

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6360555号  
(P6360555)

(45) 発行日 平成30年7月18日 (2018. 7. 18)

(24) 登録日 平成30年6月29日 (2018. 6. 29)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 C 311/20 (2006. 01)

C O 7 C 311/20 C S P

A 6 1 K 31/277 (2006. 01)

A 6 1 K 31/277

A 6 1 K 31/18 (2006. 01)

A 6 1 K 31/18

C O 7 D 213/61 (2006. 01)

C O 7 D 213/61

A 6 1 K 31/4418 (2006. 01)

A 6 1 K 31/4418

請求項の数 44 (全 102 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-522860 (P2016-522860)  
 (86) (22) 出願日 平成26年6月24日 (2014. 6. 24)  
 (65) 公表番号 特表2016-529218 (P2016-529218A)  
 (43) 公表日 平成28年9月23日 (2016. 9. 23)  
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2014/051921  
 (87) 国際公開番号 W02014/207445  
 (87) 国際公開日 平成26年12月31日 (2014. 12. 31)  
 審査請求日 平成29年6月2日 (2017. 6. 2)  
 (31) 優先権主張番号 1311361.8  
 (32) 優先日 平成25年6月26日 (2013. 6. 26)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(73) 特許権者 511070019  
 ビムコ 2664 リミテッド  
 イギリス国 イーシー4エヌ 8エーエフ  
 , ロンドン, ウォールブルック 25, ザ  
 ウォールブルック ビルディング  
 (74) 代理人 100091096  
 弁理士 平木 祐輔  
 (74) 代理人 100118773  
 弁理士 藤田 節  
 (74) 代理人 100122389  
 弁理士 新井 栄一  
 (74) 代理人 100111741  
 弁理士 田中 夏夫  
 (74) 代理人 100169971  
 弁理士 菊田 尚子

最終頁に続く

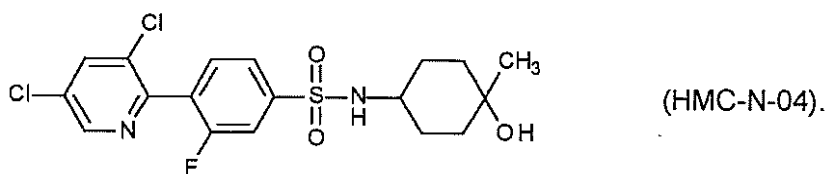
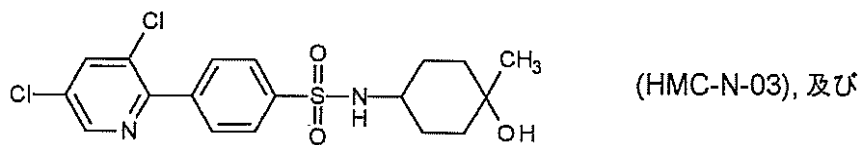
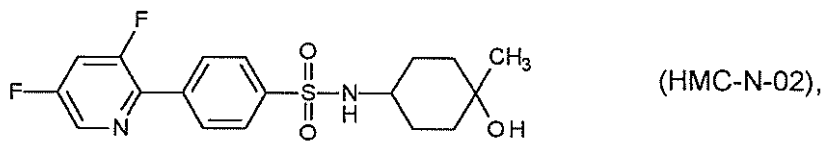
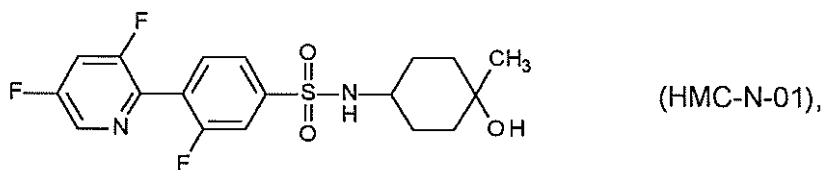
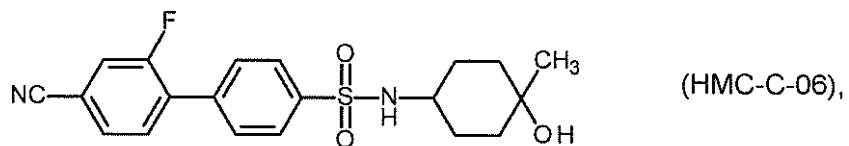
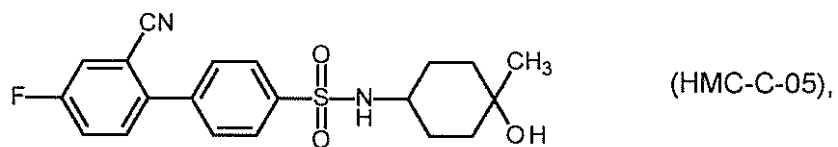
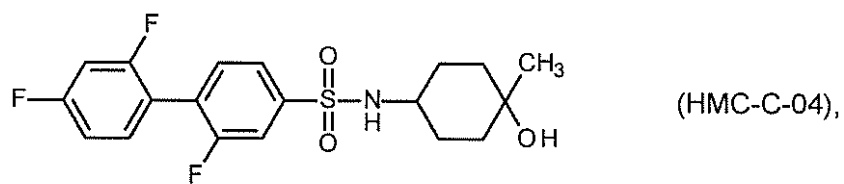
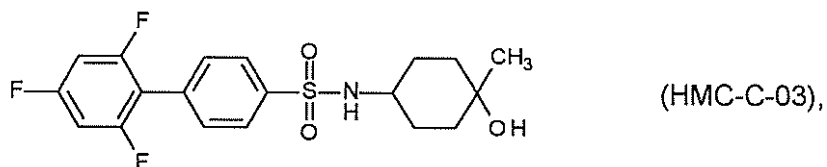
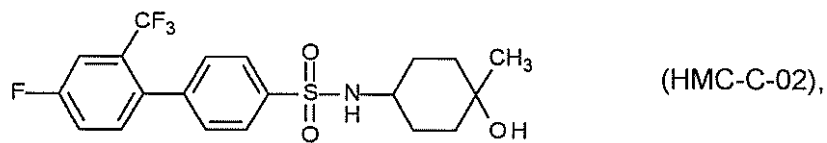
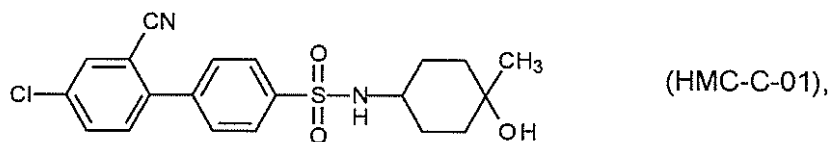
(54) 【発明の名称】 N - (4 - ヒドロキシ - 4 - メチル - シクロヘキシル) - 4 - フェニル - ベンゼンスルホンアミ  
 ド及び N - (4 - ヒドロキシ - 4 - メチル - シクロヘキシル) - 4 - (2 - ピリジル) ベンゼン

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の式の化合物から選択される化合物

## 【化 1】



10

20

30

40

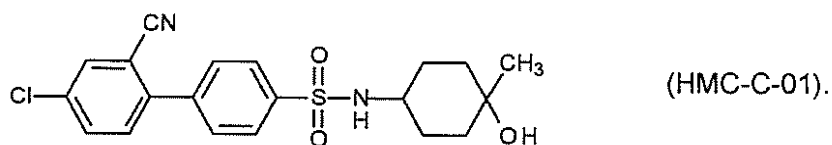
50

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項2】

以下の式の化合物である請求項1に記載の化合物

【化2】



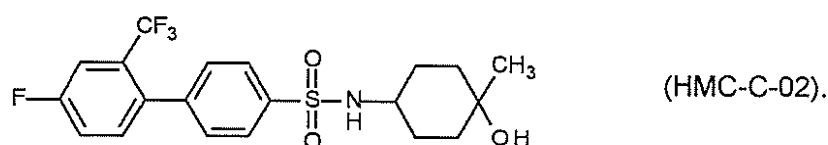
10

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項3】

以下の式の化合物である請求項1に記載の化合物

【化3】



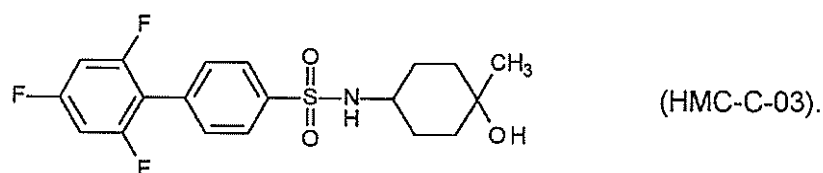
20

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項4】

以下の式の化合物である請求項1に記載の化合物

【化4】



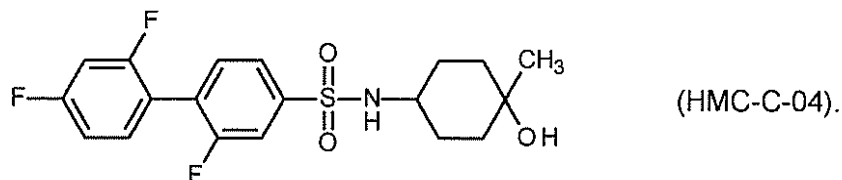
30

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項5】

以下の式の化合物である請求項1に記載の化合物

【化5】



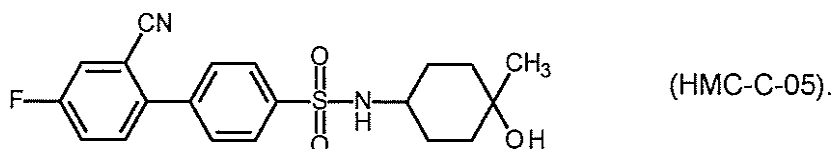
40

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項6】

以下の式の化合物である請求項1に記載の化合物

【化6】



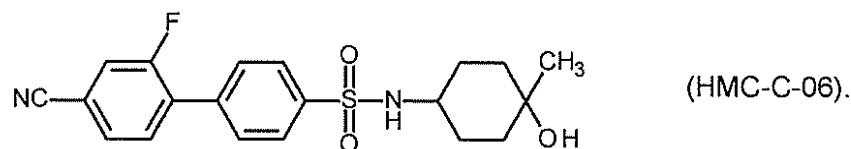
50

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 7】

以下の式の化合物である請求項1に記載の化合物

【化 7】



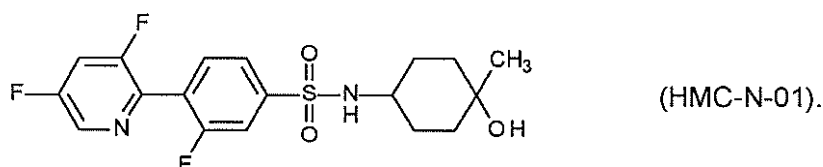
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

10

【請求項 8】

以下の式の化合物である請求項1に記載の化合物

【化 8】



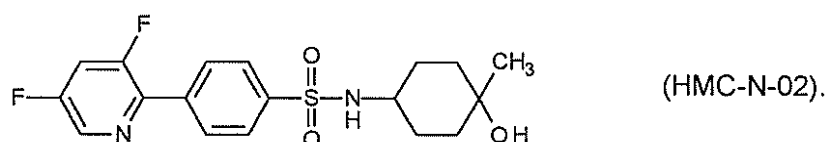
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

20

【請求項 9】

以下の式の化合物である請求項1に記載の化合物

【化 9】



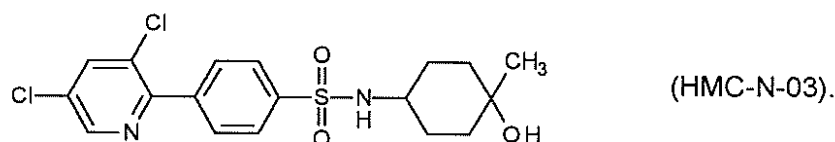
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

30

【請求項 10】

以下の式の化合物である請求項1に記載の化合物

【化 10】



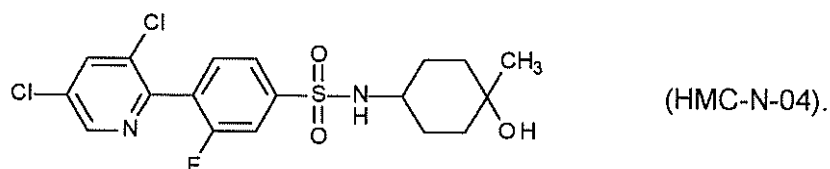
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

40

【請求項 11】

以下の式の化合物である請求項1に記載の化合物

【化 11】

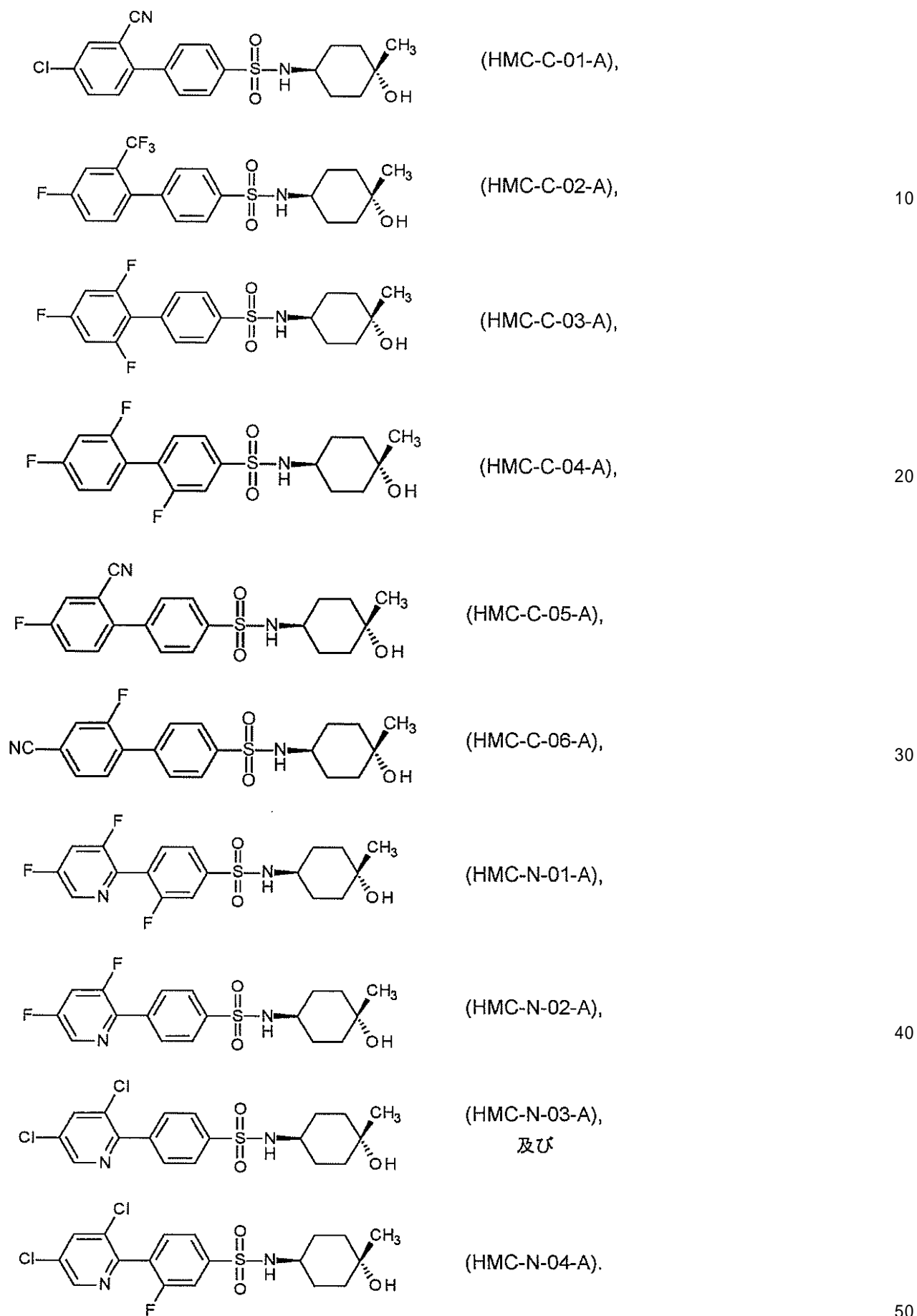


又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

50

【請求項 12】

以下の式の化合物から選択される化合物である、請求項1に記載の化合物  
【化12】

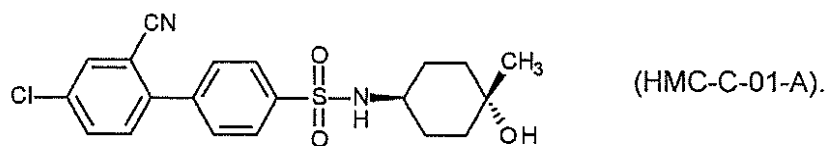


又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 13】

以下の式の化合物である、請求項12に記載の化合物

【化 13】



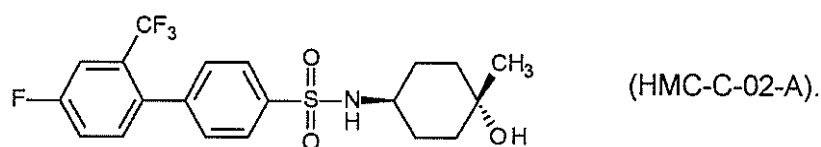
10

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 14】

以下の式の化合物である、請求項12に記載の化合物

【化 14】



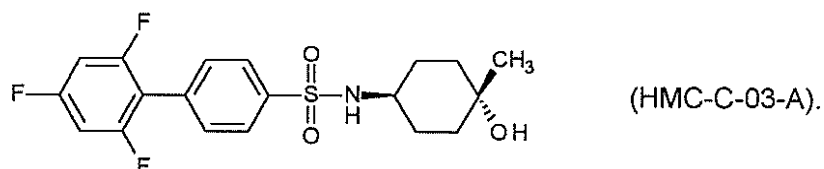
20

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 15】

以下の式の化合物である、請求項12に記載の化合物

【化 15】



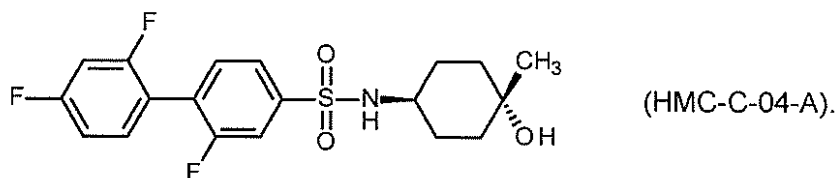
30

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 16】

以下の式の化合物である、請求項12に記載の化合物

【化 16】



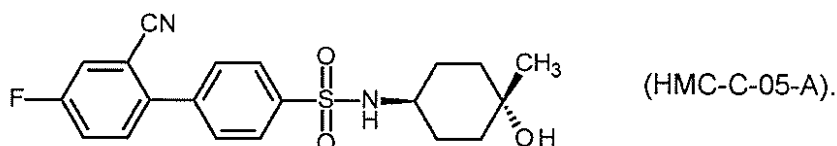
40

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 17】

以下の式の化合物である、請求項12に記載の化合物

【化 17】



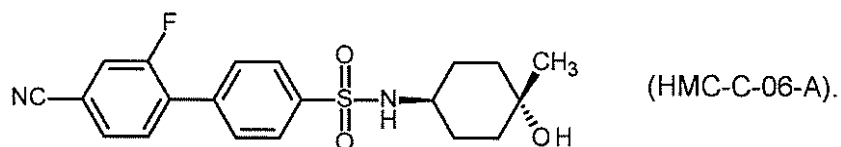
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

50

## 【請求項 18】

以下の式の化合物である、請求項12に記載の化合物

## 【化 18】



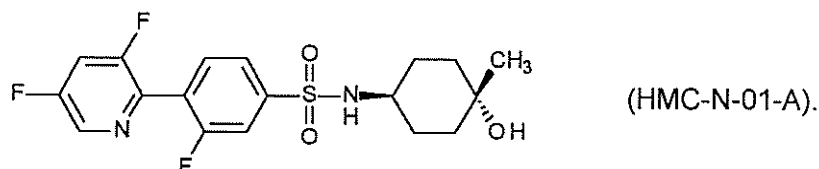
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

## 【請求項 19】

10

以下の式の化合物である、請求項12に記載の化合物

## 【化 19】



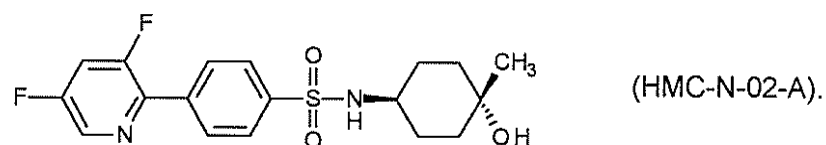
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

## 【請求項 20】

20

以下の式の化合物である、請求項12に記載の化合物

## 【化 20】



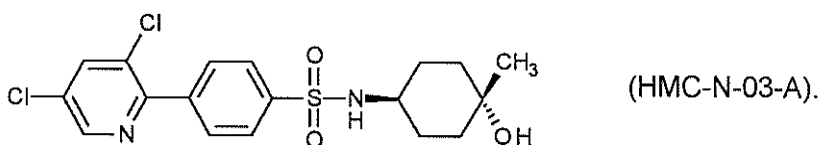
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

## 【請求項 21】

30

以下の式の化合物である、請求項12に記載の化合物

## 【化 21】



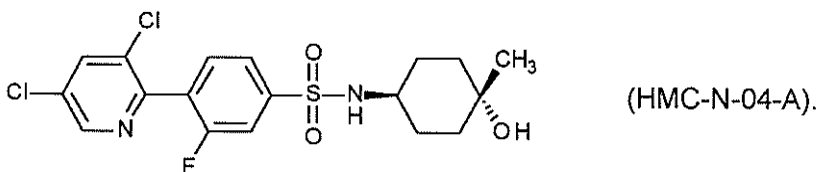
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

## 【請求項 22】

以下の式の化合物である、請求項12に記載の化合物

## 【化 22】

40

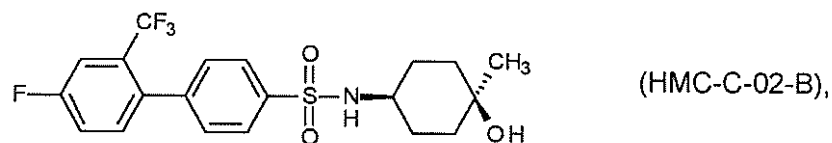
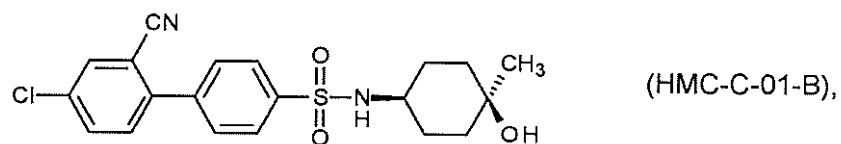


又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

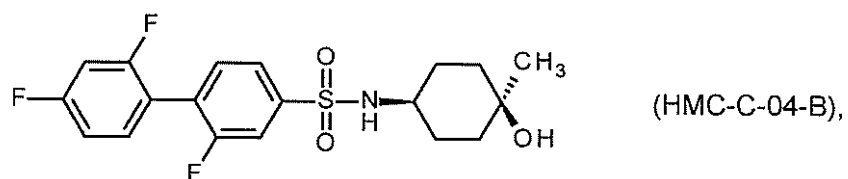
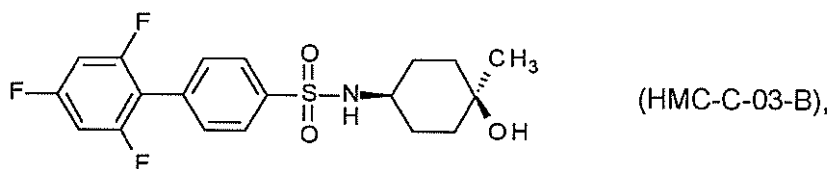
## 【請求項 23】

以下の式の化合物から選択される化合物である、請求項1に記載の化合物

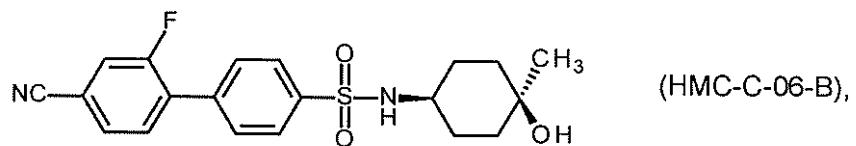
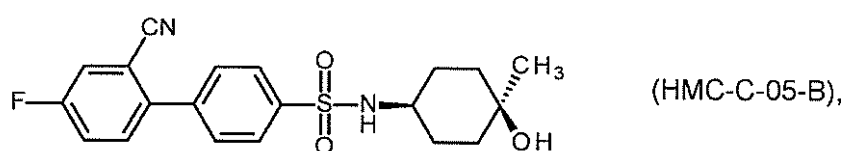
## 【化 2 3】



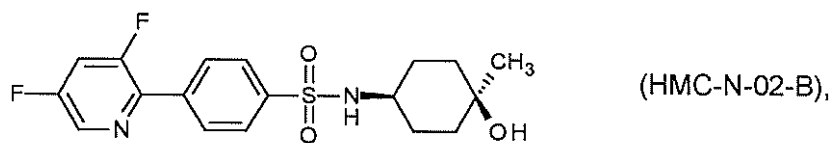
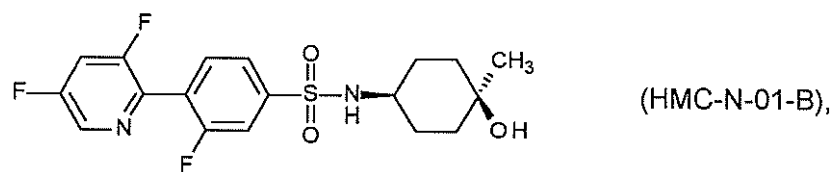
10



20

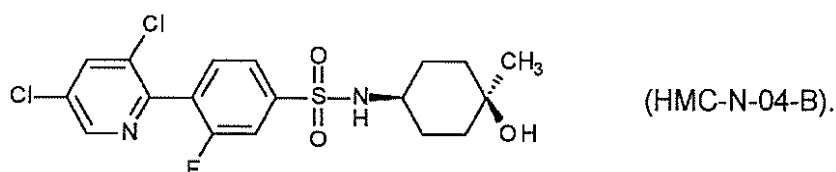
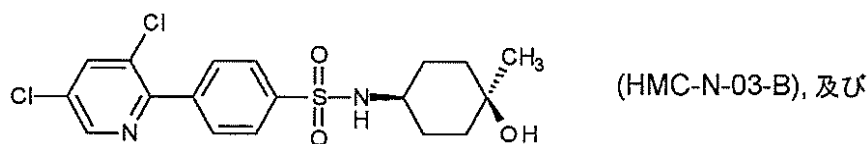


30



40





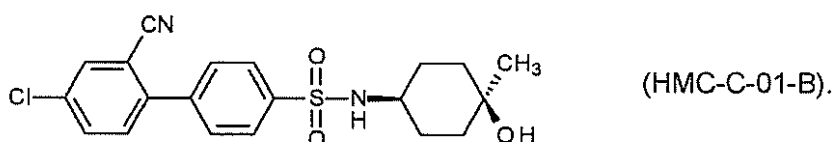
10

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 2 4】

以下の式の化合物である請求項23に記載の化合物

【化 2 4】



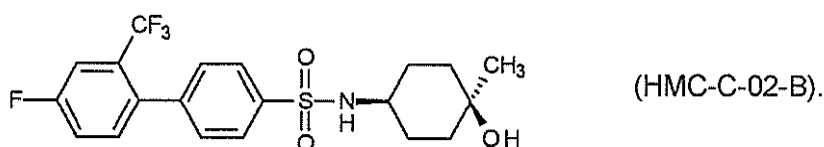
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

20

【請求項 2 5】

以下の式の化合物である請求項23に記載の化合物

【化 2 5】



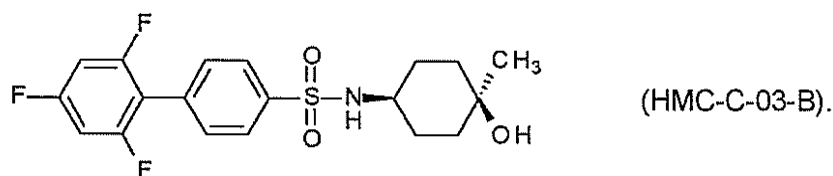
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

30

【請求項 2 6】

以下の式の化合物である請求項23に記載の化合物

【化 2 6】



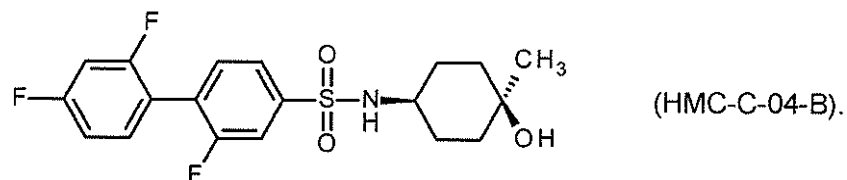
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

40

【請求項 2 7】

以下の式の化合物である請求項23に記載の化合物

【化 2 7】



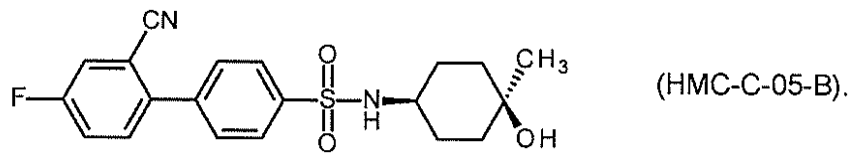
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 2 8】

50

以下の式の化合物である請求項23に記載の化合物

【化 2 8】



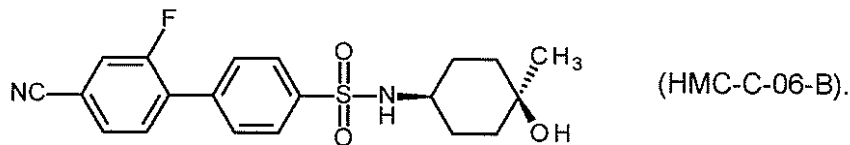
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 2 9】

10

以下の式の化合物である請求項23に記載の化合物

【化 2 9】



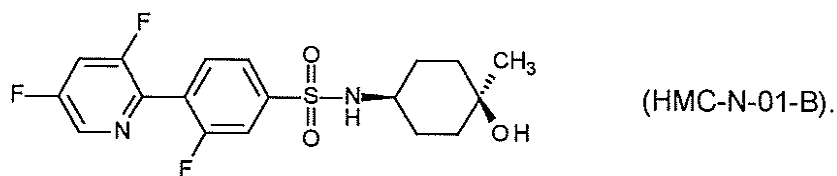
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 3 0】

20

以下の式の化合物である請求項23に記載の化合物

【化 3 0】



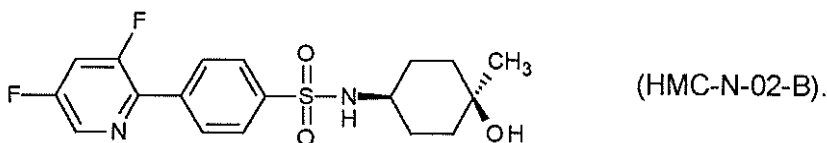
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 3 1】

以下の式の化合物である請求項23に記載の化合物

【化 3 1】

30



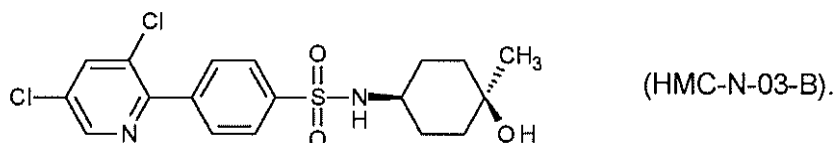
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 3 2】

以下の式の化合物である請求項23に記載の化合物

【化 3 2】

40

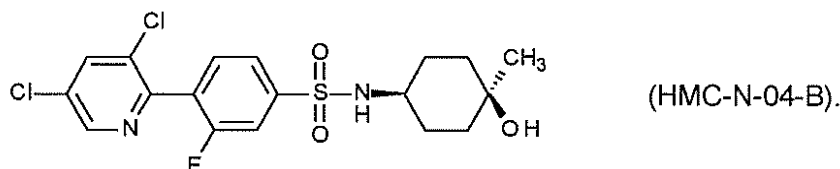


又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項 3 3】

以下の式の化合物である請求項23に記載の化合物

## 【化 3 3】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

## 【請求項 3 4】

請求項1から33のいずれか一項に記載の化合物、及び薬学的に許容される担体又は希釈剤を含む、医薬組成物。

10

## 【請求項 3 5】

請求項1から33のいずれか一項に記載の化合物と薬学的に許容される担体又は希釈剤とを混合するステップを含む、医薬組成物の調製方法。

## 【請求項 3 6】

治療によるヒト又は動物の生体の処置方法における使用のための、請求項34に記載の医薬組成物。

## 【請求項 3 7】

関節リウマチ；乾癬；乾癬性関節炎；慢性閉塞性肺疾患；喘息；アテローム性動脈硬化；炎症性腸疾患；強直性脊椎炎、

20

多発性硬化症；全身性エリテマトーデス；シェーグレン症候群；

骨量減少を伴う障害；関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患、又はパジェット病に関連する骨量減少；

がん；血液悪性腫瘍；多発性骨髄腫；白血病；リンパ腫；固形腫瘍がん；膀胱がん；乳がん；結腸がん；腎細胞癌；腎臓がん；肺がん；膵臓がん；胃がん；前立腺がん；脳がん；皮膚がん；甲状腺がん；基底細胞エナメル上皮腫；黒色腫；

線維症を伴う障害；全身性硬化症；強皮症；

又はベーチェット病

の処置方法において使用するための、請求項34に記載の医薬組成物。

## 【請求項 3 8】

30

関節リウマチ；乾癬；乾癬性関節炎；慢性閉塞性肺疾患；喘息；アテローム性動脈硬化；炎症性腸疾患；又は強直性脊椎炎

の処置方法において使用するための、請求項34に記載の医薬組成物。

## 【請求項 3 9】

多発性硬化症；全身性エリテマトーデス；又はシェーグレン症候群の処置方法において使用するための、請求項34に記載の医薬組成物。

## 【請求項 4 0】

骨量減少を伴う障害；関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患、又はパジェット病に関連する骨量減少

の処置方法において使用するための、請求項34に記載の医薬組成物。

40

## 【請求項 4 1】

がん；血液悪性腫瘍；多発性骨髄腫；白血病；リンパ腫；固形腫瘍がん；膀胱がん；乳がん；結腸がん；腎細胞癌；腎臓がん；肺がん；膵臓がん；胃がん；前立腺がん；脳がん；皮膚がん；甲状腺がん；基底細胞エナメル上皮腫；又は黒色腫

の処置方法において使用するための、請求項34に記載の医薬組成物。

## 【請求項 4 2】

線維症を伴う障害；全身性硬化症；又は強皮症

の処置方法において使用するための、請求項34に記載の医薬組成物。

## 【請求項 4 3】

ベーチェット病の処置方法において使用するための、請求項34に記載の医薬組成物。

50

## 【請求項 4 4】

関節リウマチ；乾癬；乾癬性関節炎；慢性閉塞性肺疾患；喘息；アテローム性動脈硬化；炎症性腸疾患；強直性脊椎炎；

多発性硬化症；全身性エリテマトーデス；シェーグレン症候群；

骨量減少を伴う障害；関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患、又はパジェット病に関連する骨量減少、

がん；血液悪性腫瘍；多発性骨髄腫；白血病；リンパ腫；固形腫瘍がん；膀胱がん；乳がん；結腸がん；腎細胞癌；腎臓がん；肺がん；膵臓がん；胃がん；前立腺がん；脳がん；皮膚がん；甲状腺がん；基底細胞エナメル上皮腫；黒色腫；

線維症を伴う障害；全身性硬化症；強皮症；

又はベーチェット病

の処置のための医薬の製造における、請求項1～33のいずれか一項に記載の化合物の使用

10

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

関連出願

本出願は、その内容の全体が参照により本明細書に組み込まれている、2013年6月26日出願の英国特許出願第1311361.8号に関する。

## 【0002】

本発明は、一般に、治療用化合物の分野に関する。より詳細には、例えば、炎症及び/若しくは関節破壊及び/若しくは骨量減少を含む障害(例えば、疾患)、免疫系の過剰及び/若しくは不適切及び/若しくは長期活性化により媒介される障害、炎症及び自己免疫性障害(例えば、関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、喘息、アテローム性動脈硬化、炎症性腸疾患、強直性脊椎炎、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、シェーグレン症候群)、関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患若しくはパジェット病における破骨細胞過剰活性に伴う骨量減少などの骨量減少を伴う障害、多発性骨髄腫、白血病若しくはリンパ腫などの血液悪性腫瘍、又は膀胱がん、乳がん(女性及び/又は男性)、結腸がん、腎細胞癌、腎臓がん、肺がん、膵臓がん、胃がん、前立腺がん、脳がん、皮膚がん、甲状腺がん、基底細胞エナメル上皮腫若しくは黒色腫などの固形腫瘍がんなどのがん、全身性硬化症若しくは強皮症などの線維症を伴う障害、或いはベーチェット病などの希な血管炎の処置に有用な、ある種の置換N-(4-ヒドロキシ-4-メチル-シクロヘキシル)-4-フェニル-ベンゼンスルホンアミド及びN-(4-ヒドロキシ-4-メチル-シクロヘキシル)-4-(2-ピリジル)ベンゼンスルホンアミド化合物(本明細書では、HMC化合物とまとめて呼ぶ)に関する。本発明はまた、こうした化合物を含む医薬組成物、及び例えば治療におけるこうした化合物及び組成物の使用にも関する。

20

30

## 【背景技術】

## 【0003】

本発明及び本発明に関する最新技術をより完全に記載並びに開示するために、いくつかの刊行物が本明細書において引用されている。これらの刊行物のそれぞれが、それぞれの個々の刊行物が具体的且つ個別に参照により本明細書に組み込まれているものと示されているかのごとく同じ程度に、参照によりその全体が本開示に組み込まれている。

40

## 【0004】

文脈上、必要としない限り、後に続く特許請求の範囲を含む本明細書全体を通して、語「含む(comprise)」並びに「含む(comprises)」及び「含む(comprising)」などの変化形は、明記されている整数若しくは工程、又は整数若しくは工程の群を含むが、他のいかなる整数若しくは工程、又は整数若しくは工程の群を排除するものではないと意味することが理解されよう。

## 【0005】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「1つの(a)」、「

50

1つの(an)」及び「その(the)」は、文脈が特に明白に示さない限り、複数の指示物を含むことに留意しなければならない。したがって、例えば、「医薬品担体」という場合、2種以上のこうした担体の混合物などが含まれる。

【0006】

範囲は、本明細書において、「約(about)」1つの特定値から、及び/又は「約」別の特定値までとして表現されることが多い。こうした範囲が表現される場合、別の実施形態には、1つの特定値から及び/又は他の特定値までが含まれる。同様に、値が前に「約」を用いることにより概数として表現される場合、その特定値が別の実施形態を形成することが理解されよう。

【0007】

本開示は、本発明を理解するのに有用となり得る情報を含む。本明細書において提供されているいずれの情報も先行技術である、若しくはここで特許請求されている発明に関連していること、又は具体的若しくは暗示的に参照されているいずれの刊行物も先行技術であるということを容認するものではない。

