

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7316936号
(P7316936)

(45)発行日 令和5年7月28日(2023.7.28)

(24)登録日 令和5年7月20日(2023.7.20)

(51)国際特許分類

C 0 7 H	19/213 (2006.01)	F I	C 0 7 H	19/213
A 6 1 K	31/7084 (2006.01)		A 6 1 K	31/7084
A 6 1 P	35/00 (2006.01)		A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	31/12 (2006.01)		A 6 1 P	31/12
A 6 1 P	31/20 (2006.01)		A 6 1 P	31/20

C S P

請求項の数 17 (全107頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-528031(P2019-528031)
 (86)(22)出願日 平成29年11月21日(2017.11.21)
 (65)公表番号 特表2020-500862(P2020-500862
 A)
 (43)公表日 令和2年1月16日(2020.1.16)
 (86)国際出願番号 PCT/US2017/062901
 (87)国際公開番号 WO2018/098203
 (87)国際公開日 平成30年5月31日(2018.5.31)
 審査請求日 令和2年11月20日(2020.11.20)
 (31)優先権主張番号 62/426,350
 (32)優先日 平成28年11月25日(2016.11.25)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)
 (31)優先権主張番号 62/502,983
 (32)優先日 平成29年5月8日(2017.5.8)

最終頁に続く

(73)特許権者 509087759
 ヤンセンバイオテック、インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国ペンシルベニア州 190
 44ホーシヤム・リツジビュードライブ
 800 / 850
 (74)代理人 100092783
 弁理士 小林 浩
 (74)代理人 100095360
 弁理士 片山 英二
 (74)代理人 100093676
 弁理士 小林 純子
 (74)代理人 100120134
 弁理士 大森 規雄
 (74)代理人 100149010

最終頁に続く

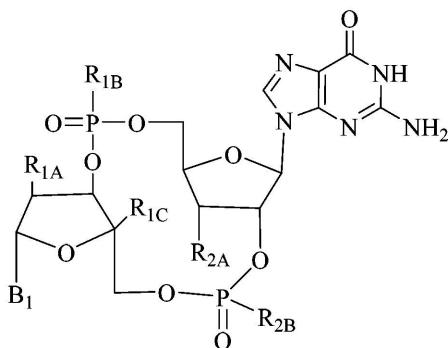
(54)【発明の名称】 S T I N Gアゴニストとしての環状ジヌクレオチド

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(I)の化合物：

【化1】

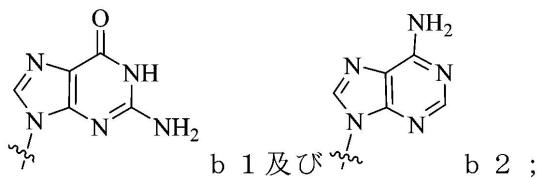


式(I)

[式中、R_{1A}は、フルオロであり、R_{1C}は水素であり、
 又は、R_{1A}とR_{1C}が、これらが結合する原子と共に5員環を形成するように、R_{1A}
 は-O-であり、R_{1C}はCH₂であり；

R_{1B}は、ヒドロキシ、チオール及びBH₃⁻からなる群から選択され；

B₁ は、環 b₁ 及び b₂ からなる群から選択され、
【化 2】

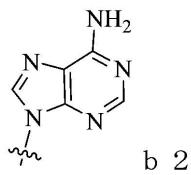


R_{2A} は、ヒドロキシ及びメトキシからなる群から選択され；
R_{2B} は、ヒドロキシ、チオール及び BH₃⁻ からなる群から選択され；
但し、R_{1B} および R_{2B} の一方又は両方が BH₃⁻ である]
又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態。

【請求項 2】

B₁ が、

【化 3】



10

20

である、請求項 1 に記載の化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態。

【請求項 3】

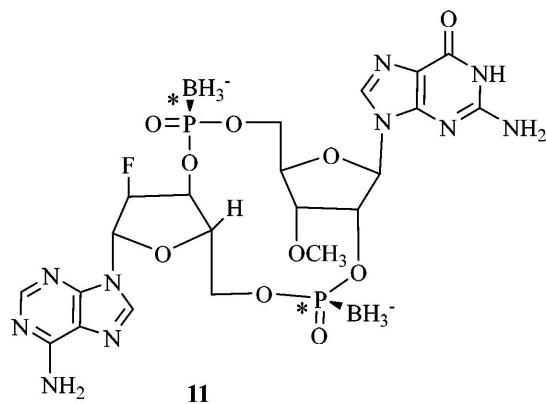
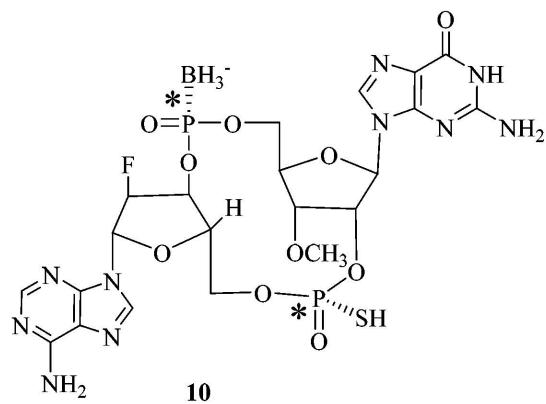
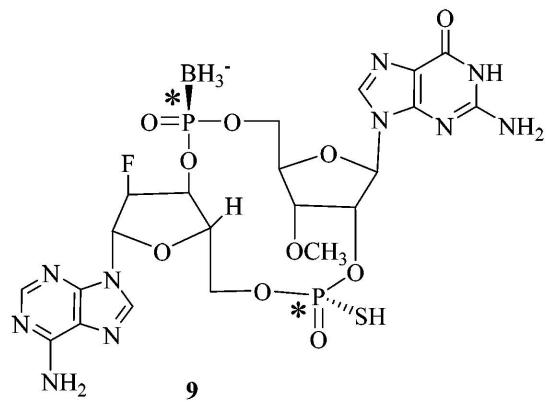
以下

