと加え、内部温度を10 ~ 20 に維持させた。NaOH溶液を加えた後、温度制御器を停止させ、反応を約16時間攪拌し続けた。攪拌を停止させ、静置し、分離し、水層を2 - メチルテトラヒドロフラン(10 L)で抽出し、有機相を合わせ、水(10 L)で洗浄し、静置し、分離し、有機相を収集した。有機相を減圧濃縮して、無色の油状化合物1 - Fを得た。

30

【0096】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, 重水素化クロロホルム) =  $3.87 - 3.71$  ( $m$ ,  $4 \text{ H}$ ),  $3.66 - 3.59$  ( $m$ ,  $3 \text{ H}$ ),  $3.42$  ( $dd$ ,  $J = 6.0$ ,  $11.7 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $3.20 - 3.13$  ( $m$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $2.79$  ( $t$ ,  $J = 4.6 \text{ Hz}$ ,  $1 \text{ H}$ ),  $2.65 - 2.59$  ( $m$ ,  $1 \text{ H}$ )

40

【0097】

ステップ8：化合物1 - Gの合成

水酸化ナトリウム(3240 g、水15 L)水溶液を50 Lジャケット釜に加え、化合物1 - F(4430 g)を加え、加熱を開始し、反応を90 に昇温させた後、1時間攪拌を続けた。冷却を開始し、約15 まで下げ、p - トルエンスルホニルクロリドのテトラヒドロフラン溶液(6180 g、テトラヒドロフラン15 L)を加え、温度制御器を閉じ、反応を約15 で約16時間攪拌を続けた。攪拌を停止し、静置し、分離し、水相を2 - メチルテトラヒドロフラン(10 L)で抽出し、2 - メチルテトラヒドロフラン相(白色不溶物があり、水で洗浄した後消失した)を水(5 L)で洗浄し、有機相を合わせた。有機相にDMA P(500 g)、トリエチルアミン(2.5 L)を加え、30分間攪拌し、飽和塩化ナトリウム溶液(10 L)を加えて洗浄し、静置して分離し、水相を廃棄し

50

た。有機相を硫酸水素カリウム溶液（3800 g、水15 L）、飽和塩化ナトリウム溶液（5 L × 2）で洗浄し、静置して分離し、有機相を収集した。有機相を減圧濃縮して溶媒を除去し、粗生成物化合物1 - Gを得た。

【0098】

$^1\text{H NMR}$ （400 MHz，重水素化クロロホルム） = 7.77（d，J = 8.3 Hz，2H），7.34（d，J = 8.2 Hz，2H），4.03 - 3.91（m，2H），3.80 - 3.49（m，8H），3.33（dd，J = 9.9，11.4 Hz，1H），2.43（s，3H）

【0099】

ステップ9：化合物1 - Hの合成

アセトン（30 L）を清浄な50 Lジャケット釜に加え、攪拌を開始し、化合物1 - G（4500 g）を加え、次いでヨウ化ナトリウム（6190 g）を加え、加熱を開始し、反応を75 に昇温させた後、16時間攪拌を続けた。室温まで下げた後で濾過し、濾液を50 で減圧濃縮した。濃縮後の粗生成物に酢酸エチル（15 L）、水（10 L）を加え、攪拌し、静置して分離し、有機相を0.5 Mチオ硫酸ナトリウム（10 L）で洗浄した。水相とチオ硫酸ナトリウム溶液を合わせた後、EtOAc（5 L）で抽出した。有機相を合わせ、飽和塩化ナトリウム溶液（10 L）で洗浄し、静置し、分離し、有機相を収取した。有機相を減圧濃縮して溶媒を除去し、粗生成物化合物1 - Hを得た。

【0100】

$^1\text{H NMR}$ （400 MHz，重水素化クロロホルム） = 3.90 - 3.83（m，2H），3.81 - 3.75（m，2H），3.74 - 3.65（m，5H），3.63 - 3.49（m，7H），3.31 - 3.18（m，3H），3.06 - 3.04（m，2H）

【0101】

ステップ10：化合物1 - Iの合成

DMSO（20 L）を清浄な50 Lジャケット釜に加え、攪拌を開始し、化合物1 - H（4700 g）を加え、温度を35 に上げ、次いでシアン化ナトリウム（1010 g）を加え、反応の内部温度を20分以内に約60 まで上げ、その後徐々に35 まで下げ、約16時間攪拌を続けた。反応系内に炭酸水素ナトリウム溶液（炭酸水素ナトリウム2000 g、水10 L）を加え、約5分間攪拌を続け、EtOAc：MeOH（20 L、2 L）を加え、2分間攪拌を続け、約1時間静置した。分離し、下層の溶液を約30 L分離し、EtOAc：MeOH（1回目は15 L：1.5 L、2回目は5 L：0.5 L）で2回抽出した。抽出後の上層有機相及び残りの反応液上層を合わせ、飽和塩化ナトリウム溶液（各10 L）で3回洗浄し、静置し、分離し、水相を廃棄し、有機相を収取した。有機相を減圧して溶媒を除去し、粗生成物をカラムクロマトグラフィーで分離して無色の油状物化合物1 - Iを得た。

【0102】

$^1\text{H NMR}$ （400 MHz，重水素化クロロホルム） = 3.84 - 3.65（m，6H），3.61 - 3.53（m，2H），3.35（t，J = 10.5 Hz，1H），2.49 - 2.44（m，2H）。

【0103】

ステップ11：化合物1 - Jの合成

アルゴンガスの保護下で、ラネーニッケル（10.00 g、116.73 mmol）とEtOH（150 mL）を乾いた水素化フラスコに加え、さらに1 - I（20 g、157.31 mmol）、 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ （13.65 g、97.36 mmol、15.00 mL、25%純度）を反応系に加え、その後置換し、反応を50 psi、50 で3.5時間攪拌した。反応液を珪藻土で濾過し、濾液を減圧濃縮して黄色の油状物化合物1 - Jを得た。