【0008】

慢性炎症性疾患

炎症は、身体の損傷による、組織の免疫反応である。急性炎症は、身体的な損傷又は感染の後に、身体を保護して修復する、損傷部位における熱、腫れ及び発赤を特徴とする、正常な防御反応である。しかし、炎症が、長期間、持続する場合、慢性的になる。慢性炎症は、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症及び乾癬を含めた、様々な疾患状態の顕著な特徴及び寄与因子である。

【0009】

炎症の過程は複雑であり、生理的反応を変える分子シグナル及び細胞シグナルの生物学的カスケードを含む。損傷の部位において、細胞は、血管の拡張、血流の増加、血管透過性の向上、白血球(leukocyte)(白血球(white blood cell))による侵入及び免疫グロブリン(抗体)の様なタンパク質を含有する体液の滲出を含めた、患部にいくつかの変化を引き起こす、サイトカイン及びインターロイキンなどの分子シグナルを放出する。顆粒球、単球及びリンパ球を含む、いくつかの異なるタイプの白血球が、炎症カスケードに関与している。しかし、慢性炎症は、主に、単球及び長寿命マクロファージにより媒介される。単球は、一旦、血流を出て組織に入ると、マクロファージへと成熟する。マクロファージは、微生物、外部侵入物及び老化細胞を包み込んで消化し、マクロファージは、炎症反応を永續させる、腫瘍壊死因子-アルファ(TNF)、インターロイキン(例えば、IL-1、IL-6、IL-12及びIL-23)、及びプロスタグランジンを含めた、いくつかの異なる化学的メディエーターを放出する。後期の段階では、リンパ球を含む他の細胞が、罹患組織に侵入する。

【0010】

こうして、広範囲にわたる慢性炎症状態に内在する共通の病理が存在する。さらに、慢性炎症の特徴は、がん、並びに肥満及び糖尿病などの代謝性疾患を含む、他の疾患にも観察される。

【0011】

最も一般的な慢性炎症状態の1つは、関節リウマチ(RA)であり、世界の人口の最大2%がその状態に罹患している。関節リウマチは複雑な疾患であるが、自己免疫性(例えば、多発性硬化症)、炎症(例えば、アテローム性動脈硬化及びがん)、骨量減少(例えば、骨粗鬆症)及び増殖(例えば、血液悪性腫瘍)という構成要素を伴うものを含めた、他の様々な疾患に共通する、RAの進行に関連したいくつかの生理的、細胞上の及び生化学的要因が存在している。このことは、一層範囲の広い疾患の研究にとって、RAの理解が重要になるばかりではなく、これらの共通する過程を改変することによって働く医薬剤は、RAを超えて有用性を有し得ることも示唆している。後者は、RAの薬物が他の様々な状態全体に幅広い有用性を示す臨床診療により生じる。

【0012】

関節リウマチ及び関連する自己免疫/炎症性疾患

関節リウマチ(RA)は、進行性関節劣化に関係している多関節の滑膜表層(synovial lining)の慢性炎症を特徴とする、自己免疫性障害である。RAは、手首及び手の関節を一般に冒し、肘、肩、臀部、首及び膝を冒して、深刻な疼痛及び身体的障害に至ることもある(例えば、Scottら、2010年を参照されたい)。世界保健機構は、2370万の人々がRAに罹患しており、状態と加齢との間の関連性により、発生率は増加すると予測している。

#### 【0013】

すべての自己免疫性障害に関すると、RAの正確な原因は依然として不明であるが、考えられる引き金には、自己免疫寛容の低下、環境因子に対する異常反応、感染性物質、及びホルモンの刺激が含まれる(例えば、Klareskogら、2006年、Firesteinら、2005年を参照されたい)。

#### 【0014】

細胞レベルでは、RAの発症は通常、罹患している関節を内張りする滑膜にT細胞が浸潤することにより始まる。次いで、これにより細胞-細胞接触、並びに腫瘍破壊因子-アルファ(TNF)及び炎症誘発性インターロイキン(IL-1、IL-6、IL-12及びIL-23など)を含めた、その後の様々なサイトカインの放出によって、単球、マクロファージ及び滑膜線維芽細胞が活性化される(例えば、Astryら、2011年を参照されたい)。次に、これらの炎症誘発性サイトカインは、炎症反応を拡大し、やはり組織破壊を促進する様々な産物をコードする遺伝子の誘発に至らしめる、NF- $\kappa$ B、インターフェロン調節因子(IRF)、Toll様受容体(TLR)及びJak/STAT経路を含めた、いくつかの複雑なシグナル伝達カスケードを統合する際の手段(例えば、Malemudら、2010年を参照されたい)である。これらの産物には、コラゲナーゼ、マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)、カテプシン、並びにセレクチン、インテグリン、ロイコトリエン、プロスタグランジン、ケモカイン及び他のサイトカインなどの他の炎症誘発性因子などの組織分解性酵素が含まれる(例えば、McInnesら、2007年、Smolenら、2003年を参照されたい)。さらに、これらの細胞はまた、MMPの産生を高め、破骨細胞として知られている特化した細胞クラス及び核内因子カッパー-Bリガンドの受容体アクチベーター(RANKL)として知られている因子も関与する過程である、細胞外マトリックスの分解及び関節内部の軟骨の減少(例えば、Sun、2010年を参照されたい)に至る(例えば、Takayanagi、2009年を参照されたい)。

#### 【0015】

RANKLは破骨細胞の発生に必須の因子であり、RANKL産生の上方調節は、破骨細胞の分化、及び究極的な骨破壊の増加をもたらす(例えば、Longら、2012年を参照されたい)。RAにおける炎症反応により、リンパ球、樹状細胞及びマクロファージが蓄積し、これらはすべて、骨破壊に対するRANKLの作用をさらに賦活化する、TNF- $\alpha$ 及びIL-6などのサイトカイン及び他の炎症誘発性メディエーターを産生するよう局所的に働く。さらに、この炎症カスケードは、滑膜細胞の過形成をもたらす(例えば、Takayanagi、2009年を参照されたい)、ひいては、滑膜の肥厚、及びパンヌスとして知られる破壊的及び攻撃的組織中に滑膜の血管新生をもたらす。このパンヌスは骨を破壊する破骨細胞と軟骨の破壊に関与するメタロプロテイナーゼの両方を含む。こうして、RANKL軸は、RAの進行及び病理、並びに以下に記載されている様々な疾患状態のいくつかの病理に中心的な骨免疫系(免疫系と骨系との間の相互作用)に重要なものである。

#### 【0016】

RAにおけるTNF- $\alpha$ の役割

受容体とリガンドのTNFスーパーファミリーは、炎症並びに関連する局所性及び全身性骨量減少の因果関係に重要な役割を果たしている。TNF- $\alpha$ は、マクロファージ機能の多くの面を調節する、強力な炎症誘発性作用体である。TNF- $\alpha$ は、外傷、感染症、又は細菌誘発性LPSに曝露した後に、迅速に放出され、炎症組織における最も豊富に存在する初期メディエーターの1つであることが示されている。その様々な機能の中で、炎症誘発性サイトカインカスケードの産生を統合するのが、その中心的な役割である。炎症誘発性サイトカインの他に、TNF- $\alpha$ はまた、プロスタグランジンなどの脂質シグナル伝達メディエーターも増加させる。これらの役割に基づくと、TNF- $\alpha$ は、炎症細胞の活性化及び動員におい

10

20

30

40

50

て中心的なプレーヤーと提唱されており、関節リウマチを含む多くの慢性炎症性疾患の発症に重要な役割を果たすことが示唆されている(例えば、Liu、2005年、Feldmannら、2001年、Brennanら、1996年、Brennanら、1992年を参照されたい)。RAにおけるTNF の重要性は、TNF を阻止する抗体がRAの動物モデルにおいて炎症を予防することができるという知見により焦点があてられており、抗TNF 療法は現在のところ最も有効なRAに対する処置である(例えば、Pisetsky、2012年及び以下で提示されているさらなる詳細を参照されたい)。

#### 【 0 0 1 7 】

TNF はそれ自体、転写因子NF B及びAP-1を活性化し、シグナル伝達カスケードを引き起こす(例えば、Parameswaranら、2010年を参照されたい)。TNF 及びIL-1とそれぞれの受容体との結合はTRAFと呼ばれる下流シグナルトランスデューサーを動員する。さらなるキナーゼがTRAFにより動員され、その結果生じるキナーゼ複合体は、MAP-キナーゼ経路を活性化し、最終的にAP-1の活性化及びI Bキナーゼのリン酸化をもたらす。I BはNF Bの阻害物質であり、これは、NF Bが核に転座することを阻止することにより働く。I BキナーゼによるI Bのリン酸化は、I Bの分解をもたらす。I Bが分解されてしまうと、NF Bは核に移行し、ここで抗アポトーシス遺伝子の転写を促進し、T細胞及びB細胞の生存を促進し、それによって免疫反応を引き延ばす。この炎症反応の引き延ばしが、RAの慢性的特質の中心である。NF B活性化の重要性は、阻害性ペプチドによるNF B活性の阻害によって、RAの動物モデルにおける関節炎を予防することができるという事実によって実証されている(例えば、Jimiら、2004年を参照されたい)。

#### 【 0 0 1 8 】

関節リウマチにおける他の重要因子

上記の通り、TNF 及びNF Bの他にいくつかの因子が、RAにおける炎症、及び他の慢性炎症性疾患を促進するよう作用している。これらの中には、IL-6及びインターフェロン調節因子(IRF)がある。

#### 【 0 0 1 9 】

インターロイキン-6(IL-6)は、そのレベルが、RAにおける炎症中の様々な免疫系細胞、主にはマクロファージ及びT細胞が活性化する際に増加する、炎症誘発性サイトカインである。IL-6は、急性期の反応におけるその重要な役割により、疾患において多面的な作用を有しており、急性炎症から慢性炎症への移行を支配することに深く関与している。IL-6は、炎症空間における白血球の浸潤液の組成を改変することにより上記の支配を行い、浸潤液を好中球から単球/マクロファージに移動させる(例えば、Gabay、2006年を参照されたい)。さらに、IL-6は、T細胞及びB細胞に対する刺激作用(こうして慢性炎症反応に好都合となる)及び破骨細胞に対する刺激作用を発揮し、こうして骨の代謝回転を促進する。これらの作用は、全身性エリテマトーデス、アテローム性動脈硬化、乾癬、乾癬性関節炎、喘息、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、シェーグレン症候群、アテローム性動脈硬化、及び炎症性腸疾患を含めたRAを超える広範囲の自己免疫/炎症性疾患の病理、並びに多発性骨髄腫及び前立腺がんなどのがんに関与している。さらに、IL-6は、骨量減少(例えば、骨粗鬆症)、線維症により媒介される疾患(例えば、全身性硬化症)、糖尿病、移植拒絶、様々ながん(例えば、多発性骨髄腫、リンパ腫、前立腺がんを含む)、神経変性疾患(例えば、アルツハイマー)、神経障害(例えば、うつ病)、及びある種の希な脈管炎(例えば、ベーチェット病)を含む疾患に関与している。総合的な総説は、例えば、Rincon、2012年を参照されたい。

#### 【 0 0 2 0 】

インターフェロン調節因子(IRF)は、健康及び疾患における細胞応答の転写調節における多様な機能を有する、転写因子のファミリーからなる。IRFは、一般に、N末端におけるDNA結合ドメインを含有しており、大部分のメンバーも、タンパク質-タンパク質相互作用を媒介するC末端IRF関連ドメインを含有する。10種のIRF及び様々なウイルスがコードするIRFホモログが、哺乳動物において特定された。IRFは、免疫反応の間の内因性及び細菌性刺激に反応して活性化され、様々な炎症過程に関与する重要なサイトカイン及び転写因

子の発現を選択的且つ協調的にモジュレートする。例えば、細菌性リポ多糖類に対する受容体TLR-4の刺激性は、NF BとIRF-5の両方を活性化するシグナル伝達カスケードを活性化する一方、IRF-7は、IL-6によりやはり活性化されるが、独立して活性化される転写因子のSTATファミリーを含む過程により活性化される。

#### 【 0 0 2 1 】

IRFの活性化は、マクロファージの運命決定(例えば、Krausgruberら、2011年を参照されたい)、ヘルパーT細胞の分化(例えば、Zhangら、2012年を参照されたい)、及びB細胞増殖(例えば、Minaminoら、2012年を参照されたい)を含め、いくつかの下流効果をもたらす。疾患におけるこれらの多様な役割は、例えば、炎症刺激に反応するIL-6及びTNF レベルの低下を示す、ノックアウト動物モデルからのデータにより明確に示されている(例えば、Takaokaら、2005年を参照されたい)。

10

#### 【 0 0 2 2 】

上記のIRFの生物的作用の他に、IRFファミリーメンバーのいくつかは、炎症状態を罹患しやすい性質と遺伝的に関連している。例えば、IRF-3及びIRF-7における多型は、全身性エリテマトーデスの感受性に関連している(例えば、Akahoshiら、2008年、Fuら、2011年を参照されたい)。さらに、マクロファージの運命を制御するIRF-5は、RA、全身性エリテマトーデス、ヴェゲナー肉芽腫症、シェーグレン症候群、及び全身性硬化症に関連している(例えば、Sharifら、2012年、Huら、2011年を参照されたい)。

#### 【 0 0 2 3 】

関節リウマチの処置

20

RAに対する初期治療は、疾患の進行を遅らせるよりもむしろ、主に炎症の軽減によって疾患の症状を制御することに重点が置かれた。これらの薬物には、アスピリン、ジクロフェナク及びナプロキセンなどのNSAIDが含まれた。炎症はさらに、グルココルチコイドによって制御され、それらのNSAIDとの組合せにより、合理的に有効な炎症の短期的制御が実現された。さらに最近、RAを処置するもっと積極的な手法が導入されており、この手法は疾患の発生時に開始し、疾患の進行を減速するよう作用する、又は予防さえするよう作用する、いわゆる疾患修飾性抗リウマチ薬(DMARD)を使用する。これらには、金塩、スルファサラジン、ヒドロキシクロロキンなどの抗マラリア薬、D-ペニシラミン、ミコフェノール酸、アザチオプリン、シクロスポリンA、タクロリムス及びシロリムスなどの免疫抑制剤、ミノサイクリン、レフルノミド、並びに最も重要なものとしてメトトレキセートを含む、より古い薬物がいくつか含まれている(例えば、Smolenら、2003年を参照されたい)。

30

#### 【 0 0 2 4 】

メトトレキセートは現在、臨床試験の比較用の黄金の標準療法であり、一般により新しい療法と組み合わせて用いられている。この療法はほとんどの患者に有効であるが、前記薬剤のすべてに共通して、相当な胃腸の副作用を有しており、患者のほぼ50%は最終的に処置を止めなければならなくなる(例えば、Mountら、2005年を参照されたい)。これらのより古いDMARDのさらなる欠点は、薬物の作用が始まるまでにかかる時間が長く、メトトレキセートを用了場合に数週間から金塩を用了場合に数カ月及び。患者の約4分の1しか完全な寛解が起こらない一方、効果を示さない患者の場合、一般に、一層激しい疾患の跳ね返り現象のリスクを被ることなく、治療を止めることができない(例えば、Smolenら、2003年を参照されたい)。

40

#### 【 0 0 2 5 】

最近、RAの処置は特異的な炎症経路を標的とする生物学的薬剤の出現によって革命が起こった。トシリズマブ(Actemra(登録商標))及びアナキンラ(Kineret(登録商標))などの抗IL-6及びIL-1の生物学的薬剤(biologic)を含む、いくつかの生物学的薬剤が、最近、RAにおける使用の承認を受けた(例えば、Scottら、2010年を参照されたい)。しかし、生物学的薬剤の第1及び最も重要なものは、抗腫瘍壊死因子(抗TNF)療法である。

#### 【 0 0 2 6 】

抗TNF 療法は、市場で主流のRAの処置である。インフリキシマブ(Remicade(登録商標))

50



、J&J及びSchering Plough)及びアダリムバム(Humira(登録商標)、Abbott)などの中和抗体、又はエタネルセプト(Enbrel(登録商標)、Amgen及びWyeth)などのデコイ受容体を含む、様々な抗TNF 剤が利用可能であり、これらのどちらも、RA、並びにクローン病及び乾癬などの他の疾患について検証を受け、且つかなり効果的な処置を示す。いくつかの他の炎症及び自己免疫性障害もまた、潜在的な標的として、検討がなされている。TNF の作用を阻止するための別の手法は、ペグ化した抗TNF フラグメントであるセルトリズマブ(Cimzia(登録商標)、UCB)を含む。これらの治療法はすべて、最終的に、NF Bを含む、上記のTNF の下流エフェクターの活性化を阻止するように作用する。しかし、それらの市場における成功があるにもかかわらず、抗TNF 療法は、リンパ腫などのある種の悪性腫瘍、並びにレジオネラ及びリステリアなどの重症な感染、並びに心不全、B型肝炎の再活性化及び脱髄疾患のリスク増加を含む、いくつかの副作用がある。

10

#### 【 0 0 2 7 】

最後に、ごく最近に、JAKキナーゼ阻害剤である、トファシチニブ(Xeljanz(登録商標)、Pfizer)が、様々なRA処置を補足している。しかし、トファシチニブは、重症な感染症のリスク増加、並びに胃腸の穿孔、肝臓損傷及びある種のがんのリスク増加を含めた、いくつかの安全面での懸念があり、男性において使用が制限される可能性がある(例えば、O'Sheaら、2013年を参照されたい)。

#### 【 0 0 2 8 】

したがって、RA及び他の炎症性疾患に対する、安全性の改善に特に重点をおいた新規の改善された治療法が依然として必要とされている。

20

#### 【 0 0 2 9 】

骨免疫系及び骨障害

骨免疫系は、免疫系と骨格系との間の相互作用の組合せ及び関連性に関する用語である。

#### 【 0 0 3 0 】

正常な生理的条件下では、骨格系は、生存臓器に対する支援、運動性、保護、並びにカルシウム及びリン酸塩の無機物レザーバーを供給する。これらの機能を実現して適合するために、骨格は、持続性の破骨細胞媒介性骨吸収、及び骨芽細胞媒介性骨沈着を特徴とする、速度平衡で存在している(例えば、Karsentyら、2002年を参照されたい)。この生物的過程は骨の「リモデリング」と呼ばれ、上記のRANKL、及び破骨細胞分化因子が骨を分解するにつれて造骨メディエーターを産生することによる破骨細胞推進性骨形成を含む、重要な破骨細胞分化因子を産生する骨芽細胞と連携して起こる。

30

#### 【 0 0 3 1 】

生得免疫細胞と適応性免疫細胞の両方が、様々な細胞表面及び分泌されたメディエーターにより、破骨細胞及び骨芽細胞に対する作用を発揮する(例えば、Takayanagi、2009年を参照されたい)。破骨細胞前駆体に対するRANKL受容体(RANK)の活性化は、転写変化のカスケードを開始し、この変化は、破骨細胞の形成、並びに骨への結合、酸分泌及びタンパク質分解に必要な分子を含む骨吸収にとって必要な機構の発現をもたらす。破骨細胞分化にとって重要な転写因子の多くは、NF B及び活性化T細胞c1の核内因子(NFATc1)などの、免疫反応の鍵となる調節因子であり、この過程はまた、TNF 及びIL-6など、炎症に関与する因子によっても賦活化される。

40

#### 【 0 0 3 2 】

骨免疫系は、RAの進行及び病因におけるその重要な役割の他に、骨粗鬆症及び他の骨障害及びがんを含む、いくつかの他の疾患において重要な役割を果たしている(例えば、Dallasら、2011年を参照されたい)。

#### 【 0 0 3 3 】

骨粗鬆症は、骨密度の低下、骨組織の悪化、及び骨折リスクの増加を特徴とする一般的な疾患である。多数の因子が骨粗鬆症の病因に寄与しており、それには、貧しい食事、運動不足、喫煙及び過剰のアルコール摂取が含まれる。骨粗鬆症はまた、関節リウマチ、甲状腺中毒症などの内分泌疾患などの炎症性疾患、及びグルココルチコイドによる処置など

50

のある種の薬物処置に関連して生じる。実際に、骨粗鬆症に関連する骨折へのもろさは、RA、全身性エリテマトーデス、及び強直性脊椎炎などのリウマチ疾患を有する患者に起こり得る、最も重要な合併症の1つである。

#### 【0034】

骨パジェット病は、破骨細胞活性及び骨芽細胞活性の増加領域を伴う、骨の代謝回転の増加及び骨のリモデリングの統制崩壊を特徴とする、原因が未知の一般的状態である。パジェット骨は正常骨より骨密度が高いことが多いが、その異常な構成により、骨が機械的に弱くなり、骨変形、及び病的骨折の起こりやすさの増加をもたらす。

#### 【0035】

IL-6、TNF 及びRANKLシグナル伝達は、破骨細胞過剰活性及び結果として生じる骨量減少の増大に大きな役割を果たすことが示されている(例えば、Tanakaら、2003年、Roodman、2006年を参照されたい)。これらの経路に影響を及ぼす薬物の使用は、骨粗鬆症/多発性骨髄腫を処置するための、RANKL、AMG-162(Denosumab(登録商標)、Amgen)に対するモノクローナル抗体の臨床試験が完了していること、並びに抗TNF 及び抗IL-6療法が、やはり関節炎疾患における骨量減少を予防することを示す多数の証拠が増えていることによって検証されている(例えば、Ogataら、2012年、Billau、2010年を参照されたい)。

#### 【0036】

骨免疫系及びがん

多数のタイプのがんが骨を冒す。がん関連骨疾患は、高カルシウム血症の発生、又は溶骨性及び/若しくは骨硬化性転移の発症により明白になり得る。破骨細胞による骨再吸収の増加は、両方の状態の病因に重要な役割を果たす。いずれのがんの大半が、骨転移と複合し得るが、最も一般的な原因は多発性骨髄腫、乳癌及び前立腺癌である。高カルシウム血症を伴う最も一般的な腫瘍は、多発性骨髄腫、乳癌及び肺癌である。

#### 【0037】

上記の通り、RANK/RANKLシグナル伝達は、破骨細胞形成、及び骨格のリモデリングの間に起こる骨吸収にとって必須である。RANK/RANKLシグナル伝達の生理的レベルが、乳房の上皮細胞の増殖及び細胞生存を刺激する一方、これらの組織における異常なRANK/RANKLシグナル伝達は、胸部の腫瘍形成の発生及び進行に影響を及ぼすことが最近示されており、デノスマブ(Xgeva(登録商標)、Amgen)を使用するRANKLシグナル伝達を阻止することにより、乳がん患者における病的骨折などの骨転移の二次合併症、及び高カルシウム血症を予防するのに有効であることが示された(例えば、Stegerら、2011年を参照されたい)。

#### 【0038】

RANK/RANKLシグナル伝達を阻止する治療法もまた、骨に親和性を示すがんが骨に転移する能力を低下することができる。ヒト上皮腫瘍細胞及び黒色腫細胞の表面のRANKによるシグナル伝達は、これらの腫瘍細胞における化学走性応答を誘発することが示されている一方、黒色腫転移のマウスモデルにおいて、RANKL受容体であるRANKを中和するオステオプロテゲリンによるマウスの治療的処置により、骨内部に負荷を与えるが他の臓器には負荷を与えない腫瘍をかなり低減した。

#### 【0039】

がんにおけるRANKLの役割の他に、TNF などの分子によるNF Bの活性化が、骨髄腫及びリンパ腫などの血液悪性腫瘍と、乳がん、前立腺がん及び肺がんなどの固形腫瘍の両方の促進及び進行において主な役割を果たし得るという証拠が増えている(例えば、Baudら、2009年を参照されたい)。がんにおいて、並びに放射線治療及び化学治療剤への抵抗性発現において、炎症及び骨免疫系の役割及び重要性の認識も高まっている。さらに、炎症は、実際に、がんの基礎的な顕著な特徴の1つであることが示唆されている(例えば、Mantovani、2009年を参照されたい)。したがって、NF B活性化の阻止による抗がん処置の有効性の改善は、既存の治療レジメンを増強する有力な戦略であり、現在のところ、多発性骨髄腫を処置するために最も力を入れて検討が進められている。

#### 【0040】

正常なアポトーシス経路の欠陥も、腫瘍細胞成長の発達及び進行、並びに炎症と関係付

10

20

30

40

50

けられている。アポトーシス(プログラム細胞死)は、異常細胞の除去に重要な役割を果たす。その誘導に正常に導くと思われるシグナル伝達カスケードの欠陥は、腫瘍形成において重要な役割を果たす。放射線療法及び多数の化学治療剤は、通常、アポトーシスを誘導すると思われる細胞損傷を引き起こすことにより作用する。したがって、その経路の欠陥はまた、こうした薬剤の効力を低下させることになる。アポトーシスに至るシグナル伝達経路における最も重要なエフェクター分子はカスパーゼとして知られており、これは、TNF がその受容体に結合することを含む、いくつかの刺激により誘発され得る。カスパーゼをコードする遺伝子の変異が、胃、乳房、腎細胞及び子宮頸がんを含むいくつかの腫瘍型において、並びにT細胞リンパ芽球リンパ腫及び基底細胞エナメル上皮腫において共通して見いだされている(例えば、Philchenkovら、2004年を参照されたい)。カスパーゼを活性化し、こうして細胞をアポトーシスに感作する化合物は、単剤として又は既存のがん化学療法及び放射線療法の有効性を高める上のどちらかで、がん療法として非常に効果的であると思われる。

10

#### 【発明の概要】

#### 【0041】

炎症を予防する薬剤は、骨免疫系を攪乱する

本発明者らは、例えば、炎症及び/又は骨量減少を防止する新規化合物であって、こうして、例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性エリテマトーデス、アテローム性動脈硬化、喘息、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、ブドウ膜炎、骨盤内炎症性疾患、子宮内膜症、乾癬及び乾癬性関節炎、例えば、関節リウマチ、骨粗鬆症、骨パジェット病、及び多発性骨髄腫を伴う骨量減少を含む骨量減少に関連する疾患、NF- $\kappa$ Bの活性化、異常なNF- $\kappa$ Bシグナル伝達又は炎症若しくはIL-6の過剰産生(多発性骨髄腫、白血病、T細胞リンパ芽球リンパ腫及び他のリンパ腫(例えば、非ホジキンリンパ腫)などの血液悪性腫瘍を含む)に関連するがん、並びに膀胱がん、乳がん(女性及び/又は男性)、結腸がん、腎臓がん、肺がん、膵臓がん、前立腺がん、脳がん、皮膚がん、甲状腺がん及び黒色腫などの固形腫瘍、カスパーゼ媒介性細胞死の非活性化又は障害を伴うがん(胃がん、乳がん、腎がん、子宮頸がん及び基底細胞エナメル上皮腫など)、IRF-5の活性化のモジュレートに関連する状態(ヴェゲナー肉芽腫症及び全身性硬化症を含む)、IL-6の過剰産生に関連する線維症(全身性硬化症又は強皮症など)、IL-6過剰産生に関連する神経変性疾患(アルツハイマー病など)、IL-6過剰産生にやはり関連する神経障害(うつ病など)、IL-6過剰産生に関連する血管新生の疾患(加齢黄斑変性及び糖尿病性網膜症)、IL-6関連性過形成(キャッスルマン病など)、並びにIL-6過剰産生に関連するある種の希な脈管炎(ベーチェット病など)を含む、炎症性又は自己免疫構成要素を有する疾患の処置に使用することができる新規化合物を特定した。

20

30

#### 【0042】

いかなる特定の理論に拘泥されることを望むものではないが、本発明者らは、この作用は、TNF- $\alpha$ 及び/若しくはRANKLシグナル伝達及び/若しくはIRF活性の阻止、並びに/又はIL-6産生の阻害に関連するメカニズムによる可能性があると考えている。

#### 【0043】

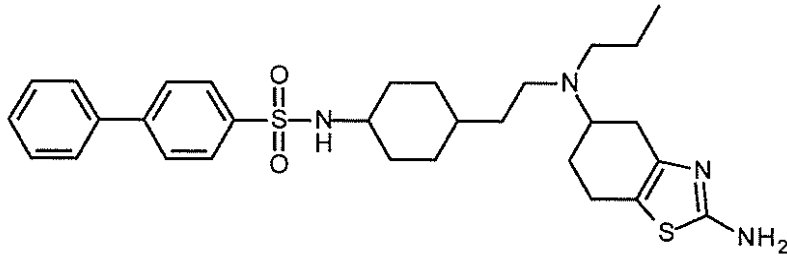
公知化合物

40

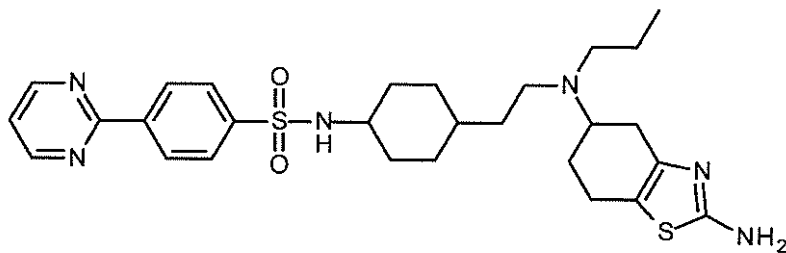
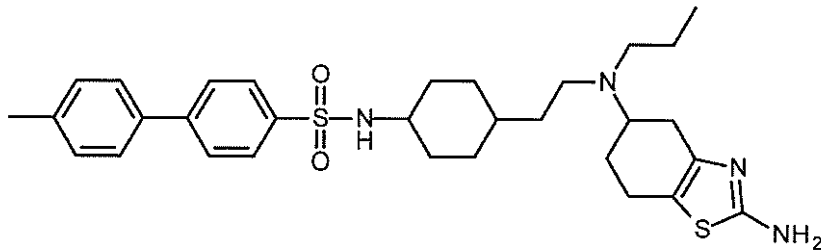
Wangら、2010年は、明らかに高い親和性を示し、且つ選択的なドーパミンD<sup>3</sup>受容体完全アゴニストである、ある種の化合物を記載している。その中に示されている化合物の例には、以下(例えば、その中の18~19頁及び48~50頁を参照されたい)

#### 【0044】

## 【化1】



10



20

が挙げられる。

## 【0045】

Chenら、2012年は、類似化合物を記載している。

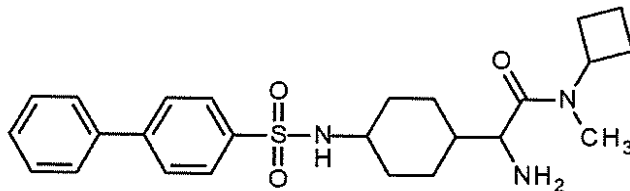
## 【0046】

Tsutsumiら、2005年は、DPP-IV阻害活性を明らかに示し、且つII型糖尿病及び肥満の処置に明らかに有用なある種の化合物を記載している。以下の化合物は、その中の192頁の実施例89として示されている。

30

## 【0047】

## 【化2】



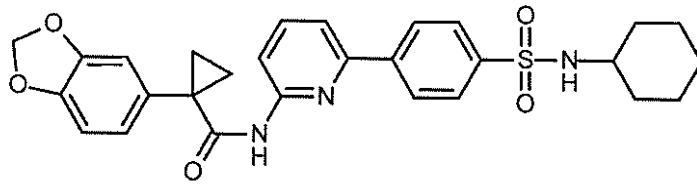
## 【0048】

Hadidaら、2007年は、公開されているところによると、嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子(「CFTR」)を含む、ATP結合カセット(「ABC」)輸送体又はその断片のモジュレーターとして有用な、ある種の化合物を記載している。以下の化合物は、その中の77頁の実施例208として示されている。

40

## 【0049】

## 【化3】

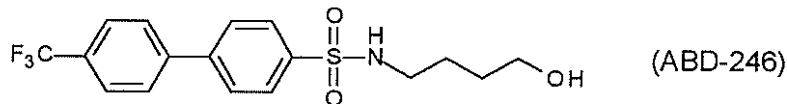


## 【0050】

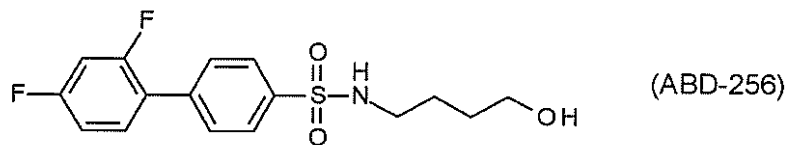
Ralstonら、2005年は、破骨細胞の生存、形成及び/若しくは活性を阻害するため、破骨細胞により媒介される状態及び/若しくは骨吸収を特徴とする状態を阻害するため、骨粗鬆症、関節リウマチ、がん関連性骨疾患及びパジェット病などの骨の障害の処置において、並びに炎症若しくは免疫系の活性化に関連する状態の処置における使用のための、ある種のビフェニル-4-スルホンアミドを記載している。その中に示されている化合物の例には、以下

## 【0051】

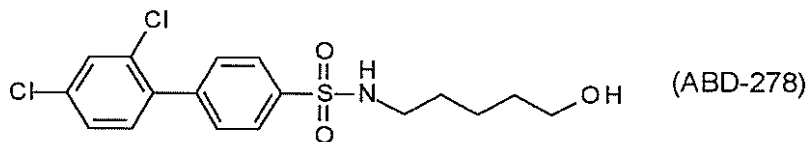
## 【化4】



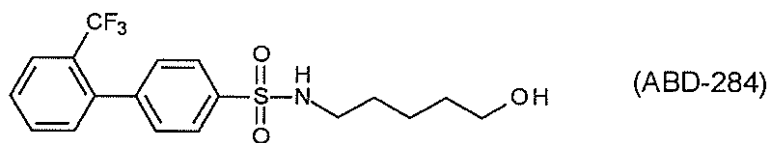
(ABD-246)



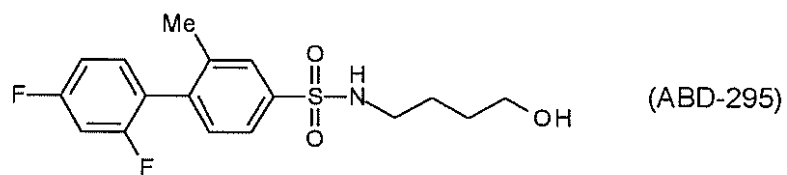
(ABD-256)



(ABD-278)



(ABD-284)



(ABD-295)

が挙げられる。

## 【0052】

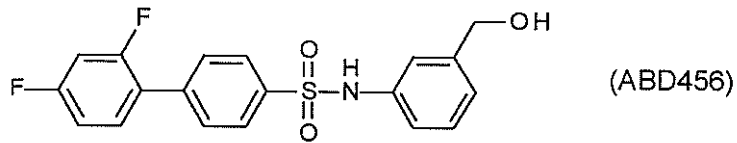
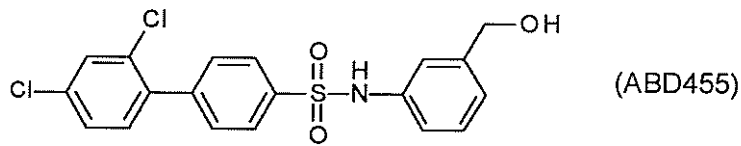
Greigら、2006年は、類似化合物を記載している。

## 【0053】

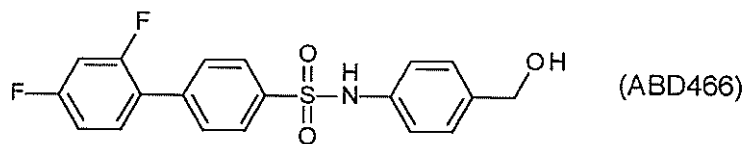
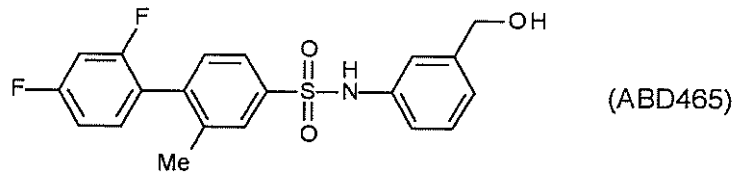
Greigら、2008年は、炎症及び/若しくは関節破壊及び/若しくは骨量減少、免疫系の過剰及び/若しくは不適切及び/若しくは長期活性化により媒介される障害、炎症及び自己免疫性障害(例えば、関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、アテローム性動脈硬化、炎症性腸疾患、及び強直性脊椎炎)、並びに関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患及びパジェット病における破骨細胞過剰活性に関連する骨量減少などの骨量減少を伴う障害の処置のための、ある種のビフェニル-4-スルホン酸アミドを記載している。その中に示されている化合物の例には、以下

【 0 0 5 4 】

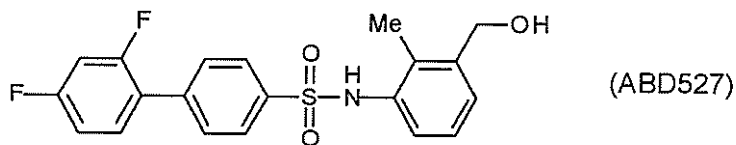
【 化 5 】



10



20



が挙げられる。

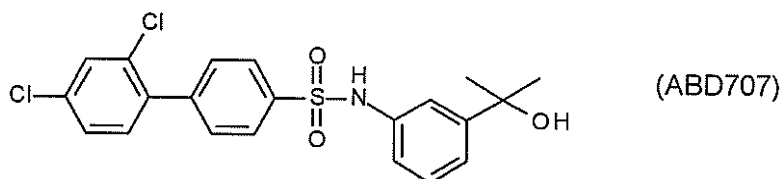
【 0 0 5 5 】

Greigら、2010年(b)は、炎症及び/若しくは関節破壊及び/若しくは骨量減少、免疫系の過剰及び/若しくは不適切及び/若しくは長期活性化により媒介される障害、炎症及び自己免疫性障害(例えば、関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、アテローム性動脈硬化、炎症性腸疾患、及び強直性脊椎炎)、関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患及びパジエット病における破骨細胞過剰活性に関連する骨量減少などの骨量減少を伴う障害、並びに血液悪性腫瘍及び固形腫瘍などのがんの処置のための、ある種のビフェニル-4-スルホン酸アミドを記載している。その中に示されている化合物の例には、以下

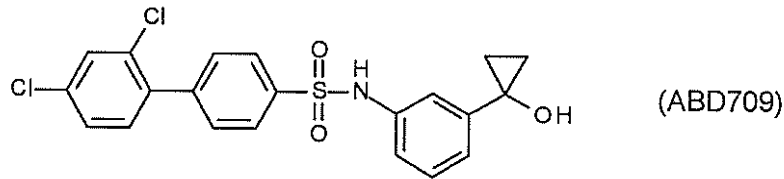
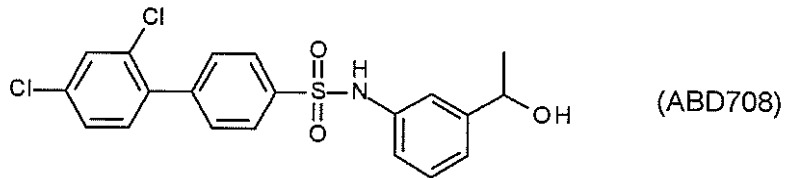
30

