

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6615755号
(P6615755)

(45) 発行日 令和1年12月4日 (2019. 12. 4)

(24) 登録日 令和1年11月15日 (2019. 11. 15)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 471/04 (2006. 01)

C O 7 D 471/04 1 O 4 Z

A 6 1 K 31/506 (2006. 01)

A 6 1 K 31/506

A 6 1 P 31/16 (2006. 01)

A 6 1 P 31/16

A 6 1 P 43/00 (2006. 01)

A 6 1 P 43/00 1 2 1

A 6 1 P 31/12 (2006. 01)

A 6 1 P 31/12

請求項の数 40 (全 108 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-529944 (P2016-529944)
 (86) (22) 出願日 平成26年11月12日 (2014. 11. 12)
 (65) 公表番号 特表2016-537346 (P2016-537346A)
 (43) 公表日 平成28年12月1日 (2016. 12. 1)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/065114
 (87) 国際公開番号 W02015/073476
 (87) 国際公開日 平成27年5月21日 (2015. 5. 21)
 審査請求日 平成29年11月9日 (2017. 11. 9)
 (31) 優先権主張番号 61/903, 572
 (32) 優先日 平成25年11月13日 (2013. 11. 13)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(73) 特許権者 598032106
 バークテックス ファーマシューティカルズ
 インコーポレイテッド
 VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02
 210, ボストン, ノーザン アベニ
 ュー 50
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

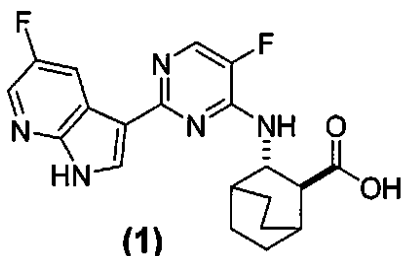
(54) 【発明の名称】 インフルエンザウイルスの複製の阻害剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

化合物 (1) の半水和物の結晶性 H C l 塩の多形体であって、ここで、化合物 (1) は、以下の構造式：

【化 3 2】



によって表され、該化合物 (1) の半水和物の結晶性 H C l 塩の多形体が、 10.5 ± 0.2 、 5.2 ± 0.2 、 7.4 ± 0.2 および 18.9 ± 0.2 度の単位で計測された 2 - シータ値に対応するピークを含む粉末 X 線回折パターンを特徴とする、多形体。

【請求項 2】

前記粉末 X 線回折パターンが、 25.2 ± 0.2 、 16.5 ± 0.2 、 18.1 ± 0.2 および 23.0 ± 0.2 度の単位で計測された 2 - シータ値に対応する 1 つまたはそれを超えるピークをさらに含む、請求項 1 に記載の多形体。

【請求項 3】

前記化合物(1)の半水和物の前記結晶性HCl塩が、 29.2 ± 0.3 ppm、 107.0 ± 0.3 ppm、 114.0 ± 0.3 ppmおよび 150.7 ± 0.3 ppmに対応する1つまたはそれを超えるピークを含む C^{13} SSNMRスペクトルをさらに特徴とする、請求項1または2のいずれかに記載の多形体。

【請求項4】

前記 C^{13} SSNMRスペクトルが、 22.1 ± 0.3 ppm、 24.6 ± 0.3 ppm、 47.7 ± 0.3 ppmおよび 54.8 ± 0.3 ppmに対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに含む、請求項3に記載の多形体。

【請求項5】

請求項1に記載の多形体および少なくとも1つの薬学的に許容され得るキャリアまたは賦形剤を含む、薬学的組成物。

10

【請求項6】

生物学的インビトロサンプルまたは被験体におけるインフルエンザウイルスの量を減少させるための組成物であって、有効量の請求項1～4のいずれか1項に記載の多形体を含み、該組成物は該サンプルまたは被験体に投与されることを特徴とする、組成物。

【請求項7】

生物学的インビトロサンプルまたは被験体におけるインフルエンザウイルスの複製を阻害するための組成物であって、有効量の請求項1～4のいずれか1項に記載の多形体を含み、該組成物は該サンプルまたは被験体に投与されることを特徴とする、組成物。

20

【請求項8】

被験体におけるインフルエンザを処置するための組成物であって、治療有効量の請求項1～4のいずれか1項に記載の多形体を含み、該組成物は該被験体に投与されることを特徴とする、組成物。

【請求項9】

1つまたはそれを超えるさらなる治療薬が前記被験体に共投与されることを特徴とする、請求項6～8のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項10】

前記さらなる治療薬が、抗ウイルス薬を含む、請求項9に記載の組成物。

【請求項11】

前記抗ウイルス薬が、ノイラミニダーゼ阻害剤である、請求項10に記載の組成物。

30

【請求項12】

前記ノイラミニダーゼ阻害剤が、オセルタミビルまたはザナミビルである、請求項11に記載の組成物。

【請求項13】

前記抗ウイルス薬が、ポリメラーゼ阻害剤である、請求項10に記載の組成物。

【請求項14】

前記ポリメラーゼ阻害剤が、ファビピラビルである、請求項13に記載の組成物。

【請求項15】

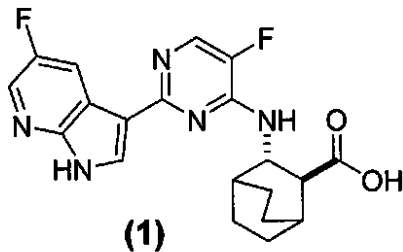
前記インフルエンザウイルスが、インフルエンザAウイルスである、請求項6～14のいずれか1項に記載の組成物。

40

【請求項16】

化合物(1)の半水和物の結晶性HCl塩を調製する方法であって、ここで、化合物(1)は、以下の構造式：

【化 3 3】



によって表され、該方法は、水および１つまたはそれを超える有機溶媒を含む溶媒系において、HClを化合物（１）と混合する工程を含み、ここで、該溶媒系は、 $0.05 \sim 0.85$ の水分活性を有し、該化合物（１）の半水和物の結晶性HCl塩が、 10.5 ± 0.2 、 5.2 ± 0.2 、 7.4 ± 0.2 および 18.9 ± 0.2 度の単位で計測された２-シータ値に対応するピークを含む粉末X線回折パターンを特徴とする、方法。

【請求項 17】

前記溶媒系が、クロロベンゼン、シクロヘキサン、１，２-ジクロロエタン、ジクロロメタン、１，２-ジメトキシエタン、N，N-ジメチルアセトアミド、N，N-ジメチルホルムアミド、１，４-ジオキサン、２-エトキシエタノール、ホルムアミド、ヘキサン、２-メトキシエタノール、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、N-メチルピロリドン、ニトロメタン、ピリジン、スルホラン、テトラヒドロフラン（THF）、テトラリン、トルエン、１，１，２-トリクロロエタンおよびキシレン、酢酸、アセトン、アニソール、１-ブタノール、２-ブタノール、酢酸ブチル、tert-ブチルメチルエーテル、クメン、ヘプタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、３-メチル-１-ブタノール、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、２-メチル-１-プロパノール、酢酸エチル、エチルエーテル、ギ酸エチル、ペンタン、１-ペンタノール、１-プロパノール、２-プロパノール、酢酸プロピル、エタノール、n-プロパノール、イソプロパノールまたはそれらの任意の組み合わせから選択される１つまたはそれを超える有機溶媒を含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記溶媒系が、クロロベンゼン、シクロヘキサン、１，２-ジクロロエタン、ジクロロメタン、１，２-ジメトキシエタン、ホルムアミド、ヘキサン、２-メトキシエタノール、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、ニトロメタン、テトラリン、キシレン、トルエン、１，１，２-トリクロロエタン、アセトン、アニソール、１-ブタノール、２-ブタノール、酢酸ブチル、tert-ブチルメチルエーテル、クメン、エタノール、酢酸エチル、エチルエーテル、ギ酸エチル、ヘプタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、３-メチル-１-ブタノール、メチルエチルケトン、２-メチル-１-プロパノール、ペンタン、１-プロパノール、１-ペンタノール、２-プロパノール、酢酸プロピル、テトラヒドロフラン、メチルテトラヒドロフランまたはそれらの任意の組み合わせから選択される１つまたはそれを超える有機溶媒を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

溶媒系が、２-エトキシエタノール、エチレングリコール、メタノール、２-メトキシエタノール、１-ブタノール、２-ブタノール、３-メチル-１-ブタノール、２-メチル-１-プロパノール、エタノール、１-ペンタノール、１-プロパノール、２-プロパノール、メチルブチルケトン、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、酢酸ブチル、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、ピリジン、トルエン、キシレンまたはそれらの任意の組み合わせから選択される１つまたはそれを超える有機溶媒を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 20】

溶媒系が、アセトン、n-プロパノール、イソプロパノール、酢酸イソブチル、酢酸またはそれらの任意の組み合わせから選択される１つまたはそれを超える有機溶媒を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記溶媒系が、アセトンまたはイソプロパノールから選択される 1 つまたはそれを超える有機溶媒を含む、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記溶媒系が、0.4 ~ 0.6 の水分活性値を有する、請求項 1 6 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記混合が、5 ~ 75 の範囲内の温度において行われる、請求項 1 6 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記 HCl が、水溶液の重量基準で 30 wt % ~ 40 wt % の HCl を有する水溶液として投入される、請求項 1 6 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の多形体を 100 mg ~ 1,600 mg の投与量で含む組成物であって、ここで、該投与量は、被験体に 1 日あたり 1 回、2 回または 3 回投与されることを特徴とする、組成物。

【請求項 2 6】

前記投与量が、300 mg ~ 1,600 mg である、請求項 2 5 に記載の組成物。

【請求項 2 7】

前記投与量が、600 mg ~ 1,200 mg である、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 2 8】

前記投与量が、1 日あたり 1 回投与される、請求項 2 7 に記載の組成物。

【請求項 2 9】

前記投与量が、600 mg または 800 mg である、請求項 2 8 に記載の組成物。

【請求項 3 0】

前記投与量が、300 mg ~ 900 mg である、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 1】

前記投与量が、1 日あたり 2 回投与されることを特徴とする、請求項 3 0 に記載の組成物。

【請求項 3 2】

前記投与量が、400 mg または 600 mg である、請求項 2 6 に記載の組成物。

【請求項 3 3】

前記組成物が、1 日間からインフルエンザシーズン全体までの処置期間にわたって投与されることを特徴とする、請求項 2 5 ~ 3 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 4】

前記処置期間が、3 日間 ~ 14 日間である、請求項 3 3 に記載の組成物。

【請求項 3 5】

前記処置期間が、3 日間、4 日間または 5 日間である、請求項 3 4 に記載の組成物。

【請求項 3 6】

600 mg ~ 1,600 mg の負荷投与量が、1 日目に前記被験体に投与され、400 mg ~ 1,200 mg の投与量が、前記処置期間の残りの期間にわたって該被験体に投与される、請求項 2 5 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 3 7】

900 mg ~ 1,600 mg の負荷投与量が、1 日目に前記被験体に投与され、400 mg ~ 1,200 mg の投与量が、前記処置期間の残りの期間にわたって該被験体に投与される、請求項 3 6 に記載の組成物。

【請求項 3 8】

900 mg または 1,200 mg の負荷投与量が、1 日目に前記被験体に投与され、600 mg ~ 800 mg の投与量が、前記処置期間の残りの期間にわたって該被験体に投与される、請求項 3 7 に記載の組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 39】

900 mg の負荷投与量が、1 日目に前記被験体に投与され、600 mg の投与量が、前記処置期間の残りの期間にわたって該被験体に 1 日 1 回投与される、請求項 38 に記載の組成物。

【請求項 40】

1, 200 mg の負荷投与量が、1 日目に前記被験体に投与され、600 mg の投与量が、前記処置期間の残りの期間にわたって該被験体に 1 日 1 回投与される、請求項 38 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

関連出願への相互参照

本 PCT 出願は、2013 年 11 月 13 日に出願された米国仮出願第 61/903, 572 号の利益を主張する。この文書は本明細書においてその全体が参照として援用される。

【0002】

発明の分野

本発明は、インフルエンザウイルスの複製を阻害するため、患者におけるインフルエンザ感染を処置するためまたはその重症度を低下させるため、および患者におけるインフルエンザ感染を予防的に防ぐためまたはその発生率を低下させるために有用な化合物および固体の形態の化合物に関する。

20

【背景技術】

【0003】

背景

インフルエンザは、季節的流行として世界中に広がり、それによって、毎年数十万人、世界的に流行した年には数百万人が死亡する。例えば、インフルエンザの世界的流行は、20 世紀に 3 度発生し、それにより数千万人が死亡し、これらの世界的流行の各々は、そのウイルスの新しい株がヒトに出現したことが原因だった。これらの新しい株は、既存のインフルエンザウイルスが他の動物種からヒトに伝播することに起因することが多い。

【0004】

30

インフルエンザは、主に、感染者が咳またはくしゃみをしたとき生成される、ウイルスを含む大きな液滴を介して人から人に伝染する；次いで、これらの大きな液滴は、感染者に近い（例えば、約 6 フィート以内の）感染しやすい個体の上気道の粘膜表面上に留まることができる。伝染は、呼吸分泌物との直接的接触または間接的接触（例えば、インフルエンザウイルスで汚染された表面に触れた後、眼、鼻または口に触れること）を介しても生じ得る。成人は、症候が現れる 1 日前から症候が現れ始めておよそ 5 日後まで、インフルエンザを他者に伝播することが可能であり得る。低年齢の小児および免疫系が弱くなっている人は、症候の発生後 10 日間またはそれを超える期間にわたって、感染性であり得る。

【0005】

40

インフルエンザウイルスは、5 つの属：インフルエンザウイルス A、インフルエンザウイルス B、インフルエンザウイルス C、ISA ウイルスおよびトゴトウイルスを含むオルトミクソウイルス科の RNA ウイルスである。

【0006】

インフルエンザウイルス A 属は、1 つの種、インフルエンザ A ウイルスを有する。様々なインフルエンザ A にとって、野生の水鳥が天然の宿主である。時折、ウイルスは、他の種に伝染して、飼いならされた家禽において壊滅的な大流行を引き起こすことがあるか、またはヒトのインフルエンザの世界的大流行を起こすことがある。これらの A 型ウイルスは、3 つのインフルエンザタイプのうち最も病原性のヒト病原体であり、最も重症の疾患を引き起こす。インフルエンザ A ウイルスは、これらのウイルスに対する抗体応答に基づ

50

いて、異なる血清型に細分され得る。ヒトにおいて確認された血清型は、公知の世界的な大流行で死亡した人数の順に：H 1 N 1（1918年のスペインかぜの原因）、H 2 N 2（1957年のアジアかぜの原因）、H 3 N 2（1968年のホンコンかぜの原因）、H 5 N 1（2007～08年のインフルエンザシーズンにおける世界的流行の脅威）、H 7 N 7（珍しい人獣共通感染能を有する）、H 1 N 2（ヒトおよびブタに固有）、H 9 N 2、H 7 N 2、H 7 N 3およびH 10 N 7である。

【0007】

インフルエンザウイルスB属は、1つの種、インフルエンザBウイルスを有する。インフルエンザBは、ほとんどもっぱらヒトに感染し、インフルエンザAよりも一般的でない。インフルエンザBへの感染に感受性であると知られている唯一の他の動物は、アザラシである。このタイプのインフルエンザは、A型よりも2～3倍低い割合で変異し、その結果として、より遺伝的に多様でなく、インフルエンザB血清型は、1つしかない。この抗原性の多様性を欠く結果として、インフルエンザBに対してある程度の免疫が、通常、若年齢で獲得される。しかしながら、インフルエンザBは、持続免疫があり得ないほど十分に変異する。この低い抗原変化率は、その限られた宿主範囲と相まって（異種間の抗原シフトを阻害する）、インフルエンザBの世界的流行を生じなくさせている。

10

【0008】

インフルエンザウイルスC属は、1つの種、インフルエンザCウイルスを有し、これは、ヒトおよびブタに感染し、重症の疾病および地域的流行を引き起こし得る。しかしながら、インフルエンザCは、他のタイプよりも一般的でなく、通常、小児において軽症の疾患を引き起こすとみられる。

20

【0009】

インフルエンザA、BおよびCウイルスは、構造が非常に似ている。そのウイルス粒子は、直径80～120ナノメートルであり、通常、ほぼ球状であるが、繊維状の形態も生じ得る。ウイルスとしては異例なことだが、そのゲノムは、単一の小片の核酸ではない；代わりに、それは、マイナス・センスRNAの7または8つの分節を含む。インフルエンザAのゲノムは、11個のタンパク質：赤血球凝集素（HA）、ノイラミニダーゼ（NA）、核タンパク質（NP）、M1、M2、NS1、NS2（NEP）、PA、PB1、PB1-F2およびPB2をコードする。

【0010】

30

HAおよびNAは、ウイルス粒子の外面上の大きな糖タンパク質である。HAは、ウイルスと標的細胞とが結合し、ウイルスゲノムが標的細胞に進入することを媒介するレクチンであり、NAは、成熟したウイルス粒子に結合する糖を切断することによって、感染した細胞からの子孫ウイルスの放出に関わる。したがって、これらのタンパク質は、抗ウイルス薬に対する標的である。さらに、これらは、抗体を産生させ得る抗原である。インフルエンザAウイルスは、例えばH5N1における、HおよびNの区別（上記参照）の基準をもたらすHAおよびNAに対する抗体応答に基づいて、サブタイプに分類される。

【0011】

インフルエンザは、生産性の損失および関連する医学的処置に起因する直接費用、ならびに予防措置の間接費用を発生させる。米国では、インフルエンザは、1年あたり100億ドルを超える総費用に関与する一方、将来の世界的な大流行が、数千億ドルの直接費用および間接費用を引き起こし得ると推定されている。予防費用もまた高額である。世界中の国家が、薬物およびワクチンの購入、ならびに防災訓練および国境での規制の改善のための戦略の開発に関連する費用とともに、潜在的なH5N1トリインフルエンザの世界的な大流行に対して準備し、計画するのに数十億米ドルを費やしている。

40

【0012】

インフルエンザに対する現行の処置の選択肢としては、ワクチン接種、および抗ウイルス薬剤による化学療法または化学的予防法が挙げられる。インフルエンザワクチンを用いたインフルエンザに対するワクチン接種は、小児および高齢者などの高リスク群に対して、または喘息、糖尿病もしくは心疾患を有する人々において、推奨されることが多い。し

50

かしながら、ワクチン接種を受けてもインフルエンザにかかる可能性がある。ワクチンは、シーズン毎にいくつかの特定のインフルエンザの株に対して再配合されるが、そのシーズンの世界中の人々に活発に感染するすべての株を含めることはおそらくできない。製造業者が、季節的流行に対処するために必要とされる数百万回分を配合し、生産するには、6ヶ月を要し得る；時折、その間に、新しい株または見過ごされた株が顕著になって、人々は、ワクチン接種を受けていたにもかかわらず、感染してしまう（2003～2004年のインフルエンザシーズンにおけるH3N2福建かぜのように）。ワクチン接種の直前に感染する可能性もあるし、ワクチンは、有効になるのに数週間を要し得るので、そのワクチンが予防するはずのまさにその株にかかる可能性もある。

【0013】

10

さらに、これらのインフルエンザワクチンの有効性は、変化する。そのウイルスの高い変異率に起因して、特定のインフルエンザワクチンは、通常、たった数年間しか防御しない。インフルエンザウイルスが、時間が経つにつれて迅速に変化して、異なる株が優勢になるので、1年間にわたって製剤化されたワクチンは、その翌年には無効であることがある。

【0014】

また、RNA校正酵素は存在しないので、インフルエンザvRNAのRNA依存性RNAポリメラーゼは、インフルエンザvRNAのおおよその長さである、およそ10000ヌクレオチド毎に1つのヌクレオチド挿入エラーを起こす。ゆえに、新しく作られたほぼすべてのインフルエンザウイルスは、変異体、すなわち、抗原ドリフトである。1つより

20

【0015】

抗ウイルス薬もまた、インフルエンザを処置するために使用することができ、特にノイラミニダーゼ阻害剤が有効であるが、ウイルスは、標準的な抗ウイルス薬に対して耐性を生じ得る。そのような薬剤は、化学的な誘導体もしくは塩を含む種々の異なる化学的形態を有するように、または種々の物理的形態を有するように、調製され得る。例えば、それらは、非晶質であり得るか、種々の結晶多形を有し得るか、または種々の溶媒和もしくは水和の状態で存在し得る。形態を変更することによって、その物理的特性を変更することが可能であり得る。そのような異なる形態は、特に経口製剤として、異なる特性を有し得る。具体的には、改善された特性（例えば、向上した水溶解度および安定性、薬学的製剤のより良好な加工可能性または調製、ならびに経口的に投与される組成物のバイオアベイラビリティの増大）を示す改善された形態を特定することが望ましい場合がある。上で論じられたそのような改善された特性は、特定の治療効果にとって有益であるように変更され得る。

30

【0016】

抗ウイルス剤の形態を変化させることは、そのような抗ウイルス剤の物理的特性をインフルエンザの処置においてより有用であるように調節する多くの方法のうちの1つであり得る。

40

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0017】

発明の要旨

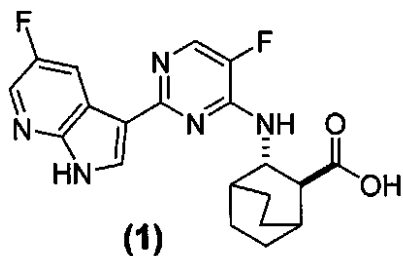
本発明は、概して、多形体（polymorphic forms）の化合物（1）またはその薬学的に許容され得る塩、その薬学的に許容され得る製剤、そのような多形体の化合物（1）を調製する方法、ならびにインフルエンザウイルスの複製を阻害するため、インフルエンザウイルスの量を減少させるためおよびインフルエンザを処置するためのそのような多形体の使用に関する。

50

【 0 0 1 8 】

1つの実施形態において、本発明は、多形体の化合物(1)またはその薬学的に許容され得る塩に関し、ここで、化合物(1)は、以下の構造式：

【 化 1 】



10

によって表され、ここで、その多形体は、A形の化合物(1)・1/2 H₂OのHCl塩、F形の化合物(1)・3 H₂OのHCl塩、D形の化合物(1)のHCl塩、A形の化合物(1)およびA形の化合物(1)のトシレート塩からなる群より選択される。

【 0 0 1 9 】

別の実施形態において、本発明は、本明細書中に開示される多形体の化合物(1)またはその薬学的に許容され得る塩および少なくとも1つの薬学的に許容され得るキャリアまたは賦形剤を含む薬学的に許容され得る製剤に関する。

【 0 0 2 0 】

なおも別の実施形態において、本発明は、生物学的インビトロサンプルまたは患者におけるインフルエンザウイルスの複製を阻害する方法に関する。その方法は、そのサンプルに有効量の本明細書中に開示される多形体の化合物(1)またはその薬学的に許容され得る塩を投与する工程を含む。

20

【 0 0 2 1 】

なおも別の実施形態において、本発明は、生物学的インビトロサンプルまたは患者におけるインフルエンザウイルスの量を減少させる方法に関する。その方法は、そのサンプルに有効量の本明細書中に開示される多形体の化合物(1)またはその薬学的に許容され得る塩を投与する工程を含む。

【 0 0 2 2 】

なおも別の実施形態において、本発明は、患者におけるインフルエンザを処置する方法に関する。その方法は、そのサンプルに有効量の本明細書中に開示される多形体の化合物(1)またはその薬学的に許容され得る塩を投与する工程を含む。

30

【 0 0 2 3 】

なおも別の実施形態において、本発明は、A形の化合物(1)・1/2 H₂OのHCl塩を調製する方法に関する。その方法は、水および1つまたはそれを超える有機溶媒を含む溶媒系においてHClを化合物(1)と混合する工程を含み、ここで、その溶媒系は、0.05～0.85の水分活性を有する。化合物(1)は、溶媒和もしくは非溶媒和であり得、および/または非晶質もしくは結晶性であり得る。

【 0 0 2 4 】

なおも別の実施形態において、本発明は、F形の化合物(1)・3 H₂OのHCl塩を調製する方法に関する。その方法は、水を含むかまたは水および1つまたはそれを超える有機溶媒を含む溶媒系においてHClおよび化合物(1)を混合する工程(ここで、その溶媒系は、0.9に等しいかまたはそれを超える水分活性、例えば、0.9～1.0の水分活性を有する)；あるいは水を含むかまたは水および1つまたはそれを超える有機溶媒を含む溶媒系においてA形の化合物(1)・1/2 H₂OのHCl塩を攪拌する工程(ここで、その溶媒系は、0.9に等しいかまたはそれを超える水分活性、例えば、0.9～1.0の水分活性を有する)を含む。化合物(1)は、溶媒和もしくは非溶媒和であり得、および/または非晶質もしくは結晶性であり得る。

40

【 0 0 2 5 】

なおも別の実施形態において、本発明は、D形の化合物(1)のHCl塩を調製する方

50

法に関する。その方法は、A形の化合物(1)・ $1/2\text{H}_2\text{O}$ のHCl塩を脱水する工程を含む。

【0026】

なおも別の実施形態において、本発明は、A形の化合物(1)を調製する方法に関する。その方法は、水およびエタノールを含む溶媒系において非晶質の化合物(1)または化合物(1)の溶媒和物を撪拌する工程を含む。

【0027】

なおも別の実施形態において、本発明は、A形の化合物(1)のトシレート塩を調製する方法に関する。その方法は、非晶質の化合物(1)または化合物(1)の溶媒和物、p-トルエンスルホン酸、およびアセトニトリルを含む溶媒系の混合物を撪拌する工程を含む。

10

【0028】

化合物(1)の2-メチルTHF溶媒和物も、本発明に包含される。

【0029】

なおも別の実施形態において、本発明は、生物学的インビトロサンプルまたは被験体におけるインフルエンザウイルスの量を減少させる方法に関し、その方法は、そのサンプルに有効量の本明細書中に開示される多形体の化合物(1)を投与する工程を含む。

【0030】

なおも別の実施形態において、本発明は、生物学的インビトロサンプルまたは被験体におけるインフルエンザウイルスの複製を阻害する方法に関し、その方法は、そのサンプルに有効量の本明細書中に開示される多形体の化合物(1)を投与する工程を含む。

20

【0031】

なおも別の実施形態において、本発明は、被験体におけるインフルエンザを処置する方法に関し、その方法は、その被験体に治療有効量の本明細書中に開示される多形体の化合物(1)を投与する工程を含む。

【0032】

本発明は、被験体における、インフルエンザウイルスの複製を阻害するため、インフルエンザウイルスの量を減少させるため、またはインフルエンザを処置するための、本明細書中に開示される多形体の化合物(1)の使用も含む。本発明は、被験体における、インフルエンザウイルスの複製を阻害するため、インフルエンザウイルスの量を減少させるため、またはインフルエンザを処置するための薬を製造するための、本明細書中に開示される多形体の化合物(1)の使用も含む。

30

【0033】

なおも別の態様において、本発明は、 $100\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ の範囲内での、化合物(1)またはその薬学的に許容され得る塩(例えば、A形の化合物(1)・ $1/2\text{H}_2\text{O}$ のHCl塩、F形の化合物(1)・ $3\text{H}_2\text{O}$ のHCl塩、D形の化合物(1)のHCl塩、A形の化合物(1)およびA形の化合物(1)のトシレート塩)の投与レジメンに関する。

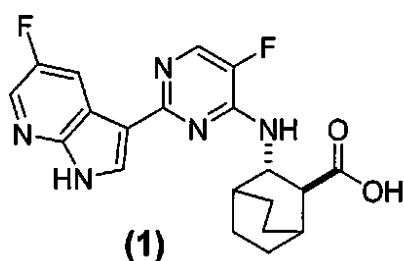
一実施形態において、例えば、以下の項目が提供される。

(項目1)

40

多形体の化合物(1)またはその薬学的に許容され得る塩であって、ここで、化合物(1)は、以下の構造式：

【化32】



50

によって表され、該多形体は、

A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩、

F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩、

D形の化合物(1)のHCl塩、

A形の化合物(1)、および

A形の化合物(1)のトシレート塩

からなる群より選択される、多形体の化合物(1)またはその薬学的に許容され得る塩。

(項目2)

前記多形体が、A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩である、項目1に記載の多形体。

10

(項目3)

A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩が、粉末X線回折パターンにおいて、10.5±0.2、5.2±0.2、7.4±0.2および18.9±0.2度の単位で計測された2-シータ値に対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする、項目2に記載の多形体。

(項目4)

A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩が、粉末X線回折パターンにおいて、25.2±0.2、16.5±0.2、18.1±0.2および23.0±0.2度の単位で計測された2-シータ値に対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする、項目3に記載の多形体。

20

(項目5)

A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩が、¹³C SSNMRスペクトルにおいて、29.2±0.3ppm、107.0±0.3ppm、114.0±0.3ppmおよび150.7±0.3ppmに対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする、項目2～4のいずれかに記載の多形体。

(項目6)

A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩が、¹³C SSNMRスペクトルにおいて、22.1±0.3ppm、24.6±0.3ppm、47.7±0.3ppmおよび54.8±0.3ppmに対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする、項目5に記載の多形体。

30

(項目7)

前記多形体が、F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩である、項目1に記載の多形体。

(項目8)

F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩が、粉末X線回折パターンにおいて、7.1±0.2、11.9±0.2、19.2±0.2および12.4±0.2度の単位で計測された2-シータ値に対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする、項目7に記載の多形体。

(項目9)

F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩が、粉末X線回折パターンにおいて、16.4±0.2、21.8±0.2および23.9±0.2度の単位で計測された2-シータ値に対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする、項目8に記載の多形体。

40

(項目10)

F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩が、¹³C SSNMRスペクトルにおいて、20.7±0.3ppm、27.4±0.3ppm、104.8±0.3ppm、142.5±0.3ppmおよび178.6±0.3ppmに対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする、項目7～9のいずれかに記載の多形体。

(項目11)

F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩が、¹³C SSNMRスペクトルにおいて、

50

154.3 ± 0.3 ppm、20.3 ± 0.3 ppm、132.3 ± 0.3 ppmおよび21.1 ± 0.3 ppmに対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする、項目10に記載の多形体。

(項目12)

前記多形体が、D形の化合物(1)のHCl塩である、項目1に記載の多形体。

(項目13)

D形の化合物(1)のHCl塩が、粉末X線回折パターンにおいて、5.8 ± 0.2、19.5 ± 0.2および17.1 ± 0.2度の単位で計測された2-シート値に対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする、項目12に記載の多形体。

(項目14)

D形の化合物(1)のHCl塩が、粉末X線回折パターンにおいて、5.3 ± 0.2、10.5 ± 0.2および15.9 ± 0.2度の単位で計測された2-シート値に対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする、項目13に記載の多形体。

(項目15)

D形の化合物(1)のHCl塩が、 C^{13} SSNMRスペクトルにおいて、29.4 ± 0.3 ppm、53.4 ± 0.3 ppm、113.3 ± 0.3 ppm、135.4 ± 0.3 ppmおよび177.8 ± 0.3 ppmに対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする、項目12～14のいずれかに記載の多形体。

(項目16)

D形の化合物(1)のHCl塩が、 C^{13} SSNMRスペクトルにおいて、22.9 ± 0.3 ppm、23.9 ± 0.3 ppm、26.0 ± 0.3 ppmおよび31.6 ± 0.3 ppmに対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする、項目15に記載の多形体。

(項目17)

前記多形体が、A形の化合物(1)である、項目1に記載の多形体。

(項目18)

A形の化合物(1)が、粉末X線回折パターンにおいて、15.5 ± 0.2、18.9 ± 0.2および22.0 ± 0.2度の単位で計測された2-シート値に対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする、項目17に記載の多形体。

(項目19)

A形の化合物(1)が、粉末X線回折パターンにおいて、11.8 ± 0.2、16.9 ± 0.2、25.5 ± 0.2および9.1 ± 0.2度の単位で計測された2-シート値に対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする、項目18に記載の多形体。

(項目20)

A形の化合物(1)が、 C^{13} SSNMRスペクトルにおいて、21.0 ± 0.3 ppm、28.5 ± 0.3 ppm、50.4 ± 0.3 ppm、120.8 ± 0.3 ppm、138.5 ± 0.3 ppmおよび176.2 ± 0.3 ppmに対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする、項目17～19のいずれかに記載の多形体。

(項目21)

A形の化合物(1)が、 C^{13} SSNMRスペクトルにおいて、30.1 ± 0.3 ppm、25.9 ± 0.3 ppm、22.8 ± 0.3 ppmおよび25.0 ± 0.3 ppmに対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする、項目20に記載の多形体。

(項目22)

前記多形体が、A形の化合物(1)のトシレート塩である、項目1に記載の多形体。

(項目23)

A形の化合物(1)のトシレート塩が、粉末X線回折パターンにおいて、7.2 ± 0.2、9.3 ± 0.2、13.7 ± 0.2、14.3 ± 0.2、14.7 ± 0.2、16.9 ± 0.2、18.7 ± 0.2、26.3 ± 0.2および26.9 ± 0.2度の単位で計測された2-シート値に対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする、項目22に記載の多形体。

10

20

30

40

50

(項目24)

A形の化合物(1)のトシレート塩が、粉末X線回折パターンにおいて、 6.0 ± 0.2 、 28.0 ± 0.2 および 27.5 ± 0.2 度の単位で計測された2-シート値に対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする、項目23に記載の多形体。

(項目25)

項目1に記載の多形体および少なくとも1つの薬学的に許容され得るキャリアまたは賦形剤を含む、薬学的組成物。

(項目26)

前記多形体が、A形の化合物(1)・ $1/2H_2O$ のHCl塩である、項目25に記載の薬学的組成物。

(項目27)

前記多形体が、F形の化合物(1)・ $3H_2O$ のHCl塩である、項目25に記載の薬学的組成物。

(項目28)

前記多形体が、D形の化合物(1)のHCl塩である、項目25に記載の薬学的組成物。

(項目29)

前記多形体が、A形の化合物(1)である、項目25に記載の薬学的組成物。

(項目30)

前記多形体が、A形の化合物(1)のトシレート塩である、項目25に記載の薬学的組成物。

(項目31)

生物学的インビトロサンプルまたは被験体におけるインフルエンザウイルスの量を減少させる方法であって、該方法は、該サンプルに有効量の項目1～24のいずれか1項に記載の多形体の化合物(1)を投与する工程を含む、方法。

(項目32)

生物学的インビトロサンプルまたは被験体におけるインフルエンザウイルスの複製を阻害する方法であって、該方法は、該サンプルに有効量の項目1～24のいずれか1項に記載の多形体の化合物(1)を投与する工程を含む、方法。

(項目33)

被験体におけるインフルエンザを処置する方法であって、該方法は、該被験体に治療有効量の項目1～24のいずれか1項に記載の多形体の化合物(1)を投与する工程を含む、方法。

(項目34)

1つまたはそれを超えるさらなる治療薬を前記被験体に共投与する工程をさらに含む、項目31～33のいずれか1項に記載の方法。

(項目35)

前記さらなる治療薬が、抗ウイルス薬を含む、項目34に記載の方法。

(項目36)

前記抗ウイルス薬が、ノイラミニダーゼ阻害剤である、項目35に記載の方法。

(項目37)

前記ノイラミニダーゼ阻害剤が、オセルタミビルまたはザナミビルである、項目36に記載の方法。

(項目38)

前記抗ウイルス薬が、ポリメラーゼ阻害剤である、項目35に記載の方法。

(項目39)

前記ポリメラーゼ阻害剤が、ファビピラビルである、項目38に記載の方法。

(項目40)

前記インフルエンザウイルスが、インフルエンザAウイルスである、項目31～39のいずれか1項に記載の方法。

(項目41)

10

20

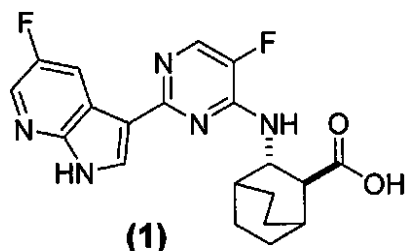
30

40

50

A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩を調製する方法であって、ここで、化合物(1)は、以下の構造式：

【化33】



10

によって表され、該方法は、水および1つまたはそれを超える有機溶媒を含む溶媒系において、HClを化合物(1)と混合する工程を含み、ここで、該溶媒系は、0.05～0.85の水分活性を有する、方法。

(項目42)

前記溶媒系が、クロロベンゼン、シクロヘキサン、1,2-ジクロロエテン、ジクロロメタン、1,2-ジメトキシエタン、N,N-ジメチルアセトアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、1,4-ジオキサン、2-エトキシエタノール、ホルムアミド、ヘキサン、2-メトキシエタノール、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、N-メチルピロリドン、ニトロメタン、ピリジン、スルホラン、テトラヒドロフラン(THF)、テトラリン、トルエン、1,1,2-トリクロロエテンおよびキシレン、酢酸、アセトン、アニソール、1-ブタノール、2-ブタノール、酢酸ブチル、tert-ブチルメチルエーテル、クメン、ヘプタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、3-メチル-1-ブタノール、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、2-メチル-1-プロパノール、酢酸エチル、エチルエーテル、ギ酸エチル、ペンタン、1-ペンタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、酢酸プロピルまたはそれらの任意の組み合わせから選択される1つまたはそれを超える有機溶媒を含む、項目41に記載の方法。

20

(項目43)

前記溶媒系が、クロロベンゼン、シクロヘキサン、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、1,2-ジメトキシエタン、ホルムアミド、ヘキサン、2-メトキシエタノール、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、ニトロメタン、テトラリン、キシレン、トルエン、1,1,2-トリクロロエタン、アセトン、アニソール、1-ブタノール、2-ブタノール、酢酸ブチル、tert-ブチルメチルエーテル、クメン、エタノール、酢酸エチル、エチルエーテル、ギ酸エチル、ヘプタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、3-メチル-1-ブタノール、メチルエチルケトン、2-メチル-1-プロパノール、ペンタン、1-プロパノール、1-ペンタノール、2-プロパノール、酢酸プロピル、テトラヒドロフラン、メチルテトラヒドロフランまたはそれらの任意の組み合わせから選択される1つまたはそれを超える有機溶媒を含む、項目42に記載の方法。

30

(項目44)

溶媒系が、2-エトキシエタノール、エチレングリコール、メタノール、2-メトキシエタノール、1-ブタノール、2-ブタノール、3-メチル-1-ブタノール、2-メチル-1-プロパノール、エタノール、1-ペンタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、メチルブチルケトン、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、酢酸ブチル、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、ピリジン、トルエン、キシレンまたはそれらの任意の組み合わせから選択される1つまたはそれを超える有機溶媒を含む、項目42に記載の方法。

40

(項目45)

溶媒系が、アセトン、n-プロパノール、イソプロパノール、酢酸イソブチル、酢酸またはそれらの任意の組み合わせから選択される1つまたはそれを超える有機溶媒を含む、項目42に記載の方法。

50

(項目 4 6)

前記溶媒系が、アセトンまたはイソプロパノールから選択される 1 つまたはそれを超える有機溶媒を含む、項目 4 2 に記載の方法。

(項目 4 7)

前記溶媒系が、0.4 ~ 0.6 の水分活性値を有する、項目 4 1 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 8)

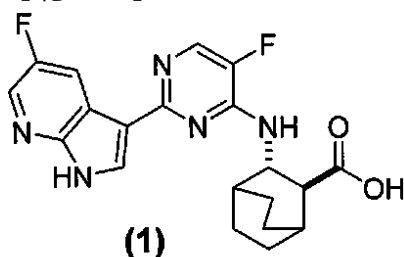
前記混合が、5 ~ 75 の範囲内の温度において行われる、項目 4 1 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 9)

前記 HCl が、水溶液の重量基準で 30 wt % ~ 40 wt % の HCl を有する水溶液として投入される、項目 4 1 ~ 4 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 0)

F 形の化合物 (1) ・ 3 H₂O の HCl 塩を調製する方法であって、ここで、化合物 1 は、以下の構造式：

【化 3 4】

によって表され、該方法は、

(a) 水を含む溶媒系において、HCl および化合物 (1) を混合する工程であって、ここで、該溶媒系は、0.9 に等しいかまたはそれを超える水分活性を有する、工程；または

(b) 水を含む溶媒系において、A 形の化合物 (1) ・ 1 / 2 H₂O の HCl 塩を攪拌する工程であって、ここで、該溶媒系は、0.9 に等しいかまたはそれを超える水分活性を有する、工程を含む、方法。

(項目 5 1)

前記溶媒系が、クロロベンゼン、シクロヘキサン、1,2 - ジクロロエタン、ジクロロメタン、1,2 - ジメトキシエタン、N, N - ジメチルアセトアミド、N, N - ジメチルホルムアミド、1,4 - ジオキサン、2 - エトキシエタノール、ホルムアミド、ヘキサン、2 - メトキシエタノール、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、N - メチルピロリドン、ニトロメタン、ピリジン、スルホラン、テトラヒドロフラン (THF)、テトラリン、トルエン、1,1,2 - トリクロロエタンおよびキシレン、酢酸、アセトン、アニソール、1 - ブタノール、2 - ブタノール、酢酸ブチル、tert - ブチルメチルエーテル、クメン、ヘプタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、3 - メチル - 1 - ブタノール、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、2 - メチル - 1 - プロパノール、酢酸エチル、エチルエーテル、ギ酸エチル、ペンタン、1 - ペンタノール、1 - プロパノール、2 - プロパノール、酢酸プロピルまたはそれらの任意の組み合わせから選択される 1 つまたはそれを超える有機溶媒をさらに含む、項目 5 0 に記載の方法。

(項目 5 2)

前記溶媒系が、クロロベンゼン、シクロヘキサン、1,2 - ジクロロエタン、ジクロロメタン、1,2 - ジメトキシエタン、ホルムアミド、ヘキサン、2 - メトキシエタノール、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、ニトロメタン、テトラリン、キシレン、トルエン、1,1,2 - トリクロロエタン、アセトン、アニソール、1 - ブタノール、2 -