【0104】

$^1\text{H NMR}$ （400 MHz，重水素化クロロホルム） = 3.82 - 3.5

10

20

30

40

50

7 (m, 6H), 3.34 - 3.18 (m, 1H), 2.86 - 2.72 (m, 2H), 1.60 - 1.38 (m, 2H)。

【0105】

ステップ12：化合物1-SM2の合成

1-J (800.00g) を5L三口フラスコに加え、攪拌を開始し、酢酸エチル (800mL) を約0.5時間以内に加え、HCl/EtOAc (1.6L) 4Mを反応系のpH<5までゆっくりと滴下し、内部温度を5~15に維持させた。冷却システムを閉じ、室温まで昇温させ、1時間攪拌を続けた。攪拌を停止し、卓上フィルターで濾過して、ケーキを得た。ケーキを減圧濃縮し(40~45)て、粗生成物を得た。上記生成物にアセトニトリル(2mL/g)を加え、1時間スラリー化させた。卓上フィルターで濾過し、ケーキを採取し、有機溶液を減圧下で除去して、白色固体化合物1-SM2を得た。

10

【0106】

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) = 3.88 - 3.72 (m, 5H), 3.67 - 3.59 (m, 1H), 3.36 - 3.31 (m, 1H), 3.14 (t,  $J = 6.7 \text{ Hz}$ , 2H), 1.87 - 1.67 (m, 2H)。

【0107】

ステップ13：化合物1-1-A及び化合物1-1-Bの合成

トルエン(20L)を乾いた50Lジャケット釜に加え、攪拌を開始し、化合物1-SM1(2500g)を加え、内部温度を30~35に上げた。窒素ガスでパージングして釜内を不活性ガス雰囲気を維持させ、トリメチルアルミニウム(3.0L、Al( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>)添加によりケトルの内部温度が緩やかな上昇)を滴下し、終了後、窒素ガスを閉じ、温度を80~85まで上げ、約16時間攪拌を続けた。冷却を開始し、反応温度を20~30に下げ、反応液の半分の約12Lを移し、EtOAc(10L)を加え、均一に混合した。攪拌しながら、10%KHSO<sub>4</sub>溶液(10L)に混合液を加え、2分間攪拌し、静置し、分離し、有機層をさらに10%KHSO<sub>4</sub>溶液(10L)で洗浄し、水相を合わせ、DCM(各7.5L)を用いて2回抽出した。残りの半分の反応液約12Lを移し、処理方法は上記と同様であり、有機相を合わせ、有機相を減圧濃縮して粗生成物を得、2倍体積のn-ヘプタンを加えて1時間スラリー化させた。濾過し、真空乾燥させた(>12時間、温度40、P=0.1MPa)。化合物1-1-A及び化合物1-1-Bの混合物を得た。

20

30

【0108】

ステップ14：化合物1-2の合成

テトラヒドロフラン(3840mL)を10L三口フラスコに加え、攪拌を開始し、化合物1-1-Aと化合物1-1-Bの混合物(480.00g)を加え、LiOH·H<sub>2</sub>O(118.84g)のH<sub>2</sub>O(960mL)溶液をゆっくりと滴下した。滴下終了後、60まで昇温させ、1時間攪拌し、反応液に濃HClを加え、反応系pHを2に調節し、攪拌を停止した。静置し、分離した。水相をTHF(600mL)で2回抽出し、有機相を合わせた。有機相を減圧濃縮(40~45)し、固体を純水(2mL/g)で0.5時間スラリー化させ、ろ過し、ケーキを真空乾燥させて(>12時間、温度40、P=0.1MPa)、化合物1-2を得た。

40

【0109】

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) = 11.19 (s, 1H), 8.09 (d,  $J = 8.2 \text{ Hz}$ , 1H), 8.00 (d,  $J = 1.6 \text{ Hz}$ , 1H), 7.88 (dd,  $J = 1.5, 8.3 \text{ Hz}$ , 1H), 7.39 (dd,  $J = 1.2, 2.0 \text{ Hz}$ , 1H), 7.01 (d,  $J = 2.0 \text{ Hz}$ , 1H), 2.05 (s, 3H)。

【0110】

ステップ15：化合物1の合成

DMF(2.25L)を5L三口フラスコに加え、開始攪拌し、化合物1-2(400.00g)及びHATU(744.83g)を順次に加えて30分間攪拌し、次いで化合

50

物 1 - S M 2 ( 2 2 9 . 8 6 g ) を加えてた。1 時間以内に、D I P E A ( 5 6 8 . 6 8 m L ) を室温でゆっくりと滴下し、滴下終了後、室温で攪拌し、1 6 時間攪拌した。反応液を分液ロートに移し、酢酸エチル ( 2 L ) と純水 ( 1 L ) を加えて 2 分間攪拌した。静置し、水相を分離した。さらに純水 ( 1 L ) を加えて洗浄し、攪拌し、静置し、分離した。合わせた水相を E t O A c ( 5 0 0 m L ) で 3 回抽出し、有機相を合わせた。有機相を炭酸ナトリウム溶液 ( 1 . 5 L ) で 2 回、硫酸水素カリウム溶液 ( 1 L ) で 2 回、純水 ( 1 L ) で 2 回順次に洗浄した。有機相を減圧濃縮して ( 4 0 ~ 4 5 )、粗生成物を得た。粗生成物に酢酸エチル ( 2 m L / g ) を加え、1 時間スラリー化させた。濾過してケーキを収集し、化合物 1 を得た。

【 0 1 1 1 】

$^1\text{H NMR}$  ( 4 0 0 M H z , D M S O - d <sub>6</sub> ) = 1 1 . 1 3 ( b r s , 1 H ) , 8 . 7 3 ( b r t , J = 5 . 5 H z , 1 H ) , 8 . 0 5 ( d , J = 8 . 2 H z , 1 H ) , 7 . 8 3 ( d , J = 1 . 3 H z , 1 H ) , 7 . 7 4 ( d d , J = 1 . 5 , 8 . 4 H z , 1 H ) , 7 . 3 6 ( s , 1 H ) , 6 . 9 8 ( d , J = 2 . 0 H z , 1 H ) , 3 . 7 1 - 3 . 4 8 ( m , 5 H ) , 3 . 4 5 - 3 . 3 1 ( m , 1 H ) , 3 . 4 5 - 3 . 3 0 ( m , 1 H ) , 3 . 2 7 - 3 . 2 1 ( m , 1 H ) , 3 . 1 4 ( d d , J = 9 . 9 , 1 1 . 2 H z , 1 H ) , 2 . 0 3 ( s , 3 H ) , 1 . 5 3 ( q , J = 7 . 0 H z , 2 H ) 。

【 0 1 1 2 】

生物学的テスト実験

【 0 1 1 3 】

実験例 1 : H B V 阻害活性に対する化合物 1 及びテノホビルジソプロキシルフマル酸塩 ( T e n o f o v i r d i s o p r o x i l f u m a r a t e 、 T D F ) の体外併用投与の研究