30

40

50

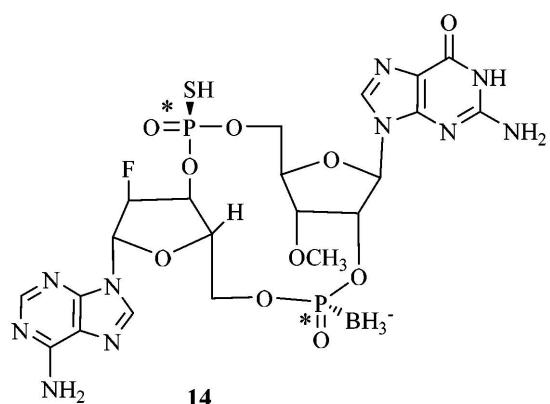
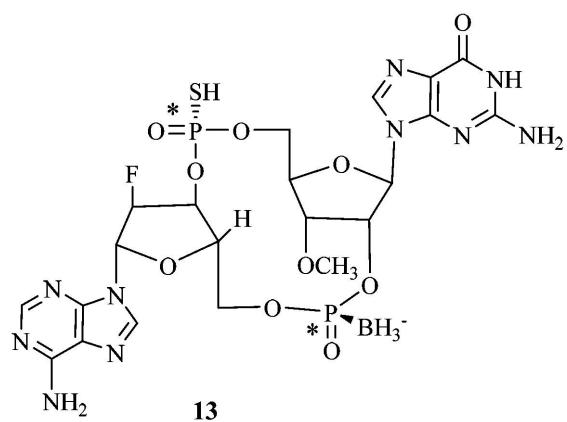
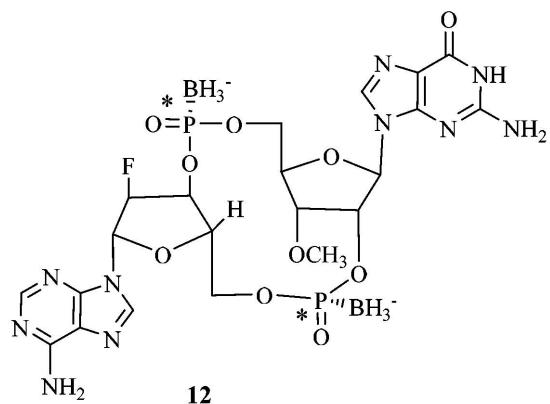
【化 4】



40

50

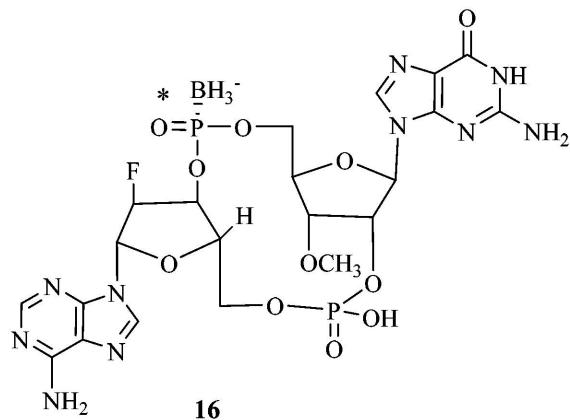
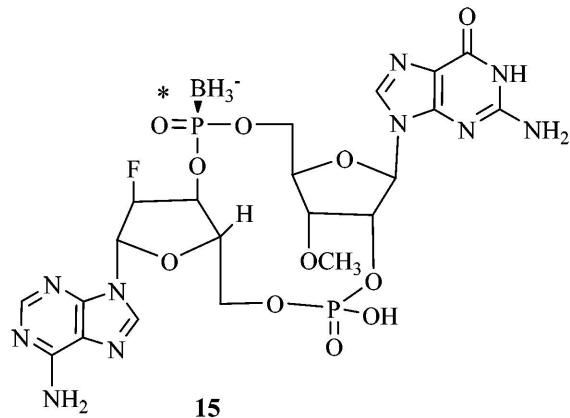
【化 5】



40

50

【化 6】

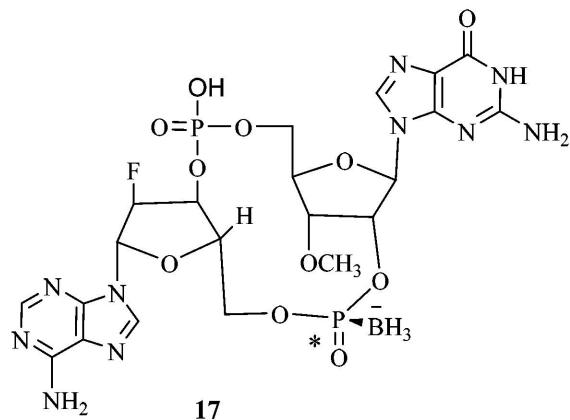


30

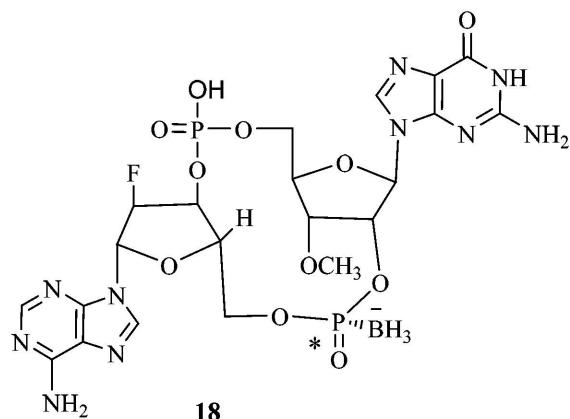
40

50

【化 7】



10



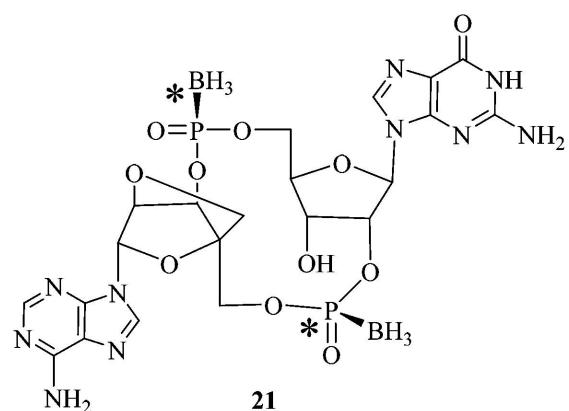
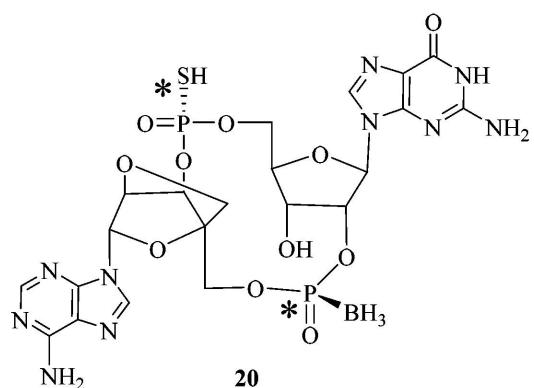
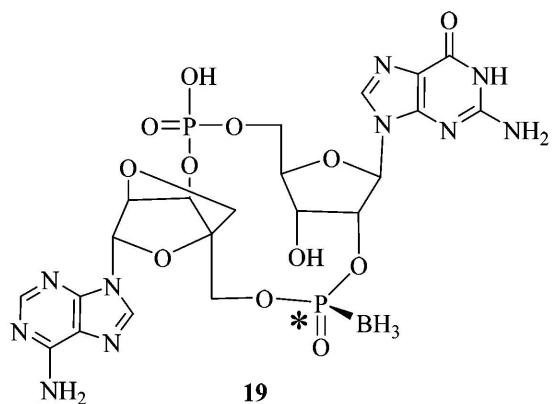
20