10

20

30

40

50

ブタノール、酢酸ブチル、tert-ブチルメチルエーテル、クメン、エタノール、酢酸エチル、エチルエーテル、ギ酸エチル、ヘプタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、3-メチル-1-ブタノール、メチルエチルケトン、2-メチル-1-プロパノール、ペンタン、1-プロパノール、1-ペンタノール、2-プロパノール、酢酸プロピル、テトラヒドロフランまたはメチルテトラヒドロフランから選択される1つまたはそれを超える有機溶媒をさらに含む、項目51に記載の方法。

(項目53)

前記溶媒系が、2-エトキシエタノール、エチレングリコール、メタノール、2-メトキシエタノール、1-ブタノール、2-ブタノール、3-メチル-1-ブタノール、2-メチル-1-プロパノール、エタノール、1-ペンタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、メチルブチルケトン、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、酢酸ブチル、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、ピリジン、トルエン、キシレンまたはそれらの任意の組み合わせから選択される1つまたはそれを超える有機溶媒をさらに含む、項目51に記載の方法。

10

(項目54)

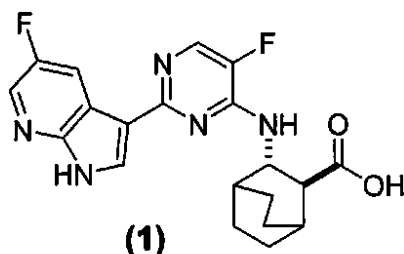
前記溶媒系が、イソプロパノール、アセトンまたはそれらの任意の組み合わせから選択される1つまたはそれを超える有機溶媒をさらに含む、項目51に記載の方法。

(項目55)

D形の化合物(1)のHCl塩を調製する方法であって、ここで、化合物(1)は、以下の構造式：

20

【化35】



によって表され、該方法は、

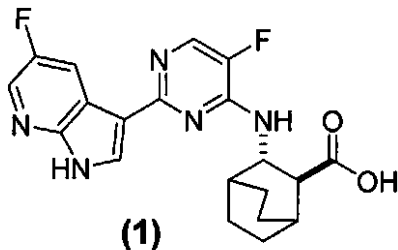
30

A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩を脱水する工程を含む、方法。

(項目56)

A形の化合物(1)を調製する方法であって、ここで、化合物(1)は、以下の構造式：

【化36】



40

によって表され、該方法は、

(a) 水およびエタノールを含む溶媒系において、非晶質の化合物(1)または化合物(1)の溶媒和物を撹拌する工程を含む、方法。

(項目57)

前記撹拌工程が、18 ~ 90 の範囲内の温度において行われる、項目56に記載の方法。

50

(項目58)

前記溶媒系が、該溶媒系の重量基準で5wt%～15wt%の水を含む、項目56または57のいずれかに記載の方法。

(項目59)

(b) ニトロメタン中で非晶形の化合物(1)を撹拌することにより、A形の化合物(1)の種結晶を形成する工程；および

(c) 該A形の化合物(1)の種結晶を前記混合工程(a)で得られた混合物に加える工程

をさらに含む、項目56～58のいずれか1項に記載の方法。

(項目60)

前記撹拌工程(a)が、前記溶媒系の還流温度において行われる、項目56～59のいずれか1項に記載の方法。

(項目61)

(b) ニトロメタン中で前記非晶形の化合物(1)を撹拌することにより、A形の化合物(1)の種結晶を形成する工程；および

(c) 前記混合工程(a)で得られた混合物を18～60の範囲内の温度に冷却する工程；および

(d) 該A形の化合物(1)の種結晶を工程(c)で得られた混合物に加える工程

をさらに含む、項目56～58のいずれかに記載の方法。

(項目62)

水の添加後に、結果として生じる溶媒系が15wt%～25wt%の水を含むことになるのに十分な量の水を、A形の化合物(1)の種結晶を加える前に、前記還流工程を経て得られた混合物に加える工程をさらに含む、項目61に記載の方法。

(項目63)

水の添加後に、結果として生じる溶媒系が35wt%～45wt%の水を含むことになるのに十分な量の水を、A形の化合物(1)の種結晶を含む混合物に加える工程をさらに含む、項目61に記載の方法。

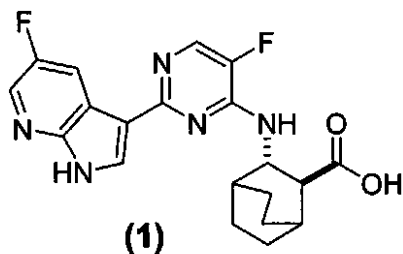
(項目64)

水の添加後に、A形の化合物(1)の種結晶を含む混合物を0～10の温度に冷却する工程をさらに含む、項目61に記載の方法。

(項目65)

A形の化合物(1)のトシレート塩を調製する方法であって、ここで、化合物(1)は、以下の構造式：

【化37】



によって表され、該方法は、非晶質の化合物(1)または化合物(1)の溶媒和物、p-トルエンスルホン酸、およびアセトニトリルを含む溶媒系の混合物を撹拌する工程を含む、方法。

(項目66)

化合物(1)の2-メチルテトラヒドロフラン溶媒和物であって、ここで、化合物(1)は、以下の構造式：

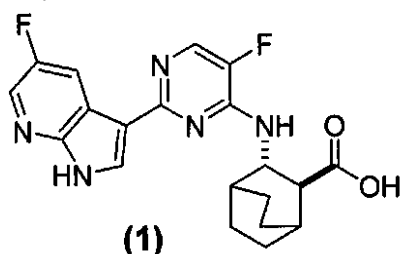
10

20

30

40

【化 3 8】



によって表される、化合物（１）の２－メチルテトラヒドロフラン溶媒和物。

10

（項目 6 7）

項目 1 ～ 2 4 のいずれか 1 項に記載の多形体の化合物（１）またはその薬学的に許容され得る塩を 1 0 0 m g ～ 1 , 6 0 0 m g の投与量で被験体に投与する工程を含む投与レジメンであって、ここで、該投与量は、1 日あたり 1 回、2 回または 3 回投与される、投与レジメン。

（項目 6 8）

前記投与量が、3 0 0 m g ～ 1 , 6 0 0 m g である、項目 6 7 に記載の投与レジメン。

（項目 6 9）

前記投与量が、6 0 0 m g ～ 1 , 2 0 0 m g である、項目 6 8 に記載の投与レジメン。

（項目 7 0）

前記投与量が、1 日あたり 1 回投与される、項目 6 9 に記載の投与レジメン。

20

（項目 7 1）

前記投与量が、6 0 0 m g または 8 0 0 m g である、項目 7 0 に記載の投与レジメン。

（項目 7 2）

前記投与量が、3 0 0 m g ～ 9 0 0 m g である、項目 6 8 に記載の投与レジメン。

（項目 7 3）

前記投与量が、1 日あたり 2 回投与される、項目 7 2 に記載の投与レジメン。

（項目 7 4）

前記投与量が、4 0 0 m g または 6 0 0 m g である、項目 6 8 に記載の投与レジメン。

（項目 7 5）

前記多形体の化合物（１）またはその薬学的に許容され得る塩が、1 日間からインフルエンザシーズン全体までの処置期間にわたって投与される、項目 6 7 ～ 7 4 のいずれか 1 項に記載の投与レジメン。

30

（項目 7 6）

前記処置期間が、3 日間～ 1 4 日間である、項目 7 5 に記載の投与レジメン。

（項目 7 7）

前記処置期間が、3 日間、4 日間または 5 日間である、項目 7 6 に記載の投与レジメン。

（項目 7 8）

6 0 0 m g ～ 1 , 6 0 0 m g の負荷投与量が、1 日目に前記被験体に投与され、4 0 0 m g ～ 1 , 2 0 0 m g の投与量が、前記処置期間の残りの期間にわたって該被験体に投与される、項目 6 7 ～ 7 7 のいずれか 1 項に記載の投与レジメン。

40

（項目 7 9）

9 0 0 m g ～ 1 , 6 0 0 m g の負荷投与量が、1 日目に前記被験体に投与され、4 0 0 m g ～ 1 , 2 0 0 m g の投与量が、前記処置期間の残りの期間にわたって該被験体に投与される、項目 7 8 に記載の投与レジメン。

（項目 8 0）

9 0 0 m g または 1 , 2 0 0 m g の負荷投与量が、1 日目に前記被験体に投与され、6 0 0 m g ～ 8 0 0 m g の投与量が、前記処置期間の残りの期間にわたって該被験体に投与される、項目 7 9 に記載の投与レジメン。

（項目 8 1）

50

900 mg の負荷投与量が、1 日目に前記被験体に投与され、600 mg の投与量が、前記処置期間の残りの期間にわたって該被験体に 1 日 1 回投与される、項目 80 に記載の投与レジメン。

(項目 82)

1, 200 mg の負荷投与量が、1 日目に前記被験体に投与され、600 mg の投与量が、前記処置期間の残りの期間にわたって該被験体に 1 日 1 回投与される、項目 80 に記載の投与レジメン。

【図面の簡単な説明】

【0034】

【図 1】図 1 および 2 は、それぞれ、A 形の化合物 (1)・1/2 H₂O の HCl 塩の粉末 X 線回折 (XRPD) パターンおよび C¹³ 固体核磁気分光法 (C¹³ SSNMR) スペクトルである。

10

【図 2】図 1 および 2 は、それぞれ、A 形の化合物 (1)・1/2 H₂O の HCl 塩の粉末 X 線回折 (XRPD) パターンおよび C¹³ 固体核磁気分光法 (C¹³ SSNMR) スペクトルである。

【0035】

【図 3】図 3 および 4 は、それぞれ、F 形の化合物 (1)・3 H₂O の HCl 塩の XRPD パターンおよび C¹³ SSNMR スペクトルである。

【図 4】図 3 および 4 は、それぞれ、F 形の化合物 (1)・3 H₂O の HCl 塩の XRPD パターンおよび C¹³ SSNMR スペクトルである。

20

【0036】

【図 5】図 5 および 6 は、それぞれ、D 形の化合物 (1) の HCl 塩の XRPD パターンおよび C¹³ SSNMR スペクトルである。

【図 6】図 5 および 6 は、それぞれ、D 形の化合物 (1) の HCl 塩の XRPD パターンおよび C¹³ SSNMR スペクトルである。

【0037】

【図 7】図 7 および 8 は、それぞれ、A 形の化合物 (1) の XRPD パターンおよび C¹³ SSNMR スペクトルである。

【図 8】図 7 および 8 は、それぞれ、A 形の化合物 (1) の XRPD パターンおよび C¹³ SSNMR スペクトルである。

30

【0038】

【図 9】図 9 は、A 形の化合物 (1) のトシレート塩の XRPD パターンである。

【0039】

【図 10】図 10 は、化合物 (1) の 2 - メチルテトラヒドロフラン (2 - MeTHF) 溶媒和物の XRPD パターンである。

【0040】

【図 11】図 11 は、非晶形の化合物 (1) の XRPD パターンである。

【0041】

【図 12】図 12 は、化合物 (1) の HCl 塩の種々の多形の間の転移に対する水分活性に対する温度の状態図である。

40

【0042】

【図 13】図 13 は、ヒトにおける生の弱毒化インフルエンザチャレンジモデルにおける、A 形の化合物 (1)・1/2 H₂O の HCl 塩の 1200 mg / 600 mg の用量群に対する AUC ウイルス排出を示しているグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0043】

発明の詳細な説明

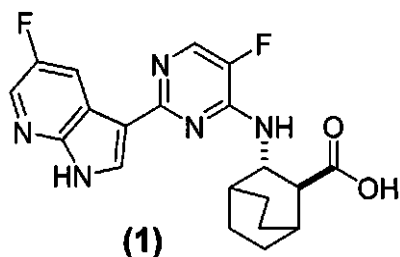
I. 固体形態

【0044】

以下の構造式：

50

【化 2】



によって表される化合物(1)およびその薬学的に許容され得る塩は、インフルエンザウイルスの複製を阻害し得、WO 2010/148197にも記載されている。

10

【0045】

化合物(1)は、種々の多形体(polymorphic forms)で存在し得るか、または種々の多形体を形成し得る。当該分野で公知であるように、多形性は、1つより多い異なる結晶性または「多形性」種として結晶化する化合物の能力である。多形は、固体状態の化合物分子に少なくとも2つの異なる配置または多形体がある、その化合物の固体結晶相である。任意の所与の化合物の多形体は、同じ化学式または組成によって定義されるが、異なる2つの化学的化合物の結晶構造と同程度に化学構造が異なる。一般に、異なる多形は、粉末X線回折(XRPD)パターン、熱重量分析(TGA)および示差走査熱量測定(DSC)などの分析方法によって、またはその融点によって、または当該分野で公知の他の手法によって特徴づけられ得る。本明細書中で使用されるとき、用語「多形体」は、溶媒和物、およびいかなる溶媒和物も有しないニートの(neat)多形体を含む。

20

【0046】

本明細書中で使用されるとき、「化合物(1)」は、遊離塩基の形態の化合物(1)を意味する。したがって、「化合物(1)のHCl塩」は、遊離塩基化合物のHCl塩を意味し、「化合物(1)のトシレート塩」は、遊離塩基化合物のトシレート塩を意味する。別段特定されない限り、化合物(1)および化合物(1)の塩は、溶媒和または非溶媒和であり得ることに注意する。また、別段特定されない限り、化合物(1)および化合物(1)の塩は、結晶性または非晶質であり得ることに注意する。

【0047】

30

1つの実施形態において、本発明は、多形A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩に関する。この形態は、化合物(1)1つあたり半当量(half equivalent)の水を溶媒和物として含む化合物(1)のHCl塩の多形体である。1つの具体的な実施形態において、A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩は、粉末X線回折パターンにおいて、10.5、5.2、7.4および18.9度(±0.2度)の単位で計測された2-シータ値に対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする。別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩は、粉末X線回折パターンにおいて、25.2±0.2、16.5±0.2、18.1±0.2および23.0±0.2度の単位で計測された2-シータ値に対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする。別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩は、以下の表2に列挙される位置に2-シータ±0.2で表される特徴的なピークを有するXRPDパターンを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩は、図1に示されるものと実質的に同じXRPDパターンを有すると特徴づけられる。それらのXRPDパターンは、CuKアルファ線を用いて室温において得られる。なおも別の具体的な実施形態において、多形A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩は、¹³C SSNMRスペクトルにおいて、29.2、107.0、114.0および150.7(±0.3 ppm)に1つまたはそれを超える特徴的なピークを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、多形A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩は、¹³C SSNMRスペクトルにおいて、22.1、24.6、47.7および54.8(±0.3 p

40

50

p m) に 1 つまたはそれを超える特徴的なピークを有するとさらに特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、A 形の化合物 (1) ・ 1 / 2 H₂ O の H C l 塩は、表 3 に列挙される C¹³ S S N M R ピークを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、A 形の化合物 (1) ・ 1 / 2 H₂ O の H C l 塩は、図 2 に示されるものと実質的に同じ C¹³ S S N M R スペクトルを有すると特徴づけられる。

【 0 0 4 8 】

1 つの実施形態において、本発明は、多形 F 形の化合物 (1) ・ 3 H₂ O の H C l 塩に関する。この形態は、化合物 (1) 1 つあたり 3 当量の水を溶媒和物として含む化合物 (1) の H C l 塩の多形体である。1 つの具体的な実施形態において、F 形の化合物 (1) ・ 3 H₂ O の H C l 塩は、粉末 X 線回折パターンにおいて、7 . 1、1 1 . 9、1 9 . 2 および 1 2 . 4 (± 0 . 2) 度の単位で計測された 2 - シータ値に対応する 1 つまたはそれを超えるピークを特徴とする。別の具体的な実施形態において、F 形の化合物 (1) ・ 3 H₂ O の H C l 塩は、粉末 X 線回折パターンにおいて、1 6 . 4、2 1 . 8 および 2 3 . 9 (± 0 . 2) 度の単位で計測された 2 - シータ値に対応する 1 つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする。別の具体的な実施形態において、F 形の化合物 (1) ・ 3 H₂ O の H C l 塩は、以下の表 5 に列挙される位置に 2 - シータ ± 0 . 2 で表される特徴的なピークを有する X R P D パターンを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、F 形の化合物 (1) ・ 3 H₂ O の H C l 塩は、図 3 に示されるものと実質的に同じ X R P D パターンを有すると特徴づけられる。それらの X R P D パターンは、C u K アルファ線を用いて室温において得られる。なおも別の具体的な実施形態において、多形 F 形の化合物 (1) ・ 3 H₂ O の H C l 塩は、C¹³ S S N M R スペクトルにおいて、2 0 . 7、2 7 . 4、1 0 4 . 8、1 4 2 . 5、1 7 8 . 6 (± 0 . 3 p p m) におけるピークを特徴とする。なおも別の具体的な実施形態において、多形 F 形の化合物 (1) ・ 3 H₂ O の H C l 塩は、C¹³ S S N M R スペクトルにおいて、1 5 4 . 3、2 0 . 3、1 3 2 . 3 および 2 1 . 1 (± 0 . 3 p p m) に対応する 1 つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする。なおも別の具体的な実施形態において、F 形の化合物 (1) ・ 3 H₂ O の H C l 塩は、表 6 に列挙される C¹³ S S N M R ピークを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、F 形の化合物 (1) ・ 3 H₂ O の H C l 塩は、図 4 に示されるものと実質的に同じ C¹³ S S N M R スペクトルを有すると特徴づけられる。

【 0 0 4 9 】

1 つの実施形態において、本発明は、多形 D 形の化合物 (1) の H C l 塩に関する。この形態は、化合物 (1) の H C l 塩の非溶媒和の形態である。1 つの具体的な実施形態において、D 形の化合物 (1) の H C l 塩は、粉末 X 線回折パターンにおいて、5 . 8、1 7 . 1 および 1 9 . 5 (± 0 . 2) 度の単位で計測された 2 - シータ値に対応する 1 つまたはそれを超えるピークを特徴とする。別の具体的な実施形態において、D 形の化合物 (1) の H C l 塩は、粉末 X 線回折パターンにおいて、5 . 3、1 0 . 5 および 1 5 . 9 (± 0 . 2) 度の単位で計測された 2 - シータ値に対応する 1 つまたはそれを超えるピークを特徴とする。別の具体的な実施形態において、D 形の化合物 (1) の H C l 塩は、表 7 に列挙される位置に 2 - シータ ± 0 . 2 で表される特徴的なピークを有する X R P D パターンを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、D 形の化合物 (1) の H C l 塩は、図 5 に示されるものと実質的に同じ X R P D パターンを有すると特徴づけられる。それらの X R P D パターンは、C u K アルファ線を用いて室温において得られる。なおも別の具体的な実施形態において、D 形の化合物 (1) の H C l 塩は、C¹³ S S N M R スペクトルにおいて、2 9 . 4、5 3 . 4、1 1 3 . 3、1 3 5 . 4、1 7 7 . 8 (± 0 . 3 p p m) にピークを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、D 形の化合物 (1) の H C l 塩は、C¹³ S S N M R スペクトルにおいて、2 2 . 9、2 3 . 9、2 6 . 0 および 3 1 . 6 (± 0 . 3 p p m) に対応する 1 つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする。なおも別の具体的な実施形態において、D 形の化合物 (1) の H C l 塩は、表 8 に列挙される C¹³ S S N M R ピークを有すると

特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、D形の化合物(1)のHCl塩は、図6に示されるものと実質的に同じ C^{13} SSNMRスペクトルを有すると特徴づけられる。

【0050】

1つの実施形態において、本発明は、多形A形の化合物(1)に関する。この形態は、化合物(1)の非溶媒和の遊離塩基の形態である。1つの具体的な実施形態において、A形の化合物(1)は、粉末X線回折パターンにおいて、 15.5 、 18.9 および 22.0 (± 0.2)度の単位で計測された2-シート値に対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする。別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)は、粉末X線回折パターンにおいて、 11.8 、 16.9 、 25.5 および 9.1 (± 0.2)度の単位で計測された2-シート値に対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする。別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)は、表10に列挙される位置に2-シート ± 0.2 で表される特徴的なピークを有するXRPDパターンを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)は、図7に示されるものと実質的に同じXRPDパターンを有すると特徴づけられる。それらのXRPDパターンは、CuKアルファ線を用いて室温において得られる。なおも別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)は、 C^{13} SSNMRスペクトルにおいて、 21.0 、 28.5 、 50.4 、 120.8 、 138.5 および 176.2 (± 0.3 ppm)にピークを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)は、 C^{13} SSNMRスペクトルにおいて、 30.1 、 25.9 、 22.8 および 25.0 (± 0.3 ppm)にピークを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)は、表11に列挙される C^{13} SSNMRピークを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)は、図8に示されるものと実質的に同じ C^{13} SSNMRスペクトルを有すると特徴づけられる。

【0051】

1つの実施形態において、本発明は、多形A形の化合物(1)のトシレート塩に関する。この形態は、化合物(1)のトシレート塩の非溶媒和の形態である。1つの具体的な実施形態において、A形の化合物(1)のトシレート塩は、粉末X線回折パターンにおいて、 7.2 、 9.3 、 13.7 、 14.3 、 14.7 、 16.9 、 18.7 、 26.3 および 26.9 (± 0.2)度の単位で計測された2-シート値に対応する1つまたはそれを超えるピークを特徴とする。別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)のトシレート塩は、粉末X線回折パターンにおいて、 6.0 、 28.0 および 27.5 (± 0.2)度の単位で計測された2-シート値に対応する1つまたはそれを超えるピークをさらに特徴とする。別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)のトシレート塩は、以下の表14に列挙される位置に2-シート ± 0.2 で表される特徴的なピークを有するXRPDパターンを有すると特徴づけられる。なおも別の具体的な実施形態において、A形の化合物(1)のトシレート塩は、図9に示されるものと実質的に同じXRPDパターンを有すると特徴づけられる。それらのXRPDパターンは、CuKアルファ線を用いて室温において得られる。

【0052】

別の実施形態において、本発明は、A形の化合物(1)・ $1/2 H_2O$ のHCl塩、F形の化合物(1)・ $3 H_2O$ のHCl塩、D形の化合物(1)のHCl塩、A形の化合物(1)およびA形の化合物(1)のトシレート塩を調製する方法に関する。

【0053】

A形の化合物(1)・ $1/2 H_2O$ のHCl塩は、塩化水素(HCl)を化合物(1)と混合する(例えば、攪拌する)工程を用いることによって調製され得る。化合物(1)は、溶媒和であり得るか、非溶媒和であり得るか、非晶質であり得るか、または結晶性であり得る。化合物(1)の溶液、スラリーまたは懸濁液は、水および1つまたはそれを超える有機溶媒を含む溶媒系においてHClと混合され得、ここで、その溶媒系は、0.0

5 に等しいかまたはそれを超え、かつ 0.85 に等しいかまたはそれ未満、すなわち、0.05 ~ 0.85 という水分活性を有する。用語「水分活性」(a_w)は、当該分野で公知であるように本明細書中で使用され、ある溶媒系における水のエネルギー状態の尺度を意味する。それは、ある液体の蒸気圧を同じ温度の純水の蒸気圧で除算したものと定義される。具体的には、それは、

【化 3】

$$a_w = \frac{p}{p_0}$$

と定義され、式中、 p は、その物質における水の蒸気圧であり、 p_0 は、同じ温度の純水の蒸気圧であるか、または $a_w = l_w \times x_w$ と定義され、式中、 l_w は、水の活量係数であり、 x_0 は、水性画分における水のモル分率である。例えば、純水は、1.0 という水分活性値を有する。水分活性値は、代表的には、静電容量式湿度計または露点式湿度計のいずれかによって得ることができる。様々なタイプの水分活性計測機器もまた商業的に入手可能である。あるいは、2 つまたはそれを超える溶媒の混合物の水分活性値は、それらの溶媒の量およびそれらの溶媒の公知の水分活性値に基づいて算出され得る。

【0054】

結晶性化合物 (1) の例としては、A 形の化合物 (1) が挙げられる。化合物 (1) の溶媒和物の例としては、2-MeTHF、N, N-ジメチルアセトアミド (N, N-dimethylacetamide)、N, N-ジメチルホルムアミド、メタノール、キシレン、アセトン、2-ブタノール、酢酸メチル、1-ペンタノール、2-プロパノール、テトラヒドロフラン、メチルテトラヒドロフラン、ジメチルアセトアミド、N, N-ジメチルホルムアミド、1, 4-ジオキサン、1-ペンタノール、2-メチル-1-プロパノール (2-methyl-1-propanol)、メチルエチルケトン、3-メチル-1-ブタノール、ヘプタン、ギ酸エチル、1-ブタノール、酢酸およびエチレングリコールの溶媒和物が挙げられる。具体的な実施形態において、2-MeTHF の溶媒和物 (例えば、化合物 (1) · 1 (2-MeTHF)) が使用される。

【0055】

A 形の化合物 (1) · 1/2 H₂O の HCl 塩の調製に適した溶媒系は、水と有機溶媒との多種多様の組み合わせから構成され得、ここで、それらの溶媒系の水分活性は、0.05 に等しいかまたはそれを超え、かつ 0.85 に等しいかまたはそれ未満 (0.05 ~ 0.85) である。具体的な実施形態において、水分活性の値は、0.4 ~ 0.6 である。好適な有機溶媒としては、医薬品規制調和国際会議のガイドラインに列挙されたクラス II またはクラス III の有機溶媒が挙げられる。好適なクラス II の有機溶媒の具体的な例としては、クロロベンゼン、シクロヘキサン、1, 2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、1, 2-ジメトキシエタン、N, N-ジメチルアセトアミド、N, N-ジメチルホルムアミド、1, 4-ジオキサン、2-エトキシエタノール、ホルムアミド、ヘキサン、2-メトキシエタノール、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、N-メチルピロリドン、ニトロメタン、ピリジン、スルホラン、テトラヒドロフラン (THF)、テトラリン、トルエン (toluene)、1, 1, 2-トリクロロエタンおよびキシレンが挙げられる。好適なクラス III の有機溶媒の具体的な例としては：酢酸、アセトン、アニソール、1-ブタノール、2-ブタノール、酢酸ブチル、tert-ブチルメチルエーテル、クメン、ヘプタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、3-メチル-1-ブタノール、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、2-メチル-1-プロパノール、酢酸エチル、エチルエーテル、ギ酸エチル、ペンタン、1-ペンタノール、1-プロパノール、2-プロパノールおよび酢酸プロピルが挙げられる。1 つの具体的な実施形態において、上記溶媒系の有機溶媒は、クロロベンゼン、シクロヘキサン、1, 2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、1, 2-ジメトキシエタン、ヘキサン、2-メトキシエタノール、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、ニトロメタン、テトラリン、キシレン、トルエン、1, 1, 2-トリクロロエタン、アセトン、アニソール、1-ブタノール、2-ブタノール、酢酸ブチル、t-ブチルメチルエーテル、クメン、エタノール、

酢酸エチル、エチルエーテル、ギ酸エチル、ヘブタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、3-メチル-1-ブタノール、メチルエチルケトン、2-メチル-1-プロパノール、ペンタン、1-プロパノール、1-ペンタノール、2-プロパノール、酢酸プロピル、テトラヒドロフランおよびメチルテトラヒドロフランからなる群より選択される。別の具体的な実施形態において、上記溶媒系の有機溶媒は、2-エトキシエタノール、エチレングリコール、メタノール、2-メトキシエタノール、1-ブタノール、2-ブタノール、3-メチル-1-ブタノール、2-メチル-1-プロパノール、エタノール、1-ペンタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、メチルブチルケトン、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、酢酸ブチル、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、ピリジン、トルエンおよびキシレンからなる群より選択される。なおも別の実施形態において、上記有機溶媒は、アセトン、*n*-プロパノール、イソプロパノール、酢酸イソブチルおよび酢酸からなる群より選択される。なおも別の実施形態において、上記有機溶媒は、アセトンおよびイソプロパノールからなる群より選択される。なおも別の具体的な実施形態において、溶媒系は、水および(*a n*)アセトンを含む。なおも別の具体的な実施形態において、溶媒系は、水およびイソプロパノールを含む。

10

【0056】

A形の化合物(1)・ $1/2 H_2O$ のHCl塩の調製は、任意の好適な温度において行われ得る。代表的には、それは、5 ~ 75 の温度において行われる。具体的な実施形態において、それは、15 ~ 75 の温度において行われる。別の具体的な実施形態において、それは、15 ~ 60 の温度において行われる。なおも別の具体的な実施形態において、それは、15 ~ 35 の温度において行われる。なおも別の具体的な実施形態において、その調製は、0.4 ~ 0.6の水分活性値を有する溶媒系において5 ~ 75 において行われる。なおも別の具体的な実施形態において、その調製は、0.4 ~ 0.6の水分活性値を有する溶媒系において15 ~ 75 において行われる。なおも別の具体的な実施形態において、その調製は、0.4 ~ 0.6の水分活性値を有する溶媒系において15 ~ 60 において行われる。なおも別の具体的な実施形態において、その調製は、0.4 ~ 0.6の水分活性値を有する溶媒系において15 ~ 35 において行われる。

20

【0057】

塩化水素(HCl)は、溶液または気体として投入され得る。1つの例として、好適な塩化水素源は、水溶液の重量基準で30 ~ 40 wt % (例えば、34 wt % ~ 38 wt %)のHClを含む塩化水素の水溶液である。

30

【0058】

F形の化合物(1)・ $3 H_2O$ のHCl塩は、水を含むかまたは水および1つまたはそれを超える有機溶媒を含む溶媒系においてHClおよび化合物(1)を混合することによって調製され得、ここで、その溶媒系は、0.9に等しいかまたはそれを超える(0.9)水分活性を有する。その混合物は、溶液、スラリーまたは懸濁液であり得る。化合物(1)は、溶媒和であり得るか、非溶媒和であり得るか、非晶質であり得るか、または結晶性であり得る。あるいは、それは、水を含むかまたは水および1つまたはそれを超える有機溶媒を含む溶媒系においてA形の化合物(1)・ $1/2 H_2O$ のHCl塩を攪拌することによって調製され得、ここで、その溶媒系は、0.9に等しいかまたはそれを超える水分活性を有する。代表的には、純水は、1.0という水分活性値を有する。したがって、0.9 ~ 1.0の水分活性を有する溶媒系が、F形の化合物(1)・ $3 H_2O$ のHCl塩の調製にとって好適であり得る。具体的な実施形態において、混合または攪拌は、周囲温度(18 ~ 25)において行われる。別の具体的な実施形態において、混合または攪拌は、15 ~ 30 の温度において行われる。別の具体的な実施形態において、混合または攪拌は、20 ~ 28 の温度(例えば、25)において行われる。F形の化合物(1)・ $3 H_2O$ のHCl塩を形成するために好適な有機溶媒(具体的な例を含む)は、A形の化合物(1)・ $1/2 H_2O$ のHCl塩に対して上に記載されたとおりである。

40

50

なおも別の具体的な実施形態において、溶媒系は、水およびアセトンを含む。なおも別の具体的な実施形態において、溶媒系は、水およびイソプロパノールを含む。

【0059】

D形の化合物(1)のHCl塩は、A形の化合物(1)・ $1/2H_2O$ のHCl塩を脱水することによって調製され得る。その脱水は、任意の好適な手段(例えば、加熱もしくは乾燥窒素パージまたはその両方)によって行われ得る。

【0060】

A形の化合物(1)は、(a)水およびエタノールを含む溶媒系において、非晶質化合物(1)の混合物または化合物(1)の溶媒和物(例えば、化合物(1)の2-MeTHF溶媒和物)を撹拌することによって調製され得る。その混合物は、溶液またはスラリーであり得る。具体的な実施形態において、撹拌工程は、 $18 \sim 90$ の範囲内の温度において行われる。別の具体的な実施形態において、撹拌工程(a)は、溶媒系の還流温度において行われる。別の具体的な実施形態において、溶媒系は、溶媒系の重量基準で $5wt\% \sim 15wt\%$ の水を含む。化合物(1)の溶媒和物の例は、上に記載されたとおりである。具体的な実施形態において、2-MeTHFの溶媒和物(例えば、化合物(1)・ $1(2-MeTHF)$)が使用される。

【0061】

別の実施形態において、A形の化合物(1)を調製する方法は、(b)非晶形の化合物(1)をニトロメタン中で撹拌することにより、A形の化合物(1)の種結晶を形成する工程；および(c)そのA形の化合物(1)の種結晶を、混合工程(a)で得られた混合物に加える工程をさらに含む。具体的な実施形態において、その方法は、(b)非晶形の化合物(1)をニトロメタン中で撹拌することにより、A形の化合物(1)の種結晶を形成する工程；(c)混合工程(a)で得られた混合物を $18 \sim 60$ (例えば、 $50 \sim 55$ または 55)の範囲内の温度に冷却する工程；および(d)工程(c)で得られた混合物にA形の化合物(1)の種結晶を加える工程をさらに含む。別の具体的な実施形態において、その方法は、水の添加後に、結果として生じる溶媒系が水を $15 \sim 25wt\%$ 含むこととなるような量の水を、A形の化合物(1)の種結晶を加える前に、還流工程を経て得られた混合物に加える工程をさらに含む。なおも別の具体的な実施形態において、その方法は、水の添加後に、結果として生じる溶媒系が水を $35 \sim 45wt\%$ 含むこととなるような量の水を、A形の化合物(1)の種結晶を含む混合物に加える工程をさらに含む。なおも別の具体的な実施形態において、その方法は、水の添加後の、A形の化合物(1)の種結晶を含む混合物を、 $0 \sim 10$ の温度に冷却する工程をさらに含む。

【0062】

1つの具体的な実施形態において、A形の化合物(1)の種結晶は、ニトロメタン中の化合物(1)の2-MeTHF溶媒和物によって調製され得る。1つの実施形態において、還流工程のための溶媒系は、溶媒系の重量基準で $5 \sim 15wt\%$ (例えば、 $8wt\%$ 、 $10wt\%$ 、または $12wt\%$)の水を含む。

【0063】

A形の化合物(1)のトシレート塩は、非晶質の化合物(1)または化合物(1)の溶媒和物(例えば、化合物(1)の2-MeTHF溶媒和物)と、p-トルエンスルホン酸と、アセトニトリルを含む溶媒系との混合物を撹拌することによって調製され得る。具体的な実施形態において、混合工程または撹拌工程は、周囲温度において行われる。別の具体的な実施形態において、混合工程または撹拌工程は、 $15 \sim 30$ の温度において行われる。別の具体的な実施形態において、混合工程または撹拌工程は、 $20 \sim 30$ (例えば、 25)の温度において行われる。化合物(1)の溶媒和物の好適な例(具体的な例を含む)は、A形の化合物(1)の調製に対して上に記載されたとおりである。

【0064】

なおも別の実施形態において、本発明は、化合物(1)の2-MeTHF溶媒和物に関する。1つの具体的な実施形態において、その溶媒和物は、化合物(1)1つあたり $0.5 \sim 1.5$ 当量の2-MeTHF、例えば、化合物(1)1つあたり1当量の2-MeT

10

20

30

40

50

H Fを含む。1つの具体的な実施形態において、その溶媒和物は、1当量の2-M e T H Fを含み、以下の位置、8 . 4、9 . 7、16 . 7、16 . 9、17 . 4、21 . 0、22 . 3および25 . 7に2 - シータ ± 0 . 2で表される特徴的なピークを有するX R P Dパターンを有すると特徴づけられる。別の具体的な実施形態において、その溶媒和物は、1当量の2 - M e T H Fを含み、表12に列挙されるある特定のX R P Dピークを有することまたは図10に示されているようなX R P Dパターンを有することを特徴とする。

【0065】

なおも別の実施形態において、本発明は、非晶形の化合物(1)およびその薬学的に許容され得る塩(例えば、化合物(1)の非晶質のH C l塩および非晶質の化合物(1))を包含する。なおも別の実施形態において、本発明は、B形の化合物(1)水和物も包含する。B形の化合物(1)水和物は、A形の化合物(1)と同形であり、A形の化合物(1)に対するX R P Dピークと同じX R P Dピークを示すが、水の存在下において、例えば、周囲温度において0 . 6超(例えば、0 . 6 ~ 1 . 0)の水分活性を有する系において形成される。

【0066】

本発明は、単離された形態の、純粋な形態の、または他の材料、例えば、他の形態(すなわち、非晶形、A形の化合物(1)など)の化合物(I)もしくは他の任意の材料と混和されているときは固体組成物としての混合物の、上に記載された多形体の化合物(1)を包含する。

【0067】

1つの態様において、本発明は、多形体、例えば、A形の化合物(1)・1/2 H₂ OのH C l塩、F形の化合物(1)・3 H₂ OのH C l塩、D形の化合物(1)のH C l塩、A形の化合物(1)、B形の化合物(1)水和物およびA形の化合物(1)のトシレート塩を、単離された固体の形態で提供する。なおも別の態様において、本発明は、非晶形の化合物(1)およびその薬学的に許容され得る塩、例えば、化合物(1)の非晶質のH C l塩および非晶質の化合物(1)を、単離された固体の形態で提供する。

【0068】

さらなる態様において、本発明は、多形体、例えば、A形の化合物(1)・1/2 H₂ OのH C l塩、F形の化合物(1)・3 H₂ OのH C l塩、D形の化合物(1)のH C l塩、A形の化合物(1)、B形の化合物(1)水和物およびA形の化合物(1)のトシレート塩を純粋な形態で提供する。その純粋な形態は、特定の多形体が、95%(w/w)超、例えば、98%(w/w)超、99%(w/w)超、99.5%(w/w)超または99.9%(w/w)超を含むことを意味する。別のさらなる態様において、非晶形の化合物(1)またはその薬学的に許容され得る塩が、純粋な形態で提供される。その純粋な形態は、その非晶形が、95%(w/w)超、例えば、98%(w/w)超、99%(w/w)超、99.5%(w/w)超または99.9%(w/w)超であることを意味する。

【0069】

より具体的には、本発明は、1つまたはそれを超える他の結晶形、溶媒和物、非晶形もしくは他の多形体またはそれらの組み合わせを含む多形体の組成物または混合物の形態における多形体の各々を提供する。例えば、1つの実施形態において、その組成物は、A形の化合物(1)・1/2 H₂ OのH C l塩を化合物(1)の1つまたはそれを超える他の多形体(例えば、非晶形、溶媒和物、D形の化合物(1)のH C l塩、F形の化合物(1)・3 H₂ OのH C l塩、A形の化合物(1)および/もしくは他の形態またはそれらの任意の組み合わせ)とともに含む。同様に、別の実施形態において、その組成物は、F形の化合物(1)・3 H₂ OのH C l塩を化合物(1)の1つまたはそれを超える他の多形体(例えば、非晶形、溶媒和物、A形の化合物(1)・1/2 H₂ OのH C l塩、D形の化合物(1)のH C l塩、A形の化合物(1)および/もしくは他の形態またはそれらの組み合わせ)とともに含む。同様に、別の実施形態において、その組成物は、D形の化合物(1)のH C l塩を化合物(1)の1つまたはそれを超える他の多形体(例えば、非晶

形、溶媒和物、A形の化合物(1)・ $1/2\text{H}_2\text{O}$ のHCl塩、F形の化合物(1)・ $3\text{H}_2\text{O}$ のHCl塩、A形の化合物(1)および/もしくは他の形態またはそれらの組み合わせ)とともに含む。なおも別の実施形態において、その組成物は、A形の化合物(1)を化合物(1)の1つまたはそれを超える他の多形体(例えば、非晶形、水和物、溶媒和物および/もしくは他の形態またはそれらの組み合わせ)とともに含む。なおも別の実施形態において、その組成物は、A形の化合物(1)のトシレート塩を化合物(1)の1つまたはそれを超える他の多形体(例えば、非晶形、水和物、溶媒和物および/もしくは他の形態またはそれらの組み合わせ)とともに含む。より具体的には、その組成物は、その組成物中の化合物(1)の総量に基づいて、微量から100%まで、または任意の量、例えば、0.1重量%~0.5重量%、0.1重量%~1重量%、0.1重量%~2重量%、0.1重量%~5重量%、0.1重量%~10重量%、0.1重量%~20重量%、0.1重量%~30重量%、0.1重量%~40重量%または0.1重量%~50重量%の範囲の特定の多形体を含み得る。あるいは、その組成物は、その組成物中の化合物(1)の総量に基づいて、少なくとも50重量%、60重量%、70重量%、80重量%、90重量%、95重量%、97重量%、98重量%、99重量%、99.5重量%または99.9重量%の特定の多形体を含み得る。

10

【0070】

本発明の目的のために、化学元素は、Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed.に従って特定される。さらに、有機化学の一般原理は、“Organic Chemistry”, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999および“March's Advanced Organic Chemistry”, 5th Ed., Ed.: Smith, M.B. and March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001(これらの全内容が参照により本明細書に援用される)に記載されている。

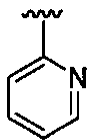
20

【0071】

別段示されない限り、本明細書中に描かれる構造は、その構造のすべての異性体(例えば、鏡像異性体、ジアステレオ異性体、cis-trans異性体、配座異性体および回転異性体)を含むとも意味される。例えば、各不斉中心に対するRおよびS配置、(Z)および(E)二重結合異性体、ならびに(Z)および(E)配座異性体のうちの1つしか、明確に描かれていない限り、それらの異性体は、本発明に含まれる。当業者には理解され得るように、置換基は、任意の回転可能な結合の周りを自由に回転し得る。例えば、

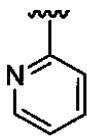
30

【化4-1】



として描かれる置換基は、

【化4-2】



40

にも相当する。

【0072】

ゆえに、本化合物の単一の立体化学異性体、ならびに鏡像異性体混合物、ジアステレオ異性体混合物、cis/trans異性体の混合物、配座異性体の混合物および回転異性体の混合物が、本発明の範囲内である。