【 0 1 1 4 】

1 . 実験方法

1 . 1 1 日目に、H e p G 2 . 2 . 1 5 細胞を 9 6 ウェル細胞培養プレートに 4 0 , 0 0 0 細胞 / ウェルの密度で播種し、その後、細胞を 5 % C O <sub>2</sub>、3 7 ° で一晚培養した。

【 0 1 1 5 】

1 . 2 2 日目に、化合物 1 と T D F をそれぞれ 7 つの異なる濃度 ( 約 8 x、4 x、2 x、1 x、0 . 5 x、0 . 2 5 x、0 . 1 2 5 x E C <sub>50</sub> の濃度勾配を選択 ) で直交比例で配分し、9 6 ウェルプレートに加え、各組み合わせは三つの重複ウェルを設定し、D M S O の最終濃度は 0 . 5 % であった。各化合物の検出濃度は表 1 に示される通りである。

【 0 1 1 6 】

1 . 3 5 日目に、細胞上清液を捨て、化合物を含む新しい培地を加え、細胞を 5 % C O <sub>2</sub>、3 7 ° で 3 日間培養した。8 日目に、化合物処理後の細胞プレートの上清液を Q I A a m p 9 6 D N A B l o o d K i t ( 1 2 ) の説明書に従って、DNA を抽出した。

【 0 1 1 7 】

1 . 4 H B V D N A を q P C R 法で定量化した。H B V プラスミド DNA を標準品とし、標準品 H B V プラスミド DNA 濃度を 1 0 <sup>7</sup> c o p i e s / μ L から 1 0 倍勾配で 7 点希釈した。各標準品の H B V D N A コピー数と C T 値を用いて標準曲線をフィッティングし、各テスト試料中の H B V D N A コピー数を算出した。

【 0 1 1 8 】

M a c S y n e g y ソフトウェア ( P r i c a r d e t a l . , 1 9 9 0 ) を用いて H B V D N A コピー数試験データを処理し、化合物 1 と T D F の併用投与の効果パラメータを分析した。H e p G 2 . 2 . 1 5 細胞に対する化合物の細胞毒性は、C e l l T i t e r - G l o キットを用いて検出した。各細胞ウェルの化学発光強度 ( R L U ) は、キットの説明書の方法に従ってマルチモードマイクロプレートリーダーを用いて検出した。

【 0 1 1 9 】

10

20

30

40

50

## 【表 1】

併用投与テストにおける化合物の検出濃度

化合物	化合物テストの最終濃度 (nM)						
化合物 1	34.09	17.04	8.522	4.261	2.131	1.065	0.533
TDF	64	32	16	8	4	2	1

## 【0120】

10

## 2. 結果

化合物 1 と TDF の体外併用投与による HBV の阻害活性を HepG 2.2.15 細胞を用いて評価した。HBV の阻害活性と細胞毒性に対する医薬の併用投与結果のまとめは表 2 に示される通りであり、併用投与の効果図は図 1 に示される通りである。

## 【0121】

実験の結果は、化合物 1 と TDF の体外併用投与の 95% 信頼空間における相乗指数と拮抗指数はそれぞれ 13.27 と -1.74 であり、プラス作用を示していることを表した。化合物はいずれもテスト濃度内で細胞毒性を示さなかった (表 3 参照)。

## 【0122】

## 【表 2】

20

HBV に対する化合物 1 と TDF の体外併用投与の阻害活性

化合物 a	化合物 b	相乗指数 (95%信頼区間)	拮抗指数 (95%信頼区間)	薬物併用の 総合的効果
化合物 1	TDF	13.27	-1.74	プラス作用

## 【0123】

注：

薬物併用の総合指数の説明：指数の絶対値 < 2.5 の場合、即ち、プラス効果であり、指数の絶対値が 2.5 ~ 5.0 の範囲の場合、即ち、軽度であるが明確な相乗効果又は拮抗効果であり、指数の絶対値が 5.0 ~ 10.0 の範囲の場合、即ち、中程度の相乗作用又は拮抗作用であり、体内作用に重要な意義を持つ可能性がある。指数の絶対値 > 10.0 の場合、即ち、高度の相乗効果又は拮抗効果であり、体内作用に重要な意義を持つ可能性が高い。

30

## 【0124】

40

50

【表 3】

併用投与による細胞毒性試験の平均細胞生存率 (%)

化合物	化合物 1										
	濃度 (nM)	34.09	17.04	8.522	4.261	2.131	1.065	0.533	0		
T D F	64	125.9± 24.5	129.7± 27.6	130.7± 24.6	132.7± 24.6	131± 26.9	133.6± 26.2	130.4± 17.9	127±14	10	
	32	113.2± 18.7	112.4± 18.4	108.4± 15.8	112.1± 18.8	111.7± 18.3	112.8± 16.2	111.7± 13.1	111± 7.3		
	16	109.2± 18.3	112.5± 19.4	113±19	117.2± 21.7	114.9± 16.6	113.8± 15.3	115.5± 10.6	111.4± 7.7		
	8	113.3± 20.2	114.8± 18.5	119± 21.7	119.4± 19.4	124.3± 15.7	122.6± 13.6	123.5± 10.4	116.6± 10.9		
	4	102.5± 15.8	102.5± 15.4	104.6± 15.5	106.9± 12.6	110.2± 9.6	111.2± 8	108.1± 4.7	103.8± 6		20
	2	102.1± 13.6	101.9± 16.3	105± 15.9	107.3± 15	105.7± 10.4	102.2± 8.7	103.2± 2.8	101.1± 2.9		
	1	105.5± 16.7	106.9± 17	106.1± 19.4	107.2± 14.9	109.8± 12.3	108.3± 7.3	105.2± 6.3	103.1± 7.8		
	0	115.2± 17.1	123.1± 20.4	124.3± 14.8	125.1± 11.9	124.5± 8.9	128.1± 3.7	121.5± 7.1	120.9± 5.2		

【0125】

30

## 3. 結論

化合物 1 と T D F の体外併用投与は H B V の阻害活性にプラス効果を示し、化合物はテスト濃度内で細胞毒性を示さなかった。テスト結果は慢性 H B V 感染患者の治療における化合物 1 と T D F の臨床併用を支持した。

