

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7681613号

(P7681613)

(45)発行日 令和7年5月22日(2025.5.22)

(24)登録日 令和7年5月14日(2025.5.14)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 D 471/04 (2006.01)

C 0 7 D 471/04 1 0 7 K

A 6 1 K 31/437(2006.01)

C 0 7 D 471/04 C S P

A 6 1 P 9/12 (2006.01)

A 6 1 K 31/437

A 6 1 P 11/00 (2006.01)

A 6 1 P 9/12

A 6 1 P 11/06 (2006.01)

A 6 1 P 11/00

請求項の数 44 (全67頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2022-552324(P2022-552324)

(86)(22)出願日 令和3年3月1日(2021.3.1)

(65)公表番号 特表2023-516640(P2023-516640  
A)

(43)公表日 令和5年4月20日(2023.4.20)

(86)国際出願番号 PCT/US2021/070207

(87)国際公開番号 WO2021/178991

(87)国際公開日 令和3年9月10日(2021.9.10)

審査請求日 令和6年2月5日(2024.2.5)

(31)優先権主張番号 62/983,931

(32)優先日 令和2年3月2日(2020.3.2)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(73)特許権者 514190040

セラヴァンス バイオファーマ アール&  
ディー アイピー, エルエルシー  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 940  
80, サウス サンフランシスコ, ゲ  
ートウェイ ブールバード 901

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

最終頁に続く

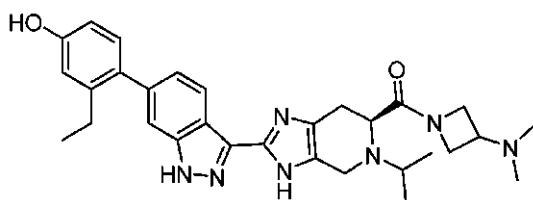
(54)【発明の名称】 J A K阻害剤化合物の結晶性水和物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

式1の化合物：

【化20】



1

の水和物結晶であって、前記水和物結晶が、 $5.68 \pm 0.20$ 、 $10.43 \pm 0.20$ 、 $10.94 \pm 0.20$ 、および $13.08 \pm 0.20$ の $2\theta$ 値に回折ピークを含む粉末X線回折パターンによって特徴付けられる、水和物結晶。

【請求項2】

前記粉末X線回折パターンが、 $8.49 \pm 0.20$ の $2\theta$ 値に1つのさらなる回折ピークを有することによってさらに特徴付けられる、請求項1に記載の水和物結晶。

【請求項3】

前記粉末X線回折パターンが、 $11.55 \pm 0.20$ 、 $12.20 \pm 0.20$ 、 $17.0$

$6 \pm 0.20$ 、および  $26.29 \pm 0.20$  から選択される  $2\theta$  値に 2 またはそれを超えるさらなる回折ピークを有することによってさらに特徴付けられる、請求項 2 に記載の水和物結晶。

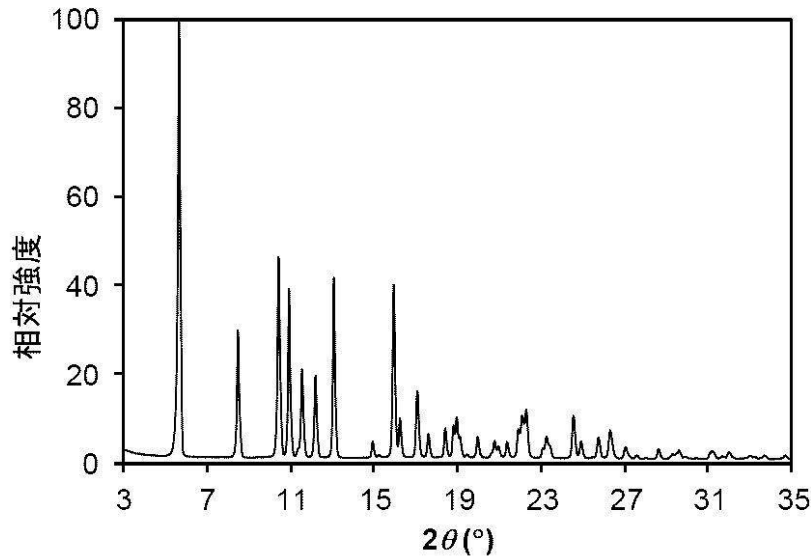
【請求項 4】

前記粉末 X 線回折パターンが、 $11.55 \pm 0.20$ 、 $12.20 \pm 0.20$ 、 $17.06 \pm 0.20$ 、および  $26.29 \pm 0.20$  の  $2\theta$  値にさらなる回折ピークを有することによってさらに特徴付けられる、請求項 2 に記載の水和物結晶。

【請求項 5】

前記水和物結晶が、ピーク位置が以下の図

【化 2 1】



に示されるパターンのピーク位置と一致する粉末 X 線回折パターンによって特徴付けられる、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の水和物結晶。

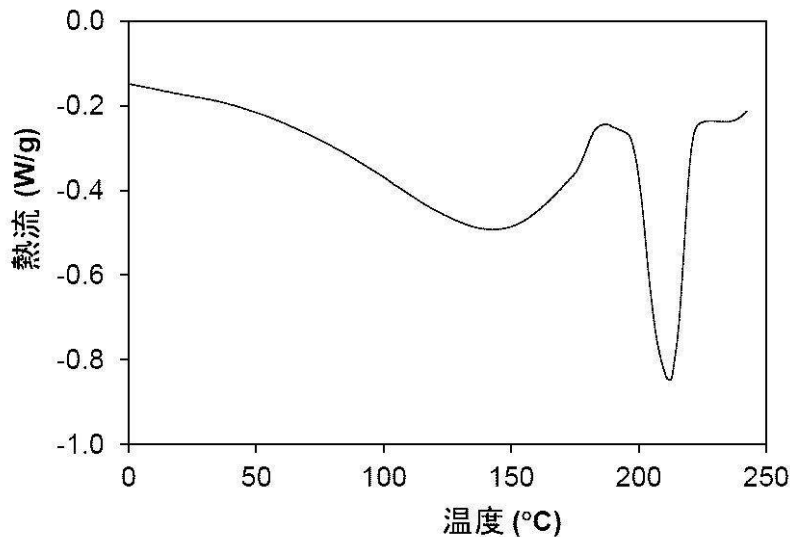
【請求項 6】

前記水和物結晶が、 $212.4 \pm 3^\circ\text{C}$  の温度において吸熱熱流の最大値を示す、 $10^\circ\text{C}/\text{分}$  の加熱速度で記録された示差走査熱量測定トレースによって特徴付けられる、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の水和物結晶。

【請求項 7】

前記水和物結晶が、以下の図

【化 2 2】



10

20

30

40

50

に示されるものと一致する示差走査熱量測定トレースによって特徴付けられる、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の水和物結晶。

【請求項 8】

前記水和物結晶が一水和物である、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の水和物結晶。

【請求項 9】

請求項 1～8 のいずれか一項に記載の水和物結晶と薬学的に許容され得るキャリアとを含む薬学的組成物。

【請求項 10】

(a) (S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノン を 55℃ ± 10℃ の温度でアルコール溶媒中に溶解させて溶液を得ること；

(b) 工程 (a) において得られた前記溶液を 10℃ ± 10℃ に冷却して懸濁液を生成すること；

(c) 不活性気体条件下で工程 (b) の前記懸濁液から固体を単離すること；

(d) 工程 (c) において得られた前記固体を 60℃ ± 15℃ で乾燥させること；

(e) 工程 (d) において得られた前記固体を周囲の湿度および温度の条件に供して水和物結晶を得ること；

を含む、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の水和物結晶を調製する方法。

【請求項 11】

前記アルコール溶媒がメタノールまたはエタノールである、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

哺乳動物における呼吸器疾患を処置するための、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の水和物結晶を含む、組成物。

【請求項 13】

前記呼吸器疾患が、喘息、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肺臓炎、特発性肺線維症、急性肺傷害、急性呼吸窮迫症候群、気管支炎、気腫、サルコイドーシス、好酸球性疾患、蠕虫感染症、肺動脈性肺高血圧症、リンパ脈管平滑筋腫症、気管支拡張症、浸潤性肺疾患、薬物誘発性肺臓炎、真菌誘発性肺臓炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、過敏性肺臓炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、特発性急性好酸球性肺炎、特発性慢性好酸球性肺炎、好酸球増加症候群、レフラー症候群、閉塞性細気管支炎性器質化肺炎、肺移植片対宿主病、および免疫チェックポイント阻害剤誘発性肺臓炎からなる群から選択される、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記呼吸器疾患が喘息である、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 15】

前記喘息が中等度～重度の喘息である、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 16】

前記組成物が薬学的組成物であり、前記薬学的組成物が、吸入によって投与されるものである、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 17】

哺乳動物における肺移植拒絶を防止または遅延させるための、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の水和物結晶を含む、組成物。

【請求項 18】

前記肺移植拒絶が、原発性移植片機能不全、器質化肺炎、急性拒絶、リンパ球性細気管支炎、および慢性移植肺機能不全からなる群から選択される、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

前記肺移植拒絶が急性肺移植拒絶である、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 20】

前記肺移植拒絶が慢性移植肺機能不全である、請求項 17 に記載の組成物。

10

20

30

40

50

## 【請求項 2 1】

前記肺移植拒絶が、閉塞性細気管支炎、拘束性慢性移植肺機能不全、および好中球性同種移植片機能不全からなる群から選択される、請求項 1 7 に記載の組成物。

## 【請求項 2 2】

前記組成物が薬学的組成物であり、前記薬学的組成物が、吸入によって投与されるものである、請求項 1 7 に記載の組成物。

## 【請求項 2 3】

哺乳動物における呼吸器疾患を処置するための医薬の製造における、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の水和物結晶の使用。

## 【請求項 2 4】

前記呼吸器疾患が、喘息、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肺臓炎、特発性肺線維症、急性肺傷害、急性呼吸窮迫症候群、気管支炎、気腫、サルコイドーシス、好酸球性疾患、蠕虫感染症、肺動脈性肺高血圧症、リンパ脈管平滑筋腫症、気管支拡張症、浸潤性肺疾患、薬物誘発性肺臓炎、真菌誘発性肺臓炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、過敏性肺臓炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、特発性急性好酸球性肺炎、特発性慢性好酸球性肺炎、好酸球増加症候群、レフラー症候群、閉塞性細気管支炎性器質化肺炎、肺移植片対宿主病、および免疫チェックポイント阻害剤誘発性肺臓炎からなる群から選択される、請求項 2 3 に記載の使用。

## 【請求項 2 5】

前記呼吸器疾患が喘息である、請求項 2 3 に記載の使用。

## 【請求項 2 6】

前記喘息が中等度～重度の喘息である、請求項 2 5 に記載の使用。

## 【請求項 2 7】

前記医薬が吸入によって投与される、請求項 2 3 に記載の使用。

## 【請求項 2 8】

哺乳動物における肺移植拒絶を予防または遅延させるための医薬の製造における、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の水和物結晶の使用。

## 【請求項 2 9】

前記肺移植拒絶が、原発性移植片機能不全、器質化肺炎、急性拒絶、リンパ球性細気管支炎、および慢性移植肺機能不全からなる群から選択される、請求項 2 8 に記載の使用。

## 【請求項 3 0】

前記肺移植拒絶が急性肺移植拒絶である、請求項 2 8 に記載の使用。

## 【請求項 3 1】

前記肺移植拒絶が慢性移植肺機能不全である、請求項 2 8 に記載の使用。

## 【請求項 3 2】

前記肺移植拒絶が、閉塞性細気管支炎、拘束性慢性移植肺機能不全、および好中球性同種移植片機能不全からなる群から選択される、請求項 2 8 に記載の使用。

## 【請求項 3 3】

前記医薬が吸入によって投与される、請求項 2 8 に記載の使用。

## 【請求項 3 4】

哺乳動物における呼吸器疾患を処置するための、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の水和物結晶と薬学的に許容され得るキャリアとを含む薬学的組成物。

## 【請求項 3 5】

前記呼吸器疾患が、喘息、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肺臓炎、特発性肺線維症、急性肺傷害、急性呼吸窮迫症候群、気管支炎、気腫、サルコイドーシス、好酸球性疾患、蠕虫感染症、肺動脈性肺高血圧症、リンパ脈管平滑筋腫症、気管支拡張症、浸潤性肺疾患、薬物誘発性肺臓炎、真菌誘発性肺臓炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、過敏性肺臓炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、特発性急性好酸球性肺炎、特発性慢性好酸球性肺炎、好酸球増加症候群、レフラー症候群、閉塞性細気管支炎性器質化肺炎、肺移植片対宿主病、および免疫チェックポイント阻害剤誘発性肺臓炎からなる群から選択される、

10

20

30

40

50

請求項 3 4 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3 6】

前記呼吸器疾患が喘息である、請求項 3 4 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3 7】

前記喘息が中等度～重度の喘息である、請求項 3 6 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3 8】

前記薬学的組成物が吸入によって投与される、請求項 3 4 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3 9】

哺乳動物における肺移植拒絶を予防または遅延させるための、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の水和物結晶と、薬学的に許容され得るキャリアとを含む薬学的組成物。

10

【請求項 4 0】

前記肺移植拒絶が、原発性移植片機能不全、器質化肺炎、急性拒絶、リンパ球性細気管支炎、および慢性移植肺機能不全からなる群から選択される、請求項 3 9 に記載の薬学的組成物。

【請求項 4 1】

前記肺移植拒絶が急性肺移植拒絶である、請求項 3 9 に記載の薬学的組成物。

【請求項 4 2】

前記肺移植拒絶が慢性移植肺機能不全である、請求項 3 9 に記載の薬学的組成物。

【請求項 4 3】

前記肺移植拒絶が、閉塞性細気管支炎、拘束性慢性移植肺機能不全、および好中球性同種移植片機能不全からなる群から選択される、請求項 3 9 に記載の薬学的組成物。

20

【請求項 4 4】

前記薬学的組成物が吸入によって投与される、請求項 3 9 に記載の薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の背景

発明の分野

呼吸器および他の疾患を処置するのに有用な J A K 阻害剤化合物の結晶性水和物形態が本明細書で提供される。このような結晶性形態を含む薬学的組成物、例えば、呼吸器疾患を処置するために結晶性形態を使用する方法、およびこのような結晶性形態を調製するのに有用なプロセスも本明細書で提供される。

30

【背景技術】

【0002】

技術水準

サイトカインは、ケモカイン、インターフェロン、インターロイキン、リンホカインおよび腫瘍壊死因子を含む細胞間シグナル伝達分子である。サイトカインは、正常な細胞増殖および免疫調節にとって重要であるが、免疫媒介疾患を引き起こし、悪性細胞の増殖にも寄与する。多くのサイトカインの上昇したレベルは、多数の疾患または症状、特に炎症を特徴とする疾患の病態に関与している。疾患に関与するサイトカインの多くは、転写因子のシグナル伝達および転写活性化因子 (S T A T) ファミリーを介してシグナル伝達するチロシンキナーゼのヤヌスファミリー (J A K) に依存するシグナル伝達経路を介して作用する。

40

【0003】

J A K ファミリーは、4つのメンバー、J A K 1、J A K 2、J A K 3 およびチロシンキナーゼ 2 (T Y K 2) を含む。J A K 依存性サイトカイン受容体へのサイトカインの結合は、J A K キナーゼ上のチロシン残基のリン酸化をもたらす受容体二量体化を誘導し、J A K 活性化を引き起こす。次いで、リン酸化された J A K は、二量体化し、細胞核中に内在化し、遺伝子転写を直接調節する様々な S T A T タンパク質を結合してリン酸化し、効果の中でもとりわけ、炎症性疾患に関連する下流の効果をもたらす。J A K は、通常、

50

ホモ二量体またはヘテロ二量体として対でサイトカイン受容体と会合する。特定のサイトカインは、特定のJAK対形成に関連する。JAKファミリーの4つのメンバーのそれぞれは、炎症に関連するサイトカインの少なくとも1つのシグナル伝達に関与している。

#### 【0004】

喘息は、予防法も治療法も存在しない気道の慢性疾患である。この疾患は、炎症、線維症、応答性亢進および気道のリモデリングを特徴とし、これらはすべて気流制限に寄与する。世界中で推定3億人が喘息に罹患しており、喘息を有する人の数は2025年までに1億人超増加する推定されている。ほとんどの患者は、ロイコトリエン修飾因子および／または長時間作用性βアゴニストと組み合わせられ得る吸入コルチコステロイドの使用によって喘息症候の制御を達成することができるが、その疾患が従来の治療法によって制御されない重症の喘息を有する患者の部分集団が依然として存在する。JAK-STAT経路を介してシグナル伝達する喘息炎症に関与するサイトカインには、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-11、IL-13、IL-23、IL-31、IL-27、胸腺間質性リンパ球新生因子(TSLP)、インターフェロン-γ(IFNγ)および顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)が含まれる。気道の炎症は、喘息に加えて、他の呼吸器疾患に特徴的である。慢性閉塞性肺疾患(COPD)、嚢胞性線維症(CF)、肺臓炎、間質性肺疾患(特発性肺線維症を含む)、急性肺傷害、急性呼吸窮迫症候群、気管支炎、気腫、および閉塞性細気管支炎も、病態生理がJAKシグナル伝達サイトカインに関連していると考えられている気道疾患である。

#### 【0005】

JAKシグナル伝達サイトカインはまた、多くの免疫プロセスの中心となる免疫細胞のサブタイプであるT細胞の活性化において主要な役割を果たす。病的T細胞活性化は、複数の呼吸器疾患の病因において重要である。自己反応性T細胞は、閉塞性細気管支炎性器質化肺炎(COSとも呼ばれる)において役割を果たす。COSと同様に、肺移植拒絶の病因は、移植されたドナー肺によるレシピエントのT細胞の異常なT細胞活性化に関連する。肺移植拒絶は、原発性移植片機能不全(PGD)、器質化肺炎(OP)、急性拒絶(AR)あるいはリンパ球性細気管支炎(LB)として早期に起こり得るか、または慢性移植肺機能不全(CLAD)として肺移植の数年後に起こり得る。CLADは、以前は閉塞性細気管支炎(BO)として知られていたが、現在は、BO、拘束性CLAD(rCLADまたはRAS)および好中球性同種移植片機能不全を含む異なる病理学的徴候を有し得る症候群と考えられている。慢性移植肺機能不全(CLAD)は、移植された肺の機能性を徐々に失わせるので、肺移植レシピエントの長期管理における大きな課題である(Gauthierら、Curr. Transplant. Rep., 2016, 3(3), 185-191)。CLADは処置に対する反応性が低く、したがって、この症状を予防または処置することができる有効な化合物が依然として必要とされている。IFNγおよびIL-5などのいくつかのJAK依存性サイトカインは、CLADおよび肺移植拒絶において上方制御される(Berasteguiら、Clin. Transplant. 2017, 31, e12898)。さらに、JAK依存性IFNシグナル伝達の下流にあるCXCL9およびCXCL10などのCXCR3ケモカインの高い肺レベルは、肺移植患者におけるより悪い転帰に関連する(Shinoら、PLOS One, 2017, 12(7), e0180281)。全身性JAK阻害は、腎移植拒絶において有効であることが示されている(Vicentiら、American Journal of Transplantation, 2012, 12, 2446-56)。したがって、JAK阻害剤は、肺移植拒絶およびCLADの予防または遅延に有効である可能性を有する。肺移植拒絶の基礎として記載されるものと類似のT細胞活性化事象は、造血幹細胞移植後に起こり得る肺移植片対宿主病(GVHD)の主な推進要因でもあると考えられている。CLADと同様に、肺GVHDは、極めて不良な転帰を有する慢性進行性症状であり、現在、処置法は承認されていない。救援療法として全身性JAK阻害剤ルキソリチニブを受けたステロイド抵抗性の急性または慢性GVHDを有する95名の患者の後向き多施設調査研究は、肺GVHD患者を含む患者の大半においてルキソリチニブに対する完全応答または部分

10

20

30

40

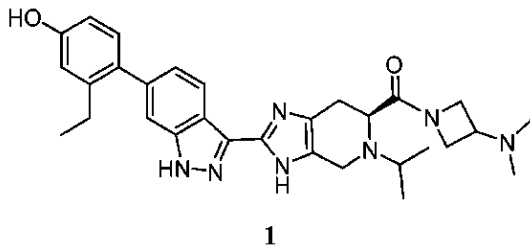
50

応答を実証した（Zeiserら、Leukemia，2015，29，10，2062－68）。

【0006】

2019年9月3日に出願された、同一出願人による米国特許出願第16／559，077号は、JAK阻害剤として有用ないくつかのジメチルアミノアゼチジンアミド化合物を開示している。特に、化合物（S）－（3－（ジメチルアミノ）アゼチジン－1－イル）（2－（6－（2－エチル－4－ヒドロキシフェニル）－1H－インダゾール－3－イル）－5－イソプロピル－4，5，6，7－テトラヒドロ－3H－イミダゾ〔4，5－c〕ピリジン－6－イル）メタノン（化合物1）：

【化1】



が、喘息および肺移植拒絶を含む炎症性呼吸器疾患を処置し、予防し、および／または遅延させるのに適した強力な非全身性汎JAK阻害剤としてこの出願に具体的に開示されている。

【0007】

この化合物を治療剤として効果的に使用するためには、結晶性固体形態を有することが望ましいであろう。例えば、適度に高い温度で熱的に安定な物理的形態を有し、それによって材料の加工および保存を容易にすることが非常に望ましいであろう。製造された製品の純度および安定性を高めるために、一般に非晶質形態より結晶性固体が好ましい。しかしながら、有機化合物の結晶性形態の形成は非常に予測不可能である。仮に存在する場合でも、いずれの形態の有機化合物が結晶性であるかを予測するための信頼できる方法は存在しない。さらに、仮に存在する場合でも、いずれの結晶性形態が医薬品としての使用のために望ましい物理的特性を有するかを予測する方法は存在しない。したがって、化合物1の結晶性形態が必要とされている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【文献】Gauthierら、Curr. Transplant. Rep.，2016，3（3），185－191

【文献】Berasteguiら、Clin. Transplant. 2017，31，e12898

【文献】Shinoら、PLOS One，2017，12（7），e0180281

【文献】Vicentiら、American Journal of Transplantation，2012，12，2446－56

【文献】Zeiserら、Leukemia，2015，29，10，2062－68

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0009】

発明の要旨

式1の化合物：

10

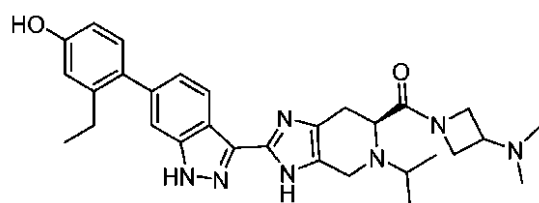
20

30

40

50

## 【化 2】



1

の結晶性水和物が本明細書で提供される。

10

本開示の結晶性水和物と薬学的に許容され得るキャリアとを含む薬学的組成物も本明細書で提供される。

## 【0010】

本開示の結晶性水和物を調製する方法、ならびに JAK 阻害剤での処置に適した疾患、特に呼吸器疾患および肺移植拒絶を処置し、予防し、遅延させ、および／または改善する方法が本明細書で提供される。

## 【0011】

JAK 阻害剤での処置に適した疾患、特に呼吸器疾患および肺移植拒絶を処置し、予防し、遅延させ、および／または改善するための医学的治療におけるおよび製剤または医薬の製造における前記結晶性水和物形態の使用も本明細書で提供される。

20

## 【図面の簡単な説明】

## 【0012】

添付の図面を参照することによって、本発明の様々な態様が例証される。

## 【0013】

【図 1】図 1 は、化合物 1 の結晶性水和物の粉末 X 線回折 (PXRD) パターンを示す。

## 【0014】

【図 2】図 2 は、化合物 1 の結晶性水和物の示差走査熱量測定 (DSC) サーモグラムを示す。

## 【0015】

【図 3】図 3 は、化合物 1 の結晶性水和物の熱重量分析 (TGA) プロットを示す。

30

## 【0016】

【図 4】図 4 は、約 25 °C の温度で観察された化合物 1 の結晶性水和物の動的蒸気吸着 (DMS) 等温線を示す。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0017】

発明の詳細な説明

定義

その様々な態様および実施形態を含めて、本開示を記述する場合、別段の指示がない限り、以下の用語は以下の意味を有する。

## 【0018】

「約」という用語は、指定された値の ± 5 % を意味する。

40

## 【0019】

「水和物」という用語は、水分子対化合物分子の比が 1 : 1、1 : 1 未満または 1 : 1 超であり得る、水および本開示の化合物の分子によって形成される、代表的には結晶性形態の複合体または凝集体を意味する。

## 【0020】

例えば、X 線回折パターン、DSC トレースまたは TGA トレースに言及する場合の「実質的に」という用語は、本明細書に示されるものと必ずしも同一ではないが、当業者によって考慮される場合に実験誤差または偏差の限界内に属するパターンまたはトレースを含む。

50

## 【0021】

「治療有効量」という用語は、処置を必要とする患者に投与された場合に処置を行うのに十分な量を意味する。

## 【0022】

「処置する」または「処置」という用語は、患者（特にヒト）において処置されている医学的症状、疾患もしくは障害（例えば、呼吸器疾患）を改善もしくは抑制すること、または医学的症状、疾患もしくは障害の症候を緩和することを意味する。

## 【0023】

本明細書およ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「a」、「an」、「one」および「the」は、内容が明確に反対の意味を指示しなければ、複数の指示対象を含み得ることに留意しなければならない。

10

## 命名規則

## 【0024】

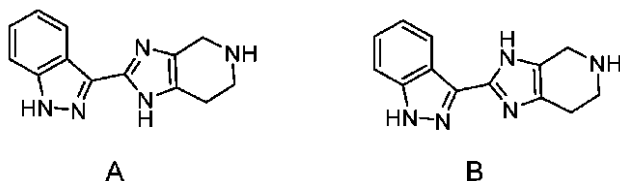
化合物1は、ChemDrawソフトウェア（PerkinElmer, Inc., Cambridge, MA）に実装されているIUPAC規則に従って、（S）-（3-（ジメチルアミノ）アゼチジン-1-イル）（2-（6-（2-エチル-4-ヒドロキシフェニル）-1H-インダゾール-3-イル）-5-イソプロピル-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-イル）メタノンと命名される。

## 【0025】

さらに、化合物1の構造中のテトラヒドロイミダゾピリジン部分のイミダゾ部分は、実施例1の化合物の断片について以下に例証される互変異性形態で存在する。

20

## 【化3】



## 【0026】

IUPAC規則によれば、これらの表現は、イミダゾール部分の原子の異なる番号付けを生じさせる：（S）-（3-（ジメチルアミノ）アゼチジン-1-イル）（2-（6-（2-エチル-4-ヒドロキシフェニル）-1H-インダゾール-3-イル）-5-イソプロピル-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-1H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-イル）メタノン（構造A）対（S）-（3-（ジメチルアミノ）アゼチジン-1-イル）（2-（6-（2-エチル-4-ヒドロキシフェニル）-1H-インダゾール-3-イル）-5-イソプロピル-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-イル）メタノン（構造B）。構造は特定の形態で示されまたは命名されているが、本発明はその互変異性体も含むことが理解されよう。

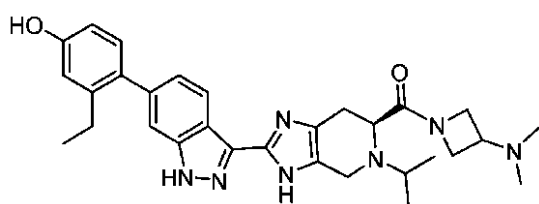
30

## 化合物1の結晶性形態

## 【0027】

## 式1の化合物：

## 【化4】



1

40

50

の結晶性水和物（形態Ⅰ）が本明細書で提供される。

【0028】

一実施形態では、結晶性水和物は、 $5.68 \pm 0.20$ 、 $10.43 \pm 0.20$ 、 $10.94 \pm 0.20$ 、および $13.08 \pm 0.20$ の $2\theta$ 値に回折ピークを含む粉末X線回折（PXRD）パターンによって特徴付けられる。この結晶性水和物は、 $8.49 \pm 0.20$ の $2\theta$ 値に1つのさらなる回折ピークを有するPXRDパターンによってさらに特徴付けられ得る。この結晶性水和物は、 $11.55 \pm 0.20$ 、 $12.20 \pm 0.20$ 、 $17.06 \pm 0.20$ 、および $26.29 \pm 0.20$ から選択される $2\theta$ 値に2またはそれを超えるさらなる回折ピークを有するPXRDパターンによってさらに特徴付けられ得る。この結晶性水和物は、 $11.55 \pm 0.20$ 、 $12.20 \pm 0.20$ 、 $17.06 \pm 0.20$ 、および $26.29 \pm 0.20$ の $2\theta$ 値にさらなる回折ピークを有するPXRDパターンによってさらに特徴付けられ得る。

10

【0029】

この結晶性水和物は、 $5.68 \pm 0.20$ 、 $8.49 \pm 0.20$ 、 $10.43 \pm 0.20$ 、 $10.94 \pm 0.20$ 、 $11.55 \pm 0.20$ 、 $12.20 \pm 0.20$ 、 $13.08 \pm 0.20$ 、 $15.94 \pm 0.20$ 、 $16.24 \pm 0.20$ 、 $17.06 \pm 0.20$ 、 $17.60 \pm 0.20$ 、 $18.41 \pm 0.20$ 、 $18.82 \pm 0.20$ 、 $18.96 \pm 0.20$ 、 $21.90 \pm 0.20$ 、 $22.08 \pm 0.20$ 、 $22.27 \pm 0.20$ 、 $24.55 \pm 0.20$ 、および $26.29 \pm 0.20$ から選択される $2\theta$ 値に2、3、4、5、6、7、8、9または10の回折ピークを有するPXRDパターンによって特徴付けられ得る。

20

【0030】

粉末X線回折の分野において周知であるように、PXRDスペクトルのピーク位置は、相対的ピーク高よりも、試料調製および機器の幾何学的形状の細部などの実験の細部に対する感度が総体的により低い。したがって、一実施形態では、結晶性水和物は、ピーク位置が図1に示すものと実質的に一致する粉末X線回折パターンによって特徴付けられる。