【0073】

50

別段示されない限り、本発明の化合物の互変異性体のすべてが、本発明の範囲内である。

【0074】

さらに、別段示されない限り、本明細書中に描かれる構造は、1つまたはそれを超える同位体的に富化された原子の存在だけが異なる化合物を含むとも意味される。例えば、重水素もしくは三重水素による水素の置き換え、または¹³Cもしくは¹⁴Cに富化された炭素による炭素の置き換え以外は本構造を有する化合物は、本発明の範囲内である。そのような化合物は、例えば、分析ツールまたは生物学的アッセイにおけるプローブとして有用である。そのような化合物、特に、重水素アナログは、治療的にも有用であり得る。

【0075】

本明細書中に記載される化合物は、それらの化学構造および/または化学名によって定義される。ある化合物が、化学構造と化学名の両方によって言及され、その化学構造と化学名とが矛盾する場合、その化学構造が、その化合物が何であるかを決定する。

【0076】

本発明に係る化合物がキラル中心を含み得ることは、当業者によって認識される。したがって、それらの式の化合物は、2つの異なる光学異性体（すなわち、（+）または（-）鏡像異性体）の形態で存在し得る。そのようなすべての鏡像異性体およびラセミ混合物を含むそれらの混合物が、本発明の範囲内に含まれる。単一の光学異性体または鏡像異性体は、当該分野で周知の方法（例えば、キラルHPLC、酵素的分割およびキラル補助剤）によって得ることができる。

【0077】

1つの実施形態において、本発明に係る化合物は、対応する鏡像異性体を含まず、少なくとも95%、少なくとも97%および少なくとも99%の単一の鏡像異性体の形態で提供される。

【0078】

さらなる実施形態において、本発明に係る化合物は、対応する（-）鏡像異性体を含まず、少なくとも95%の（+）鏡像異性体の形態で存在する。

【0079】

さらなる実施形態において、本発明に係る化合物は、対応する（-）鏡像異性体を含まず、少なくとも97%の（+）鏡像異性体の形態で存在する。

【0080】

さらなる実施形態において、本発明に係る化合物は、対応する（-）鏡像異性体を含まず、少なくとも99%の（+）鏡像異性体の形態で存在する。

【0081】

さらなる実施形態において、本発明に係る化合物は、対応する（+）鏡像異性体を含まず、少なくとも95%の（-）鏡像異性体の形態で存在する。

【0082】

さらなる実施形態において、本発明に係る化合物は、対応する（+）鏡像異性体を含まず、少なくとも97%の（-）鏡像異性体の形態で存在する。

【0083】

さらなる実施形態において、本発明に係る化合物は、対応する（+）鏡像異性体を含まず、少なくとも99%の（-）鏡像異性体の形態で存在する。

【0084】

II. 化合物（1）およびその薬学的に許容され得る塩の使用

【0085】

本発明の1つの態様は、概して、生物学的サンプルまたは患者におけるインフルエンザウイルスの複製を阻害するため、生物学的サンプルまたは患者におけるインフルエンザウイルスの量を減少させるため（ウイルス価を低下させるため）、および患者におけるインフルエンザを処置するために、上に記載された様々な固体の形態（例えば、A形の化合物（1）・1/2H₂OのHCl塩、F形の化合物（1）・3H₂OのHCl塩、D形の化

10

20

30

40

50

合物(1)のHCl塩、A形の化合物(1)、B形の化合物(1)水和物およびA形の化合物(1)のトシレート塩)を含む化合物(1)およびその薬学的に許容され得る塩を使用することに関する。本明細書中以後、別段具体的に示されない限り、上に記載された様々な固体の形態(例えば、A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩、F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩、D形の化合物(1)のHCl塩、A形の化合物(1)、B形の化合物(1)水和物およびA形の化合物(1)のトシレート塩)を含む化合物(1)およびその薬学的に許容され得る塩は、広く化合物について言及される。

【0086】

1つの実施形態において、本発明は、概して、上で特定された使用法のいずれかのための、本明細書中に開示される化合物(例えば、薬学的に許容され得る組成物中の化合物)の使用に関する。

10

【0087】

なおも別の実施形態において、本明細書中に開示される化合物は、生物学的サンプル(例えば、感染した細胞培養物)中のウイルス価またはヒトにおけるウイルス価(例えば、患者における肺のウイルス価)を低下させるために使用され得る。

【0088】

用語「インフルエンザウイルスによって媒介される症状」、「インフルエンザ感染」または「インフルエンザ」は、本明細書中で使用されるとき、インフルエンザウイルスによる感染によって引き起こされる疾患を意味するために相互交換可能に使用される。

【0089】

20

インフルエンザは、インフルエンザウイルスによって引き起こされる、鳥類および哺乳動物が発症する感染症である。インフルエンザウイルスは、5つの属：インフルエンザウイルスA、インフルエンザウイルスB、インフルエンザウイルスC、ISAウイルスおよびトゴウイルスを含むオルトミクソウイルス科のRNAウイルスである。インフルエンザウイルスA属は、1つの種、インフルエンザAウイルスを有し、それは、これらのウイルスに対する抗体応答に基づいて異なる血清型に細分され得る：H1N1、H2N2、H3N2、H5N1、H7N7、H1N2、H9N2、H7N2、H7N3およびH10N7。インフルエンザAウイルスのさらなる例としては、H3N8およびH7N9が挙げられる。インフルエンザウイルスB属は、1つの種、インフルエンザBウイルスを有する。インフルエンザBは、ほとんどもっぱらヒトに感染し、インフルエンザAよりも一般的でない。インフルエンザウイルスC属は、1つの種、インフルエンザCウイルスを有し、これは、ヒトおよびブタに感染し、重症の疾病および地域的流行を引き起こし得る。しかしながら、インフルエンザウイルスCは、他のタイプよりも一般的でなく、通常、小児において軽症の疾患を引き起こすとみられる。

30

【0090】

本発明のいくつかの実施形態において、インフルエンザまたはインフルエンザウイルスは、インフルエンザウイルスAまたはBに関連する。本発明のいくつかの実施形態において、インフルエンザまたはインフルエンザウイルスは、インフルエンザウイルスAに関連する。本発明のいくつかの具体的な実施形態において、インフルエンザウイルスAは、H1N1、H2N2、H3N2またはH5N1である。本発明のいくつかの具体的な実施形態において、インフルエンザウイルスAは、H1N1、H3N2、H3N8、H5N1およびH7N9である。本発明のいくつかの具体的な実施形態において、インフルエンザウイルスAは、H1N1、H3N2、H3N8およびH5N1である。

40

【0091】

ヒトでは、インフルエンザの一般的な症候は、悪寒、発熱、咽頭炎、筋痛、重度の頭痛、咳嗽、脱力および全体的な不快感である。より重症の場合、インフルエンザは、肺炎を引き起こし、それは、特に低年齢小児および高齢者において致死的であり得る。インフルエンザは、感冒と混同されることが多いが、さらにいっそう重症の疾患であり、異なるタイプのウイルスによって引き起こされる。インフルエンザは、特に、小児では悪心および嘔吐を生じさせ得るが、これらの症候は、無関係な胃腸炎に特徴的であり、それは、時折

50

、「ウイルス性胃腸炎 (stomach flu)」または「24 時間インフルエンザ (24-hour flu)」と呼ばれる。

【0092】

インフルエンザの症候は、感染の1～2日後にかなり突然始まり得る。通常、最初の症候は、悪寒または寒気であるが、感染の初期では発熱も一般的であり、体温は、38～39 (およそ100°F～103°F) である。多くの人は、全身にわたる痛みおよび疼痛 (背中および脚においてより不良) を伴って、数日間にわたって病床に伏せるほど不調である。インフルエンザの症候としては、身体の痛み、特に、関節および咽頭の痛み、極度の冷感および発熱、疲労、頭痛、刺激されて涙が出ている眼、赤くなった眼、皮膚 (特に、顔面)、口、咽頭および鼻、腹痛 (インフルエンザBを有する小児において) が挙げられ得る。インフルエンザの症候は、非特異的であり、多くの病原体と重複する (「インフルエンザ様疾病」)。通常、診断を確定するためには、検査データが必要である。

10

【0093】

用語「疾患」、「障害」および「症状」は、インフルエンザウイルスによって媒介される医学的または病理学的な症状のことを指すために交換可能に本明細書中で使用され得る。

【0094】

本明細書中で使用されるとき、用語「被験体」および「患者」は、交換可能に使用される。用語「被験体」および「患者」とは、動物 (例えば、鳥類、例えば、ニワトリ、ウズラもしくはシチメンチョウ、または哺乳動物)、具体的には、非霊長類 (例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ウサギ、モルモット、ラット、ネコ、イヌおよびマウス) および霊長類 (例えば、サル、チンパンジーおよびヒト) を含む「哺乳動物」、より具体的にはヒトのことを指す。1つの実施形態において、被験体は、非ヒト動物、例えば、家畜 (例えば、ウマ、ウシ、ブタまたはヒツジ) またはペット (例えば、イヌ、ネコ、モルモットまたはウサギ) である。好ましい実施形態において、被験体は、「ヒト」である。

20

【0095】

用語「生物学的サンプル」は、本明細書中で使用されるとき、細胞培養物またはその抽出物; 哺乳動物から得られた生検材料またはその抽出物; 血液、唾液、尿、便、精液、涙液もしくは他の体液またはそれらの抽出物を含むがこれらに限定されない。

【0096】

本明細書中で使用されるとき、「感染効率」または「MOI」は、感染性物質 (例えば、ファージまたはウイルス) と感染の標的 (例えば、細胞) との比である。例えば、感染性ウイルス粒子を接種された細胞の群について言及しているとき、感染効率またはMOIは、ウェル内に沈着した感染性ウイルス粒子の数をそのウェルの中に存在する標的細胞の数で除算することによって定義される比である。

30

【0097】

本明細書中で使用されるとき、用語「インフルエンザウイルスの複製の阻害」は、ウイルス複製の量の減少 (例えば、少なくとも10%減少) とウイルス複製の完全な停止 (すなわち、ウイルス複製の量の100%減少) の両方を含む。いくつかの実施形態において、インフルエンザウイルスの複製は、少なくとも50%、少なくとも65%、少なくとも75%、少なくとも85%、少なくとも90%または少なくとも95%阻害される。

40

【0098】

インフルエンザウイルスの複製は、当該分野で公知の任意の好適な方法によって計測され得る。例えば、生物学的サンプル (例えば、感染した細胞培養物) 中のインフルエンザウイルス価またはヒトにおけるインフルエンザウイルス価 (例えば、患者における肺のウイルス価) が、計測され得る。より具体的には、細胞ベースのアッセイの場合、各場合において、細胞をインピット口で培養し、試験物質の存在下または非存在下において、その培養物にウイルスを加え、好適な長さの時間が経過した後、ウイルスに依存するエンドポイントを評価する。代表的なアッセイの場合、Madin-Darbyイヌ腎臓細胞 (MDCK) および標準的な組織培養に適合されたインフルエンザ株であるA/Puerto

50

R i c o / 8 / 3 4 が使用され得る。本発明において使用され得る第 1 のタイプの細胞アッセイは、細胞変性効果 (C P E) と呼ばれるプロセス (ここで、ウイルス感染は、細胞資源の消耗およびその細胞の最終的な溶解を引き起こす) である、感染した標的細胞の死滅に依存する。この第 1 のタイプの細胞アッセイでは、マイクロタイタープレートのウェルの中の低い割合の細胞を感染させ (通常、 $1 / 10 \sim 1 / 1000$)、ウイルスを、48 ~ 72 時間にわたって数回複製させ、そして非感染のコントロールと比べたときの細胞の A T P 含有量の減少を用いて、細胞死の量を計測する。本発明において使用され得る第 2 のタイプの細胞アッセイは、感染した細胞におけるウイルス特異的 R N A 分子の分裂増殖に依存し、ここで、R N A レベルは、分枝鎖 D N A ハイブリダイゼーション法 (b D N A) を用いて直接計測される。この第 2 のタイプの細胞アッセイでは、はじめにマイクロタイタープレートのウェルの中の少数の細胞を感染させ、そのウイルスを、感染した細胞の中で複製させてさらなる世代の細胞にまで広げ、そして、それらの細胞を溶解してウイルス R N A 含有量を計測する。このアッセイは、すべての標的細胞が生存可能である間に、早期に、通常、18 ~ 36 時間後に停止される。ウイルス R N A は、アッセイプレートのウェルに固定された特異的なオリゴヌクレオチドプローブへのハイブリダイゼーション、次いで、レポーター酵素に連結されたさらなるプローブとのハイブリダイゼーションによるシグナルの増幅によって定量される。

【 0 0 9 9 】

本明細書中で使用されるとき、「ウイルス価 (または力価)」は、ウイルス濃度の尺度である。力価の試験は、段階希釈を使用することにより、陽性または陰性とだけ本質的に評価する分析手順からおおよそその定量的情報を得ることができる。この力価は、なおも陽性の読み取りをもたらず最も高い希釈係数に対応する ; 例えば、2 倍の段階希釈物の最初の 8 つにおける陽性の読み取りは、 $1 : 256$ という力価に言い換えられる。具体的な例は、ウイルス価である。その力価を測定するために、いくつかの希釈物 (例えば、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8}) が調製される。なおも細胞に感染する最も低いウイルス濃度が、ウイルス価である。

【 0 1 0 0 】

本明細書中で使用されるとき、用語「処置する (t r e a t)」, 「処置」および「処置する (t r e a t i n g)」とは、治療的な処置と予防的な処置の両方のことを指す。例えば、治療的な処置には、インフルエンザウイルスによって媒介される症状の進行、重症度および / もしくは持続時間の減少もしくは回復、または 1 つもしくはそれを超える治療 (例えば、1 つまたはそれを超える治療薬、例えば、本発明の化合物または組成物) の投与に起因する、インフルエンザウイルスによって媒介される症状の 1 つもしくはそれを超える症候 (具体的には、1 つまたはそれを超える識別可能な症候) の回復が含まれる。特定の実施形態において、治療的な処置には、インフルエンザウイルスによって媒介される症状の少なくとも 1 つの計測可能な身体的パラメータの回復が含まれる。他の実施形態において、治療的な処置には、身体的 (例えば、識別可能な症候の安定化によるもの)、生理的 (例えば、身体的パラメータの安定化によるもの) またはその両方による、インフルエンザウイルスによって媒介される症状の進行の阻害が含まれる。他の実施形態において、治療的な処置には、インフルエンザウイルスによって媒介される感染症の減少または安定化が含まれる。抗ウイルス薬は、症候の重症度を低下させるためおよび体調の悪い日数を減少させるために、すでにインフルエンザを有する人々を処置するために社会環境において使用され得る。

【 0 1 0 1 】

用語「化学療法」とは、障害または疾患を処置するための薬剤、例えば、小分子薬物 (「ワクチン」ではないもの) の使用のことを指す。

【 0 1 0 2 】

用語「予防法」または「予防的使用」および「予防的な処置」は、本明細書中で使用されるとき、目的が疾患を処置または治療することではなく予防することである、任意の医学的なまたは公衆衛生上の手順のことを指す。本明細書中で使用されるとき、用語「予防

10

20

30

40

50

する (p r e v e n t)」、「予防」および「予防する (p r e v e n t i n g)」とは、現在は病気ではないが、その疾患を有していた人の近くにいたことがあるかまたは近くに
いる可能性がある被験体における、所与の症状を獲得するかもしくは発症するリスクの
低下、または再発もしくは前記症状の減少もしくは阻害のことを指す。用語「化学的予防
法」とは、障害または疾患を予防するための、薬剤、例えば、小分子薬物（「ワクチン」
ではないもの）の使用のことを指す。

【 0 1 0 3 】

本明細書中で使用されるとき、予防的使用には、重度のインフルエンザ合併症のリスク
が高い多数の人々が互いに密接に接触して生活している場所（例えば、病棟、デイケアセ
ンター、刑務所、ナーシングホームなど）において接触感染または感染の広がりを防ぐた
めに、大流行が検出された状況において使用することが含まれる。予防的使用には、イン
フルエンザからの保護を必要とするが、ワクチン接種後に保護されていない（例えば、免
疫系が弱いことに起因して）集団の間で使用すること、またはその集団がワクチンを手
できないとき、もしくはその集団が副作用のせいでワクチンを受けられないとき、その集
団の間で使用することも含まれる。ワクチン接種後の2週間の間は、ワクチンがまだ無効
である時間であるので、予防的使用には、その2週間の間に使用することも含まれる。予
防的使用には、インフルエンザにかかっていないかまたは合併症のリスクが高いと考えら
れない人がインフルエンザに感染する確率を低下させるため、およびその人（例えば、医
療従事者、ナーシングホームの労働者など）と密接に接触する高リスク者に伝染させる確
率を低下させるために、そのインフルエンザにかかっていないかまたは合併症のリスクが
高いと考えられない人を処置することも含まれることがある。

【 0 1 0 4 】

米国のCDCによると、インフルエンザの「大流行」は、互いに近接している人々の群
（例えば、介護付き老人ホームの同じ区域にいる人々、同じ世帯の人々など）において、
正常なバックグラウンドの割合を超えて、または解析された集団内のいずれかの被験体が
インフルエンザの検査で陽性と出たとき、48～72時間以内に生じる急性熱性呼吸器疾
患（A F R I）の急増と定義される。任意の検査方法によって確定されたインフルエンザ
の1例は、大流行と考えられる。

【 0 1 0 5 】

「クラスター」は、互いに近接している人々の群（例えば、介護付き老人ホームの同じ
区域にいる人々、同じ世帯の人々など）において48～72時間以内に生じる3例または
それを超える症例のA F R Iの群として定義される。

【 0 1 0 6 】

本明細書中で使用されるとき、「インデックスケース」、「最初の症例」または「患者
第1号」は、疫学的調査の集団サンプルにおける最初の患者である。疫学的調査における
そのような患者のことを指すために広く使用されるとき、その用語は、大文字で書かれな
い。その用語が、具体的な調査に関する報告の中でその人の名前の代わりに特定人物のこ
とを指すために使用されるとき、その用語は、患者第1号（P a t i e n t Z e r o）
と大文字で書かれる。しばしば、科学者らは、その疾患がどのように広がるか、およびど
の貯蔵所が大流行の間にその疾患を保持しているかを明らかにするために、インデックス
ケースを探し求める。インデックスケースは、大流行の出現を示す1番目の患者であるこ
とに注意されたい。それより早い症例が見つかる場合があり、それらは、第1、第2、第
3などと名称がつけられる。

【 0 1 0 7 】

1つの実施形態において、本発明の方法は、インフルエンザウイルスによる感染に起因
する合併症の素因を有する患者、具体的にはヒトに対する予防的なまたは「先制」の措置
である。例えば、「先制」使用におけるような、用語「先制」または、「先制的に」は、
本明細書中で使用されるとき、「インデックスケース」または「大流行」が確認された状
況における、コミュニティまたは集団群の残りの部分への感染の広がりを予防するた
めの予防的な使用である。

【 0 1 0 8 】

別の実施形態において、本発明の方法は、感染の広がりを予防するために、コミュニティまたは集団群のメンバー、具体的にはヒトに「先制」の措置として利用される。

【 0 1 0 9 】

本明細書中で使用されるとき、「有効量」とは、所望の生物学的応答を誘発するのに十分な量のことを指す。本発明において、所望の生物学的応答は、インフルエンザウイルスの複製を阻害すること、インフルエンザウイルスの量を減少させること、またはインフルエンザウイルスの感染の重症度、期間、進行もしくは発生を減少させるかもしくは回復させること、インフルエンザウイルスの感染の進行を妨げること、インフルエンザウイルスの感染に関連する症候の再発、発症、発生もしくは進行を妨げること、またはインフルエンザの感染に対して使用される別の治療の予防もしくは治療効果（単数または複数）を増強するかもしくは改善することである。被験体に投与される化合物の正確な量は、投与様式、感染のタイプおよび重症度、ならびに被験体の特色（例えば、全般的な健康状態、年齢、性別、体重および薬物に対する耐性）に依存する。当業者は、これらの因子および他の因子に応じて適切な投与量を決定することができる。他の抗ウイルス剤と共投与されるとき、例えば、抗インフルエンザ薬と共投与されるとき、その第2の薬剤の「有効量」は、使用される薬物のタイプに依存する。好適な投与量は、承認された薬剤については公知であり、被験体の症状、処置されている症状（単数または複数）のタイプおよび使用されている本明細書中に記載される化合物の量に従って、当業者によって調整され得る。量が明白に述べられていない場合、有効量が想定されるべきである。例えば、本明細書中に開示される化合物は、治療的な処置または予防的な処置のために、およそ 0 . 0 1 ~ 1 0 0 m g / k g 体重 / 日の投与量の範囲内で被験体に投与され得る。

10

20

【 0 1 1 0 】

一般に、投与レジメンは、処置されている障害およびその障害の重症度；使用されている具体的な化合物の活性；使用されている具体的な組成物；患者の年齢、体重、全般的な健康状態、性別および食事；使用されている具体的な化合物の投与時間、投与経路および排出速度；被験体の腎臓および肝臓の機能；ならびに使用されている特定の化合物またはその塩、処置の期間；使用されている具体的な化合物と併用してまたは同時に使用される薬物、ならびに医学分野において周知の同様の因子を含む種々の因子に従って選択され得る。当業者は、その疾患を処置するため、予防するため、阻害するため（完全にまたは部分的に）またはその疾患の進行を停止するために必要な本明細書中に記載される化合物の有効量を容易に決定することおよび処方することができる。

30

【 0 1 1 1 】

本明細書中に記載される化合物の投与量は、0 . 0 1 ~ 1 0 0 m g / k g 体重 / 日、0 . 0 1 ~ 5 0 m g / k g 体重 / 日、0 . 1 ~ 5 0 m g / k g 体重 / 日または 1 ~ 2 5 m g / k g 体重 / 日の範囲であり得る。1日あたりの総量は、単回用量で投与され得るか、または複数回用量（例えば、1日2回（例えば、12時間毎）、1日3回（例えば、8時間毎）または1日4回（例えば、6時間毎））で投与され得ると理解される。

【 0 1 1 2 】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される化合物（例えば、化合物（1）およびその薬学的に許容され得る塩（様々な固体の形態（例えば、A形の化合物（1）・1 / 2 H₂OのHCl塩、F形の化合物（1）・3 H₂OのHCl塩、D形の化合物（1）のHCl塩、A形の化合物（1）、B形の化合物（1）水和物およびA形の化合物（1）のトシレート塩）を含む）の投与量は、1 0 0 m g ~ 1 , 6 0 0 m g、例えば、4 0 0 m g ~ 1 , 6 0 0 m g または 4 0 0 m g ~ 1 , 2 0 0 m g の範囲内である。各用量は、1日1回（QD）、1日あたり2回（例えば、12時間毎（BID））または1日あたり3回（例えば、q 8 h（TID））で取り入れられ得る。QD、BIDおよびTIDの任意の組み合わせが、所望のとおり、例えば、1日目のBIDに続いてその後はQDが、使用され得ることに注意する。

40

【 0 1 1 3 】

50

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される化合物（例えば、化合物（１）およびその薬学的に許容され得る塩（様々な固体の形態（例えば、Ａ形の化合物（１）・ $1/2\text{H}_2\text{O}$ の HCl 塩、Ｆ形の化合物（１）・ $3\text{H}_2\text{O}$ の HCl 塩、Ｄ形の化合物（１）の HCl 塩）を含む）の投与量は、 $100\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ 、例えば、 $400\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ または $400\text{mg} \sim 1,200\text{mg}$ の範囲内である。各用量は、１日１回（ＱＤ）、１日あたり２回（例えば、１２時間毎（ＢＩＤ））または１日あたり３回（例えば、 $q8h$ （ＴＩＤ））で取り入れられ得る。ＱＤ、ＢＩＤおよびＴＩＤの任意の組み合わせが、所望のとおり、例えば、１日目のＢＩＤに続いてその後はＱＤ、または１日目に負荷投与量が用いられるときは２日目のＢＩＤに続いてその後はＱＤが、使用され得ることに注意する。

10

【０１１４】

１つの具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物の投与量は、１日１回の $400\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ 、 $400\text{mg} \sim 1,200\text{mg}$ または $600\text{mg} \sim 1,200\text{mg}$ である。別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物の投与量は、１日２回の $400\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ 、 $400\text{mg} \sim 1,200\text{mg}$ または $300\text{mg} \sim 900\text{mg}$ である。なおも別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物の投与量は、１日１回の $400\text{mg} \sim 1,000\text{mg}$ である。なおも別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物の投与量は、１日１回の $600\text{mg} \sim 1,000\text{mg}$ である。なおも別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物の投与量は、１日１回の $600\text{mg} \sim 800\text{mg}$ である。なおも別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物の投与量は、１日２回の $400\text{mg} \sim 800\text{mg}$ （例えば、１２時間毎の $400\text{mg} \sim 800\text{mg}$ ）である。なおも別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物の投与量は、１日２回の $400\text{mg} \sim 600\text{mg}$ である。

20

【０１１５】

いくつかの実施形態において、負荷投与レジメンが用いられる。１つの具体的な実施形態において、 $400\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ の負荷量が、処置の１日目に用いられる。別の具体的な実施形態において、 $600\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ の負荷量が、処置の１日目に用いられる。別の具体的な実施形態において、 $800\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ の負荷量が、処置の１日目に用いられる。なおも別の具体的な実施形態において、 $900\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ の負荷量が、処置の１日目に用いられる。なおも別の具体的な実施形態において、 $900\text{mg} \sim 1,200\text{mg}$ の負荷量が、処置の１日目に用いられる。なおも別の具体的な実施形態において、 900mg の負荷量が、処置の１日目に用いられる。なおも別の具体的な実施形態において、 $1,000\text{mg}$ の負荷量が、処置の１日目に用いられる。なおも別の具体的な実施形態において、 $1,200\text{mg}$ の負荷量が、処置の１日目に用いられる。

30

【０１１６】

１つの具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物の投与レジメンは、１日目に $600\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ の負荷投与量、およびその処置期間の残りの期間にわたって $300\text{mg} \sim 1,200\text{mg}$ の定まった投与量を使用する。定まった各用量は、１日１回、１日２回もしくは１日３回またはそれらの任意の組み合わせで取り入れられ得る。さらに具体的な実施形態において、 $900\text{mg} \sim 1,600\text{mg}$ （例えば、 900mg 、 $1,200\text{mg}$ または $1,600\text{mg}$ ）の負荷投与量が用いられる。別のさらに具体的な実施形態において、 $900\text{mg} \sim 1,200\text{mg}$ （例えば、 900mg または $1,200\text{mg}$ ）の負荷投与量が用いられる。なおも別のさらに具体的な実施形態において、 $400\text{mg} \sim 1,200\text{mg}$ （ 400mg 、 600mg または 800mg ）の定まった投与量が、その処置期間の残りの期間にわたって用いられる。なおも別のさらに具体的な実施形態において、その処置の残りの期間にわたる $400\text{mg} \sim 1,000\text{mg}$ の定まった投与量。なおも別のさらに具体的な実施形態において、 $400\text{mg} \sim 800\text{mg}$ の定まった投与量が、その処置期間の残りの期間にわたって用いられる。なおも別のさらに具体的な

40

50

実施形態において、1日2回の300mg～900mgの定まった投与量が用いられる。なおも別のさらに具体的な実施形態において、1日1回の600mg～1,200mgの定まった投与量が用いられる。なおも別のさらに具体的な実施形態では、2日目に1日2回の600mgの定まった投与量の後、その処置期間の残りの期間にわたって1日1回の600mg。

【0117】

治療的な処置のために、本明細書中に記載される化合物は、例えば、症候（例えば、鼻閉、咽喉炎、咳、痛み、疲労、頭痛および悪寒／発汗）の発生の48時間以内（または40時間以内、または2日未満、または1.5日未満、または24時間以内）に患者に投与され得る。あるいは、治療的な処置のために、本明細書中に記載される化合物は、例えば、症候の発生の96時間以内に患者に投与され得る。その治療的な処置は、任意の好適な期間、例えば、3日間、4日間、5日間、7日間、10日間、14日間などにわたって継続し得る。地域社会の大流行の間の予防的な処置のために、本明細書中に記載される化合物は、インデックスケースにおいて、例えば、症候の発生の2日以内に患者に投与され得、任意の好適な期間、例えば、7日間、10日間、14日間、20日間、28日間、35日間、42日間などにわたって、インフルエンザシーズン全体まで、続けられ得る。インフルエンザシーズンは、インフルエンザの大流行の蔓延を特徴とする、毎年繰り返し発生する時期である。インフルエンザの活動は、時折、予測することができ、地理的に追跡することさえもできる。各シーズンにおける主要なインフルエンザの活動の開始は、場所によって異なるが、いずれの具体的な場所においても、これらの小さい流行は、通常、ピークを迎えるまでに3～4週間を要し、著しく減少するまでにさらに3～4週間を要する。代表的には、Centers for Disease Control (CDC) が、米国において一年中、インフルエンザの活動に関する情報を収集し、集計し、および解析し、10月から5月中旬まで週報を作成する。

【0118】

1つの実施形態において、治療的な処置は、1日間からインフルエンザシーズン全体にわたって継続する。1つの具体的な実施形態において、治療的な処置は、3日間～14日間継続する。別の具体的な実施形態において、治療的な処置は、5日間～14日間継続する。別の具体的な実施形態において、治療的な処置は、3日間～10日間継続する。なおも別の具体的な実施形態において、治療的な処置は、4日間～10日間継続する。なおも別の具体的な実施形態において、治療的な処置は、5日間～10日間継続する。なおも別の具体的な実施形態において、治療的な処置は、4日間～7日間（例えば、4日間、5日間、6日間または7日間）継続する。なおも別の具体的な実施形態において、治療的な処置は、5日間～7日間（例えば、5日間、6日間または7日間）継続する。1つの具体的な実施形態において、予防的な処置は、インフルエンザシーズン全体まで継続する。

【0119】

1つの具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、3日間～14日間（例えば、5日間～14日間）にわたって、1日目に900mg～1,600mgの負荷投与量、およびその処置期間の残りの期間にわたって300mg～1,200mgの定まった投与量で患者に投与される。別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、3日間～14日間（例えば、5日間～14日間）にわたって、1日目に900mg～1,200mgの負荷投与量、およびその処置期間の残りの期間にわたって400mg～1,000mgの定まった投与量で患者に投与される。なおも別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、3日間～14日間（例えば、5日間～14日間）にわたって、1日目に900mg～1,200mgの負荷投与量、およびその処置期間の残りの期間にわたって400mg～800mgの定まった投与量で患者に投与される。なおも別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、3日間～14日間（例えば、5日間～14日間）にわたって、1日目に900mg～1,200mgの負荷投与量、およびその処置期間の残りの期間にわたって400mg～800mgの定まった投与量で患者に投与される。各用量は、1日1回、1日2回もしくは1日

3回またはそれらの任意の組み合わせで取り入れられ得る。

【0120】

1つの具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、3日間～14日間にわたって、1日目に900mg～1,600mgの負荷投与量、およびその処置期間の残りの期間にわたって1日1回の600mg～1,000mgの定まった投与量で患者に投与される。別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、3日間～14日間にわたって、1日目に900mg～1,200mgの負荷投与量、およびその処置期間の残りの期間にわたって1日1回の600mg～800mg（例えば、600mg、650mg、700mg、750mgまたは800mg）の定まった投与量で患者に投与される。いくつかの実施形態において、処置期間は、4日間～10日間、5日間～10日間または5日間～7日間である。

10

【0121】

1つの具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、3日間～14日間にわたって、1日目に900mg～1,600mgの負荷投与量、およびその処置期間の残りの期間にわたって1日2回の400mg～800mgの定まった投与量で患者に投与される。別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、3日間～14日間にわたって、1日目に900mg～1,200mgの負荷投与量、およびその処置期間の残りの期間にわたって1日2回の400mg～600mg（例えば、400mg、450mg、500mg、550mgまたは600mg）の定まった投与量で患者に投与される。いくつかの実施形態において、その期間は、4日間～10日間、5日間～10日間または5日間～7日間である。

20

【0122】

1つの具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、4日間または5日間にわたって、1日目に900mg～1,200mg（例えば、900mgまたは1,200mg）の負荷投与量、およびその処置の残りの期間（例えば、2～4日目または2～5日目）にわたって1日2回の400mg～600mg（例えば、400mgまたは600mg）の定まった投与量で患者に投与される。別の具体的な実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、4日間または5日間にわたって、1日目に900mg～1,200mg（例えば、900mgまたは1,200mg）の負荷投与量、およびその処置期間の残りの期間にわたって1日1回の600mg～800mg（例えば、600mgまたは800mg）の定まった投与量で患者に投与される。

30

【0123】

様々なタイプの投与方法が、本発明において使用することができ、それは、下記の「投与方法」という標題の項に詳細に記載されている。

【0124】

様々なタイプの投与方法を本発明において使用することができ、それは、下記の「投与方法」という標題の項に詳細に記載される。

【0125】

III. 併用療法

【0126】

有効量は、本発明の化合物（薬学的に許容され得る塩または溶媒和物（例えば、水和物）を含む）を単独でまたは好適なさらなる治療薬、例えば、抗ウイルス剤もしくはワクチンと併用して使用する本発明の方法または薬学的組成物において達成され得る。「併用療法」が用いられるとき、有効量は、第1の量の本発明の化合物および第2の量の好適なさらなる治療薬（例えば、抗ウイルス剤またはワクチン）を使用して達成され得る。

40

【0127】

本発明の別の実施形態において、本発明の化合物およびさらなる治療薬は、各々、有効量で（すなわち、各々が単独で投与される場合に治療的に有効である量で）投与される。別の実施形態において、本発明の化合物およびさらなる治療薬は、各々、単独では治療効果をもたらさない量（治療用量以下の用量）で投与される。なおも別の実施形態において

50

、本発明の化合物は、有効量で投与され得、さらなる治療薬は、治療用量以下の用量で投与される。なおも別の実施形態において、本発明の化合物は、治療用量以下の用量で投与され得、さらなる治療薬、例えば、好適な癌治療薬は、有効量で投与される。

【0128】

本明細書中で使用されるとき、用語「併用して」または「共投与」は、1つより多い治療（例えば、1つまたはそれを超える予防薬および/または治療薬）の使用のことを指すために交換可能に使用され得る。それらの用語の使用は、治療（例えば、予防薬および/または治療薬）が被験体に投与される順序を限定しない。

【0129】

共投与は、本質的に同時の様式（例えば、第1の量と第2の量の固定された比率を有する単一の薬学的組成物、例えば、カプセル剤または錠剤）における、または各々に対して別個の複数のカプセル剤もしくは錠剤における、第1の量および第2の量の化合物の共投与を包含する。さらに、そのような共投与は、いずれかの順序での連続した様式での各化合物の使用も包含する。

10

【0130】

1つの実施形態において、本発明は、本明細書中に記載される化合物を使用して、生物学的サンプルもしくは患者においてインフルエンザウイルスの複製を阻害するため、または患者におけるインフルエンザウイルスの感染を処置するためもしくは予防するための併用療法の方法に関する。したがって、本発明の薬学的組成物には、本発明のインフルエンザウイルスの複製の阻害剤を、抗インフルエンザウイルス活性を示す抗ウイルス化合物とともに含む組成物も含まれる。

20

【0131】

本明細書中に記載される化合物および本発明の組成物を使用する方法は、化学療法と本発明の化合物もしくは組成物との併用、または本発明の化合物もしくは組成物と別の抗ウイルス剤およびインフルエンザワクチンによるワクチン接種との併用も含む。

【0132】

共投与が、第1の量の本発明の化合物および第2の量のさらなる治療薬の別個の投与を含むとき、それらの化合物は、所望の治療効果をもたらすのに十分に近い時点において投与される。例えば、所望の治療効果をもたらし得る各投与の間の時間の長さは、数分から数時間の範囲であり得、各化合物の特性（例えば、効力、溶解度、バイオアベイラビリティ、血漿半減期および動態学的プロファイル）を考慮に入れて決定され得る。例えば、本発明の化合物および第2の治療薬は、互いの24時間以内に、互いの16時間以内に、互いの8時間以内に、互いの4時間以内に、互いの1時間以内に、または互いの30分以内に、任意の順序で投与され得る。

30

【0133】

より具体的には、第1の治療（例えば、予防薬または治療薬、例えば、本発明の化合物）は、被験体に第2の治療（例えば、予防薬または治療薬、例えば、抗癌剤）を投与する前（例えば、5分前、15分前、30分前、45分前、1時間前、2時間前、4時間前、6時間前、12時間前、24時間前、48時間前、72時間前、96時間前、1週間前、2週間前、3週間前、4週間前、5週間前、6週間前、8週間前または12週間前）、その投与と同時、またはその投与の後（例えば、5分後、15分後、30分後、45分後、1時間後、2時間後、4時間後、6時間後、12時間後、24時間後、48時間後、72時間後、96時間後、1週間後、2週間後、3週間後、4週間後、5週間後、6週間後、8週間後または12週間後）に投与され得る。

40

【0134】

第1の量の本発明の化合物と第2の量のさらなる治療薬との共投与の方法は、増強された治療効果または相乗的な治療効果をもたらし得ることが理解され、ここで、その組み合わせられた効果は、第1の量の本発明の化合物と第2の量のさらなる治療薬との別個の投与から生じる相加効果より大きい。

【0135】

50

本明細書中で使用されるとき、用語「相乗的な」とは、本発明の化合物と別の治療（例えば、予防薬または治療薬）との組み合わせのことを指し、それは、それらの治療の相加効果よりも効果的である。治療の併用（例えば、予防薬または治療薬の併用）の相乗効果は、1つまたはそれを超えるそれらの治療をより低い投与量で使用すること、および/または前記治療を被験体により低い頻度で投与することを可能にし得る。より低い投与量の治療（例えば、予防薬または治療薬）を使用することおよび/またはより低い頻度で前記治療を投与することができることにより、障害の予防、管理または処置において前記治療の有効性を低下させることなく、被験体への前記治療の投与に関連する毒性を減少させることができる。さらに、相乗効果は、障害の予防、管理または処置における薬剤の有効性の改善をもたらし得る。最終的には、治療の併用（例えば、予防薬または治療薬の併用）の相乗効果は、いずれかの治療を単独で使用するのに関連する有害なまたは望まれない副作用を回避し得るか、または減少させ得る。

10

【0136】

本発明の化合物を使用する併用療法が、インフルエンザワクチンと併用されるとき、各投与間の時間を、より長くすることができるように（例えば、数日間、数週間または数ヶ月間）、両方の治療薬が投与され得る。

【0137】

相乗効果の存在は、薬物の相互作用を評価するのに適した方法を用いて判定され得る。好適な方法としては、例えば、Sigmoid - Emax方程式（Holford, N. H. G. and Scheiner, L. B., Clin. Pharmacokinetics, 6: 429 - 453 (1981)）、Loewe加算方程式（Loewe, S. and Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol. Pharmacol., 114: 313 - 326 (1926)）および半有効方程式（median-effect equation）（Chou, T. C. and Talalay, P., Adv. Enzyme Regul., 22: 27 - 55 (1984)）が挙げられる。上で言及した各方程式は、実験データに利用することにより、対応するグラフを作成することができ、薬物の併用の効果の評価に役立つ。上で言及した方程式に関連する対応するグラフは、それぞれ、濃度 - 効果曲線、アイソボログラム曲線および併用指数曲線である。

20

【0138】

本明細書中に記載される化合物と共投与され得る具体的な例としては、ノイラミニダーゼ阻害剤（例えば、オセルタミビル（Tamiflu（登録商標））およびザナミビル（Relenza（登録商標）））、ウイルスイオンチャネル（M2タンパク質）遮断剤（例えば、アマンタジン（Symmetrel（登録商標））およびリマンタジン（Flumadine（登録商標）））、および日本の富山化学工業が開発中のT-705を含むWO2003/015798に記載されている抗ウイルス薬（Rurutarā, Antiviral Research, 82: 95 - 102 (2009), “T-705 (flavipiravir) and related compounds: Novel broad-spectrum inhibitors of RNA viral infections” も参照のこと）が挙げられる。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、従来のインフルエンザワクチンと共投与され得る。

30

40

【0139】

いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される化合物（例えば、化合物（1）およびその薬学的に許容され得る塩、例えば、A形の化合物（1）・ $1/2\text{H}_2\text{O}$ のHCl塩、F形の化合物（1）・ $3\text{H}_2\text{O}$ のHCl塩、D形の化合物（1）のHCl塩、A形の化合物（1）、B形の化合物（1）水和物およびA形の化合物（1）のトシレート塩）は、ザナミビルと共投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、ファビピラビル（flavipiravir）（T-705）と共投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、オセルタミビルと共投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、アマンタジンまたはリマンタジンと共投与され得る。オセルタミビルは、そのラベルに明記

50

された投与レジメンで投与され得る。いくつかの具体的な実施形態において、オセルタミビルは、75 mg を1日2回または150 mg を1日1回投与される。

【0140】

薬学的組成物

【0141】

本明細書中に記載される化合物は、薬学的に許容され得るキャリア、希釈剤、佐剤またはビヒクルをさらに含む薬学的組成物に製剤化され得る。1つの実施形態において、本発明は、上に記載された本発明の化合物、および薬学的に許容され得るキャリア、希釈剤、佐剤またはビヒクルを含む薬学的組成物に関する。1つの実施形態において、本発明は、有効量の本発明の化合物またはその薬学的に許容され得る塩、および薬学的に許容され得るキャリア、希釈剤、佐剤またはビヒクルを含む薬学的組成物である。薬学的に許容され得るキャリアとしては、例えば、意図される投与形式に関して適切に選択され、従来の薬務に一致する、薬学的希釈剤、賦形剤またはキャリアが挙げられる。

10

【0142】

「有効量」は、「治療有効量」および「予防有効量」を含む。用語「治療有効量」とは、インフルエンザに感染した患者におけるインフルエンザウイルスの感染を処置する際および/または回復させる際に有効な量のことを指す。用語「予防有効量」とは、インフルエンザウイルスの感染の大流行を予防する際および/またはその確率もしくはサイズを実質的に減少させる際に有効な量のことを指す。有効量の具体的な例は、開示される化合物の使用という標題の項において上に記載された量である。