30

40

50

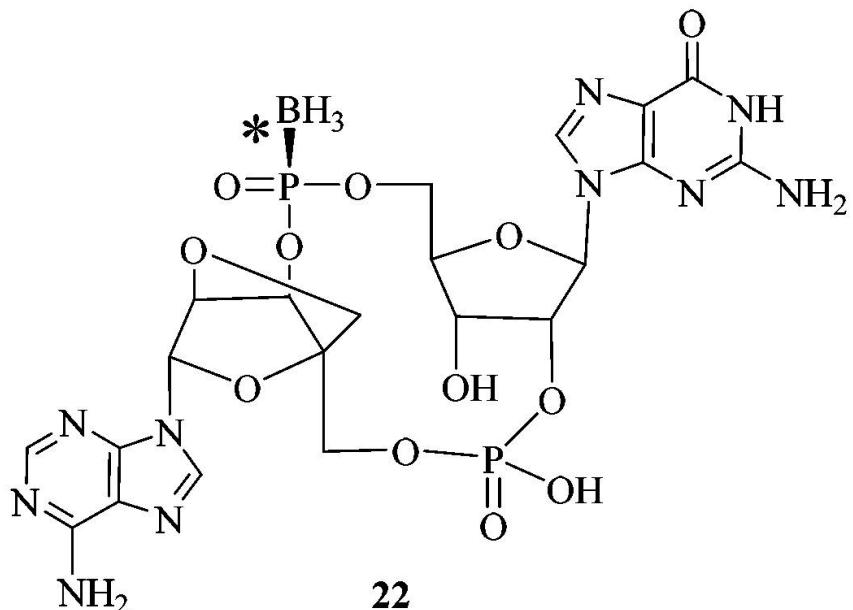
【化 8】



40

50

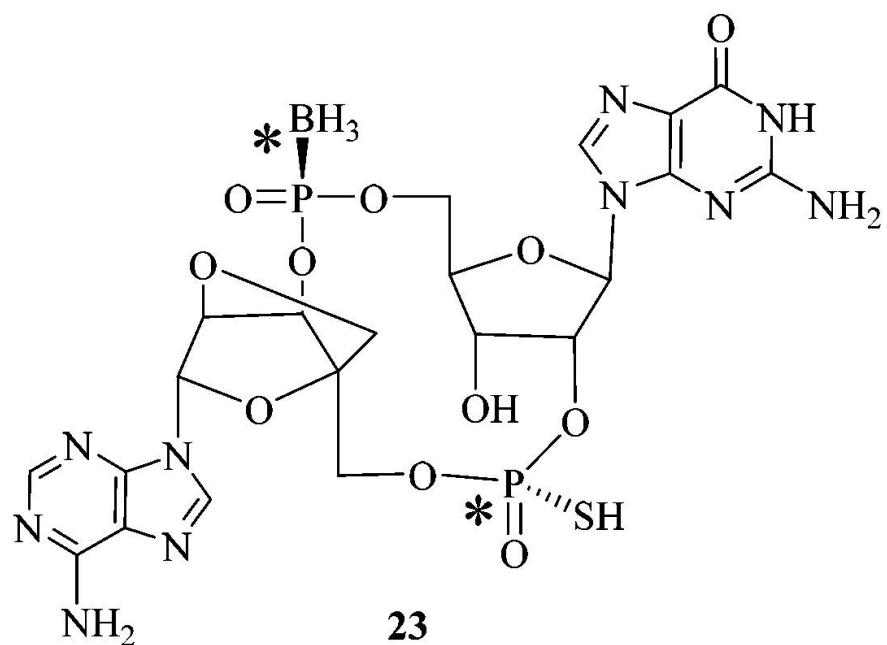
【化9】



10

又は

20



30

、

40

である化合物、又はその医薬的に許容される塩形態。

【請求項4】

請求項1～3のいずれか一項に記載の化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態と、医薬的に許容される担体、医薬的に許容される賦形剤及び医薬的に許容される希釈剤のうち少なくとも1つとを含む、医薬組成物。

【請求項5】

前記組成物が、固体の経口投与形態である、請求項4に記載の医薬組成物。

【請求項6】

前記組成物が、シロップ剤、エリキシル剤又は懸濁剤である、請求項4に記載の医薬組成物。

50

成物。

【請求項 7】

請求項 3 に記載の化合物、又はその医薬的に許容可能な塩形態と、医薬的に許容される担体、医薬的に許容される賦形剤及び医薬的に許容される希釈剤のうち少なくとも 1 つとを含む、医薬組成物。

【請求項 8】

癌を治療する方法で用いるための、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態を含む医薬組成物であって、前記方法が、それを必要とする対象に治療有効量の前記化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態を投与することを含む、医薬組成物。

10

【請求項 9】

前記癌が、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌及び線維肉腫からなる群から選択される、請求項 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

ウイルス感染を治療する方法で用いるための、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態を含む医薬組成物であって、前記方法が、それを必要とする対象に治療有効量の前記化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態を投与することを含む、医薬組成物。

20

【請求項 11】

前記ウイルス感染が、B 型肝炎である、請求項 10 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

ウイルス感染、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌及び線維肉腫からなる群から選択される疾患、症候群又は状態を治療する方法で用いるための、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態を含む医薬組成物であって、前記方法が、それを必要とする対象に、治療有効量の前記化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態を投与することを含む、医薬組成物。

30

【請求項 13】

ウイルス感染、又は癌からなる群から選択される疾患、症候群又は状態の治療を必要とする対象において前記疾患、症候群又は状態を治療するための医薬を調製するための、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態、又は請求項 4 ~ 7 のいずれか一項に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 14】