【 0 0 5 6 】

【 化 6 】



40



10

が挙げられる。

【 0 0 5 7 】

Greigら、2013年は、類似化合物を記載している。

【 0 0 5 8 】

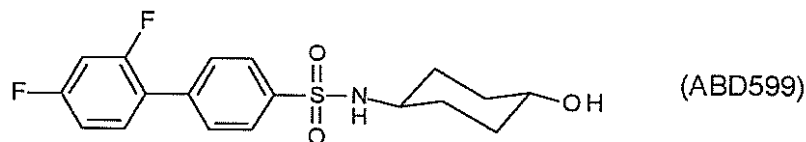
Greigら、2010年(a)は、炎症及び/若しくは関節破壊及び/若しくは骨量減少、免疫系の過剰及び/若しくは不適切及び/若しくは長期活性化により媒介される障害、炎症及び自己免疫性障害(例えば、関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、アテローム性動脈硬化、炎症性腸疾患、及び強直性脊椎炎)、関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患及びパジェット病における破骨細胞過剰活性に関連する骨量減少などの骨量減少を伴う障害、並びに血液悪性腫瘍及び固形腫瘍などのがんの処置のための、ある種の

20

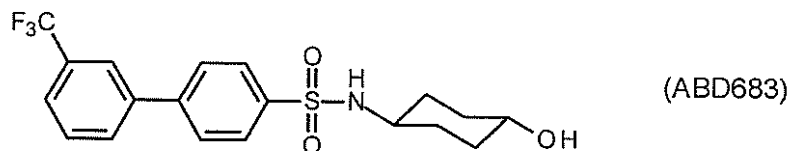
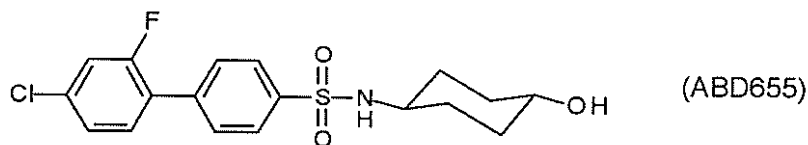
、以下

【 0 0 5 9 】

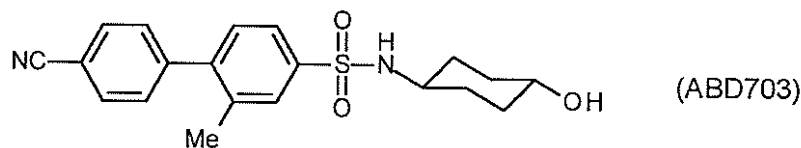
【 化 7 】

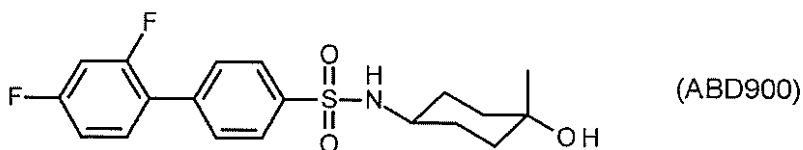
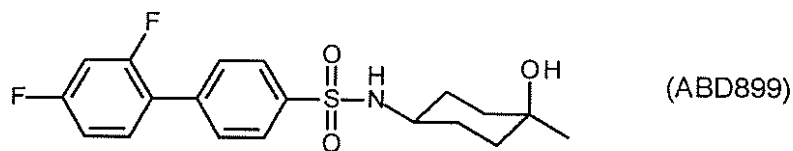
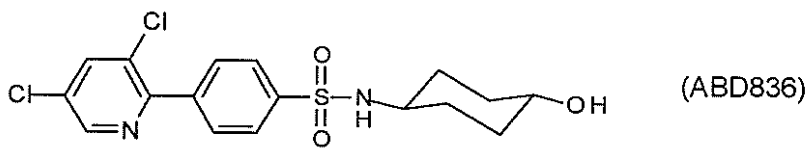
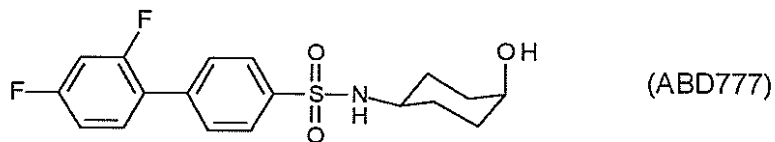
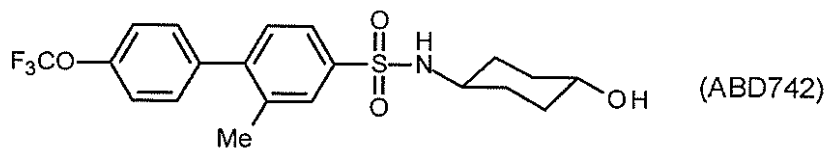
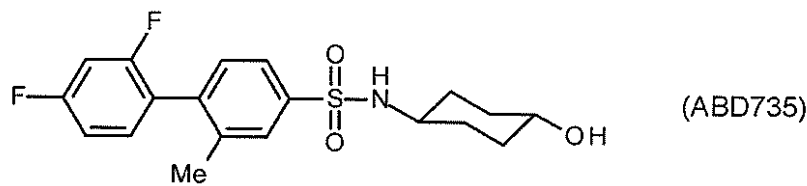
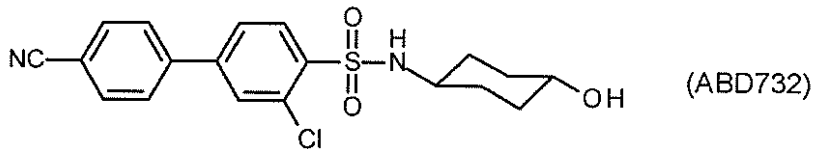
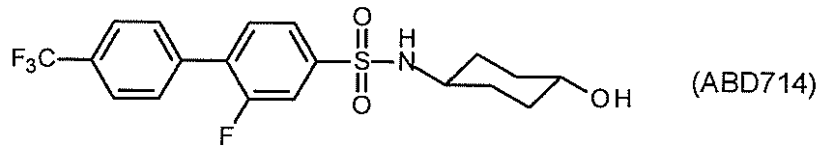
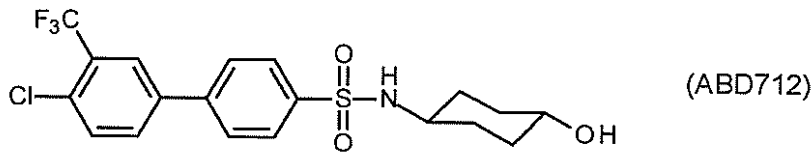


30



40





が挙げられる。

【 0 0 6 0 】

特性の改善された新規化合物

本明細書に記載されているHMC化合物は、公知化合物に存在しているいくつかの毒性問題因子(liabilities)、とりわけGreigら、2010年(a)において示されているものから保護されており、疾患のモデルにおいて効力の改善を示す。

【 0 0 6 1 】

10

20

30

40

50



いかなる特定の理論に拘泥されることを望むものではないが、本発明者らは、ピアリール環構造上の置換基とそれらの位置との特定の組合せにより、優れた特性が生じると考えている。これらの組合せは、急性インビボ毒性学における実質的な改善の他に、公知化合物において観察される、一般細胞毒性、遺伝毒性及び心血管の安全性問題因子から、本化合物を保護する。具体的には、本明細書に記載されているHMC化合物は、遺伝毒性に対して陰性であり、一般細胞毒性における実質的な改善を示し、主な心血管の安全性問題因子を示すヒトether-a-go-go関連遺伝子(hERG)の阻害から実質的に保護される。

#### 【0062】

薬物が、臨床に使用されることになる場合、好適な安全性及び有効性プロファイルを有していなければならない。その薬物は、適切な急性安全性を示して、深刻な一般的副作用が予期されることなく、ヒトに投与することができなければならない。さらに、遺伝毒性を示す薬剤は、ヒトにおいて発がん性物質として作用する恐れがあるので、その薬物は遺伝的損傷(遺伝毒性)を引き起こしてはならない。臨床的に許容される薬物はまた、阻害されると、長期QT症候群として知られる致死性の心臓障害を引き起こす恐れのある、hERGであるイオンチャネルを阻害すべきではない。その安全特性と同時に、薬物は、所望の治療効果を与えるほど、生物学的標的に対して十分な効力がなければならない。薬物は、胃腸管から吸収されるほどの十分な溶解度を有していなければならない。また、薬物は、生物学的標的に到達するのに十分長い循環期間で留まるほど十分な安定性を有さなければならない。

#### 【0063】

本明細書に記載されているHMC化合物は、例えば、Greigら、2010年(a)に示されている化合物と比べて、関節リウマチのモデルにおいて、有効性が改善されていることを実証している。これは、疾患に対する作用の大きさがより大きいこと、及び効力がより高いことの両方によって実証されており、これらのどちらも、重要なことに、疾患がすでに定着している場合にHMC化合物を投与すると観察される。これは、これらの化合物の使用のための臨床現場を反映する。さらに、これらの効果は、明確な毒性なしに観察される。

#### 【0064】

薬物の毒性学的特性(副作用)の軽減は、薬力学(身体に対する薬物の作用)及び薬物動態(薬物に対する身体の作用)特性の最適化と比べても、課題及び重要性が等価な開発上の障壁である。本明細書に記載されているHMC化合物は、インビボでの薬物動態の変化又は生物学的標的に対する効力の喪失がほとんどないか又はまったくなしに、インビボでの急性一般毒性、遺伝毒性及び細胞毒性の安全性、並びに心血管安全性の改善により、経口用治療剤として実質的な利点(公知化合物と比べて)を実現する。

#### 【0065】

本明細書に記載されているHMC化合物は、例えば、慢性炎症状態、骨量減少、及びがんの処置のための、経口活性剤の必要な特徴を合わせもつ。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0066】

【図1】以下の生物学的検討6において記載されている、(A)HMC-C-02-A(上部左)、(B)HMC-C-01-A(上部中央)、(C)HMC-N-02-A(上部右)、(D)HMC-N-01-A(下部左)、(E)HMC-C-01-B(下部中央)、(F)HMC-N-01-B(下部右)の各場合について、強制経口投与(白丸)及び対照(黒丸)によって、10mg/kg/日で投与した試験化合物に関する、時間の関数(投与日数)としての平均関節炎点のそれぞれを示す、6つのグラフである。

【図2】以下の生物学的検討6において記載されている、(A)ABD899を10mg/kg/日(左)、(B)HMC-C-01-Aを0.3mg/kg/日及び3mg/kg/日(右)の各場合について、試験化合物(白丸、白四角)、対照(黒丸)及びポジティブ対照である上市薬エタネルセプト(三角)に関する、時間の関数(投与日数)としての関節炎点のそれぞれを示す、2つのグラフである。

【図3】以下の生物学的検討11において記載されている、(A)3mg/kg/日で投与したABD899(上部左)、(B)3mg/kg/日で投与したHMC-C-01-A(上部中央)、(C)3mg/kg/日で投与したHMC-N-01-A(上部右)、(D)10mg/kg/日で投与したABD899(下部左)、(E)10mg/kg/日で投与したHM

C-C-01-A(下部中央)、及び(F)10mg/kg/日で投与したHMC-N-01-A(下部右)の各場合について、試験化合物(白丸)、対照(黒丸)及びポジティブ対照、メトトレキセート(三角)に関する、時間の関数(投与日数)としての平均関節炎点のそれぞれを示す、6つのグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0067】

本発明の一態様は、本明細書に記載されている、ある種の置換N-(4-ヒドロキシ-4-メチル-シクロヘキシル)-4-フェニル-ベンゼンスルホンアミド及びN-(4-ヒドロキシ-4-メチル-シクロヘキシル)-4-(2-ピリジル)ベンゼンスルホンアミド化合物(本明細書では、HMC化合物とまとめて呼ぶ)に関する。

10

【0068】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されているHMC化合物及び薬学的に許容される担体又は希釈剤を含む組成物(例えば、医薬組成物)に関する。

【0069】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されているHMC化合物と薬学的に許容される担体又は希釈剤とを混合するステップを含む、組成物(例えば、医薬組成物)を調製する方法に関する。

【0070】

本発明の別の態様は、治療によるヒト又は動物の生体の処置方法における使用のための、例えば、本明細書に記載されている障害(例えば、疾患)の処置方法における使用のための、本明細書に記載されているHMC化合物に関する。

20

【0071】

本発明の別の態様は、処置、例えば、本明細書に記載されている障害(例えば、疾患)の処置のための医薬の製造における、本明細書に記載されているHMC化合物の使用に関する。

【0072】

本発明の別の態様は、処置、例えば、本明細書に記載されている障害(例えば、疾患)の処置方法であって、処置を必要とする患者に、治療有効量のHMC化合物を好ましくは医薬組成物の形態で投与するステップを含む、処置方法に関する。

【0073】

30

本発明の別の態様はキットであって、(a)好ましくは、好適な容器に入れられた及び/又は好適な包装を有する医薬組成物として提供された、本明細書に記載されているHMC化合物、並びに(b)使用のための指示書、例えば、この化合物を投与する方法に関する書面による指示書を含む、キットに関する。

【0074】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されている合成方法、又は本明細書に記載されている合成方法を含む方法により得ることができる、HMC化合物に関する。

【0075】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されている合成方法、又は本明細書に記載されている合成方法を含む方法により得た、HMC化合物に関する。

40

【0076】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されている合成方法において使用するのに好適な、本明細書に記載されている新規中間体に関する。

【0077】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されているこうした新規中間体の、本明細書に記載されている合成方法における使用に関する。

【0078】

当業者により理解される通り、本発明の一態様の特徴及び好ましい実施形態はまた、本発明の別の態様にも関する。

【0079】

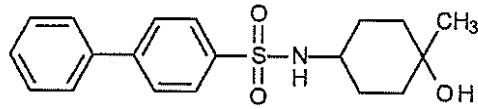
50

## 化合物

本発明の一態様は、置換N-(4-ヒドロキシ-4-メチル-シクロヘキシル)-4-フェニル-ベンゼンスルホンアミド及びN-(4-ヒドロキシ-4-メチル-シクロヘキシル)-4-(2-ピリジル)ベンゼンスルホンアミド化合物として都合よく記載され得る、ある種の化合物に関する。

【0080】

【化8】

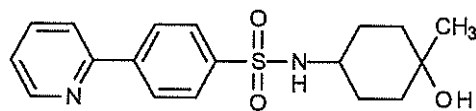


N-(4-ヒドロキシ-4-メチル-シクロヘキシル)-4-フェニル-ベンゼンスルホンアミド

10

【0081】

【化9】



N-(4-ヒドロキシ-4-メチル-シクロヘキシル)-4-(2-ピリジル)ベンゼンスルホンアミド

20

【0082】

すなわち、本発明の一態様は、以下の式の化合物、又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物(便宜上、本明細書では、「HMC化合物」としてまとめて呼ぶ)から選択される化合物である：

【0083】

【化10】

	HMC-C-01
	HMC-C-02
	HMC-C-03

30

40

	HMC-C-04
	HMC-C-05
	HMC-C-06
	HMC-N-01
	HMC-N-02
	HMC-N-03
	HMC-N-04

## 【 0 0 8 4 】

シクロヘキシル環の一方の側の置換基(すなわち、右側の-OH及び-CH<sub>3</sub>)は、分子の残りに関して(すなわち、それらが結合しているシクロヘキシル環上の、該シクロヘキシル環のパラ位に結合している該化合物の残りに関して)、「トランス」/「シス」又は「シス」/「トランス」に配置することができることに留意されたい。

## 【 0 0 8 5 】

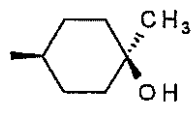
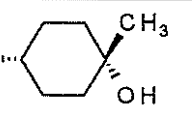
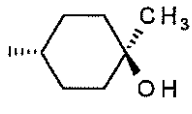
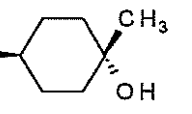
10

20

30

40

## 【化 1 1】

化合物の残り  “シス-OH”	化合物の残り  “シス-OH”
化合物の残り  “トランス-OH”	化合物の残り  “トランス-OH”

10

## 【 0 0 8 6 】

特に示さない限り、こうした立体構造のすべてが、特定の立体構造を指定していない化合物を言うことにより包含される。

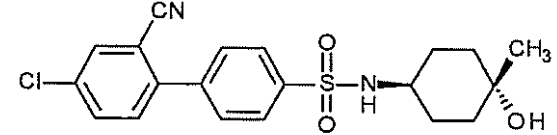
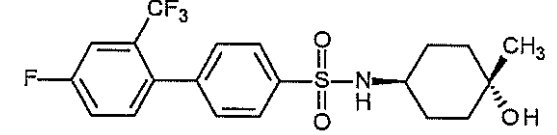
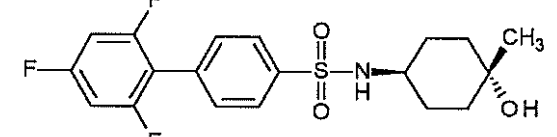
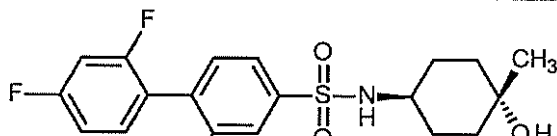
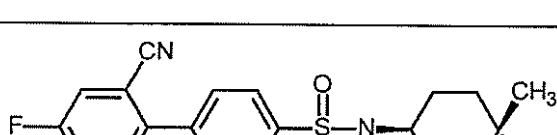
## 【 0 0 8 7 】

一実施形態において、本化合物は、例えば、以下の化合物にある通り、「トランス-OH」の立体構造にある。

## 【 0 0 8 8 】

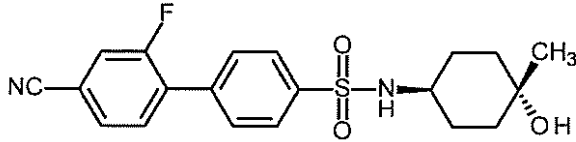
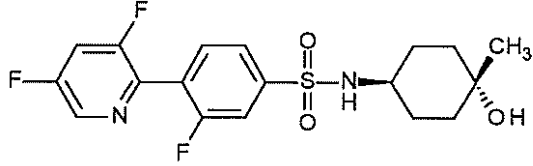
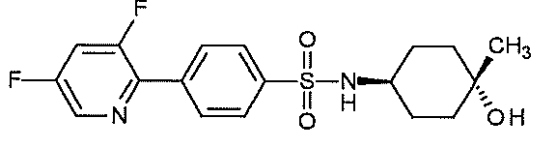
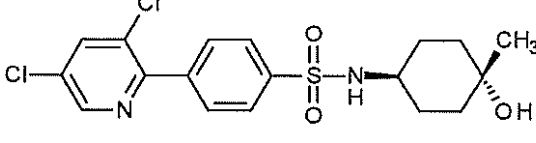
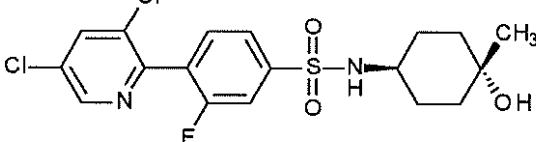
## 【化 1 2】

20

	HMC-C-01-A
	HMC-C-02-A
	HMC-C-03-A
	HMC-C-04-A
	HMC-C-05-A

30

40

	HMC-C-06-A
	HMC-N-01-A
	HMC-N-02-A
	HMC-N-03-A
	HMC-N-04-A

10

20

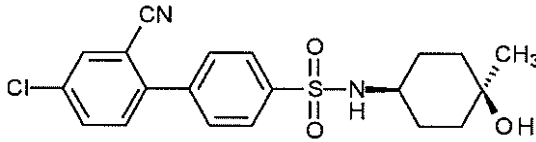
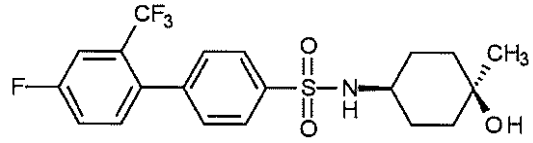
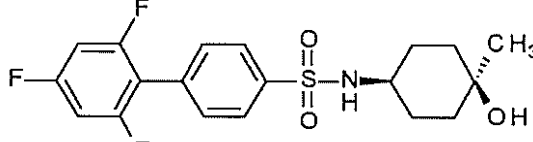
## 【 0 0 8 9 】

一実施形態において、本化合物は、例えば、以下の化合物にある通り、「シス-OH」の立体構造にある。

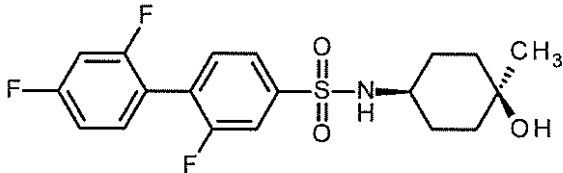
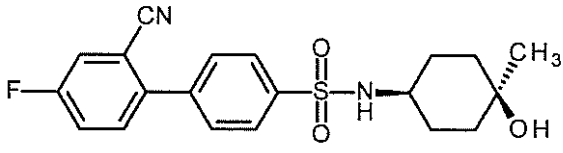
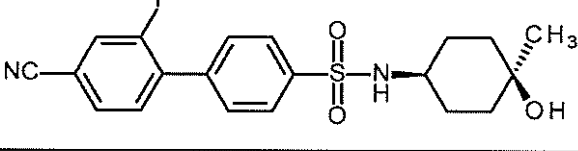
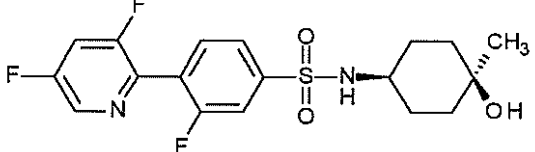
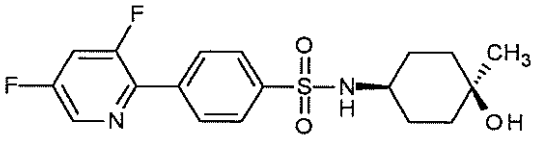
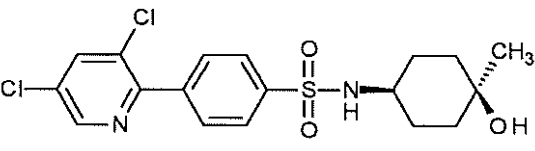
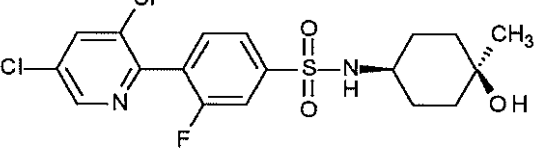
## 【 0 0 9 0 】

## 【 化 1 3 】

30

	HMC-C-01-B
	HMC-C-02-B
	HMC-C-03-B

40

	HMC-C-04-B
	HMC-C-05-B
	HMC-C-06-B
	HMC-N-01-B
	HMC-N-02-B
	HMC-N-03-B
	HMC-N-04-B

## 【 0 0 9 1 】

シクロヘキサン環は、「いす型」、「ふね型」又は「ツイスト型」の立体構造をとることができること、及びこれらの立体構造の間の相互変換が可能であることにも留意されたい。特に示さない限り、こうした立体構造(例えば、「いす型」、「ふね型」、「ツイスト型」、「OHはアキシャルである」、「OHはエクソトリアルである」など)はすべて、特定の立体構造を指定しない化合物を言うことにより包含される。

## 【 0 0 9 2 】

実質的に純粋な形態

本発明の一態様は、実質的に純粋な形態及び/又は実質的に不純物を含まない形態の、本明細書に記載されているHMC化合物に関する。

## 【 0 0 9 3 】

一実施形態において、実質的に精製された形態は、少なくとも50重量%、例えば少なくとも60重量%、例えば少なくとも70重量%、例えば少なくとも80重量%、例えば、少なくとも90重量%、例えば少なくとも95重量%、例えば少なくとも97重量%、例えば少なくとも98重量%、例えば少なくとも99重量%である。

## 【0094】

指定しない限り、実質的に精製された形態とは、任意の立体構造形態にある化合物を指す。例えば、一実施形態において、実質的に精製された形態とは、立体構造形態の混合物、すなわち他の化合物に関して精製されていることを指す。一実施形態において、実質的に精製されている形態とは、1つの立体構造形態を指す。一実施形態において、実質的に精製されている形態とは、立体構造形態の混合物を指す。一実施形態において、実質的に精製されている形態とは、立体構造形態の当モル混合物を指す。

## 【0095】

一実施形態において、不純物は50重量%以下、例えば40重量%以下、例えば30重量%以下、例えば20重量%以下、例えば10重量%以下、例えば5重量%以下、例えば3重量%以下、例えば2重量%以下、例えば1重量%以下を示す。

10

## 【0096】

指定しない限り、不純物は、他の化合物、すなわち、立体構造形態以外のものを指す。一実施形態において、不純物は他の化合物及び他の立体構造形態を指す。

## 【0097】

一実施形態において、実質的に精製された形態は、少なくとも60%の立体構造として純粋(すなわち、モル基準で、化合物の60%が所望の立体構造であり、40%が望ましくない立体構造形態である)、例えば少なくとも70%の立体構造として純粋、例えば、少なくとも80%の立体構造として純粋、例えば少なくとも90%の立体構造として純粋、例えば、少なくとも95%の立体構造として純粋、例えば少なくとも97%の立体構造として純粋、例えば、少なくとも98%の立体構造として純粋、例えば少なくとも99%の立体構造として純粋である。

20

## 【0098】

異性体

ある種の化合物は、1つ以上の特定の幾何異性体、光学異性体、鏡像異性体、ジアステレオ異性体、エピマー体、アトロプ体、立体異性体、互変異性体、立体構造体、又はアノマー体で存在してもよく、それらの形態には、以下に限定されないが、シス-及びトランス-体、E-及びZ-体、c-、t-、及びr-体、エンド-及びエキソ-体、R-、S-及びメソ-体、D-及びL-体、d-及びl-体、(+)及び(-)体、ケト-、エノール-、及びエノレート-体、シン-及びアンチ-体、シンクリナル-及びアンチクリナル-体、 $\alpha$ -及び $\beta$ -体、アキシアル及びエカトリアル体、ふね型、いす型、ツイスト型、封筒型及びハーフいす型、並びにそれらの組合せを含み、これ以降、「異性体」(又は「異性形態」と)まとめて呼ぶ。

30

## 【0099】

あるクラスの構造を言う場合、そのクラスに入る構造異性形態を十分に含み得る(例えば、 $C_1$ - $\gamma$ アルキルは、n-プロピル及びイソプロピルを含む。ブチルは、n-、イソ-、sec-及びtert-ブチルを含む。メトキシフェニルは、オルト-、メタ-及びパラ-メトキシフェニルを含む)。しかし、特定の基又は置換パターンを言う場合、空間的位置によるものではなく、原子間の結合に関して異なる、別の構造(又は、構成)異性体を含むことは意図されていない。例えば、メトキシ基- $OCH_3$ を言う場合、その構造異性体であるヒドロキシメチル基- $CH_2OH$ を言及しているものとは解釈されない。同様に、オルト-クロロフェニルと言う場合、その構造異性体であるメタ-クロロフェニルを言及しているとは解釈されない。

40

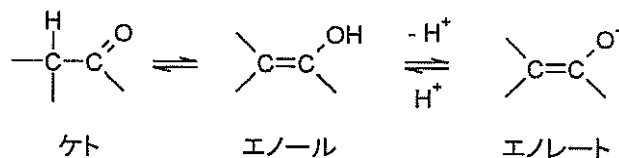
## 【0100】

上の除外は、互変異性体、例えば、以下の互変異性体ペアである、ケト/エノール(以下に例示)、イミン/エナミン、アミド/イミノアルコール、アミジン/アミジン、ニトロソ/オキシム、チオケトン/エンチオール、N-ニトロソ/ヒドロキシアゾ、及びニトロ/アシ-ニトロにおけるものと同様の、例えばケト-、エノール-及びエノレート-体に関するものではない。

## 【0101】



## 【化 1 4】



## 【 0 1 0 2 】

用語「異性体」において具体的に含まれるものは、1つ以上の同位体置換を有する化合物であることに留意されたい。例えば、Hは、 $^1\text{H}$ 、 $^2\text{H}(\text{D})$ 及び $^3\text{H}(\text{T})$ を含む任意の同位体であってよい。Cは、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{12}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 及び $^{14}\text{C}$ を含む任意の同位体であってよい。Oは $^{16}\text{O}$ 、 $^{17}\text{O}$ 及び $^{18}\text{O}$ を含む任意の同位体であってよい。Nは、 $^{14}\text{N}$ 及び $^{15}\text{N}$ を含む、任意の同位体であってよい。Fは、 $^{18}\text{F}$ 及び $^{19}\text{F}$ を含む任意の同位体であってよい、などである。

10

## 【 0 1 0 3 】

別段の指定がない限り、特定の化合物を言う場合、それらの混合物(例えば、ラセミ混合物)を含むすべてのこうした異性体を含む。こうした異性体を調製(例えば不斉合成)及び分離(例えば分別結晶化及びクロマトグラフィー手法)する方法は、当技術分野で公知であるか、又は本明細書において教示されている方法若しくは公知の方法を公知の形式で適合させることにより容易に得られる。

## 【 0 1 0 4 】

塩

本化合物の対応する塩、例えば、薬学的に許容される塩の調製、精製及び/又は取扱いが好都合であるか又は望ましいことがある。薬学的に許容される塩の例は、Bergeら、1977年、「Pharmaceutically Acceptable Salts」、J. Pharm, Sci., 66巻、1～19頁において議論されている。

20

## 【 0 1 0 5 】

例えば、化合物が陰イオン性であるか、又は陰イオン性となり得る官能基(例えば、 $-\text{COOH}$ は $-\text{COO}^-$ となり得る)を有する場合、塩は、好適な陽イオンと形成することができる。好適な無機陽イオンの例には、以下に限定されないが、 $\text{Na}^+$ 及び $\text{K}^+$ などのアルカリ金属イオン、 $\text{Ca}^{2+}$ 及び $\text{Mg}^{2+}$ などのアルカリ土類陽イオン、及び $\text{Al}^{3+}$ などの他の陽イオンが含まれる。好適な有機陽イオンの例には、以下に限定されないが、アンモニウムイオン(すなわち、 $\text{NH}_4^+$ )及び置換アンモニウムイオン(例えば、 $\text{NH}_3\text{R}^+$ 、 $\text{NH}_2\text{R}_2^+$ 、 $\text{NHR}_3^+$ 、 $\text{NR}_4^+$ )が含まれる。一部の好適な置換アンモニウムイオンの例は、エチルアミン、ジエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミン、及びトロメタミン、並びにリシン及びアルギニンなどのアミノ酸から誘導されるものである。一般的な四級アンモニウムイオンの一例は、 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ である。

30

## 【 0 1 0 6 】

本化合物が陽イオン性であるか、又は陽イオン性となり得る官能基(例えば、 $-\text{NH}_2$ は $-\text{NH}_3^+$ となり得る)を有する場合、塩は、好適な陰イオンと形成することができる。好適な無機陰イオンの例には、以下に限定されないが、以下の無機酸:塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、亜硫酸、硝酸、亜硝酸、リン酸及び亜リン酸から誘導されるものが含まれる。好適な有機陰イオンの例には、以下に限定されないが、以下の有機酸:2-アセチオキシ安息香酸(acetyoxybenzoic)、酢酸、アスコルビン酸、アスパラギン酸、安息香酸、カンファースルホン酸、桂皮酸、クエン酸、エデト酸、エタンジスルホン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グルケプトン酸(glucheptonic)、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、ヒドロキシマレイン酸、ヒドロキシナフタレンカルボン酸、イセチオン酸、乳酸、ラクチオン酸、ラウリル酸、マレイン酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ムチン酸、オレイン酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、パントテン酸、フェニル酢酸、フェニルスルホン酸、プロピオン酸、ピルビン酸、サリチル酸、ステアリン酸、コハク酸、スルファ

40

50

ニル酸、酒石酸、トルエンスルホン酸及び吉草酸から誘導されるものが含まれる。好適なポリマー有機陰イオンの例には、以下に限定されないが、以下のポリマー酸：タンニン酸、カルボキシメチルセルロースから誘導されるものが含まれる。

【0107】

別段の指定がない限り、特定の化合物を言う場合、その塩形態も含まれる。

【0108】

溶媒和物及び水和物

本化合物の対応する溶媒和物の調製、精製及び/又は取扱いが好都合であるか又は望ましいことがある。用語「溶媒和物」は、本明細書において、溶質(例えば、化合物、化合物の塩)と溶媒との複合体を指す、従来の意味で使用される。溶媒が水である場合、この溶媒和物は、便宜上、水和物、例えば一水和物、二水和物、三水和物などと呼ぶことができる。

【0109】

別段の指定がない限り、特定の化合物を言う場合はまた、それらの溶媒和物及び水和物形態も含む。

【0110】

化学的保護形態

化学的保護形態にある本化合物の調製、精製及び/又は取扱いが好都合であるか又は望ましいことがある。用語「化学的保護形態」は、本明細書において、従来の化学的な意味で使用され、1つ以上の反応性官能基が、指定条件下(例えば、pH、温度、照射、溶媒など)で望ましくない化学反応から保護されている化合物に関する。実際に、周知の化学的方法を使用し、普通なら指定条件下で反応性があると思われる官能基を可逆的に非反応性にする。化学的保護形態では、1つ以上の反応性官能基が、保護されている基又は保護基の形態(マスクされている基若しくはマスキング基、又はブロックされている基若しくはブロック基としても知られる)にある。反応性官能基を保護することにより、保護されている基に影響を及ぼすことなく、他の非保護反応性官能基が関与する反応を行うことができる。この保護基は、分子の他の部分に実質的に影響を及ぼすことなく、通常、後の工程で除去することができる。例えば、Protective Groups in Organic Synthesis(T.Green及びP.Wuts、第4版、John Wiley and Sons、2006年)を参照されたい。

【0111】

様々なこうした「保護する」、「ブロックする」又は「マスキングする」方法は、有機合成において、幅広く使用されており、周知である。例えば、そのどちらも指定条件下で反応性があると思われる、2つの非等価な反応性官能基を有する化合物は、それらの官能基の1つを「保護されている」状態、したがって指定条件下で非反応性となるよう誘導体化することができる。そうして保護されて、この化合物は、効果的なことに、1つしか反応性官能基を有していない反応剤として使用することができる。所望の反応(別の官能基を含む)が完了した後、保護されている基は、「脱保護」されて、そのもともとの官能基に戻すことができる。

【0112】

例えば、アミン基は、例えば、アミド(-NRCO-R)又はウレタン(-NRCO-OR)として、例えばメチルアミド(-NHCO-CH<sub>3</sub>)、ベンジルオキシアミド(-NHCO-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>、-NH-Cbz)として、t-ブトキシアミド(-NHCO-OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、-NH-Boc)、2-ピフェニル-2-プロポキシアミド(-NHCO-OC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>、-NH-Bpoc)として、9-フルオレニルメトキシアミド(-NH-Fmoc)として、6-ニトロベラトリルオキシアミド(-NH-Nvoc)として、2-トリメチルシリルエチルオキシアミド(-NH-Teoc)として、2,2,2-トリクロロエチルオキシアミド(-NH-Troc)として、アリルオキシアミド(-NH-Alloc)として、2(-フェニルスルホニル)エチルオキシアミド(-NH-Psec)として、又は好適な場合(例えば、環式アミン)、ニトロオキシドラジカル(>N-O・)として保護することができる。

【0113】

プロドラッグ

プロドラッグの形態にある本化合物の調製、精製及び/又は取扱いが好都合であるか又は望ましいことがある。用語「プロドラッグ」は、本明細書で使用する場合、代謝されると(例えば、インピボ)、所望の活性化合物を生じる、化合物に関する。通常、プロドラッグは非活性であるか、又は所望の活性化合物よりも活性は低い、取扱い、投与又は代謝特性の利点を実現することがある。

#### 【0114】

##### 化学合成

HMC化合物の化学合成法は、本明細書に記載されている。本明細書に記載されているさらなるHMC化合物の合成を容易にするため、これらの、及び/又は他の周知の方法を修正及び/又は公知の方法で適合してもよい。

10

#### 【0115】

##### 組成物

本発明の一態様は、本明細書に記載されているHMC化合物及び薬学的に許容される担体、希釈剤又は賦形剤を含む組成物(例えば、医薬組成物)に関する。

#### 【0116】

一実施形態において、本組成物はさらに、1つ以上(例えば、1つ、2つ、3つ、4つ)の本明細書に記載されている追加の治療剤を含む。

#### 【0117】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されているHMC化合物と薬学的に許容される担体、希釈剤又は賦形剤とを混合するステップを含む、組成物(例えば、医薬組成物)の調製方法に関する。

20

#### 【0118】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されているHMC化合物、1つ以上(例えば、1つ、2つ、3つ、4つ)の本明細書に記載されている追加の治療剤と、薬学的に許容される担体、希釈剤又は賦形剤とを混合するステップを含む、組成物(例えば、医薬組成物)の調製方法に関する。

#### 【0119】

##### 使用

本明細書に記載されているHMC化合物は、例えば、本明細書に記載されている障害(例えば、疾患)を含む、例えば、障害(例えば、疾患)の処置に有用である。

30

#### 【0120】

##### 治療方法における使用

本発明の別の態様は、治療によるヒト又は動物の生体の処置方法における使用のための、例えば、本明細書に記載されている障害(例えば、疾患)の処置方法における使用のための、本明細書に記載されているHMC化合物に関する。

#### 【0121】

本発明の別の態様は、治療によるヒト又は動物の生体の処置方法における使用のための、例えば、本明細書に記載されている障害(例えば、疾患)の処置方法における使用のための、1つ以上(例えば、1つ、2つ、3つ、4つ)の追加の治療剤と組み合わせた本明細書に記載されているHMC化合物に関する。

40

#### 【0122】

##### 医薬の製造における使用

本発明の別の態様は、処置、例えば、本明細書に記載されている障害(例えば、疾患)の処置のための医薬の製造における、本明細書に記載されているHMC化合物の使用に関する。

#### 【0123】

一実施形態において、本医薬は、HMC化合物を含む。

#### 【0124】

本発明の別の態様は、処置、例えば、本明細書に記載されている障害(例えば、疾患)の処置のための医薬の製造における、本明細書に記載されているHMC化合物及び1つ以上(例

50

えば、1つ、2つ、3つ、4つ)の本明細書に記載されている追加の治療剤の使用に関する。

【0125】

一実施形態において、本医薬は、HMC化合物及び1つ以上(例えば、1つ、2つ、3つ、4つ)の追加の治療剤を含む。

【0126】

処置方法

本発明の別の態様は、処置、例えば、本明細書に記載されている障害(例えば、疾患)の処置方法であって、処置を必要とする患者に、治療有効量の本明細書に記載されているHMC化合物を好ましくは医薬組成物の形態で投与するステップを含む、処置方法に関する。

【0127】

10

本発明の別の態様は、処置、例えば、本明細書に記載されている障害(例えば、疾患)の処置方法であって、処置を必要とする患者に、治療有効量の本明細書に記載されているHMC化合物を好ましくは医薬組成物の形態で、及び本明細書に記載されている1つ以上(例えば、1つ、2つ、3つ、4つ)の追加の治療剤を好ましくは医薬組成物の形態で投与するステップを含む、処置方法に関する。