20

【0143】

薬学的に許容され得るキャリアは、化合物の生物学的活性を過度に阻害しない不活性な成分を含み得る。薬学的に許容され得るキャリアは、生体適合性、例えば、無毒性、非炎症性、非免疫原性であるべきであるか、または被験体に投与した際に他の望まれない反応もしくは副作用を欠くべきである。標準的な薬学的製剤化の手法が使用され得る。

【0144】

薬学的に許容され得るキャリア、佐剤またはビヒクルは、本明細書中で使用されるとき、所望の特定の剤形にふさわしい任意のおよびすべての溶媒、希釈剤または他の液状のビヒクル、分散助剤または懸濁助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤または乳化剤、保存剤、固体結合剤、滑沢剤などを含む。Remington's Pharmaceutical Sciences, Sixteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) には、薬学的に許容され得る組成物を製剤化する際に使用される様々なキャリア、およびそれを調製するための公知の手法が開示されている。任意の従来のキャリア媒体が、本明細書中に記載される化合物と適合しない場合を除いて（例えば、任意の望ましくない生物学的作用をもたらすことによって、またはそうでなければ、薬学的に許容され得る組成物の他の任意の構成要素（単数または複数）と有害な様式で相互作用することによって）、その使用は、本発明の範囲内であると企図される。本明細書中で使用されるとき、句「副作用」は、治療（例えば、予防薬または治療薬）の望まれない作用および有害作用を包含する。副作用は、常に望まれないが、望まれない効果は、必ずしも有害ではない。治療（例えば、予防薬または治療薬）からの有害作用は、害を及ぼすものであり得るか、または不快なものであり得るか、または危険なものであり得る。副作用としては、発熱、悪寒、嗜眠、胃腸毒性（胃および腸管の潰瘍およびびらんを含む）、悪心、嘔吐、神経毒性、腎毒性（nephrotoxicities）、腎毒性（renal toxicities）（乳頭部壊死および慢性間質性腎炎のような症状を含む）、肝毒性（血清肝臓酵素レベルの上昇を含む）、骨髓毒性（白血球減少、骨髓抑制、血小板減少および貧血を含む）、口渇、金気、妊娠期間の延長、脱力、傾眠、疼痛（筋痛、骨痛および頭痛を含む）、脱毛、無力症、眩暈、錐体外路症状、静座不能、心血管障害および性機能障害が挙げられるが、これらに限定されない。

30

40

【0145】

50

薬学的に許容され得るキャリアとして機能し得る材料のいくつかの例としては、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、血清タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン）、緩衝物質（例えば、twin 80、ホスフェート、グリシン、ソルビン酸またはソルビン酸カリウム）、植物性飽和脂肪酸の部分グリセリド混合物、水、塩または電解質（例えば、硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウムまたは亜鉛塩）、コロイダルシリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、ポリアクリレート、ろう、ポリエチレン - ポリオキシプロピレン - ブロックポリマー、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、羊毛脂、糖（例えば、ラクトース、グルコースおよびスクロース）；デンプン（例えば、トウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプン）；セルロースおよびその誘導体（例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロース）；トラガント粉末；麦芽；ゼラチン；タルク；賦形剤（例えば、カカオバターおよび坐剤ろう）；油（例えば、落花生油、綿実油；ペニバナ油；ゴマ油；オリーブ油；トウモロコシ油およびダイズ油）；グリコール；例えば、（such a）プロピレングリコールまたはポリエチレングリコール；エステル（例えば、オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチル）；寒天；緩衝剤（例えば、水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウム）；アルギン酸；発熱物質非含有水；等張食塩水；リンガー溶液；エチルアルコールおよびホスフェート緩衝液、ならびに他の無毒性で適合性の滑沢剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウム）が挙げられるが、これらに限定されず、ならびに着色剤、放出剤（releasing agents）、コーティング剤、甘味料、香味料および芳香料、保存剤および酸化防止剤もまた、配合者の判断に従って組成物中に存在してもよい。

【0146】

IV. 投与方法

【0147】

上に記載された化合物および薬学的に許容され得る組成物は、処置される感染症の重症度に応じて、ヒトおよび他の動物に、経口的に、直腸に、非経口的に、槽内に、腔内に、腹腔内に、局所的に（散剤、軟膏剤または液滴によって）、頬側に（buccally）、経口スプレー剤または点鼻薬などとして、投与され得る。

【0148】

経口投与用の液体剤形としては、薬学的に許容され得る乳剤、マイクロエマルジョン、液剤、懸濁剤、シロップ剤およびエリキシル剤が挙げられるが、これらに限定されない。液体剤形は、有効な化合物に加えて、当該分野において通常使用される不活性な希釈剤、例えば、水または他の溶媒、可溶化剤および乳化剤、例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油（特に、綿実油、ラッカセイ油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油およびゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコールおよびソルビタンの脂肪酸エステル、ならびにそれらの混合物を含み得る。経口組成物は、不活性な希釈剤のほかに、佐剤（例えば、湿潤剤、乳化剤および懸濁化剤、甘味料、香味料および芳香料）も含み得る。

【0149】

注射可能な調製物、例えば、滅菌された注射可能な水性または油性の懸濁剤は、好適な分散剤または湿潤剤および懸濁化剤を用いて公知の技術に従って製剤化され得る。滅菌された注射可能な調製物は、無毒性の非経口的に許容され得る希釈剤または溶媒中の滅菌された注射可能な液剤、懸濁剤または乳剤、例えば、1,3-ブタンジオール中の液剤でもあり得る。使用され得る許容され得るビヒクルおよび溶媒は、水、リンガー溶液、U.S.P. および等張性塩化ナトリウム溶液である。さらに、滅菌された固定油が、溶媒または懸濁媒として従来法で使用される。この目的のために、合成モノグリセリドまたは合成ジグリセリドを含む任意の非刺激性の固定油が、使用され得る。さらに、オレイン酸などの脂肪酸が、注射可能物の調製において使用される。

【0150】

注射可能な製剤は、使用前に、例えば、細菌保持フィルターで濾過することによって、または滅菌水もしくは他の滅菌された注射可能な媒体に溶解され得るかもしくは分散され得る滅菌された固体組成物の形態に滅菌剤を組み込むことによって、滅菌され得る。

【0151】

本明細書中に記載される化合物の効果を延長するために、皮下注射または筋肉内注射からの化合物の吸収を遅らせることが望ましいことが多い。これは、水溶性に乏しい結晶性材料または非晶質材料の液体懸濁剤を使用することによって達成され得る。化合物の吸収速度は、その溶解速度に依存し、さらにその溶解速度は、結晶サイズおよび結晶形に依存し得る。あるいは、非経口的に投与される化合物の形態の吸収の遅延は、その化合物を油性ビヒクルに溶解するかまたは懸濁することによって達成される。注射可能なデポー形態は、ポリラクチド-ポリグリコリドなどの生分解性ポリマー中にその化合物のマイクロカプセルマトリックス (microencapsule matrices) を形成することによって作製される。化合物とポリマーとの比および使用される特定のポリマーの性質に応じて、化合物の放出速度を制御することができる。他の生分解性ポリマーの例としては、ポリ(オルトエステル)およびポリ(無水物)が挙げられる。注射可能なデポー製剤は、体組織と適合性であるリボソームまたはマイクロエマルジョンの中に化合物を封入することによっても調製される。

10

【0152】

直腸投与用または腔投与用の組成物は、具体的には、周囲温度において固体であるが体温では液体であるがゆえに直腸または腔腔において融解して有効な化合物を放出する好適な非刺激性の賦形剤またはキャリア(例えば、カカオバター、ポリエチレングリコールまたは坐剤ろう)と本明細書中に記載される化合物を混合することによって調製され得る坐剤である。

20

【0153】

経口投与用の固形剤形としては、カプセル剤、錠剤、丸剤、散剤および顆粒剤が挙げられる。そのような固形剤形では、有効な化合物は、少なくとも1つの不活性な薬学的に許容され得る賦形剤もしくはキャリア(例えば、クエン酸ナトリウムもしくはリン酸二カルシウム)ならびに/またはa) 充填剤または増量剤(例えば、デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトールおよびケイ酸)、b) 結合剤(例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギネート、ゼラチン、ポリビニルピロリジノン、スクロースおよびアカシア)、c) 保水剤(例えば、グリセロール)、d) 崩壊剤(例えば、寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモデンプンまたはタピオカデンプン、アルギン酸、ある特定のシリケートおよび炭酸ナトリウム)、e) 溶解遅延剤(例えば、パラフィン)、f) 吸収促進剤(例えば、四級アンモニウム化合物)、g) 湿潤剤(例えば、セチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセロール)、h) 吸収剤(例えば、カオリンおよびベントナイト粘土)、およびi) 滑沢剤(例えば、タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウムおよびそれらの混合物)と混合される。カプセル剤、錠剤および丸剤の場合、その剤形は、緩衝剤も含み得る。

30

【0154】

類似のタイプの固体組成物は、ラクトースまたは乳糖ならびに高分子量ポリエチレングリコールなどのような賦形剤を使用する軟および硬ゼラチンカプセルにおいて充填剤としても使用され得る。錠剤、糖衣錠、カプセル剤、丸剤および顆粒剤の固形剤形は、コーティングおよびシェル(例えば、腸溶コーティングおよび製剤配合の分野において周知の他のコーティング)を用いて調製され得る。それらは、必要に応じて不透明化剤を含むことがあり、ある特定の腸管部分において、必要に応じて遅延様式で、有効成分(単数または複数)だけを放出するかまたは有効成分(単数または複数)を優先的に放出する組成物でもあり得る。使用され得る包埋組成物の例としては、ポリマー物質およびろうが挙げられる。類似のタイプの固体組成物は、ラクトースまたは乳糖ならびに高分子量ポリエチレン (polyethylene) グリコールなどのような賦形剤を使用する軟および硬ゼラチ

40

50

ンカプセルにおいて充填剤としても使用され得る。

【0155】

有効な化合物は、上で述べたような1つまたはそれを超える賦形剤を有するマイクロカプセル化された形態でもあり得る。錠剤、糖衣錠、カプセル剤、丸剤および顆粒剤の固形剤形は、コーティングおよびシェル（例えば、腸溶コーティング、放出制御コーティングおよび製剤配合の分野において周知の他のコーティング）を用いて調製され得る。そのような固形剤形において、有効な化合物は、少なくとも1つの不活性な希釈剤（例えば、スクロース、ラクトースまたはデンプン）と混和され得る。そのような剤形は、通常の慣行のように、不活性な希釈剤以外のさらなる物質、例えば、打錠滑沢剤および他の打錠助剤（例えば、ステアリン酸マグネシウムおよび微結晶性セルロース）も含み得る。カプセル剤、錠剤および丸剤の場合、それらの剤形は、緩衝剤も含み得る。それらは、必要に応じて不透明化剤を含むことがあり、ある特定の腸管部分において、必要に応じて遅延様式で、有効成分（単数または複数）だけを放出するかまたは有効成分（単数または複数）を優先的に放出する組成物でもあり得る。使用され得る包埋組成物の例としては、ポリマー物質およびろうが挙げられる。

10

【0156】

本明細書中に記載される化合物の局所的投与用または経皮的投与用の剤形としては、軟膏剤、ペースト、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、散剤、液剤、スプレー剤、吸入剤または貼付剤が挙げられる。有効な構成要素は、必要とされ得るとき、薬学的に許容され得るキャリアおよび任意の必要とされる保存剤または緩衝剤と、滅菌された条件下において混和される。眼科用製剤、点耳剤および点眼剤もまた、本発明の範囲内であると企図される。さらに、本発明は、化合物を身体に制御して送達するという追加の利点を有する経皮貼付剤の使用を企図する。そのような剤形は、化合物を適切な媒体に溶解するかまたは分散することによって作製され得る。吸収促進剤もまた、皮膚を越える化合物の流入を増加させるために使用され得る。その速度は、速度制御された膜を提供することによって、または化合物をポリマーマトリックスもしくはゲルに分散することによって、制御され得る。

20

【0157】

本明細書中に記載される組成物は、経口的に、非経口的に、吸入スプレー剤によって、局所的に、直腸に、経鼻的に、頬側に、経腔的にまたは埋め込まれたレザバーを介して、投与され得る。用語「非経口的」は、本明細書中で使用されるとき、皮下、静脈内、筋肉内、関節内、滑液嚢内、胸骨内、鞘内、肝臓内、病巣内および頭蓋内の注射または注入の手法を含むが、これらに限定されない。具体的には、それらの組成物は、経口的に、腹腔内に、または静脈内に投与される。

30

【0158】

本明細書中に記載される組成物の滅菌された注射可能な形態は、水性懸濁剤または油性懸濁剤であり得る。これらの懸濁剤は、好適な分散剤または湿潤剤および懸濁化剤を用いる当該分野で公知の手法に従って製剤化され得る。滅菌された注射可能な調製物は、無毒性の非経口的に許容され得る希釈剤または溶媒中の滅菌された注射可能な液剤または懸濁剤、例えば、1,3-ブタンジオール中の液剤でもあり得る。使用され得る許容され得るビヒクルおよび溶媒は、水、リンガー溶液および等張性塩化ナトリウム溶液である。さらに、滅菌された固定油が、溶媒または懸濁媒として従来法で使用される。この目的のために、合成モノグリセリドまたは合成ジグリセリドを含む任意の非刺激性の固定油が、使用され得る。オレイン酸などの脂肪酸およびそのグリセリド誘導体は、薬学的に許容され得る天然の油（例えば、オリーブ油またはひまし油、特に、それらのポリオキシエチル化されたバージョン）と同様に、注射可能物の調製において有用である。これらの油性の液剤または懸濁剤は、長鎖アルコール希釈剤もしくは分散剤、例えば、カルボキシメチルセルロース、または乳剤および懸濁剤を含む薬学的に許容され得る剤形の製剤化において通常使用される類似の分散剤も含み得る。他の通常使用される界面活性剤（例えば、Tweens、Spansおよび他の乳化剤）、または薬学的に許容され得る固体剤形、液体剤形

40

50

もしくは他の剤形の製造において通常使用されるバイオアベイラビリティ向上剤もまた、製剤化の目的で使用され得る。

【0159】

本明細書中に記載される薬学的組成物は、カプセル剤、錠剤、水性懸濁剤または液剤を含むがこれらに限定されない任意の経口的に許容され得る剤形で、経口的に投与され得る。経口で使用するための錠剤の場合、通常使用されるキャリアとしては、ラクトースおよびトウモロコシデンプンが挙げられるが、これらに限定されない。ステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤も通常加えられる。カプセルの形態での経口投与の場合、有用な希釈剤としては、ラクトースおよび乾燥トウモロコシデンプンが挙げられる。水性懸濁剤が経口で使用するために必要とされるとき、有効成分は、乳化剤および懸濁化剤と混和される。所望であれば、ある特定の甘味料、香味料または着色料も加えてよい。

10

【0160】

あるいは、本明細書中に記載される薬学的組成物は、直腸投与用の坐剤の形態で投与され得る。これらは、室温において固体であるが直腸温度では液体であるがゆえに直腸で融解して薬物を放出する好適な非刺激性賦形剤と薬剤を混合することによって、調製され得る。そのような材料としては、カカオバター、蜜ろうおよびポリエチレングリコールが挙げられるが、これらに限定されない。

【0161】

本明細書中に記載される薬学的組成物は、特に処置の標的が、局所的付与によって容易に接近可能な領域または器官（眼、皮膚または下部腸管の疾患を含む）を含むとき、局所的にも投与され得る。好適な局所的製剤は、これらの領域または器官の各々に対して容易に調製される。

20

【0162】

下部腸管に対する局所的付与は、直腸坐剤製剤（上記を参照のこと）または好適な浣腸製剤において実施され得る。局所経皮貼付剤もまた使用され得る。

【0163】

局所的付与の場合、薬学的組成物は、1つまたはそれを超えるキャリアに懸濁されたまたは溶解された有効な構成要素を含む好適な軟膏剤として製剤化され得る。本発明の化合物の局所的投与用のキャリアとしては、鉱油、流動石油、白色ワセリン、プロピレングリコール、ポリオキシエチレン、ポリオキシプロピレン化合物、乳化ろうおよび水が挙げられるが、これらに限定されない。あるいは、薬学的組成物は、1つまたはそれを超える薬学的に許容され得るキャリアに懸濁されたまたは溶解された有効な構成要素を含む好適なローション剤またはクリーム剤として製剤化され得る。好適なキャリアとしては、鉱油、ソルビタンモノステアレート、ポリソルベート60、セチルエステルワックス、セテアリルアルコール、2オクチルドデカノール、ベンジルアルコールおよび水が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0164】

眼科的使用の場合、薬学的組成物は、pHが調整され滅菌された等張性の食塩水中に微粒子化された懸濁剤として、または具体的には、塩化ベンジルアルコニウム（benzylalkonium chloride）などの保存剤を含むもしくは含まない、pHが調整され滅菌された等張性食塩水中の液剤として、製剤化され得る。あるいは、眼科的使用の場合、薬学的組成物は、ワセリンなどの軟膏剤として製剤化され得る。

40

【0165】

薬学的組成物は、鼻エアロゾルまたは吸入によっても投与され得る。そのような組成物は、薬学的製剤化の分野で周知の手法に従って調製され、ベンジルアルコールまたは他の好適な保存剤、バイオアベイラビリティを向上させる吸収促進剤、フルオロカーボンおよび/または他の従来の可溶化剤もしくは分散剤を使用して、食塩水中の液剤として調製され得る。

【0166】

本発明の方法における使用のための化合物は、単位剤形で製剤化され得る。用語「単位

50

剤形」とは、処置を受けている被験体に対する単位投与量として好適な物理的に別個の単位のことを指し、各単位は、所望の治療効果をもたらすと算出された所定の量の有効物質を、必要に応じて好適な薬学的キャリアとともに含む。単位剤形は、1日あたり1回の投薬または1日あたり複数回（例えば、1日あたり1～4回またはそれを超える回数）の投薬のうちの1回に対するものであり得る。1日あたり複数回の投薬が用いられる場合、単位剤形は、各投薬に対して同じであり得るか、または異なり得る。

【実施例】

【0167】

V. 実施例

【0168】

実施例1：XRPD、 C^{13} 固体NMR、DSCの測定の一般的な方法

【0169】

熱重量分析 (TGA)

【0170】

熱重量分析 (TGA) は、TA Instruments TGAモデルQ500 Asset Tag V014840において行った。固体サンプルを、白金サンプルパンに入れ、室温から300℃まで10℃/分で加熱した。

【0171】

DSCの測定

【0172】

示差走査熱量測定 (DSC) は、TA Instruments DSC Q200 Asset Tag V015553において行った。およそ1～2mgの固体サンプルを、ピンホールを有する波形の蓋を備えた気密性のアルミニウムDSCパンに入れた。サンプルセルを、通常、窒素パージ下で加熱した。

【0173】

SSNMR実験

【0174】

固体核磁気分光法 (SSNMR) スペクトルを、Bruker-Biospin 4mm HFXプローブを備えたBruker-Biospin 400MHz Advanced III大口径分光計において取得した。サンプルを4mm ZrO_2 ローターに詰めた (サンプルの利用可能性に応じておよそ70mgまたはそれ未満)。代表的には12.5kHzのマジック角回転 (MAS) 速度を利用した。回転中の摩擦熱の影響を最小限にするために、プローブヘッドの温度を275Kに設定した。 C^{13} 交差分極 (CP) MAS実験の適切な待ち時間 (recycle delay) を設定するために、 1H MAS T_1 飽和回復緩和実験を用いて、プロトン緩和時間を計測した。炭素スペクトルの信号対雑音比を最大にするために、 C^{13} CPMAS実験の待ち時間を、計測された 1H T_1 緩和時間よりも少なくとも1.2倍長い時間に調整した。 C^{13} CPMAS実験のCP接触時間を2msに設定した。直線勾配 (50%から100%へ) のCPプロトンパルスを使用した。外部参照サンプル (グリシン) に対してHartmann-Hahnマッチを最適化した。フッ素のスペクトルを、プロトンデカップリングMASの設定を使用して取得し、待ち時間 (recycled delay) を、計測された ^{19}F T_1 緩和時間のおよそ5倍に設定した。プロトンデカップリング ^{19}F MAS T_1 飽和回復緩和実験を用いてフッ素の緩和時間を計測した。炭素とフッ素の両方のスペクトルを、およそ100kHzという場の強度で使用したSPINAL64デカップリングで取得した。化学シフトは、アダマンタンの外部標準に対して言及され、その高磁場共鳴は、29.5ppmに設定した。

【0175】

Bruker D8 Discover XRPD実験の詳細

【0176】

粉末X線回折 (XRPD) パターンを、密封管式線源 (sealed tube so

10

20

30

40

50

urce) および Hi-Star エリア検出器 (Bruker AXS, Madison, WI) を備えた Bruker D8 Discover 回折計 (Asset Tag V012842) を使用して反射モードにおいて室温で取得した。その X 線発生装置は、40 kV の電圧および 35 mA の電流で作動した。粉末サンプルをアルミニウムホルダーに入れた。2 フレームを各々 120 秒の曝露時間で登録した。続いて、データを、 0.02° の刻み幅で $4.5^\circ \sim 39.2^\circ$ の範囲にわたって積分し、1 つの連続的なパターンにマージした。

【0177】

実施例 2：化合物 (1) および化合物 (1) の 2-MeTHF 溶媒和物の調製

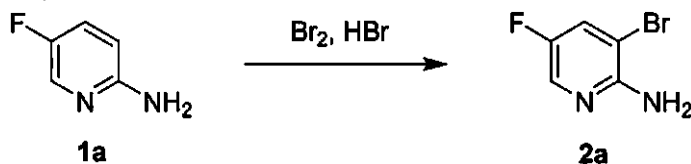
【0178】

化合物 (1) は、WO2010/148197 に記載されているように調製され得る。例えば、非晶質の遊離塩基化合物 (1) を、WO2010/148197 に従って調製した後、通常のカラル分離および精製：Et₂NH を含む調節物質を用いる SCF カラルクロマトグラフィー (これにより、化合物 (1) の Et₂NH 塩が得られた)、次いで、イオン交換樹脂処理を行った。その XRPD データを図 11 に示す。あるいは、化合物 (1) は、以下の手順によって、2-MeTHF 溶媒和物として生成され得る：

【0179】

化合物 2a (2-アミノ-3-ブロモ-5-フルオロピリジン) の調製

【化 5】



【0180】

14 の水 (24 L) 中の 2-アミノ-5-フルオロピリジン (6 kg, 53.6 mol) のスラリーに、10 分間にわたって 48% 臭化水素酸 (18.5 kg, 110 mol) を加えた。その反応は、発熱性であり、温度が 24 °C まで上昇した。その混合物を 12 °C まで再冷却し、次いで、臭素 (9 kg, 56.3 mol) を、50 分間にわたって 9 回に分けて加えた (発熱性、20 °C で維持)。その混合物を 22 °C で一晩攪拌し、クエンチされたアリコートの ¹H NMR によってモニターした (1 mL の 20% K₂CO₃、0.3 mL の 10% Na₂S₂O₃ および 0.7 mL の DCM の混合物に 5 滴でクエンチした。有機層を蒸発させ、アッセイした)。その混合物を 10 °C に冷却し、次いで、水 (2 L) における重亜硫酸ナトリウム (560 g, 5.4 mol) を加えることによってクエンチし、さらに 0 °C に冷却した。この混合物を、DCM (18 L) と 5.4 M 水酸化ナトリウム (35 L, 189 mol) との低温 (-4 °C) の混合物に加えた。底部の約 35 L をセライトパッドで濾過したところ、相の分離が生じた。水層を DCM (10 L) で再抽出した。有機相を、DCM (8 L) で洗浄しながら 3 kg のマグネゾール (magnesol) のパッドで濾過した。濾液を蒸発させ、ヘキサンを用いて摩砕し (trituated)、濾過した。

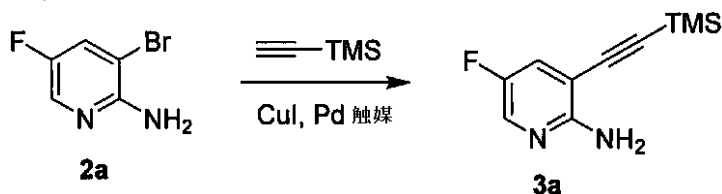
【0181】

工程中のアッセイが 97% の完了を示したにも関わらず、全 4 回からのこの最初の生成物は、代表的には約 10% の SM (出発原料) を含んでいた。これらを合わせ、50 °C のヘキサン (物質 1 kg あたり 2 L) で摩砕し、次いで 15 °C に冷却し、濾過することにより、化合物 2a を得た (30.0 kg, 約 95% 純度, 149 mol, 67%)。最初の摩砕および再精製からの母液をクロマトグラフィー (20 kg シリカ、ヘキサン中 25 ~ 50% EtOAc の溶離剤) にかけることにより、さらなる化合物 2a を得た (4.7 kg, 約 99% 純度, 24.4 mol, 11%)。

【0182】

化合物 3a の調製

【化6】



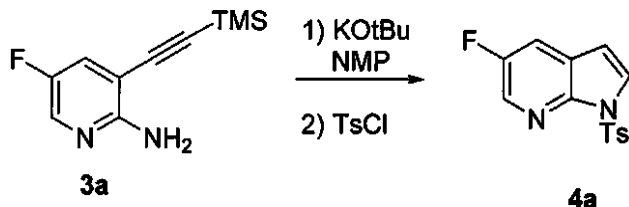
【0183】

不活性な400Lの反応容器に、2a(27.5kg, 96%純度, 138mol)、Pd(PPh₃)₄(1044g, 0.90mol)およびCuI(165g, 0.87mol)を投入した後、トルエン(90kg)を投入した。その混合物を3回の真空-窒素サイクルによって脱酸素し、次いで、トリエチルアミン(19.0kg, 188mol)を加えた。その混合物を、もう1回の真空-窒素サイクルによって脱酸素し、次いで、TMS-アセチレン(16.5kg, 168mol)を加えた。その混合物を23時間にわたって48℃に加熱し(最初の発熱(exotherm)によって、その温度が53℃の最高値になった)、次いで18℃に冷却した。スラリーをセライトパッドで濾過し、トルエン(80kg)で洗浄した。濾液を12%Na₂HPO₄(75L)で洗浄し、次いで、1:1ヘキサン:MTBE(120L)で洗浄しながらシリカ(25kg)のパッドで濾過した。この濾液を茶色油状物になるまで蒸発させ、次いで、次の工程に向けてNMPに溶解した。化合物3aの溶液の重量-58kg, 約50wt%, 138mol, 100%。¹H NMR(CDCl₃, 300 MHz): 7.90(s, 1H); 7.33-7.27(m, 1H); 4.92(s, NH₂), 0.28(s, 9H) ppm.

【0184】

化合物4aの調製

【化7】



【0185】

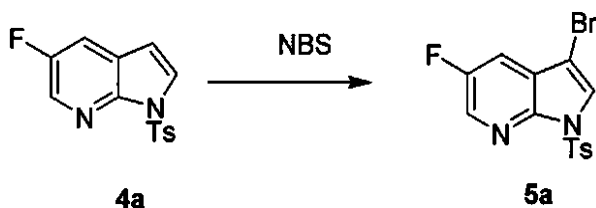
不活性な400Lの反応容器に、カリウムtert-ブトキシド(17.5kg, 156mol)およびNMP(45kg)を投入した。その混合物を54℃に加熱し、次いで、NMP(38kg)中の化合物3a(29kg, 138mol)の溶液を2.75時間にわたって加え、NMP(6kg)ですすいだ(発熱性、70~77℃で維持)。その反応物を74℃で2時間攪拌し、次いで30℃に冷却し、NMP(30kg)中の塩化トシル(28.5kg, 150mol)の溶液を1.5時間にわたって加え、NMP(4kg)ですすいだ。その反応は、発熱性であり、その反応物を30~43℃で維持した。その反応物を20℃に冷却しながら1時間攪拌し、次いで、水(220L)を35分間にわたって加えた(発熱性、18~23℃で維持)。その混合物を20℃で30分間攪拌し、次いで、濾過し、水(100L)で洗浄した。固体を、DCM(250kg)を用いてフィルターから溶解し、残留水から分離し、有機相を追加のDCM(280kg)で洗浄しながら、マグネゾール(15kg, 上層)およびシリカ(15kg, 下層)のパッドで濾過した。濾液を濃厚なスラリーになるまで濃縮し(約50Lの体積)、次いで、一定の体積で蒸留を続けながらMTBE(30kg)を加えた(51℃という最終的な留出物温度)。さらにMTBE(10kg)を加え、そのスラリーを15℃に冷却し、濾過し、MTBE(40L)で洗浄することにより、化合物4aを得た(19.13kg, 95%純度, 62.6mol, 45%)。濾液の部分的な濃縮により、第2の収穫物を得た(2.55kg, 91%純度, 8.0mol, 6%)。¹H NMR(CDCl₃, 300

0 MHz): 8.28 - 8.27 (m, 1H); 8.06 - 8.02 (m, 2H); 7.77 (d, J = 4.0 Hz, 1H); 7.54 - 7.50 (m, 1H); 7.28 - 7.26 (m, 2H); 6.56 (d, J = 4.0 Hz, 1H); 2.37 (s, 3H) ppm.

【0186】

化合物5aの調製

【化8】



10

【0187】

15 のDCM(30kg)中のN-ブロモスクシンイミド(14.16kg, 79.6mol)のスラリーに、DCM(115kg)中の化合物4a(19.13kg, 95%純度および2.86kg, 91%純度, 71.6mol)の溶液を、DCM(20kg)ですすぎながら投入した。その混合物を25℃で18時間攪拌し、次いで9℃に冷却し、水(130L)中のチオ硫酸ナトリウム(400g)および50%水酸化ナトリウム(9.1kg)の溶液を加えることによってクエンチした。その混合物を20℃に加温し、層を分離し、有機相を12%ブライン(40L)で洗浄した。水層を順次、DCMで再抽出した(4×50kg)。有機相を合わせ、40Lを、水と共沸する蒸留を行い、次いで、その溶液を、DCM(180kg)で洗浄しながらシリカ(15kg, 下層)およびマグネゾール(magnesol)(15kg, 上層)のパッドで濾過した。濾液を濃厚なスラリー(約32Lの体積)になるまで濃縮し、次いで、ヘキサン(15kg)を加えた。一定の体積で蒸留を続けながら、さらにヘキサン(15kg)を加えた(最終的な留出物の温度52℃)。そのスラリーを16℃に冷却し、濾過し、ヘキサン(25kg)で洗浄することにより、化合物5aを得た(25.6kg, 69.3mol, 97%)。¹H NMR(CDCl₃, 300 MHz): 8.34 - 8.33 (m, 1H); 8.07 (d, J = 8.2 Hz, 2H); 7.85 (s, 1H); 7.52 - 7.49 (m, 1H); 7.32 - 7.28 (m, 2H); 2.40 (s, 3H) ppm.

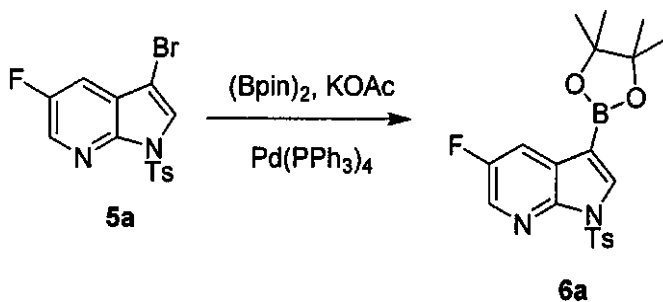
20

30

【0188】

化合物6aの調製: B E F T A I 反応

【化9】



40

【0189】

不活性な400Lの反応容器に、化合物5a(25.6kg, 69.3mol)、ビス(ピナコラト)ジボロン(19kg, 74.8mol)、酢酸カリウム(19kg, 194mol)、酢酸パラジウム(156g, 0.69mol)およびトリフェニルホスフィン(564g, 2.15mol)を投入した後、ジオキサン(172kg)を投入した(それらは、真空-窒素サイクル(×3)を用いて別々に脱酸素しておいた)。その混合物を攪拌し、真空-窒素サイクル(×2)を用いて脱酸素し、次いで、15時間にわたって

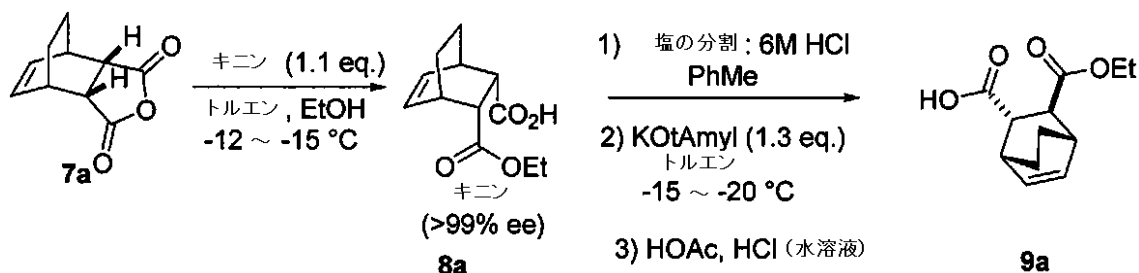
50

100 に加熱した。その混合物を35 に冷却し、次いで、30 のTHF(75 kg)で洗浄しながら濾過した。濾液を蒸発させ、残渣をDCM(約90 L)に溶解した。その溶液を1 kgの炭素および2 kgのマグネゾールとともに45分間攪拌し、次いで、DCM(160 kg)で洗浄しながらシリカ(22 kg, 下層)およびマグネゾール(10 kg, 上層)のパッドで濾過した。濾液を濃厚なスラリー(約40 Lの体積)になるまで濃縮し、次いで、35 で摩砕し、ヘキサン(26 kg)を加えた。そのスラリーを20 に冷却し、濾過し、DCM(5.3 kg)とヘキサン(15 kg)との混合物で洗浄し、次いで、ヘキサン(15 kg)で洗浄し、フィルター上で窒素下において乾燥することにより、化合物6a(23.31 kg, 56.0 mol, 81%)を白色固体として得た。¹H-NMRは、所望の生成物と一致し、HPLC 99.5%, パラジウムアッセイ 2 ppm。¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz): 8.25 (s, 1H); 8.18 (s, 1H); 8.09-8.02 (m, 2H); 7.91-7.83 (m, 1H); 7.30-7.23 (m, 2H); 2.39 (s, 3H); 1.38 (s, 12H) ppm.

【0190】

化合物8aおよび9aの調製

【化10】



【0191】

化合物8a: 無水物7a(24.6 kg, Apex)およびキニン(49.2 kg, Buchler)を反応容器に加えた後、無水PhMe(795.1 kg)を加えた。次いで、その反応容器を-16 に冷却し、反応容器の内部温度を-12 未満に維持するような速度でEtOH(無水, 41.4 kg)を加えた。この実験に対して記録された反応物の最高温度は、-16 だった。次いで、その反応混合物を-16 で16時間攪拌した。サンプルを取り出し、濾過した。固体を乾燥し、¹H-NMRによって評価したところ、それは、無水物が残っていないことを示した。その反応容器の内容物を濾過した。その反応容器およびその後の湿ったケーキをPhMe(無水, 20 kg)で洗浄した。N₂を流しながら少なくとも48時間、得られた固体を45 未満の箱形乾燥機の中に入れた。この実験では、実際の温度は、44 あり、真空は、-30 in HGだった。材料を乾燥の2.5日後にサンプリングし、その材料は、NMRによって3% PhMeであると示された。さらに8時間後、分析されたPhMeの量は、同じ3% PhMeが存在することを示したので、乾燥を停止した。白色固体の重量は、57.7 kgであり、76%収率だった。¹H-NMRは、構造と一致することを示し、キラルSFC解析は、材料>99% eeを示した。

【0192】

化合物9a: 反応容器に、キニン塩8a(57.7 kg)およびPhMe(250.5 kg, Aldrich ACSグレード, >99.5%)を投入し、攪拌機を開始した。内容物を15 未満に冷却し、温度を25 未満に維持しながら、6N HCl(18 kgのH₂Oを21.4 kgの濃HClで処理した)で処理した。その混合物を40分間攪拌し、視覚的に調べることで、固体が存在していないことを確かめた。攪拌を停止し、相を静置し、相を分離させた。水相をPhMe(160 kg; 通常使用される量は、もっと少なく、43 kgと計算される)で再度抽出した。しかしながら、体積が最小限であることに起因して、効率的に攪拌するために、さらにPhMeを加えた。有機相を合わせ

た。有機相をサンプリングし、HPLC解析を行うことにより、生成物が存在していることを確実にする（情報を得るためだけの試験として）。

【0193】

有機相を -5°C （ 0°C ～ 5°C ）に冷却し、8時間（この場合、12時間）にわたって攪拌しながら、硫酸ナトリウム（無水、 53.1 kg ）を加えた。有機相を含む反応容器の内容物を、硫酸ナトリウム（ 31 kg ，無水）を含むフィルターに通し、乾燥した清浄な反応容器に移した。その反応容器をPhMe（ 57.4 kg ）ですすぎ、フィルターを通して反応容器201に移した。攪拌機を開始し、さらなる量のPhMe（ 44 kg ）を加え、その反応混合物を -20°C に冷却した。その温度において、カリウムtert-ペントキシドのPhMe溶液を、温度を -15°C ～ -22°C で維持しながら、2時間にわたって加えた。その反応混合物を、さらに30分間、およそ -20°C で保持した後、サンプリングした。サンプリングは、アリコートを取り出すことによって行い、直ちに 6 N HCl 中にクエンチした。ここでの目標の比は $96:4$ （trans:cis）である。

10

【0194】

目標の比が達成したら、6分間にわたって反応容器に酢酸（ 2.8 kg ）を投入した。温度は、 -20°C のままだった。次いで、温度を -5°C に調整し、 2 N HCl 水溶液（ 65.7 kg の水を 15.4 kg の濃HClで処理したもの）を加えた。内容物を 5°C ～ -5°C に加熱し、45分間攪拌した後、攪拌しながら15分間、 20°C ～ -5°C に加熱した。攪拌機を停止し、相を静置させた。水層を除去した（一時的に保管）。有機相を水（ 48 kg ，飲用）で洗浄し、15分間攪拌し、相を静置させ（少なくとも15分間）、水層を取り出し、水層に加えた。調製された（ 7.9 kg の NaH_2PO_4 、 1.3 kg の Na_2HPO_4 および 143.6 kg の水）緩衝液の $1/3$ （約 50 L ）を、有機相に加え、少なくとも15分間攪拌した。攪拌を停止し、少なくとも15分間にわたって相を分離させた。下層を廃棄した。別の部分の緩衝液（約 50 L ）を使用して、先に記載されたように有機層を洗浄した。3回目の洗浄を、上に記載されたように行った。

20

【0195】

PhMe相（ 150 L ）の真空蒸留を 42°C ～ -13.9 psig で開始し、およそ 20 L の体積の油状物になるまで蒸留した。体積が実質的に減少した後、混合物をより小さい容器に移し、蒸留を完了した。ヘプタン類（ 13.7 kg ）を加え、その混合物を 40°C ～ -5°C に30分間加熱し、次いで、内容物を1.5時間にわたって 0°C ～ 5°C に冷却した。固体を濾過し、反応容器をおよそ 14 kg の冷（ 0°C ～ 5°C ）ヘプタン類で洗浄した。固体を真空中で乾燥させた後、LODが $<1\%$ になるまで、ハウスバキューム（house vacuum）（ -28 psig ）下の 40°C 未満のオープンに入れた。 15.3 kg ， 64% ， 96% HPLC純度。 $^1\text{H NMR}$ （ 400 MHz ， CDCl_3 ） 11.45 （br. s， 1 H ）， 6.41 （t， $J = 7.2\text{ Hz}$ ， 1 H ）， 4.18 （m， 2 H ）， 3.27 （m， 1 H ）， 3.03 （m， 1 H ）， 2.95 （m， 1 H ）， 2.77 （m， 1 H ）， 1.68 （m， 1 H ）， 1.49 （m， 1 H ）， 1.25 （t， $J = 7.2\text{ Hz}$ ）， 1.12 （m， 1 H ）。

30

40

【0196】

化合物10aの調製

【化11】



【0197】

50

メカニカルスターラー、温度プローブ、還流冷却器、滴下漏斗および窒素入口を備えた3つ口フラスコに、化合物9a(145.0g, 1当量)および無水トルエン(Aldrich, cat # 244511)(1408g, 1655ml)を窒素の雰囲気下において投入した。次いで、その攪拌溶液に、トリエチルアミン(Aldrich, cat # 471283)(140g, 193ml, 2.14当量)を小分けにして5分間にわたって加え、その間に、27の最高温度までの発熱が観察された。ReactIRによるデータ取得を開始した。次いで、その反応混合物を70分間にわたって95に加熱した。次いで、ジフェニルホスホリルアジド(Aldrich, cat # 178756)(176.2g; 138.0ml, 0.99当量)を小分けにして合計2.25時間にわたって滴下漏斗によって加えた。