前記ウイルス感染が、B 型肝炎である、請求項 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

前記ウイルス感染が、B 型肝炎である、請求項 13 に記載の使用。

40

【請求項 16】

前記癌が、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌及び線維肉腫からなる群から選択される、請求項 13 に記載の使用。

【請求項 17】

前記方法が、それを必要とする対象に、請求項 3 に記載の化合物、又はその医薬的に許容可能な塩形態の治療有効量を投与することを含む、請求項 14 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本出願は、2016年11月25日に出願された米国仮特許出願第 62 / 426350

50

号、2017年5月8日に出願された米国仮特許出願第62/502,983号、2017年9月7日に出願された米国仮特許出願第62/555,232号に対する優先権を主張し、これらの特許は、それら全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

(発明の分野)

本発明は、STING (Stimulator of Interferon Gene s ; インターフェロン遺伝子刺激因子) のアゴニストであり、STINGタンパク質の調節によって影響を受ける障害の治療に有用な、新規化合物に関する。本発明はまた、かかる化合物のうちの1つ以上を含む医薬組成物、かかる化合物及び組成物の調製プロセス、及び様々な疾患、症候群及び障害を治療するためのかかる化合物又は医薬組成物の使用に関する。本発明は、下流のシグナル伝達経路の活性化に関与してもよく、更に第2のメッセンジャー及び増殖因子を活性化し、先天性免疫及び適応免疫に関するインターフェロンの産生に関与し得る。より具体的には、本発明は、限定されないが、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及び抗ウイルス療法を含む種々の感染、疾患、症候群及び障害の治療のための、かかる化合物又は医薬組成物の使用に関する。

10

【背景技術】

【0003】

STING (インターフェロン遺伝子の刺激因子) は、T MEM 173、MITA、M PYS 及びERIS としても知られ、細胞内部に位置する膜貫通受容体であり、細胞質核酸の重要なセンサーである (Zhong B, et al. 「The Adaptor Protein MITA Links Virus-Sensing Receptors to IRF3 Transcription Factor Activation.」 *Immunity*. 2008. vol. 29 : 538 - 550)。最近の研究により、STINGの生物学と、マウスモデルにおいて堅牢な抗腫瘍活性をもたらす先天性免疫反応を動員する際の役割とが明らかになってきた。STING経路の活性化によって、IRF3 (インターフェロン調節因子3) 経路によるI型インターフェロン (主にIFN- α 及びIFN- β) の産生が誘導される。IRF3の活性化はTBK1によって介在されると考えられており、TBK1は、IRF3を動員及びリン酸化させることにより、核に移行してI型インターフェロン及びその他の遺伝子を転写させ得るIRF3ホモ二量体を形成させる (Liu S, et al. 「Phosphorylation of innate immune adaptor proteins MAVS, STING, and TRIF induces IRF3 activation」 *Science*. 2015 : 2630 - 2637)。TBK1はまた、癌原性転写因子NF- κ Bを介し活性化B細胞の核因子 軽鎖エンハンサーをも活性化させ、これにより炎症促進性サイトカイン (IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-6、TNF- α など) の産生が誘導される。これに加えて、STINGは、STAT6 (シグナル伝達性転写因子6) を活性化し、ケモカインCCL2、CCL20及びCCL26を含む種々のサイトカインの産生を誘導し (Th2型)、増加させ (IL-12)、又は減少させる (IL-10) (Chen H, et al. 「Activation of STAT6 by STING Is Critical for Antiviral Innate Immunity」 *Cell*. 2011, vol. 14 : 433 - 446)。活性化時のSTINGのSer366の直接的なリン酸化もまた、TBK1を介して起こることが報告されている (Corralles, L. et al. 「Direct activation of STING in the tumor microenvironment leads to potent and systemic tumor regression and immunity」 *Cell Reports*, 2015, vol. 11 : 1 - 13; Konno, H. et al. 「Cyclic dinucleotides trigger ULK1 (ATG1) phosphorylation of STING to prevent sustained innate immune signaling」 *Cell*, 2013, vol. 155 : 688 - 698)。

20

30

40

50

【0004】

STING(2',3')環状グアノシンモノホスフェート-アデノシンモノホスフェート(2',3'-cGAMP)に結合し、これを活性化させる天然リガンドと、その合成に関与する酵素(cGAS、C6orf150又はMB21D1としても知られている)は、この経路を調節する機会を提供することが解明されている。cGAMPは、STING経路を活性化するための内因性の二次メッセンジャーとして機能する、哺乳動物細胞において産生されるSTINGの高親和性リガンドである。cGAMPは、外因性二本鎖DNAの存在下(例えば、細菌、ウイルス又は原虫の侵入により放出される)、又は哺乳動物の自己DNAの存在下でcGASによって生成する固有の2',3'結合を有する環状ジヌクレオチドである(Wu et al., 2013; Sun, L. et al. 「Cyclic GMP-AMP Synthase Is a Cytosolic DNA Sensor That Activates the Type I Interferon Pathway」*Science*, 2013, vol. 339: 786-791; Bhat N及びFitzgerald KA. 「Recognition of Cytosolic DNA by cGAS and other STING-dependent sensors.」*Eur J Immunol.* 2014 Mar; 44(3): 634-40)。STING活性化はまた、侵入してきた細菌によって放出される外因性(3',3')環状ジヌクレオチド(c-ジ-GMP、c-ジ-AMP及び3',3'-cGAMP)の結合によって起こり得る(Zhang X, et al. 「Cyclic GMP-AMP Containing Mixed Phosphodiester Linkages Is An Endogenous High-Affinity Ligand for STING」*Molecular Cell*, 2013, vol. 51: 226-235; Daniilchanka, O及びMekalanos, JJ. 「Cyclic Dinucleotides and the Innate Immune Response」*Cell*. 2013. vol. 154: 962-970)。

10
20

【0005】

STING経路の活性化は、特異的なキラーT細胞を生成する免疫反応を引き起こし、このキラーT細胞が、腫瘍を収縮させ、かつ再発ないように長く持続する免疫を与えることができる。前臨床モデルにおいてSTINGアゴニストを用いて得られた顕著な抗腫瘍活性は、この標的について高レベルの興奮を作り出し、STING経路を調節し得る低分子化合物は、癌を治療するのと、自己免疫疾患を減らすとの両方の可能性がある。