【0031】

別の実施形態において、結晶性水和物は、高温に曝されたときのその挙動によって特徴付けられる。図2で実証されるように、 $10^\circ\text{C}/\text{分}$ の加熱速度で記録された示差走査熱量測定（DSC）トレースは、約 $55.1^\circ\text{C}$ での開始および約 $139.4^\circ\text{C}$ でのピークを有する脱水吸熱、ならびに約 $198.6^\circ\text{C}$ での開始および約 $212.4^\circ\text{C}$ でのピークを有する融解転移として特定される、吸熱熱流のピークを示す。一実施形態では、結晶性水和物形態（形態Ⅰ）は、 $212.4 \pm 3^\circ\text{C}$ の温度において吸熱熱流の最大値を示す、 $10^\circ\text{C}/\text{分}$ の加熱速度で記録された示差走査熱量測定トレースによって特徴付けられる。別の実施形態では、吸熱熱流の最大値は、 $212.4 \pm 2^\circ\text{C}$ の温度である。別の実施形態では、吸熱熱流の最大値は、 $212.4 \pm 1^\circ\text{C}$ の温度である。

30

【0032】

一実施形態では、結晶性水和物は一水和物である。

【0033】

図3の熱重量分析（TGA）トレースは、 $100.0^\circ\text{C}$ までに約3.4%の重量減少を示す。化合物は約 $27^\circ\text{C}$ の開始温度で脱水する。分解に伴う重量減少は、約 $248.2^\circ\text{C}$ の開始温度で見ることができる。

40

【0034】

本発明の結晶性水和物は、可逆的な吸着／脱着プロファイルを有することが実証された。固体は適度に吸湿性である。結晶性水和物は、図4に示されるように、室温で0%～90%の相対湿度の範囲に曝露された場合、約5.3%の総水蒸気取り込みを示した。

【0035】

形態Ⅰは、以下の寸法の単結晶X線結晶解析によって決定される単位格子によって特徴付けられる： $a = 20.8736(5) \text{ \AA}$ ； $b = 9.15021(19) \text{ \AA}$ ； $c = 15.7412(3) \text{ \AA}$ ； $a = 90^\circ$ ； $b = 98.4786(18)^\circ$ ；および $g = 90^\circ$ 。1

50

00 (2) Kの温度で分析された形態Ⅰの単結晶は、寸法： $a = 20.8736(5) \text{ \AA}$ ； $b = 9.15021(19) \text{ \AA}$ ； $c = 15.7412(3) \text{ \AA}$ ； $\alpha = 90^\circ$ ； $\beta = 98.4786(18)^\circ$ ； $\gamma = 90^\circ$ ； $2973.67(11) \text{ \AA}^3$ の格子体積(V)、および空間群C2を有する単斜晶系によって特徴付けられる。

【0036】

実施例10に示されるように、形態Ⅰは、温度および相対湿度の加速された条件下で良好な安定性を示した。

合成手順

【0037】

化合物1は、以下の実施例に記載される手順を使用して、または本出願の背景の項に列挙される同一出願人による米国出願に記載される手順を使用して、容易に入手可能な出発物質から調製することができる。

【0038】

形態Ⅰは、

(a) (S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノンを  $55^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$  の温度でアルコール溶媒中に溶解させて溶液を得ることと；

(b) 工程 (a) において得られた前記溶液を  $10^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$  に冷却して懸濁液を生成することと；

(c) 不活性気体条件下で工程 (b) の前記懸濁液から固体を単離することと；

(d) 工程 (c) において得られた前記固体を  $60^\circ\text{C} \pm 15^\circ\text{C}$  で乾燥させることと；

(e) 工程 (d) において得られた前記固体を周囲の湿度および温度の条件に供して結晶性水和物を得ることと；

によって調製することができる。

【0039】

いくつかの実施形態では、アルコール溶媒はメタノールである。いくつかの実施形態では、アルコール溶媒はエタノールである。

【0040】

いくつかの実施形態では、工程 (b) における懸濁液の形成を開始するために、形態Ⅰのシードが添加される。

薬学的組成物

【0041】

本開示の結晶性水和物固体形態は、薬学的組成物または製剤の形態で使用することができる。このような薬学的組成物は、吸入によって患者に有利に投与され得る。さらに、薬学的組成物は、経口、局所（経皮を含む）、直腸、鼻、および非経口投与様式を含むがこれらに限定されない任意の許容され得る投与経路によって投与され得る。

【0042】

したがって、一実施形態では、薬学的に許容され得るキャリアまたは賦形剤と化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）とを含む薬学的組成物が本明細書で提供される。必要に応じて、このような薬学的組成物は、所望であれば他の治療剤および／または製剤化剤を含有し得る。組成物およびその使用について論じる場合、化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）は、本明細書では「活性な作用物質」とも呼ばれ得る。

【0043】

本開示の薬学的組成物は、代表的には、治療有効量の化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）を含有する。しかしながら、当業者は、薬学的組成物が、治療有効量を超える量、すなわちバルク組成物、または治療有効量未満の量、すなわち治療有効量を達成するために複数回投与用に設計された個別の単位用量を含有し得ることを認識するであろう。

【0044】

代表的には、そのような薬学的組成物は、重量基準で約0.01～約95%の活性な作

10

20

30

40

50

用物質（例えば、重量基準で約 0.05～約 30%を含む）と、重量基準で約 0.1%～約 10%の活性剤とを含有する。

【0045】

任意の従来のキャリアまたは賦形剤を、本開示の薬学的組成物において使用してもよい。特定のキャリアもしくは賦形剤、またはキャリアもしくは賦形剤の組み合わせの選択は、特定の患者を処置するために用いられる投与様式、または病状もしくは疾患状態のタイプに依存する。この点において、特定の投与様式に対して好適な薬学的組成物の調製法は、十分に薬学分野の当業者の技術の範囲内である。さらに、本開示の薬学的組成物において使用されるキャリアまたは賦形剤は、商業的に入手可能である。さらなる例証として、従来の製剤化の手法は、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000) ; および H. C. Ansel, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999) に記載されている。

10

【0046】

薬学的に許容され得るキャリアとして機能し得る材料の代表例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：糖（例えば、ラクトース、グルコースおよびスクロース）；デンプン（例えば、トウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプン）；セルロース（例えば、微結晶性セルロース）およびその誘導体（例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロース）；トラガント末；麦芽；ゼラチン；タルク；賦形剤（例えば、カカオバターおよび坐剤ろう）；油（例えば、落花生油、綿実油、ペニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油およびダイズ油）；グリコール（例えば、プロピレングリコール）；ポリオール（例えば、グリセリン、ソルビトール、マンニトールおよびポリエチレングリコール）；エステル（例えば、オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチル）；寒天；緩衝剤（例えば、水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウム）；アルギン酸；発熱物質非含有水；等張食塩水；リンガー溶液；エチルアルコール；リン酸緩衝液；および薬学的組成物において使用される他の無毒性の適合性物質。

20

【0047】

薬学的組成物は、代表的には、活性な作用物質を薬学的に許容され得るキャリアおよび1つまたはそれを超える必要に応じた成分と十分かつ完全に混合または混和することによって調製される。次いで、得られた均一に混和された混合物は、従来の手順および器具を用いて、錠剤、カプセル剤、丸剤などに成形または充填され得る。

30

【0048】

一実施形態では、薬学的組成物は吸入投与に適している。吸入投与用の薬学的組成物は、代表的にはエアロゾルまたは粉末の形態である。そのような組成物は、一般的には、乾燥粉末吸入器（DPI）、定量吸入器（MDI）、ネブライザ吸入器、または同様の送達デバイスなどの吸入送達装置を使用して投与される。

【0049】

特定の実施形態では、薬学的組成物は、乾燥粉末吸入器を使用した吸入によって投与される。そのような乾燥粉末吸入器は、代表的には、吸気中に患者の気流中に分散される自由流動性粉末として薬学的組成物を投与する。自由流動性粉末組成物を達成するために、治療剤は、代表的には、ラクトース、デンプン、マンニトール、デキストロース、ポリ乳酸（PLA）、ポリラクチド-ε-グリコリド（PLGA）またはこれらの組み合わせなどの適切な賦形剤とともに製剤化される。代表的には、治療剤は微粉化され、適切なキャリアと合わせられて、吸入に適した組成物を形成する。

40

【0050】

乾燥粉末吸入器において使用するための代表的な薬学的組成物は、ラクトースおよび微粉化された形態の化合物1の結晶性水和物を含む。そのような乾燥粉末組成物は、例えば

50

、乾式粉碎されたラクトースを治療剤と合わせ、次いで成分を乾式混合することによって作製することができる。次いで、組成物は、代表的には、乾燥粉末ディスペンサ中に、または乾燥粉末送達デバイスとともに使用するための吸入カートリッジもしくはカプセル中に装填される。

#### 【0051】

吸入によって治療剤を投与するのに適した乾燥粉末吸入器送達デバイスは当技術分野に記載されており、そのような装置の例は市販されている。例えば、代表的な乾燥粉末吸入器送達デバイスまたは製品には、Aeolizer (Novartis) ; Airmax (IVAX) ; ClickHaler (Innovata Biomed) ; Diskhaler (GlaxoSmithKline) ; Diskus / Accuhaler (GlaxoSmithKline) ; Ellipta (GlaxoSmithKline) ; Easyhaler (Orion Pharma) ; Eclipse (Aventis) ; FlowCaps (Hovione) ; Handihaler (Boehringer Ingelheim) ; Pulvinal (Chiesi) ; Rotahaler (GlaxoSmithKline) ; Skyehaler / Certihaler (SkyePharma) ; Twisthaler (Schering-Plough) ; Turbuhaler (AstraZeneca) ; Ultrahaler (Aventis) などが含まれる。

#### 【0052】

別の特定の実施形態では、薬学的組成物は、定量吸入器を使用した吸入によって投与される。このような定量吸入器は、代表的には、圧縮された噴射剤ガスを使用して測定された量の治療剤を放出する。したがって、定量吸入器を使用して投与される薬学的組成物は、代表的には、液化された噴射剤中の治療剤の懸濁液を含む。1, 1, 1, 2-テトラフルオロエタン (HFA 134a) および 1, 1, 1, 2, 3, 3, 3-ヘプタフルオロノ-プロパン、(HFA 227) などのヒドロフルオロアルカン (HFA)、ならびに  $\text{CCL}_3\text{F}$  などのクロロフルオロカーボンを含む任意の適切な液化された噴射剤が使用され得る。特定の実施形態では、噴射剤はヒドロフルオロアルカンである。いくつかの実施形態では、ヒドロフルオロアルカン製剤は、エタノールもしくはペンタンなどの共溶媒、ならびに／またはソルビタントリオレアート、オレイン酸、レシチンおよびグリセリンなどの界面活性剤を含有する。

#### 【0053】

定量吸入器において使用するための代表的な薬学的組成物は、重量基準で約 0.01% ~ 約 5% の化合物 1 の結晶性水和物 (形態 I) ; 重量基準で約 0% ~ 約 20% のエタノール ; 重量基準で約 0% ~ 約 5% の界面活性剤を含み ; 残りは HFA 噴射剤である。そのような組成物は、代表的には、冷却または加圧されたヒドロフルオロアルカン、治療剤、エタノール (存在する場合) および界面活性剤 (存在する場合) を含有する適切な容器に添加することによって調製される。懸濁液を調製するために、治療剤は微粉化され、次いで噴射剤と組み合わせられる。次いで、組成物は、代表的には定量吸入器デバイスの一部を形成するエアロゾルキャニスタ中に装填される。

#### 【0054】

吸入によって治療剤を投与するのに適した定量吸入器デバイスは当技術分野に記載されており、そのようなデバイスの例は市販されている。例えば、代表的な定量吸入器デバイスまたは製品としては、AeroBid Inhaler System (Forest Pharmaceuticals) ; Atrovent Inhalation Aerosol (Boehringer Ingelheim) ; Flovent (GlaxoSmithKline) ; Maxair Inhaler (3M) ; Proventil Inhaler (Schering) ; Serevent Inhalation Aerosol (GlaxoSmithKline) などが挙げられる。

#### 【0055】

別の特定の実施形態では、薬学的組成物は、ネブライザ吸入器を使用した吸入によって

投与される。そのようなネブライザデバイスは、代表的には、患者の気道中に運ばれるミストとして薬学的組成物を噴霧させる高速空気の流れを生成する。したがって、ネブライザ吸入器での使用のために製剤化される場合、懸濁液を形成するために、治療剤を微粉化またはナノミリングし、適切なキャリアと組み合わせることができる。

#### 【0056】

ネブライザ吸入器で使用するための代表的な薬学的組成物は、約  $0.05 \mu\text{g}/\text{mL}$  ～ 約  $20 \text{mg}/\text{mL}$  の本開示の結晶性水和物および噴霧化された製剤に適合する賦形剤を含む懸濁液を含む。一実施形態では、溶液は約3～約8のpHを有する。

#### 【0057】

吸入によって治療剤を投与するのに適したネブライザデバイスは当技術分野に記載されており、そのようなデバイスの例は市販されている。例えば、代表的なネブライザデバイスまたは製品としては、Respimat Softmist Inhaler (Boehringer Ingelheim); AERx Pulmonary Delivery System (Aradigm Corp.); PARI LC Plus Reusable Nebulizer (Pari GmbH) などが挙げられる。

10

#### 【0058】

さらに別の実施形態では、本開示の薬学的組成物は、代替的に、経口投与を意図した剤形で調製され得る。適切な経口投与用の薬学的組成物は、カプセル剤、錠剤、丸剤、舐剤、カシェ剤、糖衣錠、散剤、顆粒剤の形態であり得；または水性もしくは非水性液体中の懸濁液などとして存在し得；各々は、有効成分として所定量の化合物1の結晶性水和物（形態I）を含有する。

20

#### 【0059】

固体剤形での経口投与を意図する場合、本開示の薬学的組成物は、代表的には、活性な作用物質と、クエン酸ナトリウムまたはリン酸二カルシウムなどの1またはそれを超える薬学的に許容され得るキャリアとを含む。必要に応じてまたは代替として、このような固体剤形はまた、充填剤または増量剤、結合剤、湿潤剤、溶解遅延剤、吸収促進剤、湿潤剤、吸収剤、滑沢剤、着色剤および緩衝剤を含み得る。離型剤、湿潤剤、コーティング剤、甘味料、香味料および香料、保存剤および酸化防止剤も、本開示の薬学的組成物中に存在することができる。

#### 【0060】

形態Iはまた、眼注射用の無菌水性懸濁液として製剤化され得る。このような水性製剤中に含まれ得る有用な賦形剤としては、ポリソルベート80、カルボキシメチルセルロース、塩化カリウム、塩化カルシウム、塩化マグネシウム、酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ヒスチジン、 $\alpha$ - $\alpha$ -トレハロース二水和物、スクロース、ポリソルベート20、ヒドロキシプロピル- $\beta$ -シクロデキストリンおよびリン酸ナトリウムが挙げられる。ベンジルアルコールは保存剤として機能し得、浸透圧を調整するために塩化ナトリウムが含まれ得る。さらに、pH調整のために塩酸および／または水酸化ナトリウムが溶液に添加され得る。眼注射用の水性製剤は、保存剤非含有として調製され得る。

30

#### 【0061】

代替の製剤として、制御放出製剤、経皮パッチおよび非経口製剤も挙げられ得る。従来の賦形剤およびこのような代替製剤の調製方法は、例えば、上記のRemingtonによる参考文献に記載されている。

40

#### 【0062】

以下の非限定的な例は、本開示の代表的な薬学的組成物を例証する。

乾燥粉末組成物

#### 【0063】

化合物1の微粉化された結晶性水和物（形態I）（1g）を粉碎されたラクトース（25g）と混合する。次いで、用量当たり約  $0.1 \text{mg}$  ～ 約  $4 \text{mg}$  の式1の化合物を提供するのに十分な量で、この混合された混合物を剥離可能なブリスターパックの個々のブリスター中に充填する。ブリスターの内容物は、乾燥粉末吸入器を使用して投与される。

50

**乾燥粉末組成物****【0064】**

化合物1の微粉化された結晶性水和物（形態Ⅰ）（1g）を粉砕されたラクトース（20g）と混合して、1：20の化合物対粉砕されたラクトースの重量比を有するバルク組成物を形成する。用量あたり約0.1mg～約4mgの式1の化合物を送達することができる乾燥粉末吸入デバイス中に、混合された組成物を充填する。

**定量吸入器組成物****【0065】**

鉍質を除去した水（200mL）中にレシチン（0.2g）を溶解することによって調製された溶液中に、化合物1の微粉化された結晶性水和物、形態Ⅰ（10g）を分散させる。得られた懸濁液を噴霧乾燥し、次いで微粉化して、約1.5μm未満の平均直径を有する粒子を含む微粉化された組成物を形成する。次いで、定量吸入器によって投与された場合に用量あたり約0.1mg～約4mgの化合物1を提供するのに十分な量で、加圧された1, 1, 1, 2-テトラフルオロエタンを含有する定量吸入器カートリッジ中に、微粉化された組成物を充填する。

10

**ネブライザ組成物****【0066】**

1.5～2.5当量の塩酸を含有する溶液中に本開示の結晶性水和物、形態Ⅰ（25mg）を懸濁した後、pHを3.5～5.5に調整するための水酸化ナトリウムおよび重量基準で3%のグリセロールを添加する。懸濁液は、用量あたり約0.1mg～約4mgの化合物1を提供するネブライザデバイスを用いて投与される。

20

**眼注射用水性製剤****【0067】**

無菌水性懸濁液の各mLは、5mg～50mgの化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）、浸透圧のための塩化ナトリウム、保存剤としての0.99%（w/v）ベンジルアルコール、0.75%カルボキシメチルセルロースナトリウムおよび0.04%ポリソルベートを含む。pHを5～7.5に調整するために、水酸化ナトリウムまたは塩酸が含まれ得る。

**眼注射用水性製剤****【0068】**

無菌保存剤非含有水性懸濁液は、10mMリン酸ナトリウム、40mM塩化ナトリウム、0.03%ポリソルベート20および5%スクロース中に5mg/mL～50mg/mLの化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）を含む。

30

**有用性****【0069】**

化合物1は、気道の炎症性および線維性疾患の処置のために設計されてきた。特に、本化合物は、全身曝露を制限しながら、肺内の呼吸器疾患の作用部位への強力な抗サイトカイン剤の直接送達を可能にするように設計されてきた。

**【0070】**

化合物1は、JAKファミリーの酵素：JAK1、JAK2、JAK3およびTYK2の強力な阻害剤であることが示されている。さらに、化合物1は、炎症促進性および線維化促進性サイトカインの強力な阻害を示した。JAK阻害剤の広範な抗炎症効果は、正常な免疫細胞機能を抑制することがあり得、感染のリスクを増大させる可能性があることが認識されている。本化合物は、肺から血漿中への吸収を制限し、したがって免疫抑制のリスクを最小限に抑えるように最適化された。

40

**【0071】**

以下の実験の節に記載されるように、化合物1の吸収および分布は、前臨床アッセイにおいて明らかにされた。化合物1をマウスで試験し、投与後5時間で肺組織中での高濃度および血漿中への低吸収を示した。化合物1は、マウス肺組織における炎症促進性サイトカインIL-13の効果を阻害することが示された。具体的には、本化合物は、肺組織に

50

におけるSTAT6のIL-13誘導性リン酸化の阻害を示しており、これは、インビボでの局所的な肺JAK標的結合の証拠を提供する。この効果は、試験化合物の投与の4時間後に炎症促進性サイトカインIL-13が投与された場合に観察され、肺における有意な保持のさらなる証拠を提供する。

#### 【0072】

化合物1は、細胞レベルでの強力な阻害活性と肺組織での有意な保持の両方を示すことが実証された。本発明者らによる広範な調査により、細胞レベルで強力な化合物または肺で有意な保持を示す化合物を同定することは可能であるが、両方の望ましい特徴を同時に示す化合物を発見することははるかに困難であることが判明した。

#### 【0073】

喘息の前臨床モデルにおいて、JAK阻害剤の抗炎症活性が確実に実証されている (Malaviyaら、Int. Immunopharmacol., 2010, 10, 829-836; Matsunagaら、Biochem. and Biophys. Res. Commun., 2011, 404, 261-267; Kudlaczら、Eur. J. Pharmacol., 2008, 582, 154-161)。JAK-STAT経路を介してシグナル伝達する喘息炎症に関与するサイトカインには、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-11、IL-13、IL-23、IL-31、IL-27、胸腺間質性リンパ球新生因子 (TSLP)、インターフェロン- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) および顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) が含まれる。したがって、化合物1およびその結晶性水和物、形態Iは、炎症性呼吸器障害、特に喘息の処置に有用であると予想される。喘息は、Th2低およびTh2高サブタイプとして分類されている (Simpsonら、Respirology, 2006, 11, 54-61)。IL-4、IL-13、IL-5およびTSLPはTh2高喘息に関与するのに対して、IL-23/IL-12、IL-6、IL-27およびIFN $\gamma$ はTh2低喘息に関与する。その汎JAK阻害プロファイルに基づいて、化合物1は、Th2高喘息およびTh2低喘息の両方のメディエータを強力に阻害する。したがって、化合物1の形態Iは、Th2高喘息およびTh2低喘息の両方の処置において有用であると予想される。

#### 【0074】

肺の炎症および線維症は、喘息に加えて、他の呼吸器疾患、例えば、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、嚢胞性線維症 (CF)、肺臓炎、間質性肺疾患 (特発性肺線維症が含まれる)、急性肺傷害、急性呼吸窮迫症候群、気管支炎、気腫、閉塞性細気管支炎およびサルコイドーシスに特徴的である。したがって、化合物1およびその結晶性水和物、形態Iは、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肺臓炎、間質性肺疾患 (特発性肺線維症を含む)、急性肺傷害、急性呼吸窮迫症候群、気管支炎、気腫、閉塞性細気管支炎およびサルコイドーシスの処置にも有用であると予想される。

#### 【0075】

その対応するフルオロ類似体 (化合物C-1) と比較すると、化合物1は類似のJAK活性を有することが示されている。しかしながら、化合物1は、アッセイの節で実証されるように、著しくより少ない硫酸化代謝を生じさせるという利点を有する。肺で硫酸化代謝が起こり、活性な親化合物の曝露の急速な減少をもたらすので、これは重要である。

#### 【0076】

化合物1は、炎症に関連するサイトカインの阻害を実証した。したがって、形態Iは、以下に詳述するように、ある特定の呼吸器疾患の処置に有用である可能性が高い。

#### 【0077】

好酸球性気道炎症は、好酸球性肺疾患と総称される疾患の特徴的な特徴である (Cottinら、Clin. Chest. Med., 2016, 37 (3), 535-56)。好酸球性疾患は、IL-4、IL-13およびIL-5シグナル伝達と関連付けられてきた。好酸球性肺疾患には、感染症 (特に蠕虫感染症)、薬物誘発性肺臓炎 (例えば、抗生物質、フェニトインまたはシトトリプトファンなどの治療薬によって誘発される)、真菌誘発性肺臓炎 (例えば、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症)、過敏性肺臓炎および

10

20

30

40

50

好酸球性多発血管炎性肉芽腫症（以前はチャグ・ストラウス症候群として知られていた）が含まれる。原因不明の好酸球性肺疾患には、特発性急性好酸球性肺炎、特発性慢性好酸球性肺炎、好酸球増加症候群およびレフラー症候群が含まれる。

【0078】

IL-6遺伝子の多型は、上昇したIL-6レベルおよび肺動脈高血圧症（PAH）を発症するリスクの増加と関連している（Fangら、J. Am. Soc. Hypertens., 2017, 11（3）, 171-177）。PAHにおけるIL-6の役割を補強して、IL-6受容体鎖gp130の阻害は、PAHのラットモデルにおいて疾患を改善した（Huangら、Can. J. Cardiol., 2016, 32（11）, 1356.e1-1356.e10）。

10

【0079】

IFN $\gamma$ 、IL-12およびIL-6などのサイトカインは、サルコイドーシスおよびリンパ脈管平滑筋腫症などの様々な非アレルギー性肺疾患に関与している（El-Hashemiteら、Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol., 2005, 33, 227-230およびEl-Hashemiteら、Cancer Res., 2004, 64, 3436-3443）。本開示の化合物はまた、IL-6およびIFN $\gamma$ シグナル伝達を阻害することが示された。

【0080】

気管支拡張症および浸潤性肺疾患は、慢性好中球性炎症に関連する疾患である。

【0081】

20

病的T細胞活性化は、複数の呼吸器疾患の病因において重要である。自己反応性T細胞は、閉塞性細気管支炎性器質化肺炎（COPDとも呼ばれる）において役割を果たす。COPDと同様に、肺移植拒絶の病因は、移植されたドナー肺によるレシピエントのT細胞の異常なT細胞活性化に関連する。肺移植拒絶は、原発性移植片機能不全（PGD）、器質化肺炎（OP）、急性拒絶（AR）またはリンパ球性細気管支炎（LB）として早期に起こり得るか、または慢性移植肺機能不全（CLAD）として肺移植の数年後に起こり得る。CLADは、以前は閉塞性細気管支炎（BO）として知られていたが、現在は、BO、拘束性CLAD（rCLADまたはRAS）および好中球性同種移植片機能不全を含む異なる病理学的徴候を有し得る症候群と考えられている。慢性移植肺機能不全（CLAD）は、移植された肺の機能性を徐々に失わせるので、肺移植レシピエントの長期管理における大きな課題である（Gauthierら、Curr Transplant Rep., 2016, 3（3）, 185-191）。CLADは処置に対する反応性が低く、したがって、この症状を予防または処置することができる有効な化合物が依然として必要とされている。IFN $\gamma$ およびIL-5などのいくつかのJAK依存性サイトカインは、CLADおよび肺移植拒絶において上方制御される（Berasteguiら、Clin. Transplant. 2017, 31, e12898）。さらに、JAK依存性IFNシグナル伝達の下流にあるCXCL9およびCXCL10などのCXCR3ケモカインの高い肺レベルは、肺移植患者におけるより悪い転帰に関連する（Shinoら、PLOS One, 2017, 12（7）, e0180281）。全身性JAK阻害は、腎移植拒絶において有効であることが示されている（Vicentiら、American Journal of Transplantation, 2012, 12, 2446-56）。したがって、JAK阻害剤は、肺移植拒絶およびCLADの予防または遅延に有効である可能性を有する。肺移植拒絶の基礎として記載される類似のT細胞活性化事象は、造血幹細胞移植後に起こり得る肺移植片対宿主病（GVHD）の主な推進要因でもあり考えられている。CLADと同様に、肺GVHDは、極めて不良な転帰を有する慢性進行性症状であり、現在、処置法は承認されていない。救援療法として全身性JAK阻害剤ルキソリチニブを受けたステロイド抵抗性の急性または慢性GVHDを有する95名の患者の後向き多施設調査研究は、肺GVHD患者を含む患者の大半においてルキソリチニブに対する完全応答または部分応答を実証した（Zeiserら、Leukemia, 2015, 29, 10, 2062-68）。全身性JAK阻害は重篤な有害事象および小さな治療指数を伴

30

40

50

うので、肺移植拒絶または肺GVHDを予防または遅延させるための吸入型肺指向性非全身性JAK阻害剤が依然として必要とされている。化合物1は、この必要性を満たすために必要とされる特徴を有する。より最近では、免疫チェックポイント阻害剤は、免疫チェックポイント阻害剤の使用の増加とともに現れた別のT細胞媒介性肺疾患である肺臓炎を誘発した。これらのT細胞刺激剤で処置されたがん患者では、致死性肺臓炎が発症し得る。

【0082】

混合リンパ球反応アッセイは、移植拒絶を模倣するインビトロアッセイである。化合物1は、IFN $\gamma$ 分泌を効果的に阻害することが示された。

【0083】

したがって、一実施形態では、本開示は、哺乳動物（例えば、ヒト）における呼吸器疾患を処置する方法であって、治療有効量の化合物1の結晶性水和物（形態I）または化合物1の結晶性水和物（形態I）を含む薬学的組成物を哺乳動物（またはヒト）に投与することを含む方法を提供する。

【0084】

一実施形態では、呼吸器疾患は、喘息、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肺臓炎、特発性肺線維症、急性肺傷害、急性呼吸窮迫症候群、気管支炎、気腫、サルコイドーシス、好酸球性疾患、肺感染症、蠕虫感染症、肺動脈性肺高血圧症、リンパ脈管平滑筋腫症、気管支拡張症、浸潤性肺疾患、薬物誘発性肺臓炎、真菌誘発性肺臓炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、過敏性肺臓炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、特発性急性好酸球性肺炎、特発性慢性好酸球性肺炎、好酸球増加症候群、レフラー症候群、閉塞性細気管支炎性器質化肺炎、肺移植片対宿主病、および免疫チェックポイント阻害剤誘発性肺臓炎からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、呼吸器疾患は喘息である。いくつかの実施形態では、喘息は中等度から重度の喘息である。いくつかの実施形態では、喘息は軽度から中等度の喘息である。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は吸入によって投与される。いくつかの実施形態では、喘息はTh2高喘息である。いくつかの実施形態では、喘息はTh2低喘息である。

【0085】

一実施形態では、本開示は、哺乳動物（例えば、ヒト）における肺移植拒絶を予防するまたは遅延させる方法であって、治療有効量の化合物1の結晶性水和物（形態I）または化合物1の結晶性水和物（形態I）を含む薬学的組成物を哺乳動物（またはヒト）に投与することを含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、肺移植拒絶は、原発性移植片機能不全、器質化肺炎、急性拒絶、リンパ球性細気管支炎、および慢性移植肺機能不全からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、肺移植拒絶は急性肺移植拒絶である。いくつかの実施形態では、肺移植拒絶は、慢性移植肺機能不全である。いくつかの実施形態では、肺移植拒絶は、閉塞性細気管支炎、拘束性慢性移植肺機能不全、および好中球性同種移植片機能不全からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は吸入によって投与される。

【0086】

JAK阻害剤での処置に適した疾患、特に呼吸器疾患および肺移植拒絶を処置し、予防し、遅延させ、または改善するための医学的治療におけるおよび製剤または医薬の製造における形態Iの使用も本明細書で提供される。

【0087】

本開示はさらに、哺乳動物における喘息を処置する方法であって、治療有効量の化合物1の結晶性水和物（形態I）、または薬学的に許容され得るキャリアと化合物1の結晶性水和物（形態I）とを含む薬学的組成物を哺乳動物に投与することを含む方法を提供する。

【0088】

喘息を処置するために使用される場合、化合物1の結晶性水和物（形態I）は、代表的には1日1回の用量または1日当たり複数回の用量で投与されるが、他の投与形態が使用され得る。用量当たり投与される活性な作用物質の量または1日当たり投与される総量は、処置されるべき症状、選択された投与の経路、投与される実際の化合物およびその相対