【0126】

実験例 2 : A A V / H B V マウスモデルを用いて被験化合物の体内抗 B 型肝炎ウイルス薬効を評価

【0127】

実験材料

【0128】

40

## 1. 動物

5 週齢の特定病原体を含まないオスの C 5 7 B L / 6 マウスであり、S H A N G H A I S L A C L A B O R A T O R Y A N I M A L C O . L T D から購入した。

【0129】

## 2. 溶媒及び化合物

溶媒:

10% ソリ्यूートル水溶液

【0130】

被験化合物:

適量の化合物 1 を上記溶媒に加え、ボルテックスした後、粒子の均一な懸濁液が得られ

50

、製造した濃度は1.0、3.0及び10.0 mg/mLであった。使用まで4 に保存した。化合物1を製造時には、1.0の塩係数、100%の純度に従って計算された。

テノホビルジソプロキシルフマル酸塩(TDF)は、Shanghai Panhong Chemical Technology Co., Ltd.から購入した。適量のTDFを秤量して、生理食塩水に溶解させ、1 mg/mLの母液に調製し、TDFが完全に溶解するまでボルテックスし、1 mL仕様に分注し、-20 で保存した。毎回投与する前に1 mLの母液を採取し、生理食塩水で10倍で0.1 mg/mLの作業液に希釈し、当日の投与に用いた。

#### 【0131】

組換えウイルス rAAV8-1.3HBV

10

rAAV8-1.3HBV(タイプD、ayw)はBeijing Five Plus Molecular Medicine Institute Co. Ltd., 5+MMIから購入し、バッチ番号がx2018032301であり、 $1 \times 10^{12}$  viral genome (v.g.)/mLであった。実験前に無菌PBSで $5 \times 10^{11}$  v.g./mLに希釈させた。各マウスに200  $\mu$ Lを注射し、即ち、各マウスに $1 \times 10^{11}$  v.g.を注射した。

#### 【0132】

### 3. 試験方法

#### AAV/HBVマウスモデルの構築

AAV/HBV注射：rAAV8-1.3HBVは、注射前に予め無菌PBSを用いて $1 \times 10^{11}$  v.g./200  $\mu$ Lの濃度の溶液に調製した。

20

#### 【0133】

感染レベルの検出：

ウイルス注射後14日目と21日目に、血清の採取のためにすべての感染マウスの顎下静脈から $\sim 120 \mu$ Lの血液を採取した。全血を37 インキュベーターに入れて30分間培養した後、13,200  $\times$  g、4 で3分間遠心分離して血清 $\sim 30 \mu$ Lを収集した。血清は-80 に保存され、HBV DNA、HBeAg及びHBsAgの検出に使用された。

#### 【0134】

群分け：

30

ウイルス注射後28日目に、ウイルス注射後14日目及び21日目の血清試料中のHBV DNA、HBsAg及びHBeAgのレベル、及びマウス体重に基づいて群を分けた。

#### 【0135】

実験日の定義：

初回投与日を実験0日目とした。

#### 【0136】

### 4. 体内実験設計

体内実験の投与とサンプリングのスキームは表4に示される通りである。

#### 【0137】

40

【表 4】

体内実験投与及びサンプリングのスキーム

群別	動物数	投与				試料の収集		
		化合物名	投与量 (mg/kg)	投与体積 (mL/kg)	経口投与頻度 及び周期	非終点		終点
						ウイルス 学的検査	薬物代謝 検査	
1	8	溶媒	0	10	1日2回(BID)、 0～27日目	0日目(投 与前)、3日 目、7日目 、14日目に 、血清を収 集した。	第2群：27 日目の最 初の投与 後0時間(投 与前)、 1、4、8、 9、12及び 24時間に 、採血し て血漿を 収集した 。	28日 目、 血清 及び 肝臓 試料 を収 集し た。
2	8	化合物 1	10	10	1日2回、 0～27日目			
3	8	化合物 1	30	10	1日2回、 0～27日目			
4	8	化合物 1	100	10	1日2回、 0～27日目			
5	8	TDF	1	10	1日1回、 0～27日目			
6	8	化合物 1	10	10	1日2回、 0～27日目			
		TDF	1	10	1日1回、 0～27日目			

10

20

## 【0138】

血清サンプルの製造：

血液試料を37℃で～30分間培養した後、4℃、13,200gの条件で3分間遠心分離し、分離した上清をドライアイスで急速凍結した。

## 【0139】

血漿試料の製造と前処理：

血液試料をK<sub>2</sub>EDTAで抗凝固処理した後、4℃、7,000gの条件で10分間遠心分離して上清を分離した。分離した血漿に1：20の比で沈殿剤を加え、[メタノール：アセトニトリル(v:v、50：50)溶液]、ボルテックスして混合し、ドライアイスで急速凍結した。

## 【0140】

体重の記録：

体内実験の過程で、マウスの状態を定期的に観察し、感染、投与、採血、及び実験が終了した日にマウスの体重を記録した。

## 【0141】

心臓採血により血清を収集し、HBV DNA検出に用い、第1、4群中のHBV RNAレベルを検出した。

## 【0142】

5. 試料の分析

1. HBsAg ELISA (Antu Bio、CL 0310) キット説明書で、マウス血清中のHBsAg含有量を検出した。

## 【0143】

2. HBeAg ELISAキット (Antu Bio、CL 0312) 説明書で、マウス血清中のHBeAg含有量を検出した。

## 【0144】

30

40

50

3. マウス血清及び肝臓中のHBV DNA含有量を定量PCRで検出した。

【0145】

【表5】

qPCR反応成分表

PCR反応液成分	1反応系に必要な体積 (μl)
Taqman Universal Master Mix (2×)	5
フォワードプライマー (10 μM)	0.4
リバースプライマー (10 μM)	0.4
プローブ (10 μM)	0.2
AE緩衝液	2
試料	2

10

【0146】

データ分析：

データは、各群の試料の平均 ± 標準誤差として表され、特に明記しない限り、第1～6群：n = 8である。Student's t testを用いて統計分析を行った。

【0147】

20

6. 結果

1) AAV/HBVマウス実験における血清HBV DNAに対する被験化合物の影響

各群のマウスの血清におけるHBV DNAの含有量は図2にまとめられた通りである。

溶媒群 (Group 1) のマウスの血清HBV DNA含有量は投与後安定を維持し、化合物1の単剤群は：溶媒群 (Group 1) と比較して、化合物1の低 (10 mpk、Group 2)、中 (30 mpk)、高 (100 mpk) の3つの用量群のマウス血清中のHBV DNA含有量は投与3日後に用量依存的な低下を示し始め、低、中用量群は投与7日後にHBV DNA含有量が安定性を維持し、高用量群は投与7～28日間血清中のHBV DNA含有量は持続的に低下し、溶媒群 ( $p < 0.01$ ) よりも有意に低かった。