30

【0006】

STING経路の活性化はまた、抗ウイルス応答にも関与する。細胞又は生物レベルのいずれかでの機能性応答の喪失は、STINGが存在しないとウイルス負荷を制御することができないことを示す。STING経路の活性化が免疫応答のトリガーとなり、その結果、ウイルスに対抗し免疫系の先天性及び適応性のアームを動員する抗ウイルス性及び炎症性サイトカインが得られる。最終的に、長期持続性の免疫が、病原性ウイルスに対して発達する。前臨床モデルにおいてSTINGアゴニストを用いて得られた顕著な腫瘍活性は、この標的について高レベルの興奮を作り出し、STING経路を調節し得る低分子化合物は、慢性ウイルス感染(例えばB型肝炎)を治療する可能性がある。

40

【0007】

慢性肝炎B型ウイルス(HBV)への感染は重要な世界的健康問題であり、世界人口の5%以上が感染している(世界中で3億5千万人以上、米国内では125万人の患者)。特定のHBVワクチン及び治療が利用可能ではあるが、慢性HBV感染の負担は、発展途上国の大半では治療選択肢が最適とは言えず、また新たな感染の割合が依然高いことから、重要な未解決の世界的な医療上の問題であり続けている。現在の治療は、ウイルスポリメラーゼの阻害剤として作用するインターフェロン 及びヌクレオシド類似体といった2種類の薬剤のみに限定されている。しかしながら、これらの療法のなかに疾患を治癒するものはなく、かつ薬物耐性、低有効性、及び忍容性についての課題によりその効果が制限される。HBVの治癒率が低いのは、少なくとも一部では、単一の抗ウイルス剤により

50

ウイルス産生を完全に抑制することが困難であるとの事実に起因する。しかしながら、H B V D N A の持続的な抑制は、肝臓疾患の進行を遅らせ、肝細胞癌の防止につながる。H B V 感染患者の現在の治療目標は、血清中のH B V のD N A を低いレベル、又は検出不能なレベルにまで低減させ、最終的には肝硬変及び肝細胞癌の発症を低下又は防止することにある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

したがって、ウイルス産生の抑制を高めることができ、H B V 感染を治療、寛解、又は予防することができる治療剤が当該技術分野で必要とされている。単独療法として、又は他のH B V 治療若しくは補助的治療との併用で、H B V 感染した患者に対しかかる治療剤を投与することによって、ウイルス量の大幅な減少、予後の改善、疾患進行の減少、及びセロコンバージョン率の向上がもたらされる。

10

【0009】

先天性免疫及び適応免疫の両方を強化する潜在的な治療効果は、S T I N G を、それ自身による刺激活性を示し、他の免疫療法と組み合わせることもできる、魅力的な治療標的にする。

【課題を解決するための手段】

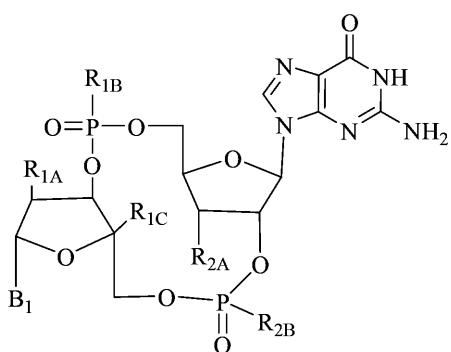
【0010】

本発明は、式(I)の化合物：

20

【0011】

【化1】



30

式 (I)

[式中、

R_{1A}は、ヒドロキシ若しくはフルオロであり、R_{1C}は水素であり、又は、R_{1A}とR_{1C}が、これらが結合する原子と共に5員環を形成するように、R_{1A}は-O-であり、R_{1C}はCH₂であり；

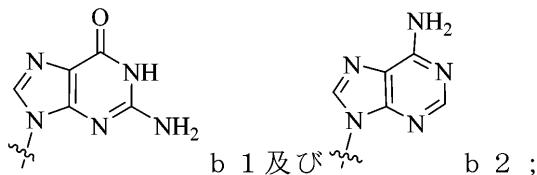
R_{1B}は、ヒドロキシ、チオール及びBH₃⁻からなる群から選択され；

B₁は、環b1及びb2からなる群から選択され、

40

【0012】

【化2】



R_{2A}は、ヒドロキシ及びメトキシからなる群から選択され；

R_{2B}は、ヒドロキシ、チオール及びBH₃⁻からなる群から選択され；

50

但し、式(Ⅰ)の化合物は、(1R, 6R, 8R, 9R, 10R, 15R, 17R, 18R)-17-(2-アミノ-6-オキソ-6, 9-ジヒドロ-1H-プリン-9-イル)-8-(6-アミノ-9H-プリン-9-イル)-9-フルオロ-3, 12, 18-トリヒドロキシ-2, 4, 7, 11, 13, 16-ヘキサオキサ-3⁵, 12⁵-ジホスファトリシクロ[13.2.1.0^{6, 10}]オクタデカン-3, 12-ジオン, ビスアンモニウム塩以外である】

又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容される塩形態に関する。

【0013】

同様に、本発明はまた、医薬的に許容可能な担体、医薬的に許容可能な賦形剤、及び／又は医薬的に許容可能な希釈剤と、式(Ⅰ)の化合物又はその医薬的に許容可能な塩形態とを含むか、又はそれらからなるか、かつ／又はそれらから本質的になる医薬組成物も提供する。

【0014】

更に、式(Ⅰ)の化合物と、医薬的に許容可能な担体、医薬的に許容可能な賦形剤、及び／又は医薬的に許容可能な希釈剤とを混合することを含む、それよりなる、及び／又は本質的にそれよりなる、医薬組成物を製造するためのプロセスが提供される。

【0015】

本発明は更に、式(Ⅰ)の化合物を用い、ウイルス感染、疾患、症候群又は状態がSTINGのアゴニスト活性によって影響を受ける、哺乳動物及び／又はヒトを含む対象においてウイルス感染、疾患、症候群又は状態を治療するか、又は改善するための方法を提供する。

【0016】

本発明は更に、式(Ⅰ)の化合物を用い、哺乳動物及び／又はヒトを含む対象においてウイルス感染、疾患、症候群又は状態を治療するか、又は改善するための方法を提供する。

【0017】

本発明は更に、式(Ⅰ)の化合物を用い、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎からなる群から選択される、ウイルス感染、疾患、症候群又は状態がSTINGのアゴニスト活性によって影響を受ける、哺乳動物及び／又はヒトを含む対象においてウイルス感染、疾患、症候群又は状態を治療するか、又は改善するための方法を提供する。

【0018】

本発明は更に、式(Ⅰ)の化合物を用い、哺乳動物及び／又はヒトを含む対象において、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎からなる群から選択される、ウイルス感染、疾患、症候群又は状態を治療するか、又は改善するための方法を提供する。