10

20

30

40

50

活性、個々の患者の年齢、体重および応答、患者の症候の重度などを含む、関連する状況に照らして、通例、医師によって決定されるであろう。

【0089】

本開示はさらに、哺乳動物における呼吸器疾患（本明細書に記載されている疾患を含むが、これらに限定されない）を処置する方法であって、治療有効量の化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）、または薬学的に許容され得るキャリアと化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）とを含む薬学的組成物を哺乳動物に投与することを含む方法を提供する。

【0090】

呼吸器疾患（本明細書に記載されている疾患を含むが、これらに限定されない）を処置するために使用される場合、化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）は、代表的には1日1回の用量でまたは1日あたり複数回の用量で投与されるが、他の投与形態が使用され得る。用量当たり投与される活性な作用物質の量または1日当たり投与される総量は、処置されるべき症状、選択された投与の経路、投与される実際の化合物およびその相対活性、個々の患者の年齢、体重および応答、患者の症候の重度などを含む、関連する状況に照らして、通例、医師によって決定されるであろう。

【0091】

ヒトコロナウイルスは一般的な呼吸器病原体であり、代表的には軽度の上気道疾患を誘発する。2つの高病原性ウイルスである重度急性呼吸器症候群関連コロナウイルス（SARS-CoV-1）および中東呼吸器症候群関連コロナウイルス（MERS-CoV）は、それぞれ10%超および35%超の死亡率をもたらす重度の呼吸器症候群を引き起こした（Assiriら、N Engl J Med., 2013, 369, 407-1）。新型コロナウイルス感染症2019（COVID-19およびその後のパンデミック）の最近の出現は、世界的な医療緊急事態を引き起こした。SARS-CoV-1およびMERS-CoVと同様に、患者の一部（約16%）は、急性肺傷害（ALI）によって現れる重度の呼吸器疾患を発症する可能性があり、ICU入院（約5%）、呼吸不全（約6.1%）および死亡につながる（Wangら、JAMA, 2020, 323, 11, 1061-1069; Guanら、N Engl J Med., 2020, 382, 1708-1720; Huangら、The Lancet, 2020, 395 (10223), 497-506; Chen et al., The Lancet, 2020, 395 (10223), 507-13）。COVID-19患者のサブグループは、過剰炎症性「サイトカインストーム」を有し、急性肺傷害および急性呼吸窮迫症候群（ARDS）をもたらすように見受けられる。このサイトカインストームはまた、全身循環に広がり、敗血症および最終的には多臓器機能不全症候群をもたらし得る。COVID-19に見られる調節不全のサイトカインシグナル伝達は、インターフェロン（IFN）、インターロイキン（IL）およびケモカインの増加した発現を特徴とし、ALIおよび関連する死亡をもたらす。この過剰炎症応答は、肺選択的汎ヤヌスキナーゼ（JAK）阻害剤によって潜在的に調節および処置することができる。IL-6に対して作られたモノクローナル抗体（トシリズマブおよびサリルマブ）は、COVID-19からのALI患者を処置する上で有効であると思われる（Xu X, Han M, Li T, Sun W, Wang D, Fu Bら、Effective Treatment of Severe COVID-19 Patients with Tocilizumab, 2020, PNAS, <https://doi.org/10.1073/pnas.2005615117>）。COVID-19のインビボモデルはまだ公開されていないが、2003 SARS-CoV-1および2012 MERS-CoVのマウス適応株による感染、ならびにヒトSARS-CoV-1に感染したヒトSARS-CoV-1受容体hACE2を発現するトランスジェニックマウスは、IFN $\gamma$ 、IL-6およびIL-12などのJAK依存性サイトカイン、ならびにケモカイン（C-Cモチーフ）リガンド10（CCL10）、CCL2およびCCL7などの下流ケモカインの上昇を実証する（McCrayら、J Virol., 2007, 81 (2), 813-21; Gretebeckら、Curr Opin Virol., 2015, 13, 123-9, Dayら、Virology, 2009, 395

10

20

30

40

50

(2), 210-22。JAK阻害剤はまた、リポ多糖またはガンシクロビルによって誘発されたALIのマウスモデルにおいて有益であることが示されている (Severgniniら、Am J Respir Crit Care Med., 2005, 171 (8), 858-67; Jinら、Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol., 2018, 314 (5), L882-92)。最後に、臨床試験の結果に基づいて、JAK阻害剤であるバリシチニブは、補充酸素、侵襲的機械換気または体外式膜型人工肺を必要とする患者におけるCOVID-19の処置に対して、レムデシビルと組み合わせて緊急使用許可 (EUA) を受けた (<https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-drug-combination-treatment-covid-19#:~:text=Today%2C%20the%20U.S.%20Food%20and,or%20older%20requiring%20supplemental%20oxygen%2C>)。入院したCOVID-19患者の臨床試験において、レムデシビルと組み合わせたバリシチニブは、レムデシビルとともにプラセボを服用した患者と比較して、処置開始後29日以内の回復までの時間を短縮することが示された。

【0092】

したがって、肺選択的吸入式汎JAK阻害剤である化合物1は、COVID-19に関連するサイトカインストームを弱めるのに他に類を見ないほど適し得る。肺に送達し、全身の免疫抑制を回避することによって、死亡率の悪化につながる追加の感染症も回避され得る。これは、換気補助を必要とする患者に特に当てはまる。COVID-19を有する対象の主な死因は併存症および重複感染症であると思われるので、吸入薬は、患者をこれらのリスクにさらされやすくする全身免疫抑制を回避する方法であり得る。

【0093】

したがって、本開示は、本開示の化合物1の結晶性水和物 (形態I)、または薬学的に許容され得るキャリアと本開示の化合物1の結晶性水和物 (形態I) とを含む薬学的組成物を哺乳動物 (または患者) に投与することを含む、SARS-CoV-1、SARS-CoV-2およびMERS-CoVなどのコロナウイルスに感染した哺乳動物 (または患者) またはその症候を処置する方法を提供する。本開示は、本開示の化合物1の結晶性水和物 (形態I)、または薬学的に許容され得るキャリアと本開示の化合物1の結晶性水和物 (形態I) とを含む薬学的組成物を哺乳動物 (または患者) に投与することを含む、(SARS-CoV-1、SARS-CoV-2およびMERS-CoVなどの) コロナウイルス感染症によって引き起こされた哺乳動物 (または患者) におけるALIおよび/またはARDSを処置する方法も提供する。

【0094】

JAK阻害剤の作用機序は、鼻炎性疾患の処置に関連している (Therapeutic Effects of Intranasal Tofacitinib on Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps in Mice, Jooら、The Laryngoscope, 2020, <https://doi.org/10.1002/lary.29129>)。さらに、IL-4およびIL-13シグナル伝達経路を遮断することによって作用するデュピルマブは、鼻ポリープを伴う慢性鼻副鼻腔炎の処置について承認されている。

【0095】

したがって、哺乳動物 (例えば、ヒト) における鼻炎性疾患を処置する方法であって、本開示の化合物1の結晶性水和物 (形態I)、または薬学的に許容され得るキャリアと本開示の化合物1の結晶性水和物 (形態I) とを含む薬学的組成物を哺乳動物 (またはヒト) に投与することを含む方法も本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、鼻炎性疾患は、鼻ポリープを伴うまたは伴わない慢性鼻副鼻腔炎、鼻ポリープ症、鼻ポリープを伴う副鼻腔炎、および鼻炎 (非アレルギー性、アレルギー性、通年性および血管運動性鼻炎) からなる群から選択される。

## 【0096】

JAK阻害剤として、本開示の化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）はまた、様々な他の疾患に対しても有用であり得る。本開示の化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）は、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎（直腸S状結腸炎、汎大腸炎、潰瘍性直腸炎および左側大腸炎）、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、ベーチェット病、セリアック病、免疫チェックポイント阻害剤によって誘発される大腸炎、回腸炎、好酸球性食道炎、移植片対宿主病関連大腸炎および感染性大腸炎を含むがこれらに限定されない様々な胃腸炎症性適応症に対して有用であり得る。潰瘍性大腸炎（Reimundら、J. Clin. Immunology, 1996, 16, 144-150）、クローン病（Woywodtら、Eur. J. Gastroenterology Hepatology, 1999, 11, 267-276）、コラーゲン蓄積大腸炎（Kumawatら、Mol. Immunology, 2013, 55, 355-364）、リンパ球性大腸炎（Kumawatら、2013）、好酸球性食道炎（Weinbrand-Goiichbergら、Immunol. Res., 2013, 56, 249-260）、移植片対宿主病関連大腸炎（Coghilら、Blood, 2001, 117, 3268-3276）、感染性大腸炎（Stallmachら、Int. J. Colorectal Dis., 2004, 19, 308-315）、ベーチェット病（Zhouら、Autoimmun. Rev., 2012, 11, 699-704）、セリアック病（de Nittora、World J. Gastroenterol., 2009, 15, 4609-4614）、免疫チェックポイント阻害剤によって誘発される大腸炎（例えば、CTLA-4阻害剤によって誘発される大腸炎；（Yanoら、J. Translation. Med., 2014, 12, 191）、PD-1またはPD-L1阻害剤によって誘発される大腸炎）および回腸炎（Yamamotoら、Dig. Liver Dis., 2008, 40, 253-259）は、ある特定の炎症促進性サイトカインのレベルの上昇を特徴とする。多くの炎症促進性サイトカインがJAK活性化を介してシグナルを伝達するので、本出願に記載される化合物は、炎症を軽減し、症候緩和を提供することが可能であり得る。特に、本開示の化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）は、潰瘍性大腸炎の寛解の誘導および維持、ならびにクローン病、免疫チェックポイント阻害剤によって誘発される大腸炎、および移植片対宿主病における胃腸有害作用の処置に有用であり得る。したがって、一実施形態では、本開示は、哺乳動物（例えば、ヒト）における胃腸炎症性疾患を処置する方法であって、本開示の化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）、または薬学的に許容され得るキャリアと化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）とを含む薬学的組成物を哺乳動物に投与することを含む方法を提供する。

## 【0097】

アトピー性皮膚炎および他の炎症性皮膚疾患は、JAK-STAT経路に依存する炎症促進性サイトカインの上昇に関連付けられてきた。したがって、本開示の化合物1の結晶性水和物（形態Ⅰ）は、アトピー性皮膚炎、円形脱毛症、白斑、乾癬、皮膚筋炎、皮膚T細胞リンパ腫（Netchiporoukら、Cell Cycle 2014; 13, 3331-3335）およびサブタイプ（セザリー症候群、菌状息肉症、パジェット様細網症、肉芽腫様弛緩皮膚、リンパ腫様丘疹症、慢性苔癬状皰癬疹、急性苔癬状痘瘡状皰癬疹、CD30+皮膚T細胞リンパ腫、続発性皮膚CD30陽性大細胞リンパ腫、非菌状息肉症CD30陰性皮膚大T細胞リンパ腫、多形性T細胞リンパ腫、レナートリンパ腫、皮下T細胞リンパ腫、血管中心性リンパ腫、芽球型NK細胞リンパ腫）、結節性痒疹、扁平苔癬、原発性限局性皮膚アミロイドーシス、水疱性類天疱瘡、移植片対宿主病の皮膚発現、類天疱瘡、円板状狼瘡、環状肉芽腫、慢性単純性苔癬、外陰部／陰囊／肛門周囲のそう痒、硬化性苔癬、带状疱疹後神経痛かゆみ、毛孔性扁平苔癬および脱毛性毛包炎（folliculitis decalvans）を含むが、これらに限定されない多数の皮膚炎症性症状または皮膚そう痒性症状において有益であり得る。特に、アトピー性皮膚炎（Baorら、JAK-STAT, 2013, 2, e24137）、円形脱毛症（Xingら、Nat. Med. 2014, 20, 1043-1049）、白斑（Craiglowら、J

AMA Dermatol. 2015, 151, 1110-1112)、結節性痒疹 (Sonkolyら、J. Allergy Clin. Immunol. 2006, 117, 411-417)、扁平苔癬 (Welz-Kubiakら、J. Immunol. Res. 2015, ID: 854747)、原発性限局性皮膚アミロイドーシス (Tanakaら、Br. J. Dermatol. 2009, 161, 1217-1224)、水疱性類天疱瘡 (Felicianiら、Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 1999, 12, 55-61) および移植片対宿主病の皮膚発現 (Okiyamaら、J. Invest. Dermatol. 2014, 134, 992-1000) は、JAKの活性化を介してシグナル伝達するある特定のサイトカインの上昇を特徴とする。したがって、本開示の化合物1の結晶性水和物(形態I)は、これらのサイトカインによって引き起こされる関連する皮膚炎症または掻痒症を緩和することが可能であり得る。特に、本開示の化合物1の結晶性水和物(形態I)は、アトピー性皮膚炎および他の炎症性皮膚疾患の処置に有用であると予想され得る。したがって、一実施形態では、本開示は、哺乳動物(例えば、ヒト)における炎症性皮膚疾患を処置する方法であって、本開示の化合物1の結晶性水和物(形態I)と薬学的キャリアとを含む薬学的組成物を哺乳動物の皮膚に適用することを含む方法を提供する。一実施形態では、炎症性皮膚疾患は、アトピー性皮膚炎である。

#### 【0098】

多数の眼疾患が、JAK-STAT経路に依存する炎症促進性サイトカインの上昇に関連することが示されている。したがって、化合物1の結晶性水和物(形態I)は、ブドウ膜炎、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、眼乾燥症、加齢性黄斑変性およびアトピー性角結膜炎を含むがこれらに限定されないいくつかの眼疾患の処置に有用であり得る。特に、ブドウ膜炎 (Horai and Caspi, J. Interferon. Cytokine Res., 2011, 31, 733-744)、糖尿病性網膜症 (Abcouwer, J. Clin. Cell. Immunol., 2013, Suppl 1, 1-12)、糖尿病性黄斑浮腫 (Sohnら、American Journal of Ophthalmology, 2011, 152, 686-694)、眼乾燥症 (Steven sonら、Arch. Ophthalmol., 2012, 130, 90-100)、および加齢性黄斑変性 (Knickelbeinら、Int. Ophthalmol. Clin., 2015, 55 (3), 63-78) は、JAK-STAT経路を介してシグナル伝達する一定の炎症促進性サイトカインの上昇を特徴とする。網膜静脈閉塞症 (RVO) は、非常に一般的な視覚障害性疾患である。網膜血流の閉塞は、網膜血管系の損傷、出血、および組織虚血をもたらす。RVOの原因は多因子性であるが、血管メディエータおよび炎症メディエータの両方が重要であることが示されている (Deobhaktar, International Journal of Inflammation, 2013年、論文ID 438412)。IL-6およびIL-13などのJAK-STAT経路を介してシグナル伝達するサイトカイン、ならびにその産生がJAK-STAT経路シグナル伝達によって部分的に引き起こされるMCP-1などの他のサイトカインが、RVO患者の眼組織中に上昇したレベルで検出されている (Shchukoら、Indian Journal of Ophthalmology, 2015, 63 (12), 905-911)。したがって、本開示の化合物1の結晶性水和物(形態I)は、関連する眼炎症を緩和し、疾患の進行を逆転させることが可能であり得るか、またはこの疾患の症候緩和を提供し得る。多くのRVO患者は光凝固によって処置されるが、これは本質的に破壊的な治療法である。抗VEGF剤も使用されるが、抗VEGF剤は一部の患者において有効であるに過ぎない。眼の炎症のレベルを低下させるステロイド薬(トリアムシノロンアセトニドおよびデキサメタゾンのインプラント)もまた、ある特定の形態のRVOを有する患者に有益な結果をもたらすことが示されているが、白内障および眼圧上昇/緑内障を引き起こすことも示されている。

#### 【0099】

したがって、本開示の化合物1の結晶性水和物(形態I)は、関連する眼炎症を緩和し

、疾患の進行を逆転させることが可能であり得る、または症候緩和を提供することが可能であり得る。したがって、一実施形態では、本開示は、哺乳動物における眼疾患を処置する方法であって、本開示の化合物 1 の結晶性水和物（形態 I）と薬学的キャリアとを含む薬学的組成物を哺乳動物の眼に投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、眼疾患は、ブドウ膜炎、糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、眼乾燥症、加齢性黄斑変性、網膜静脈閉塞症またはアトピー性角結膜炎である。一実施形態では、本方法は、本開示の化合物 1 の結晶性水和物（形態 I）を硝子体内注射によって投与することを含む。化合物 1 の結晶性水和物（形態 I）はまた、眼疾患に有用な 1 またはそれを超える化合物と組み合わせて使用され得る。

#### 【0100】

化合物 1 の結晶性水和物（形態 I）はまた、他の炎症性疾患、自己免疫疾患またはがんなどの他の疾患を処置するのに有用であり得る。本開示の化合物 1 の結晶性水和物（形態 I）は、関節炎、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、移植片拒絶、眼球乾燥、乾癬性関節炎、糖尿病、インスリン依存性糖尿病、運動ニューロン疾患、骨髄異形成症候群、疼痛、筋肉減少、悪液質、敗血症性ショック、全身性エリテマトーデス、白血病、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、強直性脊椎炎、骨髄線維症、B 細胞リンパ腫、肝細胞癌腫、ホジキン病、乳がん、多発性骨髄腫、黒色腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺癌、卵巣明細胞癌腫、卵巣腫瘍、膵臓腫瘍、真性赤血球増加症、シェーグレン症候群、軟部組織肉腫、肉腫、脾腫、T 細胞リンパ腫および重症型サラセミアのうちの 1 またはそれより多くを処置するのに有用であり得る。

#### 併用療法

#### 【0101】

本開示の化合物 1 の結晶性水和物（形態 I）は、疾患を処置するために同一の機構によってまたは異なる機構によって作用する 1 またはそれを超える作用物質と組み合わせて使用され得る。異なる作用物質は、別個の組成物または同一の組成物で逐次にまたは同時に投与され得る。併用療法のための有用な作用物質のクラスには、 $\beta$  2 アドレナリン受容体アゴニスト、ムスカリン受容体アンタゴニスト、グルココルチコイドアゴニスト、G タンパク質共役受容体 4 4 アンタゴニスト、ロイコトリエン D 4 アンタゴニスト、ムスカリン M 3 受容体アンタゴニスト、ヒスタミン H 1 受容体アンタゴニスト、免疫グロブリン E アンタゴニスト、P D E 4 阻害剤、I L - 4 アンタゴニスト、ムスカリン M 1 受容体アンタゴニスト、ヒスタミン受容体アンタゴニスト、I L - 1 3 アンタゴニスト、I L - 5 アンタゴニスト、5 - リポキシゲナーゼ阻害剤、 $\beta$  アドレナリン受容体アゴニスト、C C R 3 ケモカインアンタゴニスト、C F T R 刺激物質、免疫グロブリンモジュレーター、インターロイキン 3 3 リガンド阻害剤、P D E 3 阻害剤、ホスホイノシチド - 3 キナーゼデルタ阻害剤、トロンボキサン A 2 アンタゴニスト、エラスターゼ阻害剤、K i t チロシンキナーゼ阻害剤、ロイコトリエン E 4 アンタゴニスト、ロイコトリエンアンタゴニスト、P G D 2 アンタゴニスト、T N F  $\alpha$  リガンド阻害剤、T N F 結合剤、補体カスケード阻害剤、エオタキシリンリガンド阻害剤、グルタチオンレダクターゼ阻害剤、ヒスタミン H 4 受容体アンタゴニスト、I L - 6 アンタゴニスト、I L 2 遺伝子刺激物質、免疫グロブリンガンマ F c 受容体 I I B 調節因子、インターフェロンガンマリガンド、インターロイキン 1 3 リガンド阻害剤、インターロイキン 1 7 リガンド阻害剤、L - セレクチンアンタゴニスト、白血球エラスターゼ阻害剤、ロイコトリエン C 4 アンタゴニスト、ロイコトリエン C 4 シンターゼ阻害剤、膜銅アミンオキシダーゼ阻害剤、メタロプロテアーゼ - 1 2 阻害剤、メタロプロテアーゼ - 9 阻害剤、ダニアレゲン調節因子、ムスカリン受容体調節因子、ニコチン性アセチルコリン受容体アゴニスト、核因子カッパ B 阻害剤、p - セレクチンアンタゴニスト、P D E 5 阻害剤、P D G F 受容体アンタゴニスト、ホスホイノシチド - 3 キナーゼガンマアゴニスト、T L R - 7 アゴニスト、T N F アンタゴニスト、A b l チロシンキナーゼ阻害剤、アセチルコリン受容体アンタゴニスト、酸性哺乳動物キチナーゼ阻害剤、A C T H 受容体アゴニスト、アクチン重合調節因子、アデノシン A 1 受容体アンタゴニスト、アデニル酸シクラーゼ刺激因子、アドレナリン受容体アンタゴニスト、副腎皮

10

20

30

40

50

質刺激ホルモンリガンド、アルコールデヒドロゲナーゼ5阻害剤、 $\alpha$ 1アンチトリプシン刺激物質、 $\alpha$ 1プロテイナーゼ阻害剤、アンドロゲン受容体調節因子、アンジオテンシン変換酵素2刺激物質、ANPアゴニスト、Bcrタンパク質阻害剤、 $\beta$ 1アドレナリン受容体アンタゴニスト、 $\beta$ 2アドレナリン受容体アンタゴニスト、 $\beta$ 2アドレナリン受容体調節因子、 $\beta$ アミロイド調節因子、BMP10遺伝子阻害剤、BMP15遺伝子阻害剤、カルシウムチャネル阻害剤、カテプシンG阻害剤、CCL26遺伝子阻害剤、CCR3ケモカイン調節因子、CCR4ケモカインアンタゴニスト、細胞接着分子阻害剤、シャペロニン刺激物質、キチナーゼ阻害剤、コラーゲンIアンタゴニスト、補体C3阻害剤、CSF-1アンタゴニスト、CXCR2ケモカインアンタゴニスト、サイトカイン受容体共通 $\beta$ 鎖調節因子、細胞傷害性Tリンパ球タンパク質-4刺激物質、デオキシリボヌクレアーゼI刺激物質、デオキシリボヌクレアーゼ刺激物質、ジペプチジルペプチダーゼI阻害剤、DNAジャイレース阻害剤、DPプロスタノイド受容体調節因子、E-セレクトインアンタゴニスト、EGFRファミリーチロシンキナーゼ受容体阻害剤、エラスチン調節因子、エンドセリンET-Aアンタゴニスト、エンドセリンET-Bアンタゴニスト、エポキシドヒドロラーゼ阻害剤、FGF3受容体アンタゴニスト、Fynチロシンキナーゼ阻害剤、GATA3転写因子阻害剤、グルコシルセラミダーゼ調節因子、グルタミン酸受容体調節因子、GM-CSFリガンド阻害剤、グアニル酸シクラーゼ刺激物質、H<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPアーゼ阻害剤、ヘモグロビン調節因子、ヘパリンアゴニスト、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤、ヒストン脱アセチル化酵素-2刺激物質、HMGCoA還元酵素阻害剤、I-カップBキナーゼベータ阻害剤、ICAM1遺伝子阻害剤、IL-17アンタゴニスト、IL-17受容体調節因子、IL-23アンタゴニスト、IL-4受容体調節因子、免疫グロブリンG調節因子、免疫グロブリンG1アゴニスト、免疫グロブリンG1調節因子、免疫グロブリンイプシロンFc受容体IAアンタゴニスト、免疫グロブリンガンマFc受容体IIBアンタゴニスト、免疫グロブリンカップ調節因子、インスリン増感剤、インターフェロン $\beta$ リガンド、インターロイキン1様受容体アンタゴニスト、インターロイキン18リガンド阻害剤、インターロイキン受容体17Aアンタゴニスト、インターロイキン-1ベータリガンド阻害剤、インターロイキン-5リガンド阻害剤、インターロイキン-6リガンド阻害剤、KCNA電位依存性カリウムチャネル-3阻害剤、Kitリガンド阻害剤、ラミニン-5アゴニスト、ロイコトリエンCysLT1受容体アンタゴニスト、ロイコトリエンCysLT2受容体アンタゴニスト、LOXL2遺伝子阻害剤、Lynチロシンキナーゼ阻害剤、MARCKSタンパク質阻害剤、MDR関連タンパク質4阻害剤、メタロプロテアーゼ-2調節因子、メタロプロテアーゼ-9調節因子、ミネラルコルチコイド受容体アンタゴニスト、ムスカリンM2受容体アンタゴニスト、ムスカリンM4受容体アンタゴニスト、ムスカリンM5受容体アンタゴニスト、ナトリウム利尿ペプチド受容体Aアゴニスト、ナチュラルキラー細胞受容体調節因子、ニコチン性ACh受容体アルファ7サブユニット刺激物質、NK細胞受容体調節因子、核因子 $\kappa$ B調節因子、オビオイド成長因子受容体アゴニスト、P-糖タンパク質阻害剤、P2X3プリン受容体アンタゴニスト、p38MAPキナーゼ阻害剤、ペプチダーゼ1調節因子、ホスホリパーゼA2阻害剤、ホスホリパーゼC阻害剤、プラスミノゲン活性化因子阻害剤1阻害剤、血小板活性化因子受容体アンタゴニスト、PPAR $\gamma$ アゴニスト、プロスタサイクリンアゴニスト、プロテインチロシンキナーゼ阻害剤、SH2ドメインイノシトールホスファターゼ1刺激因子、シグナル伝達阻害剤、ナトリウムチャネル阻害剤、STAT-3調節因子、幹細胞抗原-1阻害剤、スーパーオキシドジスムターゼ調節因子、T細胞表面糖タンパク質CD28阻害剤、T細胞表面糖タンパク質CD8阻害剤、TGF $\beta$ アゴニスト、TGF $\beta$ アンタゴニスト、トロンボキサンシンテターゼ阻害剤、胸腺間質リンパタンパク質リガンド阻害剤、チモシンアゴニスト、チモシンベータ4リガンド、TLR-8アゴニスト、TLR-9アゴニスト、TLR9遺伝子刺激物質、トポイソメラーゼIV阻害剤、トロポニンI高速骨格筋刺激物質、トロポニンT高速骨格筋刺激物質、I型IL-1受容体アンタゴニスト、II型TNF受容体調節因子、イオンチャネル調節因子、ウテログロビン刺激物質およびVIPアゴニストが含まれるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

## 【0102】

本発明の化合物1の本結晶性水和物（形態I）と組み合わせて使用され得る具体的な作用物質としては、酢酸ロシプトール、ウメクリジニウムブロミド、セクキヌマブ、酢酸メテンケファリン、酢酸トリデカクチド、プロピオン酸フルチカゾン、 $\alpha$ -シクロデキストリン安定化スルホラファン、テゼペルマブ、フロ酸モメタゾン、BI-1467335、デュピルマブ、アクリジニウム、ホルモテロール、AZD-1419、HI-1640V、リビパンセル、CMP-001、マンニトール、ANB-020、オマリズマブ、トレガリズマブ、Mitizax、ベンラリズマブ、ゴリムマブ、ロフルミラスト、イマチニブ、REGN-3500、マシチニブ、アプレミラスト、RPL-554、Actimmune、アダリムマブ、ルパタジン、パログレリル、MK-1029、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、フマル酸ホルモテロール、モガムリズマブ、セラトロダスト、UCB-4144、ネミラリシブ、CK-2127107、フェビピプラント、ダニリキシン、ボセンタン、アバタセプト、EC-18、デュベリシブ、ドシパルスタット、シプロフロキサシン、サルブタモールHFA、エルドステイン、PREP-001、ネドクロミル、CDX-0158、サルブタモール、エノボサーム、R-TPR-022、レンジルマブ、フロ酸フルチカゾン、ビランテロールトリフェニル酢酸塩、プロピオン酸フルチカゾン、サルメテロール、PT-007、PRS-060、レメステムセル-L、シトルリン、RPC-4046、一酸化窒素、DS-102、ゲリリムズマブ、Actair、フロ酸フルチカゾン、ウメクリジニウム、ビランテロール、AG-NPP709、Gamunex、インフリキシマブ、Ampion、アクマピモド、カナキヌマブ、INS-1007、CYP-001、シルクマブ、プロピオン酸フルチカゾン、メボリズマブ、ピタバスタチン、ソリスロマイシン、エタネルセプト、アイバカフトール、アナキンラ、MPC-300-IV、グリコピロニウムブロミド、アクリジニウムブロミド、FP-025、リサンキズマブ、グリコピロニウム、フマル酸ホルモテロール、Adipocell、YPL-001、チオトロピウムブロミド、グリコピロニウムブロミド、インダカテロールマレイン酸塩、アンデカリキシマブ、オロダテロール、エソメプラゾール、チリダニワクチン、ヨモギ花粉アレルゲンワクチン、バモロロン、ゲーファピキサント、レベフェナシン、ゲフィチニブ、ReJoin、チペルカスト、ベドラドリン、SCM-CGH、SHP-652、RNS-60、プロダルマブ、BIO-11006、ウメクリジニウムブロミド、ビランテロールトリフェニル酢酸塩、イプラトロピウムブロミド、トラロキヌマブ、PUR-1800、VX-561、VX-371、オロパタジン、ツロブテロール、フマル酸ホルモテロール、トリアムシノロンアセトニド、レスリズマブ、キシナホ酸サルメテロール、プロピオン酸フルチカゾン、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、フマル酸ホルモテロール、チオトロピウムブロミド、リゲリズマブ、RUTI、ベルチリムマブ、オマリズマブ、グリコピロニウムブロミド、SENS-111、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、CHF-5992、LT-4001、インダカテロール、グリコピロニウムブロミド、フロ酸モメタゾン、フェキソフェナジン、グリコピロニウムブロミド、アジスロマイシン、AZD-7594、ホルモテロール、CHF-6001、バテフェンテロール、OATD-01、オロダテロール、CJM-112、ロシグリタゾン、サルメテロール、セチピプラント、吸入インターフェロンベータ、AZD-8871、プレカナチド、フルチカゾン、サルメテロール、エイコサペンタエン酸モノグリセリド、レブリキズマブ、RG-6149、QBKPN、モメタゾン、インダカテロール、AZD-9898、ピルビン酸ナトリウム、ジロートン、CG-201、イミダフェナシン、CNTO-6785、CLBS-03、モメタゾン、RGN-137、プロカテロール、ホルモテロール、CCI-15106、POL-6014、インダカテロール、ベクロメタゾン、MV-130、GC-1112、Allergovacデポー、MEDI-3506、QBW-251、ZPL-389、ウデナフィル、GSK-3772847、レボセチリジン、AXP-1275、ADC-3680、チマピプラント、アベジテロール、AZD-7594、イプラトロピウムブロミド、硫酸サルブタモール、タデキニグアルファ、ACT-774312、ドルナーゼアルファ、イロプロスト、バテフェンテロール、フロ酸フルチカゾン、アリカフォルセ