【0128】

処置される状態

一実施形態において、処置は炎症性障害又は自己免疫性障害の処置である。

【0129】

一実施形態において、処置は炎症、及び/又は免疫系の活性化に関連する障害の処置である。

20

【0130】

一実施形態において、処置は免疫系の過剰及び/又は不適切及び/又は長期活性化により媒介される障害の処置である。

【0131】

一実施形態において、処置は炎症の処置である。

【0132】

一実施形態において、処置は炎症、又は免疫系の活性化に関連する障害の処置である。

【0133】

一実施形態において、処置は関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、喘息、アテローム性動脈硬化、炎症性腸疾患、又は強直性脊椎炎の処置である。

30

【0134】

一実施形態において、処置は関節リウマチの処置である。

【0135】

一実施形態において、処置は乾癬の処置である。

【0136】

一実施形態において、処置は乾癬性関節炎の処置である。

【0137】

一実施形態において、処置は慢性閉塞性肺疾患(COPD)の処置である。

【0138】

40

一実施形態において、処置は喘息の処置である。

【0139】

一実施形態において、処置はアテローム性動脈硬化症の処置である。

【0140】

一実施形態において、処置は強直性脊椎炎の処置である。

【0141】

一実施形態において、処置は炎症性腸疾患の処置である。

【0142】

一実施形態において、処置は移植後の臓器又は移植片拒絶をもたらす免疫反応の予防である。

50

## 【0143】

－実施形態において、処置は、IRF-5発現又は活性が異常な炎症状態の予防である。

## 【0144】

－実施形態において、処置は、TNF、IL-1、IL-6、RANKL及び/又はNF Bを過剰発現する腫瘍の処置である。

## 【0145】

－実施形態において、処置は、腫瘍の処置であって、該腫瘍に対する、TNF、IL-1、RANKL、NF B、IRF-3、-5又は-7などのIRF、及び/又はIL-6の発現若しくは活性若しくはシグナル伝達の阻害が、細胞毒性殺腫瘍剤の作用を促進するか或いは改善する、処置である。

10

## 【0146】

－実施形態において、処置は血液悪性腫瘍の処置である。

## 【0147】

－実施形態において、処置は多発性骨髄腫の処置である。

## 【0148】

－実施形態において、処置は、白血病、例えば急性リンパ芽球性白血病の処置である。

## 【0149】

－実施形態において、処置は、リンパ腫、例えば、非ホジキンリンパ腫、T細胞リンパ腫(例えば、Tリンパ芽球性リンパ腫、節外性T細胞リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、未分化大細胞型リンパ腫、血管免疫芽球性T細胞性リンパ腫)、及びB細胞リンパ腫(例えば、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫)(例えば、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫、濾胞性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、小細胞リンパ球性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、有毛細胞性白血病、及びパーキットリンパ腫)の処置である。

20

## 【0150】

－実施形態において、処置は、固形腫瘍がん、例えば、膀胱がん、乳がん(女性及び/又は男性)、結腸がん、腎細胞癌、腎臓がん、肺がん、膵臓がん、胃がん、前立腺がん、脳がん、皮膚がん、甲状腺がん、基底細胞エナメル上皮腫、又は黒色腫の処置である。

## 【0151】

－実施形態において、血液悪性腫瘍(例えば、多発性骨髄腫、白血病、リンパ腫など)及び固形腫瘍がん(例えば、膀胱がんなど)は、NF Bの活性化、異常なNF Bシグナル伝達、又は炎症に関連している。

30

## 【0152】

－実施形態において、血液悪性腫瘍(例えば、多発性骨髄腫、白血病、リンパ腫など)及び固形腫瘍がん(例えば、膀胱がんなど)は、カスパーゼ誘発の不活性化若しくは障害、又は異常なカスパーゼシグナル伝達に関連している。

## 【0153】

－実施形態において、処置は、増殖性障害、例えば、キャスルマン病の処置である。

## 【0154】

－実施形態において、処置は、喘息、アテローム性動脈硬化、アレルギー性疾患(アトピー、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、アナフィラキシー、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症及び過敏性肺炎(鳩繁殖者疾患、農夫肺疾患、加湿器肺疾患、麦苗労働者肺疾患)など)、哺乳動物(家庭動物、例えばイヌ及びネコなど)におけるノミアレルギー性皮膚炎を含むアレルギー、蚊咬傷若しくは他の虫刺アレルギー、毒ツタ、毒樅、毒ウルシを含む接触アレルギー、又は他の皮膚アレルギー、自己免疫性障害(I型糖尿病及び関連合併症、多発性硬化症、関節炎、全身性エリテマトーデス、自己免疫性(橋本病)甲状腺炎を含む)、自己免疫肝臓疾患(肝炎及び原発性胆汁性肝硬変症など)、甲状腺機能亢進症(グレーブス病、甲状腺中毒症)、インスリン抵抗性糖尿病、自己免疫性副腎機能不全(アジソン病)、自己免疫性卵巣炎、自己免疫性精巣炎、自己免疫性溶血性貧血、発作性寒冷ヘモグロビン尿症、ベーチェット病、自己免疫性血小板減少、自己免疫性好中球減少、悪性貧血、真正赤血球性貧血、自己免疫性凝固障害、子宮内膜症、重症筋無力症、実験的アレルギー

40

50

一性脳脊髄炎、自己免疫性多発神経炎、天疱瘡及び他の水疱性疾患、リウマチ心炎、グッドパスチャー症候群、心術後症候群、シェーグレン症候群、多発筋炎、皮膚筋炎及び強皮症、局所性若しくは全身性の不適切な炎症に起因する疾患状況(例えば、刺激性又は炎症性腸症候群(Mazzucchelliら、1996年)、皮膚疾患(扁平苔癬など)、遅延型過敏症、慢性肺炎症(例えば、肺炎)、及び肺肉芽腫)、歯肉炎又は他の歯周病及び歯内起源の病変に関連する骨性炎症(Volejnikovaら、1997年)、過敏性肺疾患(過敏性肺炎(Sugiyamaら、1995年))及び好塩基球からのヒスタミン放出に関連する炎症(花粉症など)(Dvorakら、1996年)、肥満細胞(Galliら、1989)からのヒスタミン放出、又はマスト細胞腫瘍、1型過敏性反応の各タイプ(アナフィラキシー、皮膚アレルギー、蕁麻疹、痛風、アレルギー性鼻炎、及びアレルギー性胃腸炎)、潰瘍性大腸炎若しくはクローン病、TNF 誘発性多発性嚢胞腎(Liら、2008年)、又はクリオピリン関連周期性症候群(Muckle-Wells症候群を含む)を含めた、炎症性又は自己免疫構成要素を有する疾患から選択される、疾患又は障害の処置である。

10

## 【0155】

一実施形態において、処置は、破骨細胞により媒介される障害の処置である。

## 【0156】

一実施形態において、処置は、過剰骨吸収を特徴とする障害の処置である。

## 【0157】

一実施形態において、処置は骨量減少を伴う障害の処置である。

## 【0158】

一実施形態において、処置は、骨量減少の処置である。

20

## 【0159】

一実施形態において、処置は、炎症に関連する骨量減少の処置である。

## 【0160】

一実施形態において、処置は、炎症と関連していない骨量減少の処置である。

## 【0161】

一実施形態において、処置は、破骨細胞過剰活性化に関連する骨量減少の処置である。

## 【0162】

一実施形態において、処置は、関節破壊の処置である。

## 【0163】

一実施形態において、処置は、炎症に関連する関節破壊の処置である。

30

## 【0164】

一実施形態において、処置は、破骨細胞過剰活性化に関連する関節破壊の処置である。

## 【0165】

一実施形態において、処置は、関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患、又はパジェット病における、破骨細胞過剰活性化に関連する骨量減少の処置である。

## 【0166】

一実施形態において、処置は、関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患、又は骨パジェット病を伴う骨量減少の処置である。

## 【0167】

一実施形態において、処置は、関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患、又は骨パジェット病の処置である。

40

## 【0168】

一実施形態において、処置は、骨肉腫及び骨腫(Zhengら、1998年を参照されたい)、並びにがん関連骨疾患(例えば、悪性の高カルシウム血症、骨転移、骨溶解性骨転移、多発性骨髄腫、乳癌)を含む、原発性腫瘍としてであろうが又は転移としてであろうが、骨の新生物形成の処置である。

## 【0169】

一実施形態において、処置は、ビタミンD中毒、原発性又は三次性上皮小体機能亢進症、不動化症、及びサルコイドーシスを含む、骨吸収の増大に関連する状態によって引き起

50

こされる高カルシウム血症の処置である。

【0170】

一実施形態において、処置は、補綴インプラントの無菌性弛緩(例えば、人工関節、例えば、膝、腰などは、局所炎症によって推進される破骨細胞の活性により弛緩し得る)(例えば、Childsら、2001年を参照されたい)の処置である。

【0171】

一実施形態において、処置は、大理石骨病、変形性関節症、又は異所性骨形成の処置である。

【0172】

一実施形態において、処置は、全身性硬化症又は強皮症などの線維症を伴う障害の処置である。

10

【0173】

一実施形態において、処置は、ベーチェット病などの希な血管炎の処置である。

【0174】

処置

状態を処置するという文脈において、本明細書で使用される用語「処置」は、一般に、ヒトであろうと又は動物(例えば、獣医学的用途における)であろうと、何らかの所望の治療効果、例えば、状態の進行の阻害が達成される処置及び治療に関するものであり、進行速度の低下、進行速度の停止、その状態の症状の緩和、その状態の改善及びその状態の治療が含まれる。予防手段としての処置(すなわち、予防)も含まれる。例えば、その状態をまだ発症していないが、その状態を発症するリスクのある患者での使用は、用語「処置」によって包含される。

20

【0175】

例えば、炎症の処置には、炎症の予防、炎症の発生率の低下、炎症の重症度の軽減、炎症の症状の緩和などが含まれる。

【0176】

本明細書で使用される用語「治療有効量」は、所望の処置レジメンに従って投与された場合、妥当な利益/リスク比に見合う、ある所望の治療効果を生じるのに有効な、ある化合物、又はある化合物を含む物質、組成物若しくは剤形の量に関する。

【0177】

併用療法

用語「処置」には、2つ以上の処置又は治療法を、例えば、逐次又は同時に組み合わせた、併用処置及び療法が含まれる。例えば、本明細書に記載されている化合物は、併用療法で、例えば、他の薬剤、例えば抗炎症剤などと組み合わせて使用することもできる。処置及び療法の例には、化学療法(例えば、薬物、抗体(例えば、免疫療法におけるものとして)、プロドラッグ(例えば、光線力学療法、GDEPT、ADEPTなどにおけるものとして)を含む活性剤の投与)、手術、放射線療法、光線力学的治療法、遺伝子療法、及び食事管理が含まれる。

30

【0178】

本発明の一態様は、1つ以上の追加の治療剤と組み合わせた本明細書に記載されている化合物に関する。

40

【0179】

特定の組合せが、医師の共通した一般知識及び熟練医師に公知の投与レジメンを使用する投与を選択する、医師の判断にあると思われる。

【0180】

薬剤(すなわち、本明細書において記載されている化合物及び1つ以上の他の薬剤)を同時又は逐次投与してもよく、個別に様々な用量スケジュールで、且つ異なる経路により投与されてもよい。例えば、逐次投与される場合、薬剤は、近接した時間間隔(例えば、5~10分の時間)、又はより長い間隔(例えば、1時間、2時間、3時間、4時間若しくはそれより長い時間離して、又は必要な場合、もっと長い時間離して)で投与することができ、正確

50

な投与量レジメンは、治療剤の特性と見合うものである。

【0181】

薬剤(すなわち、ここで記載されている化合物及び1つ以上の他の薬剤)は単一剤形で一緒に製剤化されていてもよく、又は代替として、個別の薬剤が個別に製剤化され、場合によりそれらの使用に関する指示書を含むキットの形態で一緒に提供されてもよい。

【0182】

他の使用

本明細書に記載されているHMC化合物は、例えば、候補宿主が目的の化合物による処置から恩恵を受ける可能性があるかどうかを決定するためのインビトロアッセイの一部として用いることもできる。

【0183】

本明細書に記載されているHMC化合物はまた、他の化合物、すなわち他の抗炎症剤などを特定するため、例えばアッセイにおける標準品として使用することもできる。

【0184】

キット

本発明の一態様は、(a)例えば、好ましくは、好適な容器中、及び/又は好適な包装により提供される、本明細書に記載されているHMC化合物又は本明細書に記載されているHMC化合物を含む組成物、及び(b)使用のための指示書、例えば該化合物又は組成物を投与する方法に関する書面による指示書を含むキットに関する。

【0185】

一実施形態において、本キットはさらに、1つ以上(例えば、1つ、2つ、3つ、4つ)の本明細書に記載されている追加の治療剤を含む。

【0186】

書面による指示書はまた、活性成分がそれらにとって好適な処置である、適応症の一覧表示を含むことができる。

【0187】

投与経路

本HMC化合物又はHMC化合物を含む医薬組成物は、対象に、全身的/末梢的、又は局所的(すなわち、所望の作用部位)に関わりなく、任意の好都合な投与経路によって投与することができる。

【0188】

投与経路には、経口(例えば、摂取による)、口腔内、舌下、経皮(例えば、パッチ剤、プラスター剤などによる)、経粘膜(例えば、パッチ剤、プラスター剤などによるものを含む)、鼻内(例えば、鼻内スプレー剤、ドロップ剤により、又は噴霧器若しくはドライパウダー送達装置から)、経眼(例えば、点眼液による)、経肺(例えば、例えばエアゾール剤を使用する、例えば、口又は鼻による吸入又は吹送療法によって)、経直腸(例えば、坐剤又は浣腸による)、経膣(例えば、ペッサリー剤による)、例えば、注射による非経口(皮下、皮内、筋肉内、静脈内、動脈内、心臓内、クモ膜下腔内、髄腔内、嚢内、嚢下、眼窩内、腹腔内、気管内、表皮下、関節内、クモ膜下、及び胸骨下を含む)、デポ剤又はリザーバー剤の埋込みによるもの(例えば、皮下又は筋肉内)が含まれる。

【0189】

好ましい一実施形態において、投与経路は、経口(例えば、摂取による)である。

【0190】

好ましい一実施形態において、投与経路は、非経口(例えば、注射による)である。

【0191】

対象/患者

対象/患者は、脊索動物、脊椎動物、哺乳動物、胎盤性哺乳動物、有袋動物(例えば、カンガルー、ウォンバット)、齧歯類(例えば、モルモット、ハムスター、ラット、マウス)、ネズミ(例えば、マウス)、ウサギ目(例えば、ウサギ)、鳥類(例えば、トリ)、イヌ科(例えば、イヌ)、ネコ科(例えば、ネコ)、ウマ科(例えば、ウマ)、ブタ類(例えば、ブタ)

10

20

30

40

50



、ヒツジ類(例えば、ヒツジ)、ウシ類(例えば、雌牛)、霊長類、サル類(simian)(例えば、サル又は類人猿)、サル類(monkey)(例えば、キヌザル、ヒヒ)、類人猿(ゴリラ、チンパンジー、オランウータン、ギボン)又はヒトとすることができる。さらに、対象/患者は、その任意の発達形態、例えば、胎児であってもよい。

【0192】

好ましい一実施形態において、対象/患者は、ヒトである。

【0193】

製剤

HMC化合物を単独で投与することは可能であるが、本明細書に記載されている少なくとも1つのHMC化合物を、薬学的に許容される担体、希釈剤、賦形剤、アジュバント、充填剤、緩衝化剤、保存剤、酸化防止剤、滑沢剤、安定化剤、可溶化剤、界面活性剤(例えば、湿潤剤)、マスキング剤、着色剤、着香剤及び甘味剤を含む、当業者に周知の1種以上の他の薬学的に許容される成分と一緒に含む医薬製剤(例えば、組成物、調製物、医薬)として提供することが好ましい。製剤はさらに、他の活性剤、例えば、他の治療剤又は予防剤を含んでもよい。

10

【0194】

したがって、本発明はさらに、上で定義されている医薬組成物、及び本明細書に記載されている少なくとも1つのHMC化合物を、当業者に周知の1種以上の他の薬学的に許容される成分、例えば、担体、希釈剤、賦形剤などと一緒に混合するステップを含む医薬組成物を作製する方法を提供する。個別の単位(例えば、錠剤など)として製剤化される場合、各単位は、所定量(投与量)の化合物を含有する。

20

【0195】

本明細書で使用する用語「薬学的に許容される」は、妥当な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題、又は合併症を伴わず、妥当な利益/リスク比に見合う、目的の対象(例えばヒト)の組織に接触させて使用するのに好適な化合物、成分、物質、組成物、剤形などに関する。各担体、希釈剤、賦形剤などはやはり、製剤の他の成分と適合し得るという意味において「許容される」ものでなければならない。

【0196】

好適な担体、希釈剤、賦形剤などは、標準的な医薬書、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences、第18版、Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990年及びHandbook of Pharmaceutical Excipients、第5版、2005年に見いだすことができる。

30

【0197】

本製剤は、製薬分野において周知のいずれの方法によっても調製することができる。こうした方法は、本化合物を、1種以上の補助成分を構成する担体と一緒にするステップを含む。一般に、本製剤は、本化合物を担体(例えば、液状担体、微粉碎固体担体など)と均一及び完全に一緒にし、次いで、必要に応じて生成物を成形することによって調製される。

【0198】

本製剤は、急速若しくは徐放放出、即時放出、遅延放出、時限放出、又は持続放出、或いはそれらの組合せを実現するように調製することができる。

40

【0199】

製剤は、好適には、液剤、溶液剤(例えば、水性、非水性)、懸濁剤(例えば、水性、非水性)、エマルション剤(例えば、水中油型、油中水型)、エリキシル剤、シロップ剤、舐剤、洗口剤、ドロップ剤、錠剤(例えば、コーティング錠剤を含む)、粒剤、粉剤、ロゼンジ剤、パステル剤、カプセル剤(例えば、硬質及び軟質ゼラチンカプセル剤を含む)、カシエ剤、丸剤、アンプル剤、ボーラス剤、坐剤、ペッサリー剤、チンキ剤、ゲル剤、ペースト剤、軟膏剤、クリーム剤、ローション剤、油剤、フォーム剤、スプレー剤、ミスト剤又はエアゾール剤の形態とすることができる。

【0200】

製剤は、好適には、1つ以上の化合物、及び場合により1つ以上の他の薬学的に許容され

50

る成分(例えば、浸透剤、透過剤及び吸収増強剤を含む)が含浸されているパッチ剤、粘着性プラスター剤、包帯、又はドレッシング剤等として提供することができる。製剤はまた、好適には、デポ剤又はリザーバー剤の形態で提供することもできる。

#### 【0201】

本化合物を、1つ以上の他の薬学的に許容される成分に溶解する、懸濁させる、又はこれと混合することができる。本化合物を、例えば、化合物に血液構成要素又は1つ以上の臓器を標的とするように設計されたりポソーム又は他のマイクロ粒子中で提供することができる。

#### 【0202】

経口投与(例えば、摂取による)に好適な製剤には、液剤、溶液剤(例えば、水性、非水性)、懸濁剤(例えば、水性、非水性)、エマルション剤(例えば、水中油型、油中水型)、エリキシル剤、シロップ剤、舐剤、錠剤、粒剤、粉剤、カプセル剤、カシェ剤、丸剤、アンプル剤、ボーラス剤が含まれる。

10

#### 【0203】

口腔内投与に好適な製剤には、洗口剤、ロゼンジ剤、パステル剤、並びにパッチ剤、粘着性プラスター剤、デポ剤及びリザーバー剤が含まれる。ロゼンジ剤は、通常、着香用基剤、通常、スクロース及びアカシア又はトラガカント中に化合物を含む。パステル剤は、通常、ゼラチン及びグリセリン、又はスクロース及びアカシアなどの不活性マトリックス中に化合物を含む。洗口剤は、通常、好適な液状担体中に化合物を含む。

#### 【0204】

20

舌下投与に好適な製剤には、錠剤、ロゼンジ剤、パステル剤、カプセル剤及び丸剤が含まれる。

#### 【0205】

口腔経粘膜投与に好適な製剤には、液剤、溶液剤(例えば、水性、非水性)、懸濁剤(例えば、水性、非水性)、エマルション剤(例えば、水中油型、油中水型)、洗口剤、ロゼンジ剤、パステル剤、並びにパッチ剤、粘着性プラスター剤、デポ剤及びリザーバー剤が含まれる。

#### 【0206】

非経口経粘膜投与に好適な製剤には、液剤、溶液剤(例えば、水性、非水性)、懸濁剤(例えば、水性、非水性)、エマルション剤(例えば、水中油型、油中水型)、坐剤、ペッサリー剤、ゲル剤、ペースト剤、軟膏剤、クリーム剤、ローション剤、油剤、並びにパッチ剤、粘着性プラスター剤、デポ剤及びリザーバー剤が含まれる。

30

#### 【0207】

経皮投与に好適な製剤には、ゲル剤、ペースト剤、軟膏剤、クリーム剤、ローション剤及び油剤、並びにパッチ剤、粘着性プラスター剤、包帯、ドレッシング剤、デポ剤及びリザーバー剤が含まれる。

#### 【0208】

錠剤は、従来手段、例えば、場合により1種以上の補助成分と共に圧縮又は成形することによって、作製することができる。圧縮錠剤は、場合により1種以上の結合剤(例えば、ポビドン、ゼラチン、アカシア、ソルビトール、トラガカント、ヒドロキシプロピルメチルセルロース)、充填剤又は希釈剤(例えば、ラクトース、微結晶セルロース、リン酸水素カルシウム)、滑沢剤(例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、シリカ)、崩壊剤(例えば、デンプン、グリコール酸ナトリウム、架橋ポビドン、架橋ナトリウムカルボキシメチルセルロース)、界面活性剤又は分散剤又は湿潤剤(例えば、ラウリル硫酸ナトリウム)、保存剤(例えば、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピル、ソルビン酸)、着香剤、着香増強剤及び甘味剤と混合した、粉末又は顆粒などの自由流動形態の化合物を、好適な機械において圧縮することにより調製することができる。成形錠剤は、不活性液体希釈剤により湿らせた粉末化合物の混合物を好適な機械で成形することによって作製することができる。錠剤は、場合により、コーティングするか又は刻み目を入れてもよく、例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロースを様々な割合で使用してその

40

50

中の化合物を徐放又は制御放出するように製剤化し、所望の放出プロファイルを実現することができる。錠剤は、場合により、例えば放出に影響を及ぼすよう、コーティング、例えば、胃以外の消化管の部分で放出する腸溶コーティングにより提供されてもよい。

#### 【0209】

軟膏剤は、通常、化合物、及びパラフィン又は水和性軟膏基剤から調製される。

#### 【0210】

クリーム剤は、通常、化合物及び水中油型クリーム基剤から調製される。所望の場合、クリーム基剤の水相は、例えば、少なくとも約30%w/wの多価アルコール、すなわちプロピレングリコール、ブタン-1,3-ジオール、マンニトール、ソルビトール、グリセロール及びポリエチレングリコールなどの2つ以上のヒドロキシル基を有するアルコール、並びにそれらの混合物を含むことができる。局部製剤は、望ましくは、皮膚又は他の患部による化合物の吸収又は浸透を増強する化合物を含むことができる。こうした皮膚浸透増強剤の例には、ジメチルスルホキシド及び関連類似体が含まれる。

10

#### 【0211】

エマルション剤は、通常、化合物及び油相から調製され、場合により、単に乳化剤(他には、エマルジェントとして知られている)を含んでもよく、或いは少なくとも1種の乳化剤と脂肪若しくは油との混合物、又は前記乳化剤及び脂肪と油の両方との混合物を含んでもよい。好ましくは、親水性乳化剤が、安定剤として作用する親油性乳化剤と一緒に含まれる。油及び脂肪の両方が含まれることも好ましい。乳化剤は安定剤と一緒にあって、又は安定剤なしで、いわゆる乳化ワックスを構成し、このワックスは油及び/又は脂肪と一緒にあって、いわゆる乳化軟膏基剤を構成し、この基剤がクリーム製剤の油性分散相を形成する。

20

#### 【0212】

好適なエマルジェント及びエマルション安定剤には、Tween60、Span80、セトステアリルアルコール、ミリスチルアルコール、モノステアリン酸グリセリル及び라우リル硫酸ナトリウムが含まれる。医薬用エマルション製剤に使用される可能性の高いほとんどの油への本化合物の溶解度は非常に低くなるため、製剤に好適な油又は脂肪の選択は、所望の美容的特性を達成することに基づく。したがって、クリーム剤は、好ましくは、チューブ又は他の容器からの漏れを回避するのに好適な粘稠性を有する非グリース状、非染色性及び洗浄可能な製品であるべきである。ジイソアジピン酸エステル、ステアリン酸イソセチル、ココナツ脂肪酸のプロピレングリコールジエステル、ミリスチン酸イソプロピル、オレイン酸デシル、パルミチン酸イソプロピル、ステアリン酸ブチル、パルミチン酸2-エチルヘキシル、又はクロダモールCAPとして知られている分枝鎖エステルのブレンドなどの、直鎖又は分枝鎖の一塩基性又は二塩基性アルキルエステルを使用することができる。最後の3つが好ましいエステルである。これらを必要な特性に応じて単独で又は組み合わせ使用することができる。或いは、白色軟質パラフィン及び/若しくは液体パラフィンなどの高融点脂質、又は他の鉱物油を用いることができる。

30

#### 【0213】

担体が液体である鼻内投与に好適な製剤には、例えば、鼻内スプレー剤、滴鼻剤、又は、ネブライザーによるエアゾール投与が含まれ、化合物の水性又は油性溶液が含まれる。

40

#### 【0214】

担体が固体である鼻内投与に好適な製剤には、例えば約20～約500ミクロンの範囲の粒子サイズを有する粗粉末として供給されるものが含まれ、これは、鼻の近くに保持される粉末容器から鼻路を介して嗅ぐ、すなわち、急速吸入という方法で投与される。

#### 【0215】

肺投与(例えば、吸入又は吹送療法による)に好適な製剤には、加圧パックから、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロ-テトラフルオロエタン、二酸化炭素又は他の好適な気体などの好適な噴射剤を用いて、エアゾールスプレー剤として供給されるものが含まれる。

#### 【0216】

50

眼投与に好適な製剤には点眼剤が含まれ、この場合、本化合物は、該化合物にとって好適な担体、とりわけ水性溶媒に溶解又は懸濁させる。

【0217】

直腸投与に好適な製剤は、例えば、天然油又は硬化油、ワックス、脂肪、半液体又は液体ポリオール、例えば、ココアバター又はサリチレートを含む好適な基剤を有する坐剤として、又は浣腸による処置用の溶液剤若しくは懸濁剤として供給することができる。

【0218】

膣投与に好適な製剤は、本化合物に加えて当技術分野で適切であることが知られている担体を含む、ペッサリー剤、タンポン剤、クリーム剤、ゲル剤、ペースト剤、フォーム剤、又はスプレー製剤として供給することができる。

【0219】

非経口投与(例えば、注射による)に好適な製剤には、化合物が溶解、懸濁されている、又はその他(例えば、リポソーム又は他のマイクロ粒子中)で供給される水性又は非水性液剤、等張液剤、発熱物質不含液剤、無菌液剤(例えば、溶液剤、懸濁剤)が含まれる。こうした液剤は、酸化防止剤、緩衝化剤、保存剤、安定剤、静菌剤、懸濁化剤、増粘剤、及び製剤を所期のレシピエントの血液(又は、他の関連体液)を等張性にする溶質などの他の薬学的に許容される成分をさらに含有してもよい。賦形剤の例には、例えば、水、アルコール、ポリオール、グリセロール、植物油などが含まれる。こうした製剤における使用に好適な等張性担体の例には、塩化ナトリウム注射液、リンゲル液又は乳酸加リンゲル注射液が含まれる。通常、液剤中の化合物の濃度は、約1ng/mL～約10µg/mL、例えば、約10ng/mL～約1µg/mLである。本製剤は、単位用量又は多回用量用の密封容器、例えばアンプル及びバイアル中で供給されてもよく、使用の直前に無菌の液体担体、例えば注射用の水の添加しか必要としない冷凍乾燥(凍結乾燥)状態で保管することができる。即時性の注射用溶液剤及び懸濁剤は、無菌の散剤、粒剤及び錠剤から調製することができる。

【0220】

投与量

HMC化合物、及びHMC化合物を含む組成物の適切な投与量が、患者毎に様々となり得ることが、当業者により理解されよう。最適投与量の決定は、一般に、治療的利益のレベルを何らかのリスク又は有毒な副作用とバランスさせることが必要となろう。選択される投与量レベルは、特定のHMC化合物の活性、投与経路、投与時間、HMC化合物の排出速度、処置期間、併用される他の薬物、化合物及び/又は物質、状態の重症度、並びに患者の種、性別、年齢、体重、状態、総合的健康及び過去の医療歴を含む、様々な要因に依存することになる。HMC化合物の量及び投与経路は、最終的には、医師、獣医師又は臨床医の裁量に委ねられるが、一般には、投与量は、実質的に有害又は有毒な副作用を引き起こすことなく、所望の効果を達成する作用部位における局部濃度を達成するように選択されるであろう。

【0221】

投与は、処置の過程全体を通じて、1回分の用量で、連続的又は断続的に(例えば、適切な間隔での分割用量で)行うことができる。最も効果的な投与手段及び投与量の決定方法は、当業者に周知であり、治療に使用される製剤、治療の目的、処置される標的細胞、及び処置される対象に応じて様々になるであろう。単回又は多回投与を、処置を行う医師、獣医師又は臨床医により選択される用量レベル及びパターンで実施することができる。

【0222】

一般に、HMC化合物の好適な用量は、1日当たり対象の体重1キログラム当たり約50µg～約20mg(より一般には、約100µg～約10mg)の範囲にある。肺投与(例えば、吸入による)の場合、好適な投与量は、1日当たり、対象の体重1キログラム当たり、約50ng～約1mgの範囲にある。化合物が塩、エステル、アミド又はプロドラッグなどである場合、投与量は親化合物に基づいて計算され、その結果、使用される実際の重量は比例して増量される。

【0223】

化学合成

HMC化合物の化学合成法は、本明細書に記載されている。合成の代替的若しくは改善方法を提供するため、これら及び/又は他の周知の方法(例えば、Greigら、2010年(a)、Bahmanyarら、2010年を参照されたい)を改良する、及び/又は公知の方法に適合させることができる。

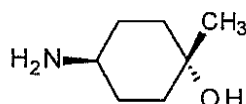
【0224】

合成1

(1r,4r)-4-アミノ-1-メチルシクロヘキサン-1-オール

【0225】

【化15】



10

【0226】

300mLのオートクレーブ中、水酸化パラジウム(水により50%ウェット、2.0g)を撹拌した(1r,4r)-4-(ジベンジルジアミノ)-1-メチルシクロヘキサノール(7.5g、24.2mmol)のメタノール(100mL)溶液に加えた。オートクレーブに水素(50atm、約5MPa)を充填し、80℃で24時間、加熱した。この混合物を冷却し、触媒をろ別した。このろ液をオートクレーブに戻し、水酸化パラジウム(水により50%ウェット、3.0g)を加えた。このオートクレーブに水素(50atm、約5MPa)を充填し、80℃で一晩、加熱した。この混合物を冷却して、セライトによりろ過し、ろ液を濃縮すると、表題化合物がオフホワイトの粘着性固体(3.2g、定量的)として得られた。

20

$^1\text{H}$  NMR: (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) 2.86-2.76 (1H, m), 1.84-1.76 (2H, m), 1.75-1.63 (2H, m), 1.55-1.43 (2H, m), 1.30-1.17 (5H, m).

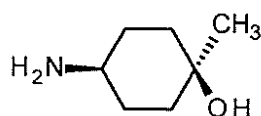
【0227】

合成1A

(1s,4s)-4-アミノ-1-メチルシクロヘキサン-1-オール

【0228】

【化16】



30

【0229】

(1s,4s)-4-ジベンジルアミノ-1-メチルシクロヘキサン-1-オール(各回分は、15gで合計で60g)の4つの等量の回分を、以下の通り、個別に脱ベンジル化した。エタノール(450mL)中の(1s,4s)-4-ジベンジルアミノ-1-メチルシクロヘキサン-1-オール(15g、193.9mmol)に、10%水酸化パラジウム(15g、50%ウェット触媒)を加えた。この反応混合物に窒素ガス、次いで水素ガスを勢いよく流し、水素雰囲気下、室温で16時間、撹拌した。溶液をセライトによりろ過し、追加の酢酸エチルにより洗浄した。4つの回分全部からのろ液を合わせて減圧下で蒸発させると、表題化合物(23g、91.8%収率)が得られた。この化合物をさらに精製することなく、次の工程に使用した。

40

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 2.6 (m, 1H), 1.74-1.56 (m, 4H), 1.5-1.3 (m, 7H), 1.21 (s, 3H).

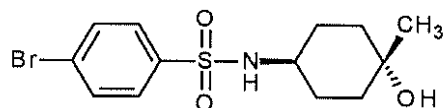
【0230】

合成2

4-プロモ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド

【0231】

## 【化 1 7】



## 【 0 2 3 2】

(1*r*,4*r*)-4-アミノ-1-メチルシクロヘキサノール(3.6g、27.86mmol)のジクロロメタン(150mL)溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(24mL、137.8mmol)を加え、この反応混合物を0℃に冷却した。塩化4-プロモベンゼン-1-スルホニル(7.83g、30.6mmol)を固体として加え、この反応混合物を室温で4時間撹拌した。この反応混合物を1*M*塩酸により中和し、この化合物をジクロロメタンに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をペンタンにより洗浄し、ろ過して乾燥すると、表題化合物(7g、72%)が得られた。

10

<sup>1</sup>H NMR: (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.74 (2H, d), 7.65 (2H, d), 4.77-4.61 (1H, m), 3.33-3.23 (1H, m), 1.85-1.75 (2H, m), 1.63-1.51 (2H, m), 1.49-1.30 (4H, m), 1.20 (3H, s).

LCMS: (稼働時間: 3.5分): 保持時間: 1.33分 (97%, MS (ESI) *m/z* 346 (M-H)<sup>+</sup>).

## 【 0 2 3 3】

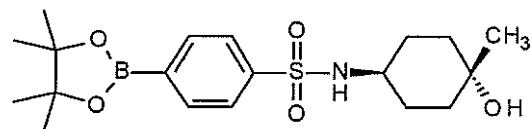
合成3

N-((1*r*,4*r*)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド

20

## 【 0 2 3 4】

## 【化 1 8】



## 【 0 2 3 5】

4-プロモ-N-((1*r*,4*r*)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド(9g、25.8mmol)、4,4,4',4',5,5,5',5'-オクタメチル-2,2'-ビ(1,3,2-ジオキサボロラン)(9.87g、38.9mmol)及び酢酸カリウム(7.6g、77.5mmol)のトルエン(50mL)溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(1.8g、2.5mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気して、100℃で4時間、撹拌した。この溶媒を減圧下で蒸発させ、化合物を酢酸エチルに抽出した。

30

有機層を分離し、硫酸ナトリウムにより脱水し、減圧下で濃縮すると、表題化合物(8g、78%)が得られた。MS(ESI)*m/z*394(M-H)<sup>+</sup>。大きな規模の回分の場合、この化合物をさらに精製することなく使用した。この調製をより小さな規模で実施した場合、残留物をエーテルにとり、ろ過して、ろ液を濃縮すると所望の生成物が得られた。

## 【 0 2 3 6】

合成4

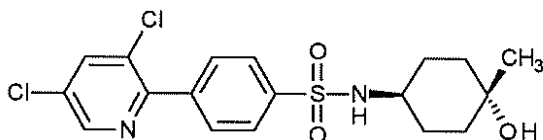
4-(3,5-ジクロロピリジン-2-イル)-N-((1*r*,4*r*)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド

40

(HMC-N-03-A)

## 【 0 2 3 7】

## 【化 19】



## 【0238】

ジオキサンと水(3:1、20mL)からなる混合物を脱気した。2,3,5-トリクロロピリジン(1.65g、9.0mmol)、N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(1.8g、4.6mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.24g、9.0mmol)及び[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(257mg、0.35mmol)を加え、この反応混合物をマイクロ波オーブン中、120℃で3時間、撹拌した。この反応混合物を濃縮し、酢酸エチルにより希釈して水により洗浄した。この有機抽出物を乾燥(MgSO<sub>4</sub>)して濃縮すると、粗製残留物が得られ、これをフラッシュカラム(溶離液:ヘプタン中の40~50%酢酸エチル)により精製した。この生成物を3回、結晶化(酢酸エチル/ヘプタン)することによりさらに精製すると、表題化合物(284mg、15%)が得られた。

<sup>1</sup>H NMR: (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.59 (1H, m), 7.97 (2H, d), 7.92-7.85 (3H, m), 4.62-4.55 (1H, m), 3.38-3.28 (1H, m), 1.92-1.76 (2H, m), 1.8-1.35 (7H, m), 1.22 (3H, s)。

LCMS: 移動相A: 水中0.05%トリフルオロ酢酸、移動相B: アセトニトリル中0.05%トリフルオロ酢酸、カラム: YMC ODS A、C18(50×4.6mm)3μm、流速: 1.2mL/分、温度: 周囲。稼働時間: 4.5分-開始溶媒20:80のB:Aを、最初の3分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、0.5分間、95:5のB:Aに保持し、次に、直ちに最後の1.5分間、20:80のB:Aに戻した。保持時間: 2.50分、m/z 415(M+H)<sup>+</sup>。

## 【0239】

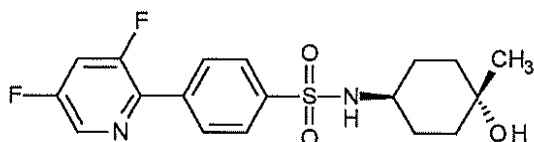
合成5

4-(3,5-ジフルオロピリジン-2-イル)-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド

(HMC-N-02-A)

## 【0240】

## 【化 20】



## 【0241】

ジオキサン:水(9:1、100mL)、N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(20g、50.6mmol)、2-ブロモ-3,5-ジフルオロピリジン(14.73g、75.94mmol)及び炭酸ナトリウム(10.73g、101.2mmol)の撹拌溶液を、アルゴンを使用して、10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(3.7g、5.06mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気して、110℃で6時間、撹拌した。この溶媒を減圧下で蒸発させ、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、フラクションを濃縮して最少量の体積にし、次にろ過した。得られた残留物をヘキサン中の20%酢酸エチル、次いでn-ペンタンにより洗浄すると、表題化合物(8g、41%)が得られた。

<sup>1</sup>H NMR: (400 MHz; メタノール-d<sub>4</sub>) 8.54 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.11 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.99 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.74 (m, 1H), 3.20 (m, 1H), 1.83 - 1.27 (m, 8H)

), 1.18 (s, 3H).