10

【0198】

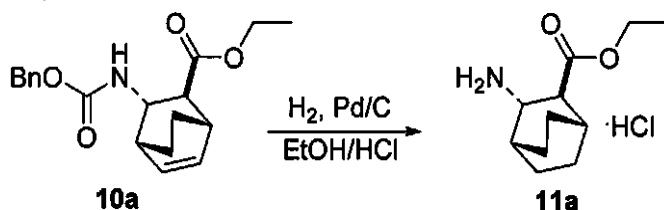
ジフェニルホスホリルアジドの添加が完了した後(滴下漏斗を少量のトルエンですすいだ)、得られた混合物をさらに50分間、96で加熱した。トルエンに希釈された反応混合物のサンプルをGC/MSによって分析したところ、ジフェニルホスホリルアジドの消費が示された。次いで、ベンジルアルコール(Aldrich, cat # 108006)(69.9g, 67.0ml, 1.0当量)を、5~10分間にわたって滴下漏斗によって加えた。次いで、得られた混合物を97で一晩(およそ19時間)加熱した。トルエンに希釈された反応混合物のサンプルは、GC/MSによって、生成物の形成を示した(m/e = 330)。次いでその反応混合物を21に冷却し、その後、水(870g, 870ml)を小分けにして加えた(22の最高温度までのわずかな発熱が観察された)。その反応混合物を、まず、500gの水を加えることによってクエンチし、10分間、機械的に攪拌した。次いで、その混合物を、残りの370gの水を含む分液漏斗に移し、次いで、手作業で攪拌した。攪拌および相分離の後、有機層および水層を分離した(約10のpHにおける水性カット)。次いで、有機層をさらなる部分の水で洗浄した(870g; 1x870ml)。有機層および水層を分離した(約10のpHにおける水性カット)。次いで、回収した有機相を減圧下で濃縮乾固することにより(45~50のウォーターバス)、215gの粗化合物10a(およそ190mlの体積)を得た。¹H NMRおよびGC/MSは、化合物10a(残留トルエンおよびベンジルアルコールを含む)と一致した。

20

【0199】

化合物11aの調製

【化12】



30

【0200】

エタノール中のHClの調製：温度プローブ、窒素入口およびマグネチックスターラーを備えた3つ口フラスコに、窒素雰囲気下においてエタノール(1000ml, 773g)を投入した。その溶液を攪拌し、-12という内部温度に達するまで、ドライアイス/アセトン浴において冷却した。次いで、無水HCl(約80g, 2.19mol)を、2時間にわたって、その冷却溶液中でゆっくり泡立たせた(添加中、-24~-6の温度が観察された)。添加後、その溶液をガラス瓶に移し、周囲温度まで加温した。その溶液のサンプルを滴定のために提出したところ、2.6Mの濃度が得られた。次いで、その溶液を低温室(およそ5)において一晩保管した。

40

【0201】

水素化/HCl塩の形成：2ガロンのParrオートクレーブに対するガラスインサートに、炭素担持パラジウム(Pd/C(Aldrich, cat # 330108), 10

50

%乾燥基準；(50%湿)、13.11g、化合物10aに基づいて0.01当量)を窒素雰囲気下において投入し、次いで、エタノール(93g；120ml)で湿らせた。次いで、エタノール(1246g；1600ml)中の粗化合物10a(212g，1当量)の溶液を、そのガラスインサートに加えた(移すのを助けるためにエタノールで少しすすいだ)。そのガラスインサートをオートクレーブ内に置き、その後、エタノール中のHCl(上に記載されたように調製される；2.6M；化合物10aに基づいて1.04当量；223g；259ml)を加えた。オートクレーブを密閉し、次いで、水素をパージした(20psiにおいて3x)。次いで、その水素化は、水素ガスの印加圧力(15psi)の下、3時間にわたって開始し、その時点において、水素の圧力は、一定であるとみられた。¹H NMRおよびGC/MSによる、その反応混合物のアリコートの解析は、出発物質の消費/生成物の形成を示した。次いで、得られた混合物を、セライト床(192g)で濾過し、その後、そのセライト床をさらなるエタノールで洗浄した(3x；合計1176gのエタノールを洗浄中に使用した)。次いで、濾液(緑色)を、減圧下で(45のウォーターバス)、約382g((約435ml；化合物11aの理論的収量に基づいて2.9体積))になるまで濃縮した。次いで、酢酸イソプロピル(1539g；1813ml(化合物11aの理論的収量に基づいて12体積))を、その残りに加えた。得られた溶液を真空下で、温度を徐々に上げながら蒸留した。

10

【0202】

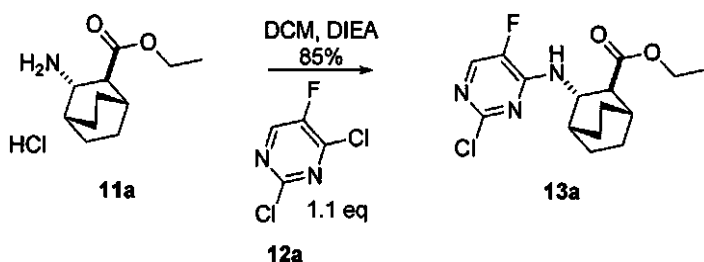
蒸留を停止し、その後、残りの溶液(370g，約365mlの総体積；茶色がかった色)を週末にわたって周囲温度において静置させた。その混合物を濾過し(濾過を助けるために酢酸イソプロピルを使用した)、回収された固体をさらなる酢酸イソプロピルで洗浄した(2x116ml；各洗浄は、およそ100gだった)。次いで、その固体を真空下、40で(観察された最高温度は42)一晚乾燥することにより、118g(2工程にわたって78.1%)の化合物11aを得た。その材料の¹H NMRは、化合物11aの構造と一致し、GC/MSは、99%の純度を示した。

20

【0203】

化合物13aの調製

【化13】



30

【0204】

手順A：5-フルオロ-2,4-ジクロロピリミジン(12a，39.3g，235mmol，1.1当量)とHClアミン塩(11a，50g，214mmol)との混合物をCH₂Cl₂(169mL)で処理し、その混合物を30に加温した。次いで、その混合物を、シリンジポンプを介して3時間にわたってDIEA(60.8g，82mL，471mmol，2.2当量)でゆっくり処理した。ピーク温度は、最高32だった。その反応物を20時間攪拌したところ、その反応混合物は、HPLCによって完了したと判断され、室温に冷却した。得られた反応混合物を、水(211mL，pH=8~9)、5%NaHSO₄(211mL，pH=1~2)、次いで、5%NaCl水溶液(211mL，pH=5~6)で順次洗浄した。

40

【0205】

次いで、有機相を減圧下で190mLになるまで蒸留した。PhMeを投入し(422mL)、体積が190mLに戻るまで、温度を70~80および内部温度を60~65に設定した。その混合物を、攪拌しながら37に冷却し、およそ10分後、結晶化が生じ始め、温度が41に上昇するのが観察された。37で平衡させた後、その懸

50

濁液に、*n*-ヘプタン(421 mL)を3.5時間にわたって投入した後、1時間にわたって22 に冷却した。その混合物を、その温度で一晩攪拌した後、濾過した。フィルター上の得られた固体を、*n*-ヘプタン溶液中の10% PhMeで洗浄した(2×210 mL)。次いで、その固体を真空下のオープン内においてN₂をパージしながら50 で一晩乾燥した。得られた固体は、62 gの重量だった(88%収率)。

【0206】

手順B：メカニカルスターラー、温度プローブ、還流冷却器、窒素入口および滴下漏斗を備えた3つ口フラスコに、化合物11a(51.2 g)および化合物12a(40.2 g)を窒素の雰囲気下において投入した。ジクロロメタン(173 mL, 230 g)を加え、得られた混合物を、30 の内部温度まで加温しながら攪拌した。次いで、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(85 mL, 63.09 g)を、2.5~3時間にわたって滴下漏斗によってゆっくり加え、その時間の間に、33.5 の観察された最高温度までの発熱が観察された。添加が完了した後、得られた溶液を30 ~31 において一晩、窒素雰囲気下において攪拌した(およそ19時間)。

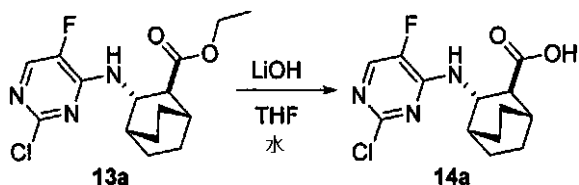
【0207】

その反応混合物の100 μLのサンプルを、10 mLという総体積までジクロロメタンで希釈し、その溶液を十分混合した。その希釈されたアリコートのサンプルをGC/MSによって分析したところ、その反応が完了したとGC/MSによって示された；生成物の形成が観察された(*m/e* = 328)。その反応混合物を26 に冷却し、分液漏斗に移した(ジクロロメタンの助けを借りて)。次いで、その混合物を、水(211 mL, 211 g；水性カットのpHは約8だった；少量のラゲ層(*rag layer*)を水性カットとともに移した)、5% NaHSO₄水溶液((50 gの重硫酸ナトリウム一水和物(Aldrich cat. #233714)および950 gの水を用いて調製された)211 mL, 216 g；水性カットのpHは約2だった)、次いで、5% NaCl水溶液((50 gの塩化ナトリウム(Aldrich cat. #S9888)および950 gの水を用いて調製された)211 mL, 215 g；水性カットのpHは約4~5だった)で順次洗浄した。次いで、回収された有機相を、減圧下で(35 のウォーターバス)、約190 mL(化合物13aの理論的収量に基づいて2.7体積)まで濃縮し、その後、トルエン(Aldrich cat. #179418, 422 mL, 361 g)を加えた。得られた混合物を、減圧下で(55 ~65 のウォーターバス)、約190 mL(化合物13aの理論的収量に基づいて2.7体積)まで濃縮した。¹H NMRによるこの段階におけるその溶液のサンプルの解析から、ジクロロメタンが存在しないことが示された。残りの混合物を37 に冷却した(ロータリーエバポレーター(*rotovap*)において攪拌しながら37 のウォーターバスを用いて)。この時間の間に、明白な結晶化が観察された。次いで、その混合物を機械的に攪拌し、およそ37 (外部熱源を38 に設定した)に加熱し、その後、*n*-ヘプタン(430 mL, 288 g；Aldrich cat #H2198)を、3時間にわたって滴下漏斗によってゆっくり加えた。添加後、加熱を止め、得られたスラリーを、一晩、周囲温度まで冷却しながら機械的に攪拌した。次いで、得られた混合物を濾過し、回収された固体を、*n*-ヘプタン中の10%トルエンで洗浄した(2×210 mL；各洗液は、21 mL(16 g)のトルエンおよび189 mL(132 g)の*n*-ヘプタンを混合することによって調製された)。ほんの少しの濾液しか観察されなくなるまで、真空を付加した。次いで、固体を、窒素を流しながら真空下、50 でさらに一定重量になるまで(3.5時間)乾燥することにより、64.7 g(90%)の化合物13aを得た。¹H NMRによるその固体のサンプルの解析は、その材料が構造と一致することを示し、LC解析は、提供されるLC方法を用いて、99.8%の純度を示した。

【0208】

化合物14aの調製

【化 1 4】



【 0 2 0 9】

エチルエステル 13a (85 g, 259 mmol) を THF (340 mL) に溶解し、LiOH (2 M, 389 mL, 778 mmol) の溶液で 10 分間にわたって処理した (21 ~ 24 の温度)。その混合物を、17 時間にわたって撪拌しながら 45 に加温し、その時点において、HPLC によってその反応は完了したと判断された (SM は観察されなかった)。その反応混合物を室温に冷却し、CH₂Cl₂ を加えた (425 mL)。次いで、クエン酸の溶液 (2 M, 400 mL) を 45 分間にわたってゆっくり加えた (26 までの温度)。投入している間、いくつかの白色固体が形成されたが、撪拌によって急速に溶解したことに注意した。その反応混合物を、さらに 15 分間撪拌した後、相を分離させた。相を分割した後、水相の pH は、pH = 4.0 と計測された。有機相を水 (255 mL) で洗浄し (15 分間撪拌)、相を分離させた。次いで、所望の生成物を含む下層 (有機層) を一晩、冷蔵庫内に保管した。

10

【 0 2 1 0】

有機相を、およそ 150 mL (SM に対して推定 1.76 vol) になるまで減圧下で濃縮した (ポットを 65 に設定)。IPA (510 mL) を投入し、255 mL (3 vol) になるまで減圧下で蒸留した (85 という冷却機の温度設定)。IPA (298 mL) を加えることによって、溶媒のレベルをおよそ 553 mL (6.5 vol) にした。次いで、水 (16 mL) を加え、容器の壁に沈殿した固体を溶解する撪拌を十分にしながら、その反応混合物を加温還流した (77)。次いで反応混合物をゆっくり 65 に冷却し (60 分間にわたって)、その場で保った (すべての材料がまだ溶液中に存在した (残留溶媒解析のためにサンプルを採取した))。その反応物をさらに 60 に冷却したところ、その反応混合物は、わずかに不透明に見えた。15 分間撪拌した後、さらに 55 に冷却した。より多くの生成物が沈殿したが、混合物は、なおも希薄であり、容易に撪拌される。温度をおよそ 55 で維持しながら、水 (808 mL) を非常にゆっくり (2.5 ~ 3 時間) 加えた。次いでその混合物を 2 時間にわたって 22 に冷却し、一晩撪拌した。次いで、材料を濾過し、水 : IPA の混合物で洗浄した (75 : 25, 2 × 255 mL)。55 の真空オープン内において一晩、酸を乾燥した。69 g の酸 14a を、88 % 収率の白色固体として得た。その材料は、HPLC によって > 99 % の純度と解析された。

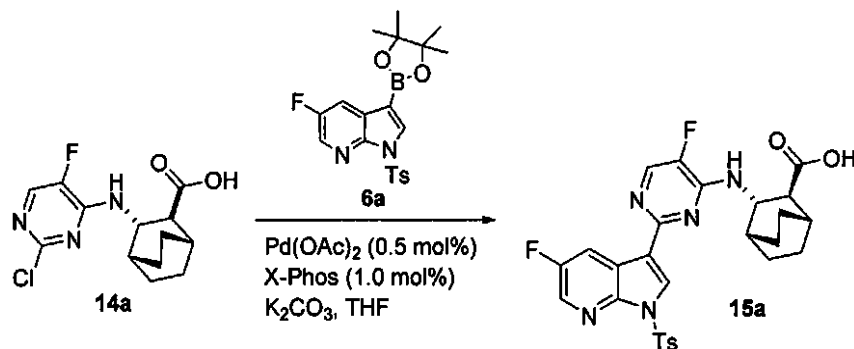
20

30

【 0 2 1 1】

化合物 15a の調製 : 鈴木カップリング

【化 1 5】



40

【 0 2 1 2】

14a (91.4 g, 305 mmol)、6a (158.6 g, 381 mmol, 1.25 当量)、Pd(OAc)₂ (0.34 g, 1.5 mmol, 0.5 mol%)、X -

50

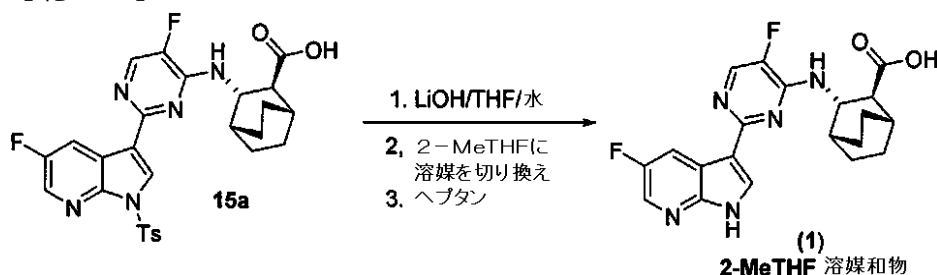
Phos (1.45 g, 3.0 mmol, 1.0 mol %) および K_2CO_3 (168.6 g, 1220 mmol, 4 当量) に、THF (731 mL, 8 体積) および水 (29 mL, 0.32 vol) を加えた。その反応混合物に、30 分間 N_2 をスパージし、次いで、65 ~ 70 に加温し、5 時間撹拌した。その反応混合物の HPLC 解析は、99.3 % の変換を示した。その反応混合物を 22 ~ 25 に冷却し、水を加えた。その混合物を撹拌し、相を分離させ、水相をデカントした。18 wt % NaCl の水溶液 (半飽和の NaCl 水溶液) を、有機相に加え、その混合物の pH を、2 N HCl を使用して 6.0 ~ 6.5 に調整した。相を分離させ、水相をデカントした。有機相を最小体積まで濃縮し、アセトニトリルを加えた。このプロセスをもう一度繰り返し、アセトニトリルを加えることにより、最終体積を 910 mL (10 vol) にした。そのスラリーを、6 時間

10

【0213】

化合物 (1) の調製：脱トシル化工程

【化16】



20

【0214】

15a (25 g, 45.2 mmol) に、THF (125 mL, 5 vol)、次いで、MP-TMT 樹脂 (6.25 g, 25 wt %) を加えた。その混合物を 20 ~ 25 で 16 時間撹拌し、1 vol の THF ですすぎながら濾過した。この樹脂処理プロセスおよび濾過を繰り返した。その THF 溶液を 5 vol まで濃縮した。22 ~ 25 のその混合物に、2 M LiOH の水溶液 (90.3 mL, 4 当量) を加えた。その反応混合物を 40 ~ 45 に加温し、5 時間撹拌した。HPLC 解析は、99.7 % の変換を示した。その反応混合物を 22 ~ 25 に冷却し、MTBE (50 mL, 2 vol) を加えた。相分離が生じた。下の水相を回収した。水相を MTBE で抽出した。下の水相を回収した。その水相に、2-MeTHF を加え、その混合物を撹拌した。その混合物の pH を 6.0 ~ 6.5 に調整し、下の水相をデカントした。有機相を pH 6.5 緩衝液で洗浄した。有機相を 85 mL まで濃縮し、2-MeTHF (150 mL) で希釈し、180 mL の最終体積まで濃縮した。結果として生じたスラリーを 70 ~ 75 に加温し、完全に溶解するまで撹拌し、次いで、45 ~ 50 に冷却することにより、スラリーを得た。そのスラリーを 1 時間撹拌し、次いで、ヘプタン (180 mL) を加えた。そのスラリーを、1 時間にわたって 20 ~ 25 に冷却し、16 時間撹拌した。ヘプタンで固体をすすぎながら、そのバッチを濾過した。固体を乾燥することにより、粗化合物 (1)・2-MeTHF 溶媒和物を得た。79 % 収率。

30

40

【0215】

実施例 3：化合物 (1) の HCl 塩の多形の形成

【0216】

3A：A 形の化合物 (1)・1/2 H_2O の HCl 塩の調製

【0217】

A 形の化合物 (1)・1/2 H_2O の HCl 塩を、水と有機溶媒 (単数または複数) との混合物中で化合物 (1) の 2-メチルテトラヒドロフラン (2-MeTHF) 溶媒和物 (1 当量) (化合物 (1)・1・(2-MeTHF)) を塩化水素と混合することによ

50

て調製した（ここで、その水と有機溶媒（単数または複数）との混合物は、0.05～0.85の水分活性を有した）。使用された特定の反応条件を下記の表2に要約する。

【0218】

【表1】

表1: A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩を調製するために使用された反応条件

化合物 (1) (mg) 1 (2-MeTHF)	溶媒	溶媒 (mL)	水 (mL)	6N HCl 水溶液 (mL)	T (°C)	当量 (HCl: 化合物 (1))	水 (wt%)
40	アセトン	640	40	15.70	35	1.1332	8.84%
25	アセトン	400	25	9.80	46	1.1318	8.84%
10.09	アセトン	160	64	3.98	35	1.1389	32.71%
5	n-プロパノール	186	10	1.29	20	0.7449	6.87%
6.01	イソ-プロパノール	88	2	2.31	35	1.1097	5.10%
6.6	iPrOH/酢酸 =>アセトン*	100/1.0	4	3.10	45	1.3561	7.25%
18	アセトン	180	6	3.60	30	0.5774	5.33%
18	アセトン	180	8	6.40	35	1.0266	7.73%
6	アセトン	66	11	2.82	30	1.3561	18.57%
0.101	iBuOAc	5	0.1	0.10	~20	2.8586	4.36%
6	酢酸	50	8.7	2.18	35	1.0499	15.37%

*2工程: iPrOH/AcOH、次いで、アセトン/水において再スラリー化

【0219】

あるいは、A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩を、以下の手順によっても調製した：手順A：化合物(1)・2-MeTHF(953g, 2.39mol)を30Lのジャケット付き反応容器に入れ、IPA(15L)および水(0.57L)で処理した。攪拌機を開始し、その反応混合物を73℃に加熱することにより、すべてを溶液にし、次いで、50～55℃に冷却した。50～55℃においてその反応混合物を、新たに調製されたHClのIPA溶液(0.83M, 4.34L)で、4時間にわたってゆっくり加えることによって、処理した。約半分の経過時点で、混合物が濃厚になることに注意すべきである。正しい形態であることをXRPDによって確かめるために、その反応物をサンプリングした。添加後、冷却機を、攪拌しながら480分間にわたって0℃まで低下するようにプログラムした。XRPD解析による形態の確認の後、スラリーを2枚のフィルターで濾過した。その反応容器を3LのIPAで洗浄し、各濾過ケーキを、その反応容器からのIPA洗浄液の約1.5LのIPAで洗浄した。それらのケーキを吸引によって一晩風乾させた。次いで、それらのケーキを、加熱せず、真空下でN₂をパージしながら(22inHg)、24時間、箱形乾燥機の中に入れた。残留していた溶媒および水の解析から、505ppmのIPA、8ppmの2-Me-THFおよびおよそ2.15% H₂Oが示された。物質をオープンから取り出し、共に粉碎して塊をくずすことにより、805gの化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩を得た。手順B：あるいは、IPAの代わりにアセトンを、上記の手順Aに記載された様式と類似の様式を使用することにより、化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩を形成した。

【0220】

A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩のXRPDおよび¹³C SSNMRデータを、それぞれ図1および図2に示す。観察されたある特定のXRPDピークおよび¹³C SSNMRピークを、それぞれ表2および表3に要約する。

【0221】

【表 2】

表2: A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩のXRPDピーク

XRPDピーク	角度 (2-シータ ± 0.2)	強度 %
1	10.5	100.0
2	5.2	71.6
3	7.4	46.8
4	18.9	42.0
5	25.2	41.7
6	16.5	39.5
7	18.1	28.1
8	23.0	27.5
9	24.1	25.3
10	20.2	21.6
11	26.4	21.3
12	15.8	19.8
13	21.8	18.3
14	13.8	17.6
15	27.4	17.3
16	29.0	16.7
17	14.8	15.0
18	32.0	15.0
19	25.7	13.8
20	28.6	13.4
21	33.8	13.0
22	12.8	12.0
23	30.8	11.7
24	32.4	11.6
25	24.5	11.5
26	23.4	11.1
27	21.0	10.4

10

20

30

【 0 2 2 2 】

【表 3】

表3:A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩のC¹³ SSNMRピーク

ピーク #	化学シフト [± 3 ppm]	強度 [rel]
1	180.1	50.4
2	157.9	9.1
3	154.6	26.4
4	150.7	25.3
5	144.9	31.0
6	140.1	6.7
7	132.4	36.3
8	131.2	30.0
9	129.0	21.0
10	117.5	33.6
11	114.0	38.0
12	107.0	34.4
13	54.8	42.0
14	47.7	52.7
15	29.2	100.0
16	24.6	74.0
17	22.1	83.6

10

20

【0223】

調製されたA形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩は、以下の溶媒系(これらに限定されないが)中で安定であると見出された:クロロベンゼン、シクロヘキサン、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、1,2-ジメトキシエタン、ヘキサン、2-メトキシエタノール、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、ニトロメタン、テトラリン、キシレン、トルエン、1,1,2-トリクロロエタン、アセトン、アニソール、1-ブタノール、2-ブタノール、酢酸ブチル、t-ブチルメチルエーテル、クメン、エタノール、酢酸エチル、エチルエーテル、ギ酸エチル、ヘプタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、酢酸メチル、3-メチル-1-ブタノール、メチルエチルケトン、2-メチル-1-プロパノール、ペンタン、1-プロパノール、1-ペンタノール、2-プロパノール、酢酸プロピル、テトラヒドロフラン、メチルテトラヒドロフラン。

30

【0224】

具体的には、A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩に対する溶解度試験および安定性試験に向けて、その化合物のサンプルを、500μlの溶媒とともに2mLのHPLCバイアルに充填した。その混合物を周囲温度で2週間攪拌し、次いで、遠心分離機によって濾過した。得られた固体をXRPDによって解析し、溶液を、ヒドロキノン標準物質に対する定量的NMRによって溶解度について解析した。結果を表4に要約する。

40

【0225】

【表 4 - 1】

表4:A形の化合物(1)のHCl塩に対する形態および溶解度データの要約。

溶媒	溶解度 (mg/ml)	得られた形態
アセトニトリル	0.5	溶媒和物
クロロベンゼン	<0.1	A
クロロホルム	<0.1	溶媒和物
シクロヘキサン	<0.1	A
1,2-ジクロロエタン	1.7	A
ジクロロメタン	0.1	A
1,2-ジメトキシエタン	0.5	A
1,4-ジオキサン	0.4	A
エチレングリコール	108.1	溶媒和物
ヘキサン	<0.1	A
メタノール	46.4	溶媒和物
2-メトキシエタノール	34.1	A
メチルブチルケトン	0.4	A
メチルシクロヘキサン	<0.1	A
ニトロメタン	<0.1	A
テトラリン	<0.1	A
トルエン	<0.1	A
1,1,2-トリクロロエタン	<0.1	A
キシレン	<0.1	A
アセトン	1.5	A
アニソール	<0.1	A
1-ブタノール	2.9	A
2-ブタノール	2.9	A
酢酸ブチル	0.2	A
t-ブチルメチルエーテル	0.4	A
クメン	<0.1	A
ジメチルスルホキシド	346.5	溶媒和物
エタノール	19.9	A
酢酸エチル	0.2	A
エチルエーテル	0.1	A
ギ酸エチル	0.4	A
ギ酸	214.0	溶媒和物
ヘプタン	<0.1	A
酢酸イソブチル	0.2	A
酢酸イソプロピル	0.4	A

10

20

30

40

【表 4 - 2】

溶媒	溶解度 (mg/ml)	得られた形態
酢酸メチル	0.6	A
3-メチル-1-ブタノール	3.2	A
メチルエチルケトン	0.5	A
2-メチル-1-プロパノール	3.5	A
ペンタン	<0.1	A
1-ペンタノール	3.3	A
1-プロパノール	10.7	A
2-プロパノール	3.3	A
酢酸プロピル	0.8	A
テトラヒドロフラン	0.7	A
メチルテトラヒドロフラン	0.7	A
水	0.6	F

10

【 0 2 2 6 】

白金サンプルパンにサンプルを入れ、室温から 3 0 0 まで 1 0 / 分で加熱することによって、サーモグラムデータを得た（データ示さず）。そのサーモグラムデータは、3 0 0 ° から 1 7 0 まで 2 . 1 % の重量減少を示し、これは、理論上の半水和物（ 2 . 0 % ）と一致した。

20

【 0 2 2 7 】

室温から 3 0 0 まで 1 0 / 分でサンプルを加熱することによって、D S C サーマグラムデータを得た（データ示さず）。D S C サーマグラムは、5 0 ~ 1 0 0 の脱水開始温度の後、2 0 0 ~ 2 6 0 の融解 / 分解開始温度を示した。

【 0 2 2 8 】

3 B : F 形の化合物 (1) ・ 3 H ₂ O の H C l 塩の調製

【 0 2 2 9 】

F 形の化合物 (1) ・ 3 H ₂ O の H C l 塩は、A 形の化合物 (1) ・ 1 / 2 H ₂ O の H C l 塩をイソプロパノールおよび水、またはアセトンおよび水、または水においてスラリー化することによって調製され得る（ 0 . 9 に等しいかまたはそれを超える水分活性値で）。

30

【 0 2 3 0 】

例えば、0 . 9 の水分活性の、5 m L のイソプロパノール / 水またはアセトン / 水における 1 0 0 m g の A 形の化合物 (1) ・ 1 / 2 H ₂ O の H C l 塩のスラリーを、周囲温度で一晩攪拌した。上清をデカントし、得られた固体材料を静かに風乾することにより、F 形の化合物 (1) ・ 3 H ₂ O の H C l 塩を得た。

【 0 2 3 1 】

F 形の化合物 (1) ・ 3 H ₂ O の H C l 塩の X R P D および C ¹³ S S N M R データを、それぞれ図 3 および図 4 に示す。観察されたある特定の X R P D ピークおよび C ¹³ S S N M R ピークを、それぞれ表 5 および表 6 に要約する。

40

【 0 2 3 2 】

【表 5】

表5:F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩のXRPDピーク

XRPDピーク	角度 (2-シータ ± 0.2)	強度 %
1	7.1	100.0
2	9.6	83.0
3	11.9	88.8
4	12.4	84.6
5	16.4	83.5
6	17.1	83.0
7	17.5	82.8
8	19.2	86.9
9	21.1	82.2
10	21.8	83.7
11	23.9	83.8
12	28.7	83.4

10

【 0 2 3 3 】

20

【表 6】

表6:F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩のC¹³ SSNMRピーク

ピーク #	化学シフト [± 3 ppm]	強度 [rel]
1	178.6	67.6
2	156.8	21.5
3	154.3	49.3
4	152.1	12.6
5	151.2	21.3
6	142.5	37.0
7	132.3	85.7
8	127.9	15.4
9	118.0	38.6
10	117.5	43.7
11	115.2	36.3
12	114.5	35.2
13	106.1	15.4
14	104.8	31.6
15	52.7	43.1
16	52.3	37.2
17	48.8	44.8
18	48.4	46.4
19	30.3	100.0
20	27.4	35.4
21	25.5	37.4
22	24.5	44.5
23	23.8	40.9
24	22.0	46.4
25	21.1	47.0
26	20.7	50.5
27	20.3	47.7

10

20

30

【0234】

M D S Cサーモグラムを、- 20 から350 まで2 /分でサンプルを加熱することによって得て(データ示さず)、60秒ごとに±1 で調節した。そのM D S Cサーモグラムは、150 未満において脱水、150 ~ 200 において融解および再結晶、ならびに250 超において分解を示した。

40

【0235】

その形態の熱重量分析(TGA)も行った。そのサーモグラムは、125 まで12%の重量減少を示し、これは、理論上の三水和物(11%)と近かった。200 未満における第2の工程の重量減少は、TGA-MSによってHClの減少であると示された。融解/分解の開始は、およそ270~290 だった。

【0236】

3C:D形の化合物(1)のHCl塩の調製

【0237】

50

無水D形の化合物(1)のHCl塩は、通常、A形の化合物(1)・ $1/2\text{H}_2\text{O}$ のHCl塩を脱水することによって作製され得る。この脱水は、加熱もしくは乾燥窒素のパージ、またはそれら2つの組み合わせによって行われ得た。例えば、2mgのA形の化合物(1)・ $1/2\text{H}_2\text{O}$ のHCl塩をホットプレート上で加熱することにより、およそ85において所望の無水D形が生成された。

【0238】

無水D形の化合物(1)のHCl塩のXRPDおよび ^{13}C SSNMRデータを、それぞれ図5および図6に示す。観察されたある特定のXRPDピークおよび ^{13}C SSNMRピークを、それぞれ表7および表8に要約する。

【0239】

【表7】

表7: D形の化合物(1)の無水HCl塩のXRPDピーク

XRPDピーク	角度 (2-シータ ± 0.2)	強度 %
1	5.3	100.0
2	10.5	56.0
3	15.9	49.2
4	25.9	30.5
5	21.0	24.6
6	26.5	24.1
7	5.8	22.6
8	7.4	21.7
9	19.0	17.4
10	16.6	17.2
11	25.3	16.1
12	24.7	16.0
13	29.4	15.5
14	13.8	14.6
15	20.3	14.5
16	32.0	14.4
17	19.5	12.4
18	28.6	12.4
19	17.1	11.5
20	30.3	11.4
21	27.5	11.0
22	27.0	10.7
23	23.7	10.4
24	28.0	10.2
25	21.6	10.1

【0240】

【表 8】

表8:D形の化合物(1)の無水HCl塩のC¹³ SSNMRピーク

ピーク #	化学シフト [± 3 ppm]	強度 [rel]
1	179.7	43
2	177.8	44.85
3	157.5	16.88
4	154.9	43.14
5	151.1	25.79
6	149.8	21.51
7	145.0	26.82
8	143.9	35.41
9	141.6	14.85
10	139.7	12.9
11	135.4	29.94
12	132.5	43.37
13	130.1	23.65
14	128.9	27.35
15	127.3	25.35
16	118.1	27.24
17	116.6	28.25
18	113.3	52.71
19	107.5	29.33
20	106.1	30.73
21	54.4	39.43
22	53.4	42.25
23	48.2	54.53
24	47.2	47.8
25	31.6	52.54
26	29.4	100
27	26.0	50.37
28	24.8	47.38
29	23.9	63.88
30	22.9	98.06
31	20.2	45.7

10

20

30

40

【0 2 4 1】

3 D : 水分活性試験

【0 2 4 2】

イソプロピルアルコール / 水の 0 . 0 ~ 0 . 8 の水分活性において、F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩を種結晶にしたA形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩の競合スラリー研究は、周囲条件下でおよそ2週間攪拌した後、A形が、D形の化合物(1)の無水HCl塩、F形の化合物(1)・3H₂OのHCl塩およびA形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩のうち最も安定した形態であることを示した。0 . 9のIPA / 水分活性において、A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩をF形の化合物(1)

50

)・ $3\text{H}_2\text{O}$ の HCl 塩に変換した。これらの研究の結果を下記の表9に要約する。

【0243】

【表9】

表9:IPA/水混合物中の化合物(1)・ $1/2\text{H}_2\text{O}$ の HCl 塩における水分活性試験

開始時の 形態	水分活性 (a_w)	水 wt%	最終的な形態	種類
A+F	$0 + >80\text{ }^\circ\text{C}$		D	無水物(Anhydrate)
A+F	0		A	半水和物
A+F	0.1	0.1	A	半水和物
A+F	0.2	0.25	A	半水和物
A+F	0.3	0.35	A	半水和物
A+F	0.4	0.55	A	半水和物
A+F	0.5	0.75	A	半水和物
A+F	0.6	1.00	A	半水和物
A+F	0.7	1.35	A	半水和物
A+F	0.8	1.85	A	半水和物
A+F	0.9	2.80	F	三水和物
A+F	1	100	F	三水和物

【0244】

D形の化合物(1)の無水 HCl 塩(「D形」)、F形の化合物(1)・ $3\text{H}_2\text{O}$ の HCl 塩(「F形」)およびA形の化合物(1)・ $1/2\text{H}_2\text{O}$ の HCl 塩(「A形」)の間の転移に対する水分活性に対する温度の状態図を図12に示す。

【0245】

3F:化合物(1)の非晶質の HCl 塩

【0246】

化合物(1)の非晶質の HCl 塩を、水および2-MeTHFにおける化合物(1)の Me_2NEt 塩(1.985g)を1.05当量の NaOH で処理した後、 HCl で処理することにより、アミンを除去し、水層($\text{pH}2\sim3$)から析出する(crash out)ことによって形成できた。得られたスラリーを濃縮することにより、すべての有機相を除去し、次いで、濾過した。得られた固体を少量の水ですすぎ、乾燥した。化合物(1)の Me_2NEt 塩を、WO2010/148197に従って調製した後、通常のキラル分離および精製: Me_2NEt を含む調節剤(modifier)を用いるSCFキラルクロマトグラフィーを行った(これにより、化合物(1)の Me_2NEt 塩が生成された)。

【0247】

実施例4:遊離塩基化合物(1)の多形の形成

【0248】

4A:A形の遊離塩基化合物(1)の調製

【0249】

A形の遊離塩基化合物(1)を、以下の手順によって生成した:粗非晶質の遊離塩基化合物(1)(およそ135g)を、4Lのジャケット付き反応容器に移し、その反応容器にエタノール(2.67L)および水(0.325L)を投入した(10%水溶液)。その混合物を加熱還流した。工程2)の得られた混合物に、水(300mL)を加えること

により、20%水溶液を調製した。次いで、得られた混合物を55℃に冷却し(速度=-1℃/分)、続いて、30分間保持した。次いで、遊離塩基のA形の化合物(1)の種結晶(1.5g, 3.756mmol)を、冷却した混合物に加え、得られた混合物を30分間保持したところ、生成物が沈殿した。結晶性の遊離塩基のA形の化合物(1)の種結晶を、非晶質の遊離塩基化合物(1)(20mg)をニトロメタン(0.5mL)においてスラリー化することによって作製した。結晶性の遊離塩基のA形の化合物(1)のさらなる種結晶材料を、ニトロメタンを使用して得られた種結晶とともに非晶質の遊離塩基化合物(1)(900mg)をアセトニトリル(10mL)においてスラリー化することによって作製した。結晶性の遊離塩基のA形の化合物(1)の種結晶を含む混合物に、水(795.0mL)をゆっくり加えることにより、40%水溶液を調製した。得られた混合物を、0℃にゆっくり冷却し(約-10℃/時)、続いて2時間保持した。次いで、固体材料を濾過し、風乾し、次いで、60℃のオーブン内でさらに18時間乾燥した。

10

【0250】

あるいは、非晶質の遊離塩基化合物(1)の代わりに遊離塩基化合物(1)の2-メチルTHF溶媒和物を使用し、上に記載されたものと同様の様式(matter)でA形の遊離塩基化合物(1)を得た。

【0251】

調製されたA形の化合物(1)は、以下の溶媒系(これらに限定されないが)中で安定であると見出された：アセトニトリル、クロロベンゼン、クロロホルム、シクロヘキサン、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタン、1,2-ジメトキシエタン、エチレングリコール、ホルムアミド、ヘキサン、メチルブチルケトン、メチルシクロヘキサン、N-メチルピロリジノン、ニトロメタン、テトラリン、トルエン、1,1,2-トリクロロエタン、酢酸、アニソール、1-ブタノール、酢酸ブチル、クメン、酢酸エチル、エチルエーテル、ギ酸エチル、ヘプタン、酢酸イソブチル、酢酸イソプロピル、3-メチル-1-ブタノール、2-メチル-1-プロパノール、ペンタン、酢酸プロピル、水、水-イソプロパノール(1:3vol/vol)および水-アセトニトリル(1:1vol/vol; 1:3vol/vol)。

20

【0252】

A形の化合物(1)のXRPDおよび ^{13}C SSNMRデータを、それぞれ図7および図8に示す。観察されたある特定のXRPDピークおよび ^{13}C SSNMRピークを、それぞれ表10および表11に要約する。

30

【0253】

【表 1 0】

表10:A形の化合物(1)のXRPDピーク

XRPDピーク	角度 (2-シータ ± 0.2)	強度 %
1	11.8	100.0
2	18.9	100.0
3	16.9	99.8
4	15.5	99.7
5	22.0	99.7
6	25.5	99.7
7	9.1	99.4
8	23.6	98.6
9	27.6	98.5
10	17.5	98.3
11	23.0	98.3
12	24.0	98.3
13	13.7	98.2
14	20.2	98.2
15	12.5	97.8
16	10.6	97.7
17	15.8	97.5
18	20.6	97.5
19	12.9	97.4
20	24.7	97.4
21	26.2	97.4
22	6.2	97.3
23	21.1	97.3

10

20

30

【 0 2 5 4 】

【表 1 1 - 1】

表11:A形の化合物(1)のC¹³ SSNMRピーク

ピーク #	化学シフト [± 3 ppm]	強度 [rel]
1	180.0	60.1
2	176.2	68.7
3	175.9	62.4
4	160.2	28.8
5	158.6	18.4
6	157.9	28.1
7	157.3	47.2
8	156.0	34.3
9	155.4	49.7
10	152.3	32.5
11	151.4	49.5
12	146.5	18.6
13	144.4	61.1
14	143.8	56.4
15	142.9	19.2
16	140.2	21.2
17	138.5	55.6
18	133.6	29.4
19	132.3	61.4
20	131.0	52.1
21	126.2	23.0
22	121.5	35.8
23	120.8	39.3
24	119.7	90.9
25	116.2	59.3
26	115.3	44.3
27	112.7	35.0
28	52.5	39.0
29	51.6	75.9
30	50.4	94.8
31	49.8	74.6
32	31.8	80.4
33	31.2	53.0
34	30.5	86.0

10

20

30

40

【表 1 1 - 2】

ピーク #	化学シフト [± 3 ppm]	強度 [rel]
35	30.1	95.1
36	28.5	100.0
37	26.3	81.0
38	25.9	96.1
39	25.0	82.2
40	22.8	66.97
41	22.2	55.41
42	21.6	64.44
43	21.0	82.87
44	20.4	57.45
45	19.8	52.2

10

【 0 2 5 5】

白金サンプルパンに生成物である A 形の化合物 (1) のサンプルを入れ、続いて、室温から 3 0 0 まで 1 0 / 分でそのパンを加熱することによって、T A I n s t r u m e n t s T G A モデル Q 5 0 0 において、A 形の化合物 (1) の熱重量分析を行った (ここにはデータ示さず) 。そのサーモグラムは、分解の開始がおよそ 2 9 3 だったことを示した。

20

【 0 2 5 6】

T A I n s t r u m e n t s D S C Q 2 0 0 を使用して、A 形の化合物 (1) に対する D S C サーマグラムも得た。その形態のサンプルを 1 0 / 分で 3 5 0 まで加熱した。D S C サーマグラムは、融解温度がおよそ 2 7 8 であることを示した。