10

20

30

40

50

ン、シクレソニド、エメラミド、アルホルモテロール、SB-010、Ozagrel、BT-1023、Dectrekumab、レバルブテロール、プラシルカスト、ヒアルロン酸、GSK-2292767、ホルモテロール、NOV-14、Lucinactant、サルブタモール、プレドニゾロン、エバスチン、デキサメタゾンシペシル酸エステル、GSK-2586881、BI-443651、GSK-2256294、VR-179、VR-096、hdm-ASIT+、ブデソニド、GSK-2245035、VTX-1463、エメダスチン、デクスプラミペキソール、レバルブテロール、N-6022、リン酸デキサメタゾンナトリウム、PIN-201104、OPK-0018、TEV-48107、スプラタスト、BI-1060469、Gemilukast、インターフェロンガンマ、ダラザチド、ピラスチン、プロピオン酸フルチカゾン、キシナホ酸サルメテロール、RP-3128、ベンシクロキジウムブロミド、レスリズマブ、PBF-680、CRTH2アンタゴニスト、Pranlukast、キシナホ酸サルメテロール、プロピオン酸フルチカゾン、チオトロピウムブロミド水和物、マシルカスト、RG-7990、Doxofylline、アベジテロール、グリコピロニウムブロミド、TEV-46017、ASM-024、プロピオン酸フルチカゾン、グリコピロニウムブロミド、キシナホ酸サルメテロール、サルブタモール、TA-270、フルニソリド、クロモグリク酸ナトリウム、Epsigam、ZPL-521、サルブタモール、アビプタジル、TRN-157、ザフィルルカスト、Stempeucel、ペミロラストナトリウム、ナドロール、プロピオン酸フルチカゾン+キシナホ酸サルメテロール、RV-1729、硫酸サルブタモール、二酸化炭素+ペルフルオロオクチルブロミド、APL-1、デクトレクマブ+VAK-694、アセチルサリチル酸リジン、ジロートン、TR-4、ヒト同種脂肪由来間葉系前駆細胞療法、MEDI-9314、PL-3994、HMP-301、TD-5471、NKTT-120、ペミロラスト、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、トランチンテロール、アルファルミノールナトリウム、IMD-1041、AM-211、TBS-5、ARRY-502、セラトロダスト、組換えミジスマーゼ、ASM-8、デフラザコート、バンブテロール、RBx-10017609、イブラトロピウム+フェノテロール、フルチカゾン+ホルモテロール、エピナスチン、WIN-901X、VALERGEN-DS、OligoG-COPD-5/20、ツロブテロール、oxis Turbuhaler、DSP-3025、ASM-024、ミゾラスチン、ブデソニド+サルメテロール、LH-011、AXP-E、ヒスタミンヒト免疫グロブリン、YHD-001、テオフィリン、アンブロキソール+エルドステイン、ラマトロバン、モンテルカスト、プラシルカスト、AG-1321001、ツロブテロール、イブラトロピウム+サルブタモール、トラニラスト、スレプタン酸メチルプレドニゾロン、コルホルシンダロパート、レピリナスト、およびドキシフィリンが挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0103】

本開示の化合物1の結晶性水和物（形態I）と1またはそれを超える他の治療剤とを含む薬学的組成物も本明細書で提供される。治療剤は、上に特定された作用物質のクラスからおおよび上に記載された特定の作用物質のリストから選択され得る。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、肺への送達に適している。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、吸入または噴霧投与に適している。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、乾燥粉末または液体懸濁液である。

#### 【0104】

さらに、方法実施形態では、本開示は、哺乳動物に本開示の化合物1の結晶性水和物（形態I）と1またはそれを超える他の治療剤とを投与することを含む、哺乳動物における疾患または障害を処置する方法を提供する。

#### 【0105】

併用療法で使用される場合には、作用物質は、単一の薬学的組成物中に製剤化されてもよく、または作用物質は、同時にもしくは別々の時間に、同一のもしくは異なる投与経路によって投与される別個の組成物で提供されてもよい。このような組成物は、別々に包装

10

20

30

40

50

することができ、またはキットとして一緒に包装され得る。キット中の2またはそれを超える治療剤は、同一の投与経路または異なる投与経路によって投与され得る。

# 【実施例】

## 【0106】

以下の合成および生物学の実施例は、本発明を例証するために提供されるのであって、決して本発明の範囲を限定すると解釈されるべきでない。下記の実施例では、以下の省略形は、別段示されない限り、以下の意味を有する。下記に定義されない省略形は、それらの一般に認められている意味を有する。

A C N = アセトニトリル

c a l c d = 計算値

D C M = ジクロロメタン

D I P E A = N, N-ジイソプロピルエチルアミン

D M F = N, N-ジメチルホルムアミド

E t O A c = 酢酸エチル

h = 時間

H A T U = N, N, N', N'-テトラメチル-O-(7-アザベンゾトリアゾル-1-イル)ウロニウムヘキサフルオロホスファート

I P A = イソプロピルアルコール

I P A c = イソプロピルアセタート

K O A c = 酢酸カリウム

M e O H = メタノール

m i n = 分

P d C l<sub>2</sub> (d p p f) = ジクロロ(1, 1'-ビス(ジフェニルホスフィノ))-フェロセン)ジパラジウム(II)

P d (P P h<sub>3</sub>)<sub>4</sub> = テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)

R T = 室温

T E A = トリエチルアミン

T F A = トリフルオロ酢酸

T H F = テトラヒドロフラン

ビス(ピナコラト)ジボロン = 4, 4, 5, 5, 4', 4', 5', 5'-オクタメチル-[30  
2, 2']ビ[[1, 3, 2]ジオキサボロラニル]

## 【0107】

試薬および溶媒は、商業的供給業者(Aldrich、Fluka、Sigmaなど)から購入し、さらに精製せずに使用した。反応混合物の進行は、薄層クロマトグラフィー(TLC)、分析用高速液体クロマトグラフィー(anal. HPLC)および質量分析法によってモニターした。反応混合物は、各反応において具体的に記載されるようにワークアップした。通常、反応混合物は、抽出ならびに温度および溶媒依存性の結晶化および沈殿などの他の精製方法によって精製した。さらに、反応混合物は、代表的にはC18またはBDSカラムパッキングおよび従来の溶離剤を用いる、カラムクロマトグラフィーまたは分取HPLCによって慣用のように精製した。代表的な分取HPLC条件は、下記に記載される。

## 【0108】

反応生成物の特徴付けは、質量分析法および<sup>1</sup>H-NMR分光法によって通例のように行った。NMR解析の場合、サンプルを重水素化溶媒(例えば、CD<sub>3</sub>OD、CDCl<sub>3</sub>またはd<sub>6</sub>-DMSO)に溶解し、標準的な観測条件下でVarian Gemini 2000装置(400MHz)を用いて<sup>1</sup>H-NMRスペクトルを取得した。化合物の質量分析同定は、自動精製システムに連結された、Applied Biosystems(Foster City, CA)のモデルAPI 150 EX装置またはWaters(Milford, MA)の3100装置を用いるエレクトロスプレーイオン化法(ESMS)によって行った。

10

20

40

50

## 分取HPLC条件

カラム：C18、5  $\mu$ m。21.2  $\times$  150 mmまたはC18、5  $\mu$ m 21  $\times$  250  
または

C14、5  $\mu$ m 21  $\times$  150 mm

カラム温度：室温

流速：20.0 mL / 分

移動相：A = 水 + 0.05% TFA

B = ACN + 0.05% TFA、

注入体積：(100 ~ 1500  $\mu$ L)

検出器波長：214 nm

10

## 【0109】

粗化合物を約50 mg / mLで1 : 1水 : 酢酸に溶解した。4分間の分析スケールの試験ランを、2.1  $\times$  50 mm C18カラムを用いて行った後、15または20分間の分取スケールのランを、分析スケールの試験ランの%B保持に基づくグラジエントを伴う100  $\mu$ Lの注入を用いて行った。正確なグラジエントは、サンプル依存的であった。近くを流れる (close running) 不純物を含むサンプルは、最善の分離のために21  $\times$  250 mm C18カラムおよび / または21  $\times$  150 mm C14カラムを用いて調べた。所望の生成物を含む画分を質量分析によって特定した。

## 分析HPLC条件

## 方法A

20

カラム：Agilent Zorbax Bonus-RP C18、150  $\times$  4.60  
nm、3.5  $\mu$ m

カラム温度：40  $^{\circ}$ C

流速：1.5 mL / 分

注入体積：5  $\mu$ L

試料調製：1 : 1 ACN : 1M HCl中に溶解

移動相：A = 水 : TFA (99.95 : 0.05)

B = ACN : TFA (99.95 : 0.05)

検出器波長：254 nmおよび214 nm

グラジエント：合計26分 (時間 (分) / %B) : 0 / 5、18 / 90、22 / 90、  
22.5 / 90、26 / 5

30

## 方法B

カラム：Agilent Poroshell 120 Bonus-RP、4.6  $\times$  1  
50 mm、2.7  $\mu$ m

カラム温度：30  $^{\circ}$ C

流速：1.5 mL / 分

注入体積：10  $\mu$ L

移動相：A = ACN : 水 : TFA (2 : 98 : 0.1)

B = ACN : 水 : TFA (90 : 10 : 0.1)

試料調製：移動相Bに溶解

40

検出器波長：254 nmおよび214 nm

グラジエント：合計60分 (時間 (分) / %B) 0 / 0、50 / 100、55 / 100  
、55.1 / 0、60 / 0

## 方法C

カラム：Agilent Poroshell 120 Bonus-RP、4.6  $\times$  1  
50 mm、2.7  $\mu$ m

カラム温度：30  $^{\circ}$ C

流速：1.5 mL / 分

注入体積：10  $\mu$ L

移動相：A = ACN : 水 : TFA (2 : 98 : 0.1)

50

B = A C N : 水 : T F A ( 9 0 : 1 0 : 0 . 1 )

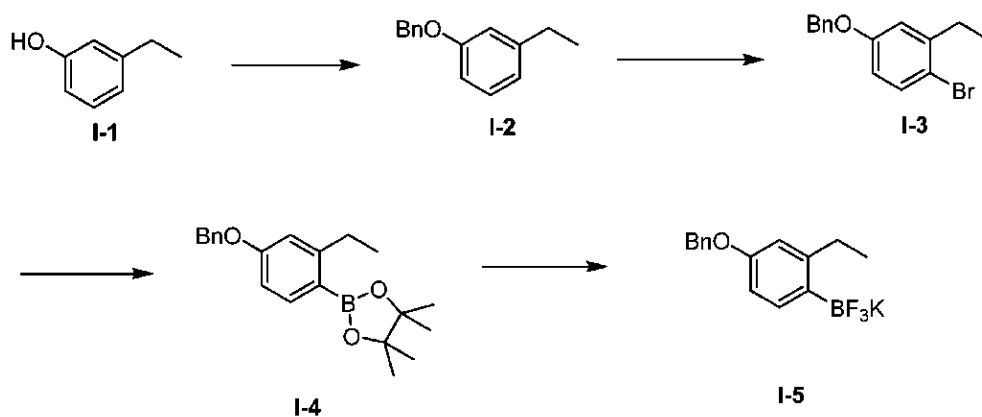
試料調製：移動相 B ( 0 . 1 5 m L ) に溶解した後、移動相 A ( 0 . 8 5 m L ) で希釈する。

検出器波長：245 nm

グラジエント：合計46分（時間（分）／％B）：0／0、25／50、35／100、40／100、40.1／0、46／0

調製1：（4－（ベンジルオキシ）－2－エチルフェニル）トリフルオロ－λ<sup>4</sup>－ボラン、カリウム塩 I－5

【化5】



(a) 1－（ベンジルオキシ）－3－エチルベンゼン（I－2）

【0110】

A C N ( 2 5 0 m L 、 1 0 体積 ) 中の 3－エチルフェノール ( I－1 ) ( 2 5 . 0 g 、 2 0 4 . 0 m m o l ) の攪拌溶液に、炭酸カリウム ( 4 2 . 0 g 、 3 0 6 m m o l ) を室温で添加した。得られた反応塊を室温で15分間攪拌し、続いて臭化ベンジル ( 2 4 . 0 m L 、 2 0 4 m m o l ) を滴加して加えた。得られた反応混合物を室温で6時間攪拌した。反応が完了した後 ( T L C モニタリング ) 、得られた反応塊を水 ( 1 . 0 L ) に注ぎ入れ、続いて E t O A c ( 2 × 2 L ) で化合物を抽出した。合わせた有機物を冷水、ブライン溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させた。次いで、溶離剤ヘキサン中2％ E t O A c を使用することによりシリカゲル ( 1 0 0 ～ 2 0 0 M ) のカラムクロマトグラフィーによって粗生成物を精製して、所望の生成物 ( I－2 ) を淡黄色油状化合物として得た ( 3 5 . 0 g 、 8 1 % ) 。 <sup>1</sup>H NMR ( 4 0 0 M H z , クロロホルム-d ) δ 7.46-7.44 ( m , 2 H ) , 7.39 ( t , J = 7.6 H z , 2 H ) , 7.34-7.31 ( m , 1 H ) , 7.21 ( t , J = 7.6 H z ) , 6.86-6.80 ( m , 3 H ) , 5.07 ( s , 2 H ) , 2.64 ( q , J = 7.6 H z , 2 H ) , 1.24 ( t , J = 7.6 H z , 3 H ) .

(b) 4－（ベンジルオキシ）－1－ブromo－2－エチルベンゼン（I－3）

【0111】

A C N ( 5 2 5 m L 、 1 5 体積 ) 中の 1－（ベンジルオキシ）－3－エチルベンゼン ( I－2 ) ( 3 5 . 0 g 、 1 6 4 m m o l ) の氷冷攪拌溶液に、N－ブromosuccinimide ( 3 2 . 0 g 1 8 1 m m o l ) を15分間にわたって小分けにして添加した。得られた反応混合物を室温で次の1時間攪拌した。反応が完了した後 ( T L C モニタリング ) 、得られた反応塊を氷冷水 ( 1 . 5 0 L ) に注ぎ入れ、続いて E t O A c ( 2 × 1 L ) で化合物を抽出した。合わせた有機物を水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させて粗生成物を得た。n－ヘキサン ( 2 5 0 m L ) を粗製材料に添加してスラリーを得た後、焼結漏斗を通して濾過した。減圧下で母液を蒸発させて、所望の生成物 I－3 を淡黄色油状化合物として得た ( 4 2 . 0 g 、 8 7 % ) 。 <sup>1</sup>H NMR ( 4 0 0 M H z , クロロホルム-d ) δ 7.52-7.29 ( m , 7 H ) , 6.88 ( s , 1 H ) , 6.68 ( d , J = 6.0 H z , 1 H ) , 5.04 ( s , 2 H ) , 2.69 ( q , J = 7.6 H z , 2 H ) , 1.20 ( t , J = 7.5 H z , 3 H ) .

(c) 2－（4－（ベンジルオキシ）－2－エチルフェニル）－4，4，5，5－テトラ

## メチル-1, 3, 2-ジオキサボロラン (I-4)

## 【0112】

N2 (g) を15分間パージすることによって、ジオキサン (440 mL) 中の、4-(ベンジルオキシ)-1-ブromo-2-エチルベンゼン (I-3) (42.0 g、144 mmol)、ビス(ピナコラト)ジボロン (44.0 g、173 mmol) および酢酸カリウム (28 g、288 mmol) の攪拌溶液を脱気した後、PdCl<sub>2</sub>(dppf) DCM錯体 (11.0 g、15 mmol) を添加した。得られた反応混合物を80℃まで次の16時間加熱した。反応が完了した後 (TLCモニタリング)、セライト床を通して反応塊を濾過し、減圧下で母液を蒸発させて粗生成物を得た。溶離剤ヘキサン中1% EtOAcを使用することによるシリカゲル (100~200 M) のカラムクロマトグラフィーによって粗残渣を精製して、所望の生成物 (I-4) を淡黄色油状化合物として得た (32.0 g、66%)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) δ 7.74 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 7.45-7.36 (m, 5 H), 6.84-6.78 (m, 2 H), 5.08 (s, 2 H), 2.91 (q, J = 7.6 Hz), 1.33 (s, 12 H), 1.19 (t, J = 7.6 Hz, 3 H).

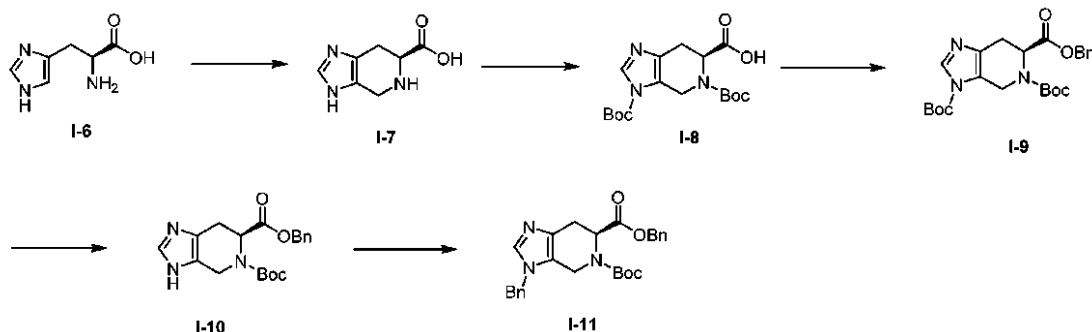
(d) (4-(ベンジルオキシ)-2-エチルフェニル) トリフルオロ-λ<sup>4</sup>-ボラン、カリウム塩 (I-5)

## 【0113】

アセトン:メタノール (200 mL、1:1の比、10体積) 中の化合物2-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチルフェニル)-4, 4, 5, 5-テトラメチル-1, 3, 2-ジオキサボロラン (I-4) (20 g、59.0 mmol) の攪拌溶液に、フッ化水素カリウム (23.0 g、295 mmol、98.0 mLの水に溶解) の3 M溶液を加えた。得られた反応混合物を室温で16時間攪拌した。反応が完了した後 (TLCモニタリング)、得られた反応塊を減圧下で蒸発させた。このようにして得られた固体を水 (100 mL) の中に取り込み、室温で30分間攪拌した。得られた反応塊を、焼結漏斗を通して濾過し、n-ヘキサンで洗浄し、減圧下で乾燥させて、所望の生成物 (I-5) を白色固体として得た (14.0 g、74%)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) δ 7.43 (d, J = 7.2 Hz, 2 H), 7.37 (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 7.30 (t, J = 7.1 Hz, 1 H), 7.22 (d, J = 8.0 Hz), 6.58 (s, 1 H), 6.53 (d, J = 7.9 Hz, 1 H), 5.00 (s, 2 H), 2.65 (q, J = 7.5 Hz, 2 H), 1.07 (t, J = 7.4 Hz, 3 H).

調製2: 6-ベンジル5-(tert-ブチル) (S)-3-ベンジル-3, 4, 6, 7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ [4, 5-c] ピリジン-5, 6-ジカルボキシレート (I-11)

## 【化6】



(a) (S)-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ [4, 5-c] ピリジン-6-カルボン酸、塩酸塩 (I-7)

## 【0114】

水 (40 L、8体積) 中のL-ヒスチジン (I-6) (5.0 kg、32.14 mol) の氷冷攪拌懸濁液に濃塩酸 (3.93 L、33.75 mol) を添加した後、ホルムアルデヒド (5.50 L、67.5 mol、37%水溶液) を滴下して加えた。得られた溶液を同じ温度で30分間攪拌し、次いで、80℃で8時間加熱した。LCMSによって反

応の進行をモニターした。減圧下で水を除去して粗生成物を得、得られた粗生成物をトルエン（20 L）中で2時間攪拌した。減圧下で有機物を取り出して過剰の水を除去し、化合物を共沸乾燥させた。次いで、得られた材料をジエチルエーテル（20 L）に入れ、2時間攪拌した。次いで、固体材料を濾過し、風乾すると、所望の生成物（I-7）が灰白色の固体として得られた（6.50 Kg、85%）。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 8.69 (s, 1H), 4.56 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 4.42 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 4.20 (dd, J = 5.5, 5.2 Hz, 1H), 3.42 (dd, J = 5.0, 17.0 Hz, 1H), 3.11 (dd, J = 10.2, 16.8 Hz, 1H).

(b) (S)-3, 5-ビス(tert-ブトキシカルボニル)-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-カルボン酸(I-8)

【0115】

1, 4-ジオキサン（48 L、8体積）および水（48 L、8体積）中の(S)-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-カルボン酸二塩酸塩(I-7)（6.10 Kg、25.40 mol）の氷冷攪拌溶液に、トリエチルアミン（12.36 L、89 mol）を滴下して加えた後、二炭酸ジ-tert-ブチル（18.07 L、78.74 mol、5 Lの1, 4-ジオキサンに溶解）を30分間にわたって添加した。得られた反応混合物を室温で次の16時間攪拌した。反応の完了後（TLCおよびLCMSモニタリング）、黄色っぽい反応混合物を水（10 L）で希釈し、ジエチルエーテル（2×10 L）およびEtOAc（2×7.50 L）で連続して洗浄した。有機相を廃棄した。水層を冷却し、6N HCl溶液でpH約3にして、EtOAc（3×10 L）で水相を抽出した。合わせた有機物をブライン溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。30% EtOAc：ヘキサンから油性残渣を結晶化させて、所望の生成物（I-8）を灰白色の固体として得た（5.1 Kg、55%）。(m/z)：[M+H]<sup>+</sup>+C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>の計算値368.18、実測値368.21。

(c) 6-ベンジル3, 5-ジ-tert-ブチル(S)-6, 7-ジヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-3, 5, 6(4H)-トリカルボキシラート(I-9)

【0116】

DCM（51 L、10体積）中の(S)-3, 5-ビス(tert-ブトキシカルボニル)-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-カルボン酸(I-8)（5.1 Kg、13.88 mol）の氷冷溶液に、飽和重炭酸ナトリウム水溶液（41.0 L、8体積）、ヨウ化テトラブチルアンモニウム（5.13 Kg、13.88 mol）および臭化ベンジル（2.47 L、20.82 mol）を逐次添加した。得られた反応混合物を室温で次の16時間攪拌した。反応の完了後（TLCおよびLCMSモニタリング）、二相の溶液を分離した。水層をDCM（3×10 L）で抽出した。合わせた有機物をブライン溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して粗生成物を得て、溶離剤ヘキサン中40% EtOAcを使用することによるシリカゲル（100～200 M）を通したカラムクロマトグラフィーによって精製すると、所望の生成物（I-9）が粘性の油（4.50 Kg、72%）として得られた。(m/z)：[M+H]<sup>+</sup>+C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>の計算値458.22 実測値458.60。

(d) 6-ベンジル5-(tert-ブチル)(S)-3, 4, 6, 7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-5, 6-ジカルボキシラート(I-10)

【0117】

IPA（45 L、10体積）中の6-ベンジル3, 5-ジ-tert-ブチル(S)-6, 7-ジヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-3, 5, 6(4H)-トリカルボキシラート(I-9)（4.50 Kg、9.84 mol）の氷冷溶液に、水酸化アンモニウム（36 L、8体積）を滴下して加えた。得られた反応混合物を室温で次の16時間さらに攪拌した。反応の完了後（TLCおよびLCMSモニタリング）、得られた混合物を水（25 L）で希釈した後、EtOAc（3×20 L）で抽出した。合わせた有機物をブライン溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して粗生成物を得て、溶離剤DCM中2% MeOHを使用することによるシリカゲル（100～200 M）を通したカラムクロマトグラフィーによって精製すると、粘度が高い粘性の油と

10

20

30

40

50

して所望の生成物 (I-10) が得られた (2.70 Kg、77%)。 (m/z) : [M + H] + C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> の計算値 358.17 実測値 358.33。

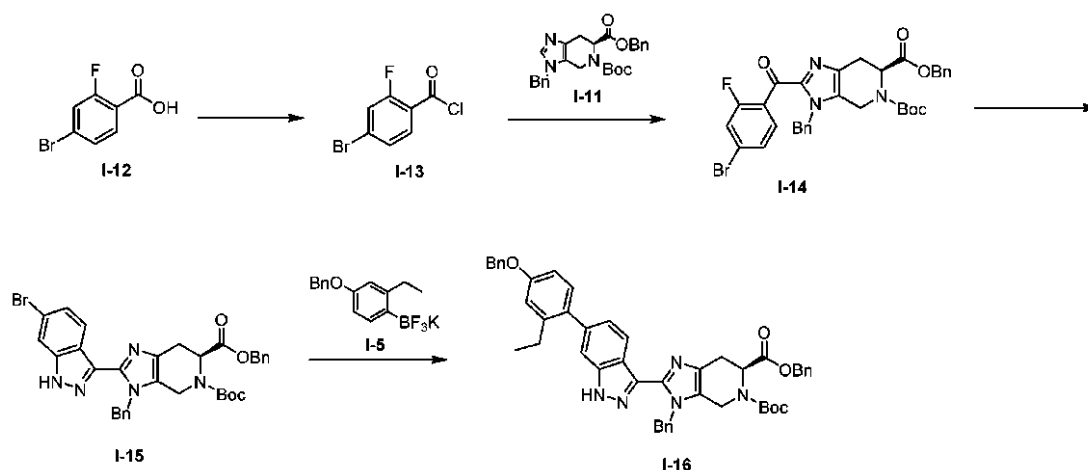
(e) 6-ベンジル 5-(tert-ブチル) (S)-3-ベンジル-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ [4,5-c] ピリジン-5,6-ジカルボキシラート (I-11)

[0118]

DCM (32.4 L、12 体積) 中の 6-ベンジル 5-(tert-ブチル) (S)-3-ベンジル-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ [4,5-c] ピリジン-5,6-ジカルボキシラート (I-10) (2.70 kg、7.55 mol) の氷冷溶液に、1N 水酸化ナトリウム水溶液 (24.3 L、9 体積) を添加した後、ヨウ化テトラブチルアンモニウム (2.80 Kg、7.55 mol) および臭化ベンジル (0.99 L、8.31 mol) を順次添加した。得られた反応混合物を室温で次の 2 時間攪拌した。反応の完了後 (TLC および LCMS モニタリング)、二相の溶液を分離した。水層を DCM (3 × 10 L) で抽出した。合わせた有機物をブライン溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して粗生成物を得て、溶離剤ヘキサン中 40% EtOAc を使用することによるシリカゲル (100 ~ 200 M) でのカラムクロマトグラフィーによって精製すると、所望の生成物 (I-11) が粘性の油として得られた (1.70 Kg、63%)。 (m/z) : [M + H] + C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> の計算値 448.22 実測値 448.20。

調製 3 : 6-ベンジル 5-(tert-ブチル) (S)-3-ベンジル-2-(6-(4-(ベンジロキシ)-2-エチルフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ [4,5-c] ピリジン-5,6-ジカルボキシラート (I-16)

【化 7】



(a) 4-ブロモ-2-フルオロベンゾイルクロリド (I-13)

[0119]

DCM (12.5 L、15 体積) 中の 4-ブロモ-2-フルオロ安息香酸 (I-12) (1.25 Kg、5.71 mol) の氷冷攪拌溶液に、塩化オキサリル (0.98 L、11.42 mol) を滴下して加えた。得られた反応混合物を同じ温度で 10 分間攪拌した。次いで、DMF (150 mL) を反応混合物に滴下して加えた。得られた反応塊を室温まで温め、2 時間攪拌した。反応の完了後 (TLC モニタリングによる)、過剰の塩化オキサリルを窒素雰囲気下、減圧下で除去して粗生成物 (I-13) を得て (1.08 Kg、80%)、さらに精製することなく次の工程において使用した。

(b) 6-ベンジル 5-(tert-ブチル) (S)-3-ベンジル-2-(4-ブロモ-2-フルオロベンゾイル)-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ [4,5-c] ピリジン-5,6-ジカルボキシラート (I-14)

[0120]

ACN (13.6 L、8 体積) 中の 6-ベンジル 5-(tert-ブチル) (S)-3-ベンジル-3, 4, 6, 7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ [4, 5-c] ピリジン-5, 6-ジカルボキシラート (I-11) (1.70 Kg、3.80 mol) の攪拌溶液に、トリエチルアミン (2.11 L、15.2 mol) を添加した後、室温で 4-ブロモ-2-フルオロベンゾイルクロリド (I-13) (1.08 Kg、3.4 L の ACN 中 4.56 mol、2 体積) を添加した。添加完了後、得られた反応混合物の色は淡黄色から褐色に変化した。得られた反応混合物を同じ温度で 30 分間攪拌し、反応の進行を TLC によってモニターした。得られた反応混合物を氷冷水 (10 L) でクエンチした後、EtOAc (3×5 L) で抽出し、合わせた有機物をブライン溶液で洗浄した。有機物を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して粗生成物を得て、溶離剤ヘキサン中 20% EtOAc を使用することによるシリカゲル (100~200 M) でのカラムクロマトグラフィーによって精製すると、所望の生成物 (I-14) が得られた (1.74 Kg、71%)。 (m/z) : [M+H] + C<sub>33</sub>H<sub>31</sub>BrFN<sub>3</sub>O<sub>5</sub> の計算値 648.14 実測値 648.20。

10

(c) 6-ベンジル 5-(tert-ブチル) (S)-3-ベンジル-2-(6-ブロモ-1H-インダゾール-3-イル)-3, 4, 6, 7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ [4, 5-c] ピリジン-5, 6-ジカルボキシラート (I-15)  
[0121]

THF (26.0 L、15 体積) 中の 6-ベンジル 5-(tert-ブチル) (S)-3-ベンジル-2-(4-ブロモ-2-フルオロベンゾイル)-3, 4, 6, 7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ [4, 5-c] ピリジン-5, 6-ジカルボキシラート (I-14) (1.74 Kg、2.68 mol) の攪拌溶液に、室温でヒドラジン水和物 (0.705 L、13.4 mol) を添加した。得られた反応混合物を 60℃ で 3 時間加熱した。反応が完了した後 (TLC モニタリング)、得られた反応塊を氷冷水 (10 L) に注ぎ入れ、続いて EtOAc (3×10 L) で化合物を抽出した。合わせた有機物をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させて粗生成物を得て、溶離剤ヘキサン中 20% EtOAc を使用することによるシリカゲル (100~200 M) でのカラムクロマトグラフィーによって精製すると、所望の生成物 (I-15) が灰白色の固体として得られた (1.12 Kg、65%)。 (m/z) : [M+H] + C<sub>33</sub>H<sub>32</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>4</sub> の計算値 642.16 実測値 642.21。