30

【0148】

化合物1とTDFとの併用投与群 (Group 6、10 + 1 mpk) は：溶媒群 (Group 1) と比較して、マウス血清中のHBV DNA含有量は投与3日後に減少し、投与7～28日間血清中のHBV DNA含有量は安定性を維持した。化合物1 (Group 2、10 mpk) 及びTDF (Group 5、1 mpk) 単剤群と比較して、併用投与はマウス血清中のHBV DNA含有量を有意に低下させる効果を示した ( $p < 0.01$ ) 。

【0149】

2) AAV/HBVマウス実験における肝臓中のHBV DNAに対する被験化合物の影響

各群のマウスの肝臓におけるHBV DNAの含有量は図3にまとめられた通りである。

溶媒群 (Group 1) と比較して、投与28日後、化合物1の低 (10 mpk)、中 (30 mpk)、高 (100 mpk) の3つの用量群のマウス肝臓におけるHBV DNA含有量は低下した。化合物1とTDFとの併用投与群 (Group 6、10 + 1 mpk) は、投与28日後、肝臓におけるHBV DNA含有量は化合物1の10 mpk単剤群より有意に低かった ( $p < 0.001$ ) 。

40

【0150】

3) AAV/HBVマウス実験における血清HBV RNAに対する被験化合物の影響

各群のマウス血清におけるHBV RNAの含有量は図4にまとめられる通りである。

溶媒群 (Group 1) と比較して、投与28日後、化合物1の高 (100 mpk) 用量投与群のマウス血清におけるHBV RNA含有量は低下した。

【0151】

50

## 4) AAV/HBVモデルマウスにおける被験化合物の薬物動態解析

第2群のマウス血清中の薬物濃度は図5及び表6にまとめられる通りである。

27日目の、最初の投与後0時間(投与前)、1、4、8、9、12、24時間後、マウス血清における薬物濃度の平均値は、それぞれ78、122200、1630、605、10300、1280及び66nMであった。薬物吸収は投与後1時間でピークに達し、血漿半減期は2.23時間であり、AUC<sub>0-inf</sub>は47600nM・hであった。

【0152】

【表6】

AAV/HBVモデルマウスにおける被験化合物の代謝解析

PKパラメータ	10mg/kg、BID
T <sub>1/2</sub> 計算時間範囲	9~24
C <sub>max</sub> (nM)	12200
T <sub>max</sub> (h)	1.00
T <sub>1/2</sub> (h)	2.23
T <sub>last</sub> (h)	24.0
AUC <sub>0-last</sub> (nM・h)	47300
AUC <sub>0-8</sub> (nM・h)	26000
AUC <sub>0-inf</sub> (nM・h)	47600
MRT <sub>0-last</sub> (h)	6.27
MRT <sub>0-inf</sub> (h)	6.36
AUC <sub>0-inf</sub> /AUC <sub>0-last</sub> (%)	101

10

20

30

【0153】

## 5) マウスの健康及び体重のモニタリング

実験中、マウスの健康状態及び体重を定期的にモニタリングした。

0日目の体重を基準として比較し、マウスの体重変化結果は図6にまとめられる通りである。

投与期間中、全部のマウスの体重は安定しており、有意な減少はなく、マウスの状態は良好であった。

【0154】

注：

マウスの体重変化を-28日目から28日目に記録した(最初の投与日を0日目とした)。0日目の体重を基準として比較し、IACUCの規定により20%の体重減少を人道的エンドポイントとし、マウス体重が20%以上低下した場合、実験から除去する必要があった。

40

【0155】

## 7. 結論

溶媒対照群と比較して、化合物1の治療後のマウスの血清及び肝臓のHBV DNAは有意に減少し、血清の中で用量依存的な傾向を示した。化合物1とTDFとの併用後、効果が化合物1単独治療よりも有意に優れており、良好な併用投与効果を示した。実験期間中、マウスの体重が有意に減少せず、被験化合物に対するマウスの耐性が良好であることを示した。

50

【 0 1 5 6 】

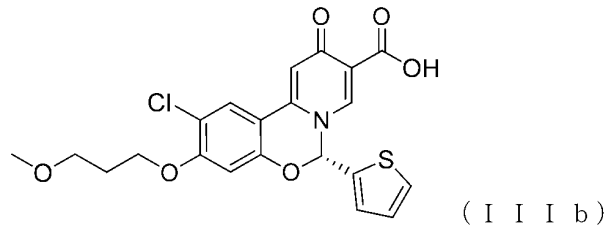
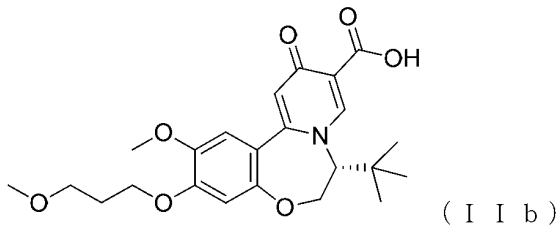
## 8 . 説明

上記実験における T D F を E T V ( エンテカビル ) に置き換えて、化合物 1 と E T V とを併用した体内抗ウイルス効果を得、マウス血清及び肝臓 H B V D N A は有意に低下し、化合物 1 単独治療よりも優れていた。

【 0 1 5 7 】

実験例 3 : 化合物 1 と下記の式 ( I I b ) の化合物、式 ( I I I b ) の化合物の体外併用による H B V 阻害活性に関する研究

【 化 3 6 】



10

【 0 1 5 8 】

## 1 . 実験材料

細胞株 :

H e p G 2 . 2 . 1 5 細胞は W u X i A p p T e c によって構築・提供され、細胞培地は D M E M / F 1 2 培地に 2 % ウシ胎児血清、2 m M グルタミン、1 × 非必須アミノ酸、1 0 0 U / m L ペニシリン及び 1 0 0 g / m L ストレプトマイシンを添加したものであった。

20

【 0 1 5 9 】

試薬 :