【 0 2 5 7】

4 B : B 形の遊離塩基化合物 (1) の水和物の調製

30

【 0 2 5 8】

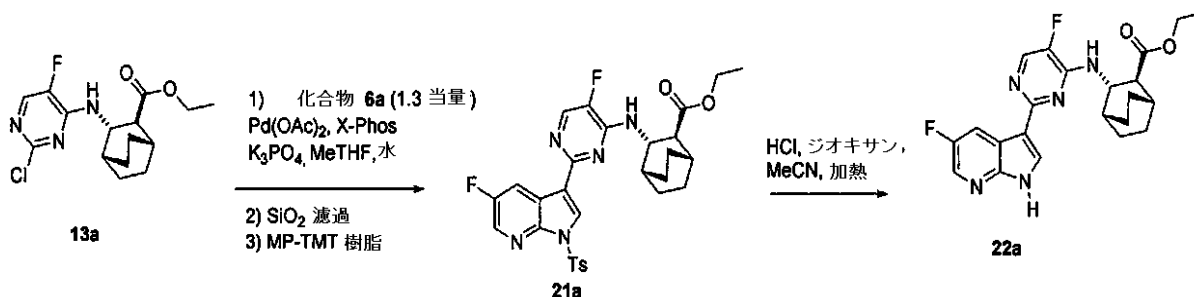
水和した形態の遊離塩基化合物 (1) は、A 形の遊離塩基化合物 (1) と同形であり、すなわち、A 形の遊離塩基化合物 (1) は、高湿度に曝されたとき、水和した B 形に自由に変換し得、湿度が低下したとき、元に戻り得る。D S C 実験を用いて測定された相の変化によると (データ示さず) 、転移温度は、周囲温度に近く、水分活性によって変化する。例えば、周囲温度において、水分活性が、0 . 6 超 (例えば、0 . 6 ~ 1 . 0) だった場合、水和物の形態が観察された。

【 0 2 5 9】

4 C : 非晶質の遊離塩基化合物 (1) の調製

【化 1 7】

40



【 0 2 6 0】

クロロピリミジン、化合物 1 3 a、ボロン酸エステル化合物 6 a、触媒 P d (O A c)

50

2 およびリガンド (X - Phos) を 10 vol の 2 - Me THF に溶かすことによって、鈴木カップリングを行った。この混合物を 65 に加熱し、その反応混合物を 65 で維持する速度で 2 vol の K_3PO_4 の 50 % 水溶液を加えた。両方の反応物が、完全変換まで進み、次いで、20 に冷却し、セライトで濾過した。水層を分離して廃棄し、有機層を 5 % NaCl 水溶液で洗浄し、次いで、濃縮乾固することにより、各々に対して、およそ 3.5 kg の濃緑色ペースト状物を得た。その粗油状物を等しい 4 つの部分に分け、400 g の SiO_2 および 500 g のフロリジルでスラリー化し、2.3 kg の SiO_2 カラムに通してヘプタン/EtOAc (5 : 1 ~ 3 : 1, 2 L 画分) で溶出して、生成物を含むすべての画分を合わせた。これらの画分を濃縮乾固することにより、およそ 2.9 kg の化合物 21a を得た。

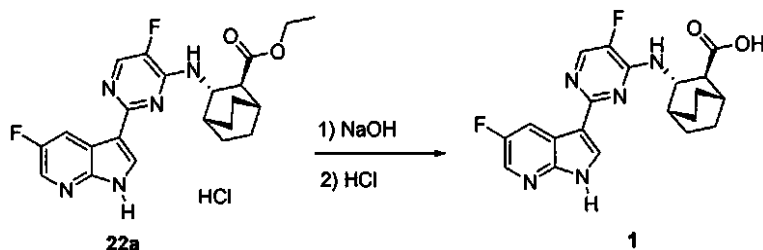
10

【0261】

化合物 21a を 10 vol (25 L) の CH_3CN に溶解し、70 の 4 当量の HCl (1, 4 - ジオキサン中の 4.31 L の 4N HCl) で 15 時間処理した。その反応物は、HPLC によって 100 % 完了したと判断され、希薄なスラリーを 1 時間、20 に冷却した。TBME (28 L, 11 vol) を 0.5 L / 分で加えたところ、その添加の終わりに、そのスラリーは、非常に濃厚 (ゼラチン状) になった。4 ~ 5 時間攪拌した後、そのスラリーは、より希薄になった。得られた固体を、吸引濾過によって回収し、3 x 5 L の TBME で洗浄したところ、低密度ケーキが得られ、 N_2 蒸気の下で 3 日間乾燥することにより、1.71 kg (86 % 収率, 98.9 % AUC 純度) の化合物 22a · HCl を得た。

20

【化18】



【0262】

NaOH の溶液 (55.60 mL の 2M, 111.2 mmol) を、20 の 2 - Me THF (100.00 mL) 中の化合物 22a · HCl (10 g, 22.23 mmol) の懸濁液に加えた。その反応混合物を 60 で 5 時間攪拌し、次いで、さらに 67 で攪拌した。約 22 時間攪拌した後、得られた混合物に、100 mL (10 vol) の 2 - Me THF を加えた。次いで、そのバッチを 0 に冷却した。得られた混合物に HCl を加えて pH を pH 6.6 に調整することにより、粗遊離塩基化合物 (1) を得た。60 mL (6 vol) の 2 - Me - THF 中の粗材料を 50 に加熱した。得られた混合物に、50 mL (5 vol) の n - ヘプタンを 1 時間にわたって加えた。次いで、そのバッチを 20 に冷却した。固体生成物を濾過し、その固体生成物をカラムクロマトグラフィー (EtOAc / ヘプタン 2 : 1 ~ 4 : 1) によってさらに精製した。その XRPD データは、非晶質の遊離塩基化合物 (1) を示した。

30

40

【0263】

あるいは、非晶質の遊離塩基化合物 (1) が、A 形の遊離塩基化合物 (1) と、2 - エトキシエタノール、2 - メトキシエタノール、t - ブチルメチルエーテル、ギ酸またはメチルエチルケトンから選択される溶媒との混合物 (周囲温度で攪拌された) から観察された (例えば、下記の表 13 を参照のこと)。

【0264】

4D : 遊離塩基化合物 (1) の 2 - Me THF 溶媒和物の調製

【0265】

化合物 (1) · 1 (2 - Me THF) を、上記の実施例 2 に記載されたように調製した。その XRPD データを図 10 に示す。その観察されたある特定の XRPD ピークを表 1

50

2 に要約する。

【 0 2 6 6 】

【 表 1 2 】

表12:化合物(1)・1(2-MeTHF)のXRPDピーク

XRPD ピーク	角度 (2-シータ ± 0.2)	強度 %
1	6.4	9.78
2	8.4	38.07
3	9.7	43.96
4	12.9	15.57
5	16.7	100
6	16.9	46.55
7	17.4	18.67
8	19.4	16.54
9	20.0	14.62
10	21.0	20.4
11	21.3	13.58
12	22.3	37.59
13	24.3	15.36
14	25.7	16.34
15	25.9	10.06

10

20

【 0 2 6 7 】

4 F : 様々な溶媒系における A 形の遊離塩基化合物 (1) および非晶質の化合物 (1) の溶解度および安定性データ

【 0 2 6 8 】

様々な溶媒系における A 形の遊離塩基化合物 (1) (「 A 形 」) および非晶質の化合物 (1) (「 非晶質 」) の溶解度および安定性を、 A 形の化合物 (1) の H C l 塩の溶解度および安定性について上に記載されたものと同様の様式で、周囲温度において試験した。得られたデータを表 1 3 に要約する。

30

【 0 2 6 9 】

【表 13 - 1】

表13:A形の遊離塩基化合物(1)(「A形」)および非晶質の化合物(1)(「非晶質」)の溶解度および安定性データ。

溶媒	A形から開始		非晶質から開始
	溶解度 (mg/ml)	得られた形態	得られた形態
アセトニトリル	1.0	A	非晶質
クロロベンゼン	0.4	A	非晶質
クロロホルム	3.8	A	非晶質
シクロヘキサン	<0.1	A	非晶質
1,2-ジクロロエタン	0.4	A	非晶質
ジクロロメタン	0.9	A	非晶質
1,2-ジメトキシエタン	114.0	A	非晶質
N,N-ジメチルアセトアミド	>150	溶媒和物	溶媒和物
N,N-ジメチルホルムアミド	39.2	溶媒和物	シグナルなし
1,4-ジオキサン	21.3	溶媒和物(1:1)	溶媒和物(1:1)
2-エトキシエタノール	>113	非晶質	シグナルなし
エチレングリコール	10.4	A	溶媒和物
ホルムアミド	7.0	A	非晶質
ヘキサン	<0.1	A	非晶質
メタノール	25.5	溶媒和物	溶媒和物
2-メトキシエタノール	>114	非晶質	シグナルなし
メチルブチルケトン	20.0	A	非晶質
メチルシクロヘキサン	<0.1	A	非晶質
N-メチルピロリジノン	>149	A	シグナルなし
ニトロメタン	0.3	A	非晶質
テトラリン	<0.1	A	非晶質
トルエン	0.3	A	非晶質
1,1,2-トリクロロエタン	1.0	A	非晶質
キシレン	0.3	溶媒和物	非晶質
酢酸	42.8	A	溶媒和物
アセトン	16.3	溶媒和物	溶媒和物
アニソール	0.7	A	非晶質
1-ブタノール	21.0	A	溶媒和物(1:1)
2-ブタノール	14.0	溶媒和物(1:1)	溶媒和物(1:1)
酢酸ブチル	8.1	A	非晶質
t-ブチルメチルエーテル	10.4	非晶質	非晶質

10

20

30

40

【表 1 3 - 2】

溶媒	A形から開始		非晶質から開始
	溶解度 (mg/ml)	得られた形態	得られた形態
クメン	0.3	A	非晶質
ジメチルスルホキシド	>113	シグナルなし	シグナルなし
エタノール	35.5	シグナルなし	A
酢酸エチル	11.6	A	非晶質
エチルエーテル	3.5	A	非晶質
ギ酸エチル	8.1	A	溶媒和物(1:1)
ギ酸	>89.4	非晶質	シグナルなし
ヘプタン	<1.5	A	溶媒和物
酢酸イソブチル	4.4	A	非晶質
酢酸イソプロピル	6.2	A	非晶質
酢酸メチル	9.4	溶媒和物	溶媒和物
3-メチル-1-ブタノール	9.7	A	溶媒和物
メチルエチルケトン	27.3	非晶質	溶媒和物(1:1)
2-メチル-1-プロパノール	12.2	A	溶媒和物(1:1)
ペンタン	<0.3	A	非晶質
1-ペンタノール	14.5	シグナルなし	溶媒和物(1:1)
1-プロパノール	15.9	溶媒和物	シグナルなし
2-プロパノール	12.9	溶媒和物(1:1)	溶媒和物(1:1)
酢酸プロピル	7.5	A	非晶質
テトラヒドロフラン	61.2	溶媒和物(1:1)	溶媒和物(1:1)
メチルテトラヒドロフラン	34.8	溶媒和物(1:1)	溶媒和物(1:1)
水	<0.1	A	非晶質
水-IPA 1:1	-	溶媒和物	-
水-IPA 1:3	-	A	-
水-ACN 1:1	-	A	-
水-ACN 1:3	-	A	-
水-MeOH 1:1	-	溶媒和物	-
水-MeOH 1:3	-	溶媒和物	-

【 0 2 7 0 】

実施例 5 : A 形の化合物 (1) のトシレート塩の調製

【 0 2 7 1 】

A 形の化合物 (1) のトシレート塩を、非晶質の遊離塩基化合物 (1) (5 0 0 m g) および p - トルエンスルホン酸をアセトニトリル (2 0 m l) においてスラリー化することによって、調製した。サンプルを一晩攪拌した。その X R P D データを図 9 に示す。その観察されたある特定の X R P D ピークを表 1 4 に要約する。

【 0 2 7 2 】

あるいは、非晶質の遊離塩基化合物 (1) の代わりに遊離塩基化合物 (1) の 2 - メチル T H F 溶媒和物を使用することにより、上に記載されたものと同様の様式で A 形の化合物 (1) のトシレート塩を調製できた。

【 0 2 7 3 】

【 表 1 4 】

表14:A形の化合物(1)のトシレート塩のXRPDピーク

XRPDピーク	角度 (2-シータ ± 0.2)	強度 %
1	6.0	30.21
2	7.2	100
3	9.3	37.8
4	12.9	13.96
5	13.7	39.23
6	14.3	50.25
7	14.7	42.94
8	16.4	9.99
9	16.9	89.79
10	18.7	59.65
11	19.3	19.62
12	19.6	33.34
13	20.3	11.38
14	20.8	11.98
15	21.9	41.6
16	23.0	33.45
17	24.2	14.97
18	25.4	23.83
19	26.3	44.54
20	26.9	51.79
21	27.5	34.02
22	28.0	36.07
23	29.1	13.36
24	29.7	8.92
25	32.2	9.25
26	33.1	4.75

10

20

30

【 0 2 7 4 】

実施例 6 : 化合物 (1) の製剤

【 0 2 7 5 】

A . 化合物 (1) の錠剤

40

【 0 2 7 6 】

組成物

【 0 2 7 7 】

A形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩(本明細書中以後、簡潔に、実施例6における化合物(1))を錠剤の形成のために使用した。すべての賦形剤が、欧州薬局方およびUSP/NFの現行のモノグラフに従い、承認された供給業者から購入した。

【 0 2 7 8 】

造粒前のブレンドおよび造粒結合剤溶液に対する配合組成およびバッチサイズを表15Aに示す。その結合剤溶液のバッチサイズは、ポンプのキャリブレーションおよび溶液ラ

50

インのプライミングのために 100% 過剰量を含んだ。圧縮ブレンドの理論上の組成も、表 15A に示される。そのバッチに対する実際の量を、乾燥顆粒の収量に基づいて算出した。フィルムコーティング懸濁液の組成およびおおよそのバッチサイズを表 15B に示し、それは、ポンプのキャリブレーションおよび懸濁液ラインのプライミングのために 100% 過剰量を含んだ。フィルムコーティングの目標量は、錠剤重量の 3.0% w/w だった。

【 0 2 7 9 】

【 表 1 5 A 】

表15A: 化合物(1)の錠剤の組成。

		造粒前のブレンドにおける%	乾燥顆粒における%	錠剤コアにおける%	錠剤 (300mg) におけるmg
顆粒内	化合物(1)結晶性半水和物, HCl 塩(A形)	76.13	74.99	50.00	333.00
	Avicel PH-101, NF, PhEur	10.03	9.88	6.59	43.89
	ラクトース水和水物, #316, NF, PhEur	10.03	9.88	6.59	43.89
	Ac-Di-Sol, NF, PhEur, JP	3.81	3.75	2.50	16.65
	造粒前のブレンドの合計:	100.00	98.50	65.68	437.43
結合剤溶液中	Povidone K30, USP		1.50	1.0	6.66
	水, USP		na	na	na
	顆粒の合計:		100.00	66.68	444.09
顆粒外	Prosolv 50, NF			28.82	191.94
	Ac-Di-Sol, NF, PhEur, JP			2.50	16.65
	SSF, NF			2.00	13.32
	コア錠剤の合計			100	666.00
フィルムコーティング懸濁液中	Opadry II, 85F18422			(コアに対して3.2)	21.31
	水, USP				na
	最終的なコーティングされた錠剤の合計				687.31

【 0 2 8 0 】

【 表 1 5 B 】

表15B: フィルムコート懸濁液の組成およびおおよそのバッチサイズ

構成要素	% W/W	バッチサイズ (g)
Opadry II White, 33G	15.00	210.00
水, USP	85.00	1190.00
合計	100.00	1400.00

【 0 2 8 1 】

結合剤溶液の調製

【 0 2 8 2 】

結合剤溶液は、Povidone (ポビドン) および水からなった。その溶液を、最終

10

20

30

40

50

的な造粒における40%含水量に基づいて調製した。したがって、溶液(Povidone)中の固体の総量は、3.6%(w/w)だった。ラインをプライミングするなどのために100%の過剰量を調製した。造粒実行の始動の目視検査に基づいて、最終的な造粒において+/-2%の水のさらなる保存溶液(38~42%)を調製した。代表的には、87.00gのPovidone K30および2320.00gの精製(DI)水を量り取り、一定で攪拌しながら、DI水を含む容器にPovidone K30を加えた。添加後、その容器を密封することにより、蒸発を最小限にし、存在するすべての固体が完全に溶解するまで、その溶液を攪拌した。

【0283】

湿式造粒プロセスの流れ

10

【0284】

湿式造粒を、下記に記載される手順で行った：過剰(10%)量の化合物(1)、Avicel PH-101、Fastflowラクトースおよびクロスカルメロースナトリウムを量り取った(表15Aを参照のこと)。それらを、20メッシュのハンドスクリーンまたは813μmの格子状(grated)メッシュスクリーンを備えたコーンミルを1000rpmで(U5 Quadro Comillの場合)使用して、ふるいにかけた。ふるいにかけられた材料を個別のバッグまたは容器に入れた。次いで、それらの材料をブレンダーに移し、通常15RPMで15分間ブレンドした。ブレンドされた材料を、4mm角のホールスクリーンを備えたU5 Quadroコーンミルを1000rpmにおいて使用して粉碎した。上記ブレンド工程を繰り返して、粉碎された材料を再度ブレンドした。次いで、再度ブレンドされた材料をツインスクリー造粒機に供給した。そのバルク湿式造粒物を、ロスインウェイトフィーダー(K-tronまたは同様のもの)を使用して造粒機に供給した。次いで、得られた材料を造粒した。結合剤の流体(表15Aを参照のこと)を、蠕動ポンプを使用して、そのツインスクリー造粒機に注入した。粉末の供給速度に対する溶液の供給速度の比は、0.4095だった。例えば、粉末の供給速度が、15.00g/分だった場合、溶液の供給速度は、 $0.4095 * 15.00 = 6.14$ g/分だった(ここで、含水量は、40%だった(乾燥質量に基づいて))。その顆粒サブバッチを、風袋を量っておいた乾燥トレイに回収した。回収された材料を、トレイ上に均一に噴霧し、その材料をオープン内で乾燥することにより、乾燥した顆粒を形成した。その乾燥した顆粒をK-tronに入れることにより、連続してコーンミルにスターブフィード(starve feed)、続いて粉碎した。

20

30

【0285】

顆粒外のブレンドおよび圧縮プロセス

【0286】

顆粒外のブレンドおよび圧縮プロセスを、下記に記載される手順によって行った：圧縮ブレンド組成物に基づく顆粒外賦形剤(extra-granular excipients)の量を量り取った。U5 Comillを32Cスクリーンおよび丸棒インペラとともに1000rpmにおいて使用して、量り取った賦形剤をふるいにかけた。まず、化合物(1)の粉碎された顆粒を、ふるいにかけられたAvicel PH-102およびAc-Di-Solを含むブレンダーに加えた。それらを16RPMで8分間ブレンドした。ステアリルナトリウム(SSF)を、メッシュ50ハンドスクリーンでふるいにかけて、適切な容器に入れた。SSFの量の質量基準でおよそ10倍に等しい顆粒外ブレンドの一部を、SSFとともにその容器に入れ、30秒間バッグブレンド(bag blend)した後、その混合物をピンブレンダー(bin blender)に加えた。次いで、すべての材料を16rpmで2分間ブレンドした。次いで、最終的なブレンドを、規定の錠剤圧縮プロセスパラメータに従って圧縮した。

40

【0287】

フィルムコーティングプロセス

【0288】

フィルムコーティングを、15%w/w Opadry II white #33G

50

水性懸濁液として、Vector VPC 1355 パンコーターにおいてコア錠剤に付与した。目標のコーティングは、コア錠剤の重量の 3.0 % w/w であり、許容され得る範囲は、2.5 % ~ 3.5 % だった。これを達成するために、3.2 % の重量増加に等しいコーティング懸濁液の量を噴霧し、これにより、コーティング効率を 95 % と仮定して 3.0 % のコーティングが得られた。

【0289】

化合物(1)の静脈内(IV)製剤

【0290】

A形の化合物(1)・1/2 H₂OのHCl塩(本明細書中以後、簡潔に、実施例6における化合物(1))を、静脈内(IV)投与用に2 mg/mL溶液として供給した。その溶液の組成を、品質の参照および各構成要素の機能とともに、表16Aおよび表16Bに提供した。

【0291】

【表16A】

表16A:溶液ビヒクル^aの組成。

構成要素	品質基準	構成要素の機能	量(mg/50g IV溶液)	含有量(%w/w)
リン酸二水素ナトリウム、無水	USP	緩衝剤	26	0.052
リン酸水素二ナトリウム、七水和物	USP	緩衝剤	1281	2.562
デキストロース、無水	USP	張度調整剤	500	1.000
注射用水	USP	溶媒	48,193	96.386
合計	—	—	50,000	100%
省略形:USP.米国薬局方				

^a溶液のpHは、NaOHまたはHClで調整される

【0292】

【表16B】

表16B:化合物(1)の静脈内溶液の組成^a

構成要素	構成要素の機能	量(mg/50g IV溶液)	含有量(% w/w)
化合物(1) ^b	原薬	111	0.222
溶液ビヒクル(表1から)	溶媒	49,889	99.778
合計	—	50,000	100%

^a溶液のpHをNaOHまたはHClで調整した。溶液の密度は、1.000g/cm³である。

^b原薬は、半水和物HCl塩だった。原薬の量は、有効な無水遊離塩基の当量に基づいて算出され、ここで、遊離塩基から半水和物HCl塩への変換因子は、1.11である。

【0293】

実施例7:オセルタミビル有りまたは無しでの化合物(1)の併用に対するインビボアッセイ

【0294】

感染したマウスを、インフルエンザAチャレンジの48時間後またはインフルエンザBチャレンジの2時間前に開始する臨床的に妥当な用量のオセルタミビルと組み合わせて、ビヒクルまたは漸増用量レベルのA形の化合物(1)・1/2 H₂OのHCl塩で処置し

た。

【0295】

方法：これらの研究では、A形の化合物(1)半水和物のHCl塩(本明細書中以後、簡潔に、実施例7における化合物(1))を、0.5%(w/v)MC(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)を含むビヒクルにおいて製剤化して、均一な懸濁液を得た。化合物の用量は、化合物(1)半水和物のHCl塩に基づいた。オセルタミビルを蒸留脱イオン水において製剤化して、均一な懸濁液を得た。化合物(1)とオセルタミビルとの組み合わせを0.5%(w/v)MCを含むビヒクルにおいて製剤化した。その併用製剤は、各研究の始めに調製し、暗所で撹拌しながら最大10日間、4℃で保管した。すべての製剤およびビヒクルを、10mL/kgの投与体積で経口胃管栄養法によ

10

【0296】

雄Balb/cマウス(5~7週齢, 17~19グラム)を麻酔し、致死量のマウス適合型インフルエンザウイルスA/PR/8/34またはB/Mass/3/66を鼻腔内滴下によって接種した。研究群1つあたり8匹のマウスを組み入れた。インフルエンザAに対しては接種の+48時間後、またはインフルエンザBに対しては接種の2時間前に、処置を開始した。インフルエンザA研究では、ビヒクル(10mL/kg)および0.1~10mg/kgの用量の化合物(1)を、10日間にわたって1日2回(BID)経口的に(PO)、単独でまたは10mg/kgオセルタミビルと併用して投与した。インフルエンザB研究では、ビヒクル(10mL/kg)および1~10mg/kgの用量の化合物(1)を、10日間にわたって1日2回(BID)経口的に(PO)、単独でまたは10mg/kgオセルタミビルと併用して投与した。マウスの体重を測定し、感染後21日間にわたって罹患の徴候について毎日観察した。さらに、肺機能を無拘束型WBP(Buxco, Troy, NY)によってモニターした。

20

【0297】

インフルエンザA/PR/8/34(VR-1469)およびインフルエンザB/Mass/3/66(VR-523)は、ATCC(Manassas, VA)から入手した。ストックを、当該分野で公知の標準的な方法によって調製した。簡潔には、ウイルスを低感染効率でMadin-Darbyイヌ腎臓細胞(MDCK細胞, CCL-34, ATCC)に継代接種し、上清をおよそ48時間後に回収し、650×gで10分間遠心分離した。ウイルスストックを、使用するまで-80℃で凍結した。ウイルスサンプルを段階希釈し、複製されたMDCK培養物に感染させ、96時間後にATP含有量に基づいて細胞変性効果(CPE)を計測した後(Cell Titer - Glo, Promega, Madison WI)、ウイルス価(TCID₅₀/mL)をSpearman-Kärger法によって算出した。

30

【0298】

マウスの体重を、感染後21日間にわたって毎日測定した。群を比較するために、2元配置ANOVAおよびボンフェローニ事後検定を用いて、体重データを解析した。0.05未満のP値を有意とみなした。

【0299】

マウスを、インフルエンザ感染後21日間にわたって毎日観察した。以下の6つの観察所見(>35%体重減少、乱れた毛、背中を丸めた姿勢、呼吸窮迫、移動の減少または低体温)のうちの4つについて陽性とスコア付けされたいずれのマウスも瀕死であると考えられたので、Vertex Institutional Animal Care and Use Committeeによって制定されたガイドラインに従って安楽死させ、死亡とスコア付けした。生存データをKaplan Meier法によって解析した。

40

【0300】

マウスを無拘束型WBP(Buxco, Troy, NY)に供した。肺機能を、肺の抵抗力を反映する無単位の計算値であるエンハンスドポーズ(Penh)として表す。この値は、動物の呼吸パターンの変化の結果として変動する保持容器圧力の変化から得られる

50

。動物の気道の気管支収縮は、空気の流れ、およびゆえに保持容器内の圧力に影響する。圧力の変化は、呼息（PEP）および吸息（PIP）の間に追跡される。Penh値は、式 $Penh = \text{ポーズ} \times PEP / PIP$ に従って算出され、式中、「ポーズ」は、呼息のタイミングを反映する。マウスを、プレチスモグラフィチャンバー内に15分間順化させ、次いで、データを1分間隔で収集し、10分間で平均し、絶対Penh値として表現した。群を比較するために、2元配置ANOVAおよびボンフェローニ事後検定を用いて、データを解析した。0.05未満のP値を有意とみなした。

【0301】

結果：インフルエンザ肺感染のマウスモデルにおいて、化合物（1）をオセルタミビルと併用して、死亡および罹患を防ぐ能力、体重減少を減少させる能力、ならびに肺機能を守るおよび/または回復する能力について、化合物（1）またはオセルタミビルの単独処置に対して評価した。その併用は、単独で投与された各薬物と比較して、各薬物の有効性に対して悪影響を示さなかった。さらに、単独での各化合物に対する不十分な用量（failure dose）（それぞれ0.3および10mg/kgの化合物（1）およびオセルタミビル（Osetamivir））が、併用されたとき、0パーセントから100パーセントに生存率が上昇したので、併用処置は、インフルエンザA処置において相乗作用を示した。化合物（1）は、インビボではインフルエンザBに対してほとんど活性を有さず（入手可能なインビトロデータから予想されるように）、オセルタミビルの有効性を干渉しない。

【0302】

インフルエンザAマウスモデル：ビヒクルで処置されたコントロールのすべてが、9または10日目までに疾患に屈した。感染の+48時間後に投薬を開始したとき、1、3および10mg/kgの化合物（1）を単独でBIDで処置することにより、ビヒクルコントロールと比べて、死亡からの完全な保護、体重減少の低下および肺機能の回復をもたらされた（表17）。単独で投与される0.1および0.3mg/kgの化合物（1）ならびに10mg/kgのオセルタミビルでの処置は、インフルエンザA感染の+48時間後に処置を開始したとき、死亡から保護しないか、体重減少を減少させないか、または肺機能を回復させなかった。興味深いことに、インフルエンザA感染の+48時間後に共に投与された0.3mg/kgの化合物（1）およびオセルタミビルは、死亡からの完全な保護を提供し、体重減少を低下させ、肺機能を回復させた。

【0303】

【表17】

表17: インフルエンザA感染の+48時間後に投与された、オセルタミビル有りまたは無しでの化合物(1)のインビボ有効性データ

インフルエンザAにおける化合物(1)/オセルタミビルの併用						
オセルタミビル mg/kg	0			10		
化合物(1)mg/kg	生存率 (21日間) (%)	重量減少 (8日目)(%)	Penh (3日目)	生存率 (21日間) (%)	重量減少 (8日目)(%)	Penh (3日目)
0	0	33.9	2.28	0	32.0	2.36
0.1	0	34.2	2.15	0	31.6	2.09
0.3	0	32.4	1.90	100	29.3	1.80
1	100	28.2	2.11	100	23.4	1.23
3	100	22.2	1.68	100	17.6	1.11
10	100	14.6	0.95	100	8.4	0.79

【0304】

インフルエンザBマウスモデル：ビヒクルで処置されたコントロールのすべてが、7または8日目までに疾患に屈した。1、3または10mg/kgの化合物(1)を、インフルエンザB感染の-2時間前に単独で、および10日間にわたってBIDで継続して投与することにより、コントロールと比べて、罹患、体重減少または肺機能の喪失からの有意な保護がもたらされなかった。オセルタミビルを、インフルエンザB感染の-2時間前に10mg/kgにおいて単独でまたは1、3もしくは10mg/kgの化合物(1)と組み合わせて投与することにより、死亡からの完全な保護、体重減少の低下および肺機能の回復がもたらされた(表18)。

【0305】

【表18】

表18:インフルエンザB感染の+48時間後に投与された、オセルタミビル有りまたは無しでの化合物(1)のインビボ有効性データ

インフルエンザBにおける化合物(1)/オセルタミビル併用						
オセルタミビル mg/kg	0			10		
化合物(1) mg/kg	生存率 (21日間) (%)	体重減少 (8日目)(%)	Penh (6/7日目)	生存率 (21日間) (%)	体重減少 (8日目)(%)	Penh (6/7日目)
0	0	ND	2.20	100	12.8	1.08
1	0	33.6	1.90	100	7.7	1.26
3	0	33.9	2.06	100	11.5	1.41
10	0	33	2.04	100	9.7	1.17

【0306】

実施例8：化合物(1)とオセルタミビルとの併用に対するインビボアッセイ

【0307】

感染したマウスを、 5×10^3 TCID₅₀ A/PR/8/34によるインフルエンザAチャレンジの24時間前に開始するザナミビルと組み合わせて、ビヒクルまたは漸増用量レベルのA形の化合物(1)・1/2H₂OのHCl塩(本明細書中以後、簡潔に、実施例8における化合物(1))で処置した。インフルエンザAチャレンジおよび化合物(1)の懸濁液を、実施例7において上に記載されたのと同様の様式で調製した。チャレンジされたマウスを、 5×10^3 TCID₅₀ A/PR/8/34によるIN(鼻腔内)チャレンジの24時間前に一度、0.3mg/kg、1mg/kgまたは3mg/kgのINによるザナミビル、および 5×10^3 TCID₅₀ A/PR/8/34によるチャレンジの-2時間前に開始して10日間にわたってBIDで0.1mg/kg、0.3mg/kgまたは1mg/kgの化合物(1)で処置した。

【0308】

結果を下記の表19Aおよび表19Bに要約する。下記の表18Aに示されているように、化合物(1)およびザナミビルによる併用療法は、追加の生存効果をもたらした(表19A)。生存率、体重減少および肺機能の複合的な尺度である効率指数(Efficiency quotient)(%生存/(8日目の%体重減少)*(6日目のPenh))を表19Bに要約する。

【0309】

10

20

30

40

【表 19 A】

表19A:生存率:化合物(1)とザナミビルとの併用療法

		化合物(1) (mg/kg, BID)			
		感染の2時間前に1回目の投与			
			0.1	0.3	1
ザナミビル (mg/kg, IN x 1), 感染の24時間前に 1回目の投与	0	0	12.5	44.4	100
	0.3	37.5	0	100	100
	1	50	75	100	100
	3	62.5	100	100	100

10

【 0 3 1 0 】

【表 19 B】

表19B:効率指数:化合物(1)とザナミビルとの併用療法

		化合物 (1) (mg/kg, BID)			
		感染の2時間前に1回目の投与			
			0.1	0.3	1
ザナミビル (mg/kg, IN x 1), 感染の24時間前に 1回目の投与	0	--	--	0.59	2.32
	0.3	0.44	--	1.35	2.97
	1	0.73	1.00	1.61	2.31
	3	0.73	1.30	1.48	4.28

20

【 0 3 1 1 】

実施例 9 : マウスインフルエンザ A 感染モデルにおける化合物 (1) の予防的な有効性および感染後の有効性

【 0 3 1 2 】

材料および方法

30

【 0 3 1 3 】

動物 : 雌の 18 ~ 20 g の BALB / c マウスを、抗ウイルス実験のために Jackson Laboratories (Bar Harbor , ME) から入手した。それらの動物を、自由に摂取できる標準的なげっ歯類用固形飼料および水道水によって維持した。それらの動物を、使用の 48 時間前に隔離した。

【 0 3 1 4 】

ウイルス : マウス適合型インフルエンザ A / California / 04 / 2009 (pndH1N1) ウイルスを、Dr . Elena Govorkova (St . Jude Children ' s Research Hospital , Memphis , TN) から入手した。ウイルスストックをMDCK細胞において増幅した後、BALB / c マウスにおいて致死性について滴定した。インフルエンザ A / Victoria / 3 / 75 (H3N2) ウイルスを、American Type Culture Collection (Manassas , VA) から入手した。そのウイルスを、マウスに適合させるためにマウスにおいて7回継代接種した後、MDCK細胞において1回継代した。適切な致死性のチャレンジ用量を得るために、そのウイルスを、BALB / c マウスにおいて致死性についてさらに滴定した。インフルエンザ A / Vietnam / 1203 / 2004 (H5N1) ウイルスを、Centers for Disease Control (Atlanta , GA) の Dr . Jackie Katz から入手した。マウスを致死量のそのウイルス (5 MLD50 , 5 PFU / マウス) に曝露した。この致死量は、以前に6 ~ 13 日目の間に死亡させたことがあり、この用量では10日目までに90 ~ 100

40

50

%の死亡率だった。

【0315】

化合物：オセルタミビル（T a m i f l u（登録商標）として）を地元の薬局から入手した。T a m i f l uの各カプセルは、身体内で代謝された際に75mgの有効成分、すなわちオセルタミビルカルボキシレートを含む。オセルタミビルの用量は、この測定値に基づく。A形の化合物（1）半水和物のHCl塩（本明細書中以後、簡潔に、実施例9における化合物（1））が、この研究の対象であり、その化合物の用量は、化合物（1）半水和物のHCl塩に基づいた。化合物（1）とオセルタミビルの両方が、マウスへの経口胃管栄養法（p.o.）投与のために0.5%メチルセルロース（Sigma, St. Louis, MO）中に調製された。

10

【0316】

実験デザイン：上記マウスを、ケタミン/キシラジン（50/5mg/kg）の腹腔内注射によって麻酔し、それらの動物の鼻腔内に90μlのインフルエンザウイルス懸濁液を感染させた。ウイルスチャレンジは、50%マウス感染致死量のおよそ4倍だった。処置は、示されるように、ウイルスチャレンジの2時間前またはチャレンジの48時間後に開始して10日間にわたって1日2回（12時間間隔で）行った。感染を評価するためのパラメータは、生存、平均死亡日、体重の変化および肺感染症パラメータ（出血スコア、体重およびウイルス価）だった。動物の体重を、感染の21日目まで1日おきに個別に測定した。処置期間の最初の6日間に死亡したマウスは、インフルエンザウイルス感染以外の原因で死亡したと考えられ、全体のカウントから除外した。

20

【0317】

肺感染症パラメータを評価するために、屠殺した動物（この目的のために、最初に1群あたり5匹の動物を別にしておいた）の肺を回収した。肺出血スコアを、淡紅色から暗紫色への色の変化について目視検査によって評価した。これは、肺全体がより暗い色に徐々に変化することによるのではなく、肺において局所的に生じる。出血スコアは、0（正常）から4（肺全体が暗紫色を示す）の範囲であり、ゆえに、ノンパラメトリックな測定値である。肺の重量を測定し、次いで、-80℃で凍結した。その後、解凍した肺を1mlの細胞培養媒体中で均質化し、上清の流体を遠心分離することにより、粒子状物質を除去し、液体サンプルを-80℃で再度凍結した。MDCK細胞の96ウェルプレートを調製した後、サンプルを解凍し、10倍の希釈増分で段階希釈し、1希釈率あたり4つのマイクロウェルを用いて、そのプレート（1）において終点希釈法によって滴定した。ウイルス価を、肺組織1グラムあたりのlog10 50%細胞培養感染用量（log10 CCID50/g）として算出した。

30

【0318】

統計解析：複数の群を比較するためのカプラン・マイヤー（Kaplan-Meier）プロットをマンテル・コックスログランク検定によって解析することにより、統計的有意性を判定した。続いて、対ごとの比較を、ゲーハン・ブレスロー・ウィルコクソン検定によって行った。相対的な実験の有意性を、行われた処置比較の数に基づいて、ボンフェローニ補正された有意性閾値に対して調整した。平均死亡日および平均肺出血スコアの比較を、クラスカル・ワリス検定に続く、Dunnの多重比較検定によって解析した。平均体重、肺の重量およびlog10肺ウイルス価を、等しい分散および正規分布を仮定してANOVAによって評価した。ANOVAの後、個別の処置値をチューキー・クレーマー多重比較検定によって比較した。解析は、Prism（登録商標）ソフトウェア（GraphPad Software, San Diego, CA）を用いて行った。

40

【0319】

結果および考察

【0320】

化合物（1）の予防用量反応をマウスインフルエンザAモデルにおいて調べた。ビヒクルまたは化合物（1）の投与を、感染の2時間前に開始し、10日間にわたって1日2回続けた。結果を表20および表21に要約する。ビヒクルを単独で投与されたすべてのマ

50

ウスが、研究の9日目までに感染に屈し、平均して、体重(BW)の約32%が減少した。1、3または10 mg/kg BIDで投与された化合物(1)は、完全な生存および体重減少の用量依存的低下をもたらした。0.3 mg/kg BIDで投与された化合物(1)は、いくらかの生存効果をもたらしたが(2匹/8匹マウス)、それらのマウスは、有意に体重が減少した。同じ実験において、臨床的に等価なヒト用量(AUCに基づいて)である10 mg/kg BIDでオセルタミビルをマウスに投与した。オセルタミビルを投与されたすべてのマウスが、1 mg/kg BIDで化合物(1)を投与されたマウスと同様の体重減少プロファイルで生存した。

【0321】

化合物(1)は、感染の48時間後に投与し、10日間にわたってBIDでの投与を続けたとき、インフルエンザA/Vietnam/1203/2004(H5N1)ウイルスでチャレンジしたこのモデルにおいてもなお有効性をもたらした(表22)。10 mg/kgでの化合物(1)の投与は、表20に示されているように完全な保護をもたらした。

【0322】

【表20】

表20: BALB/cマウスにおけるインフルエンザA/California/04/2009(pndH1N1)ウイルス感染に対する化合物(1)およびオセルタミビルによる予防法の効果(予防法)

化合物 (mg/kg) ^a	生存者/ 合計	MDD ^b ± SD	平均肺パラメータ(6日目)		
			スコア	体重 (mg)	ウイルス価 ^c
化合物(1) (10 mg/kg)	10/10***	—	0.2 ± 0.4**	132 ± 20***	<2.6 ^d ***
化合物(1) (3 mg/kg)	9/9***	—	0.0 ± 0.0***	123 ± 21***	3.1 ± 0.9***
化合物(1) (1 mg/kg)	10/10***	—	0.6 ± 0.9 ^e	246 ± 21*	5.5 ± 1.2***
オセルタミビル (10 mg/kg)	10/10***	—	1.0 ± 0.0 ^e	178 ± 28***	7.9 ± 0.2
プラセボ	2/20	9.9 ± 1.3	3.4 ± 0.5	282 ± 26	7.9 ± 0.4

^aウイルス曝露の2時間前に開始して10日間にわたって1日2回投与された1処置あたりの用量。
^b21日目にまたは21日目より前に死亡したマウスの平均死亡日。
^cLog10 CCID50/g
^d検出限界(2.6 log10)未満
^e非常に厳しいDunnの多重比較検定では有意でないが、対での両側マンホイットニーのU検定ではプラセボに対して有意である(P<0.01)。プラセボと比較して、*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001。

【0323】

【表 2 1】

表21: BALB/cマウスにおけるインフルエンザA/Victoria/3/75(H3N2)ウイルス感染に対する化合物(1)およびオセルタミビルの効果(予防法)

化合物 (mg/kg) ^a	生存者/ 合計	MDD ^b ± SD	平均肺パラメータ(6日目)		
			スコア	体重 (mg)	ウイルス価 ^c
化合物 (1) (10 mg/kg)	10/10***	-	0.1 ± 0.2 ^d	164 ± 11**	6.1 ± 0.5***
化合物 (1) (3 mg/kg)	10/10***	-	3.3 ± 0.6 ^e	260 ± 25	7.2 ± 0.2
化合物 (1) (1 mg/kg)	4/10	9.8 ± 1.9	3.2 ± 0.3 ^e	274 ± 49	7.3 ± 0.3
オセルタミビル (10 mg/kg)	9/10***	7.0	1.7 ± 1.1	218 ± 24	7.0 ± 0.3**
プラセボ	3/20	9.8 ± 2.1	2.2 ± 0.6	264 ± 54	7.8 ± 0.4

^aウイルス曝露の2時間前に開始して10日間にわたって1日2回投与された1処置あたりの用量。
^b21日目にまたは21日目より前に死亡したマウスの平均死亡日。
^cLog10 CCID50/g
^d非常に厳しいDunnの多重比較検定では有意でないが、対での両側マンホイットニーのU検定ではプラセボに対して有意である(P<0.01)。
^e脚注「d」と同じであるが、P<0.05レベルでプラセボに対して有意である。プラセボと比較して、
P<0.01, *P<0.001。

10

20

30

【 0 3 2 4 】

【表 2 2】

表22: BALB/cマウスにおけるインフルエンザA/Vietnam/1203/2004(H5N1)ウイルス感染に対する化合物(1)およびオセルタミビルによる処置(+48h)の効果

化合物 (mg/kg) ^a	生存者/ 合計	MDD ^b ± SD	平均肺パラメータ(6日目)	
			体重(mg)	ウイルス価 ^c
化合物 (1) (10 mg/kg)	10/10	>21	0.15 ± 0.02	3.75 ± 0.94
オセルタミビル (10 mg/kg)	0/10	9.5 ± 1.2	0.17 ± 0.02	5.22 ± 0.38
プラセボ	0/20	9.9 ± 0.8	0.16 ± 0.02	4.65 ± 1.23