20

(d) 6-ベンジル 5-(tert-ブチル) (S)-3-ベンジル-2-(6-(4-(ベンジロキシ)-2-エチルフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-3, 4, 6, 7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ [4, 5-c] ピリジン-5, 6-ジカルボキシラート (I-16)  
[0122]

30

ビス (ピナコラト) ジボロン (250 g、984 mmol) を、フッ化物化学を使用し、予めエッチングした 5 L の三口単層フラスコ中にプロパン-2-オール (1882 mL、2.46 E+04 mmol) とともに投入し、完全に溶解するまで混合物を攪拌した。溶解は吸熱性であった (-4℃)。フッ化物化学を用いて予めエッチングした 4 L の三角フラスコ中で、フッ化カリウムヒドロフルオリド (538 g、6891 mmol) を水 (2.306 L、1.28 E+05 mmol) に溶解して 3 M 溶液を形成した。溶解は吸熱性であった (-12℃)。次いで、溶液を濾過してフッ化カリウムヒドロフルオリドから少量の不溶性物質を除去した。両方の溶液が完全に溶解したら、三角フラスコの内容物を分割して単層フラスコ中に 15 分間にわたって投入した。中程度の発熱が観察された (+10℃)。溶液は、添加中に濃厚で半透明の部分的に不透明な灰色スラリーになり、攪拌を増加させて内容物を十分に混合し続けた。混合物を 1.5 時間攪拌し、次いで、粗いガラスフリット漏斗 (4 L、予めエッチング) を通して濾過した。濾過が完了するのに 30~45 分を要した。透明な二相性濾液を廃棄した。白色固体をフィルタ上で 10 分間乾燥させた (ケーキのひび割れが観察された)。きれいにした 5 L の三口単層フラスコに固体を戻し、水 (1.33 L、7.38 E+04 mmol) で再びスラリー化した。スラリー

40

50

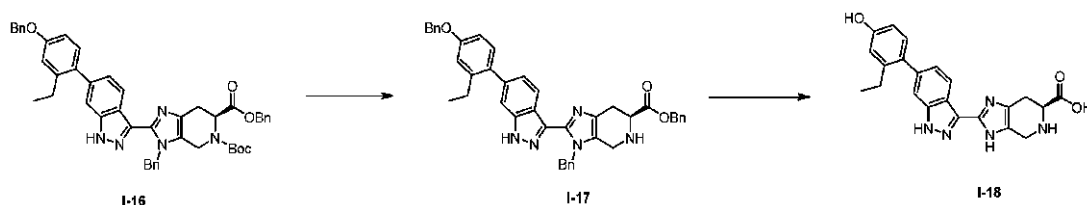
を2時間攪拌し、その後、透明で均質なヒドロゲルを形成した。溶液をさらに1時間攪拌し、その後、4 Lの粗いガラス漏斗（予めエッチングした）を用いて固体／ゲルを濾別した。フィルタ上で固体を30分間乾燥させた。きれいにした5 Lの三口単層フラスコに固体を戻し、アセトン（1.084 L、1.48 E + 0.4 mmol）中で再スラリー化した。白色／灰色スラリーを1時間攪拌し、次いで、4 Lの粗いガラス漏斗（予めエッチングした）で濾過した。濾過の完了には20分を要し、次いで漏斗上でさらに1時間乾燥させた。この間、均一な乾燥を確保するために固体を時々攪拌した。乾燥後、フィルタ上に薄白色粉末が残った。ゆっくりとした窒素ブリードを用いて真空下、55℃で20時間固体を乾燥させて、ふわふわした白色の固体を得た（200.3 gを収集した）。

#### 【0123】

2-メチルテトラヒドロフラン（100 mL、10体積）中の6-ベンジル5-(tert-ブチル)(S)-3-ベンジル-2-(6-ブromo-1H-インダゾール-3-イル)-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-5,6-ジカルボキシラート(I-15)（10.0 g、16.0 mmol）の攪拌溶液に、(4-(ベンジルオキシ)-2-エチルフェニル)トリフルオロ-λ<sup>4</sup>-ボラン、カリウム塩(I-5)（8.0 g、20 mmol）および上で得られたふわふわした白色固体（0.20 g）を添加した。得られた反応混合物を窒素ガスで30分間脱気した。この溶液に、炭酸セシウムの調製した水溶液（20.0 g、60 mLの水、62.0 mmol、6体積）を加えた。得られた反応混合物をさらに15分間脱気した後、ビス(ジ-tert-ブチル(4-ジメチルアミノフェニル)ホスフィン)ジクロロパラジウム(II)（0.66 g、0.93 mmol）を添加し、反応混合物を真空下で排除し、窒素でフラッシュした。得られた反応混合物を110℃で20時間加熱した。反応が完了した後（TLCおよびLCMSモニタリング）、得られた反応混合物を室温に冷却し、セライト床を通して濾過し、次いで、EtOAc（3×0.5 L）でさらに洗浄した。合わせた有機物を1 N水酸化ナトリウム溶液（3×0.5 L）で洗浄した。次いで、合わせた有機物をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させて粗生成物を得て、溶離剤ヘキサン中20% EtOAcを使用することによるシリカゲル（100~200 M）でのカラムクロマトグラフィーによってこれを精製して、所望の生成物(I-16)（N-ベンジル位置異性体の混合物として）を淡黄色固体として得た（8.0 g、66%）。  
(m/z) : [M+H]<sup>+</sup> + C<sub>48</sub>H<sub>47</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>の計算値774.36、実測値774.59。

調製4 : (S)-2-(6-(2-エチル-4-ヒドロキシフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボン酸、塩酸塩(I-18)

#### 【化8】



(a) ベンジル(S)-3-ベンジル-2-(6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチルフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボキシラート、塩酸塩(I-17)

#### 【0124】

6-ベンジル5-(tert-ブチル)(S)-3-ベンジル-2-(6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチルフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-5,6-ジカルボキシラート(I-16)（1.0 g、1.292 mmol）をジオキサン（8 mL）および水（1.5 mL）に溶解し、次いで、ジオキサン中4 Mの塩化水素溶液（7 mL、28.0 m

mol) を添加し、反応混合物を室温で3時間攪拌した(反応の進行をLCMSによってモニターした)。次いで、反応混合物を凍結し、凍結乾燥し、粗生成物(I-17)を次の反応で直接使用した(定量的収率を仮定した)。(m/z): [M+H]<sup>+</sup> + C<sub>43</sub>H<sub>39</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> の計算値 674.31、実測値 674.3。

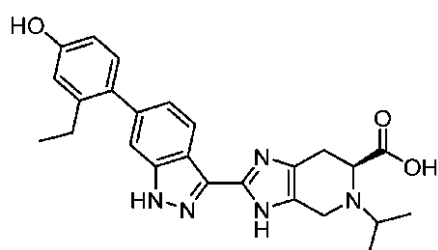
(b) (S)-2-(6-(2-エチル-4-ヒドロキシフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボン酸、塩酸塩(I-18)

[0125]

ベンジル(S)-3-ベンジル-2-(6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチルフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボキシラート、塩酸塩(I-17) (0.918 g、1.292 mmol) を2-プロパノール(15 mL)、水中5 M塩化水素溶液(0.258 mL、1.292 mmol) および水(0.25 mL) に50℃で溶解し、次いで、10重量%炭素担持パラジウム、50%水(0.138 g、0.065 mmol) を添加した。次いで、反応フラスコを窒素でパージし、水素バルーンを取り付け、反応混合物を50℃で4日間攪拌し、必要に応じて水素バルーンを補充した(反応の進行をLCMSによってモニター)。次いで、すべての固体を濾過によって除去し、得られた溶液を濃縮した。残渣を1:1 ACN/水に溶解し、凍結し、凍結乾燥させた。得られた粉末(I-18) をさらに精製することなく使用した(定量的収率を仮定した)。(m/z): [M+H]<sup>+</sup> + C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> の計算値 404.17、実測値 404.2。

調製5: (S)-2-(6-(2-エチル-4-ヒドロキシフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-5-イソプロピル-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボン酸(I-19)

[化9]



I-19

[0126]

(S)-2-(6-(2-エチル-4-ヒドロキシフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボン酸, HCl (I-18) (0.25 g、0.568 mmol) をDMF (2.5 mL) およびアセトン (2.5 mL) に懸濁し、次いで、酢酸 (0.098 mL、1.705 mmol) およびシアノ水素化ホウ素ナトリウム (0.179 g、2.84 mmol) を添加し、反応混合物を室温で24時間攪拌した(反応の進行をLCMSによってモニターした)。反応混合物を濃縮し、次いで、粗生成物を逆相クロマトグラフィー(5~70% ACN/水グラジエント、50 g C18aqカラム)によって精製して、表題化合物のTFA塩を得た(149 mg、収率47%)。(m/z): [M+H]<sup>+</sup> + C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> の計算値 446.21、実測値 446.3。

[実施例1] (S)-(3-(ジメチルアミノ)アゼチジン-1-イル)(2-(6-(2-エチル-4-ヒドロキシフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-5-イソプロピル-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-イル)メタノン

10

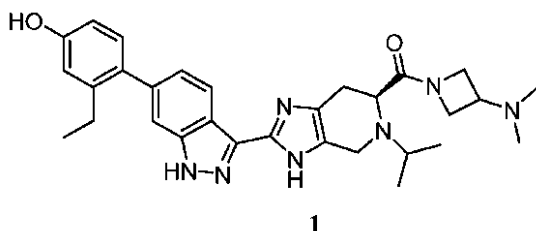
20

30

40

50

## 【化10】

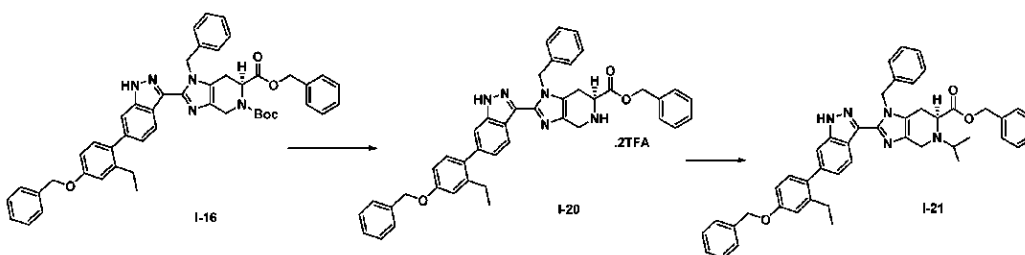


## 【0127】

(S)-2-(6-(2-エチル-4-ヒドロキシフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-5-イソプロピル-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボン酸, TFA (I-19) (50 mg、0.089 mmol)、3-(ジメチルアミノ)アゼチジン二塩酸塩 (23.20 mg、0.134 mmol) および DIPEA (0.078 mL、0.447 mmol) を DMF (1.5 mL) に溶解し、次いで、HATU (51.0 mg、0.134 mmol) を添加し、反応混合物を室温で3時間攪拌した (反応の進行を LCMS によってモニターした)。ヒドラジン (0.014 mL、0.447 mmol) を加えて所望でない副生成物を切断し、溶液を室温で10分間攪拌した。次いで、反応混合物を濃縮し、粗生成物を分取 HPLC (5~70% ACN/水グラジエント、C18 カラム) によって精製して、表題化合物の TFA 塩を得た (25 mg、収率 37%)。 (m/z): [M+H]<sup>+</sup> + C<sub>30</sub>H<sub>37</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub> の計算値 528.30、実測値 528.3。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13.09 (s, 1H), 9.40 (s, 1H), 8.27 (d, J = 8.31, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.04 (m, 2H), 6.71 (d, J = 2.54, 1H), 6.64 (dd, J = 2.53, 8.26, 1H), 4.26 (m, 1H), 4.06 (m, 2H), 3.82 (m, 2H), 3.64 (m, 2H), 3.03 (m, 2H), 2.74 (m, 2H), 2.47 (q, J = 7.56, 2H), 2.07 (d, J = 3.69, 6H), 1.07 (m, 6H), 1.00 (t, J = 7.50, 3H)。

調製6: ベンジル (S)-1-ベンジル-2-(6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチルフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-5-イソプロピル-4,5,6,7-テトラヒドロ-1H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボキシレート (I-21)

## 【化11】



## 工程 1

## 【0128】

乾燥した三口丸底フラスコ中に、I-16 (550 g、0.71 mol) を添加した。化合物を室温 (24~25 °C) で DCM (4125 mL) に溶解して、透明な淡黄色溶液を得た。溶液を次の30分間にわたって0 °C (氷塩混合物) に冷却した (外温は-5 °Cであった)。次いで、滴下漏斗を介して TFA (1375 mL) を45分間にわたってゆっくり添加した。反応物を同じ温度 (0 °C) で10分間攪拌した。反応塊を30 °Cまで加温し、同じ温度で1.5時間攪拌した。TLC および LCMS によって反応の進行をモニターした。反応の完了後、反応混合物を40 °Cで減圧下で蒸発させて、粗製材料を淡褐色の濃厚な粘性の塊として得た。2.5 Lのヘプタンを毎回添加し、蒸発乾固させることによってヘプタンストリッピングを2回行った。次いで、化合物を高真空下で乾燥させた。所望の生成物 I-20 を濃厚な粘性の液体 (641 g、収率 100%、LCMS = 純度 94

・ 35%) として得た。

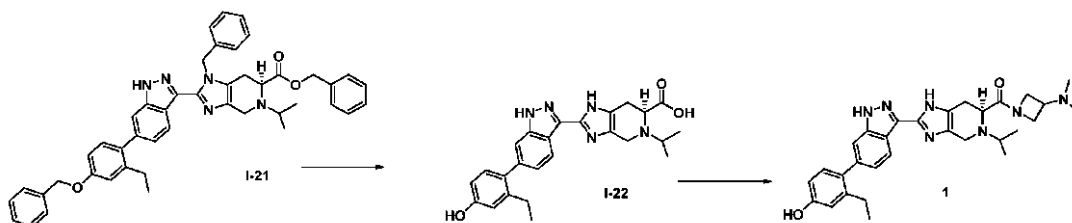
## 工程 2

### 【0129】

乾燥した三口丸底フラスコ中に、分子篩 4 Å (641 g、w/w) を投入した後、室温 (25℃) で、不活性雰囲気下で 8 体積のアセトン (5.13 L) を一度に添加した。白色懸濁液が観察された。工程 1 で得られた材料 (641 g、0.71 mol、7.690 L (12 体積) のアセトンに溶解) を、フラスコ内にゴム状の塊が形成されるのを避けるために、10 分間にわたってゆっくりとフラスコ中に添加した。反応塊について淡黄色が観察された。25℃で CH<sub>3</sub>COOH (15.4 mL、0.266 mol) を滴下して加えし、得られた反応塊を同じ温度で 30 分間攪拌した。暗黄色の懸濁液が観察された。トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム (297 g、1.4 mol) を 25℃で 30 分間にわたって少しずつ添加した。温度は 25℃から 31℃に上昇し、反応塊の色も暗黄色から淡黄色に変化した。得られた反応混合物を 30℃でさらに 30 分間攪拌した。LCMS および TLC によって反応の進行をモニターした。反応の完了後、反応混合物を 10℃に冷却し、さらに 20 分間攪拌した。次いで、セライト床に通して反応塊を濾過して、分子篩およびトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウムを除去した。濾過のために使用したセライト床を 2-Me-THF 10 体積 (6.41 L) で洗浄し、2-Me-THF を別々に採取した。上で得られたアセトン母液を減圧下で乾固するまで蒸発させて、濃厚な粘性の液体を得た。セライト床洗浄のために用いた 2-Me-THF (6.41 L) 中に、得られた粘性の液体を溶解させた。有機層 (2-Me-THF) に対して、10% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (約 5.5 L) を添加して pH を約 7.02 にした。この時点で、わずかな気体の発生が観察され、これは 5 分で終了した。二相層と有機層を分離した。水 (2.0 L を二回) で有機層をさらに洗浄した。有機層を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、45℃で、減圧下で蒸発させると、HPLC によれば 95.73% 純粋なベンジル (S) -1-ベンジル-2-(6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチルフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-5-イソプロピル-4,5,6,7-テトラヒドロ-1H-イミダゾ [4,5-c] ピリジン-6-カルボキシラート (I-21) が淡黄色がかった泡状固体 (500 g) として得られた。同じ規模の 11 バッチを実施し、得られた材料を合わせた。ヘプタン (5 体積) 中の化合物のスラリーを調製し、室温で 2 時間攪拌した。化合物を濾過し、ヘプタン (2 体積) で洗浄した。外部からの温度を一切加えずに真空トレイ乾燥機中で湿ったケーキを 24 時間乾燥させて、5.40 kg の化合物 I-21 を得た。

調製 7: (S) - (3-(ジメチルアミノ) アゼチジン-1-イル) (2-(6-(2-エチル-4-ヒドロキシフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-5-イソプロピル-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ [4,5-c] ピリジン-6-イル) メタノン (1)

### 【化 12】



## 工程 1:

### 【0130】

25℃で攪拌しながら、ベンジル (S) -1-ベンジル-2-(6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチルフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-5-イソプロピル-4,5,6,7-テトラヒドロ-1H-イミダゾ [4,5-c] ピリジン-6-カルボキシラート (1,350 g、1.886 mmol) およびテトラヒドロフラン (2025 mL) を三口丸底フラスコに投入して、均一な透明な黄色/橙色溶液を得た。この溶液に、

撈拌しながらプロパン-2-オール (11, 475 mL) および 6 M 塩化水素 (水溶液) (1257 mL) を添加して、25℃で均一な溶液を得た。窒素気泡を使用して、自由に撈拌している黄色スラリーを30分間脱気した。10重量%のPd/C、50重量%のH<sub>2</sub>O (202.5 g、95 mmol) を反応器に添加した。窒素ガスを遮断し、直ちに、H<sub>2</sub>バブリングで反応溶液をパージし、65℃の内部温度に加温した。HPLCは、反応が210分後に完了したことを示した。10グラムのセライトパッドを通して反応混合物を濾過して、大量の触媒を除去した。透明な黄色の溶液を回収した。濾液に10% (w/w) SiliaMetS Thiol (101.25 g、953 mmol) (白色固体) を投入し、混合物を50℃で1時間にわたって撈拌してPdの残りを捕捉した。1時間後、0.2ミクロンフィルタを通してSiliaMetS Thiolを濾別し、淡黄色の均一な溶液を得た。次いで、濾液を3× (体積) まで濃縮し、50℃に保持した。50℃の濃縮された溶液に、3当量の12 M HCl (471 mL、5657 mmol) ) を加えた。50℃で5分間撈拌した後、2.025グラムのシードを添加し、50℃で1時間保持した。スラリーは著しく増粘した。120分間にわたって、15× (体積) のアセトニトリル (20250 mL) をゆっくり添加した。次いで、バッチを50℃で2時間保持し、次いで、3時間にわたって20℃に冷却し、撈拌しながら一晩保持した。次いで、スラリーを濾過し、ケーキをACNで5回すすぎ、高真空下、50℃で一晩乾燥させた。

【0131】

取り出すと、ケーキは、(S)-2-(6-(2-エチル-4-ヒドロキシフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-5-イソプロピル-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ [4, 5-c] ピリジン-6-カルボン酸, 2 HCl (850 g、1640 mmol、収率87%) として淡橙色固体を与えた。

【0132】

1.115 kgの化合物I-21に対して同様のスキームを実行して、さらに700 gの化合物I-22を得た。得られた2つのロットを合わせた。

工程2:

【0133】

20 Lのジャケット付き反応器に、N, N-ジメチルアゼチジン-3-アミン、2 HCl (432 g、2497 mmol) およびN, N-ジメチルアセトアミド (3750 mL、4.00E+04 mmol) を20℃で投入した。DIPEA (2699 mL、1.55E+04 mmol) を20℃で約5分間にわたって添加した。この混合物を20℃で15分間撈拌して濁った溶液を得て、200 rpmで撈拌しながらこれを10~15℃に冷却した。温度を20℃未満に維持しながら、(S)-2-(6-(2-エチル-4-ヒドロキシフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-5-イソプロピル-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ [4, 5-c] ピリジン-6-カルボン酸, 2.2 HCl (1250 g、2378 mmol) をバッチに添加した。添加中に発熱反応が観察された (約7℃の発熱が観察された)。スラリーが得られ、これを15~25℃で約15分間撈拌した。15分後、薄いスラリーがなお観察された。17℃の内部温度で、350 rpm、20±5℃で混合しながら、HATU (994 g、2615 mmol) を約5分間にわたって添加した。添加中に温度が22℃に上昇した。HATUを添加した後、薄いスラリーが得られた。バッチを20~25℃に保ち、反応が完了に達するまで、すなわち2時間まで215 rpmで撈拌しながら撈拌した。完了した反応物に、バッチ温度を30℃未満に維持しながら、1体積の水 (1.25 L) で希釈された1 M HCl水溶液 (4993 mL、4993 mmol) の予め混合され、冷却された (5℃) 溶液を投入した。

【0134】

バッチに5体積の酢酸イソプロピル (6, 250 mL) を投入し、混合物を約15分間撈拌した。撈拌を停止した。水性の酸層を分離し、反応器に移した。有機層を廃棄した。水層のpHは4~5.0であると決定された。5体積の酢酸イソプロピル (6, 250 mL) をバッチに添加し、撈拌を20℃で約15分間行った。混合物を20℃で沈降させた。水性の酸層を分離し、反応器に移した。有機層を廃棄した。バッチに5体積の酢酸イソ

10

20

30

40

50

プロピル (6, 250 mL) を添加し、これを 20℃ で約 15 分間攪拌し、次いで、20℃ で沈降させた。水性の酸層を分離し、反応器に移した。有機層を廃棄した。水性の酸層を 20℃ で一晩保存した。30 体積の水 (37.5 kg) を反応器に投入した。重炭酸ナトリウム (1238 g、1.47E+04 mmol) を添加し、完全な溶解が達成されるまで混合物を攪拌した。攪拌を停止し、溶液を 20℃ で一晩保持した。攪拌しながら、10 体積の 2-メチルテトラヒドロフラン (12, 500 mL) を水溶液に添加した。発熱事象が観察された。内部温度を 20±5℃ に調整した。約 10 分間にわたって、水性の酸性層を反応器に添加した。1℃ の穏やかな発熱が観察された。混合物を 20℃ で約 15 分間攪拌し、次いで、20℃ で沈降させた。底の水層を除去し、反応器に添加した。有機層を除去し、5 体積の 2-メチルテトラヒドロフラン (6, 250 mL) を投入し、20℃ で約 15 分間混合することによって抽出した。50℃ の浴温でロータリーエバポレータを用いて、合わせた有機層を 3 体積 (3.75 L) に濃縮した。10 体積の 2-メチルテトラヒドロフラン (12, 500 mL) を添加し、50℃ の浴温でロータリーエバポレータを用いて混合物を 3 体積 (3.75 L) に濃縮した。アセトニトリル (2.00E+04 mL) を 25 L のジャケット付き反応器に添加し、215 rpm で混合しながらその内部温度を 0~5℃ に調整した。0~5℃ で約 1 時間にわたって、濃縮されたバッチ (約 3.75 L) を冷却されたアセトニトリル中に添加した。215 rpm で混合しながら、0℃ で一晩混合物を熟成させた。これを濾過し、4 体積の予め冷却されたアセトニトリル (5, 000 mL) で、0℃ でケーキを洗浄した。フィルタ上、N<sub>2</sub> ガス圧下でケーキを 2 時間にわたって乾燥させた。湿ったケーキを高真空下 (わずかに N<sub>2</sub> をパージしながら) 50℃ で一晩さらに乾燥させると、(S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノン (1150 g、2179 mmol、収率 92%) が非晶質固体として得られた。同じ方法に従って材料の第 2 のバッチを調製して、1036 g の (S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノンを非晶質固体として得て (PXRD によって確認)、二つのバッチを合わせた。

#### [実施例 2]

(S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノンの結晶性水和物 (形態 I)

#### [0135]

(S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノン (95 g、180 mmol) を 30℃ で 1 M HCl (水溶液) (950 mL) および酢酸イソプロピル (950 mL) 中に取り込ませた。バッチを 30℃ で 30 分間にわたって保持し、次いで、層を分離した。これを 3 回繰り返し、底の水層を常に保持して、酢酸イソプロピル層を廃棄した。水層の 4 回目の酢酸イソプロピル抽出後、2-メチルテトラヒドロフラン (950 mL、9419 mmol) を添加した後、十分な 10% 重炭酸ナトリウムを添加して pH = 7.5 にした。混合物を 30 分間にわたって攪拌し、層を分離した。2-メチルテトラヒドロフラン (250 mL) で水層を抽出した。2-メチルテトラヒドロフラン層を合わせた。2-メチルテトラヒドロフランからアセトニトリルへの溶媒交換を行って、生成物を溶液から沈殿させた。濾過および乾燥後、ケーキは、89 g の粗製の (S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イ

ル) メタノンを与えた。この固体 (89 g) を 445 mL のメタノール中に取り込んだ。完全に溶解するまで攪拌した後、0.2 μm フィルタを通してバッチを濾過した。次いで、濾液を 55℃ の内部温度まで加熱し、60 分間にわたって攪拌しながらこの温度に保持した。いくらかの沈殿物が形成し始めて、わずかに濁った溶液が得られた。次いで、0.2℃/分 で線形的に温度を 15℃ の最終内部温度まで冷却し、次いで、8 時間にわたって 15℃ に保持した。この時点で、バッチは著しく濃厚になり、高真空を用いて窒素ブランケット下でスラリーを濾過した。湿潤したケーキを取り出し、温度を 65℃ に設定した真空オーブン中で、高真空 (28 mmHg) 下で 18 時間にわたって乾燥させた。次いで、乾燥したケーキを取り出し、周囲の湿度および温度に平衡化させて、(S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノン水和物形態 I (75 g、140 mmol、収率 78%) の最終的な白色～灰白色の結晶性ケーキを得た。

#### [実施例 3]

(S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノン (化合物 1) の結晶性水和物、形態 I

#### [0136]

20 L のジャケット付き反応容器中に、調製 7 で得られた (S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノン (化合物 1、2186 g、4143 mmol)、続いてメタノール (10930 mL) を加えた。得られたスラリーを攪拌し、55℃ まで加熱して、透明で均一な溶液を得た。溶液を 55℃ で 30 分間にわたって保持し、(前の実施例で得られた 2.186 g の材料を) シードとして加えた。溶液を 55℃ でさらに 1 時間保持した。結晶化および増粘が起こった。次いで、混合物を 450 分間にわたって 10℃ に冷却した。12 時間にわたってバッチの内部を 10℃ に保持し、次いで濾過した。湿潤したケーキを 5℃ で予め冷却されたメタノール (2186 mL) で洗浄した。窒素パージおよび 55℃ に設定した加熱されたジャケットを用いて、真空下でのフィルタ乾燥機でケーキを乾燥させた。これらの乾燥条件下で、19 時間にわたってケーキを保持した。次いで、ケーキを取り出し、乾燥トレイに広げ、30 時間にわたって周囲 RH 条件と平衡化させて、灰白色から淡黄色の固体として (S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノンの結晶性水和物 (1411.6 g、2587 mmol、収率 62.4%)、形態 I を得た。

#### [実施例 4]

(S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノン (化合物 1) の結晶性水和物、形態 I

#### [0137]

実施例 2 に示されるものと同様の方法で得た 250 g の粗製の (S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノン (化合物 1) にメタノール (1.250 mL) を加え、得られたスラリーを 55℃ まで約 30 分間加熱して均一な溶液を得た。0.2 μm フィルタを通して溶液を濾過した。濾液を 55℃ で約 3 時間攪拌して結晶化を開始した。得られた薄いスラリーの温度を約 250 分間、5℃ に調整した

。粘度の高いスラリーを5℃で一晩攪拌した。次いで、加圧フィルタを用いて固体を単離した。5℃で予め冷却されたメタノール（250 mL）で濾過ケーキを洗浄し、次いで高真空下、55℃で一晩乾燥させて、180 gの結晶性材料を得た。得られた180 gの結晶性材料にメタノール（900 mL）を加えた。攪拌されたスラリーの温度を55℃に約30分間調整した。スラリーを55℃で約3時間攪拌した。次いで、スラリーの温度を5～15℃に約200分間調整した。スラリーを5～15℃でさらに約2時間攪拌した。不活性条件下で加圧フィルタを用いて固体を単離した。5～15℃で予め冷却されたメタノール（300 mL）で濾過ケーキを洗浄し、次いで、高真空下で真空オーブン中、55～65℃で約12時間乾燥させた。周囲温度、圧力および相対湿度下に乾燥ケーキを約12時間保持して、HPLCデータに基づけば97.7%の純度で、灰白色から淡黄色の固体として165.7 gの結晶性一水和物（S）-（3-（ジメチルアミノ）アゼチジン-1-イル）（2-（6-（2-エチル-4-ヒドロキシフェニル）-1H-インダゾール-3-イル）-5-イソプロピル-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-イル）メタノン（形態I）を得た。

#### 【実施例5】

（S）-（3-（ジメチルアミノ）アゼチジン-1-イル）（2-（6-（2-エチル-4-ヒドロキシフェニル）-1H-インダゾール-3-イル）-5-イソプロピル-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-イル）メタノン（化合物1）の結晶性水和物、形態I

#### 【0138】

調製7の工程2に示される同様の調製に従うことによって、（S）-（3-（ジメチルアミノ）アゼチジン-1-イル）（2-（6-（2-エチル-4-ヒドロキシフェニル）-1H-インダゾール-3-イル）-5-イソプロピル-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-イル）メタノンを得た。50℃で5時間にわたって、得られた固体（0.100 g、0.183 mmol）をエタノール（0.5 mL、0.183 mmol）に溶解し、その時点でスラリーが形成した。その温度で不活性条件下においてスラリーを濾過し、60℃で、真空下のオーブン中で12時間にわたって乾燥させた後、周囲室温および圧力下で12時間にわたって平衡化させて、形態I（0.06 g）を得た。

#### 実施例6～10：結晶性形態の特性

#### 【0139】

粉末X線回折（PXRD）、示差走査熱量測定（DSC）、熱重量分析（TGA）、動的水蒸気吸着（DMS）および単結晶X線回折によって、（S）-（3-（ジメチルアミノ）アゼチジン-1-イル）（2-（6-（2-エチル-4-ヒドロキシフェニル）-1H-インダゾール-3-イル）-5-イソプロピル-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-イル）メタノン（化合物1）の結晶性水和物、形態Iの試料を分析した。