【0019】

本発明はまた、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎からなる群から選択される、STINGのアゴニスト活性によって影響を受けるウイルス感染、疾患、症候群又は状態の治療を必要とする対象において当該疾患、症候群又は状態を治療するための医薬が調製される、医薬の調製における本明細書に記載のいずれかの化合物の使用に関する。

【0020】

本発明はまた、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎からなる群から選択される、ウイルス感染、疾患、症候群又は状態の治療を必要とする対象において当該疾患、症候群又は状態を治療するための医薬が調製される、医薬の調製における本明細書に記載のいずれかの化合物の使用に関する。

【0021】

本発明はまた、STINGの選択的なアゴニストとして作用する置換環状ジヌクレオチド誘導体の調製に関する。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 2 】

本発明の例示は、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎からなる群から選択される、S T I N Gによって調節されるウイルス感染、疾患、症候群又は状態を治療する方法であって、当該治療を必要とする対象に、治療有効量の上述の化合物又は医薬組成物のいずれかを投与することを含む、方法である。

【 0 0 2 3 】

本発明の例示は、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎からなる群から選択されるウイルス感染、疾患、症候群又は状態を治療する方法であって、当該治療を必要とする対象に、治療有効量の上述の化合物又は医薬組成物のいずれかを投与することを含む、方法である。

10

【 0 0 2 4 】

別の実施形態では、本発明は、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎からなる群から選択される、S T I N Gのアゴニスト活性によって影響を受けるウイルス感染、疾患、症候群又は状態の治療に使用するための式(Ⅰ)の化合物に関する。

【 0 0 2 5 】

別の実施形態では、本発明は、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎からなる群から選択されるウイルス感染、疾患、症候群又は状態の治療のための式(Ⅰ)の化合物を含む組成物に関する。

【 発明を実施するための形態】**【 0 0 2 6 】**

20

置換基に関連して用いられる「独立して」という用語は、2個以上の置換基が存在し得る場合に、それらの置換基が互いに同じであっても異なってもよい状況を意味する。

【 0 0 2 7 】

単独で用いられるか又は置換基の一部として用いられるかによらず、「アルキル」という用語は、1~8個の炭素原子を有する、直鎖状及び分岐鎖状の炭素鎖を意味する。したがって、指定された炭素原子の数(例えば、C_{1~8})は、独立して、アルキル部分又はより大きなアルキル含有置換基のアルキル部の炭素原子数を意味する。複数のアルキル基を有する置換基、例えば、(C_{1~6}アルキル)₂アミノ-において、ジアルキルアミノのC_{1~6}アルキル基は、同じであっても異なってもよい。

【 0 0 2 8 】

30

「アルコキシ」という用語は、「アルキル」という用語を上記で定義されるものとして-O-アルキル基を意味する。

【 0 0 2 9 】

「アルケニル」及び「アルキニル」という用語は、2~8個の炭素原子を有する、直鎖状及び分岐鎖状の炭素鎖を意味し、アルケニル鎖は、少なくとも1つの二重結合を含み、アルキニル鎖は、少なくとも1つの三重結合を含む。

【 0 0 3 0 】

「シクロアルキル」という用語は、飽和又は部分的に飽和の、単環式又は多環式の、3~14個の炭素原子の炭化水素環を意味する。このような環の例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシリ、シクロヘプチル、及びアダマンチルが挙げられる。

40

【 0 0 3 1 】

「ヘテロシクリル」という用語は、少なくとも1つの炭素原子とN、O及びSから独立して選択される1~4個のヘテロ原子とを含む3~10個の環員を有する非芳香族の単環系又は二環系を意味する。ヘテロシクリルという用語の範囲には、1~2員がNである5~7員の非芳香族環、又はO、1若しくは2員がNであり、2員以下がO若しくはSであり、少なくとも1員がN、O若しくはSのいずれかでなければならない5~7員の非芳香族環が含まれる。環は、所望により、0~1個の不飽和結合を含んでいてよく、環が6又は7員である場合、所望により、2個以下の不飽和結合を含んでいてよい。ヘテロシクリルの環を構成する炭素原子は、完全に飽和していても部分的に飽和していてよい。

50

【0032】

「ヘテロシクリル」という用語はまた、架橋されることで二環式環を形成する2個の5員の単環式ヘテロシクロアルキル基も含む。このような基は、完全に芳香族性とはみなされず、ヘテロアリール基とは称されない。ヘテロシクリルが二環式の場合、ヘテロシクリルの両環は、非芳香環であり、かつ、少なくとも一方の環はヘテロ原子の環員を含む。ヘテロシクリル基の例としては、限定するものではないが、ピロリニル（2H-ピロール、2-ピロリニル又は3-ピロリニルを含む）、ピロリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、ピペリジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、及びピペラジニルが挙げられる。特に断らない限り、ヘテロシクリルは、そのペンドント基と、安定な構造をもたらす任意のヘテロ原子又は炭素原子で結合している。

10

【0033】

「アリール」という用語は、6～10個の炭素員からなる、不飽和、芳香族性の単環又は二環の炭素環を指す。アリール環の例としては、フェニル及びナフタレニルが挙げられる。

【0034】

「ヘテロアリール」という用語は、炭素原子とN、O及びSからなる群から独立して選択される1～4個のヘテロ原子とを含む5～10個の環員を有する芳香族性の単環式又は二環式の芳香環系を指す。ヘテロアリールという用語の範囲には、5又は6員の芳香環が含まれ、但し環は炭素原子からなり、少なくとも1個のヘテロ原子の環員を有する。適切なヘテロ原子としては、窒素、酸素、及び硫黄が挙げられる。5員環の場合、ヘテロアリール環は、好ましくは、1員の窒素、酸素又は硫黄を含み、更に3個以下の更なる窒素を含む。6員環の場合、ヘテロアリール環は、好ましくは1～3個の窒素原子を含む。6員環が3個の窒素原子を有する場合では、最大で2個の窒素原子が隣り合う。ヘテロアリール基の例としては、フリル、チエニル、ピロリル、オキサゾリル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、イソオキサゾリル、イソチアゾリル、オキサジアゾリル、トリアゾリル、チアジアゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、インドリル、イソインドリル、ベンゾフリル、ベンゾチエニル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンズイソオキサゾリル、ベンゾチアジアゾリル、ベンゾトリアゾリル、キノリニル、イソキノリニル及びキナゾリニルが挙げられる。特に断らない限り、ヘテロアリールは、そのペンドント基と、安定な構造をもたらす任意のヘテロ原子又は炭素原子で結合している。