LCMS: 移動相A: 水中10mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5% 移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3uM、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒が30:70のB:Aを最初の1.75分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで向上し、1分間、95:5のB:Aに保持し、1.25分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間1.88分、m/z381(M-H)<sup>+</sup>。

【0242】

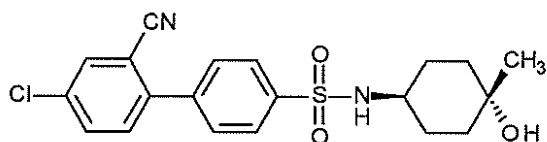
合成6

4'-クロロ-2'-シアノ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ビフェニル-4-スルホンアミド

(HMC-C-01-A)

【0243】

【化21】



【0244】

ジオキサン: 水(9:1、100mL)、N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(12g、30.4mmol)、2-ブromo-5-クロロベンゾニトリル(9.86g、45.5mmol)及び炭酸ナトリウム(6.44g、60.8mmol)の攪拌溶液を、アルゴンを使用して、10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(2.21g、3.0mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気して、110℃で6時間、攪拌した。この溶媒を減圧下で蒸発させ、化合物を酢酸エチルに抽出した。この有機層を分離して硫酸ナトリウムにより脱水し、減圧下で濃縮し、次いで、n-ペンタン(2回)により洗浄し、真空下、45~50℃で乾燥すると、表題化合物(5.7g、46.5%)が得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, メタノール-d<sub>4</sub>) 8.01 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.95 (m, 1H), 7.83-7.74 (m, 3H), 7.64 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 3.25 - 3.17 (m, 1H), 1.8-1.54 (m, 4H), 1.47-1.34 (m, 4H), 1.18 (s, 3H).

LCMS: 移動相A: 水中10mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5% 移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3uM、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2.5分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、0.5分間、95:5のB:Aに保持し、1分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.167分、m/z403(M-H)<sup>+</sup>。

【0245】

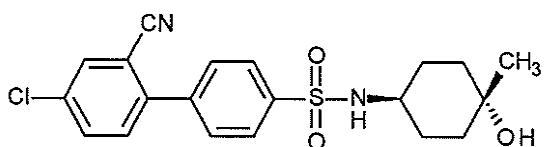
合成6A

4'-クロロ-2'-シアノ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ビフェニル-4-スルホンアミド

(HMC-C-01-A)

【0246】

【化22】



【0247】

10Lのフラスコに、微粉碎(1r,4r)-4-アミノ-1-メチルシクロヘキサン-1-オール(123.7g

10

20

30

40

50



、0.957mol)及びジクロロメタン(2400mL)を投入した。トリエチルアミン(534mL、3.830mol)を滴下して加えた。懸濁液を5 未満に冷却し、25 未満の温度に維持しながら、ジクロロメタン(768mL)中の塩化4-(4-クロロ-2-シアノフェニル)ベンゼン-1-スルホニル(298.9g、0.957mol)を滴下して加えた。この反応混合物を室温まで温め、40時間撹拌した。この反応混合物を10 未満に冷却し、25 未満の温度(発熱が起こる添加であり、白色煙が観察された)に維持しながら、2M水性塩酸(2090mL)を滴下して加えた。相を分離して、有機層を水(2090mL)により洗浄した。有機物を無水硫酸マグネシウムにより脱水し、ろ過して残留物をジクロロメタンにより洗浄(2×50mL)した。次に、合わせたる液を、同様のより小さな規模の塩化4-(4-クロロ-2-シアノフェニル)ベンゼン-1-スルホニル(50g)と(1r,4r)-4-アミノ-1-メチルシクロヘキサン-1-オールとの反応に由来する粗生成物と合わせ、合わせた物質のすべてを直接、シリカ(800g)上に吸着させた。これを、最初に酢酸エチル:ジクロロメタン20:80、次に酢酸エチル:ジクロロメタン30:70、40:60、50:50の混合物で逐次、次いで酢酸エチルだけで溶出させた、シリカ(8000g)上のクロマトグラフィーにより精製した。生成物を含有しているフラクションを合わせて濃縮すると、黄色固体が得られた。この物質を真空オーブン中、40 で一晩、乾燥すると、表題化合物(406.8g、総収率88%)が得られた。NMRによる分析は、>97%の純度であることを示した。

<sup>1</sup>H NMR: (270 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 8.02 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.78 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.73-7.63 (m, 3H), 7.49 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 4.89 (d, J = 7 Hz, 1H), 3.38 (m, 1H), 1.98-1.75 (m, 2H), 1.75-1.3 (m, 7H, m), 1.23 (s, 3H).

HPLC:移動相A:精製水+0.1%トリフルオロ酢酸、移動相B:アセトニトリル+0.1%トリフルオロ酢酸、カラム:Fortis C18 4.6×150mm、3μm、流速:1.0mL/分、稼働時間:30分-開始溶媒5:95のB:Aを、最初に15分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、最後の15分間、95:5のB:Aに保持する。保持時間12.0分。質量スペクトル:Bruker Esquire3000 Plus Ion Trap MS、ポジティブイオン極性、ESI:m/z403(M-H)<sup>+</sup>。

【0248】

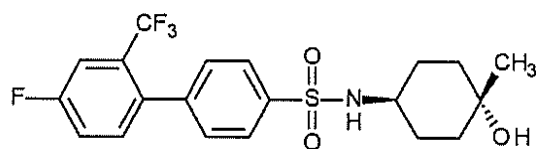
合成7

4'-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-2'-(トリフルオロメチル)ピフェニル-4-スルホンアミド

(HMC-C-02-A)

【0249】

【化23】



【0250】

ジオキサン:水(9:1、100mL)、N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド-イル)ベンゼンスルホンアミド(20g、50.6mmol)、1-ブromo-4-フルオロ-2-(トリフルオロメチル)ベンゼン(18.45g、75.9mmol)及び炭酸ナトリウム(10.73g、101.2mmol)の撹拌溶液を、アルゴンを使用して、10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(3.7g、5.06mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気して、110 で6時間、撹拌した。この溶媒を減圧下で蒸発させ、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、フラクションを濃縮し、次にろ過した。得られた残留物を最少量の体積のジクロロメタンにより洗浄し、次いで、n-ペンタン(2回)により洗浄し、真空下、45~50 で乾燥すると、表題化合物(10.2g、47%)が得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, メタノール-d<sub>4</sub>) 7.93 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.59 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.46 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 3.20 (m, 1H), 1.79 -

1.51 (m, 4H), 1.49 - 1.30 (m, 4H), 1.18 (s, 3H).

LCMS: 移動相A: 水中10mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5% 移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3μm、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の1.75分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1分間、95:5のB:Aに保持し、1.25分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.16分、m/z 430(M-H)<sup>+</sup>。

【0251】

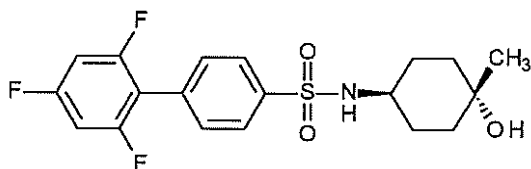
合成8

2',4',6'-トリフルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ビフェニル-4-スルホンアミド

(HMC-C-03-A)

【0252】

【化24】



【0253】

ジオキサソと水(3:1、20mL)からなる混合物を脱気した。1-ブロモ-2,4,6-トリフルオロベンゼン(1.91g、9.1mmol)、N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(1.8g、4.6mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.24g、9.0mmol)及び[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(257mg、0.35mmol)を加え、この反応混合物をマイクロ波オーブン中、120℃で3時間、撹拌した。この反応混合物を濃縮し、酢酸エチルにより希釈して水により洗浄した。この有機抽出物を乾燥(MgSO<sub>4</sub>)して濃縮すると、粗製残留物が得られ、これをフラッシュカラム(溶離液: ヘプタン中の40~50%の酢酸エチル)により精製した。この生成物を結晶化(酢酸エチル/ヘプタン)によりさらに精製すると、表題化合物(620mg、34%)が得られた。

<sup>1</sup>H NMR: (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>) 7.95 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 6.80 (t, 2H), 4.62-4.52 (m, 1H), 3.41-3.30 (m, 1H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.66-1.34 (m, 6H), 1.22 (s, 3H).

LCMS: 移動相A: 水中10mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5% 移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3μm、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 5.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2.5分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1分間、95:5のB:Aに保持し、1.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.40分、m/z400(M+H)<sup>+</sup>。

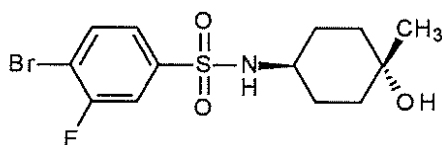
【0254】

合成9

4-ブロモ-3-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド

【0255】

【化25】



【0256】

(1r,4r)-4-アミノ-1-メチルシクロヘキサノール(3g、23.2mmol)のジクロロメタン(150mL)溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(20mL、116.2mmol)を加え、この反応混合物を0

10

20

30

40

50

に冷却した。塩化4-ブromo-3-フルオロベンゼン-1-スルホニル(6.98g、25.5mmol)を固体として加え、この反応混合物を室温で4時間撹拌した。この反応混合物を1M塩酸により中和し、この化合物をジクロロメタンに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をn-ペンタンにより洗浄し、ろ過して乾燥すると、表題化合物(7g、82%)が得られた。MS(ESI)m/z368(M+H)<sup>+</sup>。

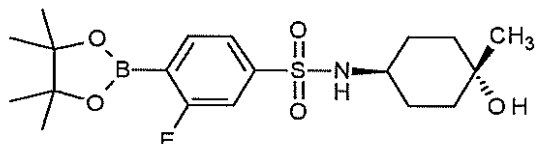
【0257】

合成10

3-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド

【0258】

【化26】



【0259】

トルエン(50mL)、4-ブromo-3-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド(9g、24.6mmol)、4,4,4',4',5,5,5',5'-オクタメチル-2,2'-ビ(1,3,2-ジオキサボロラン)(9.33g、36.7mmol)及び酢酸カリウム(7.23g、73.7mmol)の撹拌溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(1.8g、2.5mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気して、110℃で4時間、撹拌した。この反応混合物を室温まで冷却し、セライトによりろ過した。有機層を分離し、硫酸ナトリウムにより脱水し、減圧下で濃縮すると、表題化合物(10g、98%)が得られた。大きな規模の回分の場合、この化合物をさらに精製することなく使用した。この調製をより小さな規模で実施した場合、残留物をエーテルにとり、ろ過して、ろ液を濃縮すると所望の生成物が得られた。MS(ESI)m/z412(M-H)<sup>+</sup>。

【0260】

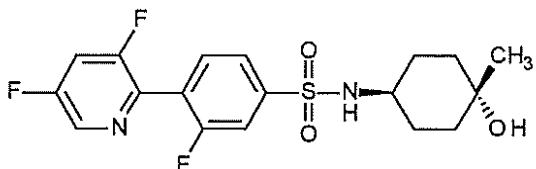
合成11

4-(3,5-ジフルオロピリジン-2-イル)-3-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド

(HMC-N-01-A)

【0261】

【化27】



【0262】

ジオキササン(50mL)、3-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(18g、43.6mmol)、2-ブromo-3,5-ジフルオロピリジン(12.68g、65.37mmol)及び炭酸セシウム(35.52g、109.0mmol)の撹拌溶液を、アルゴンを使用して、10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(3.2g、4.4mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気して、次に110℃で6時間、撹拌した。この溶媒を減圧下で蒸発させ、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製し、次いでn-ペンタンにより洗浄すると表題化合物(8.19g、47%)が得られた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, メタノール-d<sub>4</sub>) 8.55 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.87 - 7.71 (m, 4H)

, 3.24 (m, 1H), 1.8-1.7 (m, 2H), 1.66-1.55 (m, 2H), 1.51 - 1.34 (m, 4H), 1.19 (s, 3H).

LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3μM、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2.5分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、0.5分間、95:5のB:Aに保持し、1分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間1.88分、m/z399(M-H)<sup>+</sup>。

【 0 2 6 3 】

合成12

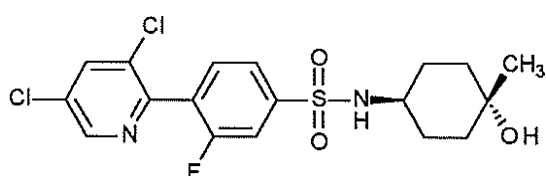
4-(3,5-ジクロロピリジン-2-イル)-3-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド

10

(HMC-N-04-A)

【 0 2 6 4 】

【 化 2 8 】



【 0 2 6 5 】

20

3-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(0.338g、0.82mmol)のジメトキシエタン(10mL)溶液を、15分間、アルゴンによりパージした。水中の2-プロモ-3,5-ジクロロピリジン(0.185g、0.82mmol)及び炭酸ナトリウム(0.175g、1.65mmol)を加え、アルゴンを使用して30分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(0.12g、0.16mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気して、次に、80℃で2時間、撹拌した。この反応混合物を冷却し、セライトによりろ過した。溶媒を減圧下で蒸発させて、ヘキサン中の50%酢酸エチルを使用するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製すると、表題化合物(0.04g、11%)が得られた。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, メタノール-d<sub>4</sub>) 1.19 (3H, s), 1.33 - 1.52 (4H, m), 1.54-1.66 (2H, m), 1.69 - 1.82 (2H, m), 3.25 (1H, m), 7.68 (1H, m), 7.75 (1H, m), 7.82 (1H, m), 8.20 (1H, d, J = 2.1 Hz), 8.65 (1H, d, J = 2.1 Hz).

30

LCMS: 移動相A: 水中10mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3μM、流速: 1.2mL/分、稼働時間: 5分-開始溶媒35:65のB:Aを最初の2.5分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.3分間、95:5のB:Aに保持し、直ちに、最後の1.2分間かけて、35:65のB:Aまで低下させた。保持時間2.59分、m/z431(M-H)<sup>+</sup>。

【 0 2 6 6 】

合成13

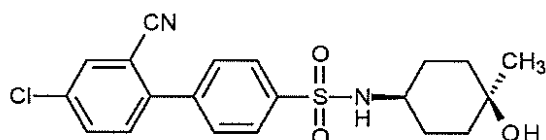
4'-クロロ-2'-シアノ-N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-[1,1'-ビフェニル]-4-スルホンアミド

40

(HMC-C-01-B)

【 0 2 6 7 】

【 化 2 9 】



【 0 2 6 8 】

50

N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(17g、43.0mmol)、2-ブロモ-5-クロロベンゾニトリル(14g、64.7mmol)及び炭酸ナトリウム(9.1g、86mmol)のジオキサン:水(240 mL、9:1)溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(3.14g、4.3mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気した。この反応混合物を110℃で6時間、加熱した。溶媒を減圧下で蒸発させて水を加え、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。溶離液として、ヘキサン中の20~40%酢酸エチルを使用する、100~200メッシュのシリカゲルを使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製した。フラクションを1/10の体積(85mL)まで濃縮し、次にろ過した。得られた残留物をヘキサン中の20%酢酸エチル、次いでn-ペンタンにより洗浄すると、表題化合物が得られた。収率:5.8g、33%(2工程通算)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) 8.04 - 7.97 (m, 2H), 7.79 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.69-7.64 (m, 3H), 7.48 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.45 (d, J = 8 Hz, 1H), 3.3-3.15 (br, 1H), 1.74 - 1.51 (m, 6H), 1.45-1.35 (m, 2H), 1.20 (s, 3H), 1.00 (s, 1H).  
LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3μm、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.5分間、95:5のB:Aに保持し、0.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.62分、m/z403.30[M-1]。

【0269】

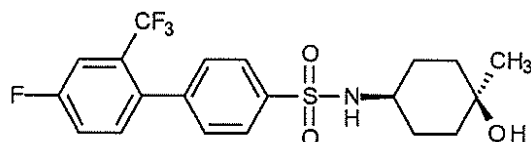
合成14

4'-フルオロ-N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-2'-(トリフルオロメチル)-[1,1'-ビフェニル]-4-スルホンアミド

(HMC-C-02-B)

【0270】

【化30】



【0271】

N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(13.5g、34.1mmol)、1-ブロモ-4-フルオロ-2-(トリフルオロメチル)ベンゼン(12.45g、51.2mmol)及び炭酸ナトリウム(7.24g、68.3mmol)のジオキサン:水(230mL、9:1)溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(2.49g、3.4mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気した。この反応混合物を110℃で6時間、加熱した。溶媒を減圧下で蒸発させて水を加え、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。溶離液として、ヘキサン中の20~40%酢酸エチルを使用する、100~200メッシュのシリカゲルを使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製した。フラクションを1/10の体積(80mL)まで濃縮し、次にろ過した。得られた残留物をヘキサン中の20%酢酸エチル、次いでn-ペンタンにより洗浄すると、表題化合物が得られた。収率:5.6g、20%(2工程通算)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) 7.97 - 7.88 (m, 2H), 7.52 - 7.40 (m, 3H), 7.31 (dd, J = 7.0, 2.4 Hz, 2H), 4.40 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.25-3.12 (br, 1H), 1.70 - 1.50 (m, 6H), 1.45-1.33 (m, 2H), 1.20 (s, 3H), 1.00 (bs, 1H).

LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3μm、流速: 1.4mL/分、稼働

時間:4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.5分間、95:5のB:Aに保持し、0.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.79分、 $m/z$ 430[M-1]。

【0272】

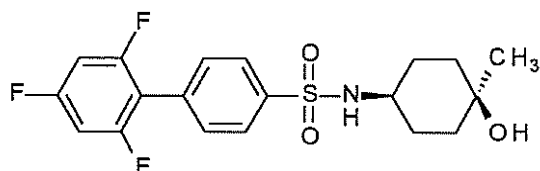
合成15

2',4',6'-トリフルオロ-N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-[1,1'-ビフェニル]-4-スルホンアミド

(HMC-C-03-B)

【0273】

【化31】



【0274】

N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(15g、37.9mmol)、2-ブromo-1,3,5-トリフルオロベンゼン(12g、56.9mmol)及び炭酸ナトリウム(8.03g、75.8mmol)のジオキサン:水(250mL、9:1)溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(2.77g、3.8mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気した。この反応混合物を110℃で6時間、加熱した。溶媒を減圧下で蒸発させて水を加え、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。溶離液として、ヘキサン中の20~40%酢酸エチルを使用する、100~200メッシュのシリカゲルを使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製した。フラクションを1/10の体積(90mL)まで濃縮し、次にろ過した。得られた残留物をヘキサン中の20%酢酸エチル、次いでn-ペンタンにより洗浄すると、表題化合物が得られた。収率:4.98g、18%(2工程通算)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, クロロホルム-d) 7.99 - 7.92 (m, 2H), 7.61 - 7.53 (m, 2H), 6.80 (t,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 4.39 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 3.25-3.12 (br, 1H), 1.75 - 1.51 (m, 6H), 1.48 - 1.33 (m, 2H), 1.20 (s, 3H), 0.99 (s, 1H).

LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3μm、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.5分間、95:5のB:Aに保持し、0.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.65分、 $m/z$ 398[M-1]。

【0275】

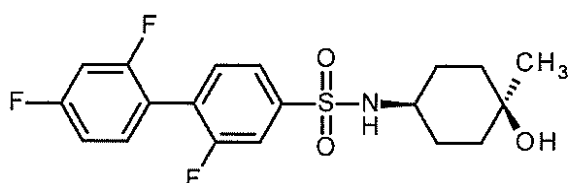
合成16

2,2',4'-トリフルオロ-N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-[1,1'-ビフェニル]-4-スルホンアミド

(HMC-C-04-B)

【0276】

【化32】



【0277】

3-フルオロ-N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(3.1g、7.5mmol)、1-ブromo-2,4-ジフルオロベンゼン(2.1g、10.9mmol)及び炭酸ナトリウム(1.6g、15.0mmol)のジオキサン:水(60mL、5:1)溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(0.548g、0.75mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気した。この反応混合物を110℃で6時間、加熱した。溶媒を減圧下で蒸発させて水を加え、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。溶離液としてヘキサン中の20~40%酢酸エチルを用いる、100~200メッシュのシリカゲルを使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製すると、表題化合物が得られた。収率:0.6g、18%(2工程通算)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) 7.73-7.69 (m, 2H), 7.56-7.47 (m, 1H), 7.44-7.32 (m, 1H), 7.06 - 6.91 (m, 2H), 4.41 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.27-3.14 (br, 1H), 1.76 - 1.52 (m, 6H), 1.48 - 1.35 (m, 2H), 1.21 (s, 3H), 0.97 (s, 1H).

LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart, C18(50×4.6mm)3μm、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.5分間、95:5のB:Aに保持し、0.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.70分、m/z398[M-1]。

【0278】

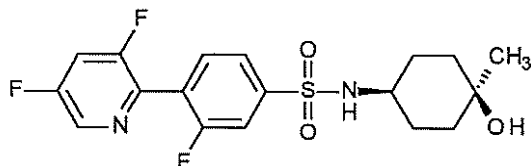
合成17

4-(3,5-ジフルオロピリジン-2-イル)-3-フルオロ-N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド

(HMC-N-01-B)

【0279】

【化33】



【0280】

3-フルオロ-N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(22g、53.2mmol)、2-ブromo-3,5-ジフルオロピリジン(15.5g、79.9mmol)及び炭酸セシウム(52.0g、159.6mmol)のジオキサン:水(100mL)溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(3.9g、5.3mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気した。この反応混合物を110℃で6時間、加熱した。溶媒を減圧下で蒸発させて水を加え、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。溶離液として、ヘキサン中の20~40%酢酸エチルを使用する、100~200メッシュのシリカゲルを使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製した。フラクションを1/10の体積(110mL)まで濃縮し、ろ過した。得られた残留物をヘキサン中の20%酢酸エチル、次いでn-ペンタンにより洗浄すると、表題化合物が得られた。収率:5.6g、26%(2工程通算)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) 8.50 (m, 1H), 7.83 - 7.67 (m, 3H), 7.41-7.33 (m, 1H), 4.43 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.28-3.13 (m, 1H), 1.74 - 1.52 (m, 6H), 1.46-1.35 (m, 2H), 1.21 (s, 3H), 0.97 (s, 1H).

LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart, C18(50×4.6mm)3μm、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.5分間、95:5のB:Aに保持し、0.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最

後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.42分、 $m/z$ 399[M-1]。

【0281】

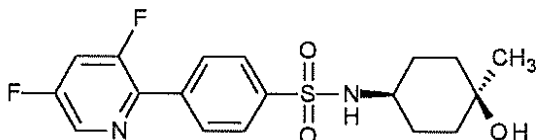
合成18

4-(3,5-ジフルオロピリジン-2-イル)-N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド

(HMC-N-02-B)

【0282】

【化34】



10

【0283】

N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(26.5g、67.0mmol)、2-ブromo-3,5-ジフルオロピリジン(19.5g、100.5mmol)及び炭酸ナトリウム(14.22g、134.2mmol)のジオキサン:水(250mL、9:1)攪拌溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(4.90g、6.70mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気した。この反応混合物を110℃で6時間、加熱した。溶媒を減圧下で蒸発させて水を加え、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮すると残留物が得られた。溶離液として、ヘキサン中の20~40%酢酸エチルを使用する、100~200メッシュのシリカゲルを使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製した。フラクションを1/10の体積(100mL)まで濃縮し、次にろ過した。得られた残留物をヘキサン中の20%酢酸エチル、次いでn-ペンタンにより洗浄すると、表題化合物が得られた。収率:5.9g、26%(2工程通算)。

20

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, クロロホルム-d) 8.48 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 8.13 - 8.06 (m, 2H), 7.98 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.39-7.31 (m, 1H), 4.39 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 3.25-3.1 (br, 1H), 1.72 - 1.5 (m, 6H), 1.42-1.32 (m, 2H), 1.19 (s, 3H), 0.96 (s, 1H)。

LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart, C18(50×4.6mm)3 $\mu$ m、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.5分間、95:5のB:Aに保持し、0.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.41分、 $m/z$ 381[M-1]。

30

【0284】

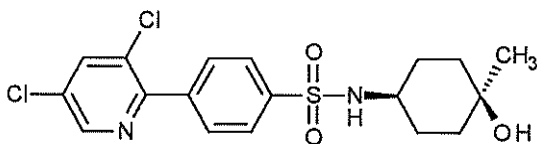
合成19

4-(3,5-ジクロロピリジン-2-イル)-N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)ベンゼンスルホンアミド

(HMC-N-03-B)

【0285】

【化35】



40

【0286】

N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(1.5g、3.8mmol)、2-ブromo-3,5-ジクロロピリジン(1.3g、5.7mmol)及び炭酸ナトリウム(0.805g、7.6mmol)のジオキサン:水(18

50



mL、5:1)溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(0.277mg、0.38mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気した。この反応混合物を110℃で6時間、加熱した。N-((1s,4s)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(4g、10.1mmol)、2-ブromo-3,5-ジクロロピリジン(3.44g、15.2mmol)及び炭酸ナトリウム(2.14g、20.2mmol)のジオキサン:水(54mL、5:1)のさらなる溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(0.739g、1.0mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気した。この反応混合物を110℃で6時間、加熱した。上の回分の両方を合わせた。溶媒を減圧下で蒸発させて水を加え、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮すると残留物が得られた。溶離液として、ヘキサン中の20~40%酢酸エチルを使用する、100~200メッシュのシリカゲルを使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製した。フラクションを1/10の体積(30mL)まで濃縮し、次にろ過した。得られた残留物をヘキサン中の20%酢酸エチル、次いでn-ペンタンにより洗浄すると、表題化合物が得られた。収率:0.79g、14%(2工程通算)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) 8.59 (m, 1H), 8.02 - 7.94 (m, 2H), 7.90 - 7.83 (m, 3H), 4.47 (d, J = 8 Hz, 1H), 3.25-3.1 (br, 1H), 1.73 - 1.5 (m, 6H), 1.44-1.32 (m, 2H), 1.19 (s, 3H), 1.01 (s, 1H)。

LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3μm、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.5分間、95:5のB:Aに保持し、0.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.69分、m/z413[M-1]。

【0287】

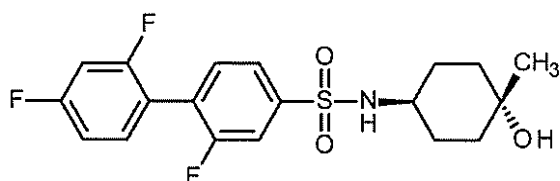
合成20

2,2',4'-トリフルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-[1,1'-ビフェニル]-4-スルホンアミド

(HMC-C-04-A)

【0288】

【化36】



【0289】

3-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(3.5g、8.4mmol)、1-ブromo-2,4-ジフルオロベンゼン(2.44g、12.7mmol)及び炭酸ナトリウム(1.79g、16.9mmol)のジオキサン:水(60mL、5:1)溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(0.619g、0.85mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気した。この反応混合物を110℃で6時間、加熱した。溶媒を減圧下で蒸発させて水を加え、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。SFC精製により残留物を精製した。移動相: CO2: メタノール(5分間で05~50)、カラム: シリカ2-エチルピリジン(250×4.6mm、5μ)、流速: 3mL/分、波長: 210~400nm、表題化合物が得られた。収率: 0.7g、19%(2工程通算)。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) 7.78-7.64 (m, 2H), 7.62-7.45 (m, 1H), 7.44-7.34 (m, 1H), 7.06 - 6.91 (m, 2H), 4.51 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 3.40-3.35 (br, 1H), 1.95 - 1.83 (m, 2H), 1.67 - 1.37 (m, 6H), 1.25 (d, J = 3.3 Hz, 3H), 1.13 (s, 1H)。

10

20

30

40

50

LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50×4.6mm)3μM、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 4.5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.5分間、95:5のB:Aに保持し、0.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.56分、m/z398[M-1]。

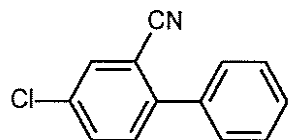
【0290】

合成21

5-クロロ-2-フェニルベンゾニトリル

【0291】

【化37】



【0292】

窒素下、2-ブロモ-5-クロロ-ベンゾニトリル(297.0g、1.372mol)、フェニルボロン酸(184.0g、1.509mol)、炭酸ナトリウム(436.3g、4.116mol)、1,2-ジメトキシエタン(4455mL)及び水(1485mL)を容器に加えた。このフラスコを窒素により3回、脱気し、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)(79.3g、0.069mol)を加えた。このフラスコを窒素により3回、脱気し、攪拌して70℃まで加熱し、次に、この温度で24時間、攪拌した。さらに、フェニルボロン酸(36.8g、0.302mol)、炭酸ナトリウム(87.3g、0.824mol)及びテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(15.9g、0.014mol)を加え、この混合物をさらに16時間、攪拌した。この反応を室温まで冷却し、懸濁液をろ過して固体を酢酸エチルにより洗浄(2×2000mL)した。合わせたろ液を分離して、有機層を飽和ブライン(2×2000mL)により洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムにより脱水し、ろ過して固体を酢酸エチル(1000mL)により洗浄した。シリカゲル(600g)に吸収させながら、合わせたろ液を濃縮した。ヘプタン中の25～50%トルエンにより溶出したシリカゲル(6Kg)上で粗製物質を精製した。純粋なフラクションを合わせて、濃縮すると白色固体が得られた。この固体をヘプタン(8×800mL)と共に共沸していかなる残留トルエンも除去すると、目的化合物が得られた。収率=215.9g(73.6%)。

<sup>1</sup>H NMR (270 MHz, DMSO d<sub>6</sub>) 8.18 - 8.12 (m, 1 H), 7.86 (dd, J = 8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.7 - 7.45 (m, 6 H).

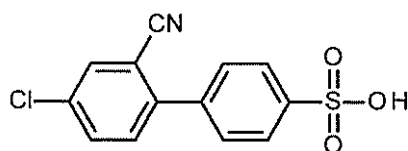
【0293】

合成22

4-(4-クロロ-2-シアノフェニル)ベンゼン-1-スルホン酸

【0294】

【化38】



【0295】

5Lのフラスコに粗製5-クロロ-2-フェニルベンゾニトリル(407.8g、1.909mol)及びクロロホルム(2325mL)を投入した。淡黄色溶液を5℃未満に冷却し、温度を10℃未満に維持しながら、クロロスルホン酸(343mL、5.15mol)を加えた。この反応混合物を室温まで温め、暗茶色溶液を室温で一晩攪拌した。反応混合物を20℃で濃縮し、残留物を酢酸エチル(2325mL)に溶解した。33℃までの発熱が観察された。水(490mL)(64℃まで発熱)、次いで飽和ブライン(1920mL)を加え、この混合物を19℃まで冷却した。濃厚な懸濁液をろ過(ろ過は

非常に遅い)し、残留物を水(2×1L)及び酢酸エチル(2×1.5L)により洗浄した。ろ過ケーキを真空で、40℃で64時間乾燥すると、435gの物質が黄色固体として得られた。これを酢酸エチル(1740mL)中、室温で20分間、スラリーにした。この懸濁液をろ過して、残留物を酢酸エチル(435mL)により洗浄した。ろ過ケーキを真空で40～60℃で2晩、乾燥すると、表題化合物を289g含有するクリーム状の固体(366.3g)が得られた(52%収率)。カールフィッシャーにより分析すると、この生成物は4.3%の水を含有することを示した。

<sup>1</sup>H NMR (270 MHz, DMSO d<sub>6</sub>) 8.16 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.85 (dd, J = 2.3 Hz, 8.5 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.65 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.3 Hz, 2H).

【0296】

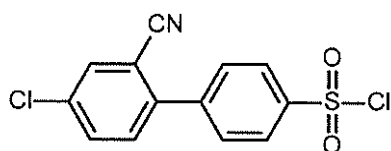
10

合成23

塩化4-(4-クロロ-2-シアノフェニル)ベンゼン-1-スルホニル

【0297】

【化39】



【0298】

20

5Lのフラスコに粗製4-(4-クロロ-2-シアノフェニル)ベンゼン-1-スルホン酸(366.3g、289gの4-(4-クロロ-2-シアノフェニル)ベンゼン-1-スルホン酸を含有、0.98mol)及びトルエン(3000mL)を投入した。塩化チオニル(423mL、5.83mol)、次いでジメチルホルムアミド(5mL、0.0646mol)を滴下して加えた。この反応混合物を75℃まで加熱し、一晩攪拌した。この反応混合物を冷却して真空で濃縮し、残留物を酢酸エチル(3000mL)と水(1500mL)との間に分配し、有機層を飽和ブライン(1500mL)により洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウム(50g)により脱水し、ろ過した。残留物を酢酸エチル(2×100mL)により洗浄し、合わせた有機層を濃縮すると、表題化合物(297.6g、93%収率)が黄色固体として得られた。NMRによる分析は、約95%の純度であることを示した。

<sup>1</sup>H NMR (270 MHz, DMSO d<sub>6</sub>) 8.16 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.87 (dd, J = 2.1 Hz, 8.2 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.64 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.3 Hz, 2H).

30

【0299】

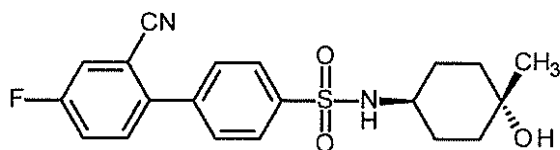
合成24

2'-シアノ-4'-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-[1,1'-ビフェニル]-4-スルホンアミド

(HMC-C-05-A)

【0300】

【化40】



40

【0301】

N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(1.6g、4.05mmol)、2-プロモ-5-フルオロベンゾニトリル(2.03g、10.15mmol)、炭酸ナトリウム(1.07g、10.1mmol)のジオキサン:水(30:3mL)攪拌溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(0.296g、0.405mmol)を加え、この反

50

応混合物をさらに10分間、脱気して、110 °で6時間、撹拌した。溶媒を減圧下で蒸発させ、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製した。得られた残留物をヘキサン、次いでn-ペンタンにより洗浄すると、表題化合物が白色固体として得られた。収率:1.1g、70%。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) 8.04 - 7.97 (m, 2 H), 7.71 - 7.64 (m, 2 H), 7.55 - 7.49 (m, 2 H), 7.39 - 7.46 (m, 1 H), 4.46 (d, J=6.6 Hz, 1H), 3.45 - 3.32 (m, 1H), 1.92 - 1.82 (m, 2 H), 1.65 - 1.35 (m, 6 H), 1.23 (s, 3H), 1.11 (brs, 1H)。

LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50 × 4.6mm)3μm、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2.50分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.5分間、95:5のB:Aに保持し、0.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.50分、(ESI)m/z387[M-1]。

【0302】

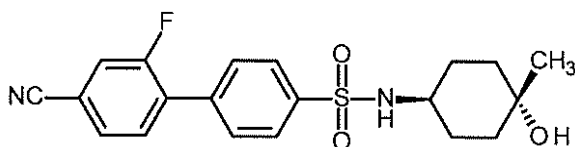
合成25

4'-シアノ-2'-フルオロ-N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-[1,1'-ビフェニル]-4-スルホンアミド

(HMC-C-06-A)

【0303】

【化41】



【0304】

N-((1r,4r)-4-ヒドロキシ-4-メチルシクロヘキシル)-4-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンゼンスルホンアミド(1.6g、4.05mmol)、4-プロモ-3-フルオロベンゾニトリル(2.03g、10.1mmol)、炭酸ナトリウム(1.07g、10.1mmol)のジオキサン/水(30/3mL)撹拌溶液を、アルゴンを使用して10分間、脱気した。[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)(0.296g、0.405mmol)を加え、この反応混合物をさらに10分間、脱気して、110 °で6時間、撹拌した。溶媒を減圧下で蒸発させ、化合物を酢酸エチルに抽出した。有機層を分離して硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で濃縮した。フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより残留物を精製した。得られた残留物をヘキサン、次いでn-ペンタンにより洗浄すると、表題化合物が白色固体として得られた。収率:1.19g、75.79%。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) 8.03 - 7.96 (m, 2 H), 7.73 - 7.66 (m, 2 H), 7.62 - 7.56 (m, 2 H), 7.54 - 7.48 (m, 1 H), 4.51 (d, J=6.65 Hz, 1 H), 3.42 - 3.30 (m, 1 H), 1.95 - 1.82 (m, 2 H), 1.66 - 1.55 (m, 2 H), 1.53 - 1.37 (m, 4 H), 1.23 (s, 3H), 1.12 (brs, 1 H)。

LCMS: 移動相A: 水中5mMギ酸アンモニウム+0.1%アンモニア、移動相B: アセトニトリル+5%移動相A+0.1%アンモニア、カラム: YMC Triart、C18(50 × 4.6mm)3μm、流速: 1.4mL/分、稼働時間: 5分-開始溶媒30:70のB:Aを最初の2.50分間かけて、直線的に95:5のB:Aまで増加させ、1.5分間、95:5のB:Aに保持し、0.5分間かけて、直線的に30:70のB:Aまで低下させ、最後の0.5分間、30:70のB:Aに保持した。保持時間2.52分、(ESI)m/z387[M-1]。

【0305】

さらなる化合物

本明細書に記載されている生物学的検討における参照化合物として使用するために、以下の化合物もまた調製した。

【0306】

10

20

30

40

50

【表 1】

コード	構造
ABD599	
ABD735	
ABD836	
ABD899	
ABD900	
REF001	

10

20

30

## 【0307】

## 生物学的検討

効力は、J774マクロファージ細胞系の生存に基づく生存率アッセイを使用して評価した。マクロファージは破骨細胞に密接に関連しており、破骨細胞生存に関するモデル系として以前に使用された(例えば、Luckmanら、1998年、「Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J774 macrophages」、J. Bone Miner. Res., 13巻、1668～1678頁を参照されたい)。破骨細胞と同様に、J774マクロファージは、生存に関する継続的なNF- $\kappa$ B活性化に依存するので、このモデルは、骨粗鬆症、変形性関節症及び関節リウマチなどの疾患における骨保護に対する作用と、炎症に対する作用の両方の指標である。

40

## 【0308】

代謝安定性は、ヒト肝ミクロソーム調製物の存在下で、液体クロマトグラフィー質量分析法及び標準の質量分析法(LC-MS/MS)により定量される、化合物の消失速度を決定することにより測定した。

## 【0309】

50

溶解度は、絶食時小腸内模擬腸液(FaSSIF)中の化合物の平衡により測定され、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により定量した。

#### 【0310】

抗炎症作用は、炎症誘発性刺激細菌性リポ多糖類(LPS)により刺激を受けたヒトThp-1誘導マクロファージによるインターロイキン-6(IL-6)の産生を評価することによりさらに特徴づけた。LPSは、細胞表面受容体であるToll様受容体-4と共に作用し、NF B及びIRFシグナル伝達経路を活性化してIL-6を産生する。この刺激アッセイにおけるIL-6の低下は、IL-6産生が異常な状態を処置する場合に有用性を示す、抗炎症作用の指標である。

#### 【0311】

インビボ検討は、やはり、薬物としてのこれらの化合物の可能性を評価するために実施した。

10

#### 【0312】

薬物動態をラットにおいて評価し、疾患に対する作用をコラーゲン誘発性の関節炎のマウスモデルにおいて評価した。

#### 【0313】

生物学的検討1

レサズリンマクロファージJ774の生存率アッセイ

J774マクロファージとインキュベートし、その後レサズリンを使用して細胞生存率を決定することにより、試験化合物のインビトロ効力を求めた。

#### 【0314】

20

レサズリンは、培養細胞における生存率の指標として一般に使用される、レドックス色素である(例えば、Anoopkumar-Dukie、2005年、British Journal of Radiology、78巻、945~947頁を参照されたい)。レサズリンは、細胞に対して非毒性であり、培養培地中で安定であり、反応速度アッセイ又はエンドポイントアッセイのどちらかとして、細胞増殖の連続的なインビトロ測定を可能にする。このアッセイは、代謝活性な生存細胞が、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NADPH)及びフラビンアデニンジヌクレオチド(FADH)などの還元種からの電子を使用して、レサズリン(これは、青色であり非蛍光性である)を還元してレゾルフィンとジヒドロレゾルフィン(これらは、赤色で蛍光性である)にする能力に基づくものである。酸化型から還元型へのこの変換は、比色測定、又は蛍光定量のどちらかで測定することができる。細胞生存率及び増殖を損なう損傷はまた、細胞がレサズリンを還元する能力にも影響し、色素の還元速度は、存在している生存細胞数に直接、比例する。