^aウイルス曝露の2時間前に開始して10日間にわたって1日2回投与された1処置あたりの用量。
^b21日目にまたは21日目より前に死亡したマウスの平均死亡日。
^cLog10 CCID50/g

40

50

【0325】

実施例10：インフルエンザ株の範囲に対する化合物(1)のインビトロ有効性

【0326】

細胞およびウイルス。Madine Darbyイヌ腎臓(MDCK)細胞を、最初に American Type Culture Collection(ATCC, Manassas, VA)から入手し、感染アッセイにおいて使用する前に標準的な実験室の手法を用いて継代した。細胞を、10%ウシ胎児血清(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)、2mM L-グルタミン、10mM HEPES、100U/mLペニシリンおよび100μg/mLストレプトマイシン(Invitrogen)が補充されたダルベッコ改変イーグル培地(DMEM; Invitrogen, Carlsbad, CA)中で37℃において維持した。インフルエンザウイルスを、ATCC、Centers for Disease Control and Prevention(CDC; Atlanta, GA)のthe Influenza Divisionのthe Virus Surveillance and Diagnosis Branchまたはthe Influenza Reagent Resource, Influenza Division, WHO Collaborating Center for Surveillance, Epidemiology and Control of Influenza, CDCから入手した。ウイルスストックを作製するために、2mM L-グルタミン、10mM HEPES、100U/mLペニシリン、100μg/mLストレプトマイシンおよび1μg/mLトリルスルホニルフェニルアラニルクロロメチルケトン(TPCK)処理トリプシン(USB Corp.; Santa Clara, CA)が補充されたDMEM中でMDCK細胞を低感染効率(MOI)で感染させた。細胞を37℃、5%CO₂で48時間インキュベートし、その後、Beckman GS-6R遠心分離機を用いて900×gで10分間遠心分離することによって上清を回収した。ウイルスストックを等分し、-80℃で凍結した。

【0327】

化合物。化合物(1)の遊離塩基またはHCl塩(例えば、化合物(1)の非晶質のHCl塩、A形の化合物(1)半水和物のHCl塩、非晶質の遊離塩基化合物(1))(本明細書中以後、簡潔に、実施例10における化合物(1))を100%ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解することにより、10mMの濃度の溶液を調製した。

【0328】

抗ウイルス活性。化合物(1)の抗ウイルス活性を、CellTiter-Glo(Promega; Madison, WI)を使用してATPレベルによって計測してMDCK細胞において評価した。MDCK細胞を、底が透明の黒色384ウェルプレートに、50μLのVGMにおいて1ウェルあたり2×10⁴細胞の密度でプレATINGした。細胞を37℃、5%CO₂、飽和湿度でインキュベートすることにより、細胞を接着させ、単層を形成させた。5時間後、40μLの培地を除去し、15μLのウイルスを0.005のMOIで加えた。補充を含むDMEM(0.5%という最終DMSO濃度)中の25μLの10点3倍希釈物として化合物を加えた。内部コントロールは、細胞だけを含むウェルおよびウイルスに感染した未処置細胞を含むウェルからなった。72時間のインキュベーションの後、20μLのCellTiter-Gloを各ウェルに加え、室温において10分間インキュベートした。EnVision Multilabelリーダー(PerkinElmer; Waltham, MA)を使用してルミネセンスを計測した。EC₅₀値(非感染コントロールの50%細胞生存率を保証する化合物の濃度)を、Levenburg Marquardtアルゴリズム(Condoseoソフトウェア; Genedata, Basel, Switzerland)を使用する4パラメータカーブフィッティング法を用いて化合物の用量を反応データに当てはめることによって算出した。hpaIH5N1のインビトロ試験を、BSL-3封じ込め下のSouthern Research Instituteにおいて行った。

【0329】

下記の表 2 3 に示されるように、化合物 (1) は、1 9 3 4 年 ~ 2 0 0 9 年の H 1 N 1 および H 3 N 2 参照株、ならびに 2 0 0 9 年に世界的に流行した H 1 N 1 株 A / C a l i f o r n i a / 0 7 / 2 0 0 9、A / T e x a s / 4 8 / 2 0 0 9 および高病原性のトリ H 5 N 1 株 A / V N / 1 2 0 3 / 2 0 0 4 を含む試験されたすべてのインフルエンザ A 株に対して強力な活性を示した。化合物 (1) は、アマンタジン阻害剤およびノイラミニダーゼ阻害剤に抵抗性である株を含むすべての株に対して等しく効果的だった。化合物 (1) は、インフルエンザ B ウイルスに対しては限定的な活性を示した。

【 0 3 3 0 】

【表 2 3 - 1】

表23:インフルエンザ株の調査対象群に対する化合物(1)の有効性

インフルエンザ株	感染ウ イルス 株	サブ タイプ	細胞保護アッセイ ^o EC ₅₀ ± SD
			化合物(1) (nM)
A/WS/33 ^a	A	H1N1	3.2 ± 4.3
A/NWS/33 ^a	A	H1N1	0.73 ± 0.10
A/Puerto Rico/8/34 ^a	A	H1N1	3.2 ± 1.8
A/Weiss/43 ^a	A	H1N1	0.31 ± 0.23
A/FM/1/47	A	H1N1	0.57 ± 0.036
A/Mal/302/54	A	H1N1	0.57 ± 0.055
A/Denver/1/57	A	H1N1	0.42 ± 0.19
A/Chelyabinsk/1/2006	A	H1N1	0.70 ± 0.49
A/Florida/3/2006	A	H1N1	0.92 ± 1.5
A/Fukushima/141/2006	A	H1N1	0.18 ± 0.20
A/Georgia/17/2006	A	H1N1	0.13 ± 0.048
A/Georgia/20/2006 ^b	A	H1N1	2.6 ± 3.8
A/Missouri/3/2006	A	H1N1	0.21 ± 0.060
A/St. Petersburg/8/2006 ^a	A	H1N1	0.88 ± 0.69
A/Virginia/01/2006 ^a	A	H1N1	0.42 ± 0.24
A/Cambodia/0371/2007 ^{a*}	A	H1N1	0.61 ± 0.33
A/South Dakota/6/2007	A	H1N1	0.31 ± 0.25
A/California/07/2009 NYMC X-179A ^a	A	H1N1	2.7 ± 1.8
A/Aichi/2/68	A	H3N2	1.4 ± 1.1
A/Hong Kong/8/68	A	H3N2	0.60 ± 0.11
A/Port Chalmers/1/73 ^a	A	H3N2	0.54 ± 0.11
A/Victoria/3/75	A	H3N2	1.3 ± 0.63
A/Wisconsin/67/2005 ^a	A	H3N2	1.8 ± 0.24
A/Hawaii/2/2006	A	H3N2	1.4 ± 0.91
A/Nebraska/1/2006 ^{a*}	A	H3N2	2.1 ± 1.3
A/Texas/12/2007 ^{a*c}	A	H3N2	0.65 ± 0.22
A/Uruguay/716/2007 ^a	A	H3N2	3.5 ± 5.1
A/New Jersey/8/76	B	H1N1	0.20 ± 0.096
A/California/07/2009 ^a	C	H1N1	1.8 ± 1.6
A/Mexico/4108/2009 ^a	C	H1N1	2.7 ± 1.8
A/New York/18/2009 ^{a*}	C	H1N1	0.59 ± 0.40
A/Texas/48/2009 ^b	C	H1N1	2.8 ± 3.2

10

20

30

40

【表 2 3 - 2】

インフルエンザ株	感染ウイルス株	サブタイプ	細胞保護アッセイ ^a
			EC ₅₀ ± SD 化合物(1) (nM)
A/Virginia/ATCC2/2009	C	H1N1	1.9 ± 3.0
A/Virginia/ATCC3/2009	C	H1N1	1.9 ± 3.2
A/Swine/Iowa/15/30	C	H1N1	0.65 ± 0.082
A/Swine/1976/31	C	H1N1	0.47 ± 0.11
A/Equine/2/Miami/63	C	H3N8	0.50 ± 0.065
A/Viet Nam/1203/2004 ^a	K	H5N1	<1.5 ± ND
B/Lee/40			>10 ± ND
B/Russia/69			>10 ± ND
^a : アマントジン抵抗性: M2 31N変異。 ^b : オセルタミビルカルボキシレート抵抗性: NA 275Y変異。 ^c : オセルタミビルカルボキシレート抵抗性: NA 119V変異。 [*] : 外部検証された表現型抵抗性、配列データは入手不可能。			

【0331】

実施例 11: 化合物(1)とオセルタミビル、ザナミビルまたはファビピラビル(Favipiravir)とのインビトロ併用実験

【0332】

100%ジメチルスルホキシド(DMSO)中の化合物(1)(実施例10におけるものと同様の化合物(1)の遊離塩基またはHCl塩)の溶液を、ノイラミニダーゼ阻害剤であるオセルタミビルカルボキシレートおよびザナミビルまたはポリメラーゼ阻害剤T-705のいずれかとの併用実験において、0.01のMOIでA/Puerto Rico/8/34に感染させた、3日間のMDCK細胞CPEベースアッセイにおいて試験した。オセルタミビルカルボキシレートおよびT-705を100%ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し; ザナミビルを10mMの濃度でダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)に溶解し、-20℃で保管した。この研究では、Bliss非依存法(Bliss independence method)(Macsynergy)(例えば、Pritchard, M.N. and C. Shipman, Jr., Antiviral Res, 1990. 14(4-5): p. 181-205)またはLoewe相加/半有効法(Loewe additivity/Median-effect method)(例えば、Chou, T.C. and P. Talalay, Adv Enzyme Regul, 1984. 22: p. 27-55)のいずれかを用いた。Bliss非依存法は、チェッカーボード形式での阻害剤の異なる濃度の組み合わせを試験することを含み、Loewe非依存法は、固定比率の阻害剤の組み合わせをその固定比率の種々の希釈率において試験することを含む。コントロールとして化合物(1)とそれ自体との組み合わせを使用する実験も行っており、相加性を確かめた。細胞生存率を、Cell Titer-Gloを使用して測定した。

【0333】

Bliss非依存法は、オセルタミビルカルボキシレートおよびザナミビルに対してそれぞれ312および268という相乗作用の大きさをもたらした; ファビピラビルに対しては、317という相乗作用の大きさが得られた。100より大きい相乗作用の大きさは、通常、強い相乗作用と考えられ、50~100の大きさは、中程度の相乗作用と考えられる。Loewe相加法は、50%有効レベルにおいて、オセルタミビル、ザナミビルおよびT-705に対してそれぞれ0.58、0.64および0.89というC.I.(併用

指標) 値をもたらした。0.8未満のC.I.値は、強い相乗作用と考えられ、0.8～1.0の値は、相加的からやや相乗的であると考えられる。これらのデータを合わせると、表24に示されるように、化合物(1)は、試験されたノイラミニダーゼ阻害剤およびポリメラーゼ阻害剤と相乗的であると示唆される。

【0334】

【表24】

表24: インビトロでの相乗作用実験および拮抗作用実験の要約

Loewe相加法	併用指標			結果
	ED ₅₀	ED ₇₅	ED ₉₀	
化合物 (1) + オセルタミビル	0.60, 0.56	0.57, 0.56	0.59, 0.58	強い相乗作用
化合物 (1) + ザナミビル	0.68, 0.61	0.67, 0.66	0.71, 0.77	強い相乗作用
化合物 (1) + ファビピラビル	0.83, 0.96	0.76, 1.0	0.71, 1.1	相加作用から弱い相乗作用
Bliss非依存法	相乗作用の大きさ, 95%信頼			結果
化合物 (1) + オセルタミビル	312			強い相乗作用
化合物 (1) + ザナミビル	268			強い相乗作用
化合物 (1) + ファビピラビル	317			強い相乗作用
ED ₅₀ 、ED ₇₅ 、ED ₉₀ :それぞれ50%、75%または90%の細胞が保護される化合物濃度; 併用指標は、ED ₅₀ 、ED ₇₅ およびED ₉₀ の有効レベルにおいて算出された。				

【0335】

実施例12: マウスインフルエンザA感染モデルにおける有効性

【0336】

化合物(1)(非晶質またはA形の化合物(1)半水和物のHCl塩(本明細書中以後、実施例において、簡潔に化合物(1))の予防用量反応を、マウスインフルエンザAモデルにおいて調べた。ビヒクルまたは化合物(1)の投与を感染の2時間前に開始し、10日間にわたって1日2回続けた。ビヒクルを単独で投与されたすべてのマウスが、研究の9日目までに感染に屈し、平均して、体重(BW)の約32%が減少した。1、3または10mg/kg BIDで投与された化合物(1)は、完全な生存および体重減少の用量依存的低下をもたらした。0.3mg/kg BIDで投与された化合物(1)は、いくらかの生存効果をもたらしたが(2匹/8匹マウス)、それらのマウスは、有意に体重が減少した。同じ実験において、臨床的に等価なヒト用量(AUCに基づいて)である10mg/kg BIDでオセルタミビルをマウスに投与した。オセルタミビルを投与されたすべてのマウスが、1mg/kg BIDで化合物(1)を投与されたマウスと同様の体重減少プロファイルで生存した。

【0337】

このモデルにおいて化合物(1)の投与が遅れ得る程度およびなおも有効性を提供し得る程度を、マウスにインフルエンザAウイルスをチャレンジし、およびビヒクル、オセルタミビルまたは化合物(1)の投与を感染の24、48、72、96または120時間後に開始して10日間にわたってBID投与を続けることによって、調べた(表25)。すべてのビヒクルコントロールが、研究の8または9日目までに疾患に屈した。感染の72時間後までに投薬を開始したとき、化合物(1)を1、3または10mg/kg BIDで投与することにより、ビヒクルコントロールと比べて、死亡からの完全な保護および体重減少の低下がもたらされた。投薬を感染の24時間後またはそれより早く開始したとき、10mg/kg BIDでのオセルタミビルの投与だけで完全な保護がもたらされた。3または10mg/kg BIDでの化合物(1)は、化合物投与の開始をさらに遅らせたとき、感染の96時間後に完全な生存をもたらし、投薬開始を感染の120時間後に遅

らせたとき、部分的な保護をもたらした。

【0338】

肺のウイルス価を低下させる化合物(1)の有効性を調べた。マウスにインフルエンザAを感染させ、24時間後に、ビヒクル、オセルタミビル(10mg/kg BID)または化合物(1)(3、10、30mg/kg BID)を、6日目における肺の回収およびウイルス負荷の測定まで投与した(表26)。化合物(1)を投与されたすべての群が、オセルタミビルおよびビヒクルを投与された動物と比べて、肺のウイルス価の確固とした統計学的に有意な低下を示した。

【0339】

PK/PDモデルを確立するために、マウスにインフルエンザウイルスを24時間感染させ、次いで、化合物(1)をさらに24時間投与した。用量を、単回とするか、または12時間毎もしくは6時間毎にそれぞれ投与される2もしくは4回に分割した。肺のウイルス量および化合物(1)の濃度を測定するために、肺および血漿を回収した。これらの投与レジメン(q6h、q12hおよびq24h)からの個別の肺の力価データを、個別の C_{max} 、 C_{min} またはAUC値に対してプロットした(データ示さず)。肺の力価の低下と C_{min} の間には、明らかな相関関係が存在したが、 C_{max} とはほとんど相関関係がなく、AUCとは弱い相関関係しかなかった。血漿中の計測された化合物(1)の濃度を、計測された肺の力価に対してプロットしたとき、 C_{min} との強い相関関係が存在した。肺の力価の最大半量の減少(2~3log)が、血清シフト(serum-shifted)EC₉₉(100ng/mL)付近に生じる。肺の力価と、肺において計測された化合物(1)濃度との間にも、同様の相関関係が見出された(データ示さず)。

【0340】

10

20

【表 2 5】

表25: インフルエンザAのマウスモデルにおける生存パーセントおよび体重減少パーセントの要約

感染時を基準とした処置開始時間(h)	化合物 (1) の用量 (mg/kg; BID)	オセルタミビルの用量 (mg/kg; BID)	生存パーセント	研究の8日目における体重減少パーセント
-2 ^a	10		100	-2.8
	3		100	-8.7
	1		100	-16.8
	0.3		25	-30.4
	0.1		0	-31.9
		10	100	-19.1
	0		0	-32.2
+24 ^a	10		100	-6.2
	3		100	-14.2
	1		100	-23.4
		10	100	-28.9
	0		0	-33.8
+48 ^a	10		100	-7.1
	3		100	-10.9
	1		100	-22.5
		10	80	-31.1
	0		0	-34.4
+72 ^a	10		100	-17.4
	3		100	-23.2
	1		100	-29.4
		10	0	-31.3
	0		0	-36.1
+96 ^b	10		100	-25.5
	3		100	-27.3
		10	ND ^c	ND ^c
	0		0	-34.6
+120 ^b	10		37.5	-34.4
	3		12.5	-32.6
		10	ND ^c	ND ^c
	0		0	-34.6

^aデータは、独立した実験からのデータである。

^bデータは、同じ実験からのデータである。

^cND, 未測定。

【 0 3 4 1 】

【表 2 6】

表26: インフルエンザAのマウスモデルにおける肺のウイルス価およびLog₁₀減少の要約

処置 ^a	研究1		研究2	
	肺のウイルス価 (Log ₁₀ TCID ₅₀) ^b	ビヒクルに 対するLog ₁₀ 減少	肺のウイルス価 (Log ₁₀ TCID ₅₀) ^b	ビヒクルに 対するLog ₁₀ 減少
10 mg/kg BID ビヒクル	6.20		6.28	
10 mg/kg BID オセルタミビル	6.05	-0.15		
30 mg/kg BID 化合物 (1)	3.95	-2.25***	4.53***	-1.75
10 mg/kg BID 化合物 (1)			5.20***	-1.08
3 mg/kg BID 化合物 (1)			5.24***	-1.04

^a動物の処置を感染の24時間(houses)後に開始し、5日間続けた。

^b研究の6日目に肺のウイルス価を測定した。

^cND, 未測定。

ボンフェローニ事後検定を伴う2元配置ANOVA, ***P<0.001。

【 0 3 4 2】

実施例 13: インフルエンザチャレンジの概念実証

【 0 3 4 3】

ヒトの天然の感染におけるインフルエンザ抗ウイルス剤の有効性を予測するために、生の弱毒化インフルエンザチャレンジモデルが以前に用いられた(Calfee, D. P., Peng, A. W., Hussey, E. K., Lobo, M. & Hayden F. G. Safety and efficacy of once daily intranasal zanamivir in preventing experimental human influenza A infection. Antivir Ther. 4, 143-149 (1999); Hayden, F. G.ら、Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in experimental human influenza. JAMA 282, 1240-1246 (1999)。生のインフルエンザA/Wisconsin/67/2005(H3N2)チャレンジ株ウイルスを接種された健常志願者におけるA形の化合物(1)半水和物のHCl塩(本明細書中以後、この実施例において、簡潔に化合物(1))のランダム化二重盲検プラセボ対照単施設研究を行った。被験体に、1日量のプラセボ(N=33)または化合物(1)のいずれかを1日1回(QD)で、5回投与した(未希釈の化合物(1)からなるカプセルの形態で): 1日目に100mg(N=16)、400mg(N=19)もしくは900mg、続いて、2~5日目に600mg(N=20)、または1日目に1200mg、続いて、2~5日目に600mg(N=18)。被験体は、1日3回鼻スワブを受け、1~7日目に1日3回臨床症候についてのスコアカードをつけ、8日目に施設から解放され、およそ28日目に安全性の経過観察を受けた。鼻スワブを、細胞培養(主要解析)およびqRT-PCR(副次解析)によって、インフルエンザウイルスについてアッセイした。

【 0 3 4 4】

有効性の解析は、被験薬物(化合物(1)またはプラセボ)の少なくとも1回の投与を受け、ウイルス濃度が、接種後48時間以内の任意の時点においてTCID₅₀細胞培養アッセイに対する定量下限より上かもしくは等しかったか、または血球凝集阻害力価が、

10

20

30

40

50

接種後期間におけるベースライン（１日目）から４倍またはそれを超えて上昇した、ランダム化されたすべての被験体と定義される最大の解析対象（ＦＡ）集団に対して行った（ $N = 74$ ）。安全性の集団（s a f e t y s e t）には、０日目にインフルエンザを接種され、プラセボまたは化合物（１）のいずれかを少なくとも１回投与された、すべての被験体が含まれた（ $N = 104$ ）。

【 0 3 4 5 】

有効性の評価

【 0 3 4 6 】

この研究における主要な尺度は、ＦＡ集団における細胞培養アッセイでの $TCID_{50}$ によって計測される、研究の１日目（薬物投与の初日）から７日目までのウイルス排出のＡＵＣにおける用量反応の傾向の実証だった。統計学的に有意な用量反応の傾向が、鼻スワブにおけるＡＵＣウイルス排出中央値において観察された（ $P = 0.036$ ，ヨルクヒール・タブストラ傾向検定）。さらに、対ごとの比較を、併合されたプラセボ群と化合物（１）の各用量群との間で、ＡＵＣウイルス排出中央値、排出期間中央値およびウイルス排出ピークの平均規模について行った（表２７）。ＡＵＣウイルス排出の統計学的に有意な減少が、 $1200/600\text{ mg}$ 用量群に対して観察され（ $P = 0.010$ ，ウィルコクソン順位和検定）、ピーク排出の有意な減少が、 $1200/600\text{ mg}$ 用量群（図１３）、 400 mg 用量群および併合された化合物（１）用量群に対して観察された。さらなるＦＡ群の解析を行った（データ示さず）。

【 0 3 4 7 】

鼻のインフルエンザ排出を $qRT-PCR$ によっても定量し、結果は、細胞培養で観察された結果と似ていた。接種前のベースラインからの抗インフルエンザ力価の４倍またはそれを超える増加によって定義される、セロコンバージョンの速度に、化合物（１）用量群とプラセボとの間に差は無く、インフルエンザ接種の２４時間後に投与された化合物（１）は、インフルエンザ感染の獲得の速度に影響せず、その後の感染に対する体液性免疫応答を無効にしなかったことが示唆される（表２８）。

【 0 3 4 8 】

被験体は、１日３回、臨床症候を日誌に記録した。１日目～７日目の臨床スコアおよびインフルエンザ様症候スコアのＡＵＣを算出した。プラセボと比べて、化合物（１）の $1200/600\text{ mg}$ 用量群は、複合的な臨床症候の持続時間の中央値（ $P = 0.001$ ）、インフルエンザ様症候のＡＵＣ中央値（ $P = 0.040$ ）およびインフルエンザ様症候の持続時間の中央値（ $P < 0.001$ ）の統計学的に有意な減少を示した（表２８）。

【 0 3 4 9 】

10

20

30

【表 28 - 1】

表28:AUCウイルス排出中央値、排出期間中央値およびウイルス排出ピークの平均規模。

エンドポイント [単位]		併合された プラセボ (N=22)	化合物(1)				
			100mg(N=12)	400mg(N=12)	900/600mg (N=14)	1200/600mg (N=14)	併合 (N=52)
組織培養による ウイルス排出 ^a	AUC, 中央値 (範囲)	5.85	1.25	0.70	3.20	0.35	0.65
	[log ₁₀ TCID ₅₀ /mL * 日]	(0.0, 17.1)	(0.0, 16.1)	(0.0, 18.0)	(0.0, 16.1)	(0.0, 8.4)	(0.0, 18.0)
	P値 ^a	NA	0.269	0.206	0.723	0.010	0.057
	期間, 中央値	2.38	0.96	1.60	2.71	0.00	0.71
	(95%CI)[日]	(0.03, 4.63)	(0.00, 3.39)	(0.00, NA)	(0.00, 4.68)	(0.00, 1.33)	(0.00, 2.43)
	P値 ^d	NA	0.331	0.831	0.893	0.169	0.487
	ピーク, 平均(SD)	3.13	2.09	1.73	2.68	1.00	1.87
	[log ₁₀ TCID ₅₀ /mL]	(1.878)	(2.209)	(1.976)	(2.201)	(1.365)	(2.002)
	P値 ^e	NA	0.139	0.049	0.505	0.002	0.015
qRT-PCRによる ウイルス排出 ^a	AUC, 中央値 (範囲)	18.40	6.05	4.90	10.65	0.45	3.45
	[log ₁₀ コピー/mL * 日]	(0.0, 42.1)	(0.0, 41.9)	(0.0, 36.9)	(0.0, 37.1)	(0.0, 24.7)	(0.0, 41.9)
	P値 ^a	NA	0.218	0.306	0.821	0.014	0.075
	期間, 中央値	2.91	0.96	1.36	2.39	0.00	0.71
	(95%CI)[日]	(0.03, 5.35)	(0.00, 3.39)	(0.00, NA)	(0.00, 5.01)	(0.00, 0.66)	(0.00, 2.394)
	P値 ^d	NA	0.318	0.753	0.602	0.084	0.238
	ピーク, 平均(SD)	5.36	4.36	3.90	5.08	2.37	3.91
	[log ₁₀ TCID ₅₀ /mL]	(3.108)	(3.379)	(3.514)	(3.097)	(2.861)	(3.276)
	P値 ^e	NA	0.380	0.202	0.794	0.007	0.081
血清学 ^f	セロコンバージョン,	21/32	11/16	9/19	13/19	12/18	45/72
	n/N (%)	(66%)	(69%)	(47%)	(68%)	(67%)	(63%)
	P値	NA	>0.999	0.247	>0.999	>0.999	0.828

AUC: 値 - 時間曲線下面積 (area under the value versus time curve); CI: 信頼区間; NA: 該当なし; qRT-PCR: 定量的逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応; SD: 標準偏差; TCID₅₀: 50%組織培養感染量

注: 統計学的に有意なP値 (P < 0.05) は太字である。

^a ヨンクヒール・タブストラ傾向検定からのAUCの用量反応傾向について P = 0.036。

^b ウィルコクソン順位和検定から算出されたP値。

10

20

30

40

50

^c A N O V A から算出された P 値。

^d ログランク検定から算出された P 値。

^e ヨンキー (J o n c k h e r r e) ・テルプストラ傾向性検定からの A U C の用量反応傾向について P = 0 . 0 3 1 。

^f セロコンバージョンは、経過観察の来院時の抗インフルエンザ抗体価の、ベースラインと比較したときの 4 倍増加として定義される。フィッシャーの正確確率検定を用いて算出された P 値。

【 0 3 5 0 】

【表 2 8 - 2 】

表28:AUC中央値、期間中央値、ならびに複合的な臨床症候およびインフルエンザ様症候のピークの平均規模。

エンドポイント [単位]		併合された プラセボ (N=22)	化合物(1)				
			100mg(N=12)	400mg(N=12)	900/600mg (N=14)	1200/600mg(N=14)	併合 (N=52)
複合的な臨床症候	AUC, 中央値 (範囲)	4.85	1.85	4.70	1.75	1.95	2.15
	[グレード*日]	(0.0, 23.5)	(0.0, 25.3)	(0.0, 16.0)	(0.0, 32.3)	(0.0, 5.5)	(0.0, 32.3)
	P値 ^b	NA	0.422	0.694	0.595	0.83	0.211
	期間, 中央値	3.69	3.21	3.34	2.69	1.88	2.34
	(95%CI)[日]	(2.04, 4.73)	(0.03, 5.43)	(1.28, 4.63)	(0.00, 4.61)	(0.00, 2.24)	(1.87, 3.06)
	P値 ^d	NA	0.946	0.994	0.686	0.001	0.355
	ピーク, 平均 (SD)	3.91	3.17	2.83	3.71	1.50	2.79
	[グレード]	(3.637)	(3.881)	(2.167)	(4.232)	(1.286)	(3.158)
	P値 ^e	NA	0.532	0.366	0.863	0.036	0.187
インフルエンザ様症候	AUC, 中央値 (範囲)	4.05	1.85	3.80	1.75	1.75	2.05
	[グレード*日]	(0.0, 17.7)	(0.0, 21.3)	(0.0, 14.0)	(0.0, 28.6)	(0.0, 4.4)	(0.0, 28.6)
	P値 ^b	NA	0.363	0.617	0.595	0.040	0.149
	期間, 中央値	3.69	3.21	3.34	2.69	1.88	2.34
	(95%CI)[日]	(2.04, 4.73)	(0.00, 5.40)	(1.28, 4.63)	(0.00, 4.61)	(0.00, 2.24)	(1.87, 3.00)
	P値 ^d	NA	0.957	0.994	0.653	<0.001	0.342
	ピーク, 平均 (SD)	3.41	2.75	2.42	3.21	1.36	2.42
	[グレード]	(3.003)	(3.361)	(1.832)	(3.534)	(1.216)	(2.689)
	P値 ^e	NA	0.511	0.323	0.838	0.034	0.168

A U C : 値 - 時間曲線下面積 ; C I : 信頼区間 ; N A : 該当なし。

注 : 統計学的に有意な P 値 (P < 0 . 0 5) は太字である。

^b ウィルコクソン順位和検定から算出された P 値。

^c A N O V A から算出された P 値。

^d ログランク検定から算出された P 値。

【 0 3 5 1 】

安全性の評価

【 0 3 5 2 】

化合物 (1) は耐容性がよく、化合物 (1) に関連する有害事象 (A E) に起因する中断は無く、いかなる重篤な有害事象も無かった。任意の処置群における被験体の 10 % において生じる有害事象のリストを提示する (表 2 9)。インフルエンザ様疾病が、最も高頻度で報告された有害事象であり、プラセボ群および化合物 (1) 群でほぼ等しい割合の被験体によって報告された。化合物 (1) 群とプラセボレシピエントとの間で 10 % の発生率の差で生じた有害事象は、血中リンレベルの低下 (18 . 1 % , 化合物 (1) ; 0 % , プラセボ)、鼻漏 (化合物 (1) , 4 . 2 % ; 18 . 8 % , プラセボ) および鼻閉 (1 . 4 % , 化合物 (1) ; 15 . 6 % プラセボ) だった。さらに、アラニンアミノトランスフェラーゼ (A L T) の増加が、プラセボと化合物 (1) の両方のレシピエントにおいて観察された。肝機能の異常も血清ホスフェートの減少も、10 日間にわたる毎日の、最大 1 6 0 0 m g の単回用量および最大 8 0 0 m g の複数回用量における化合物 (1) のファースト・イン・ヒューマン用量漸増研究において観察されなかった ; A L T の増加と血清ホスフェートの減少の両方が、上気道ウイルス感染において以前に報告されていた。

【 0 3 5 3 】

【 表 2 9 】

表 29: 任意の処置群における被験体の ≥ 10 % において生じる有害事象のリスト

好ましい用語	併合されたプラセボ	化合物(1)				
		100mg	400mg	900/600mg ^a	1200/600mg ^b	併合
	N=32 n(%)	N=16 n(%)	N=19 n(%)	N=19 n(%)	N=18 n(%)	N=72 n(%)
インフルエンザ様疾病 ^c	12(37.5)	8(50.0)	10(52.6)	9(47.4)	7(38.9)	34(47.2)
アラニンアミノトランスフェラーゼの増加	5(15.6)	3(18.8)	1(5.3)	0	6(33.3)	10(13.9)
血中リンの減少	0	3(18.8)	0	6(31.6)	4(22.2)	13(18.1)
異常な肺活量測定	2(6.3)	2(12.5)	4(21.1)	0	4(22.2)	10(13.9)
鼻漏	6(18.8)	0	2(10.5)	0	1(5.6)	3(4.2)
頭痛	2(6.3)	1(6.3)	4(21.1)	0	2(11.1)	7(9.7)
接触皮膚炎	3(9.4)	3(18.8)	0	0	0	3(4.2)
鼻閉	5(15.6)	0	0	0	1(5.6)	1(1.4)
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの増加	1(3.1)	1(6.3)	1(5.3)	0	2(11.1)	4(5.6)
口腔咽頭 (Oropharyngeal) 疼痛	1(3.1)	2(12.5)	0	1(5.3)	0	3(4.2)
緊張性頭痛	1(3.1)	0	2(10.5)	1(5.3)	0	3(4.2)
倦怠感	1(3.1)	2(12.5)	0	0	0	2(2.8)
悪心	0	0	2(10.5)	1(5.3)	0	3(4.2)

注 : 複数の事象を有する被験体は、A E のもとで一度カウントされた。被験体は、複数の

カテゴリーに見られることがある。

^a 1日目における900mgの単回の負荷量および2～5日目におけるqdの600mg

。

^b 1日目における1200mgの単回の負荷量および2～5日目におけるqdの600mg。

^c 有効性の解析において定義されたようなインフルエンザ様疾病を本文に列挙されたパラメータに基づいて評価した。インフルエンザ様疾病のAEは、医師によって判定された。

【0354】

考察

【0355】

健常志願者におけるインフルエンザチャレンジ研究において、化合物(1)は、TCID₅₀細胞培養とqRT-PCRの両方によって鼻スワブ中のAUCウイルス価の用量反応傾向を示し、評価された最も高い用量の化合物(1)は、AUCウイルス価ならびにインフルエンザ症候のAUCおよび期間の有意な減少を引き起こした。プラセボにまさる同様の規模の改善は、2番目に高い用量群900/600mgでは観察されなかったが(表27)、この用量は、複合的な臨床症候およびインフルエンザ様症候のエンドポイントについてのAUC中央値に関して、1200/600mg用量と類似の結果を示した(表28)；この矛盾に対する理由は、完全には理解されていない。POC試験では確たる安全性の傾向に遭遇しなかったが、観察されたホスフェートの減少およびALTの増加は、今後の研究において使用するためには、両方のパラメータの適切なモニタリングが必要であること示唆する。

【0356】

全体的に見て、インフルエンザチャレンジモデルの限界は、この研究で使用されたインフルエンザウイルスが、インフルエンザウイルス感染の最も重篤な臨床症候をもたらさないように特異的に選択された株であることである。さらに、投与されたウイルス接種材料は、天然のインフルエンザの曝露における接種材料よりもおそらく多い。患者は、実質的な症候を発症するまで(それはおそらく曝露後24時間後を超える)診断または処置を求めないことが多い社会環境では、曝露の24時間後に化合物(1)を投与するタイミングは、治療の開始に対する現実的な時間枠ではない可能性がある。しかしながら、自然感染した被験体は、最初にかなり低いウイルス価で接種されることを考えると、時間スケールは、直接比較できない。

【0357】

要約すると、化合物(1)は、独特の新規のクラスの抗ウイルス剤を代表する強力なインフルエンザA/PB2阻害剤である。前臨床データと臨床データの両方によって説明されるこの阻害剤の特性は、化合物(1)が、インフルエンザ感染を処置するために使用されている現行の抗ウイルス剤にまさるいくつかの潜在的な利点を有する、さらなる評価に対する興味深い候補であることを示す。

【0358】

本明細書中に提供されたすべての参考文献が、参照によりその全体が本明細書中に援用される。本明細書中で使用されるとき、すべての省略形、記号および慣習は、現代の科学文献において使用されるものと一致する。例えば、Janet S. Dodd, ed., The ACS Style Guide: A Manual for Authors and Editors, 2nd Ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997を参照のこと。

【0359】

実施例14：重水素に富化された化合物(1)

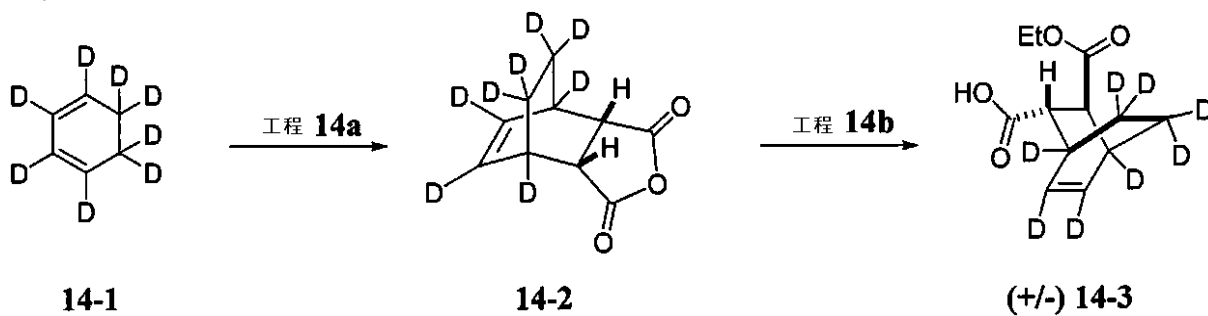
【0360】

重水素に富化された化合物(1)を、下記のスキーム1に従って合成した：

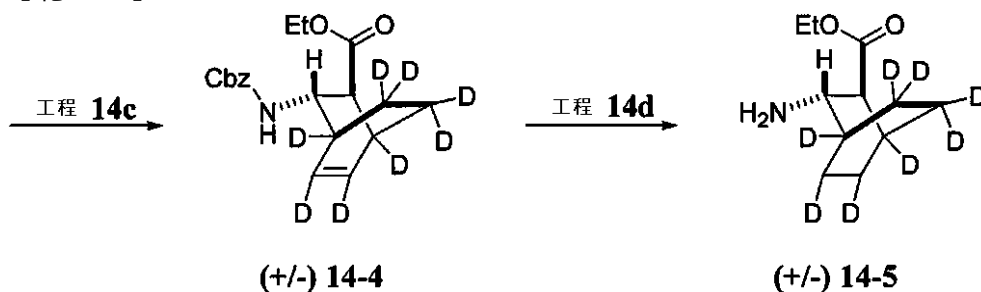
【0361】

スキーム1：

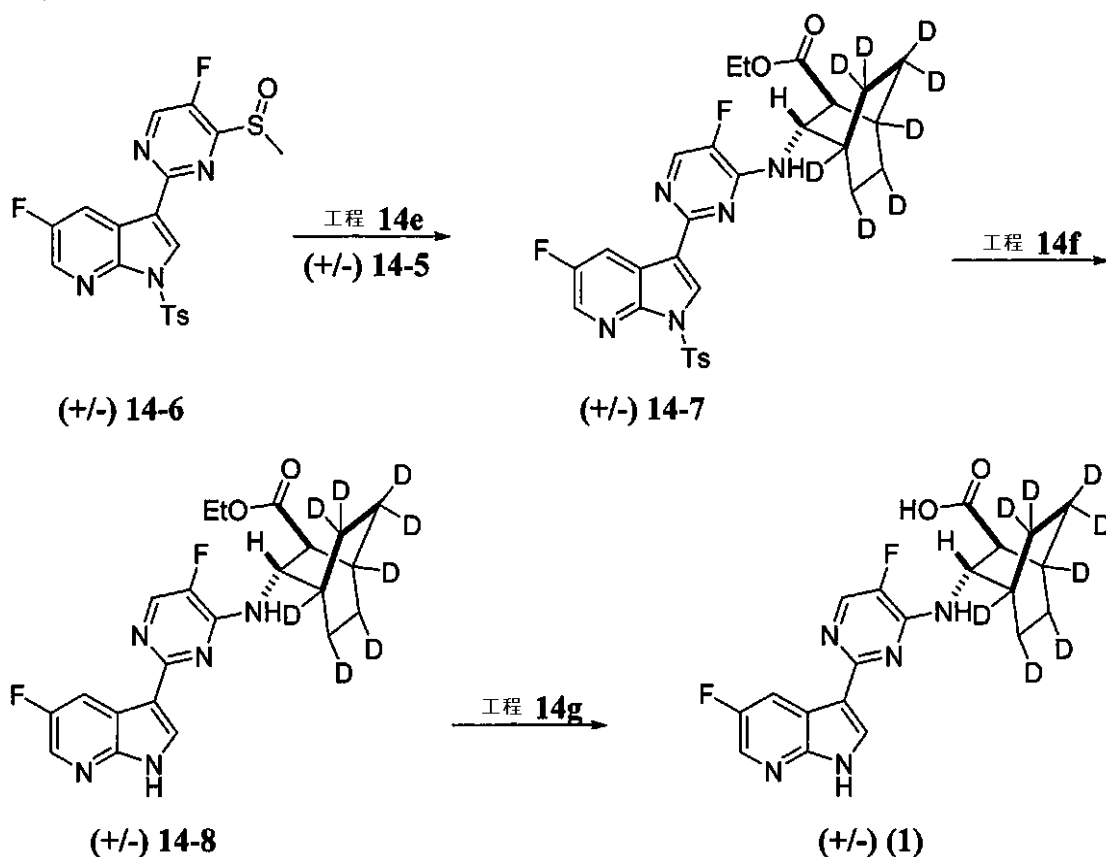
【化 19】



【化 20】



【化 21】



【0362】

試薬および条件：（工程 14 a）無水マレイン酸、 CHCl_3 ；（工程 14 b）ベータ-キニン、エタノール、トルエン；（工程 14 c）DPPA、 Et_3N 、 90°C 、 BnOH ；（工程 14 d） H_2 、 Pd/C 、 MeOH ；（工程 14 e）アミン 14 - 5、 $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ 、 THF 、 70°C ；（工程 14 f） HCl 、ジオキサン、 MeCN 、 80°C ；（工程 14 g） NaOH 、 THF 、 MeOH 。

【0363】

14 A：化合物（14 - 1）

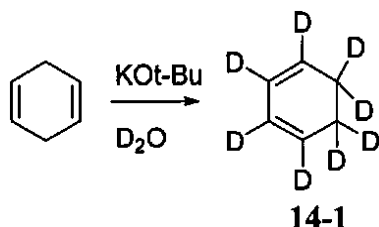
10

20

30

40

【化 2 2】



【 0 3 6 4 】

カリウム *tert*-ブトキシド (9.663 g, 86.11 mmol) を DMSO- d_6 (30.00 mL) に溶解し、窒素下に置いた。ペンタン (60.00 mL) 中のシクロヘキサ-1,4-ジエン (6 g, 74.88 mmol) の溶液を加え、その混合物を窒素下で 2.5 時間撹拌した。DMSO- d_6 層を除去し、カリウム *tert*-ブトキシド (9.663 g, 86.11 mmol) を含む新たな 30 mL の DMSO- d_6 を加えた。撹拌を一晩続けた。層を分離し、ペンタン層を D_2O (50 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 において乾燥することにより、1,2,3,4,5,5,6,6-オクタジュウテリオシクロヘキサ-1,3-ジエン (14-1) を得て、それを溶液として次の工程に進めた。この反応により、1,3-ジエン異性体と 1,4-ジエン異性体との混合物が形成される。1,3-ジエンだけが、その後の工程において反応する。