20

【0035】

「ハロゲン」又は「ハロ」という用語は、フッ素、塩素、臭素及びヨウ素原子を指す。

【0036】

「アルキル」若しくは「アリール」という用語又はこれらの接頭辞の語根のいずれかが、置換基の名称中に現れる場合（例えば、アリールアルキル、アルキルアミノ）、名称は、「アルキル」及び「アリール」について上記に与えられた限定を含むものとして解釈されるものとする。指定される炭素原子数（例えば、C₁～C₆）は、アルキル部分、アリール部分、又は、アルキルがその接頭辞の語根として現れる、より大きな置換基のアルキル部分の炭素原子数を独立して指す。アルキル及びアルコキシ置換基について、指定される炭素原子数は、指定された所定の範囲内に含まれる全ての独立した構成員を含む。例えば、C₁～₆アルキルには、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル及びヘキシルを個々に含むだけでなく、それらの下位の組み合わせ（例えば、C₁～₂、C₁～₃、C₁～₄、C₁～₅、C₂～₆、C₃～₆、C₄～₆、C₅～₆、C₂～₅など）も含まれる。

40

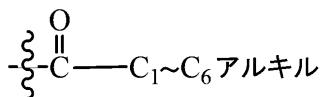
【0037】

一般的に、本開示全体で使用される標準的な命名法の規則の下では、指定される側鎖の末端部分が最初に記載され、続けて結合点の方向に隣接する官能基が記載される。したがって、例えば、「C₁～C₆アルキルカルボニル」置換基は下式の基：

【0038】

50

【化3】



を意味する。

【0039】

立体中心における「R」という用語は、当該技術分野で定義されているように、その立体中心が純粋にR-配置であることを示す。同様に、用語「S」は、純粋にS-配置であることを意味する。本願明細書で使用する場合、立体中心における「*R」又は「*S」という用語は、その立体中心が純粋なものであるが、どちらの配置であるか不明であることを指定するのに使用される。本願明細書で使用する場合、「RS」という用語は、R-及びS-配置の混合物として存在する立体中心を意味する。同様に、「*RS」又は「*SR」という用語は、R配置及びS配置の混合物として存在し、その分子内の別の立体中心に関してその配置が不明である立体中心を意味する。

10

【0040】

1個の立体中心を有する化合物であって、立体化学的結合の指定なしで図示されているものは、2つのエナンチオマーの混合物である。2個の立体中心を有する化合物であって、両方とも立体化学的結合の指定なしで図示されているものは、4つのジアステレオマーの混合物である。「RS」の両方で標識された2個の立体中心を有する化合物であって、立体化学的結合の指定をして図示されているものは、図示されている相対的な立体化学を有する2成分混合物である。「*RS」の両方で標識された2個の立体中心を有する化合物であって、立体化学的結合の指定をして図示されているものは、相対的な立体化学が不明である2成分混合物である。立体化学的結合の指定なしで図示されている未標識の立体中心は、R-配置とS-配置との混合である。立体化学的結合の指定をして図示されている未標識の立体中心は、その絶対的な立体化学は図示されたとおりのものである。

20

【0041】

特に断らない限り、分子内の特定の位置における任意の置換基又はその変形物の定義は、その分子内の他の位置におけるその定義とは独立であることが意図されている。本発明の化合物における置換基及び置換パターンは、化学的に安定であり、かつ当技術分野において周知の技術及び本明細書で説明される方法により容易に合成できる化合物を提供するために、当業者が選択することができると理解される。

30

【0042】

「対象」という用語は、治療、観察又は試験の対象となっている動物、好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒトを指す。

【0043】

「治療有効量」という用語は、治療される疾患、症候群、状態又は障害の症状の緩和若しくは部分的緩和を含む、研究者、獣医、医師、又は他の臨床専門家が得ようとする生物学的又は医薬的応答を組織系、動物又はヒトにおいて誘導する、本発明の化合物を含む活性化合物又は医薬品の量を指す。

40

【0044】

「組成物」という用語は、治療有効量の特定の成分を含む生成物、並びに特定の量の特定の成分の組み合わせから直接又は間接的にもたらされる任意の生成物を意味する。

【0045】

「STINGアゴニスト」という用語は、STINGに結合することによってSTINGに作用し、STING機能に関連する分子の活性化によって特徴付けられる下流のシグナル伝達を誘導する、化合物を包含することを意図している。この用語には、STING、IRF3及び/又はNF-κBの直接リン酸化反応も含まれ、STAT6も含まれ得る。STING経路活性化によって、I型インターフェロン(主にIFN-α及びIFN-β)の産生及びインターフェロン刺激遺伝子の発現が増加する(Chen H, et al.)。

50

「Activation of STAT6 by STING Is Critical for Antiviral Innate Immunity.」Cell. 2011, vol. 14: 433 - 446; and Liu S-Y, et al. 「Systematic identification of type I and type II interferon-induced antiviral factors」. Proc. Natl. Acad. Sci. 2012: vol. 109 4239 - 4244)。

【0046】

「STING調節された」という用語は、限定されないが、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎感染などのウイルス感染、疾患又は状態を含む、STINGによって直接、又はSTING経路を介して影響を受ける状態を指すために用いられる。

【0047】

本明細書で使用するとき、特に断りがない限り、「STINGによって調節される障害」という用語は、ウイルス感染、疾患、障害又は状態のうち、その特徴的な症状の少なくとも1つがSTINGアゴニストで治療すると緩和するか、又は除去されることを特徴とするものを意味する。好適な例としては、限定されないが、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎が挙げられる。

【0048】

本明細書で使用される場合、特に断らない限り、(STINGのアゴニスト活性により影響を受けるウイルス感染、疾患、症候群、状態又は障害に言及する場合の)「影響する」又は「影響される」という用語は、当該ウイルス感染、疾患、症候群、状態又は障害の1つ以上の症状又は所見の頻度及び/又は重症度の低下を含み、並びに/又は、当該ウイルス感染、疾患、症候群、状態若しくは障害の1つ以上の症状若しくは所見の進行の予防、又は、ウイルス感染、疾患、状態、症候群又は障害の進行の予防を含む。

【0049】

本発明の化合物は、STINGのアゴニスト活性により影響を受けるウイルス感染、疾患、症候群、状態又は障害を治療又は寛解させるための方法に有用である。そのような方法は、そのような処置、改善及び/又は予防を必要とする対象(動物、哺乳類、及びヒトを含む)に、式(I)の化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、溶媒和物、若しくは医薬的に許容可能な塩の治療有効量を投与することを含む、それからなる、及び/又はそれから本質的になる。