本研究で使用された主な試薬には、F a s t S t a r t U n i v e r s a l P r o b e M a s t e r M a s t e r ( R o c h e 、 カ タ ロ グ 番 号 0 4 9 1 4 0 5 8 0 0 1 ) 、 D N A 抽 出 キ ャ ッ ト K i t ( Q i a g e n 、 カ タ ロ グ 番 号 : 5 1 1 6 2 ) 、 C e l l T i t e r - G l o ( P r o m e g a - G 7 5 7 3 ) が含まれた。

30

【 0 1 6 0 】

機器 :

本研究で使用された主な機器は、7 9 0 0 リアルタイム P C R 装置 ( A p p l i e d B i o s y s t e m s ) 、多機能マイクロプレートリーダー ( B i o T e k 、 S y n e r g y 2 ) 、 Q u a n t S t u d i o <sup>T M</sup> 6 F l e x S y s t e m ( A p p l i e d B i o s y s t e m s ) であった。

【 0 1 6 1 】

被験化合物 :

化合物 1 、式 ( I I b ) の化合物、式 ( I I I b ) の化合物。

【 0 1 6 2 】

## 2 . 実験方法

【 0 1 6 3 】

## 2 . 1 化合物単剤の抗 H B V 活性

【 0 1 6 4 】

2 . 1 . 1 1 日目に、H e p G 2 . 2 . 1 5 細胞を 9 6 ウェル細胞培養プレートに 6 0 , 0 0 0 細胞 / ウェルの密度で播種し、その後、細胞を 5 % C O <sub>2</sub> 、3 7 ° C で一晩培養した。2 日目に、化合物 1 と式 ( I I b ) の化合物、式 ( I I I b ) の化合物を希釈し、9 6 ウェルプレートに加え、各組み合わせに三つの重複ウェルを設定し、細胞を 5 % C O <sub>2</sub> 、3 7 ° C の条件で 3 日間培養した。各化合物の検出濃度は表 7 に示される通りである。5 日目に化合物を含む新しい培地に交換し、8 日目に上清を収集した。E L I S A で上清の

50

HBsAgを検出し、同時に上清中のDNAを抽出し、定量PCRを用いて上清中のHBV DNAの含有量を測定した。細胞上清を収集した後、CellTiter-Gloを加えて細胞の生存率を検出した。

【0165】

【表7】

被験化合物単独投与の濃度設定

化合物 (nM)	1	2	3	4	5	6	7	8
化合物1	1000.00	333.33	111.11	37.04	12.35	4.12	1.37	0.46
式(IIb)化合物	1000.00	333.33	111.11	37.04	12.35	4.12	1.37	0.46
式(IIIb)化合物	50.00	16.67	5.56	1.85	0.62	0.21	0.07	0.02

10

【0166】

2.2 化合物併用抗HBV活性

【0167】

2.2.1 1日目に、HepG2.2.15細胞を96ウェル細胞培養プレートに60,000細胞/ウェルの密度で播種し、その後、細胞を5%CO<sub>2</sub>、37℃の条件下で一晩培養した。2日目に、異なる濃度の化合物を加えて細胞を処理した。化合物を勾配で希釈し、7×7濃度の組み合わせで、三つの重複ウェルを設定して平行に測定した。併用活性試験の化合物濃度は、各化合物のEC<sub>50</sub>値に基づき、7つの濃度勾配は、それぞれ約2x、1x、1/2x、1/4x、1/8x、1/16x及び1/32x EC<sub>50</sub>であった。併用活性テスト実験の化合物濃度は表8に示される通りであり、併用投与の配置は表9に示される通りである。5日目に、化合物を含む新鮮な培地に交換した。8日目に、培養上清を収集し、DNAを抽出し、定量PCRによりHBV DNAの含有量を測定した。同時に、CellTiter-Glo試薬で細胞生存率を検出し、MacSynergyソフトウェアを使用して二つの薬物の併用効果を分析した。

20

【0168】

【表8】

被験化合物併用投与の濃度設定

化合物	濃度 (nM)						
	7	6	5	4	3	2	1
化合物1	12	6	3	1.5	0.75	0.375	0.188
式(IIb)化合物	6	3	1.5	0.75	0.375	0.188	0.094
式(IIIb)化合物	1.2	0.6	0.3	0.15	0.075	0.038	0.018

30

40

【0169】

50

【表 9】

## 被験化合物併用投与の配置

R o w	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	a 0 ; b 7	a 7 ; b 7	a 6 ; b 7	a 5 ; b 7	a 4 ; b 7	a 3 ; b 7	a 2 ; b 7	a 1 ; b 7	a 0 ; b 7	a 7 ; b 0	a 0 ; b 0	B G
B	a 0 ; b 6	a 7 ; b 6	a 6 ; b 6	a 5 ; b 6	a 4 ; b 6	a 3 ; b 6	a 2 ; b 6	a 1 ; b 6	a 0 ; b 6	a 6 ; b 0	a 0 ; b 0	B G
C	a 0 ; b 5	a 7 ; b 5	a 6 ; b 5	a 5 ; b 5	a 4 ; b 5	a 3 ; b 5	a 2 ; b 5	a 1 ; b 5	a 0 ; b 5	a 5 ; b 0	a 0 ; b 0	B G
D	a 0 ; b 4	a 7 ; b 4	a 6 ; b 4	a 5 ; b 4	a 4 ; b 4	a 3 ; b 4	a 2 ; b 4	a 1 ; b 4	a 0 ; b 4	a 4 ; b 0	a 0 ; b 0	B G
E	a 0 ; b 3	a 7 ; b 3	a 6 ; b 3	a 5 ; b 3	a 4 ; b 3	a 3 ; b 3	a 2 ; b 3	a 1 ; b 3	a 0 ; b 3	a 3 ; b 0	a 0 ; b 0	B G
F	a 0 ; b 2	a 7 ; b 2	a 6 ; b 2	a 5 ; b 2	a 4 ; b 2	a 3 ; b 2	a 2 ; b 2	a 1 ; b 2	a 0 ; b 2	a 2 ; b 0	a 0 ; b 0	B G
G	a 0 ; b 1	a 7 ; b 1	a 6 ; b 1	a 5 ; b 1	a 4 ; b 1	a 3 ; b 1	a 2 ; b 1	a 1 ; b 1	a 0 ; b 1	a 1 ; b 0	a 0 ; b 0	B G
H	a 0 ; b 0	a 7 ; b 0	a 6 ; b 0	a 5 ; b 0	a 4 ; b 0	a 3 ; b 0	a 2 ; b 0	a 1 ; b 0	a 0 ; b 0	a 0 ; b 0	a 0 ; b 0	B G