30

#### 【0315】

蛍光測定に關すると、530~560nmの励起波長及び590nmの発光波長を通常、使用する。比色測定の場合、570nm(還元型)及び600nm(酸化型)における吸光度を通常、測定する。簡単な計算を行い、2つの種の相対量を決定する:レゾルフィン(還元体)とレサズリン(酸化型)との比が高いことが、細胞が増殖して生存していることの指標となる。比が低いと、細胞が休止又は生存していないことを示す。

#### 【0316】

96ウェルプレート中の MEM( 改変イーグル培地)100  $\mu$ Lに、J774細胞をウェル当たり10<sup>4</sup>個の細胞でプレート培養し、一晚、接着させた。翌日、試験化合物をDMSO中の100mM溶液として調製した。これらの保存溶液をDMSO中で希釈し、次に培養培地( MEM)で1000  $\times$ に希釈した後、ウェルに直接加え、所望の最終化合物濃度にするようにした。37  $^{\circ}$ C/5%CO<sub>2</sub>で72時間のインキュベートを行った後、各ウェル(1:10v/v、10  $\mu$ L)にレサズリン(Alamar Blue、Biosource International)を加えた。次に、このプレートを37  $^{\circ}$ Cで3時間、インキュベートし、590nmで、25nmのバンド幅で蛍光を測定した。

40

#### 【0317】

各試験化合物の平均結果を、細胞生存率を反映する平均対照値の百分率(%)として表した。次に、試験濃度全体にわたる平均値をプロットし、Grafit(Erithacus Software)からのソフトウェアを使用する、4パラメータIC<sub>50</sub>式にこれらのデータを当てはめることによ

50

り、 $IC_{50}$ を計算した。各実験を2回、繰り返し、これらのデータを両方の実験からの平均 $IC_{50}$ として表す。

【 0 3 1 8 】

これらの結果を以下の表にまとめる。

【 0 3 1 9 】

【表 2】

表1 レサズリンマクロファージJ774の生存率アッセイ		
化合物	$IC_{50}$ ( $\mu M$ ) <sup>(1)</sup>	$IC_{50}$ ( $\mu M$ ) <sup>(2)</sup>
ABD599	0.19	0.41
ABD735	0.10	0.07
ABD836	0.28	1.45
ABD900	0.56	3.64
ABD899	0.08	0.27
REF001	0.12	0.05
HMC-C-01-A	0.13	1.89
HMC-C-02-A	0.26	14.7
HMC-C-03-A	0.14	0.41
HMC-C-04-A		0.50
HMC-C-05-A		2.46
HMC-C-06-A		0.71
HMC-N-01-A	0.13	2.66
HMC-N-02-A	0.18	4.59
HMC-N-03-A	0.17	0.62
HMC-N-04-A	0.18	
HMC-C-01-B		0.16
HMC-C-02-B		1.74
HMC-C-03-B		0.20
HMC-C-04-B		0.06
HMC-N-01-B		0.14
HMC-N-02-B		0.36
HMC-N-03-B		0.08

<sup>(1)</sup> 濃度当たりn=3の反復で、10 $\mu M$ ～10nMまでの6点の濃度範囲で実施したレサズリンマクロファージ生存率アッセイからの結果。データは、2回の独立した実験からの平均である。

<sup>(2)</sup> 濃度当たりn=4の反復で、10 $\mu M$ ～0.5nMまでの12点の濃度範囲で実施したレサズリンマクロファージ生存率アッセイからの結果。データは、3回の独立した実験からの平均である。

【 0 3 2 0 】

これらのデータは、本明細書に記載されているHMC化合物、特に、HMC-C-01-AとHMC-C-01-B、HMC-C-03-AとHMC-C-03-B、HMC-C-04-AとHMC-C-04-B、HMC-C-06-A、HMC-N-01-B、HMC-N-02-B、及びHMC-N-03-Bが、参照化合物と比べて、レサズリンマクロファージ生存率アッセイにおいて優れた効力を示すこと、及び効力の喪失がないことを示すことを実証している。

## 【 0 3 2 1 】

## 生物学的検討2

## ヒト肝ミクロソームの安定性

ヒト肝ミクロソームの存在下でインキュベートした場合の、化合物の消失速度を決定することにより、試験化合物の代謝安定性を測定した。肝ミクロソームは、肝細胞の小胞体から調製され、薬物代謝に関与している最も重要な酵素(シトクロムP450)の一次源である。肝ミクロソームの存在下での薬物安定性の検討は、有益なモデルとして容認されており、薬物のインビボ安定性の迅速な予測を可能にする。

## 【 0 3 2 2 】

ヒト肝ミクロソームは、市販元から得た。試験化合物(1  $\mu$ M)は、貯めておいた肝ミクロソーム(男性及び女性)とインキュベートした。試料を60分間、インキュベートし、最大6つの時間点で抜き取り、試験化合物の存在/量に関して、LC-MS/MSにより分析した。

## 【 0 3 2 3 】

ミクロソーム(最終タンパク質濃度は、0.25又は0.5mg/mL)、0.1Mリン酸緩衝液pH7.4、及び試験化合物(最終濃度1  $\mu$ M、10mMの保存溶液から希釈して、最終DMSO濃度0.1%を得た)を37℃でインキュベートした後、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸(NADPH、最終濃度1mM)を添加して、反応を開始した。最終的なインキュベート体積は100  $\mu$ Lであった。各試験化合物について、対照となるインキュベートが含まれ、この場合、0.1Mリン酸緩衝液pH7.4をNADPHの代わりに加えた。各実験に、ポジティブ対照化合物であるテルフェナジンを含め、すべてのインキュベートを各化合物について1回実施した。

## 【 0 3 2 4 】

各化合物を、0、5、15、30、45又は60分間、インキュベートした。適切な時間点に、内部標準(0.001mMグリピジド)を含有する氷冷アセトニトリルを100  $\mu$ L添加することにより、反応を停止した。インキュベートプレートを4℃、4000rpmで15分間、遠心分離にかけて、タンパク質を沈殿させ、以下の表において示されている条件のLC-MS/MSを使用して一定分量の0.1mLを分析した。

## 【 0 3 2 5 】

## 【表3】

表2 LC-MS/MS条件	
HPLC:	Schimadzu Agilent
MS/MS:	API 4000, API 4000 Q-Trap
ソフトウェア:	Analyst 1.5
イオン化モード:	ターボスプレー、ポジティブモードイオン化
スキャンモード:	多重反応モニタリング(MRM)
カラム:	Waters, Xterra, MS-C18 (2) 5 $\mu$ m 50 x 3.0 mm
カラム温度(°C):	40
相A:	水中0.1%ギ酸
相B:	アセトニトリル中0.1%ギ酸
標準品注入量( $\mu$ L):	1, 2, 3, 5, 7, 10
試験品注入量( $\mu$ L):	1, 2, 3, 10, 20, 50
流速(mL/分):	0.8-1

## 【 0 3 2 6 】

時間に対する、ピーク面積比(すなわち、化合物のピーク面積:内部標準のピーク面積の



比)の自然対数のプロットから、直線の勾配を求めた。続いて、以下の式(式中、V=インキュベート体積(μL/mgミクロソームタンパク質))を使用して、半減期( $t_{1/2}$ )及び固有クリアランス( $CL_{int}$ )を計算した。

消失速度定数( $k$ )=(-勾配)

半減期( $t_{1/2}$ )(分)= $0.063/k$

固有クリアランス( $CL_{int}$ )(μL/分/百万個細胞)=( $V \times 0.693$ )/ $t_{1/2}$

【0327】

これらのデータを以下の表にまとめる。

【0328】

【表4】

10

表3 ヒト肝ミクロソームの安定性		
化合物	$T_{1/2}$ (分) <sup>(1)</sup>	$T_{1/2}$ (分) <sup>(2)</sup>
ABD599	287	
ABD735	524	
ABD836	> 900	
ABD899	72	105
ABD900		87
REF001	43	
HMC-C-01-A	82	
HMC-C-02-A	55	
HMC-C-03-A	84	
HMC-C-04-A		100
HMC-C-05-A		123
HMC-C-06-A		240
HMC-N-01-A	175	
HMC-N-02-A	367	
HMC-N-03-A	258	
HMC-N-04-A	156	
HMC-C-01-B		70
HMC-C-02-B		18
HMC-C-03-B		48
HMC-C-04-B		107
HMC-N-01-B		127
HMC-N-02-B		168
HMC-N-03-B		70

20

30

40

<sup>(1)</sup> 最終タンパク質濃度0.25mg/mLのヒト肝ミクロソームと化合物をインキュベートし、5つの時間点:0、5、15、30及び60分で抜き取りを行った。時間点当たり、1回実施した。

<sup>(2)</sup> 最終タンパク質濃度0.5mg/mLのヒト肝ミクロソームと化合物をインキュベートし、6つの時間点:0、5、15、30、45及び60分で抜き取りを行った。時間点当たり、2回実施した。

【0329】

これらのデータは、本明細書に記載されているHMC化合物が、参照化合物のそれと同等

50

の代謝安定性を示すことを実証している。

【0330】

生物学的検討3

水溶解度

水溶解度は、絶食時小腸内模擬腸液(FaSSIF)での化合物の平衡により測定され、分光光度により定量した。

【0331】

FaSSIFは、以下に記載されている通り調製した。

【0332】

ブランクFaSSIFの調製:水酸化ナトリウム(NaOH)ペレット0.21g、リン酸二水素ナトリウム( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )1.97g、及び塩化ナトリウム(NaCl)3.09gを400mLの脱イオン水中に溶解した。1M塩酸を使用してpHを6.5に調整し、さらに脱イオン水を加えて、最終体積を500mLにした。

【0333】

FaSSIFの調製:SIF粉(タウロコール酸ナトリウム及びレシチンを含む)(Phares AG)0.056gを25mLのブランクFaSSIFに溶解し、この粉末が完全に溶解するまで攪拌した。この溶液を2時間置き、この間にこの溶液は乳白色になった。この溶液を24時間以内に使用した。最終的な溶液組成は、以下の通り特徴づけた。

タウロコール酸ナトリウム:3mM

レシチン:0.75mM

モル浸透圧濃度: $270 \pm 10\text{mOsmol}$

pH:6.5

【0334】

水溶解度は、既知濃度の試験化合物(DMSOに溶解)をFaSSIFにスパイクし、次いで16時間、インキュベートすることにより求めた。光学密度は、試験化合物の場合、インキュベート時間の終了時に測定し、溶解度を決定するため、参照物質を使用した。手短に言うと、それぞれ決定を行うため、2種の試料を調製した。参照試料は、系の溶液(リン酸塩不含、低吸収緩衝液)及びプロパノールに希釈したDMSO中の試験化合物の保存溶液からなった。また、試験試料(3回調製した)は、0.2mMの試験化合物によりスパイクしたFaSSIF0.5mLからなった。各試料は、250rpmの一定で震とうしながら、室温で16時間、インキュベートした。インキュベート時間の終了時に、各試料0.3mLをpIONフィルタープレート(PION、Woburn MA)によりろ過し、プロパノールにより1:1に希釈して、 $\mu\text{SOL Explorer}$ 溶解度決定ソフトウェア(pION、Woburn, MA)を備えたSpectra Max Plus-Version2.1000(Molecular Devices、Sunnyvale、CA)を使用し、 $\text{max}$ (190~400nm)におけるUV分光測定法を使用してスキャンした。

【0335】

FaSSIFでの溶解度は、以下の式を使用して算出した:

【0336】

【数1】

$$\text{FaSSIFでの溶解度, } \frac{\text{mg}}{\text{mL}} = \frac{\left[ \frac{150}{75} \right] * \left[ \frac{\text{試料のOD}}{\text{参照物質のOD}} \right] * Cr * \text{分子量}}{10^6}$$

(式中、

「OD」は光学密度である。

「Cr」は、参照物質の濃度( $33.4 \mu\text{M}$ )であり、「分子量」は、試験化合物に関するものである(例えば、ABD735の場合、381.44))。

【0337】

これらのデータを以下の表にまとめる。

【 0 3 3 8 】

【表 5】

表4 FaSSiFでの溶解度		
化合物	溶解度(mg/mL) <sup>(1)</sup>	溶解度(mg/mL) <sup>(2)</sup>
ABD599	0.03	
ABD735	0.02	
ABD836	0.03	
ABD899	0.06	0.13
ABD900		0.12
REF001	0.05	
HMC-C-01-A	0.06	
HMC-C-02-A	0.04	
HMC-C-03-A	0.03	
HMC-C-04-A		0.08
HMC-C-05-A		0.19
HMC-C-06-A		0.11
HMC-N-01-A	0.03	
HMC-N-02-A	0.02	
HMC-N-03-A	> 0.08	
HMC-N-04-A	0.06	
HMC-C-01-B		0.08
HMC-C-02-B		0.07
HMC-C-03-B		0.15
HMC-C-04-B		0.13
HMC-N-01-B		0.12
HMC-N-02-B		0.12
HMC-N-03-B		0.10

<sup>(1)</sup> pH6.5において、一検討当たり3回、実施した。

<sup>(2)</sup> pH6.8において、一検討当たり2回、実施した。

【 0 3 3 9 】

これらのデータは、本明細書に記載されているHMC化合物が、参照化合物のそれと同等の溶解度を示すことを実証している。

【 0 3 4 0 】

生物学的検討4

Thp1マクロファージIL-6放出アッセイ

ヒト細胞における試験化合物のインビトロ効力は、Thp1マクロファージと共にインキュベートし、その後に炎症性刺激物質(細菌性リポ多糖類(LPS))により刺激し、次いで、細胞性インターロイキン-6(IL-6)の放出を測定することにより決定した。

【 0 3 4 1 】

このアッセイは炎症に対する作用の強力な指標である。LPSは、Toll様受容体-4(TLR4)

に対するリガンドであり、この受容体は、細胞表面の受容体のToll様受容体ファミリーメンバーである。この受容体は、生得免疫系の活性化に重要であり、この主な機能は、

- (a) IL-6などのサイトカインの産生により、感染部位に免疫細胞を動員する、
- (b) 補体カスケードを活性化して、細菌の特定、細胞の活性化、及び死亡細胞と抗体複合体の両方をクリアランスする、
- (c) マクロファージ及び樹状細胞などの細胞により、異物の除去を活性化する、及び
- (d) 適応免疫系の一部である、抗原提示を活性化する、ことである。

#### 【0342】

TLR4は、NF B、及びインターフェロン調節転写因子(IRF)ファミリーのメンバーである3、5及び7(IRF-3、IRF-5及びIRF-7)を含めた、いくつかの転写因子の活性化をもたらすシグナル伝達カスケードを活性化することにより、その作用を発揮する。これらの転写因子、特にNF B及びIRF-5の活性化により、インターロイキン6(IL-6)などのサイトカインの合成及び分泌が推進される。

#### 【0343】

IL-6の過剰産生/発現は、自己免疫性、炎症及びがんを含めた、様々な障害に関連している。IL-6は、マクロファージ及びT細胞により主に合成され、急性炎症から慢性炎症への移行を支配することに深く関与している。IL-6は、炎症空間における白血球浸潤液の組成を改変することにより上記の支配を行い、浸潤液を好中球から単球/マクロファージに移動させる(例えば、Gabay、2006年を参照されたい)。さらに、IL-6は、T細胞及びB細胞に対する刺激作用(こうして慢性炎症反応に好都合となる)及び破骨細胞に対する刺激作用を発揮する(こうして骨の代謝回転を促進する)。これらの作用は、骨粗鬆症、関節リウマチ、糖尿病、アテローム性動脈硬化、うつ病、アルツハイマー病、全身性エリテマトーデス、ベーチェット病、多発性骨髄腫及び前立腺がんを含めた、いくつかの疾患の病理に関連している。さらに、進行性又は転移性がんの患者は、IL-6の正常な循環レベルよりも高い。したがって、マクロファージにおけるIL-6レベルの低下が、治療的利益となる。

#### 【0344】

Thp1細胞は、それぞれ24-ウェルプレート又は96-ウェルプレートにおいて、1%ペニシリン-ストレプトマイシン及び10%熱不活化ウシ胎児血清を含有する、500  $\mu$ L又は150  $\mu$ LのRPMI完全培地に、 $1 \times 10^5$ 個細胞/ウェル又は $1.7 \times 10^5$ 個細胞/ウェルの濃度でプレート培養し、一晚、接着させた。その翌日、分化を誘発するため、最終濃度が100nM(24-ウェルプレート)又は200nM(96-ウェルプレート)のミリスチン酸ホルボール(PMA)により上記の細胞を刺激し、最大8日間、維持した(細胞を8日まで培養する場合、5日目に培地交換をした)。試験化合物は、DMSO中の100nM溶液として調製し、次に、培養培地に希釈する前に、DMSOで段階希釈した。100ng/mLのLPSにより刺激を行う1時間前に、この希釈した化合物を培養物に加えた。37  $^{\circ}$ C/5%CO<sub>2</sub>で16又は18時間、インキュベートした後、細胞培養培地を集め、ヒトIL-6 duo-set ELISAキット(R&D Systems)を使用してヒトIL-6レベルをアッセイした。各試験化合物の平均結果(n=3)を、平均対照値の百分率(%)として表した。次に、試験濃度全体にわたる平均値をプロットし、Grafitバージョン6.0.12(Erithacus Software Ltd.、Dr Robin Leatherbarrowによる)又はWindows(登録商標)向けのGraphPad Prismバージョン5.04(GraphPad Software、La Jolla、California、米国、www.graphpad.com)からのソフトウェアを使用して、4パラメータIC<sub>50</sub>式にこれらのデータを当てはめることにより、IL-6の阻害に関するIC<sub>50</sub>を計算した。各実験を2回、繰り返し、これらのデータを両方の実験からの平均IC<sub>50</sub>として表す。

#### 【0345】

これらの結果を以下の表にまとめる。

#### 【0346】

【表 6】

表5 マクロファージIL-6放出アッセイデータ		
化合物	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>(1)</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>(2)</sup>
ABD599		0.07
ABD899		0.03
ABD900		0.09
HMC-C-01-A	0.04	0.18
HMC-C-02-A	0.001	0.97
HMC-C-03-A	0.004	0.05
HMC-C-04-A		0.13
HMC-C-05-A		1.02
HMC-C-06-A		0.19
HMC-N-01-A	0.13	0.28
HMC-N-02-A	0.15	0.29
HMC-N-03-A	0.05	
HMC-C-01-B		0.06
HMC-C-02-B		0.29
HMC-C-03-B		0.02
HMC-C-04-B		0.03
HMC-N-01-B		0.03
HMC-N-02-B		0.02
HMC-N-03-B		0.02

<sup>(1)</sup> 24-ウェルプレートにおいて、1%ペニシリン-ストレプトマイシン及び10%熱不活化ウシ胎児血清を含有する、500μLのRPMI完全培地に、Thp1細胞を $1 \times 10^5$ 個細胞/ウェルの濃度で8日間(5日目に培地交換を行った)プレート培養した。化合物は、10、1、0.1、0.01、0.001及び0.0001μMの濃度における6つの濃度点の応答曲線で3回、試験し、IL6レベルは、LPS刺激の16時間後に測定した。IC<sub>50</sub>は、Grafitバージョン6.0.12(Erithacus Software)を使用して算出した。

<sup>(2)</sup> 96-ウェルプレートにおいて、1%ペニシリン-ストレプトマイシン及び10%熱不活化ウシ胎児血清を含有する、150μLのRPMI完全培地に、Thp1細胞を $1.7 \times 10^5$ 個細胞/ウェルの濃度で3日間、プレート培養した。化合物は、30、10、3、1、0.3、0.1、0.03、0.01及び0.001μMの濃度における9つの濃度点の応答曲線で3回、試験し、IL6レベルは、LPS刺激の18時間後に測定した。IC<sub>50</sub>は、Windows向けGraphPad Prismバージョン5.04(GraphPad Software)を使用して算出した。

## 【 0 3 4 7 】

これらのデータは、本明細書に記載されているHMC化合物はヒトマクロファージからのIL-6放出を阻害するのに優れた効力を示すことを実証しており、IL-6が上方調節される障害の処置において、これらの化合物の有用性を示している。化合物HMC-C-01-A、HMC-C-03-A、HMC-C-06-A、HMC-C-01-B、HMC-C-03-B、HMC-C-04-B、HMC-N-01-B、HMC-N-02-B及びHMC-N-03-Bは、IL-6放出の低下に、特に良好な活性を示す。

## 【 0 3 4 8 】

## 生物学的検討5

## 齧歯類の薬物動態検討

インビボ薬物動態アッセイを使用して吸収及び代謝安定性を検討した。

## 【 0 3 4 9 】

8～12週齢の3匹の雄のSprague-Dawleyラットに、試験化合物を投与し、経口又は静脈内(静脈内の場合、用量レベル1mg/kg体重又は経口の場合、5mg/kg体重)のどちらかで投与した。試験化合物は、経口経路による投与の場合、0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)/0.1%Tween-80に製剤化し、静脈内経路による投与の場合、生理食塩水中の5%DMSO/10%solu  
tolで製剤化した。化合物HMC-C-01-Aの場合、経口投与物は、水中の2%ジメチルアセトア  
ミド/20%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン中で製剤化した。動物には、一晩及  
び投与当日の投与後2時間まで絶食させた以外、検討中は餌を自由摂取させた。

10

## 【 0 3 5 0 】

血液試料を以下の時間点で後眼窩叢から採取し、20%K<sub>2</sub>EDTA溶液を含有するマイクロ管に入れた。

経口投与:投与前、投与後0.25、0.5、1、2、4、6、8及び24時間。

静脈内投与:投与前、投与後0.08、0.25、0.5、1、2、4、8及び24時間。

## 【 0 3 5 1 】

血液試料を遠心分離にかけて血漿を得て、これを別の容器に移して、-20℃で凍結した。

20

## 【 0 3 5 2 】

分析に関しては、試料を室温で解凍し、血漿と1:4の比で内部標準(500ng/mLグリピジド)によりスパイクしたアセトニトリルを用いるタンパク質沈殿により調製した。次に、この試料を5分間、ボルテックスし、4℃、20,600×gで10分間、遠心分離にかけた。分析用に上澄み液100μLを採集した。標準試料も、分析物10μLを有するブランクのラット血漿試料をスパイクした後、同様に調製した。

## 【 0 3 5 3 】

ラットの血漿試料中の試験化合物の濃度は、以下の表に示されている条件でLC-MS/MSを使用して決定した。

## 【 0 3 5 4 】

30

【表 7】

表6 LC-MS/MS条件	
HPLC:	Schimadzu Agilent
MS/MS:	API 4000
ソフトウェア:	Analyst 1.5
イオン化モード:	ターボスプレー、ネガティブモード
スキャンモード:	多重反応モニタリング(MRM)
カラム	Waters, Xterra, MS-C18 (2) 5 $\mu$ m 50 x 3.0 mm; Discovery Grace Smart RP183 $\mu$ , 150 x 2.1, 3 $\mu$ M; Waters Symmetry Shelf C18 75 x 4.6, 3.5 $\mu$ M; Agilent Zorbax XDB, 150 x 4.6, 5 $\mu$ M
カラム温度(°C):	40
相A:	アセトニトリル
相B:	0.1%ギ酸
流速(mL/分):	0.8-1.2

10

20

## 【 0 3 5 5 】

試験化合物の薬物動態パラメータは、標準非コンパートメント法を使用し、Phoenix WinNonlinバージョン6.3(Pharsight Corp、CA)により算出した。最大血漿中濃度( $C_{max}$ )及び最大血漿中濃度の時間( $T_{max}$ )が観察された値である。血漿濃度-時間曲線下面積(AUC)は、最後に測定可能な濃度( $AUC_{last}$ )までの線形台形公式を使用し、その後に、無限までの最終消失期( $AUC_{inf}$ )を外挿することにより求めた。最終消失速度定数( $k_{el}$ )は、log血漿中濃度-時間曲線の線形最終部分の回帰分析により決定した。消失半減期( $t_{1/2}$ )は、 $0.693/k_{el}$ と算出された。仮の経口での生体利用率(F)は、経口投与後のAUC(0~24時間)を、静脈内投与後の調整済みAUC(0~8時間)により除算することによって算出(すなわち、 $F=AUC(p.o.) \times 用量(i.v.) / AUC(i.v.) \times 用量(p.o.)$ )し、百分率(%)として報告した。

30

## 【 0 3 5 6 】

これらの薬物動態データを以下の表にまとめる。

## 【 0 3 5 7 】

【表 8】

表7 薬物動態データ				
化合物	生体利用率 F (%)	i.v. AUC (ng/mL/分)	p.o. AUC (ng/mL/分)	T <sub>1/2</sub> (時間)
ABD735	83	1081	8965 ‡	3.8
ABD836	55	2142	5927	5.3
ABD899	50	2133	10740 ‡	10.8
REF001	50	963	4766 ‡	7.2
HMC-C-01-A	89	900	4002	6.2
HMC-C-02-A	39	546	1069	3.2
HMC-C-03-A	55	1427	3910	2.4
HMC-N-01-A	64	740	1408	13.4
HMC-N-02-A	43	3053 †	3303	6.3
HMC-N-03-A	8	5102 †	962	3.1
HMC-N-04-A	66	1279	4203	2.9
HMC-C-01-B	67	1539	5121	5.7
HMC-C-03-B	116	816 *	9432	8.3
HMN-C-04-B	59	1589 *	9360	5.5
HMC-N-01-B	60	2824	8454	9.1
HMC-N-02-B	66	1931	6412	6.0
HMC-N-03-B	84	1380*	11609	7.4

† 静脈内に2mg/kgで投与した。

\* 静脈内に0.5mg/kgで投与した。

‡ 経口で10mg/kgで投与した。

#### 【 0 3 5 8 】

これらのデータは、本明細書に記載されているHMC化合物が、参照化合物のそれと同等の優れた経口薬物動態特性を有することを実証している。これにより、これらの化合物は経口用薬物としての使用を好適なものにしている。

#### 【 0 3 5 9 】

##### 生物学的検討6

##### マウスのコラーゲン誘発性関節炎

7～8週齢の雄のDBA/1jマウスをすべての手順に使用した。動物を10の群で収容し、餌及び水を自由摂取させて、12時間の明/暗周期で21 ± 2 に維持した。不完全フロイントアジュバント (IFA) (0.85mLのパラフィン油及び0.15mLのマニドモノオレエート) 中、4mg/mLのウシII型コラーゲンと結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) H37Raの懸濁液4mg/mLとを1:1(v/v)の比で乳化することにより、完全フロイントアジュバント (CFA) を調製した。すべてのマウスに、CFA中のウシII型コラーゲン200 µgを皮下に免疫した。21日後、すべてのマウスに、IFA中のウシII型コラーゲン100 µgを皮下に免疫した。これらのマウスは、「追加」免疫後に、関節炎の徴候及び症状を発症し始めた。

#### 【 0 3 6 0 】



関節炎の巨視的評価に関しては、1週間当たり3回、各マウスの各脚で以下の徴候を監視し、関節炎点(AI)(1匹の動物の最大AIは16である)を求めて合計した：

0=関節炎の目視可能な影響はない。

1=1本の指に浮腫及び/又は紅斑がある。

2=2本の指に浮腫及び/又は紅斑がある。

3=3本以上の指に浮腫及び/又は紅斑がある。

4=脚及び指全体に、重症な関節炎がある。

#### 【 0 3 6 1 】

動物を平均関節炎点2.5で処置群に分類分けし、次に、試験化合物の場合、強制経口投与により化合物を14日間、毎日1回投与し、又はポジティブ対照であるエタネルセプトの場合、10mg/kgの用量で皮下注射により投与した。実験の終了後、これらのマウスを犠牲にした。

#### 【 0 3 6 2 】

各処置群にわたる関節炎点の平均を求めることによりこれらのデータを解析した。次に、平均関節炎点を、疾患の阻害率を求める以下の式を使用し、対照(未処置)動物の関節炎点と比較した。

#### 【 0 3 6 3 】

#### 【 数 2 】

$$\text{疾患の阻害\%} = 100 - \left[ \frac{\text{平均関節炎点:処置動物}}{\text{平均関節炎点:未処置動物}} * 100 \right]$$

#### 【 0 3 6 4 】

これらのデータを以下の表にまとめる。

#### 【 0 3 6 5 】

#### 【 表 9 】

表8 関節炎の阻害		
化合物	用量 (mg/kg/日)	疾患の 阻害%
ABD735	10	44
ABD899	10	77
HMC-C-01-A	10	40
HMC-C-01-A	3	60
HMC-C-01-A	1	50
HMC-C-01-A	0.3	60
HMC-N-01-A	10	45
HMC-C-02-A	10	61
HMC-N-02-A	10	36
HMC-C-01-B	10	26
HMC-N-01-B	10→1 (*)	38

(\*) 死亡により、10mg/kg/日から1mg/kg/日に減量した。

## 【 0 3 6 6 】

いくつかの化合物のデータを図1及び図2にも例示している。

## 【 0 3 6 7 】

図1は、(A)HMC-C-02-A(上部左)、(B)HMC-C-01-A(上部中央)、(C)HMC-N-02-A(上部右)、(D)HMC-N-01-A(下部左)、(E)HMC-C-01-B(下部中央)、(F)HMC-N-01-B(下部右)の各場合について、強制経口投与(白丸)及び対照(黒丸)によって、10mg/kg/日で投与した試験化合物に関する、時間の関数(投与日数)としての平均関節炎点のそれぞれを示す、6つのグラフである。

## 【 0 3 6 8 】

図2は、(A)ABD899を10mg/kg/日(左)、(B)HMC-C-01-Aを0.3mg/kg/日及び3mg/kg/日(右)の各場合について、試験化合物(白丸、白四角)、対照(黒丸)及びポジティブ対照である上市薬エタネルセプト(三角)に関する、時間の関数(投与日数)としての関節炎点のそれぞれを示す、2つのグラフである。

## 【 0 3 6 9 】

これらのデータは、本明細書に記載されているHMC化合物が、定着した重症な関節炎の進行を予防するのに、優れた経口インビボ活性を示すことを示している。

## 【 0 3 7 0 】

さらに、これらのデータは、化合物HMC-C-01-Aのひととき優れた活性を示しており、この化合物は、低用量において、上市処置剤であるエタネルセプトよりも高い効力を示す。HMC-C-01-Aは、生物学的検討1又は生物学的検討4のどちらでも最も活性な化合物ではないので、この活性は特に、驚くべきものである。さらに、HMC-C-01-Aの活性は、生物学的検討1及び4においてHMC-C-01-Aよりも活性が高い、密接に関連している化合物HMC-C-01-Bのそれよりも高く、優れた効力を有する化合物の特定は、明白なものでも予期可能なものでもないことを示している。

## 【 0 3 7 1 】

生物学的検討7

最大耐量

動物における化合物の安全性の指標である、最大耐量(MTD)の決定を可能にするために、ラットにおいて化合物の急性安全性を評価した。MTDが高いほど、試験された化合物の潜在的な安全性が高い。

## 【 0 3 7 2 】

8～12週齢のSprague-Dawleyラット雄2匹及び雌2匹に、用量増量検討設計において、各用量レベルで投与した。試験化合物は用量体積10mL/kg中の0.5%カルボキシメチルセルコース(CMC)/0.1%Tween-80に製剤化した懸濁液として、経口投与した。検討全体を通じて、動物には餌を自由摂取させた。

## 【 0 3 7 3 】

投与後の最初の1時間の間に、約30分間空けて少なくとも2回、その後、投与した日の残りの間、少なくとも4時間、1時間の間隔毎に動物を観察した。翌日、朝に少なくとも1回、及びその日の終わりに向けて1回、動物を観察した。臨床徴候の特徴及び重症度、並びに時間を、適宜、各観察時に記録した。観察には、皮膚、毛、目及び粘膜の変化、やはりまた呼吸器系、循環系、自律神経系及び中枢神経系、並びに体性運動活性及び挙動パターンが含まれた。振戦、痙攣、流涎、下痢、嗜眠、睡眠及び昏睡の観察に、特別な注意を向けた。

## 【 0 3 7 4 】

検討の終了時に、各化合物に関する最大耐量(これは、それぞれの、許容されない毒性がない、最高値である)としてこれらの結果を表した。

## 【 0 3 7 5 】

許容されない副作用のない最大容量を求め、MTDとした(mg/kgで表す)。

## 【 0 3 7 6 】

これらのデータを以下の表にまとめる。

【 0 3 7 7 】

【表 1 0】

表9 最大耐量		
化合物	最大耐量(mg/kg)	
	雌	雄
ABD735	20	10
ABD899	30	30
REF001	7.5	10
HMC-C-03-A	30	30
HMC-N-03-A	50	50
HMC-C-01-A <sup>(1)</sup>	70	70
HMC-C-01-A <sup>(2)</sup>	>500	>500
HMC-N-01-A	80	80
HMC-C-02-A	> 200	> 200
HMC-N-02-A	> 200	> 200

<sup>(1)</sup> 記載されているSprague Dawleyラットに投与した。

<sup>(2)</sup> Han Wistarラットに投与した。

【 0 3 7 8 】

これらのデータにより、本明細書に記載されているHMC化合物は、参照化合物ABD735、ABD899及びREF001と比べて、安全性がかなり向上していることを示すことが実証された。

【 0 3 7 9 】

これらのデータはまた、急性安全性の改善は明白なものでも予期可能なものでもないこと、及び類似の置換パターン、例えばREF001に見られるものが、急性安全性の低下をもたらし得ることを実証している。さらに、これらのデータは、化合物HMC-C-01A、HMC-C-02-A、HMC-N-01-A、及びHMC-N-02-A、及び特にHMC-C-01-Aのひととき優れた安全性を示している。

【 0 3 8 0 】

本明細書に記載されているHMC化合物に観察される最大耐量の増加により、参照化合物と比べて、安全域の改善が実現され、経口薬物としてのHMC化合物の可能性を明確に示している。

【 0 3 8 1 】

生物学的検討8

GreenScreen HC遺伝毒性及び細胞毒性アッセイ

GreenScreen HCは、化学化合物及び混合物の遺伝毒性及び細胞毒性を測定するための、哺乳動物の細胞をベースとするアッセイである。

【 0 3 8 2 】

用語、遺伝毒性とは、細胞内で遺伝物質(DNA)に損傷を引き起こすことができる物質を記載するために使用され、究極的には、ヒトにおいて、変異原作用、発がん作用又は催奇形作用を有することがある。

【 0 3 8 3 】

GreenScreenアッセイは、p53コンピテントであるTK6ヒトリンパ芽球細胞系の遺伝子組換え誘導体からの蛍光量の増加として、遺伝毒性ストレスを報告するものである。組換え細胞において、GADD45a遺伝子の転写を促進する調節DNA配列が、緑色蛍光タンパク質(GFP

)の発現を制御している。GADD45aは、ゲノムの完全性において中心的な役割を有しており、遺伝毒性ストレスはその転写を誘発する。したがって、遺伝毒性化合物に曝露すると、蛍光量の増加として観察され、且つプレートリーダー又はフローサイトメータを使用する蛍光検出によりモニタリングされる、GFPの発現量が増加する。GreenScreen HCアッセイの場合、蛍光は、細胞生存率の低下又は細胞毒性により引き起こされる細胞収率のばらつきに対して補正される光学吸収度測定値に正規化する。GreenScreen HCアッセイにおける陽性結果に対して統計的に定義される閾値は1.5、すなわち、ビヒクル処置対照のベースラインに加えて50%の誘発である。

【0384】

GreenScreenアッセイにおいて、遺伝毒性に加えて細胞毒性を測定し、細胞毒性評価の結果を使用して、上記の遺伝毒性測定値を正規化する。

10

【0385】

GreenScreen HCアッセイでは、細胞生存率は、ヨウ化プロピジウム取込みアッセイを使用して評価する。ヨウ化プロピジウムは、細胞を染色するために使用することができる、インターカレート剤及び蛍光分子である。一般に、ヨウ化プロピジウムを使用してDNA含量を定量的に評価し、細胞周期解析における細胞生存率又はDNA含量を見積もり、壊死細胞、アポトーシス細胞及び正常細胞を区別するために使用することができる(例えば、Denglerら、1995年、Anticancer Drugs、6巻、4号、522~532頁を参照されたい)。細胞毒性化合物部に曝露すると、ヨウ化プロピジウムの取込量が増加し、この取込量を光学吸収度によりモニタリングし、これは細胞増殖に比例する。細胞毒性化合物は、1つ以上の試験濃度において、ビヒクル処置対照と比べて、相対集団生存率が90%に設定された有意な閾値未満に低下することが観察されることを示すものである。

20

【0386】

各試験化合物の希釈シリーズは、光学的に透明な底部を有する96ウェルの黒色マイクロプレートに並行して作製する。標準遺伝毒性化合物(メタンスルホン酸メチル、MMS)を、プレート間の品質管理確認用として添加する。マイクロプレートウェル中の細胞及び溶液に関する光吸収度及び蛍光の測定ができる、マイクロプレートリーダーを使用して、これらのプレートを24時間及び48時間の時間点で分析する。

【0387】

上記の細胞生存率及び遺伝毒性の測定に加え、GreenScreenアッセイは、アッセイ「GreenScreen HC S9アッセイ」における代謝活性化の作用の評価を組み込んでいる。これを実施するために、後ミトコンドリア上澄み液肝抽出物(「S9」として知られている)の存在下と非存在下の両方で、細胞をインキュベートする。S9は、遺伝毒性学において決まって使用され、試験細胞に哺乳動物の第1相代謝を補う。代謝活性を評価するため、1%v/v S9フラクションミックスの存在下で化合物をTK6株と3時間、インキュベートし、次いで45時間の回復時間をとる。回復期間後、フローサイトメータを使用して、GFP蛍光シグナル及び細胞生存率(ヨウ化プロピジウム取込みにより評価する)を測定する。代謝活性を利用する遺伝毒性検討において一般に使用される対照である、シクロホスファミドをこのアッセイにおいてポジティブ対照として使用する。GreenScreen HC S9アッセイでは、遺伝毒性は、試料の平均蛍光量、及び上記のヨウ化プロピジウム取込みアッセイを使用する細胞毒性を使用して定量されるGFP発現の誘発によって評価される。陽性の遺伝毒性結果に対して統計的に定義される閾値は1.3、すなわち、ビヒクル処置対照のベースラインに加えて30%の誘発であり、その結果を陽性又は陰性として報告する。細胞毒性化合物は、1つ以上の試験濃度において、ビヒクル処置対照と比べて、相対集団生存率が90%に設定された有意な閾値未満に低下することが観察されることを示すものである。

30

40

【0388】

安定的にトランスフェクトしたレポーター細胞系は、p53コンピテントであるTK6ヒトリンパ芽球細胞系から誘導した。このレポーター細胞系は、上流のプロモーター領域を有するエピソーム複製プラスミド、及びヒト最適化緑色蛍光タンパク質(GFP)遺伝子にリンクしているヒトGADD45a遺伝子の他の調節配列を有する。対照細胞系は、EGFP遺伝子の開始