#### 【実施例6】

#### 粉末X線回折

#### 【0140】

図1の粉末X線回折パターンは、45 kVの出力電圧および40 mAの電流でCu-K $\alpha$ 放射線（ $\lambda = 1.54051 \text{ \AA}$ ）を使用するLynxeye 1D検出器を備えたBruker D8-Advance X線回折計を用いて得られた。この装置は、試料での強度を最大化するように設定された入射スリット、発散スリットおよび散乱スリットを有するBragg-Brentano配置で操作された。測定のために、少量の粉末（5～25 mg）を試料ホルダ上に穏やかに押し付けて滑らかな表面を形成し、X線曝露に供した。2 $\theta$ で2°から35°まで2 $\theta$ -2 $\theta$ モードで、0.02°のステップサイズおよび1ステップ当たり2秒の走査速度で、合計1時間の走査時間にわたって試料を走査した。Bruker Diffrac Suite測定ソフトウェアによってデータ取得を制御し、Jadeソフトウェア（バージョン7.7）によって分析した。化合物1の結晶性水和物、

形態Ⅰについて、観察されたP X R D 2 θ ピーク位置および d 間隔を表 1 に示す。

【表 1】

表 1: 結晶性水和物形態Ⅰの P X R D データ

| 2θ    | d(Å)  | 面積    | A%    |
|-------|-------|-------|-------|
| 5.68  | 15.56 | 40.1  | 100.0 |
| 8.49  | 10.40 | 10.6  | 26.4  |
| 10.43 | 8.47  | 18.2  | 45.5  |
| 10.94 | 8.08  | 13.2  | 32.9  |
| 11.55 | 7.65  | 8.1   | 20.3  |
| 12.20 | 7.25  | 6.9   | 17.3  |
| 13.08 | 6.76  | 13.7  | 34.3  |
| 15.94 | 5.56  | 15.1  | 37.6  |
| 16.24 | 5.45  | 3.3   | 8.2   |
| 17.06 | 5.19  | 6.2   | 15.6  |
| 17.60 | 5.04  | 745.5 | 4.8   |
| 18.41 | 4.82  | 2.3   | 5.6   |
| 18.82 | 4.71  | 2.3   | 5.8   |
| 18.96 | 4.68  | 4.3   | 10.6  |
| 21.90 | 4.06  | 2.5   | 6.1   |
| 22.08 | 4.02  | 4.4   | 11.1  |
| 22.27 | 3.99  | 5     | 12.6  |
| 24.55 | 3.62  | 4.3   | 10.9  |
| 26.29 | 3.39  | 3.4   | 8.4   |

#### 【実施例 7】

##### 熱分析

##### 【0141】

示差走査熱量測定 (DSC) は、T A I n s t r u m e n t s M o d e l D i s c o v e r y D S C を用いて行った。T R I O S ソフトウェアを用いてデータを収集し、T A I n s t r u m e n t s U n i v e r s a l A n a l y s i s ソフトウェアを用いて分析した。アルミニウムパン中に、結晶性形態の試料を正確に秤量し、T Z e r o 密封ピンホール蓋で覆った。最初に、試料を − 2 0 ° C まで冷却し、その後、試料を − 2 0 ° C から 2 5 0 ° C まで 1 0 ° C / 分の線形加熱勾配を用いて加熱した。形態Ⅰの代表的な D S C サーマグラムを図 2 に示す。

##### 【0142】

熱重量分析 (TGA) 測定は、高分解能を備えた T A I n s t r u m e n t s M o d e l D i s c o v e r y T G A モジュールを用いて行った。T A I n s t r u m e n t s T R I O S ソフトウェアを使用してデータを収集し、T A I n s t r u m e n t s U n i v e r s a l A n a l y s i s ソフトウェアを使用して分析した。秤量した試料を白金皿上に置き、周囲温度から 2 6 0 ° C まで 1 0 ° C / 分の加熱速度で走査した。使用中、天秤および炉室を窒素流でパージした。形態Ⅰの代表的な T G A トレースを図 3 に示す。2 7 ° C から 1 0 0 ° C までで約 3 . 4 % の重量減少が観察され、一水和物形態の脱水に対応する。

## 〔実施例 8〕

## 動的水蒸気吸着評価

## 【0143】

V T I 大気微量てんびん、S G A - 1 0 0 システム (V T I C o r p . , H i a l e a h , F L 3 3 0 1 6) を使用して、動的水蒸気吸着 (D M S) 測定を行った。秤量した試料を使用し、湿度は、分析の開始時に、可能な限り最低の値 (0 % R H に近い) であった。D M S 分析は、1 6 時間の最初の乾燥工程 (約 0 % R H)、これに続く、5 % R H ~ 9 0 % R H の湿度範囲にわたる 5 % R H / ステップの走査速度での 2 サイクルの吸着および脱着からなった。D M S 操作は、2 5 ° C で等温的に行った。形態 I の代表的な D M S トレースを図 4 に示す。

10

## 〔実施例 9〕

## 単結晶 X 線回折

## 【0144】

0 . 2 8 × 0 . 1 1 × 0 . 0 2 m m の寸法を有する化合物 1 の結晶性水和物 (形態 I) の結晶をガラス繊維上に載せた。

## 【0145】

O x f o r d C r y o s y s t e m s C o b r a 冷却装置を備えた R i g a k u A t l a s C C D 回折計でデータを収集した。C u K α 線を用いてデータを収集し、B r u k e r A X S S H E L X T L ソフトウェアを用いて結晶構造を解明し、精緻化した。炭素に結合した水素原子を幾何学的に配置し、ライディング等方性変位パラメータで精緻化した。ヘテロ原子に結合した水素原子は、差フーリエマップ中で位置を特定し、等方性変位パラメータで自由に精緻化することができた。結晶系および空間群の詳細とともに、単位格子パラメータを表 2 に示す。データにより、形態 I が一水和物であることが確認された。

20

## 【表 2】

表 2: 単結晶 X 線回折分析からのデータ

|                                                |                                                   |
|------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| データ収集の温度                                       | 100(2) K                                          |
| データ収集のために使用した波長                                | 1.54178 Å                                         |
| 結晶系                                            | 単斜晶系                                              |
| 空間群                                            | C2                                                |
| 単位格子寸法                                         | a = 20.8736(5) Å                                  |
|                                                | b = 9.15021(19) Å                                 |
|                                                | c = 15.7412(3) Å                                  |
|                                                | a = 90°                                           |
|                                                | b = 98.4786(18)°                                  |
|                                                | g = 90°                                           |
| 単位格子体積                                         | 2973.67(11) Å <sup>3</sup>                        |
| 最終 R 指数 [F <sup>2</sup> > 2σ(F <sup>2</sup> )] | R <sub>1</sub> = 0.0368, wR <sub>2</sub> = 0.0975 |

30

40

## 〔実施例 10〕

## 安定性試験

## 【0146】

表 3 および 4 に示される化合物 1 含有量および不純物プロファイルについて、2 5 ° C および 6 0 % 相対湿度 (R H) の加速条件ならびに 4 0 ° C および 7 5 % 相対湿度 (R H) の

50

加速条件で保存された形態Ⅰの試料をHPLCによって分析した。

RRT = (化合物 1 に関する) 相対保持時間

LOQ = 定量限界 (0.05 % a / a)、LOQ または LOQ を上回るピークのみが報告されている

【表 3 - 1】

表 3: 40°C/75% RH での化合物 1 および不純物のパーセンテージ

| RRT   | T=0   | T=1 ヶ月<br>40°C/75% RH | T=3 ヶ月<br>40°C/75% RH |
|-------|-------|-----------------------|-----------------------|
|       | % a/a | % a/a                 | % a/a                 |
| 0.77  | 0.17  | 0.18                  | 0.18                  |
| 0.84  | 0.05  | 0.06                  | 0.05                  |
| 0.95  |       |                       | 0.05                  |
| 0.97  | 0.06  | 0.07                  | 0.07                  |
| 化合物 1 | 97.5% | 97.5%                 | 97.5%                 |
| 1.10  |       | 0.09                  |                       |
| 1.11  | 0.07  | 0.12                  | 0.10                  |
| 1.13  |       |                       | 0.05                  |

10

20

【表 3 - 2】

|      | T=0  | T=1 ヶ月<br>40°C/75% RH | T=3 ヶ月<br>40°C/75% RH |
|------|------|-----------------------|-----------------------|
| 1.18 |      |                       | 0.06                  |
| 1.25 | 0.11 | 0.11                  | 0.14                  |
| 1.28 | 0.36 | 0.35                  | 0.36                  |
| 1.30 | 0.21 | 0.23                  | 0.22                  |
| 1.35 | 0.06 | 0.07                  | 0.11                  |
| 1.77 |      | 0.05                  |                       |
| 1.84 | 0.32 | 0.32                  | 0.31                  |
| 1.85 | 0.13 | 0.14                  | 0.20                  |
| 2.11 | 0.06 | 0.05                  | 0.05                  |
| 2.27 | 0.07 | 0.09                  | 0.07                  |

30

40

50

## 【表 4】

表 4: 25°C/60% RHでの化合物1および不純物のパーセンテージ

| RRT   | T=0   | T=3ヶ月<br>25°C/60% RH |
|-------|-------|----------------------|
|       | % a/a | % a/a                |
| 0.77  | 0.17  | 0.18                 |
| 0.84  | 0.05  | 0.05                 |
| 0.95  |       | 0.05                 |
| 0.97  | 0.06  | 0.06                 |
| 化合物 1 | 97.5% | 97.6%                |
| 1.11  | 0.07  | 0.08                 |
| 1.25  | 0.11  | 0.14                 |
| 1.28  | 0.36  | 0.36                 |
| 1.30  | 0.21  | 0.22                 |
| 1.35  | 0.06  | 0.10                 |
| 1.84  | 0.32  | 0.31                 |
| 1.85  | 0.13  | 0.20                 |
| 2.11  | 0.06  | 0.06                 |
| 2.27  | 0.07  | 0.07                 |

10

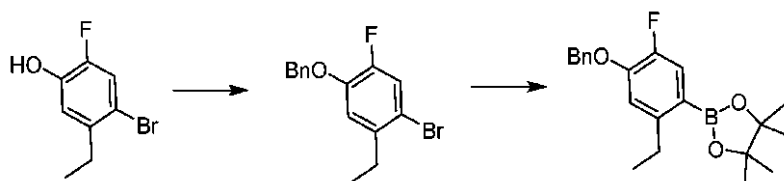
20

## 【0147】

形態Ⅰは、これらの条件下で良好な安定性を示した。

調製8：2-（4-（ベンジルオキシ）-2-エチル-5-フルオロフェニル）-4，4，5，5-テトラメチル-1，3，2-ジオキサボロラン

## 【化13】



30

（a）1-（ベンジルオキシ）-4-ブromo-5-エチル-2-フルオロベンゼン

## 【0148】

ACN（250 mL）中の4-ブromo-5-エチル-2-フルオロフェノール（20 g、910.32 mmol）の溶液に、 $K_2CO_3$ （31.55 g、228.3 mmol）、続いて臭化ベンジル（13.10 mL、109.58 mmol）を滴下して加えた。得られた反応混合物を80°Cで2時間攪拌した。水層をEtOAcで抽出し（3回）、合わせて、ブラインで洗浄した。 $Na_2SO_4$ で有機層を乾燥させ、減圧下で蒸発させると、標記中間体が淡黄色の油状液体として得られた（25 g、収率89%）。 $^1H$  NMR（400 MHz, クロロホルム-d） $\delta$  7.48 - 7.30 (m, 5H), 7.27 (d,  $J$  = 10.5 Hz, 1H), 6.87 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 1H), 5.12 (s, 2H), 2.66 (q,  $J$  = 7.5 Hz, 2H), 1.16 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 3H).

40

（b）2-（4-（ベンジルオキシ）-2-エチル-5-フルオロフェニル）-4，4，5，5-テトラメチル-1，3，2-ジオキサボロラン

## 【0149】

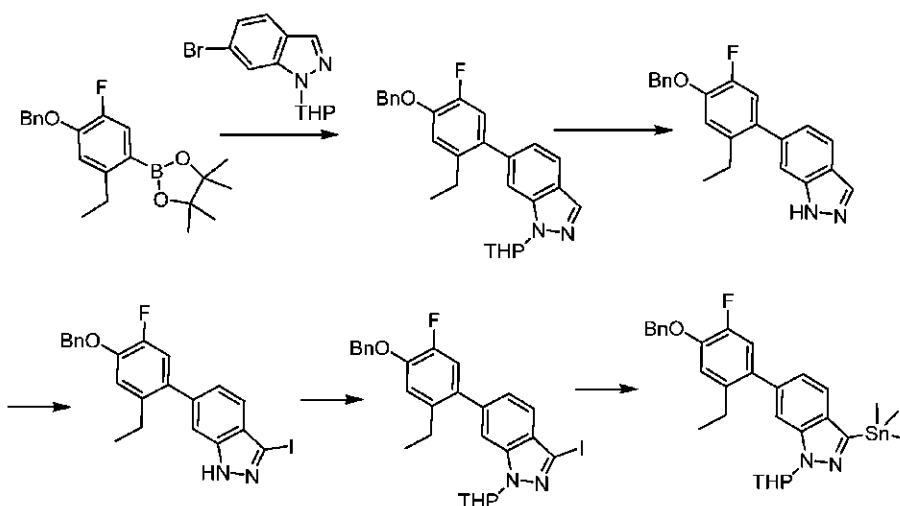
ジオキサン（100 mL）中の前工程の生成物（12.5 g、40.45 mmol）の溶液に、ビス（ピナコラト）ジボロン（15.40 g、60.67 mmol）およびKOAc（11.9 g、121.35 mmol）を添加した。反応混合物を窒素で15分間パージし、続いて[1，1'-ビス（ジフェニルホスフィノ）フェロセン]ジクロロパラジウム

50

ム (II)、ジクロロメタンとの錯体 (1.65 g、2.023 mmol) を添加した。得られた反応混合物を攪拌し、110℃で3時間加熱し、Celiteを通して濾過し、残渣をEtOAcで洗浄した。濾液を過剰のEtOAc (200 mL) で希釈し、水 (100 mL)、続いてブライン (100 mL) で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、真空中で濃縮して粗生成物を得て、これを (100~200) シリカゲルでのカラムクロマトグラフィーによって精製し、3~5% EtOAc : ヘキサンで溶出すると、灰白色の固体として所望の生成物が得られた (9.50 g、収率66%)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) δ 7.54 - 7.27 (m, 6H), 6.81 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 2.84 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.32 (s, 12H), 1.14 (t, J = 7.5 Hz, 3H)。

調製9：6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-3-(トリメチルスタンニル)-1H-インダゾール

【化14】



(a) 6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-1H-インダゾール

【0150】

DMF : H<sub>2</sub>O (480 : 120 mL) 中の、6-ブロモ-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-1H-インダゾール (50 g、178.57 mmol) および 2-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン (76.3 g、214.29 mmol) の溶液に、K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (94.64 g、446.86 mmol) を加えた。反応混合物を窒素で15分間脱気し、次いで、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>触媒 (6.26 g、8.93 mmol) を添加し、混合物を再び窒素で5分間脱気し、攪拌し、100~110℃で5時間加熱した。Celiteを通して反応混合物を濾過し、残渣をEtOAcで洗浄した。濾液をEtOAcで希釈し、冷水およびブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、真空中で濃縮して粗生成物を得、これをフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製すると、標記中間体が白色固体として得られた (65 g、収率86%)。 (m/z) : [M+H]<sup>+</sup> C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の計算値 431.21、実測値 431.46。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) δ 8.06 - 7.98 (m, 2H), 7.70 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.51 - 7.32 (m, 5H), 7.08 (dd, J = 8.0, 8.3 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.76 - 5.64 (m, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.04 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 3.72 (t, J = 9.7 Hz, 1H), 2.52 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 2.22 - 2.02 (m, 3H), 1.80 - 1.71 (m, 3H), 1.06 (t, J = 7.5 Hz, 3H)。

(b) 6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-1H-インダゾール

【0151】

メタノール（700 mL）中の前の工程の生成物（65 g、151.16 mmol）の溶液に、濃HCl（120 mL）を添加し、得られた溶液を60～65℃で3時間加熱し、室温に冷却し、真空中で濃縮した。残渣をEtOAcに溶解し、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液および水で洗浄した。有機層を無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、真空中で濃縮して、標記中間体を白色固体として得た（52 g、99%（粗製））。<sup>1</sup>H NMR（400 MHz, クロロホルム-d）δ 8.13 (s, 1H), 7.77 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.59 - 7.30 (m, 6H), 7.10 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.21 (s, 2H), 2.53 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.05 (t, J = 7.5 Hz, 3H).

(c) 6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-3-ヨード-1H-インダゾール

【0152】

DMF（400 mL）中の6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-1H-インダゾール（56 g、161.18 mmol）の溶液に、KOH（36.2 g、647.39 mmol）を加え、混合物を5分間撹拌した。DMF（100 mL）中のヨウ素（82.2 g、323.69 mmol）の溶液を0℃でゆっくり添加し、室温で30分間撹拌し、水（3×150 mL）で希釈し、EtOAc（3×200 mL）で抽出した。飽和メタ重亜硫酸ナトリウム水溶液（3×200 mL）と水（400 mL）で有機層を洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で濃縮して粗生成物を得て、これをフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製すると、標記中間体が褐色がかった半固体として得られた（64 g、収率84%）。<sup>1</sup>H NMR（400 MHz, クロロホルム-d）δ 10.49 (s, 1H), 7.57 - 7.32 (m, 7H), 7.16 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.04 - 6.91 (m, 2H), 5.20 (s, 2H), 2.51 (q, J = 7.4 Hz, 2H), 1.04 (t, J = 7.5 Hz, 3H).

(d) 6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-3-ヨード-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-1H-インダゾール

【0153】

DCM（700 mL）中の前の工程の生成物（60 g、127.12 mmol）の氷冷溶液に、p-トルエンスルホン酸（4.84 g、25.423 mmol）を加え、続いて、3,4-ジヒドロ-2H-ピラン（17.43 mL、190.68 mmol）を滴下して加えた。反応混合物を室温で一晩撹拌し、DCMで希釈し、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液およびブラインで洗浄した。有機層を無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で濃縮して粗生成物を得て、これをフラッシュクロマトグラフィー（シリカゲル）によって精製すると、標記中間体が灰白色固体として得られた（64 g、収率91%）。(m/z) : [M+H]<sup>+</sup>C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>FIN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の計算値557.10、実測値557.30。<sup>1</sup>H NMR（400 MHz, クロロホルム-d）δ 7.56 - 7.31 (m, 7H), 7.14 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.68 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.08 - 3.99 (m, 1H), 3.77 - 3.64 (m, 1H), 2.50 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 2.23 - 1.97 (m, 3H), 1.81 - 1.68 (m, 3H), 1.06 (t, J = 7.4 Hz, 3H).

(e) 6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-3-(トリメチルスタンニル)-1H-インダゾール

【0154】

トルエン（150 mL）中の6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-3-ヨード-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-1H-インダゾール（20 g、35.97 mmol）の溶液に、ヘキサメチルニスズ（9.2 mL、43.17 mmol）を加えた。反応混合物を窒素で20分間脱気した後、テトラキス（2.0 g、1.80 mmol）を添加し、次いで、100℃で2時間撹拌し、室温に冷却し、Celiteを通して濾過し、残渣をEtOAcで洗浄した。濾液を濃縮し、カラムクロマトグラフィー（中性アルミナ）によって精製し、2～5% EtOAc：ヘキサンで溶出して、標記化合物（17.50 g、収率82%）を得た。(m/z) : [M+H]<sup>+</sup>C<sub>30</sub>H<sub>35</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Snの計算値595.17、593.17、実測値595.49

10

20

30

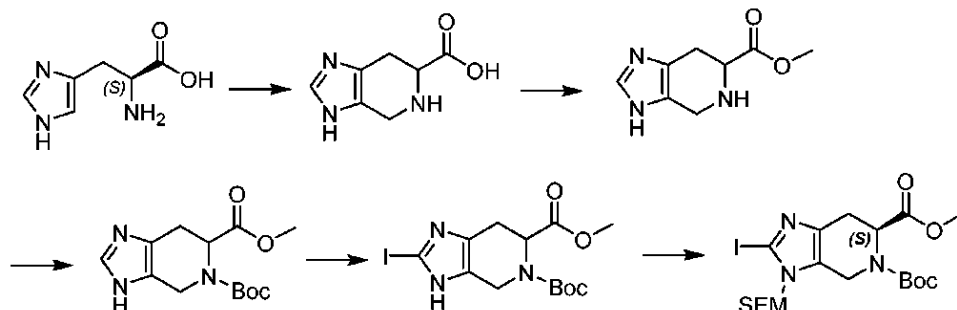
40

50

、593.55。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) δ 7.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.57 - 7.29 (m, 6H), 7.13 - 7.00 (m, 2H), 6.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.81 - 5.68 (m, 1H), 5.21 (s, 2H), 4.13 - 4.00 (m, 1H), 3.81 - 3.66 (m, 1H), 2.54 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 2.23 - 2.00 (m, 2H), 1.87 - 1.59 (m, 4H), 1.08 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 0.47 (s, 9H)。

調製10：5-(tert-ブチル)6-メチル(S)-2-ヨード-3-((2-トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-5,6-ジカルボキシラート

【化15】



(a) (S)-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボン酸

【0155】

水(420 mL)中のL-ヒスチジン(50 g、322.24 mmol)の攪拌された懸濁液に、濃HCl(29 mL)を0℃で滴下して加え、続いてホルムアルデヒド(55 mL、676.72 mmol)を0℃で一度に加えた。得られた反応混合物を30分間攪拌し、次いで、75℃で6時間加熱し、濃縮した。得られた粗生成物をジエチルエーテルとともに2時間攪拌し、濾過し、IPA:THF(100:300 mL)で洗浄して、標記中間体のHCl塩を灰白色の固体として得た(75 g、収率99%(粗製))。(m/z): [M+H]<sup>+</sup>C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>の計算値168.07、実測値168.17。

(b) メチル(S)-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボキシラート

【0156】

メタノール(1500 mL)中の前の工程の生成物(75.0 g、312.5 mmol)の攪拌溶液に、SOCl<sub>2</sub>(45.6 mL、625 mmol)を0℃で滴下して加え、室温で16時間攪拌し、次いで、1時間加熱還流(70℃)した。蒸留により溶媒を除去し、粗生成物をメタノール、続いてジエチルエーテルでトリチュレートすると、標記中間体の粗HCl塩が灰白色固体(80 g粗製)として得られた。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.05 (s, 1H), 4.71 (dd, J = 9.4, 5.2 Hz, 1H), 4.36 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 4.30 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.44 - 3.21 (m, 2H)。

(c) 5-(tert-ブチル)6-メチル(S)-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-5,6-ジカルボキシラート

【0157】

メタノール(1000 mL)中の前の工程の生成物(80.0 g、314.96 mmol)の攪拌溶液に、DIPEA(282 mL、1574 mmol)、続いて二炭酸ジtert-ブチル(172 mL、787.48 mmol)を0℃で添加した。反応混合物を室温で16時間攪拌し、次いで、液体NH<sub>3</sub>(150 mL、水中25%)を添加し、反応混合物を室温で再び16時間攪拌し、メタノールを蒸留により除去し、残渣をDCM(3×200 mL)中に抽出した。合わせた有機抽出物を無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮し、フラッシュクロマトグラフィー(100~200メッシュシリカゲル)によって精製し、5% MeOH:DCMで溶出すると、標記中間体(41 g、収率46%)が得られた

。(m/z) : [M+H]<sup>+</sup>C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>の計算値282.14 実測値282.21。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.85 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 5.18 (dd, J = 49.3, 5.1 Hz, 1H), 4.51 (t, J = 14.2 Hz, 1H), 4.09 (dd, J = 43.9, 16.1 Hz, 1H), 3.59 (s, 3H), 3.08 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 2.94 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H).  
(d) 5-(tert-ブチル)6-メチル(S)-2-ヨード-3, 4, 6, 7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-5, 6-ジカルボキシラート  
【0158】

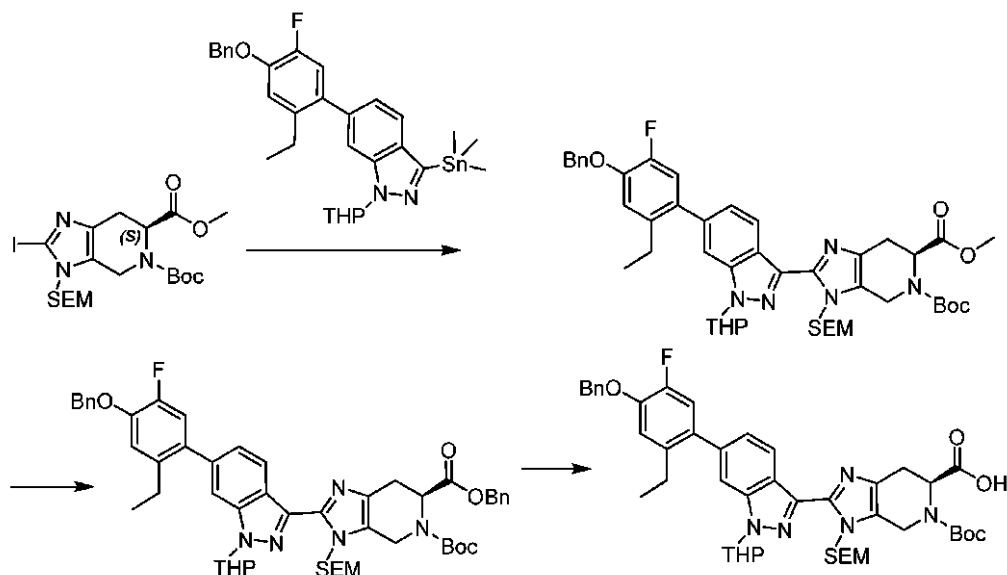
THF (500 mL) 中の前の工程の生成物 (41.0 g、145.9 mmol) の溶液に、N-ヨードスクシンイミド (66.0 g、291.8 mmol) を0℃で添加し、得られた溶液を室温で4時間攪拌し、水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。有機部分を10%チオ硫酸ナトリウム溶液 (3×200 mL) で洗浄した。合わせた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮すると、標記化合物60 g (粗製) が得られ、さらに精製することなく次の工程において使用した。(m/z) : [M+H]<sup>+</sup>C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>の計算値408.03、実測値408.31。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.48 (s, 1H), 5.34 - 4.97 (m, 1H), 4.67 - 4.35 (m, 1H), 4.12 - 3.95 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.14 - 2.82 (m, 2H), 1.44 (s, 9H).

(e) 5-(tert-ブチル)6-メチル(S)-2-ヨード-3-(2-トリメチルシリル)エトキシ)メチル-3, 4, 6, 7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-5, 6-ジカルボキシラート  
【0159】

DMF (150 mL) 中の5-(tert-ブチル)6-メチル(S)-2-ヨード-3, 4, 6, 7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-5, 6-ジカルボキシラート (40 g、0.098 mol) の攪拌溶液に、DIPEA (35.1 mL、0.19 mol) を0℃で添加した。反応混合物を10分間攪拌し、次いで、2-(トリメチルシリル)エトキシメチルクロリド (19.1 mL、0.10 mol) を0℃で滴下して加えた。得られた反応混合物を室温で3時間攪拌した。4時間後、冷水を添加し、反応混合物をEtOAc (2×200 mL) で抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮し、フラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、20~35% EtOAc : ヘキサンで溶出すると、標記生成物が淡黄色の粘性の液体として得られた (27 g)。(m/z) : [M+H]<sup>+</sup>C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>Siの計算値538.12、実測値538.42。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 5.33 - 5.04 (m, 3H), 4.79 - 4.56 (m, 1H), 4.54 - 4.14 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.47 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.31 - 3.16 (m, 1H), 2.97 (t, J = 18.9 Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 0.92 - 0.74 (m, 2H), -0.03 (s, 9H).

調製11 : (6S)-5-(tert-ブトキシカルボニル)-2-(6-(2-エチル-5-フルオロ-4-ヒドロキシフェニル)-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-1H-インダゾール-3-イル)-3-(2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-6-カルボン酸

## 【化 16】



10

(a) 5-(tert-ブチル)6-メチル(6S)-2-(6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-1H-インダゾール-3-イル)-3-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-5,6-ジカルボキシラート

20

## 【0160】

トルエン(500mL)中の5-(tert-ブチル)6-メチル(S)-2-ヨード-3-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-5,6-ジカルボキシラート(17.0g、31.65mmol)の攪拌溶液に、6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-3-(トリメチルスタンニル)-1H-インダゾール(20g、34.82mmol)を添加した。反応混合物をアルゴンで15分間パージし、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(3.6g、3.16mmol)およびヨウ化銅(1.20g、6.33mmol)を添加し、反応混合物を120℃で16時間攪拌した。Celiteを通して反応混合物を濾過し、濾液を減圧下で濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Redisepp 80gカラムによって精製し、DCMで10分間溶出し、次いでヘキサン中15~20%EtOAcで溶出すると、標記中間体が黄色固体として得られた(15.10g、収率58%)。(m/z): [M+H]<sup>+</sup>C<sub>46</sub>H<sub>58</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Siの計算値840.41 実測値840.54。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, クロロホルム-d) δ 8.43 (s, 1H), 7.54 - 7.33 (m, 6H), 7.20 (s, 1H), 7.05 (d, J = 11.4 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.09 - 5.69 (m, 3H), 5.59 - 5.36 (m, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.97 - 4.80 (m, 1H), 4.12 - 3.90 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.57 - 3.47 (m, 2H), 3.40 (d, 1H), 3.21 - 3.05 (m, 1H), 2.74 - 2.34 (m, 4H), 2.25 - 2.07 (m, 2H), 1.94 - 1.65 (m, 4H), 1.54 (s, 9H), 1.12 - 0.99 (m, 3H), 0.91 - 0.75 (m, 2H), -0.12 (s, 9H).