10

20

30

## 【 0 1 7 0 】

注：

a = 化合物 1、b = 式 ( I I b ) の化合物又は式 ( I I I b ) の化合物であり、0 は化合物がないことを表し、1 ~ 7 は 7 個の濃度を表す。

## 【 0 1 7 1 】

3 . 実験結果：

H e p G 2 . 2 . 1 5 細胞を用いて、H B V に対する化合物 1 と式 ( I I b ) の化合物、化合物 1 と式 ( I I I b ) の化合物の体外併用投与の阻害活性を評価した。H B V に対する化合物単剤の阻害活性及び細胞毒性は表 1 0 にまとめられる通りであり、H B V に対する併用投与の阻害活性及び細胞毒性の結果は表 1 1 ~ 表 1 3 にまとめられる通りである。

## 【 0 1 7 2 】

40

50

## 【表 1 0】

化合物単剤の抗HBV活性と細胞毒性

被験化合物	HBV DNA EC <sub>50</sub> (nM)	HBsAg EC <sub>50</sub> (nM)	細胞毒性 CC <sub>50</sub> (nM)
化合物 1	6.03	>1000	>1000
式 (I I b) の化合物	1.52	4.90	>1000
式 (I I I b) の化合物	0.78	0.91	>50

10

## 【 0 1 7 3】

## 【表 1 1】

化合物 1 と式 (I I b) の化合物、式 (I I I b) の化合物の併用投与結果  
(99%の信頼区間)

指標	併用	相乗指数	拮抗指数	細胞毒性	結果
HBV DNA	化合物 1 + 式 (I I b) の化合物	7.39	0	なし	プラス
HBV DNA	化合物 1 + 式 (I I I b) の化合物	2.77	-7.31	なし	プラス

20

## 【 0 1 7 4】

注：

薬物併用指数の説明：指数の絶対値 < 2.5 の場合、即ち、プラス効果であり、指数の絶対値が 2.5 ~ 5.0 の範囲の場合、即ち、軽度であるが明確な相乗作用又は拮抗効果を示し、指数の絶対値が 5.0 ~ 10.0 の範囲の場合、即ち、中程度の相乗作用又は拮抗効果を示し、体内効果に重要な意義を持つ可能性がある。指数の絶対値 > 10.0 の場合、即ち、高度の相乗又は拮抗効果を示し、体内効果に重要な意義を持つ可能性が高い。

30

## 【 0 1 7 5】

40

50

【表 1 2】

化合物 1 と式 ( I I b ) の化合物の併用による細胞毒性試験の平均細胞生存率 (%)

化合物	化合物 1									
	濃度 (nM)	12	6	3	1.5	0.75	0.375	0.1875	0	
式 ( I I b ) の化合物	6	104.60± 3.29	110.65± 4.09	111.24± 2.77	108.30± 5.24	104.72± 10.16	107.32± 6.73	110.60± 1.62	111.27± 2.19	10
	3	96.23± 5.87	97.35± 1.48	99.53± 0.62	100.30± 2.29	100.39± 1.38	101.63± 2.84	101.72± 3.39	102.61± 4.65	10
	1.5	96.78± 2.78	100.15± 2.32	100.73± 3.01	99.76± 0.99	100.36± 2.65	98.83± 2.03	103.22± 3.95	104.15± 2.94	20
	0.75	100.70± 2.42	100.30± 0.58	101.31± 4.83	101.51± 2.28	106.55± 2.91	105.83± 3.84	104.84± 2.86	105.36± 1.65	20
	0.375	100.63± 3.24	100.83± 1.50	102.04± 1.76	102.87± 1.67	105.16± 2.52	103.29± 2.78	101.57± 2.93	102.39± 0.92	20
	0.1875	99.83± 5.27	100.86± 2.67	102.44± 2.66	101.94± 4.75	103.76± 3.85	102.48± 3.02	104.81± 3.98	101.98± 2.11	20
	0.09375	96.90± 4.27	95.50± 4.11	97.47± 2.36	96.64± 2.22	100.23± 2.47	97.60± 2.59	102.21± 0.84	101.23± 3.41	20
	0	102.08± 8.49	103.50± 6.49	104.39± 7.05	105.37± 8.80	106.91± 6.98	109.88± 3.82	109.29± 2.25	109.76± 1.63	20

【 0 1 7 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 3】

化合物 1 と式 ( I I I b ) の化合物の併用による細胞毒性試験の平均細胞生存率 (%)

化合物	化合物 1								
	濃度 (nM)	12	6	3	1.5	0.75	0.375	0.1875	0
式 ( I I I b ) の化合物	1.2	110.95± 5.45	112.23± 4.72	113.70± 3.93	112.03± 1.06	110.25± 2.28	112.48± 2.80	112.88± 2.98	112.02± 2.99
	0.6	102.44± 4.62	103.05± 4.11	102.51± 6.12	103.62± 3.13	102.75± 3.52	105.55± 5.15	104.66± 4.40	103.50± 5.95
	0.3	99.66± 5.31	104.61± 4.31	103.85± 3.26	101.30± 5.94	101.01± 4.42	100.77± 5.22	105.16± 3.30	103.14± 6.14
	0.15	103.81± 5.15	108.76± 4.93	106.66± 4.55	107.26± 3.21	109.23± 3.36	110.09± 3.89	105.10± 6.11	105.68± 4.30
	0.075	103.12± 4.19	104.90± 3.36	105.13± 6.65	104.24± 3.69	108.04± 2.39	109.61± 3.02	105.89± 3.68	105.64± 3.61
	0.0375	104.13± 4.37	103.87± 5.20	104.20± 5.09	102.52± 3.80	102.13± 3.02	103.94± 1.76	104.85± 1.22	103.81± 4.25
	0.01875	100.86± 3.97	102.05± 2.76	102.06± 1.87	101.19± 2.25	101.90± 2.14	100.34± 4.33	101.23± 3.54	103.45± 4.84
	0	111.17± 2.41	112.45± 3.65	112.58± 5.37	111.96± 2.92	111.36± 5.07	112.42± 2.82	110.07± 5.45	112.83± 4.86