50

点における4つの塩基対の除去を除くと、同じプラスミドを有しており、その結果、GFPは産生されない。プラスミドはどちらもやはり、細胞系にハイグロマイシンB耐性を付与する遺伝子を有しており、プラスミドの存在を連続的に選別することが可能となる(200 µg/mLのハイグロマイシンB、Invitrogen Corporation、Carlsbad、CA)。どちらの細胞系も、加湿雰囲気中、37 °C、5%CO<sub>2</sub>で、10%(v/v)熱不活性化ドナーウマ血清(Lonza Wokingham Ltd、Wokingham、英国)、10mMピルビン酸ナトリウム(Invitrogen Corporation)及び5000 µg/mLの硫酸ストレプトマイシンを含むペニシリンGナトリウム5000U/mL(Invitrogen Corporation)を補給した完全培養培地(GlutaMAX(商標)及び25mM N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸(Invitrogen Corporation)を含むRPMI1640)中で維持した。

#### 【0389】

9つの段階2倍希釈全体の試験化合物をそれぞれ評価するため、レポーター株と、試験株と同一の遺伝子修飾を含有しているが、挿入されたGFP遺伝子の開始点にわずかな配列変化があるのでGFPを産生することはない対照細胞系の両方を使用して、各アッセイプレートで調製する。滅菌黒色壁の光学的に透明な平底ポリスチレン製96ウェルマイクロプレート中で、48時間の曝露を実施した。メタンスルホン酸メチルが「高」(50 µg/mL)濃度と「低」(10 µg/mL)濃度のどちらも2連のウェルが、データの許容性を示すためのプレート間ポジティブ対照として含まれた。他の対照ウェルは、ネガティブ対照としてビヒクル処置(1%v/vDMSO)細胞、汚染確認用のアッセイ培地単独、並びに色調又は沈殿によるいかなる固有蛍光及び/又は光学吸光度も決定するためのアッセイ培地を含む試験化合物を含んだ。

#### 【0390】

激しく震とう(20秒間)する前に、マイクロプレートに呼吸可能な膜(BreathEasy、Diversified Biotech、米国)を適用した。これに、加湿雰囲気中、37 °C及び5%CO<sub>2</sub>で48時間、静止インキュベーションを続けた。48時間後、これらのマイクロプレートを激しく10秒間震とうし、分光測定データを取得する前に、細胞を再懸濁させた。ビヒクル処置対照の平均値に対する「明るさ」の値が得られるよう、蛍光データを吸光度データに正規化し、化合物濃度に対してプロットした。50%の明るさ増加を、遺伝毒性の陽性結果として分類した。これは、ビヒクル処置細胞及び非遺伝毒物処置細胞からの蛍光データにおける標準偏差の3倍超の増加を反映している。吸光度データをビヒクル処置対照に正規化し、細胞毒性としてプロットした。細胞毒性90%は、細胞収率の統計的に有意な低下を反映しており、成長阻害性毒性作用として記録される。

#### 【0391】

マイクロプレートを使用する、GreenScreen HCアッセイマイクロプレートから採集した生データを、GreenScreen HCソフトウェアテンプレートを使用して自動的に解析し、以下のパラメータ:S9フラクションの存在下及び非存在下、ヨウ化プロピジウム排除アッセイにおいて、24時間及び48時間で陽性結果をもたらす最小有効濃度(LEC)(すなわち、細胞生存率の低下)、遺伝毒性に対する陰性効果又は陽性効果に関する結果のまとめを作成した。

#### 【0392】

これらの結果を以下の表にまとめる。

#### 【0393】

【表 1 1】

表10 細胞毒性及び遺伝毒性				
化合物	細胞毒性, LEC (μM)			遺伝毒性
	24時間	48時間, -S9	48時間, +S9	
ABD735	0.31	0.31	5	陰性
ABD836	0.04	0.01	40	陽性
ABD899 <sup>(1)</sup>	< 0.001	< 0.001	0.32	陽性
ABD899 <sup>(2)</sup>	0.64	0.08	81.9	陰性
ABD900	0.29	0.07	74.1	陰性
REF001	0.039	0.039	0.63	陽性
HMC-C-01-A	0.47	0.12	60	陰性
HMC-C-02-A	> 1000	60	120	陰性
HMC-C-03-A	0.24	0.06	15	陰性
HMC-N-01-A	0.94	0.12	60	陰性
HMC-N-02-A	0.94	0.47	120	陰性
HMC-N-03-A	0.94	0.24	30	陰性
HMC-N-04-A	0.47	0.12	30	陰性
HMC-C-01-B	0.08	0.005	4.82	陰性
HMC-C-03-B	0.17	0.08	10.8	陽性
HMC-N-01-B	0.01	0.05	5.85	陰性
HMC-N-02-B	0.04	0.01	10.2	陰性

(1) 実験室規模の回分を、1.3mM～0.3pMの範囲で試験した。

(2) 中規模の回分を、164μM～0.003μMの範囲で試験した。

#### 【 0 3 9 4 】

これらのデータにより、本明細書に記載されているHMC化合物は、参照化合物よりも高い、又は少なくとも同様の細胞毒性及び遺伝毒性を示すこと、並びに特にABD836及びREF001よりも著しく優れていることを示すことが示される。

#### 【 0 3 9 5 】

これらのデータはまた、細胞毒性又は遺伝毒性プロファイルを改善するために必要な変化は、明白なものでも予期可能なものでもないことも実証している。これは、密接に関連している化合物ABD836及びHMC-N-02-Aのプロファイルにより特に強調される。

#### 【 0 3 9 6 】

さらに、これらのデータは、化合物HMC-C-02-A、HMC-C-01-A、HMC-N-02-A及びHMC-N-01-Aの一般細胞毒性に關すると、例外的に安全であることを示している。

#### 【 0 3 9 7 】

生物学的検討9

hERGイオンチャネルアッセイ

ヒトether-a-go-go関連遺伝子(hERG)イオンチャネルの阻害は、心筋活動電位における

再分極IKr電流を媒介しており、これにより、心臓の心拍を協調する電気的活動に寄与することが示されている。hERGが、細胞膜間に電気電流を流す能力が阻害又は損なわれると、長期QT症候群と呼ばれる致死性となり得る障害に至る恐れがある。このhERGと長期QT症候群との間の関連性により、hERG阻害は、薬物開発の間に回避されなければならない重要なアンチ標的となる。

#### 【0398】

hERGイオンチャネルに対する本化合物の活性を試験した。このアッセイは、安定的にトランスフェクトしたチャイニーズハムスター卵巣細胞(hERG-CHO)を使用し、自動化パッチクランプ(path-clamp)法、すなわちQパッチ法を使用して実施した。hERG-CHO細胞を37℃で1~3日間、Kaighn's Kaighn's Nutrient Mixture培地(Invitrogen)+10%FBSで培養した。hERGの電流振幅を増加させるために、パッチクランプする前に、24~48時間、30℃で細胞を維持した。続いて、これらの細胞をトリプシン処理により採取し、Qパッチ細胞調製状態で最大6時間、室温において無血清培地(SFM)中で維持した後、洗浄を行って細胞外溶液中に再懸濁させ、データを記録するため、パッチクランプ部位に取り付けた。

10

#### 【0399】

パッチクランプ電位プロトコル:全細胞コンフィギュレーションを達成した後、この細胞を-80mVに維持した。50ミリ秒のパルスを-40mVまで送り、リーク電流を測定し、この電流をテール電流からオンラインで差し引いた。次に、この細胞を2秒間、+20mV、次いで1秒のパルスで-40mVに脱分極して、hERGテール電流を明らかにした。このパラダイムを5秒毎に1回、送り、電流振幅をモニタリングした。

20

#### 【0400】

細胞外溶液:137mM NaCl、4mM KCl、1.8mM CaCl<sub>2</sub>、1m MgCl<sub>2</sub>、10mM D(+)-グルコース、10mM HEPES緩衝液(NaOHによりpHを7.4に調整)。

#### 【0401】

全細胞コンフィギュレーションを達成した後、細胞外溶液(対照)を最初に適用し、細胞を細胞外溶液中で2分間、安定化させた。次に、試験化合物を低濃度から高濃度まで、累積的に適用した。各試験濃度の細胞を5分間、インキュベートした。各インキュベートの間、上記の電位プロトコルを使用して、細胞を繰り返し刺激し、テール電流振幅を連続的にモニタリングした。

#### 【0402】

許容基準:

- (1)対照におけるピークテール電流>100pA
- (2)初期減衰<30%、及び試験化合物の最初の適用前に減衰が停止
- (3)リーク電流は、いかなる時の対照のピークテール電流の50%未満
- (4)実験全体を通して、rs<20M

30

#### 【0403】

2秒のパルスで+20mVとした後、及び試験化合物とのインキュベート前及びその後に、1秒の試験パルスで-40mVとすることにより誘発される、テール電流振幅を測定することにより、阻害度(%)を得た。電流の差異を対照に正規化し、阻害率を得るために、100を乗算した。

40

#### 【0404】

濃度(log)応答曲線をロジスティック式(3つのパラメータにより、非常に高い試験化合物濃度では、電流は完全に遮断されると仮定する)に当てはめて、50%阻害濃度(IC<sub>50</sub>)の見積もりを作成した。各化合物の濃度-応答関係は、連続的な濃度による電流振幅の低下率から構成された。

#### 【0405】

これらの結果を以下の表にまとめる。

#### 【0406】

【表 1 2】

表11 hERGイオンチャネル阻害		
化合物	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>(1)</sup>	30μMにおける阻害%
ABD599	4.9	85
ABD735	-	62.5
ABD836	-	50
ABD899	2.9	100 <sup>(2)</sup>
ABD899		53 <sup>(3)</sup>
ABD900		51
REF001	-	60
HMC-C-01-A	19.3	79
HMC-C-02-A	25	57
HMC-C-03-A	> 30	45
HMC-C-04-A		69
HMC-N-01-A	183	2
HMC-N-02-A	231	31
HMC-N-03-A	> 30	13
HMC-N-04-A	> 30	26
HMC-C-01-B		74
HMC-C-02-B		94
HMC-C-03-B		36
HMC-N-01-B		27
HMC-N-02-B		23
HMC-N-03-B		47
HMC-N-04-B		60

<sup>(1)</sup> IC<sub>50</sub>は、Grafitバージョン6.0.12(Erithacus Software Ltd.、Dr Robin Leatherbarrowによる)で自動的に算出された、4つのパラメータのロジスティック式を使用して算出した。

<sup>(2)</sup> 実験室規模の回分を試験した。

<sup>(3)</sup> 中規模の回分を試験した。

#### 【 0 4 0 7 】

これらのデータにより、本明細書に記載されているHMC化合物は、経口活性薬に必要な心安定特性を有していること、並びにABD599及びABD899などの参照化合物と、特に陽性プロファイルを示すHMC-N-01-A、HMC-N-02-A及びHMC-N-03-Aとを比較すると、安全性の利点を有することが実証される。

#### 【 0 4 0 8 】

生物学的検討10

ヒト一次白血球(Leucocyte)検討

ヒト免疫系は、薬物又は化学物質により悪影響を受ける恐れのある一連の複雑な細胞及び臓器を含む。これにより、感染、腫瘍、アレルギー反応、自己免疫反応又は他の免疫系疾患の形態への感受性が高まる。したがって、免疫毒性の評価は、新規な医薬品の安全性

10

20

30

40

50



評価の重要な構成要素であり、免疫系をモジュレートすることにより作用する潜在的な抗炎症性薬物の理想的なプロファイルは、他に影響を及ぼすことなく、免疫系細胞のある種のサブセットに対して選択性を実証するものであり、これにより一般的な免疫活性化又は抑制が回避される。例えば、好中球に対して影響を及ぼさないで単球の生存率又は活性を低下させる薬物は、いくつかの疾患に適用すると、患者が感染に反応する能力及び感染を排除する能力を損なうことなく抗炎症特性を有することが期待されると思われる。

#### 【0409】

参照化合物(ABD735)が、ヒト白血球の生存率に影響を及ぼす能力は、ヒト全血に由来する細胞を使用して検討した。参照化合物(ABD735)の作用は、以下のヒト白血球のタイプ：好中球、単球、Bリンパ球、及びCD4陽性(Tヘルパー)及びCD8陽性(T細胞毒性)集団の両方を含むTリンパ球で試験した。これらの細胞タイプの各々は、ヒト免疫系において異なる機能を有する。

10

#### 【0410】

好中球はまた、顆粒球としても知られている。好中球は、ヒトにおいて最も豊富に存在している白血球であり、生得免疫系の一部を形成している。好中球は、細菌性感染により引き起こされる急性期の炎症に対する一次反応として作用する。

#### 【0411】

単球は、血液循環中に見いだされる生得免疫系の一部である。末梢血液の単球は分化してマクロファージを形成し、このマクロファージは、免疫反応のモジュレートに関与する、樹状細胞を含むいくつかの細胞の前駆体である。単球-マクロファージの一次機能は、免疫エフェクター細胞として作用することである。それらは、関節リウマチ及び多発性硬化症を含む、いくつかの慢性炎症状態の病因に深く関与している。

20

#### 【0412】

Tリンパ球は、適応免疫系の一部であり、免疫において中心的な役割を果たしている。Tリンパ球のいくつかのサブセットが存在しており、これらの各々は、免疫系において異なる機能を有している。T細胞毒性リンパ球は、それらの表面にあるCD8と呼ばれる分子の存在により、CD8+T細胞としても知られている。それらの役割は、感染した細胞及び腫瘍細胞を破壊することであるが、炎症状態下では、疾患を悪化させるよう働き得る。Tヘルパーリンパ球は、それらの表面にあるCD4と呼ばれる分子の存在により、CD4+T細胞としても知られている。Tヘルパー細胞の機能は、Bリンパ球の成熟を補助すること、及び細胞毒性T細胞を活性化することである。

30

#### 【0413】

Bリンパ球は、適応免疫系の一部である。それらの主な機能は、抗体を作ること、及び抗原提示細胞として作用することであり、これにより、Tリンパ球が異種抗原を認識することができる。

#### 【0414】

好中球、単球、CD4+及びCD8+T細胞及びBリンパ球の生存率に対する参照化合物(ABD735)の作用は、休止状態と刺激状態の両方下で評価した。休止状態を使用して、ヒト血液に見いだされる正常細胞に対する作用を評価できる可能性があり、刺激状態を使用して、疾患状態下での化合物の作用を評価した。

40

#### 【0415】

細胞生存率に対する効果は、フローサイトメトリーを使用して評価した。フローサイトメトリーは、液流に細胞を懸濁させて、それを電気検出装置に通過させることによる、細胞計数、細胞分類及びバイオマーカー検出に使用される、レーザーをベースとする生物物理的技法である。これにより、1秒当たり最大数千個の粒子の物理的及び化学的特徴の、同時マルチパラメトリック解析が可能になる。フローサイトメトリーを使用する細胞の分類は、特定の細胞マーカーの使用を必要とする。細胞数を定量するため、内部標準としてカウントビーズを使用する。カウントビーズは、既知体積の試料に添加されるマイクロビーズの校正済み懸濁液であり、こうしてビーズ当たりの試料の体積がわかる。これにより、試料中の細胞の絶対数の決定が可能になる。さらに、B及びTリンパ球の場合、細胞増殖

50

は、細胞増殖色素(eFluor(登録商標)450)として知られている色素を使用して測定した。eFluor(登録商標)450は、細胞特異的マーカーにコンジュゲートすることができる有機色素である。この色素は、レーザーにより励起されると、コンジュゲートにより結合している細胞数に比例して、蛍光を発する。したがって、そのシグナルは、特定の細胞タイプの増殖の指標を提供する。

#### 【0416】

好中球の単離、及び生存に対する影響の評価

好中球は、2工程の密度勾配であるHistopaque(登録商標)1077及びHistopaque(登録商標)1119により、全血(健常ドナーから採集)から単離した。抗生物質(ペニシリン100U/mL、ストレプトマイシン100 µg/mL)を補給したRPMI培地中で多形核細胞を洗浄し、10%ウシ胎児血清(FCS)及び抗生物質(ペニシリン100U/mL、ストレプトマイシン100 µg/mL)を補給したRPMI中、 $2 \times 10^6$ 個細胞/mLで再懸濁した。次に、参照化合物(ABD735)(30、10、3、1又は0.3 µM)若しくは対照(0.3%DMSO)を含む又は含まない、或いはデキサメサゾン(1 µM)を含む又は含まない96ウェルプレートに、上記の細胞懸濁液50 µLを加え、37 °C/5%CO<sub>2</sub>で24時間、インキュベートした。インキュベート後、細胞を固定化し、正確な体積のカウントビーズを各管に加えて、生存細胞数を算出した。

10

#### 【0417】

単球の単離、及び生存に対する影響の評価

PBMC(末梢血単核球細胞)は、健常ドナー(全員男性)から採集し、遠心分離により、Fico II Paque(GE Healthcare、英国)の層に単離した。次に、10%FCS及び抗生物質(ペニシリン100U/mL、ストレプトマイシン100 µg/mL)を補給したRPMIに細胞を再懸濁( $3 \times 10^6$ 個細胞/mL)し、48ウェルプレートに細胞懸濁液1mLを加え、次に、37 °C/5%CO<sub>2</sub>で1時間、インキュベートした。続いて、上澄み液を吸引して非接着細胞を除去し、次いで2回の洗浄工程を行い、非接着細胞の除去を確実にした。次に、参照化合物(ABD735)(30、10、3、1又は0.3 µM)の非存在下(対照)又は存在下、LPS(10ng/mL)、TNF (10ng/mL)又はマクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)(10ng/mL)のいずれかにより、37 °C/5%CO<sub>2</sub>で48時間、接着細胞(単球)を刺激した。続いて、このプレートを遠心分離にかけ、PBS中で単球を洗浄した後、PBS及びEDTA(10mM)を添加し、4 °Cで20分間インキュベートして、細胞の脱着を手助けし、ピペット操作により促進された。この単球をFalcon管に加え、PBSを用いて遠心分離により洗浄した後、正確な体積のカウントビーズを各管に加えて、生存細胞数を計算した。

20

30

#### 【0418】

Bリンパ球の単離、及び生存に対する影響の評価

PBMC(末梢血単核球細胞)は、健常ドナー(全員女性)から採集し、遠心分離により、Fico II Paque(GE Healthcare、英国)の層に単離した。次に、10%FCS及び抗生物質(ペニシリン100U/mL、ストレプトマイシン100 µg/mL)を補給したRPMIに上記の細胞を再懸濁した。参照化合物(ABD735)(30、10、3、1又は0.3 µM)若しくは対照(0.3%DMSO)を含む又は含まない、或いは黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)コーワンI(SAC)とインターロイキン-2(SAC/IL-2)(1:10,000及び2ng/mL)との組合せを含む又は含まない96ウェルプレートに、細胞懸濁液を加え、37 °C/5%CO<sub>2</sub>で48時間、インキュベートした。インキュベート後、細胞を抗ヒトCD19により染色した後、正確な体積のカウントビーズを各管に加えて、生存細胞数を算出した。

40

#### 【0419】

B細胞の単離、及び増殖に対する影響の評価

PBMC(末梢血単核球細胞)は、健常ドナー(全員女性)から採集し、遠心分離により、Fico II Paque(GE Healthcare、英国)の層に単離した。次に、細胞の増殖を測定(eFluor(登録商標)450)する細胞増殖色素により上記の細胞を染色し、10%FCS及び抗生物質(ペニシリン100U/mL、ストレプトマイシン100 µg/mL)を補給したRPMIに再懸濁した。参照化合物(ABD735)(30、10、3、1又は0.3 µM)若しくは対照(0.3%DMSO)を含む又は含まない、或いは黄色ブドウ球菌コーワンI(SAC)とインターロイキン-2(SAC/IL-2)(1:10,000及び2ng/mL)との組合せを含む又は含まない96ウェルプレートに、細胞懸濁液を加え、37 °C/5%CO<sub>2</sub>で5日間、

50

インキュベートした。インキュベート後、Bリンパ球のマーカである抗ヒトCD19により細胞を染色した後、フローサイトメータで分析した。e450が低い細胞は、増殖していると見なした。

【0420】

T細胞の単離、及び生存に対する影響の評価

PBMC(末梢血単核球細胞)は、健常ドナー(全員女性)から採集し、遠心分離により、Fico II Paque(GE Healthcare、英国)の層に単離した。次に、10%FCS及び抗生物質(ペニシリン100U/mL、ストレプトマイシン100 µg/mL)を補給したRPMIに上記の細胞を $2 \times 10^6$ 個細胞/mLで再懸濁した。参照化合物(ABD735)(30、10、3、1、又は0.3 µM)若しくは対照(0.3%DMSO)を含む又は含まない、或いはフィトヘマグルチニン(PHA、5 µg/mL)を含む又は含まない96ウェルプレートに細胞懸濁液を加え、37 °C/5%CO<sub>2</sub>で48時間、インキュベートした。インキュベート後、細胞を抗ヒトCD8又はCD4により染色し、正確な体積のカウントビーズを各管に加えて、生存細胞数を算出した。

10

【0421】

T細胞の単離、及び増殖に対する影響の評価

PBMC(末梢血単核球細胞)は、健常ドナー(全員女性)から採集し、遠心分離により、Fico II Paque(GE Healthcare、英国)の層に単離した。次に、細胞増殖色素(eFluor(登録商標)450)により上記の細胞を染色し、10%FCS及び抗生物質(ペニシリン100U/mL、ストレプトマイシン100 µg/mL)を補給したRPMIに再懸濁した。参照化合物(ABD735)(30、10、3、1、又は0.3 µM)若しくは対照(0.3%DMSO)を含む又は含まない、或いはフィトヘマグルチニン(PHA、5 µg/mL)を含む又は含まない96ウェルプレートに細胞懸濁液を加え、37 °C/5%CO<sub>2</sub>で5日間、インキュベートした。インキュベート後、抗ヒトCD8又はCD4により細胞を染色した後、フローサイトメータで解析した。e450が低い細胞は、増殖していると見なした。

20

【0422】

参照化合物(ABD735)の平均結果(n=3)を、倍率変化対平均対照値として表した。次に、GrafFit(Erithacus Software)からのソフトウェアを使用して、データをグラフとしてプロットした。各実験を3回、繰り返し、これらのデータをすべての実験からの平均として表す。

【0423】

これらの結果を以下の表にまとめる。

30

【0424】

【表 13】

表12 ABD735(3μM)の存在下での細胞生存率		
細胞タイプ	刺激	生存率の 倍率変化
好中球	-	1.0
	デキサメサゾン	0.8
Bリンパ球	-	0.9
	SAC/IL-2	1.1
CD4+Tリンパ球	-	0.9
	フィトヘマグルチニン	0.6
CD8+Tリンパ球	-	0.8
	フィトヘマグルチニン	0.7
単球	-	0.7
	M-CSF	1.1
	LPS	1.0
	TNFα	0.5

【 0 4 2 5 】

【表 14】

表13 ABD735(3μM)の存在下での細胞増殖		
細胞タイプ	刺激	増殖の 倍率変化
Bリンパ球	-	0.9
	SAC/IL-2	0.6
CD4+Tリンパ球	-	1
	フィトヘマグルチニン	0.6
CD8+Tリンパ球	-	0.7
	フィトヘマグルチニン	0.3

【 0 4 2 6 】

白血球型全体での参照化合物 (ABD735) の単一の高濃度 (3 μM) からの結果が、上に示されている。このアッセイでは、0.5以下の倍率変化が、生存率の低下に関して有意性があり、0.6以下の倍率変化が、増殖率の低下に関して有意性がある。

【 0 4 2 7 】

参照化合物 (ABD735) は、TNF 単独の存在下で、及びM-CSF又はLPSのどちらか一方の非存在下で、単球の生存率を選択的に低下させることが、これらのデータからわかる。さらに、参照化合物 (ABD735) は、別の白血球集団の生存率に対してほとんど影響を及ぼしておらず、このことはこの一連の化合物は、一般に、免疫抑制剤ではないことを示している。参照化合物 (ABD735) はまた、リンパ球の増殖も低下させ、最も有意な効果は、刺激されたCD8+Tリンパ球において認められることも示されている。リンパ球のサブ集団の増殖にお

10

20

30

40

50

ける選択的な低下を伴う、上記などのプロファイルは、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、クローン病、及び多発性硬化症などの炎症の疾患の処置、並びに節外性T細胞リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、未分化大細胞型リンパ腫及び血管免疫芽球性T細胞性リンパ腫などのT細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫などのB細胞リンパ腫(びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫、濾胞性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、小細胞リンパ球性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫及びバーキットリンパ腫を含む)、及び慢性リンパ芽球白血病及び多発性骨髄腫などの他の白血病を含む白血病の処置に対して魅力のある機構のプロファイルである。

【0428】

生物学的検討11

10

ラットのプリスタン誘発性関節炎の検討

雌のLewisラットをすべての手順に使用した。動物を5つの群で収容し、餌及び水を自由摂取させて、12時間の明/暗周期で21 ± 2 に維持した。尾の基底部にプリスタン0.3mLを経皮投与することにより関節炎を誘発させた。ラットは、プリスタン注射の約7日後に、関節炎の徴候及び症状を発症し始めた。

【0429】

関節炎の巨視的評価に関しては、1週間当たり3回、各マウスの各脚で以下の徴候を監視し、関節炎点(AI)(1匹の動物の最大AIは16である)を求めて合計した:

0=関節炎の目視可能な影響はない。

1=1本の指に浮腫及び/又は紅斑がある。

20

2=2本の指に浮腫及び/又は紅斑がある。

3=3本以上の指に浮腫及び/又は紅斑がある。

4=脚の変形及び関節の硬直を含む、全部の脚及び指に重症な関節炎がある。

【0430】

動物はプリスタン投与の前に処置群に分類し、試験化合物を3及び10mg/kg/日の用量で強制経口投与することにより、又はポジティブ対照であるメトトレキセートの場合、0.05 mg/kgの用量で腹腔内注射することにより、28日間、毎日1回投与した。実験の終了後、これらのラットを犠牲にした。

【0431】

各処置群全体の関節炎点の平均を求めることによりこれらのデータを解析した。次に、平均関節炎点を、疾患の阻害率を求める以下の式を使用し、対照(未処置)動物の関節炎点と比較した。

30

【0432】

【数3】

$$\text{疾患の阻害\%} = 100 - \left[ \frac{\text{平均関節炎点:処置動物}}{\text{平均関節炎点:未処置動物}} * 100 \right]$$

【0433】

これらのデータを以下の表にまとめる。

40

【表 15】

表14 関節炎の阻害		
化合物	用量 (mg/kg/日)	疾患の 阻害%
ABD899	3	21
ABD899	10	ND <sup>(1)</sup>
HMC-C-01-A	3	40
HMC-C-01-A	10	67
HMC-N-01-A	3	39
HMC-N-01-A	10	60

10

<sup>(1)</sup> 投与は、副作用により10日目に、終了した。

## 【0434】

いくつかの化合物のデータを図3にも例示する。

## 【0435】

20

図3は、(A)3mg/kg/日で投与したABD899(上部左)、(B)3mg/kg/日で投与したHMC-C-01-A(上部中央)、(C)3mg/kg/日で投与したHMC-N-01-A(上部右)、(D)10mg/kg/日で投与したABD899(下部左)、(E)10mg/kg/日で投与したHMC-C-01-A(下部中央)、及び(F)10mg/kg/日で投与したHMC-N-01-A(下部右)の各場合について、試験化合物(白丸)、対照(黒丸)及びポジティブ対照、メトトレキセート(三角)に関する、時間の関数(投与日数)としての平均関節炎点のそれぞれを示す、6つのグラフである。

## 【0436】

これらのデータは、本明細書に記載されているHMC化合物は、プリスタン誘発性関節炎の進行を予防するのに、優れた経口インビボ活性を示す一方、化合物ABD899は、生物学的検討6において良好な活性を示したにもかかわらず、本モデルでは、疾患に対して限定的な効果を有することを示している。さらに、化合物HMC-C-01-A及びHMC-N-01-Aは、長期間の投与中、動物によって十分に耐容される一方、ABD899は、投与を終わらせて、ABD899の投与を受けている動物をこの検討から除外する必要があるほど、耐容性に乏しいものであった(図3のパネルDに示されている)。さらに、化合物HMC-C-01-Aは、このモデルにおいて特に良好な効力を示しており、この効力は、上市されている関節リウマチの第1選択治療であるメトトレキセートのそれと同等であった。

30

## 【0437】

これらのデータはさらに、優れた効力を有する化合物の特定は、明白なものでも予期可能なものでもないことを示している。

## 【0438】

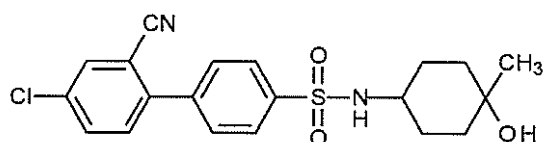
40

上述は、本発明の原理、好ましい実施形態、及び操作様式を記載した。しかし、本発明は、議論されている特定の実施形態に限定されるものとして解釈すべきではない。実際に、上記の実施形態は、限定的というよりも例示的なものとして見なされるべきである。そうした実施形態において、本発明の主旨から逸脱することなく、当業者により改変がなされてもよいことを理解すべきである。

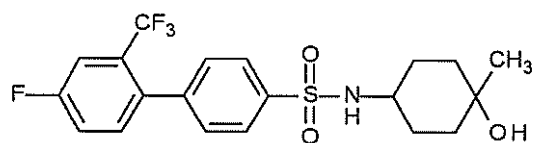
本発明の実施形態として、例えば以下を挙げることができる。

(1) 以下の式の化合物から選択される化合物

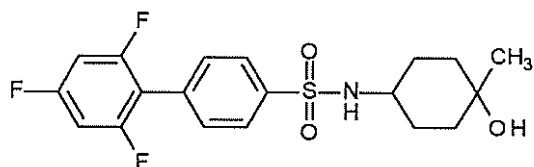
## 【化 4 2】



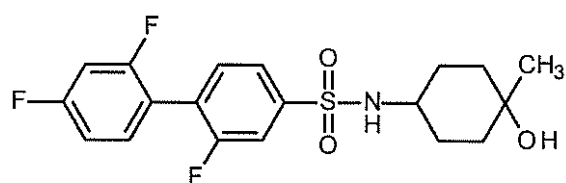
(HMC-C-01),



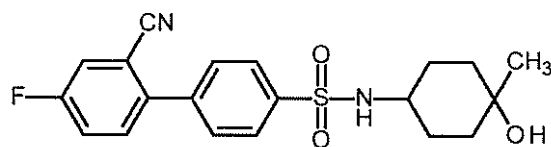
(HMC-C-02),



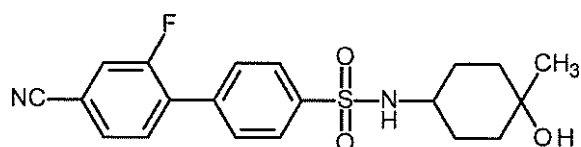
(HMC-C-03),



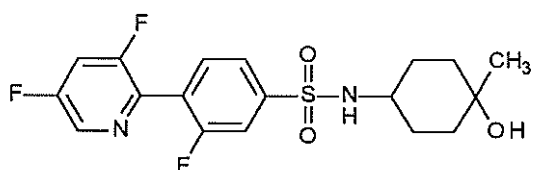
(HMC-C-04),



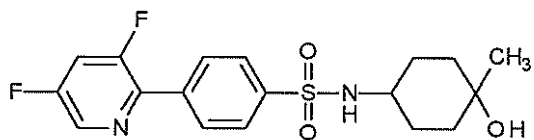
(HMC-C-05),



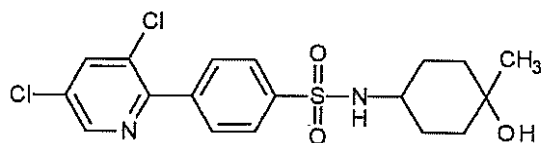
(HMC-C-06),



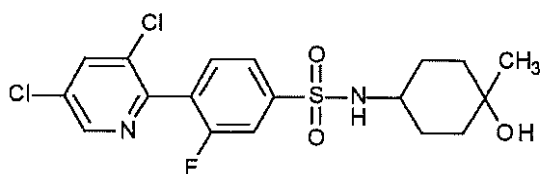
(HMC-N-01),



(HMC-N-02),



(HMC-N-03), 及び



(HMC-N-04).

10

20

30

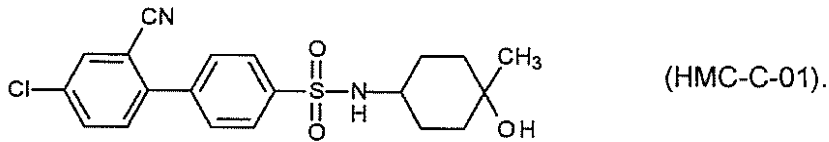
40

50

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(2) 以下の式の化合物である(1)に記載の化合物

【化 4 3】

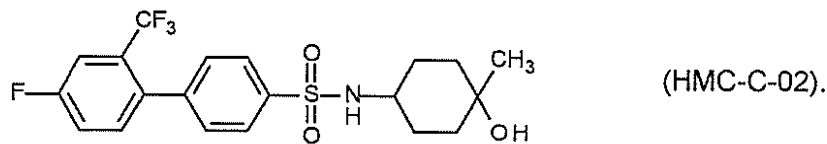


又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

10

(3) 以下の式の化合物である(1)に記載の化合物

【化 4 4】

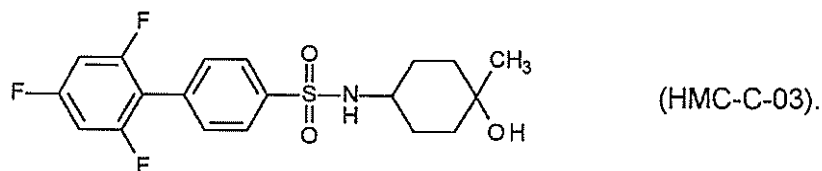


又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(4) 以下の式の化合物である(1)に記載の化合物

20

【化 4 5】

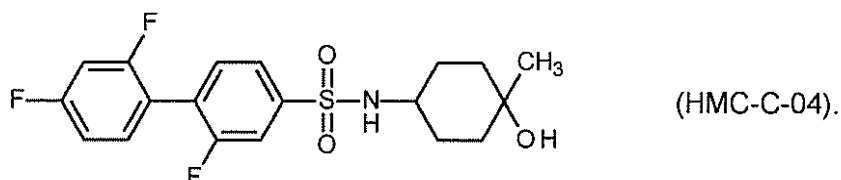


又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(5) 以下の式の化合物である(1)に記載の化合物

30

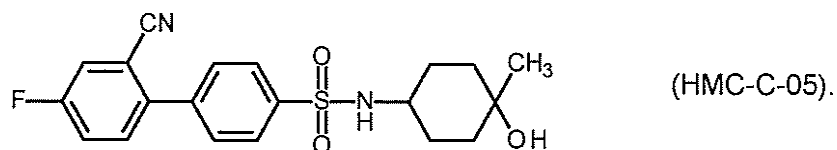
【化 4 6】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(6) 以下の式の化合物である(1)に記載の化合物

【化 4 7】



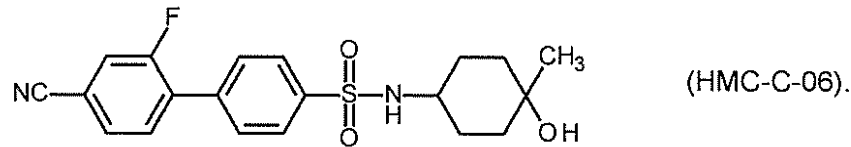
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(7) 以下の式の化合物である(1)に記載の化合物

40



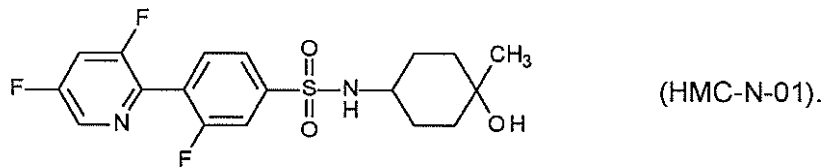
## 【化 4 8】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(8) 以下の式の化合物である(1)に記載の化合物

## 【化 4 9】

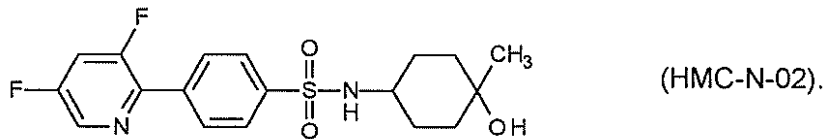


10

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(9) 以下の式の化合物である(1)に記載の化合物

## 【化 5 0】

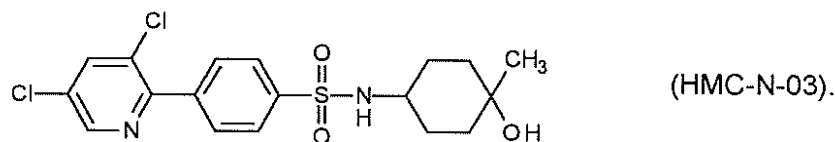


20

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(10) 以下の式の化合物である(1)に記載の化合物

## 【化 5 1】

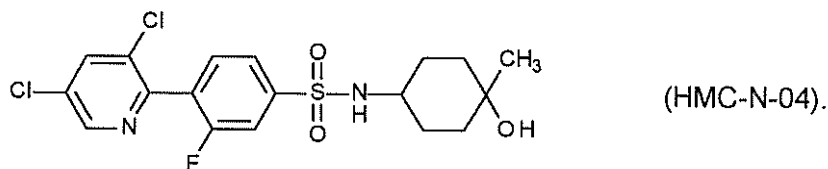


30

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(11) 以下の式の化合物である(1)に記載の化合物

## 【化 5 2】

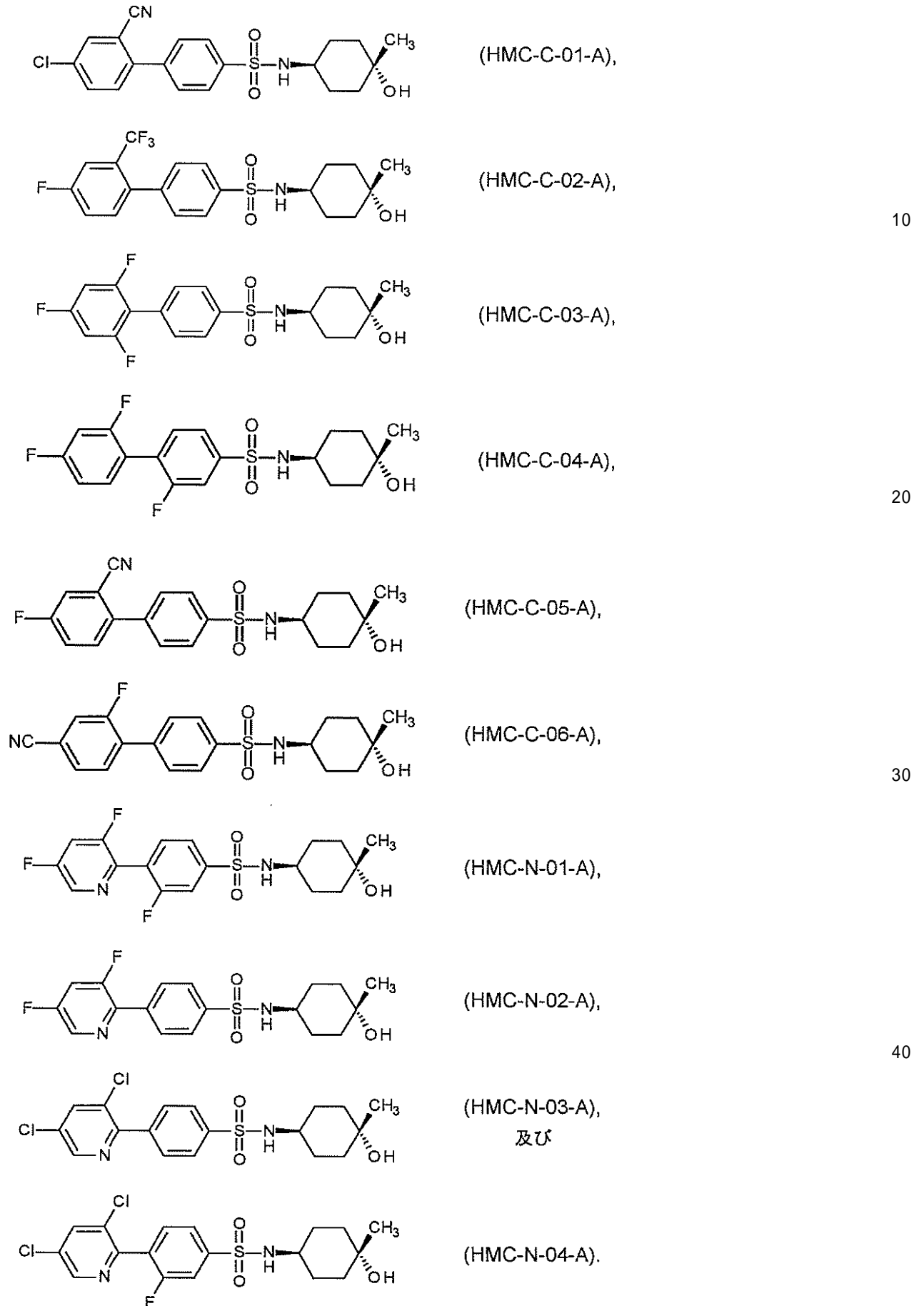


40

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(12) 以下の式の化合物から選択される化合物である、(1)に記載の化合物