30

(b) 6-ベンジル5-(tert-ブチル)(6S)-2-(6-(4-(ベンジルオキシ)-2-エチル-5-フルオロフェニル)-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-1H-インダゾール-3-イル)-3-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-3,4,6,7-テトラヒドロ-5H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-5,6-ジカルボキシラート

40

## 【0161】

丸底フラスコに、トルエン(400mL)、ベンジルアルコール(46.3mL)およびTi(OEt)<sub>4</sub>(7.15mL、35.70mmol)中の前の工程の生成物(15

50

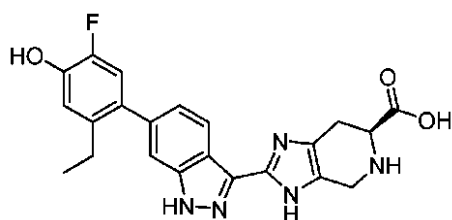
． 0 g、17.85 mmol) を添加し、反応混合物を48時間激しく還流し(140℃)、水で希釈し、DCMで抽出した。懸濁液を濾過し、濾液をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Redisepp 80 gカラム、ヘキサン中0～5% EtOAc)によって20分間精製して過剰のベンジルアルコールを除去し、次いで、ヘキサン中10～15% EtOAcで溶出すると、標記中間体が得られた。<sup>1</sup>H NMRは構造と一致。(m/z): [M+H]<sup>+</sup>C<sub>52</sub>H<sub>62</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Siの計算値916.44、実測値916.86。

(c) (6S)-5-(tert-ブトキシカルボニル)-2-(6-(2-エチル-5-フルオロ-4-ヒドロキシフェニル)-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-1H-インダゾール-3-イル)-3-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボン酸

【0162】

1:1のIPA:THF(400 mL)中の前の工程の生成物(21.0 g、22.92 mmol)の攪拌溶液にPd(OH)<sub>2</sub>(5.0 g)を添加した。反応混合物を水素バルーン下にて室温で16時間攪拌し、Celiteを通して濾過し、減圧下で濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Redisepp 80 gカラム、ヘキサン中25～40% EtOAcで溶出)によって精製すると、標記化合物が灰白色の固体として得られた(6.1 g、8.29 mmol)。(m/z): [M+H]<sup>+</sup>C<sub>38</sub>H<sub>50</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Siの計算値736.35、実測値736.5。<sup>1</sup>H NMRは構造と一致。(m/z): [M+H]<sup>+</sup>C<sub>38</sub>H<sub>50</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Siの計算値736.35 実測値736.5。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.94 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 8.34 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.20 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 6.11 - 5.77 (m, 3H), 5.33 - 5.06 (m, 1H), 4.87 - 4.56 (m, 1H), 4.52 - 4.14 (m, 1H), 3.97 - 3.69 (m, 2H), 3.53 - 3.40 (m, 2H), 3.23 - 3.11 (m, 1H), 3.11 - 2.93 (m, 1H), 2.47 - 2.44 (m, 2H), 2.13 - 1.96 (m, 2H), 1.68 (d, J = 70.9 Hz, 4H), 1.48 (s, 9H), 1.02 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 0.86 - 0.68 (m, 2H), -0.17 (s, 9H)。調製12: (S)-2-(6-(2-エチル-5-フルオロ-4-ヒドロキシフェニル)-1H-インダゾール-3-イル)-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボン酸

【化17】



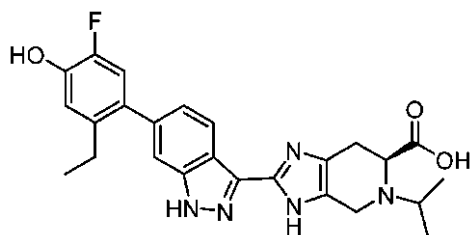
【0163】

5:1ジオキサン:水(60 mL)中の(6S)-5-(tert-ブトキシカルボニル)-2-(6-(2-エチル-5-フルオロ-4-ヒドロキシフェニル)-1-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-1H-インダゾール-3-イル)-3-((2-(トリメチルシリル)エトキシ)メチル)-4,5,6,7-テトラヒドロ-3H-イミダゾ[4,5-c]ピリジン-6-カルボン酸(5.7 g、7.75 mmol)の攪拌溶液に、濃HCl(20 mL)を0℃で滴下して添加した。反応混合物を加温し、90℃で16時間攪拌し、真空下で蒸留して粗残渣を得て、冷却したジエチルエーテルおよびアセトニトリルで順次トリチュレーションを行うと、標記化合物のHCl塩が淡褐色固体として得られた(3.6 g 収率95%)。(m/z): [M+H]<sup>+</sup>C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>の計算値422.16、実測値422.24。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, D<sub>2</sub>O/DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.22 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.19 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.99 (d, J = 1

1.9 Hz, 1 H), 6.91 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 4.56 - 4.51 (m, 1H), 4.36 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H), 4.30 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H), 3.35 - 3.25 (m, 1H), 3.15 - 3.05 (m, 1H), 2.4 - 2.55 (m, 2H), 0.97 (t,  $J = 7.5$  Hz, 3H).

調製 13 : (S) - 2 - (6 - (2 - エチル - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - カルボン酸

【化 18】



10

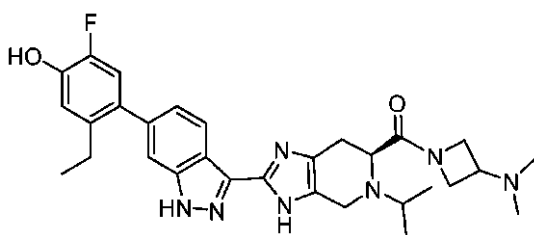
【0164】

DMF (7 mL) 中の、(S) - 2 - (6 - (2 - エチル - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1H - インダゾール - 3 - イル) - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - カルボン酸, HCl (400 mg、0.874 mmol)、アセトン (0.192 mL、2.62 mmol) および酢酸 (0.150 mL、2.62 mmol) の溶液に、シアノ水素化ホウ素ナトリウム (274 mg、4.37 mmol) を添加し、反応混合物を室温で一晩攪拌した。水素化ホウ素ナトリウム (33 mg、0.874 mmol) を添加し、溶液を濃縮し、分取 HPLC によって精製すると、標記化合物の TFA 塩が得られた (115 mg、収率 23%)。( $m/z$ ) :  $[M + H]^+ C_{25}H_{26}FN_5O_3$  の計算値 464.20、実測値 464.5。

20

【実施例 11】 (S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノン C-1

【化 19】



C-1

30

【0165】

DMF (4 mL) 中の、(S) - 2 - (6 - (2 - エチル - 5 - フルオロ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - カルボン酸, TFA (179 mg、0.310 mmol)、N, N - ジメチルアゼチジン - 3 - アミン、2 HCl (107 mg、0.465 mmol) および DIPEA (0.162 mL、0.930 mmol) の溶液に、HATU (177 mg、0.465 mmol) を添加し、反応混合物を室温で一晩攪拌した。ヒドラジン (5 当量) を添加し、反応混合物を濃縮し、分取 HPLC によって精製すると、標記化合物の TFA 塩が得られた (63 mg、収率 26%)。( $m/z$ ) :  $[M + H]^+ C_{30}H_{36}FN_7O_2$  の計算値 546.29 実測値 546.7。 $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.90 (s, 1H), 8.29 (dd, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.07 (d, 1H), 7.01 (d, 1H), 6.89 (d, 1H), 4.35 - 4.18 (m, 1H), 4.11 - 3.94 (m, 1

40

50

H), 3.94 - 3.73 (m, 3H), 3.70 - 3.57 (m, 2H), 3.06 - 2.94 (m, 2H), 2.87 - 2.66 (m, 2H), 2.48 - 2.40 (m, 2H), 2.13 - 2.00 (m, 6H), 1.07 (t, 3H), 1.03 - 0.93 (m, 6H).  
生物学的アッセイ

【0166】

化合物1は、以下の生物学的アッセイにおいて特徴を決定された。

アッセイ1：生化学的JAKキナーゼアッセイ

【0167】

4つのLanthaScreen JAK生化学的アッセイのパネル(JAK1、2、3およびTyk2)を、通常のキナーゼ反応緩衝液(50mM HEPES, pH7.5、0.01%Brij-35、10mM MgCl<sub>2</sub>および1mM EGTA)に含めた。組換えGSTタグ化JAK酵素およびGFPタグ化STAT1ペプチド基質をLife Technologiesから入手した。

【0168】

段階希釈した化合物を、それらの4つのJAK酵素の各々および基質とともに、白色384ウェルマイクロプレート(Corning)において周囲温度で1時間プレインキュベートした。続いて、ATPを加えて、1%DMSOを含む10μLの総体積でキナーゼ反応を開始した。JAK1、2、3およびTyk2に対する最終的な酵素濃度は、それぞれ4.2nM、0.1nM、1nMおよび0.25nMであり；使用された対応するKm ATP濃度は、25μM、3μM、1.6μMおよび10μMであり；基質濃度は、4つすべてのアッセイについて200nMである。キナーゼ反応を周囲温度で1時間進めた後、TR-FRET希釈緩衝液(Life Technologies)中のEDTA(最終濃度10mM)およびTb-抗pSTAT1(pTyr701)抗体(Life Technologies, 最終濃度2nM)の10μL調製物を加えた。そのプレートを周囲温度で1時間インキュベートした後、EnVisionリーダー(Perkin Elmer)において読み出した。発光シグナル比(Emission ratio signals)(520nm/495nm)を記録し、それを用いて、DMSOに基づくパーセント阻害値およびバックグラウンドコントロールを算出した。

【0169】

用量反応解析の場合、パーセント阻害のデータを化合物の濃度に対してプロットし、Prismソフトウェア(GraphPad Software)を用いて、4パラメータのロバストな適合モデルからIC<sub>50</sub>値を決定した。結果は、pIC<sub>50</sub>(IC<sub>50</sub>の対数に負号をつけたもの)として表され、続いてCheng-Prusoff式を用いてpK<sub>i</sub>(解離定数K<sub>i</sub>の対数に負号をつけたもの)に変換した。

【0170】

4つのJAKアッセイにおいてより低いK<sub>i</sub>値またはより高いpK<sub>i</sub>値を有する試験化合物は、JAK活性のより大きな阻害を示す。

アッセイ2：Tall-1 T細胞におけるIL-2刺激されたpSTAT5の阻害

【0171】

インターロイキン-2(IL-2)で刺激されたSTAT5リン酸化の阻害についての試験化合物の効力を、AlphaLISAを使用してTall-1ヒトT細胞株(DSMZ)において測定した。IL-2はJAK1/3を介してシグナル伝達するので、このアッセイはJAK1/3細胞効力の尺度を提供する。

【0172】

リン酸化STAT5は、AlphaLISA SureFire Ultra pSTAT5(Tyr694/699)キット(PerkinElmer)によって測定した。37℃、5%CO<sub>2</sub>の加湿恒温器において、15%の熱失活ウシ胎仔血清(FBS、Life Technologies)、2mM Glutamax(Life Technologies)、25mM HEPES(Life Technologies)および1×Pen/Strep(Life Technologies)を補充したRPMI(Life Technologies)中で、Tall-1細胞株由来のヒトT細胞を培養し

た。化合物をDMSOで段階希釈し、空のウェルに音響学的に分注した。アッセイ培地（10% FBS（ATCC）が補充された無フェノールレッドDMEM（Life Technologies））を分注し（4  $\mu$ L／ウェル）、プレートを900 rpmで10分間振盪した。細胞を、アッセイ培地（4  $\mu$ L／ウェル）中に45,000細胞／ウェルで播種し、37℃、5% CO<sub>2</sub>で1時間インキュベートした後、予め加温したアッセイ培地（4  $\mu$ L）中のIL-2（R&D Systems；最終濃度300 ng／mL）を30分間加えた。サイトカイン刺激の後、細胞を、1×PhosStopおよびComplete tablet（Roche）を含む6  $\mu$ Lの3×AlphaLisa溶解緩衝液（PerkinElmer）で溶解した。ライセートを、室温（RT）にて900 rpmで10分間振盪した。リン酸化STAT5を、pSTAT5 AlphaLisaキット（PerkinElmer）によって計測した。新たに調製したアクセプタービーズ混合物を、緑色フィルタリングした100 lux未満の光の下でライセート（5  $\mu$ L）上に分注した。プレートを900 rpmで2分間振盪し、短時間遠沈し、室温の暗所で2時間インキュベートした。ドナービーズを、緑色フィルタリングした100 lux未満の光の下で分注した（5  $\mu$ L）。プレートを900 rpmで2分間振盪し、短時間遠沈し、室温の暗所で一晚インキュベートした。ルミネセンスを、EnVisionプレートリーダー（PerkinElmer）を用いて緑色フィルタリングした100 lux未満の光の下で689 nmでの励起および570 nmでの発光を使用して測定した。

【0173】

試験化合物のIL-2に応答する阻害性効力を測定するために、ヒトT細胞株におけるpSTAT5に結合したビーズの平均発光強度を計測した。化合物濃度に対するシグナル強度の阻害曲線の解析から、IC<sub>50</sub>値を決定した。データは、pIC<sub>50</sub>（負の常用対数IC<sub>50</sub>）値（平均値±標準偏差）として表される。

インビトロアッセイの結果

【表5】

表5

| 化合物 | JAK1<br>pK <sub>i</sub> | JAK2<br>pK <sub>i</sub> | JAK3<br>pK <sub>i</sub> | Tyk2<br>pK <sub>i</sub> | Tall-1<br>pIC <sub>50</sub> |
|-----|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| 1   | 10.2                    | 10.5                    | 10.2                    | 9.1                     | 8.6                         |
| C-1 | 10.4                    | 10.8                    | 10.1                    | 9.5                     | 8.8                         |

アッセイ3：肺組織におけるIL-13誘導性pSTAT6誘導のマウス（Murine）（マウス（Mouse））モデル

【0174】

IL-13は、喘息の病態生理の基礎を成す重要なサイトカインである（Kudlaczら、Eur. J. Pharmacol, 2008, 582, 154-161）。IL-13は、次いで、STAT6をリン酸化し、キナーゼのヤヌスファミリー（JAK）のメンバーを活性化する細胞表面受容体に結合し、これはその後、さらなる転写経路を活性化する。記載されたモデルでは、IL-13の用量をマウスの肺内に局所的に送達して、STAT6のリン酸化（pSTAT6）を誘導し、次いで、これを評価項目として測定した。

【0175】

アッセイでは、Harlanから得た成体Balb/cマウスを使用した。研究当日に、イソフルランで動物を軽く麻酔し、ビヒクルまたは試験化合物（1 mg／mL、数回の呼吸にわたって50  $\mu$ Lの総体積）のいずれかを経口吸引によって投与した。投与後に、動物を横向きに寝かせ、麻酔からの完全な回復をモニターした後、ホームケージに戻した。4時間後、動物をもう一度短時間麻酔し、経口吸引によってビヒクルまたはIL-13（送達された総用量0.03  $\mu$ g、総体積50  $\mu$ L）のいずれかを負荷した後、麻酔からの回復についてモニターし、ホームケージに戻した。ビヒクルまたはIL-13投与の1

時間後、Perkin Elmer AlphaLISA（登録商標）SureFire（登録商標）Ultra（商標）HV p-STAT6（Tyr641）アッセイキットを使用して肺ホモジネート中のpSTAT6検出のために、ならびに肺および血漿の両方における総薬物濃度分析のために、全血および肺を採取した。4℃、約12,000rpmで血液試料を4分間遠心分離して（Eppendorf遠心機、5804R）、血漿を採取した。肺をDPBS（ダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水）ですすぎ、パッドで乾燥させ、急速凍結し、秤量し、HPLC水中の0.1%ギ酸中、1:3の希釈でホモジナイズした。試験マトリックスにおいて標準曲線に構築された分析標準に対するLC-MS分析によって、試験化合物の血漿および肺レベルを決定した。5時間におけるng/mLでの血漿濃度に対するng/gでの肺濃度の比として、肺対血漿比を決定した。

10

【0176】

このモデルにおける活性は、ビヒクル処置され、IL-13を負荷された対照動物と比較した、5時間で処置された動物の肺中に存在するpSTAT6のレベルの減少によって証明される。いずれの実験においても、ビヒクルで処置され、IL-13を負荷された対照動物と、ビヒクルで処置され、ビヒクルを負荷された対照動物との差が、それぞれ0%および100%の阻害効果を規定した。化合物1は、以下に記述されるように、IL-13負荷の5時間後にSTAT6リン酸化の阻害を示した。

【表6】

表6: 観察されたpSTAT6阻害および血漿/肺曝露

20

| 化合物 | 5時間での肺濃度<br>(ng/g) | 5時間での<br>血漿濃度 (ng/mL) | 5時間での<br>肺対血漿比 | 5時間での<br>pSTAT6阻害 |
|-----|--------------------|-----------------------|----------------|-------------------|
| 1   | 10155±1979         | 24.0±16.2             | 423            | 75                |

【0177】

マウス肺中での著しい化合物濃度の観察により、IL-13誘導性pSTAT6誘導の観察された阻害が試験化合物の活性の結果であることが確認された。5時間での肺対血漿比は、化合物1が、マウスにおいて血漿中での曝露より著しく高い肺中での曝露を示すことを示した。

30

アッセイ4: ヒト末梢血単核細胞におけるTSLP誘発性TARC放出の阻害

【0178】

胸腺間質性リンパ球新生因子（TSLP）ならびに胸腺および活性化制御ケモカイン（TARC）は、喘息の気道中で過剰発現され、疾患重症度と相関する。肺では、TSLPは、アレルゲンおよびウイルス感染症に应答して気管支上皮細胞によって放出され得る。TSLPは、上皮細胞、内皮細胞、好中球、マクロファージおよび肥満細胞を含む広範囲の組織および細胞型に見出されるIL-7R $\alpha$ /TSLPRヘテロ二量体を介してシグナルを伝達する。TSLPのその受容体への結合は、JAK1およびJAK2を活性化してSTAT3およびSTAT5を含む様々な転写因子をリン酸化する立体構造変化を誘導する。免疫細胞では、これは、細胞増殖、抗アポトーシス、樹状細胞遊走、ならびにTh2サイトカインおよびケモカインの産生をもたらす細胞内事象のカスケードの引き金を引く。末梢血単核細胞（PBMC）では、TSLPは、骨髓樹状細胞を活性化してT細胞を誘引および刺激することによって炎症促進効果を有し、これは化学誘引物質であるTARCによって媒介されるプロセスである。

40

【0179】

このアッセイでは、TSLP刺激がPBMCからのTARC放出を誘導すること、および化合物で処理すると、この応答は用量依存的に減弱されることが示された。TARC放出の阻害について、試験化合物の効力を測定した。

【0180】

3～5人のドナーから得た（予め全血から単離され、-80℃で、一定分割量で凍結さ

50

れた) P B M C 一定分割量を 37℃で解凍し、50 mL の F a l c o n チューブ中の 40 mL の予め加温され、滅菌濾過された完全 R P M I 培地に滴下して加えた。細胞をペレット化し、 $2.24 \times 10^6$  細胞/mL で完全培地に再懸濁した。組織培養処理された 96 ウェル平底マイクロプレートに 85  $\mu$  L (19 万細胞) / ウェルで細胞を播種した。細胞を 37℃、5% C O<sub>2</sub> で 1 時間静置した。

#### 【0181】

化合物は、DMSO 中の 10 mM ストック溶液として受け取られた。3.7 倍段階希釈を実施して、最終アッセイ試験濃度の 300 倍で DMSO 中試験化合物の 9 つ濃度を生成した。完全培地中で 150 倍の中間希釈を実施して、0.2% DMSO を含む最終アッセイ試験濃度の 2 倍の化合物を生成した。1 時間の休止期間後、33.33  $\mu$  M ~ 0.95  $\mu$  M の最終アッセイ濃度範囲とするために、P B M C の各ウェルに 95  $\mu$  L の 2 倍化合物を添加した。完全培地中の 95  $\mu$  L の 0.2% DMSO を非処理対照ウェルに添加した。刺激前に、37℃、5% C O<sub>2</sub> で 1 時間、化合物で細胞を前処理した。

#### 【0182】

0.1% BSA を含む無菌 D P B S 中に 10  $\mu$  g/mL で組換えヒト T S L P タンパク質を再構成し、-20℃で、一定分割量で保存した。使用直前に、一定分割量を解凍し、完全培地中に最終アッセイ濃度の 20 倍で調製した。10  $\mu$  L の 20 倍 T S L P を P B M C の各ウェルに添加し、10 ng/mL の最終アッセイ濃度とした。刺激されない対照ウェルに 10  $\mu$  L の完全培地を添加した。化合物の存在下で、37℃、5% C O<sub>2</sub> で 48 時間、細胞を刺激した。

#### 【0183】

刺激後、細胞培養上清を採集し、製造業者の指示に従って Human C C L 17 / T A R C Q u a n t i k i n e E L I S A K i t (R & D S y s t e m s # D D N 0 0) を使用して、酵素結合免疫吸着アッセイ (E L I S A) によって T A R C レベルを検出した。

#### 【0184】

用量応答分析のために、各ドナーに対するパーセント応答値に対して log [試験化合物 (M)] をプロットし、可変勾配を有する 4 パラメータ S 字状用量応答アルゴリズムを使用して、GraphPad Prism Software による非線形回帰分析を使用して I C<sub>50</sub> 値を決定した。データは、個々のドナーの p I C<sub>50</sub> 値から計算され、小数点 1 桁に四捨五入された平均 p I C<sub>50</sub> (I C<sub>50</sub> の負の常用対数) 値として表される。元の化合物およびそれらのデスーフルオロ修飾された類似体による阻害の効力値を表 7 に要約する。

#### 【表 7】

表 7: ヒト末梢血単核細胞における TSLP 誘発性 TARC 放出の阻害についての

試験化合物の効力 (pIC<sub>50</sub>) 値

| 化合物 | pIC <sub>50</sub> ± 標準偏差 |
|-----|--------------------------|
| 1   | 7.2 ± 0.1                |
| C-1 | 7.0 ± 0.1                |

#### アッセイ 5: 肺 S9 代謝

#### 【0185】

ヒト肺 S9 画分において、化合物 1 および C-1 のインビトロ代謝安定性を評価した (1  $\mu$  M 化合物; 1 mg/mL の S9 タンパク質)。高分解能 LC-MS/MS によって、時間 0、15、30 および 60 分の試料を親化合物について分析した。ヒト由来の肺 S9 画分 (ロット 1410245) は、XenoTech LLC (Lenexa, KS) から購入した。NADPH (Sigma Aldrich, N1630) および 3-ホスホアデノシン 5-ホスホサルファート (PAPS) (Sigma Aldrich, A16

51) は、Sigma Aldrich (St. Louis, MO) から購入した。アセトニトリルおよび水は、VWR (Radnor, PA) から取得し、HPLCグレードまたはそれより高いものであった。ラロキシフェンおよびギ酸は、Sigma Aldrich (St. Louis, MO) から購入した。96ウェルポリプロピレンプレート中、37℃の水浴中で、肺S9インキュベーションを行った。肺S9溶液は、1mM NADPH (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)、3mM塩化マグネシウム (Sigma Aldrich, M1028) を補充され、100μM PAPS (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 補因子の存在下でpH7.4に緩衝化された100mMリン酸カリウム (BD Biosciences, Woburn, MA) からなり、1mg/mLの最終インキュベーションタンパク質濃度であった。ラロキシフェン (n=1) および化合物 (n=1) の10mM DMSOストックを緩衝液で希釈し、インキュベーションの中に添加して、1μMの基質濃度 (0.001% DMSO v/v) を得た。インキュベーション体積は400μLからなり、70μLの一定分割量を取り出し、140μLアセトニトリル (0%ギ酸) 中に希釈することによって、タイムポイントを0、15、30および60分にとった。すべての試料を5℃で10分間、2250gで遠心分離した。遠心分離した試料から上清 (50μL) を採取し、内部標準を含有する100μLのHPLC水中に希釈した。Dionex Ultimate 3000オートサンプラー上で試料を実行し、Thermo Q-Exacti ve高分解能質量分析計 (Thermo, Waltham, MA) を使用して、Atlantis T3カラム3μM-2.1×50mm (Waters Inc., 186003717) と併用してフルスキャンモードで分析した。移動相Aは水+0.2%ギ酸からなり、移動相Bはアセトニトリル+0.2%ギ酸からなった。ピーク積分は、Gubbs GMSUソフトウェア (Gubbs Inc., Alpharetta, GA) を使用して達成した。各試料について、分析物ピーク面積を内部標準ピーク面積で割ることによってピーク面積比を計算した。各インキュベーションについて、各t0における分析物のピーク面積比を100%に設定し、60分の試料からのピーク面積比を、対応するt0に比して残存するパーセンテージに変換した。サルファート代謝産物形成の決定は、過去の内部データに基づいて、各親化合物のO-サルファート代謝産物に対応する親イオンチャネル中の早期溶出ピークの観察によって定行的に行った。アッセイの結果を表8に要約する (n=2反復)。

【表8】

表8: ヒト肺S9画分における代謝安定性

| 化合物 | クリアランス (μL/分/mg) | 60分で残存する化合物 (%) | サルファート出現 |
|-----|------------------|-----------------|----------|
| 1   | 3.5              | 81              | あり       |
| C-1 | 49.0             | 6               | あり       |

## 【0186】

その対応するフルオロ類似体 (化合物C-1) と比較すると、化合物1は、著しくより少ない硫酸化代謝を生じた。

アッセイ6: マウスの血漿および肺における薬物動態

## 【0187】

試験化合物の血漿および肺濃度ならびにそれらの比を以下のように決定した。Charles River LaboratoriesからのBALB/cマウスをアッセイにおいて使用した。0.2mg/mLの濃度で、pH4クエン酸緩衝液中20%プロピレングリコール中に化合物1を個別に製剤化し、50μLの投与溶液を経口吸引によってマウスの気管中に導入した。投与後の様々な時点 (代表的には、0.167、2、6、24時間) において、心臓穿刺によって血液試料を取り出し、無傷の肺をマウスから切り取った。4℃、約12,000rpmで血液試料を4分間遠心分離して (Eppendorf 遠心

機、5804R)、血漿を採取した。肺をパッドで乾燥させ、秤量し、無菌水中、1:3の希釈でホモジナイズした。試験マトリックスにおいて標準曲線に構築された分析標準に対するLC-MS分析によって、試験化合物の血漿および肺濃度を決定した。肺対血漿比は、 $\mu\text{g 時間}/\text{g}$ での肺AUC対 $\mu\text{g 時間}/\text{mL}$ での血漿AUCとの比として決定され、AUCは、慣例的に、試験化合物濃度対時間の曲線下面積として定義される。

【表9】

表9:化合物1の単回経口吸引投与後の血漿および肺組織曝露

| 化合物 | 血漿 AUC <sub>(0-24)</sub><br>( $\mu\text{g 時間}/\text{mL}$ ) | 肺組織 AUC <sub>(0-24)</sub><br>( $\mu\text{g 時間}/\text{g}$ ) | 肺組織:血漿<br>AUC比 |
|-----|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|----------------|
| 1   | 0.943                                                      | 54.5                                                       | 57.8           |

10

アッセイ7:ヒト3D気道培養物におけるIFN $\gamma$ およびIL-27誘導性ケモカインCXCL9およびCXCL10の阻害

【0188】

EpiAirway組織培養物をMattek(AIR-100)から得た。培養物は喘息ドナーに由来した。セルカルチャーインサート中で、ヒト由来の気管/気管支上皮細胞を多孔質膜支持体上で増殖および分化させ、細胞下の加温された培養培地および上の気体状試験雰囲気との気液界面を可能にした。37°C、5%CO<sub>2</sub>加湿インキュベータ中、維持培地(Mattek, AIR-100-MM)中で組織を培養した。4人のドナーを試験した。0日目に、10 $\mu\text{M}$ 、1 $\mu\text{M}$ および/または0.1 $\mu\text{M}$ で、液体界面において組織培養物を試験化合物で処理した。化合物1をジメチルスルホキシド(DMSO, Sigma)で希釈して0.1%の最終濃度にした。0.1%のDMSOをビヒクル対照として使用した。培養物とともに37°C、5%CO<sub>2</sub>で化合物1を1時間インキュベートした後、IFN $\gamma$ (R&D Systems)またはIL-27(R&D Systems)を100ng/mLの最終濃度で含有する予め加温された培地を添加した。組織培養物を8日間維持した。培地は、化合物1およびIFN $\gamma$ またはIL-27を含有する新鮮な培地と2日ごとに交換した。8日目に、組織培養物および上清を分析のために収集した。luminex分析(EMD Millipore)を使用して、CXCL10(IP-10)およびCXCL9(MIG)について上清試料をアッセイした。データは、%阻害+/-標準偏差( $\pm\text{STDV}$ )として表されている。ビヒクル処理された細胞と比較した、IFN $\gamma$ またはIL-27誘導性CXCL10またはCXCL9分泌に対する化合物の阻害効力によって、パーセント阻害を決定した。データは4名のドナーからの平均である。化合物1は、ビヒクル対照と比較すると、IFN $\gamma$ 誘導性CXCL10分泌を100% $\pm$ 1.0(10 $\mu\text{M}$ で)、76% $\pm$ 13(1 $\mu\text{M}$ で)および18% $\pm$ 22(0.1 $\mu\text{M}$ で)阻害することができた。化合物1は、ビヒクルと比較すると、IFN $\gamma$ 誘導性CXCL9分泌を100% $\pm$ 0.1(10 $\mu\text{M}$ で)、93% $\pm$ 6.9(1 $\mu\text{M}$ で)および16% $\pm$ 4.1(0.1 $\mu\text{M}$ で)阻害することができた。化合物1は、ビヒクル対照と比較すると、IL-27誘導性CXCL10分泌を100% $\pm$ 0.0(10 $\mu\text{M}$ で)、98% $\pm$ 1.0(1 $\mu\text{M}$ で)および25% $\pm$ 26(0.1 $\mu\text{M}$ で)阻害することができた。化合物1は、ビヒクル対照と比較すると、IL-27誘導性CXCL9分泌を100% $\pm$ 0.0(10 $\mu\text{M}$ で)、97% $\pm$ 2.0(1 $\mu\text{M}$ で)および52% $\pm$ 18(0.1 $\mu\text{M}$ で)阻害することができた。

20

30

40

アッセイ8:細胞JAK効力アッセイ:IFN $\gamma$ 誘導性pSTAT1の阻害

【0189】

フローサイトメトリーを使用してヒト全血(Stanford Blood Center)に由来するCD14陽性(CD14+)単球において、インターフェロンガンマ(IFN $\gamma$ )で刺激されたSTAT1リン酸化の阻害についての化合物1の効力を測定した。IFN $\gamma$ はJAKを介してシグナル伝達するので、このアッセイはJAK細胞効力の尺度