10

20

## 【 0 1 7 7 】

## 4 . 実験結論

HepG2 . 2 . 15 体外感染HBVモデルにおいて、被験化合物は用量依存的にHBV DNAを阻害し、化合物 1 と式 ( I I b ) の化合物、化合物 1 と式 ( I I I b ) の化合物はプラスの併用結果を示し、併用試験濃度内では細胞毒性を示さなかった。試験結果は、慢性HBV感染の治療における化合物 1 と前記式 ( I I b ) 化合物、式 ( I I I b ) 化合物などのB型肝炎表面抗原阻害剤の、臨床的に併用を支持した。

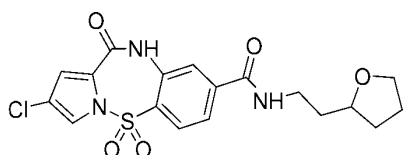
30

## 【 0 1 7 8 】

## 5 . 説明

上記実施形態によれば、化合物 1 を化合物 2

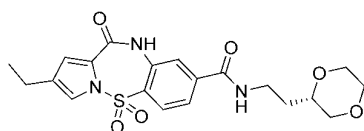
## 【化 3 7】



40

又は、化合物 3

## 【化 3 8】



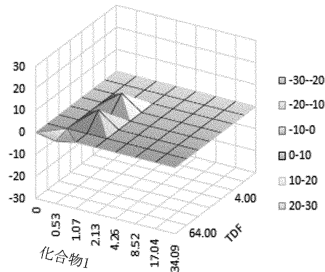
50

に置き換えて、化合物 2 と式 ( I I b ) の化合物、式 ( I I I b ) の化合物との併用投与結果、及び化合物 3 と式 ( I I b ) の化合物、式 ( I I I b ) の化合物との併用投与結果を得、いずれも効果がプラスするデータ結果を示し、かつ併用試験濃度内では細胞毒性を示さなかった。試験結果は、慢性 H B V 感染の治療における化合物 2、化合物 3 などの当該類化合物が前記式 ( I I b ) の化合物、式 ( I I I b ) の化合物などの B 型肝炎表面抗原阻害剤の、臨床的に併用を支持した。

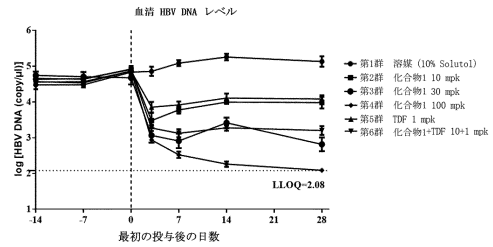
【 図面 】

【 図 1 】

95%信頼空間相乗/拮抗効果図

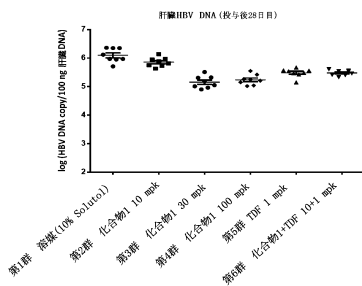


【 図 2 】

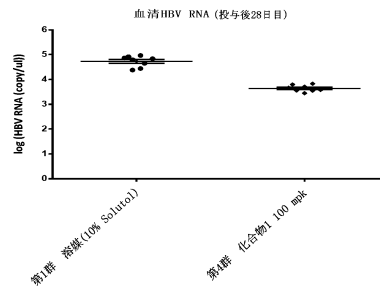


10

【 図 3 】



【 図 4 】



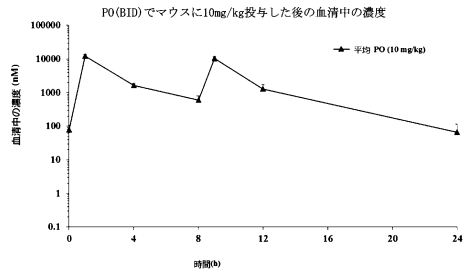
20

30

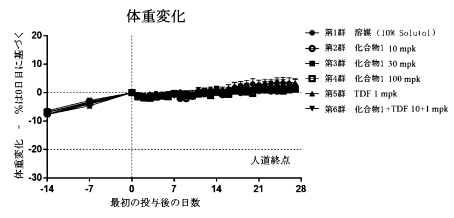
40

50

【図5】



【図6】



10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

		F I		
A 6 1 K	31/675 (2006.01)	A 6 1 K	31/675	
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	31/20 (2006.01)	A 6 1 P	31/20	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 0 7 D	513/04 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
		C 0 7 D	513/04	

## (33)優先権主張国・地域又は機関

中国(CN)

(74)代理人 110001818

弁理士法人 R &amp; C

(72)発明者 呉 文 強

中国 3 5 5 3 0 0 福建省 寧 徳 市 柘 栄 県 富源工 業 園 区 1 7 幢

(72)発明者 張 東

中国 3 5 5 3 0 0 福建省 寧 徳 市 柘 栄 県 富源工 業 園 区 1 7 幢

(72)発明者 馬 志 強

中国 3 5 5 3 0 0 福建省 寧 徳 市 柘 栄 県 富源工 業 園 区 1 7 幢

(72)発明者 周 義 シン

中国 3 5 5 3 0 0 福建省 寧 徳 市 柘 栄 県 富源工 業 園 区 1 7 幢

(72)発明者 毛 偉 忠

中国 3 5 5 3 0 0 福建省 寧 徳 市 柘 栄 県 富源工 業 園 区 1 7 幢

(72)発明者 江 志 ガン

中国 2 0 0 1 3 1 上海市浦 東 新区富特中路 2 8 8 号

(72)発明者 王 静

中国 2 0 0 1 3 1 上海市浦 東 新区富特中路 2 8 8 号

(72)発明者 賀 海 鷹

中国 2 0 0 1 3 1 上海市浦 東 新区富特中路 2 8 8 号

審査官 田澤 俊樹

## (56)参考文献

特表 2 0 2 0 - 5 0 8 3 4 2 ( J P , A )

カナダ国特許出願公開第 3 1 0 9 7 4 6 ( C A , A 1 )

欧州特許出願公開第 3 6 3 2 9 1 4 ( E P , A 1 )

特表 2 0 2 0 - 5 0 9 0 7 5 ( J P , A )

特表 2 0 1 9 - 5 0 1 2 0 2 ( J P , A )

特表 2 0 1 9 - 5 1 1 5 4 2 ( J P , A )

特表 2 0 1 9 - 5 2 6 5 6 2 ( J P , A )

## (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 3 / 4 4

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

C 0 7 D 5 1 3 / 0 4

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T

N )