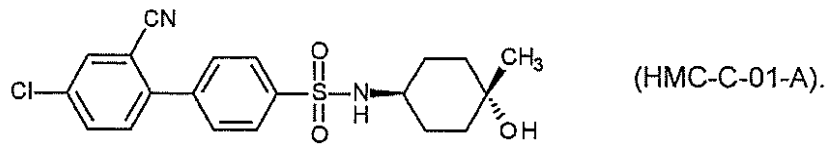
## 【化 5 3】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(13) 以下の式の化合物である、(12)に記載の化合物

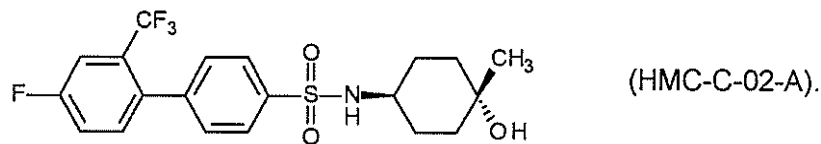
【化 5 4】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(14) 以下の式の化合物である、(12)に記載の化合物

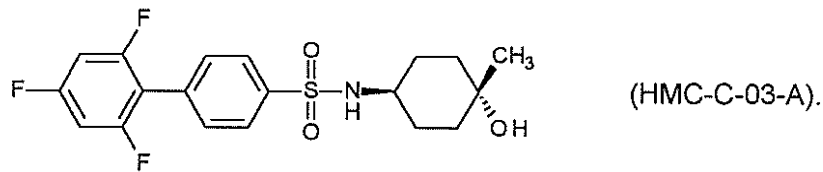
【化 5 5】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(15) 以下の式の化合物である、(12)に記載の化合物

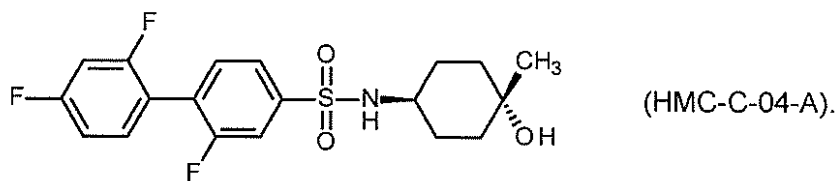
【化 5 6】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(16) 以下の式の化合物である、(12)に記載の化合物

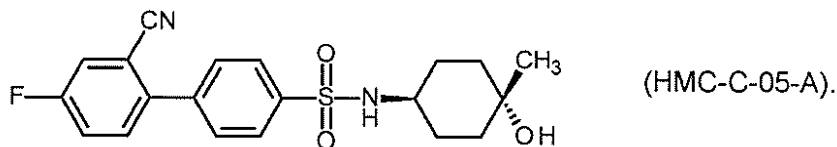
【化 5 7】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(17) 以下の式の化合物である、(12)に記載の化合物

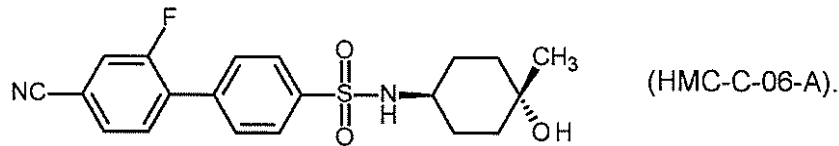
【化 5 8】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(18) 以下の式の化合物である、(12)に記載の化合物

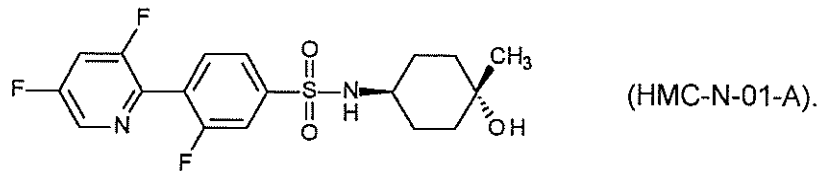
## 【化 5 9】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(19) 以下の式の化合物である、(12)に記載の化合物

## 【化 6 0】

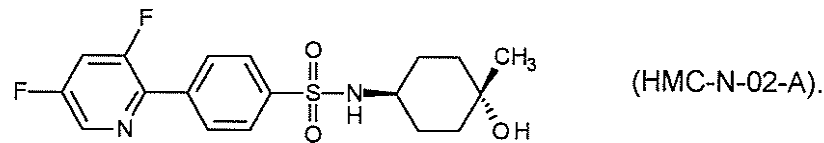


10

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(20) 以下の式の化合物である、(12)に記載の化合物

## 【化 6 1】

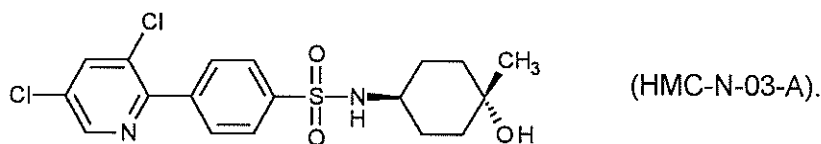


20

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(21) 以下の式の化合物である、(12)に記載の化合物

## 【化 6 2】

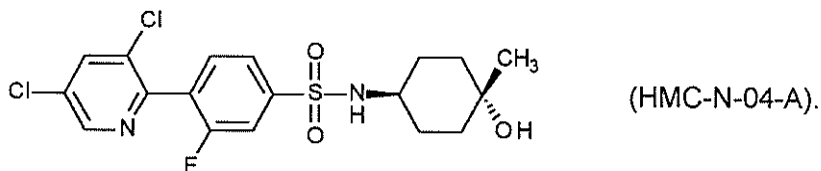


30

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(22) 以下の式の化合物である、(12)に記載の化合物

## 【化 6 3】

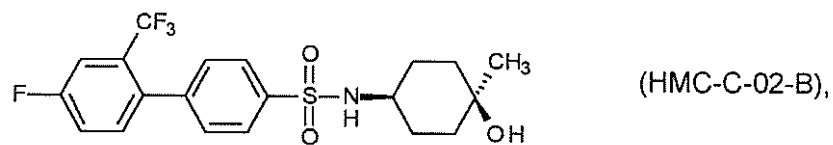
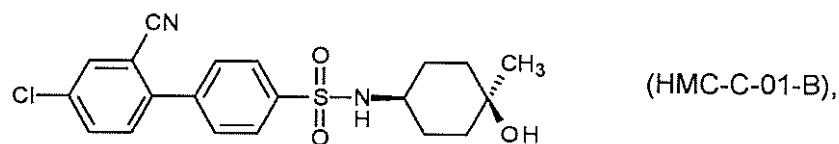


40

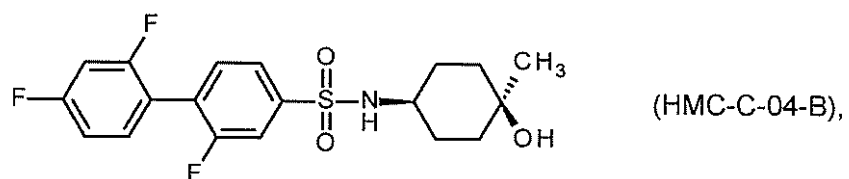
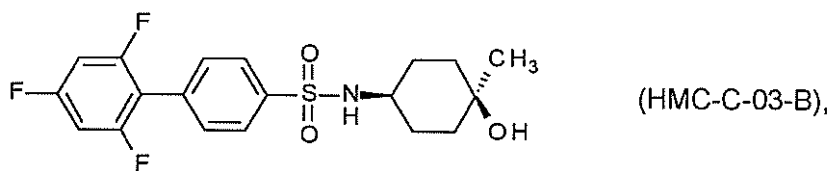
又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(23) 以下の式の化合物から選択される化合物である、(1)に記載の化合物

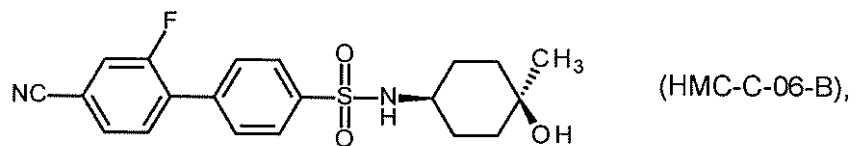
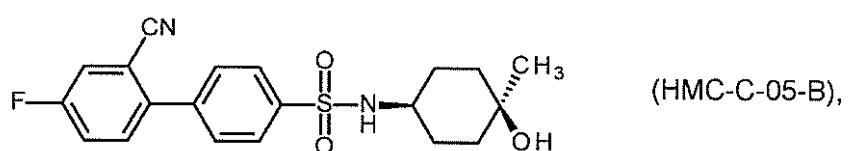
## 【化 6 4】



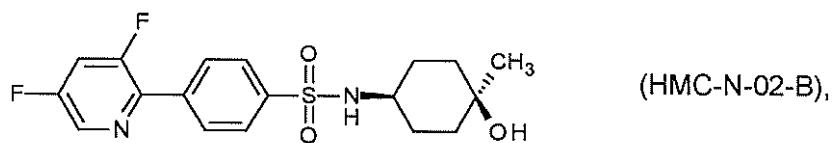
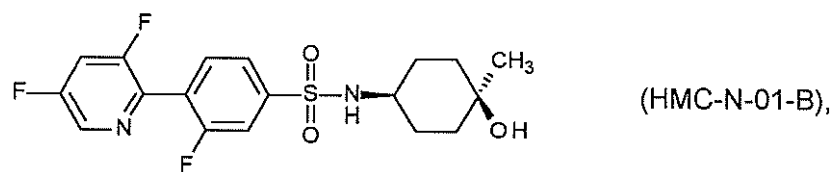
10



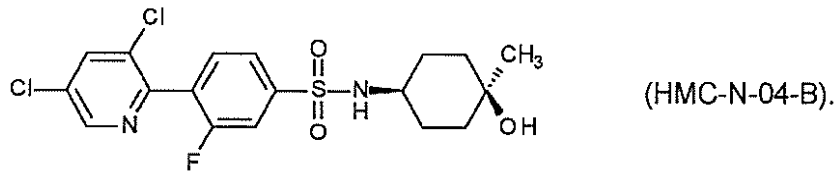
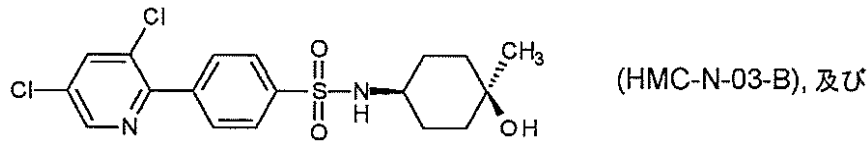
20



30



40

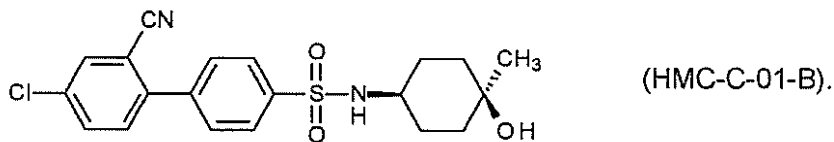


10

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(24) 以下の式の化合物である(23)に記載の化合物

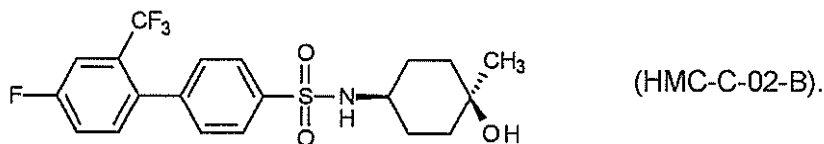
【化 6 5】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(25) 以下の式の化合物である(23)に記載の化合物

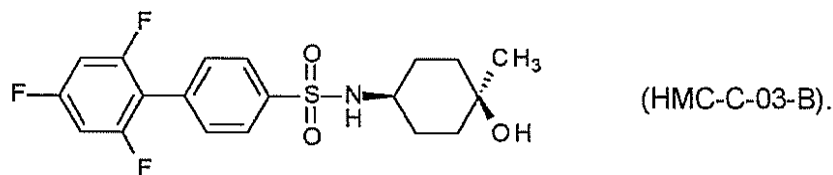
【化 6 6】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(26) 以下の式の化合物である(23)に記載の化合物

【化 6 7】

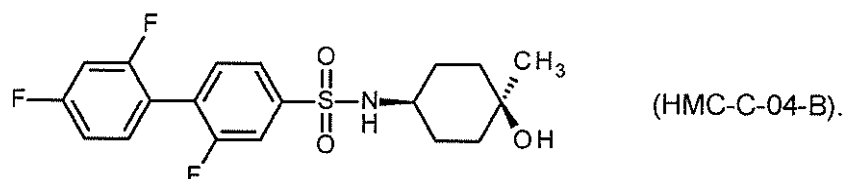


30

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(27) 以下の式の化合物である(23)に記載の化合物

【化 6 8】

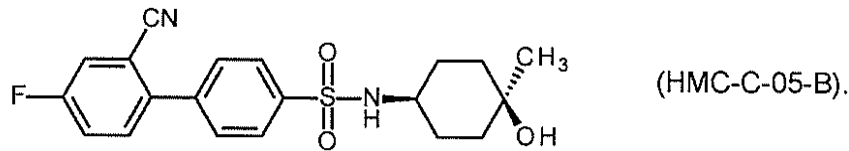


40

又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(28) 以下の式の化合物である(23)に記載の化合物

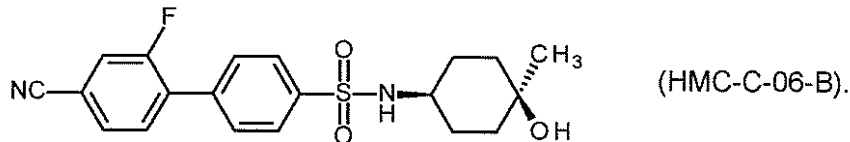
【化 6 9】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(29) 以下の式の化合物である(23)に記載の化合物

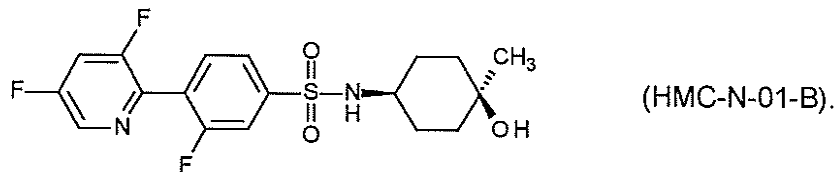
【化 7 0】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(30) 以下の式の化合物である(23)に記載の化合物

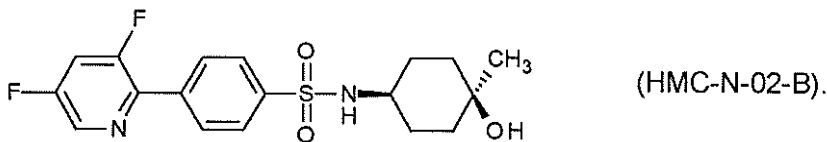
【化 7 1】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(31) 以下の式の化合物である(23)に記載の化合物

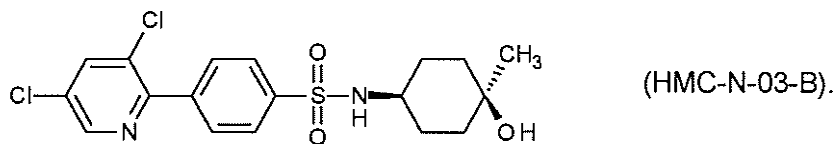
【化 7 2】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(32) 以下の式の化合物である(23)に記載の化合物

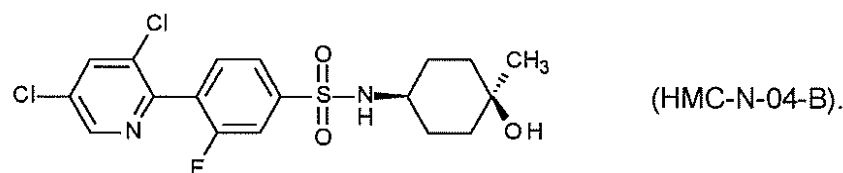
【化 7 3】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(33) 以下の式の化合物である(23)に記載の化合物

【化 7 4】



又は薬学的に許容されるその塩、水和物若しくは溶媒和物。

(34) (1)から(33)のいずれかに記載の化合物、及び薬学的に許容される担体又は希釈剤

10

20

30

40

50

を含む、組成物。

(35) (1)から(33)のいずれかに記載の化合物と薬学的に許容される担体又は希釈剤とを混合するステップを含む、組成物の調製方法。

(36) 治療によるヒト又は動物の生体の処置方法における使用のための、(1)から(33)のいずれかに記載の化合物。

(37) 障害の処置方法における使用のための、(1)から(33)のいずれかに記載の化合物。

(38) 障害を処置するための医薬製造における、(1)から(33)のいずれかに記載の化合物の使用。

(39) 処置を必要とする患者に、治療有効量の(1)から(33)のいずれかに記載の化合物を投与するステップを含む、障害の処置方法。

(40) 処置が、

関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、喘息、アテローム性動脈硬化、炎症性腸疾患、強直性脊椎炎、

多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、シェーグレン症候群、

関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患、又はパジェット病における、破骨細胞過剰活性に関連する骨量減少などの骨量減少を伴う障害、

多発性骨髄腫、白血病若しくはリンパ腫などの血液悪性腫瘍、又は膀胱がん、乳がん(女性及び/又は男性)、結腸がん、腎細胞癌、腎臓がん、肺がん、膵臓がん、胃がん、前立腺がん、脳がん、皮膚がん、甲状腺がん、基底細胞エナメル上皮腫若しくは黒色腫などの固形腫瘍がんなどのがん、

全身性硬化症又は強皮症などの線維症を伴う障害

ベーチェット病などの希な血管炎

の処置である、(37)に記載の使用のための化合物、(38)に記載の使用、又は(39)に記載の方法。

(41) 処置が、

関節リウマチ、乾癬、乾癬性関節炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、喘息、アテローム性動脈硬化、炎症性腸疾患、又は強直性脊椎炎

の処置である、(37)に記載の使用のための化合物、(38)に記載の使用、又は(39)に記載の方法。

(42) 処置が、

多発性硬化症、全身性エリテマトーデス又はシェーグレン症候群

の処置である、(37)に記載の使用のための化合物、(38)に記載の使用、又は(39)に記載の方法。

(43) 処置が、

関節リウマチ、骨粗鬆症、がん関連骨疾患、又はパジェット病における、破骨細胞過剰活性に関連する骨量減少などの骨量減少を伴う障害

の処置である、(37)に記載の使用のための化合物、(38)に記載の使用、又は(39)に記載の方法。

(44) 処置が、

多発性骨髄腫、白血病又はリンパ腫などの血液悪性腫瘍、膀胱がん、乳がん(女性及び/又は男性)、結腸がん、腎細胞癌、腎臓がん、肺がん、膵臓がん、胃がん、前立腺がん、脳がん、皮膚がん、甲状腺がん、基底細胞エナメル上皮腫又は黒色腫などの固形腫瘍がんなどのがん

の処置である、(37)に記載の使用のための化合物、(38)に記載の使用、又は(39)に記載の方法。

(45) 処置が、

全身性硬化症又は強皮症などの線維症を伴う障害

の処置である、(37)に記載の使用のための化合物、(38)に記載の使用、又は(39)に記載の方法。

(46) 処置が、

10

20

30

40

50



ペーチェット病などの希な血管炎  
 の処置である、(37)に記載の使用のための化合物、(38)に記載の使用、又は(39)に記載の方法。

【 0 4 3 9 】

#### 参考文献

本発明及び本発明に関する最新技術をより完全に記載並びに開示するために、いくつかの刊行物が本明細書において引用されている。これらの刊行物に関する引用の全体が、以下に提示されている。これらの刊行物のそれぞれが、それぞれの個々の刊行物が具体的且つ個別に参照により本明細書に組み込まれているものと示されているかのごとく同じ程度に、参照によりその全体が本開示に組み込まれている。

10

【表 1 6】

- Akahoshi *et al.*, 2008, "Promoter polymorphisms in the IRF3 gene confer protection against systemic lupus erythematosus", Lupus, Vol. 17 pp. 568-574.
- Astry *et al.*, 2011, "A cytokine-centric view of the pathogenesis and treatment of autoimmune arthritis", J Interferon Cytokine Res., Vol. 31, pp.927-940.
- Bahmanyar *et al.*, 2010, "Aminotriazolopyridines and their use as kinase inhibitors", international patent publication number WO 2010/027500 A1 published 11 March 2010.
- Baud *et al.*, 1999, "Signalling by proinflammatory cytokines: oligomerization of TRAF2 and TRAF6 is sufficient for JNK and IKK activation and target gene induction via an amino-terminal effector domain", Genes Dev., Vol. 13, pp. 1297-1308.
- Baud *et al.*, 2009, "Is NFκB a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls", Nat. Rev. Drug Disc., Vol. 8, pp. 33-40.
- Billiau, 2010, "Etanercept improves linear growth and bone mass acquisition in MTX-resistant polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis", Rheumatology (Oxford), Vol. 49, pp. 1550-1558.
- Bladh *et al.*, 2006, "Novel sulphonamide derivatives as glucocorticoid receptor modulators for the treatment of inflammatory diseases", international patent publication number WO 2006/046916 A1 published 04 May 2006.
- Brennan *et al.*, 1992, "Enhanced expression of tumor necrosis factor receptor mRNA and protein in mononuclear cells isolated from rheumatoid arthritis synovial joints", Eur. J. Immunol., Vol. 22, pp. 1907-1912.
- Brennan *et al.*, 1996, "Cytokines in autoimmunity", Curr. Opin. Immunol., Vol. 8, pp. 872-877.
- Chen *et al.*, 2012, "High-affinity and selective dopamine D<sub>3</sub> receptor full agonists", Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol. 22, pp. 5612-5617.
- Childs, L.M., *et al.*, 2001, "Efficacy of etanercept for wear debris-induced osteolysis", Journal of Bone and Mineral Research, Vol. 16, No. 2, pp. 338-347.
- Dallas *et al.*, 2011, "Osteoimmunology at the nexus of arthritis, osteoporosis, cancer, and infection", J. Clin. Invest., Vol. 121, pp. 2534-2542.
- Dimitris *et al.*, 1998, "The Pathophysiologic Roles of Interleukin-6 in Human Disease", Ann Intern Med., Vol. 128, No. 2, pp. 127-137.

20

30

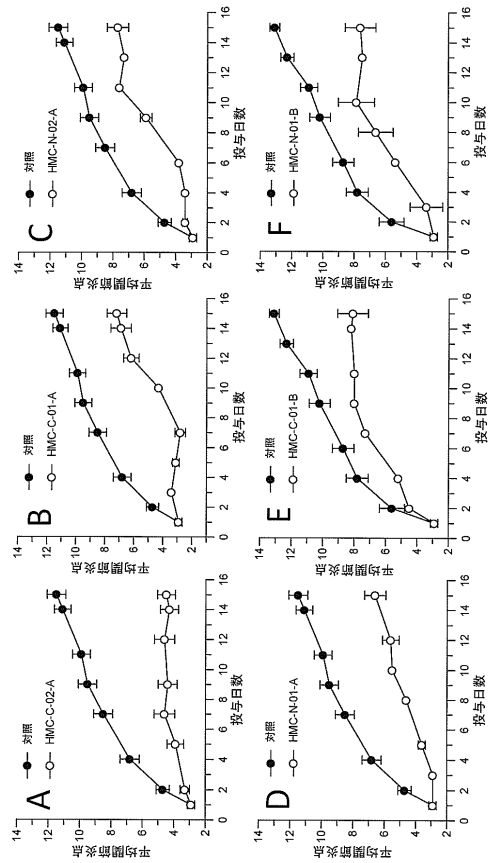
40

- Dvorak *et al.*, 1996, "Comparative ultrastructural morphology of human basophils stimulated to release histamine by anti-IgE, recombinant IgE-dependent histamine-releasing factor, or monocyte chemotactic protein-1", Journal of Allergy and Clinical Immunology, Vol. 98, pp. 355-370.
- Feldmann *et al.*, 1994, "TNF alpha as a therapeutic target in rheumatoid arthritis," Circ. Shock, Vol. 43, pp. 179-184.
- Feldmann *et al.*, 1996, "Rheumatoid arthritis", Cell, Vol. 85, pp. 307-310.
- Feldmann *et al.*, 2001, "The role of TNF alpha and IL-1 in rheumatoid arthritis," Curr. Dir. Autoimmun., Vol. 3, pp. 188-199. 10
- Firestein, 2005 "Immunologic mechanisms in the pathogenesis of rheumatoid arthritis", J. Clin. Rheumatol., Vol. 11. pp. S39-S44.
- Fu *et al.*, 2011, "Association of a functional IRF7 variant with systemic lupus erythematosus", Arthritis Rheum., Vol. 63, pp. 749-754.
- Gabay, 2006, "Interleukin-6 and chronic inflammation", Arthritis Research & Therapy, Vol. 8 (Suppl 2), S3.
- Galli *et al.*, 1989, "IgE, Mast Cells and the Allergic Response", Ciba Foundation Symposium, Vol. 147, pp. 53-73.
- Gottlieb, 2005, "Psoriasis: Emerging Therapeutic Strategies", Nat. Rev. Drug Disc., Vol. 4, pp. 19-34. 20
- Greig *et al.*, 2006, "Development and characterization of biphenylsulfonamides as novel inhibitors of bone resorption", J. Med. Chem., Vol 49: pp 7487-7492.
- Greig *et al.*, 2008, "Biphenyl-4-yl-sulfonic acid arylamides and their use as therapeutic agents", international patent publication number WO 2008/114022 A1 published 25 September 2008.
- Greig *et al.*, 2010a, "Aryl-phenyl-sulfonamido-cycloalkyl compounds and their use", international patent publication number WO 2010/032009 A1 published 25 March 2010. 30
- Greig *et al.*, 2010b, "Aryl-phenyl-sulfonamido-phenylene compounds and their use", international patent publication number WO 2010/032010 A1 published 25 March 2010.
- Greig *et al.*, 2013, "Development of triarylsulfonamides as novel anti-inflammatory agents", Bioorg. & Med. Chem. Lett., Vol. 23, pp. 816-820.
- Hadida *et al.*, 2007, "Heterocyclic modulators of ATP-binding cassette transporters", international patent publication number WO 2007/056341 A1 published 18 May 2007.
- Hu *et al.*, 2011, "A meta-analysis of the association of IRF5 polymorphism with systemic lupus erythematosus International", Journal of Immunogenetics, Vol. 38, pp. 411-417. 40
- Jimi *et al.*, 2004, "Selective inhibition of NF-kappa B blocks osteoclastogenesis and prevents inflammatory bone destruction in vivo", Nat. Med., Vol. 10, pp. 617-624.

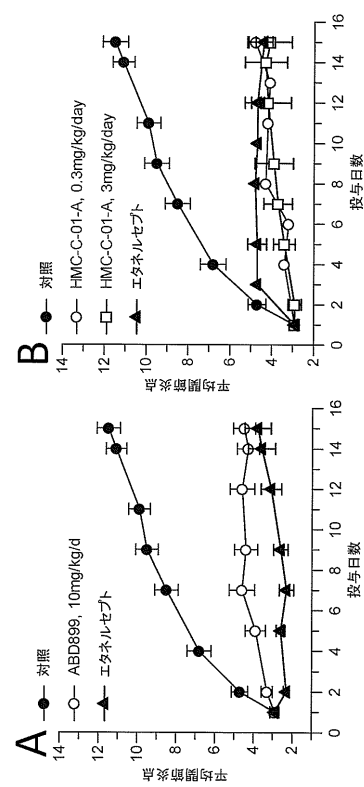
- Joosten *et al.*, 1996, "Anticytokine treatment of established type II collagen-induced arthritis in DBA/1 mice. A comparative study using anti-TNF alpha, anti-IL-1 alpha/beta, and IL-1Ra," Arthritis Rheum., Vol. 39, pp. 797-809.
- Karsenty *et al.*, 2002, "Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development", Dev. Cell., Vol. 2, pp. 389-406.
- Klareskog *et al.*, 2006, "Mechanisms of disease: Genetic susceptibility and environmental triggers in the development of rheumatoid arthritis," Nat. Clin. Pract. Rheumatol., Vol. 2, pp. 425-433.
- Korzenik *et al.*, 2006, "Evolving knowledge and therapy of inflammatory bowel disease," Nat. Rev. Drug Disc., Vol. 5, pp. 197-209. 10
- Krausgruber *et al.*, 2011, "IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses", Nat. Immunol., Vol. 12, pp. 231-238.
- Li *et al.*, 2008, "A tumor necrosis factor- $\alpha$ -mediated pathway promoting autosomal dominant polycystic kidney disease", Nature Medicine, Vol. 14, No. 8, pp. 863-868.
- Liu, 2005, "Molecular mechanism of TNF signalling and beyond," Cell Res., Vol. 15, pp. 24-27.
- Long, 2012, "Osteoimmunology: the expanding role of immunoreceptors in osteoclasts and bone remodeling", Bone Key Rep., Vol. 1, p. 59. 20
- Malemud *et al.*, 2010, "Myeloid-related protein activity in Rheumatoid Arthritis", International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research, Vol. 2, pp. 97-111.
- Mantovani, 2009, "Inflaming metastasis", Nature, Vol. 457, pp. 36-37.
- Mazzucchelli *et al.*, 1996, "Differential in situ expression of the genes encoding the chemokines MCP-1 and RANTES in human inflammatory bowel disease", J. Pathol., Vol. 178, No. 2, pp. 201-206.
- McInnes *et al.*, 2007, "Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis", Nat. Rev. Immunol., Vol. 7, pp. 429-442. 30
- Minamino *et al.*, 2012, "IRF-2 regulates B-cell proliferation and antibody production through distinct mechanisms", Int Immunol., Vol. 24, pp. 573-581.
- Mount *et al.*, 2005, "Rheumatoid arthritis market", Nat. Rev. Drug Disc., Vol. 2, pp. 11-12.
- O'Shea *et al.*, 2013, "Janus kinase inhibitors in autoimmune diseases", Annals of Rheumatic Disease, Vol. 72, Supplement 2, pp. 111-115.
- Ogata *et al.*, 2012, "Safety and Efficacy of Tocilizumab for the Treatment of Rheumatoid Arthritis", Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord., Vol. 5, pp. 27-42.
- Parameswaran *et al.*, 2010, "Tumor necrosis factor- $\alpha$  signaling in macrophages", Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr., Vol. 20, pp. 87-103. 40
- Philchenkov *et al.*, 2004, "Caspases and cancer: mechanisms of inactivation and new treatment modalities", Exp. Oncol., Vol. 26, pp 82-97.
- Pisetsky, 2012, "Advances in the treatment of inflammatory arthritis", Best Pract. Res. Clin. Rheumatol., Vol. 26. pp.251-261.

- Ralston *et al.*, 2005, "Aryl alkyl sulfonamides as therapeutic agents for the treatment of bone conditions", international patent publication number WO 2005/118528 A2 published 15 December 2005.
- Rincon, 2012 "Interleukin-6: from an inflammatory marker to a target for inflammatory diseases", Trends in Immunology, Vol. 33, No. 11, pp. 571-577.
- Roodman, 2006, "Regulation of osteoclast differentiation", Ann. N. Y. Acad. Sci., Vol. 1068, pp. 100-109.
- Scott *et al.*, 2010, "Rheumatoid Arthritis", Lancet, Vol. 376, pp. 1094-1108. 10
- Sharif *et al.*, 2012, "IRF5 polymorphism predicts prognosis in patients with systemic sclerosis", Annals of the Rheumatic Diseases, Vol. 71, pp. 1197-1202.
- Smolen *et al.*, 2003, "Therapeutic Strategies for Rheumatoid Arthritis", Nat. Rev. Drug Disc., Vol. 2, pp. 473-488.
- Steger *et al.*, 2011, "Denosumab for the treatment of bone metastases in breast cancer: evidence and opinion", Ther. Adv. Med. Oncol., Vol. 3, pp. 233-243.
- Sugiyama *et al.*, 1995, "Chemokines in bronchoalveolar lavage fluid in summer-type hypersensitivity pneumonitis", Eur. Respir. J., Vol. 8, pp. 1084-1090.
- Sun, 2010, "Mechanical loading, cartilage degradation and arthritis", Annals of the New York Academy of Sciences, Vol. 1211, pp. 37-50. 20
- Takaoka *et al.*, 2005, "Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by Toll-like receptors", Nature, Vol. 434, pp. 243-249.
- Takayanagi, 2009, "Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone", Nature Reviews Rheumatology, Vol. 5, pp. 667-676.
- Tanaka *et al.*, 2003, "Signal transduction pathways regulating osteoclast differentiation and function", J. Bone Miner. Metab., Vol. 21, pp. 123-133.
- Tsutsumi *et al.*, 2005, "Dipeptidyl peptidase IV inhibitor", international patent publication number WO 2005/025554 A2 published 24 March 2005.
- van den Berg *et al.*, 1999, "Pathogenesis of joint damage in rheumatoid arthritis: evidence of a dominant role for interleukin-1", Baillieres Best Pract. Res. Clin. Rheumatol., Vol. 13, pp. 577-597. 30
- van den Berg, 2002, "Is there a rationale for combined TNF and IL-1 blocking in arthritis?", Clin. Exp. Rheumatol., Vol. 20, pp. S21-S25.
- Volejnikova *et al.*, 1997, "Monocyte recruitment and expression of monocyte chemoattractant protein-1 are developmentally regulated in remodeling bone in the mouse", Am. J. Pathol., Vol. 150, No. 5, pp. 1711-1721.
- Wang *et al.*, 2010, "Selective ligands for the dopamine 3 (D<sub>3</sub>) receptor and methods of using same", international patent publication number WO 2010/025235 A1 published 04 March 2010. 40
- Zhang *et al.*, 2012 "Regulation of T helper cell differentiation by interferon regulatory factor family members", Immunol. Res., Vol. 54 pp. 169-176.
- Zheng *et al.*, 1998, "Gene expression of monocyte chemoattractant protein-1 in giant cell tumors of bone osteoclastoma: Possible involvement in CD68<sup>+</sup> macrophage-like cell migration", Journal of Cellular Biochemistry, Vol. 70, No. 1, pp. 121-129.

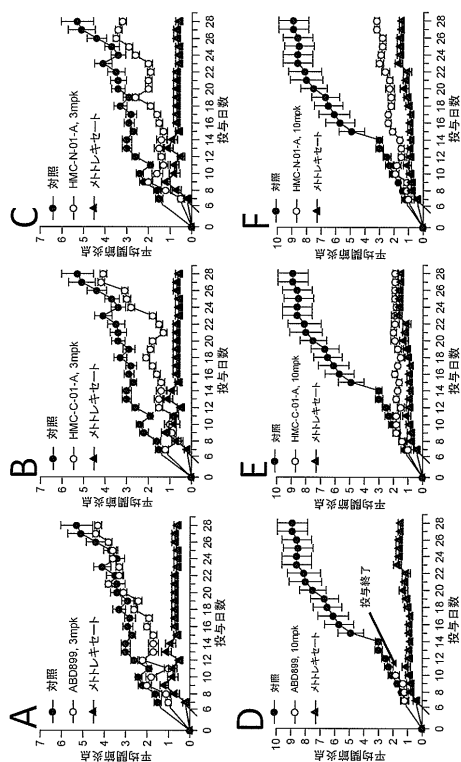
【図 1】



【図 2】



【図 3】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)		A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)		A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 17/06 (2006.01)		A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)		A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)		A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)		A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 1/04 (2006.01)		A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 7/00 (2006.01)		A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)		A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)		A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 19/10 (2006.01)		A 6 1 P 19/10	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)		A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 19/08 (2006.01)		A 6 1 P 19/08	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)		A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)		A 6 1 P 9/00	

(74)代理人 100168893

弁理士 岩崎 正路

(72)発明者 パテル, リサ

イギリス国 イーシー3ブイ 3エヌディー グレーター ロンドン ロンドン, コーンヒル 2  
4, モダン バイオサイエンス ピーエルシー

(72)発明者 スミス, スティーブン アラン

イギリス国 シーエム23 2ピーイー エセックス ビショップス ストートフォード, ウィン  
ドヒル, ジ オールド モナストリー, ザ コートヤード, ストート メドケム コンサルティン  
グ

(72)発明者 グレイグ, イアン ロバート

イギリス国 エービー25 2ゼットディー アバディーンシャー アバディーン, フォレスター  
ヒル, ユニバーシティ オブ アバディーン, インスティテュート オブ メディカルサイ  
エンス

(72)発明者 ウィリアムズ, サムエル キャメロン

イギリス国 イーシー3ブイ 3エヌディー グレーター ロンドン ロンドン, コーンヒル 2  
4, モダン バイオサイエンス ピーエルシー

審査官 佐溝 茂良

(56)参考文献 特表2012-502964(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07C 311/20

C07D 213/61

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAplus/REGISTRY(STN)

(54)【発明の名称】N-(4-ヒドロキシ-4-メチル-シクロヘキシル)-4-フェニル-ベンゼンスルホンアミ  
ド及びN-(4-ヒドロキシ-4-メチル-シクロヘキシル)-4-(2-ピリジル)ベンゼン  
スルホンアミド、並びにそれらの治療的使用