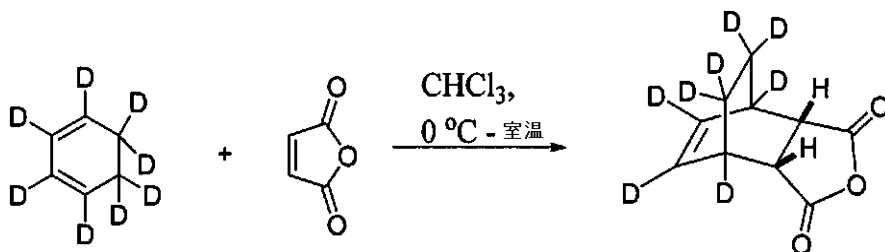
10

【 0 3 6 5 】

14b: 3a, 4, 7, 7a-テトラヒドロ-4,7-エタノイソベンゾフラン-1,3-ジオン-4,5,6,7,8,8,9,9- d_8 (14-2)

20

【化 2 3】

**14-1****14-2**

30

【 0 3 6 6 】

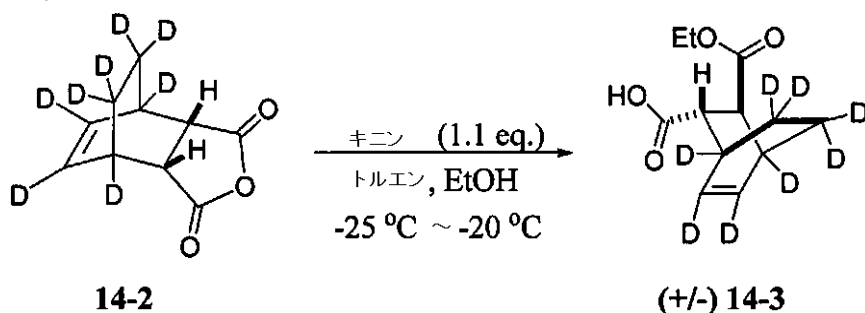
1,2,3,4,5,5,6,6-オクタジュウテリオシクロヘキサ-1,3-ジエン (14-1) (6.5 g, 74.0 mmol) のペンタン溶液をクロロホルム (50 mL) で希釈し、無水マレイン酸 (8.0 g, 81.4 mmol) で処理した。その反応混合物を室温において一晩撹拌した。溶媒を減圧下で蒸発させ、得られた半固体の残渣を MeOH で処理した。10 分間撹拌した後、MeOH スラリーをおよそ 20 分に冷却した。得られた沈殿物を濾過により回収し、少量 (5 mL) の冷メタノールで 3 回洗浄することにより、生成物 (14-2) を白色固体として得た: 1H NMR 解析 ($CDCl_3$) 3.15 (s, 2H) は、清浄な生成物および 95% の重水素の組み込みを示す。

【 0 3 6 7 】

40

14c: (+/-)-*trans*-3-(エトキシカルボニル)ビスクロ[2.2.2]オクタ-5-エン-2-カルボン-1,4,5,6,7,7,8,8- d_8 酸 (14-3)

【化24】



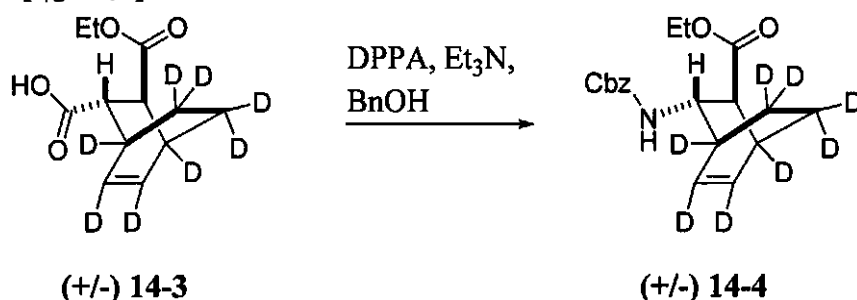
【0368】

窒素下の3つ口RBFに、滴下漏斗および内部温度プローブを取り付けた。そのフラスコに、3a, 4, 7, 7a-テトラヒドロ-4, 7-エタノイソベンゾフラン-1, 3-ジオン-4, 5, 6, 7, 8, 8, 9, 9-d₈ (14-2) (2.68 g, 14.39 mmol)、ベータ-キニン (5.24 g, 15.83 mmol) および無水トルエン (40 mL) を投入した。その反応物を磁気的に攪拌し、-25 に冷却した (コールドフィンガー冷却)。無水トルエン (13.4 mL) 中の無水エタノール (8.40 mL, 143.90 mmol) の溶液を、内部温度を -25 未満に維持しながら25分間にわたって加えた。その反応混合物をおよそ -20 で一晩攪拌した。沈殿したゲル様の固体を濾過により回収し、トルエンで洗浄し (3 × 30 mL)、次いで、1 N HCl / EtOAc 水溶液 (300 mL の 1 : 1 混合物) に溶かした。すべての沈殿物が溶解するまで、その二相の混合物を攪拌した。層を分離し、有機層を水 (2 × 100 mL)、ブライン (100 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥し、濾過し、ロータリーエバポレーター (rotavaporator) において低温で濃縮することにより、800 mg の所望の生成物 (14-3) を得て、それをさらに精製することなく使用した。

【0369】

14d: (+/-) - trans - エチル - 3 - (((ベンジルオキシ) カルボニル) アミノ) ビシクロ [2.2.2] オクタ - 5 - エン - 2 - カルボキシレート - 1, 4, 5, 6, 7, 7, 8, 8 - d₈ (14-4)

【化25】



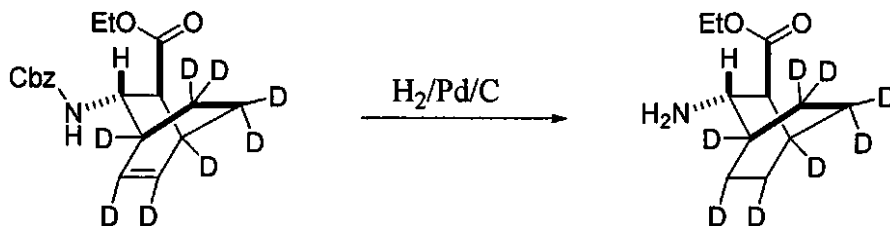
【0370】

トルエン (4.5 mL) 中の (+/-) - trans - 3 - (エトキシカルボニル) ビシクロ [2.2.2] オクタ - 5 - エン - 2 - カルボン - 1, 4, 5, 6, 7, 7, 8, 8 - d₈ 酸, (14-3) (0.60 g, 2.58 mmol) の溶液に、ジフェニルホスホリルアジド (0.81 g, 0.63 mL, 2.84 mmol) を加えた後、トリエチルアミン (0.40 mL, 2.84 mmol) を加えた。その反応混合物を2時間、90 に加熱した。その混合物にベンジルアルコール (0.35 mL, 3.34 mmol) を加え、それを90 で一晩加熱した。その反応混合物を室温に冷却し、EtOAc および飽和 NaHCO₃ 水溶液に分配した。層を分離し、有機相を飽和 NH₄Cl 水溶液、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥し、濾過し、蒸発乾固した。粗残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (0 ~ 35 ~ 100 % EtOAc / ヘキサン類 - CMA で染色) によって精製した。¹H NMR は、未だ存在するベンジルアルコール不純物とともに、所望の生成物 (14-4) を示す。材料を、さらに精製することなく先に進めた。

【 0 3 7 1 】

14e: (+/-) - trans - エチル - 3 - アミノピシクロ[2.2.2]オクタン - 2 - カルボキシレート - 1, 4, 5, 5, 6, 6, 7, 8 - d₈ (14-5)

【 化 2 6 】

**(+/-) 14-4****(+/-) 14-5**

10

【 0 3 7 2 】

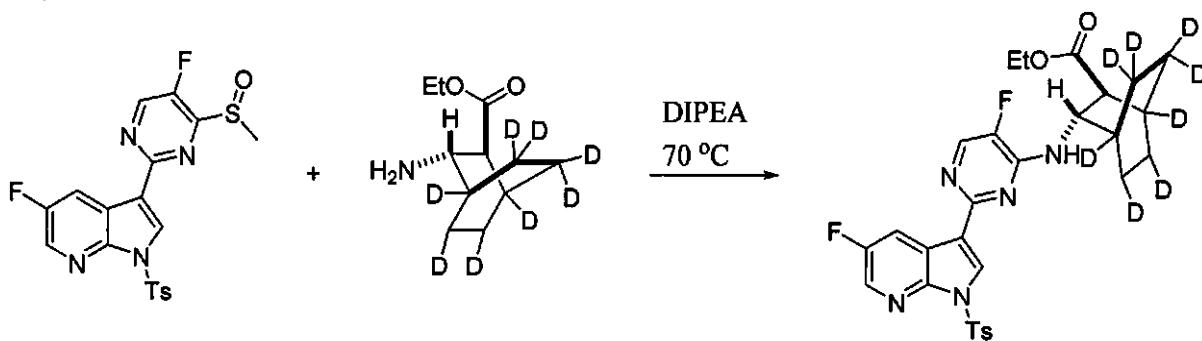
パラジウム (0.052 g, 0.049 mmol) を水素化容器 (窒素雰囲気下) に投入し、およそ 5 mL のメタノールで湿らせた。その懸濁液に、メタノール (20 mL) 中の (+/-) - trans - エチル (2S, 3S) - 3 - ((ベンジルオキシ)カルボニル) - アミノ)ピシクロ[2.2.2]オクタン - 5 - エン - 2 - カルボキシレート - 1, 4, 5, 6, 7, 7, 8, 8 - d₈ (14-4) (0.521 g, 1.547 mmol) の溶液を加えた。その反応混合物を水素化 (44 PSI) に一晩供した。圧力を抜き、触媒を濾別した。すべての揮発性物質を真空中で除去した。粗生成物 (14-5) をさらに精製することなく使用した。

20

【 0 3 7 3 】

14f: (+/-) - trans - エチル - 3 - ((5 - フルオロ - 2 - (5 - フルオロ - 1 - トシル - 1H - ピロロ[2,3-b]ピリジン - 3 - イル)ピリミジン - 4 - イル)アミノ)ピシクロ[2.2.2]オクタン - 2 - カルボキシレート - 1, 4, 5, 5, 6, 6, 7, 8 - d₈ (14-7)

【 化 2 7 】

**(+/-) 14-6****(+/-) 14-5****(+/-) 14-7**

30

【 0 3 7 4 】

THF (10 mL) 中の (+/-) - trans - エチル (2S, 3S) - 3 - アミノピシクロ[2.2.2]オクタン - 2 - カルボキシレート - 1, 4, 5, 5, 6, 6, 7, 8 - d₈ (14-5) (0.317 g, 1.547 mmol) および 5 - フルオロ - 3 - ((5 - フルオロ - 4 - メチルスルフィニル - ピリミジン - 2 - イル) - 1 - (p - トリルスルホニル)ピロロ[2,3-b]ピリジン (14-6) (0.694 g, 1.547 mmol) の懸濁液に、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (0.808 mL, 4.641 mmol) を加え、その反応混合物を一晩、70 °C に加熱した。その反応混合物を EtOAc および水で希釈した。層を分離し、有機相をブラインで洗浄し、乾燥し (MgSO₄)、濾過し、真空中で濃縮した。粗生成物 (14-7) を、シリカゲルクロマトグラフィー (0 ~ 100 % EtOAc / ヘキサン類) によって精製することにより、所望の生成物を得た。

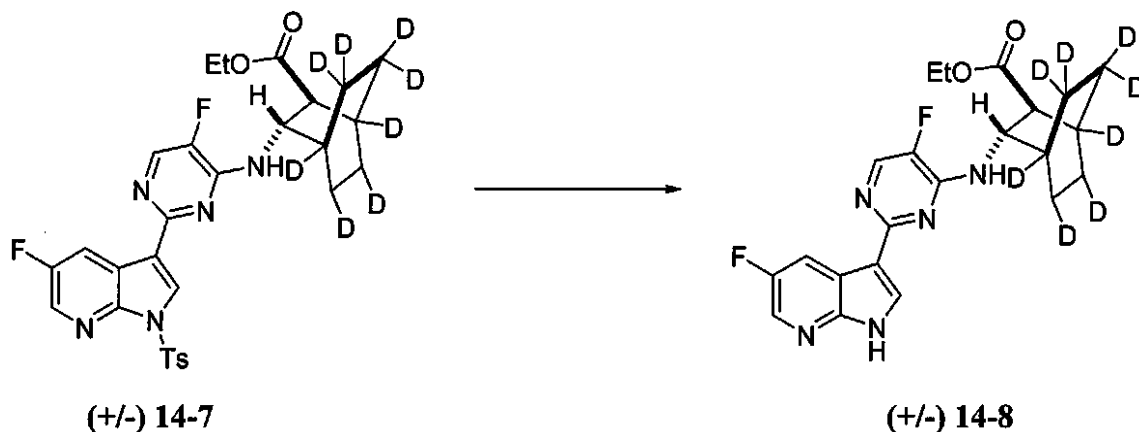
40

50

【0375】

14g: (+/-) - trans - エチル - 3 - ((5 - フルオロ - 2 - (5 - フルオロ - 1H - ピロロ [2 , 3 - b] ピリジン - 3 - イル) ピリミジン - 4 - イル) アミノ) ビシクロ [2 . 2 . 2] オクタン - 2 - カルボキシレート - 1 , 4 , 5 , 5 , 6 , 6 , 7 , 8 - d₈ (14 - 8)

【化28】



10

【0376】

アセトニトリル (6 mL) 中の (+/-) - trans - エチル (2S , 3S) - 3 - ((5 - フルオロ - 2 - (5 - フルオロ - 1 - トシル - 1H - ピロロ [2 , 3 - b] ピリジン - 3 - イル) ピリミジン - 4 - イル) アミノ) ビシクロ [2 . 2 . 2] オクタン - 2 - カルボキシレート - 1 , 4 , 5 , 5 , 6 , 6 , 7 , 8 - d₈ (14 - 7) (373 mg , 0.6325 mmol) の溶液に、HCl (800 μL の、ジオキサン中の 4 M 溶液 , 3.200 mmol) を加えた。その反応混合物を室温において 2 時間撹拌した。次いで、その反応混合物を、6 時間、80 に加熱し、次いで、室温に冷却し、一晚撹拌した。LC/MS 解析は、反応が不完全であることを示した。その混合物にさらなる 6 mL の CH₃CN および 800 μL の 4 N HCl / ジオキサン溶液を加えた。その反応混合物を 4 時間、80 に加熱した。すべての揮発性物質を減圧下で除去し、残渣を EtOAc および飽和 NaHCO₃ 水溶液で希釈した。層を分離し、有機相をブラインで洗浄し、MgSO₄ で乾燥し、濾過し、真空中で濃縮した。粗残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (0 ~ 100 % EtOAc / ヘキサン類) によって精製することにより、所望の生成物 (14 - 8) を得た:

20

30

【0377】

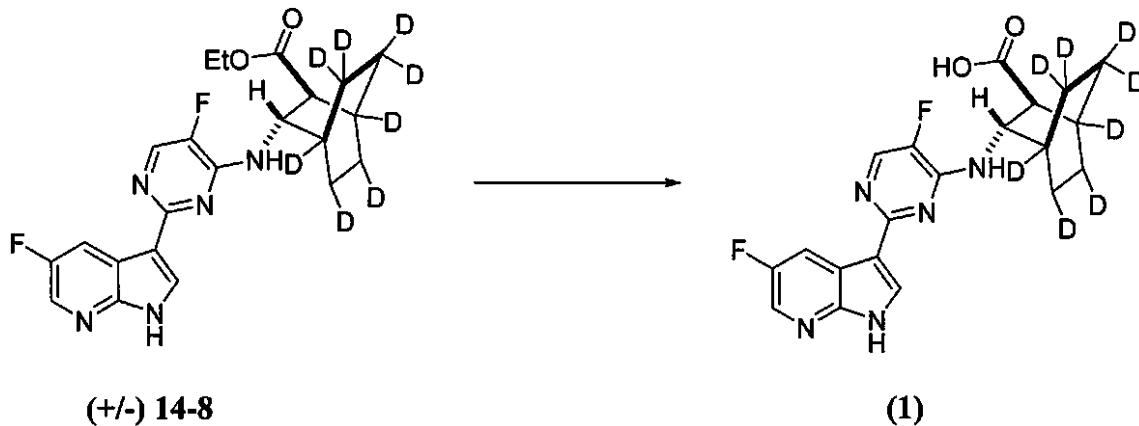
¹H NMR (300 MHz , d6 - DMSO) 12.28 (s , 1H) , 8.50 (dd , J = 9.8 , 2.8 Hz , 1H) , 8.23 (ddd , J = 12.6 , 6.2 , 2.7 Hz , 2H) , 7.60 (d , J = 6.9 Hz , 1H) , 4.73 (t , J = 6.5 Hz , 1H) , 4.30 - 3.85 (m , 2H) , 2.89 (d , J = 6.8 Hz , 1H) , 1.59 - 0.96 (m , 4H) .

40

【0378】

14h: (+/-) - trans - エチル - 3 - ((5 - フルオロ - 2 - (5 - フルオロ - 1H - ピロロ [2 , 3 - b] ピリジン - 3 - イル) ピリミジン - 4 - イル) アミノ) ビシクロ [2 . 2 . 2] オクタン - 2 - カルボン - 1 , 4 , 5 , 5 , 6 , 6 , 7 , 8 - d₈ 酸 (1)

【化29】



10

【0379】

THF (3.0 mL) およびメタノール (1 mL) に溶解された (+/-) - trans - エチル - 3 - ((5 - フルオロ - 2 - (5 - フルオロ - 1H - ピロロ[2,3-b]ピリジン - 3 - イル)ピリミジン - 4 - イル)アミノ)ピシクロ[2.2.2]オクタン - 2 - カルボキシレート - 1, 4, 5, 5, 6, 6, 7, 8 - d₈ (14-8) (0.165 g, 0.379 mmol) の溶液に、NaOH (1 mL の 2 M 溶液, 2.000 mmol) を加え、その反応混合物を室温において3時間撹拌した。LC/MS 解析は、反応が不完全であることを示す。その反応混合物を2時間、45℃に加熱し、次いで、30分間、55℃に加熱した。その反応混合物を飽和 NH₄Cl 水溶液に希釈した。数滴の 1 N

20

HCl を加えることにより、pH をおよそ 6.5 に調整した。生成物を EtOAc で抽出した。有機相を MgSO₄ で乾燥し、濾過し、真空中で濃縮することにより、所望の生成物 (1) を得た (NMR、LC/MS および HPLC によって 97.5% の純度) : ¹H NMR (300 MHz, d6 - DMSO) 12.30 (d, J = 14.2 Hz, 2H), 8.79 - 7.94 (m, 4H), 7.58 (s, 1H), 4.68 (s, 1H), 2.84 (s, 1H), 1.85 (d, J = 85.0 Hz, 1H), 1.58 - 1.05 (m, 2H) .

【0380】

30

実施例 15 : 重水素に富化された化合物 (1)

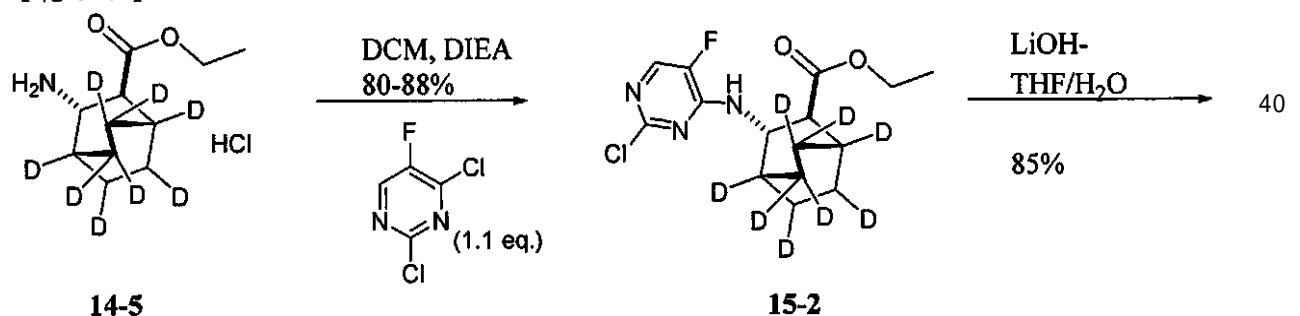
【0381】

あるいは、重水素に富化された化合物 (1) は、下記のスキーム 2 に従って合成され得る :

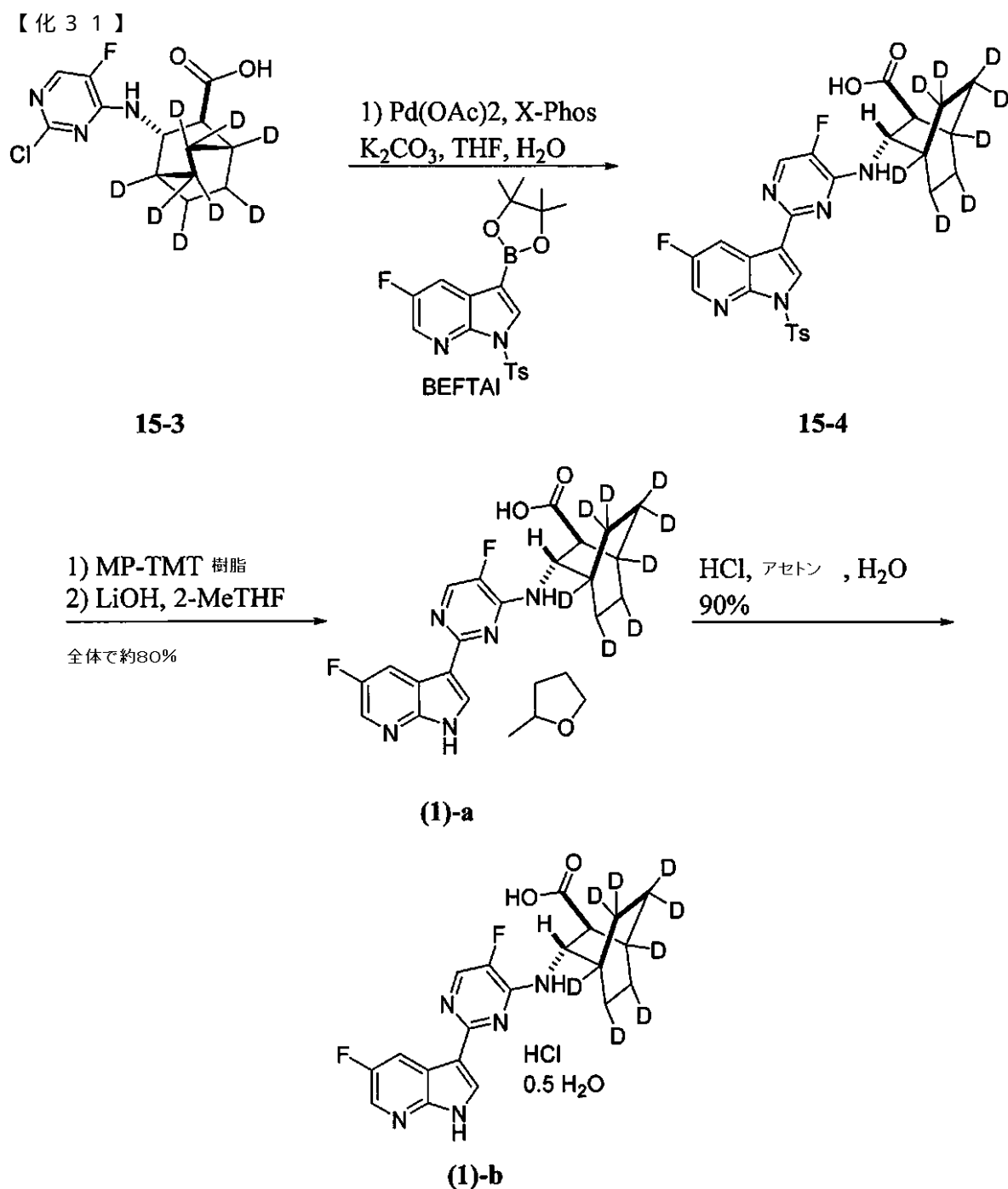
【0382】

スキーム 2 :

【化30】



40



【 0 3 8 3 】

他の実施形態

本発明は、その詳細な説明とともに記載されてきたが、前述の説明は、本発明を例証することを意図したものであって、本発明の範囲を限定することを意図しておらず、本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲によって定義されることが理解されるべきである。他の態様、利点および改変は、添付の特許請求の範囲内である。

10

20

30

40

【図 1】

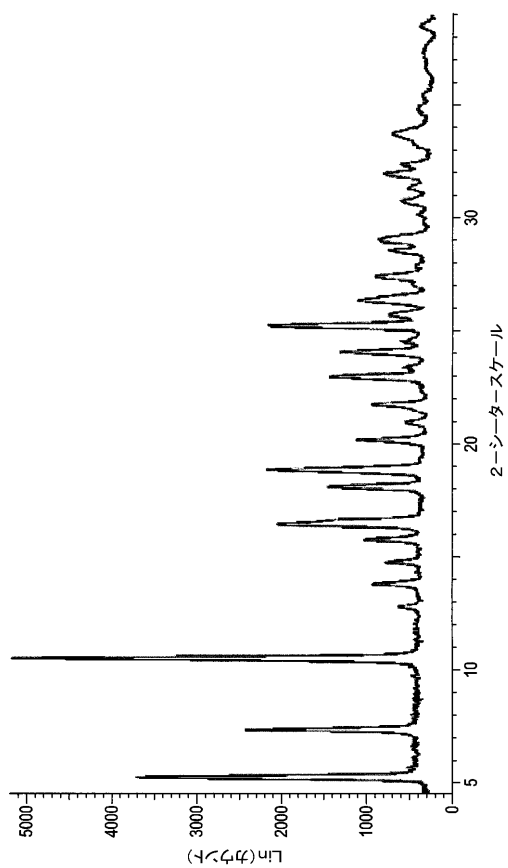


FIG. 1

【図 2】

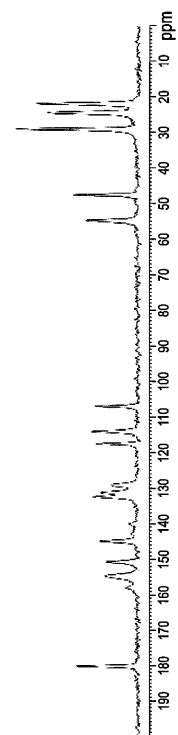


FIG. 2

【図 3】

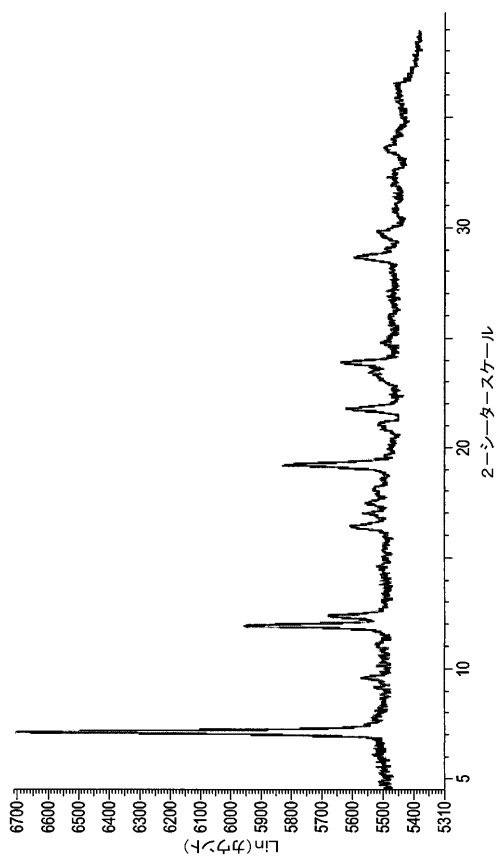


FIG. 3

【図 4】

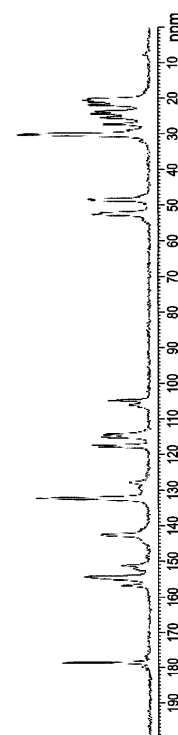
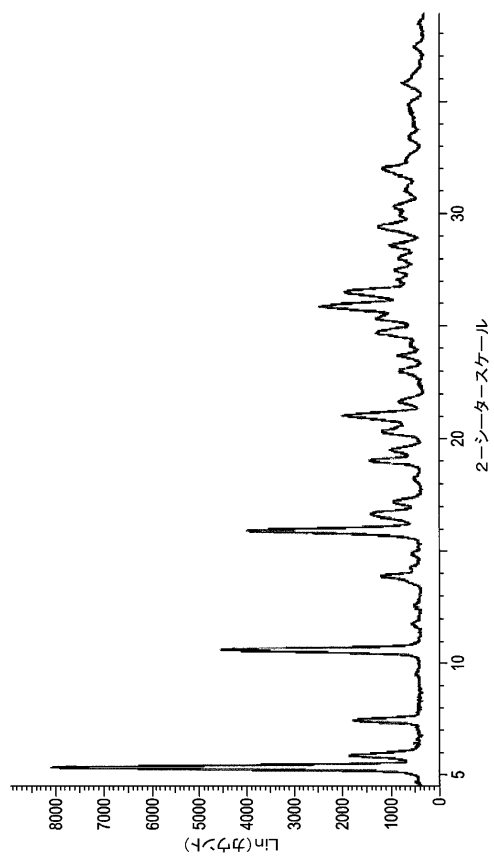
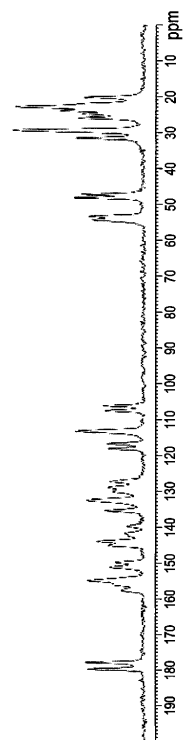


FIG. 4

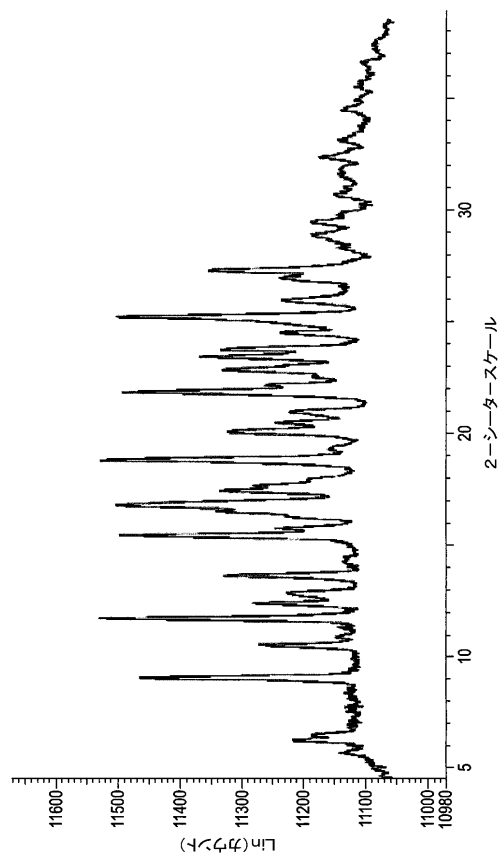
【図 5】



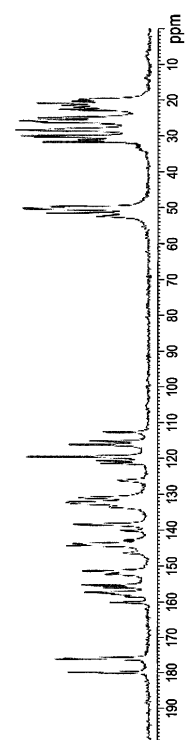
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【図 9】

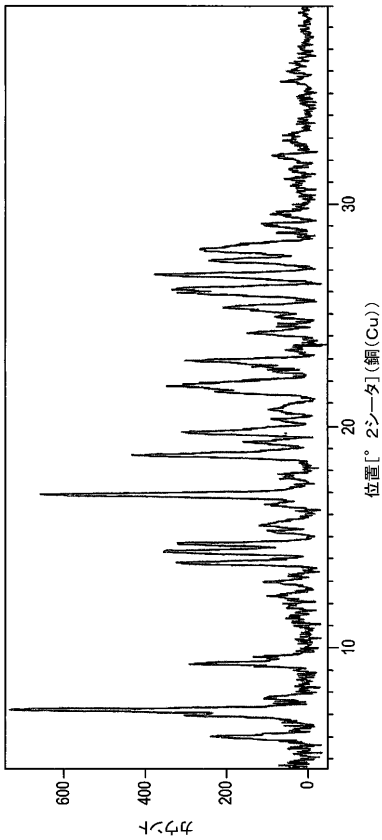


FIG. 9

【図 10】

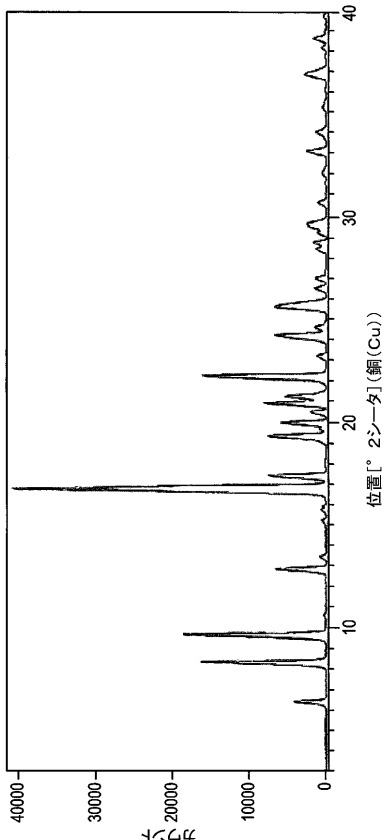


FIG. 10

【図 11】

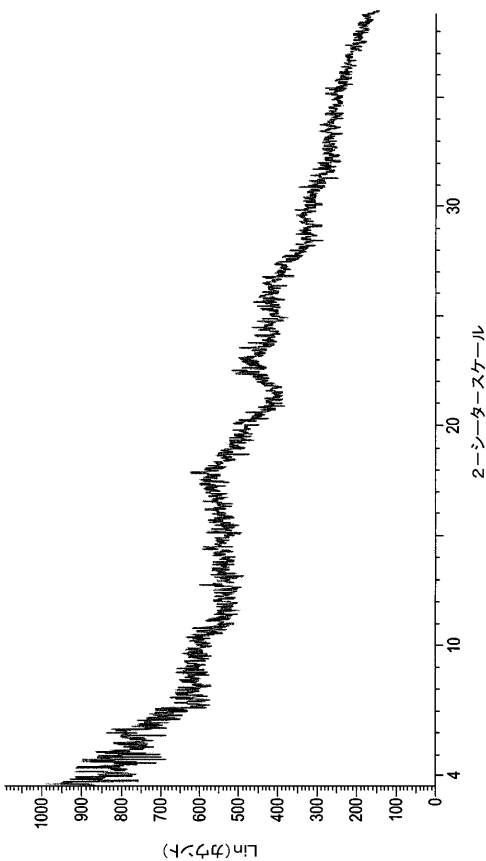


FIG. 11

【図 12】

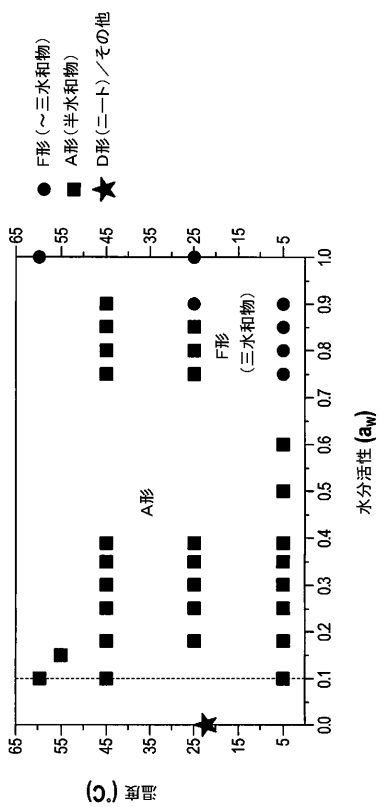


FIG. 12

【図 13】

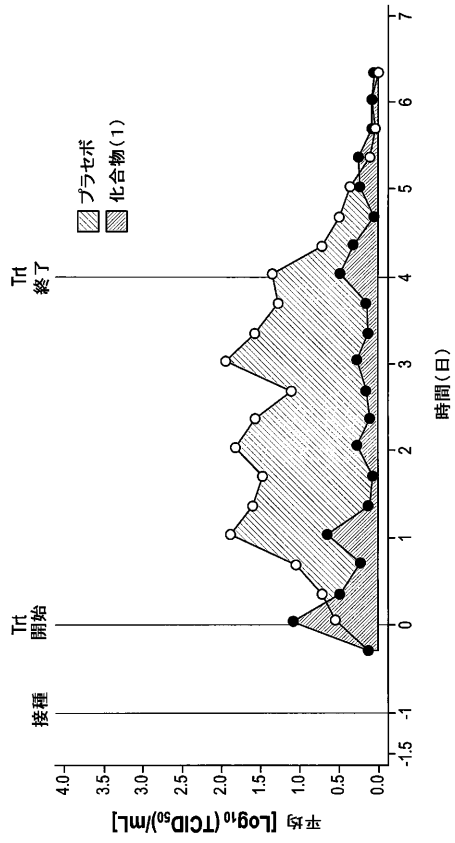


FIG. 13

フロントページの続き

- (51)Int.Cl. F I
 A 6 1 K 45/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 1 1
 A 6 1 K 31/215 (2006.01) A 6 1 K 45/00
 A 6 1 K 31/351 (2006.01) A 6 1 K 31/215
 A 6 1 K 31/351
- (72)発明者 スティ - アッダイ , クワミ ダブリュー .
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 8 7 6 , トウクズベリー , ケンジントン ウェイ
 1 9
- (72)発明者 ウォルドー , マイケル
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 5 1 9 , グラフトン , パトリシア ドライブ 4
- (72)発明者 オニール , サイモン アダム
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 7 8 , ベルモント , メイブル ストリート 7 7
- (72)発明者 バン アルステン , ジョン グレッグ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 7 0 1 , フレーミングハム , クリアビュー ドライ
 ブ 3
- (72)発明者 マシケナス , ダイニウス
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 9 , ケンブリッジ , クリントン ストリート
 7
- (72)発明者 ムドゥヌリ , ブラビーン
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 5 3 , ウォルサム , チャールズバンク ウェイ
 7 , アpartment エー
- (72)発明者 シ , イ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 7 6 0 , ネイティック , ラスパーン ロード 8 0
- (72)発明者 レデボア , マーク ウィレム
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 7 2 0 , アクトン , フォークナー ヒル ロード
 3 6
- (72)発明者 ジャーコースカス , バルダス
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 8 , ケンブリッジ , ブラットル ストリート
 2 2 6
- (72)発明者 メデク , アレス
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 8 9 0 , ウィンチェスター , ロックランド ロード
 1 4
- (72)発明者 ジョーンズ , スティーブン
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 6 , ハイド パーク , サマー ストリート 6
 8
- (72)発明者 バーン , ランダル
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 7 7 8 , ウェイランド , ペムバートン ロード 7
- (72)発明者 アスマル , モハメド
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 6 0 , ニュートン , フェア オークス アベニュー
 6 9
- (72)発明者 ロバートソン , サラ マリー
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 5 , サマビル , バーノン ストリート 5 5 ,
 ナンバー 3
- (72)発明者 ツアイ , ワンジュン
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 3 , サマビル , サマー ストリート 2 0 5 ,
 アpartment 3

審査官 早乙女 智美

(56)参考文献 特表2012-530713(JP, A)

国際公開第2012/083122(WO, A1)

厚生省医薬安全局審査管理課長, 医薬品の残留溶媒ガイドラインについて, 医薬審, 1998年, 第307号, pp. 1-11

CAIRA M R, CRYSTALLINE POLYMORPHISM OF ORGANIC COMPOUNDS, TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, ドイツ, SPRINGER, 1998年 1月 1日, VOL:198, PAGE(S):163 - 208, URL, http://dx.doi.org/10.1007/3-540-69178-2_5

GOULD P L, SALT SELECTION FOR BASIC DRUGS, INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, NL, ELSEVIER BV, 1986年 1月 1日, V33 N1/03, P201-217

STEPHEN M BERGE; LYLE D BIGHLEY; DONALD C MONKHOUSE, PHARMACEUTICAL SALTS, JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, 米国, AMERICAN PHARMACEUTICAL ASSOCIATION, 1977年 1月, VOL:66, NR:1, PAGE(S):1 - 19, URL, <http://dx.doi.org/10.1002/jps.2600660104>

BYRN S, PHARMACEUTICAL SOLIDS: A STRATEGIC APPROACH TO REGULATORY CONSIDERATIONS, PHARMACEUTICAL RESEARCH, 米国, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, 1995年 7月 1日, V12 N7, P945-954

山野光久, 医薬品のプロセス研究における結晶多形現象への取り組み, 有機合成化学協会誌, 2007年, 65(9), pp. 907-913

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D

A61K

Caplus/REGISTRY(STN)