50

を提供する。

【0190】

フルオレセインイソチシアナート (FITC) コンジュゲート抗CD14抗体 (Clone RM052、Beckman Coulter) を使用して単球を同定し、Alexa Fluor 647 コンジュゲート抗pSTAT1抗体 (pY701、Clone 4a、BD Biosciences) を使用してSTAT1リン酸化を検出した。

【0191】

フィコール勾配を使用して、健康なドナーのヒト全血からヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を単離した。10%ウシ胎児血清 (FBS、Life Technologies)、2mM Glutamax (Life Technologies)、25mM HEPES (Life Technologies) および1XPen/Strep (Life Technologies) を補充したRPMI (Life Technologies) 中で、細胞を37℃、5%CO<sub>2</sub>加湿インキュベータ中で培養した。25万細胞/ウェルで細胞を培地 (200 μL) に播種し、2時間培養し、様々な濃度の試験化合物を含有するアッセイ培地 (50 μL) (0.1%ウシ血清アルブミン (Sigma)、2mM Glutamax、25mM HEPESおよび1XPenstrepを補充したRPMI) に再懸濁した。化合物をDMSOで段階希釈し、次いで培地でさらに1000倍希釈して、最終DMSO濃度を0.1%にした。試験化合物希釈液を細胞とともに37℃、5%CO<sub>2</sub>で1時間インキュベートした後、培地 (50 μL) 中の予め加温されたIFNγ (R&D Systems) を0.6 ng/mLの最終濃度で30分間添加した。サイトカイン刺激後、予め加温された固定溶液 (100 μL) (BD Biosciences) で細胞を37℃、5%CO<sub>2</sub>で10分間固定し、FACS緩衝液 (1mL) (PBS中1%BSA) で2回洗浄し、1:10の抗CD14FITC:FACS緩衝液 (100 μL) に再懸濁し、4℃で15分間インキュベートした。細胞を1回洗浄し、次いで、氷冷Perm Buffer III (BD Biosciences) (100 μL) に4℃で30分間再懸濁した。FACS緩衝液で細胞を2回洗浄し、次いで、1:10の抗pSTAT1 Alexa Fluor 647:FACS緩衝液 (100 μL) に暗所で、室温で30分間再懸濁し、FACS緩衝液で2回洗浄し、MACSQuantフローサイトメータ (Miltenyi) を用いて分析した。

【0192】

試験化合物の阻害効力を決定するために、CD14+単球中でpSTAT1の蛍光強度中央値 (MFI) を測定した。MFI対化合物濃度の阻害曲線の分析からIC<sub>50</sub>値を決定した。データは、pIC<sub>50</sub> (IC<sub>50</sub>の負の常用対数) 値として表される。化合物1は、このアッセイにおいて7.5のpIC<sub>50</sub>値を示した。

アッセイ9: 細胞JAK効力アッセイ: GM-CSF誘導性pSTAT5の阻害

【0193】

フローサイトメトリーを使用してヒト全血 (Stanford Blood Center) 由来のCD14陽性 (CD14+) 単球において、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) で刺激されたSTAT5リン酸化の阻害についての化合物1の効力を測定した。GM-CSFはJAKを介してシグナル伝達するので、このアッセイはJAK細胞効力の尺度を提供する。

【0194】

フルオレセインイソチシアナート (FITC) コンジュゲート抗CD14抗体 (Clone RM052、Beckman Coulter) を使用して単球を同定し、Alexa Fluor 647 コンジュゲート抗pSTAT5抗体 (pY694、BD Biosciences) を使用してSTAT5リン酸化を検出した。

【0195】

フィコール勾配を使用して、健康なドナーのヒト全血からヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を単離した。10%ウシ胎児血清 (FBS、Life Technologies)、2mM Glutamax (Life Technologies)、25mM HEP

ES (Life Technologies) および 1X Pen/Strep (Life Technologies) を補充した RPMI (Life Technologies) 中で、細胞を 37℃、5% CO<sub>2</sub> 加湿インキュベータ中で培養した。25 万細胞/ウェルで細胞を培地 (200 μL) に播種し、2 時間培養し、様々な濃度の試験化合物を含有するアッセイ培地 (50 μL) (0.1% ウシ血清アルブミン (Sigma)、2mM Glutamax、25mM HEPES および 1X Penstrep を補充した RPMI) に再懸濁した。化合物を DMSO で段階希釈し、次いで培地でさらに 1000 倍希釈して、最終 DMSO 濃度を 0.1% にした。試験化合物希釈液を細胞とともに 37℃、5% CO<sub>2</sub> で 1 時間インキュベートした後、培地 (50 μL) 中の予め加温された GM-CSF (R&D Systems) を 0.3 ng/mL の最終濃度で 15 分間添加した。サイトカイン刺激後、予め加温された固定溶液 (100 μL) (BD Biosciences) で細胞を 37℃、5% CO<sub>2</sub> で 10 分間固定し、FACS 緩衝液 (1mL) (PBS 中 1% BSA) で 2 回洗浄し、1:10 の抗 CD14 FITC:FACS 緩衝液 (100 μL) に再懸濁し、4℃ で 15 分間インキュベートした。細胞を 1 回洗浄し、次いで、氷冷 Perm Buffer III (BD Biosciences) (100 μL) に 4℃ で 30 分間再懸濁した。FACS 緩衝液で細胞を 2 回洗浄し、次いで、1:10 の抗 pSTAT1 Alexa Fluor 647:FACS 緩衝液 (100 μL) に暗所で、室温で 30 分間再懸濁し、FACS 緩衝液で 2 回洗浄し、MACSQuant フローサイトメータ (Miltenyi) を用いて分析した。

【0196】

試験化合物の阻害効力を決定するために、CD14+ 単球中で pSTAT5 の蛍光強度中央値 (MFI) を測定した。MFI 対化合物濃度の阻害曲線の分析から IC<sub>50</sub> 値を決定した。データは、pIC<sub>50</sub> (IC<sub>50</sub> の負の常用対数) 値として表される。化合物 1 は、このアッセイにおいて 6.9 の pIC<sub>50</sub> 値を示した。

アッセイ 10: 細胞 JAK 効力アッセイ: IL-12 誘導性 pSTAT4 の阻害

【0197】

フローサイトメトリーを使用してヒト全血 (Stanford Blood Center) に由来する CD3 陽性 (CD3+) T 細胞において、インターロイキン-12 (IL-12) で刺激された STAT4 リン酸化の阻害についての化合物 1 の効力を測定した。IL-12 は JAK を介してシグナル伝達するので、このアッセイは JAK 細胞効力の尺度を提供する。

【0198】

フィコエリトリン (PE) コンジュゲート抗 CD3 抗体 (クローン UCHT1、BD Biosciences) を用いて CD3+ T 細胞を同定し、Alexa Fluor 647 コンジュゲート抗 pSTAT4 抗体 (クローン 38/p-Stat4、BD Biosciences) を用いて STAT4 リン酸化を検出した。

【0199】

フィコール勾配を使用して、健康なドナーのヒト全血からヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を単離した。10% ウシ胎児血清 (FBS、Life Technologies)、2mM Glutamax (Life Technologies)、25mM HEPES (Life Technologies)、1X Pen/Strep (Life Technologies)、プレートに結合された精製された抗 CD3 抗体 (5 μg/mL、クローン UCHT1、BD Biosciences) および可溶性抗 CD28 抗体 (1 μg/mL、クローン CD28.2、BD Biosciences) を補充した RPMI (Life Technologies) 中で、細胞を 37℃、5% CO<sub>2</sub> 加湿インキュベータ中で 3 日間培養した。細胞を採集し、培地で洗浄し、次いで、インターロイキン-2 (IL-2、10 ng/mL、R&D Systems) を含有する培地に再懸濁した。37℃、5% CO<sub>2</sub> 加湿インキュベータ内で細胞を 3 日間培養した。細胞を採集し、RPMI で洗浄し、25 万細胞/ウェルで培地 (200 μL) に播種し、2 時間培養し、様々な濃度の試験化合物を含有するアッセイ培地 (50 μL) (0.1% ウシ血清アル

ブミン (Sigma)、2mM Glutamax、25mM HEPESおよび1×Penstrepを補充したRPMI)に再懸濁した。化合物をDMSOで段階希釈し、次いで培地でさらに1000倍希釈して、最終DMSO濃度を0.1%にした。試験化合物希釈液を細胞とともに37℃、5%CO<sub>2</sub>で1時間インキュベートした後、培地(50μL)中の予め加温されたIL-12(R&D Systems)を10ng/mLの最終濃度で30分間添加した。サイトカイン刺激後、予め加温された固定溶液(100μL)(BD Biosciences)で細胞を37℃、5%CO<sub>2</sub>で10分間固定し、FACS緩衝液(1mL)(PBS中1%BSA)で2回洗浄し、氷冷Perm Buffer III(1000μL)(BD Biosciences)に4℃で30分間再懸濁した。FACS緩衝液で細胞を2回洗浄し、次いで、抗CD3 PE(1:50希釈)および抗pSTAT4 Alexa Fluor 647(1:10希釈)を含有するFACS緩衝液(100μL)に暗所、室温で45分間再懸濁した。インキュベーション後、FACS緩衝液で細胞を2回洗浄した後、MACSQuantフローサイトメータ(Miltenyi)を使用して分析した。試験化合物の阻害効力を決定するために、CD3+T細胞中でpSTAT4の蛍光強度中央値(MFI)を測定した。MFI対化合物濃度の阻害曲線の分析からIC<sub>50</sub>値を決定した。データは、pIC<sub>50</sub>(IC<sub>50</sub>の負の常用対数)値として表される。化合物1は、このアッセイにおいて6.0のpIC<sub>50</sub>値を示した。

10

アッセイ11: 混合リンパ球反応アッセイにおけるIFNγ分泌の阻害

【0200】

混合リンパ球反応アッセイは、移植拒絶を模倣するインビトロアッセイである。あるドナー由来のT細胞を、別のドナー由来の同種樹状細胞とともに培養する。この反応は、IFNγ分泌などの細胞性免疫応答を誘導する。

20

【0201】

フィコール勾配および磁気分離(CD14マイクロビーズ、Miltenyi)を使用して、ドナーAのヒト全血(Stanford blood center)からCD14+単球を単離した。10%ウシ胎児血清(FBS、Life Technologies)、2mM Glutamax(Life Technologies)、1×Pen/Strep(Life Technologies)、インターロイキン-4(IL-4、50ng/mL、R&D Systems)および顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF、50ng/mL、R&D Systems)を補充したRPMI(Life Technologies)中で37℃、5%CO<sub>2</sub>加湿インキュベータ内で細胞を6日間培養することによって、単球を樹状細胞に分化させた。樹状細胞を採集し、培地で洗浄し、次いで、37℃、5%CO<sub>2</sub>加湿インキュベータ内で24時間、大腸菌(Escherichia coli)由来のリポ多糖(LPS、100ng/mL、Sigma)を含有する培地中で細胞を培養することによって活性化した。細胞を採集し、培地で洗浄し、培地に40万細胞/mLに再懸濁し、1万細胞/ウェル/25μLでプレートした。フィコール勾配および磁気分離(CD4+T細胞単離キット、Miltenyi)を使用して、ドナーBのヒト全血(Stanford blood center)からCD4+T細胞を新たに単離した。10%ウシ胎児血清(FBS、Life Technologies)、2mM Glutamax(Life Technologies)、25mM HEPES(Life Technologies)および1×Pen/Strep(Life Technologies)を補充したRPMI(Life Technologies)中に、T細胞を400万細胞/mLに再懸濁した。CD4+T細胞を10万細胞/ウェル/25μLで樹状細胞と混合した。10μM、1μMおよび/または0.1μMの最終濃度になるように、試験化合物(20μM、2μMおよび/または0.2μMで50μL)で細胞を処理した。化合物1をジメチルスルホキシド(DMSO、Sigma)で希釈して0.1%の最終濃度にした。0.1%のDMSOをビヒクル対照として使用した。37℃、5%CO<sub>2</sub>加湿インキュベータ内に細胞を5日間維持した。5日目に、上清を収集し、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)を使用してインターフェロンガンマ(INFγ)について測定した。ビヒクル処理された細胞と比較した、IFNγ分

30

40

50

泌に対する化合物の阻害効力によって、パーセント阻害を決定した。データは4名のドナーからの平均である。化合物1は、ビヒクル対照と比較すると、IFN $\gamma$ 分泌を99% $\pm$ 0.4 (10  $\mu$ Mで)、76% $\pm$ 10 ( $\mu$ Mで) および43% $\pm$ 12 (0.1  $\mu$ Mで) 阻害することができた。

アッセイ12：喘息ドナー由来のヒト3D気道培養物における自発性ペリオスチンおよびIL-6分泌の阻害

【0202】

EpiAirway組織培養物をMattek (AIR-100) から得た。細胞は、Th2媒介喘息 (好酸球性) に関連するマトリックス細胞タンパク質であるペリオスチン、ならびにTh2および非Th2関連喘息の両方で役割を果たす炎症性サイトカインであるインターロイキン-6 (IL-6) を自発的に分泌する喘息ドナーに由来した。セルカルチャーインサート中で、ヒト由来の気管/気管支上皮細胞を多孔質膜支持体上で増殖および分化させ、細胞下の加温された培養培地および上の気体状試験雰囲気との気液界面を可能にした。37°C、5%CO<sub>2</sub>加湿インキュベータ中、維持培地 (Mattek、AIR-100-MM) 中で組織を培養した。4名のドナーを試験した。0日目に、10  $\mu$ M、1  $\mu$ Mおよび/または0.1  $\mu$ Mで、液体界面において組織培養物を試験化合物で処理した。化合物1をジメチルスルホキシド (DMSO、Sigma) で希釈して0.1%の最終濃度にした。0.1%のDMSOをビヒクル対照として使用した。組織培養物を8日間維持した。培地は、化合物1を含有する新鮮な培地と2日ごとに交換した。8日目に、分析のために上清を収集した。Luminex分析 (EMD Millipore) を使用して、ペリオスチンおよびインターロイキン-6 (IL-6) について上清試料をアッセイした。データは、%阻害+/-標準偏差 ( $\pm$ STDV) として表されている。ビヒクル処理された細胞と比較して、ペリオスチンおよびIL-6の自発的分泌に対する化合物の阻害効力によってパーセント阻害を決定した。データは、3名または4名のドナーからの平均である。化合物1は、ビヒクル対照と比較すると、自発的なペリオスチン分泌を62% $\pm$ 25 (10  $\mu$ Mで) および40% $\pm$ 28 (1  $\mu$ Mで) 阻害することができた。化合物1は、ビヒクルと比較すると、自発的なIL-6分泌を91% $\pm$ 9.0 (10  $\mu$ Mで)、70% $\pm$ 33 (1  $\mu$ Mで) および10% $\pm$ 40 (0.1  $\mu$ Mで) 阻害することができた。

結晶構造

【0203】

ヒトJAK1に結合した化合物C-1の共結晶構造を2.28 Åの分解能で得た。リガンドは、ATP結合部位中に結合することが観察された。ドナー原子とアクセプター原子間の3.5 Åまたはそれ未満の距離に基づいて、7つの特定の水素結合相互作用を同定した。特に注目すべきことに、C-1の化合物の環外アミドのカルボニルとJAK1のArg 879の側鎖との間に水素結合相互作用が同定された。それ以外は密接に関連するキナーゼ (例えば、TRKA、VEGFR、ABL1) が同等の位置にアルギニン残基を有さないもので、以前のモデル化研究において、この相互作用は、他のチロシンキナーゼを上回るJAK1への選択性を付与する手段として提案されていた。結晶構造中での水素結合相互作用の観察された結果および環外アミドを有さない系列と比較して改善されたカイノーム選択性は、このデザイン仮説の正当性を証明する。

【0204】

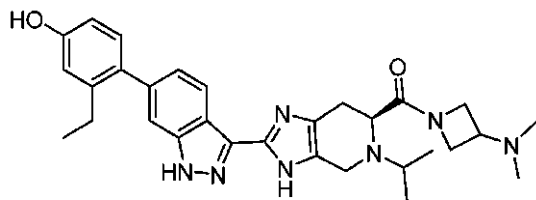
本開示は、その特定の態様または実施形態を参照して説明してきたが、本開示の真の趣旨および範囲から逸脱することなく、様々な変更が行われ得、等価物で置換され得ることが当業者によって理解される。さらに、適用される特許法および規則によって認められる限りにおいて、本明細書に引用されたすべての刊行物、特許および特許出願は、各文書が個別に参照により本明細書中に援用されるのと同程度に、その全体が参照により本明細書に援用される。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

式1の化合物：

## 【化 20】



1

の結晶性水和物であって、前記結晶性水和物が、 $5.68 \pm 0.20$ 、 $10.43 \pm 0.20$ 、 $10.94 \pm 0.20$ 、および $13.08 \pm 0.20$ の $2\theta$ 値に回折ピークを含む粉末X線回折パターンによって特徴付けられる、結晶性水和物。

## (項目 2)

前記粉末X線回折パターンが、 $8.49 \pm 0.20$ の $2\theta$ 値に1つのさらなる回折ピークを有することによってさらに特徴付けられる、項目 1 に記載の結晶性水和物。

## (項目 3)

前記粉末X線回折パターンが、 $11.55 \pm 0.20$ 、 $12.20 \pm 0.20$ 、 $17.06 \pm 0.20$ 、および $26.29 \pm 0.20$ から選択される $2\theta$ 値に2またはそれを超えるさらなる回折ピークを有することによってさらに特徴付けられる、項目 2 に記載の結晶性水和物。

## (項目 4)

前記粉末X線回折パターンが、 $11.55 \pm 0.20$ 、 $12.20 \pm 0.20$ 、 $17.06 \pm 0.20$ 、および $26.29 \pm 0.20$ の $2\theta$ 値にさらなる回折ピークを有することによってさらに特徴付けられる、項目 2 に記載の結晶性水和物。

## (項目 5)

前記結晶性水和物が、ピーク位置が図 1 に示されるパターンのピーク位置と実質的に一致する粉末X線回折パターンによって特徴付けられる、項目 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の結晶性水和物。

## (項目 6)

前記結晶性水和物が、 $212.4 \pm 3^\circ\text{C}$ の温度において吸熱熱流の最大値を示す、 $10^\circ\text{C}/\text{分}$ の加熱速度で記録された示差走査熱量測定トレースによって特徴付けられる、項目 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の結晶性水和物。

## (項目 7)

前記結晶性水和物が、図 2 に示されるものと実質的に一致する示差走査熱量測定トレースによって特徴付けられる、項目 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の結晶性水和物。

## (項目 8)

前記結晶性水和物が一水和物である、項目 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の結晶性水和物。

## (項目 9)

項目 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の結晶性水和物と薬学的に許容され得るキャリアとを含む薬学的組成物。

## (項目 10)

(a) (S) - (3 - (ジメチルアミノ) アゼチジン - 1 - イル) (2 - (6 - (2 - エチル - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - インダゾール - 3 - イル) - 5 - イソプロピル - 4, 5, 6, 7 - テトラヒドロ - 3 H - イミダゾ [4, 5 - c] ピリジン - 6 - イル) メタノン を  $55^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$  の温度でアルコール溶媒中に溶解させて溶液を得ることと；

(b) 工程 (a) において得られた前記溶液を  $10^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$  に冷却して懸濁液を生成することと；

(c) 不活性気体条件下で工程 (b) の前記懸濁液から固体を単離することと；

(d) 工程 (c) において得られた前記固体を  $60^\circ\text{C} \pm 15^\circ\text{C}$  で乾燥させることと；

(e) 工程 (d) において得られた前記固体を周囲の湿度および温度の条件に供して結

10

20

30

40

50

晶性水和物を得ることと；

を含む、項目 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の結晶性水和物を調製する方法。

(項目 1 1)

前記アルコール溶媒がメタノールまたはエタノールである、項目 1 0 に記載の方法。

(項目 1 2)

哺乳動物における呼吸器疾患を処置するための、項目 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の結晶性水和物。

(項目 1 3)

前記呼吸器疾患が、喘息、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肺臓炎、特発性肺線維症、急性肺傷害、急性呼吸窮迫症候群、気管支炎、気腫、サルコイドーシス、好酸球性疾患、蠕虫感染症、肺動脈性肺高血圧症、リンパ脈管平滑筋腫症、気管支拡張症、浸潤性肺疾患、薬物誘発性肺臓炎、真菌誘発性肺臓炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、過敏性肺臓炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、特発性急性好酸球性肺炎、特発性慢性好酸球性肺炎、好酸球増加症候群、レフラー症候群、閉塞性細気管支炎性器質化肺炎、肺移植片対宿主病、および免疫チェックポイント阻害剤誘発性肺臓炎からなる群から選択される、項目 1 2 に記載の結晶性水和物。

(項目 1 4)

前記呼吸器疾患が喘息である、項目 1 2 に記載の結晶性水和物。

(項目 1 5)

前記喘息が中等度～重度の喘息である、項目 1 4 に記載の結晶性水和物。

(項目 1 6)

前記結晶性水和物が、吸入によって薬学的組成物中で投与される、項目 1 2 に記載の結晶性水和物。

(項目 1 7)

哺乳動物における肺移植拒絶を防止または遅延させるための、項目 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の結晶性水和物。

(項目 1 8)

前記肺移植拒絶が、原発性移植片機能不全、器質化肺炎、急性拒絶、リンパ球性細気管支炎、および慢性移植肺機能不全からなる群から選択される、項目 1 7 に記載の結晶性水和物。

(項目 1 9)

前記肺移植拒絶が急性肺移植拒絶である、項目 1 7 に記載の結晶性水和物。

(項目 2 0)

前記肺移植拒絶が慢性移植肺機能不全である、項目 1 7 に記載の結晶性水和物。

(項目 2 1)

前記肺移植拒絶が、閉塞性細気管支炎、拘束性慢性移植肺機能不全、および好中球性同種移植片機能不全からなる群から選択される、項目 1 7 に記載の結晶性水和物。

(項目 2 2)

前記結晶性水和物が、吸入によって薬学的組成物中で投与される、項目 1 7 に記載の結晶性水和物。

(項目 2 3)

哺乳動物における呼吸器疾患を処置するための医薬の製造における、項目 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の結晶性水和物の使用。

(項目 2 4)

前記呼吸器疾患が、喘息、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肺臓炎、特発性肺線維症、急性肺傷害、急性呼吸窮迫症候群、気管支炎、気腫、サルコイドーシス、好酸球性疾患、蠕虫感染症、肺動脈性肺高血圧症、リンパ脈管平滑筋腫症、気管支拡張症、浸潤性肺疾患、薬物誘発性肺臓炎、真菌誘発性肺臓炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、過敏性肺臓炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、特発性急性好酸球性肺炎、特発性慢性好酸球性肺炎、好酸球増加症候群、レフラー症候群、閉塞性細気管支炎性器質化肺炎、肺移植片

10

20

30

40

50

対宿主病、および免疫チェックポイント阻害剤誘発性肺臓炎からなる群から選択される、項目 2 3 に記載の使用。

(項目 2 5)

前記呼吸器疾患が喘息である、項目 2 3 に記載の使用。

(項目 2 6)

前記喘息が中等度～重度の喘息である、項目 2 5 に記載の使用。

(項目 2 7)

前記医薬が吸入によって投与される、項目 2 3 に記載の使用。

(項目 2 8)

哺乳動物における肺移植拒絶を予防または遅延させるための医薬の製造における、項目 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の結晶性水和物の使用。

(項目 2 9)

前記肺移植拒絶が、原発性移植片機能不全、器質化肺炎、急性拒絶、リンパ球性細気管支炎、および慢性移植肺機能不全からなる群から選択される、項目 2 8 に記載の使用。

(項目 3 0)

前記肺移植拒絶が急性肺移植拒絶である、項目 2 8 に記載の使用。

(項目 3 1)

前記肺移植拒絶が慢性移植肺機能不全である、項目 2 8 に記載の使用。

(項目 3 2)

前記肺移植拒絶が、閉塞性細気管支炎、拘束性慢性移植肺機能不全、および好中球性同種移植片機能不全からなる群から選択される、項目 2 8 に記載の使用。

(項目 3 3)

前記医薬が吸入によって投与される、項目 2 8 に記載の使用。

(項目 3 4)

哺乳動物における呼吸器疾患を処置する方法であって、項目 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の結晶性水和物と薬学的に許容され得るキャリアとを含む薬学的組成物を前記哺乳動物に投与することを含む、方法。

(項目 3 5)

前記呼吸器疾患が、喘息、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肺臓炎、特発性肺線維症、急性肺傷害、急性呼吸窮迫症候群、気管支炎、気腫、サルコイドーシス、好酸球性疾患、蠕虫感染症、肺動脈性肺高血圧症、リンパ脈管平滑筋腫症、気管支拡張症、浸潤性肺疾患、薬物誘発性肺臓炎、真菌誘発性肺臓炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、過敏性肺臓炎、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症、特発性急性好酸球性肺炎、特発性慢性好酸球性肺炎、好酸球増加症候群、レフラー症候群、閉塞性細気管支炎性器質化肺炎、肺移植片対宿主病、および免疫チェックポイント阻害剤誘発性肺臓炎からなる群から選択される、項目 3 4 に記載の方法。

(項目 3 6)

前記呼吸器疾患が喘息である、項目 3 4 に記載の方法。

(項目 3 7)

前記喘息が中等度～重度の喘息である、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記薬学的組成物が吸入によって投与される、項目 3 4 に記載の方法。

(項目 3 9)

哺乳動物における肺移植拒絶を予防または遅延させる方法であって、項目 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の結晶性水和物と、薬学的に許容され得るキャリアとを含む薬学的組成物を前記哺乳動物に投与することを含む、方法。

(項目 4 0)

前記肺移植拒絶が、原発性移植片機能不全、器質化肺炎、急性拒絶、リンパ球性細気管支炎、および慢性移植肺機能不全からなる群から選択される、項目 3 9 に記載の方法。

(項目 4 1)

10

20

30

40

50

前記肺移植拒絶が急性肺移植拒絶である、項目 3 9 に記載の方法。

(項目 4 2)

前記肺移植拒絶が慢性移植肺機能不全である、項目 3 9 に記載の方法。

(項目 4 3)

前記肺移植拒絶が、閉塞性細気管支炎、拘束性慢性移植肺機能不全、および好中球性同種移植片機能不全からなる群から選択される、項目 3 9 に記載の方法。

(項目 4 4)

前記薬学的組成物が吸入によって投与される、項目 3 9 に記載の方法。

【図面】

【図 1】

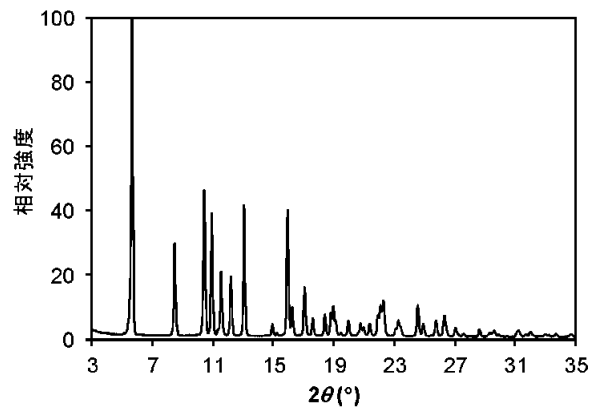


FIG. 1

【図 2】

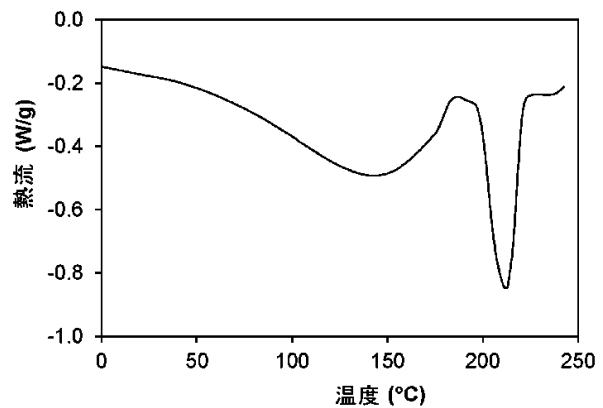


FIG. 2

【図 3】

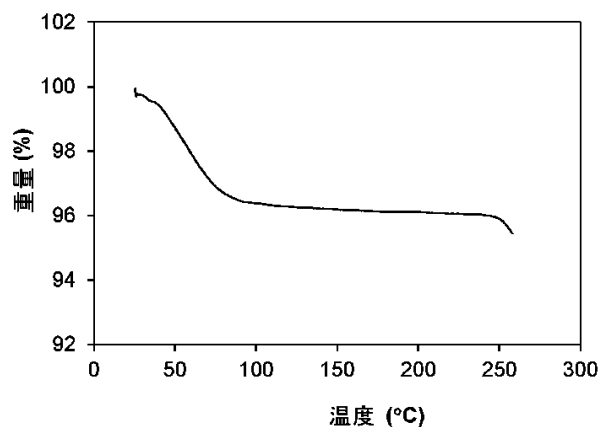


FIG. 3

【図 4】

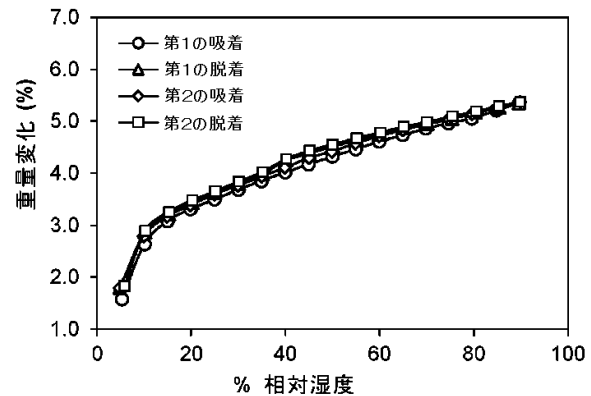


FIG. 4

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

|         |       |           |         |       |
|---------|-------|-----------|---------|-------|
| A 6 1 P | 31/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 11/06 |
| A 6 1 P | 37/06 | (2006.01) | A 6 1 P | 31/00 |
| A 6 1 P | 29/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 37/06 |
|         |       |           | A 6 1 P | 29/00 |

弁護士 山本 健策

## (72)発明者 ファス, ジーン ティモシー

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ゲートウェイ ブールバード 901

審査官 安孫子 由美

## (56)参考文献

国際公開第2018/165395 (WO, A1)  
国際公開第2018/204236 (WO, A1)  
国際公開第2017/077288 (WO, A1)  
特表2020-510015 (JP, A)  
特表2021-535176 (JP, A)  
特表2021-535177 (JP, A)

## (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C07D, A61K  
CAplus/REGISTRY (STN)