【0050】

特に、式(I)の化合物又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、溶媒和物若しくは医薬的に許容される塩形態は、例えば黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎感染などの疾患、症候群、状態又は障害を治療するか、又は改善するのに有用である。

【0051】

より具体的には、式(I)の化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、溶媒和物、若しくは医薬的に許容可能な塩形態は、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎感染などの疾患、症候群、状態又は障害を治療するか、又は改善するのに有用であり、当該治療又は改善を必要とする対象に、治療有効量の本明細書で定義した式(I)の化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、溶媒和物、若しくは医薬的に許容可能な塩形態を投与することを含む。

【0052】

本明細書に開示されるいくつかの実施形態は、ヘパドナウイルス(Hepadnaviridae)(例えばB型肝炎ウイルス、すなわちHBV)によって引き起こされる感染を含むウイルス感染を寛解させ、及び/又は治療する方法に関する。この方法は、ウイルス感染症を患っていると特定された対象に、有効量の式(I)の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態、又は式(I)の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩形態を含む医薬組成物を投与することを含んでいてもよい。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 3 】

本明細書に開示された他の実施形態は、ウイルス感染を寛解させ、及び／又は治療する方法であって、ウイルスに感染した細胞と、有効量の本明細書に記載の1種類以上の化合物（例えば、式（I）の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態）、又は本明細書に記載の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩を含む医薬組成物とを接触させることを含んでいてもよい、方法に関する。本明細書に記載される更に他の実施形態は、ウイルス感染を寛解させ、及び／又は治療するための医薬の製造において、式（I）の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態を使用することに関する。

【 0 0 5 4 】

本明細書に記載される更に他の実施形態は、ウイルス感染を寛解させ、及び／又は治療するために使用可能な、式（I）の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態、又は式（I）の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩形態を含む医薬組成物に関する。本明細書に開示されるいくつかの実施形態は、ウイルスの複製を阻害する方法であって、ウイルスに感染した細胞と、有効量の式（I）の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態、又は本明細書に記載の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩を含む医薬組成物とを接触させることを含んでいてもよい、方法に関する。

10

【 0 0 5 5 】

本明細書に記載される他の実施形態は、ウイルスの複製を阻害するための医薬の製造において、式（I）の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態を使用することに関する。本明細書に記載される更に他の実施形態は、ウイルスの複製を阻害するために使用可能な、本明細書に記載の1種類以上の化合物（例えば、式（I）の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態）、又は本明細書に記載の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩形態を含む医薬組成物に関する。

20

【 0 0 5 6 】

いくつかの実施形態では、ウイルス感染は、B型肝炎ウイルス感染であってもよい。この方法は、HBVを患っていると特定された対象に、有効量の式（I）の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態、又は式（I）の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩形態を含む医薬組成物を投与することを含んでいてもよい。

【 0 0 5 7 】

30

本明細書に開示された他の実施形態は、ウイルス感染を寛解させ、及び／又は治療する方法であって、HBVに感染した細胞と、有効量の式（I）の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態、又は式（I）の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩形態を含む医薬組成物とを接触させることを含んでいてもよい、方法に関する。本明細書に記載される更に他の実施形態は、HBVを寛解させ、及び／又は治療するための医薬の製造において、式（I）の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩形態を使用することに関する。

【 0 0 5 8 】

本明細書に記載される更に他の実施形態は、HBVを寛解させ、及び／又は治療するために使用可能な、式（I）の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態、又は式（I）の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩形態を含む医薬組成物に関する。本明細書に開示されるいくつかの実施形態は、HBVの複製を阻害する方法であって、ウイルスに感染した細胞と、有効量の式（I）の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態、又は式（I）の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩を含む医薬組成物とを接触させることを含んでいてもよい、方法に関する。

40

【 0 0 5 9 】

本明細書に記載される他の実施形態は、HBVの複製を阻害するための医薬の製造において、式（I）の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩を使用することに関する。本明細書に記載される更に他の実施形態は、HBVの複製を阻害するために使用可能な、式（I）の1種類以上の化合物、又はその医薬的に許容される塩、又は式（I）

50

の1種類以上の化合物若しくはその医薬的に許容される塩形態を含む医薬組成物に関する。

【0060】

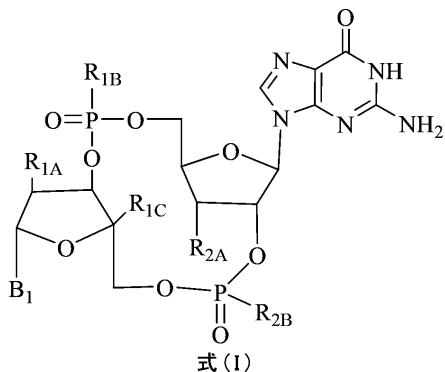
本発明の実施形態は、本明細書に定義される式(I)の化合物、又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、溶媒和物、若しくは医薬的に許容されるその塩形態を含み、本明細書に定義される変数の1つ以上から選択される置換基(例えば、R_{1A}、R_{1B}、R_{1C}、B₁、R_{2A}、R_{2B})は、独立して、以下の表1のリストに例示されるものからの任意の個々の置換基又は任意の置換基のサブセットであるように選択される。

【0061】

【表1】

表1.

10



化合物番号	R _{1A}	R _{1B}	R _{1C}	B ₁	R _{2A}	R _{2B}
1	OCH ₃	OH	H	b2	OH	OH
2	OH	OH	H	b2	OCH ₃	OH
3	OCH ₃	OH	H	b2	OCH ₃	OH
4	F	(*R)-SH	H	b2	OH	(*R)-SH
5	F	(*S)-SH	H	b2	OH	(*S)-SH
6	-O-	OH	R _{1A} と環を形成するCH ₂	b2	OH	OH
7	OH	(*R)-BH ₃ -	H	b2	OH	(*R)-BH ₃ -
8	OH	(*S)-BH ₃ -	H	b2	OH	(*S)-BH ₃ -
9	F	(*R)-BH ₃ -	H	b2	OCH ₃	(*R)-SH
10	F	(*S)-BH ₃ -	H	b2	OCH ₃	(*R)-SH
11	F	(*R)-BH ₃ -	H	b2	OCH ₃	(*R)-BH ₃ -
12	F	(*S)-BH ₃ -	H	b2	OCH ₃	(*S)-BH ₃ -
13	F	(*R)-SH	H	b2	OCH ₃	(*R)-BH ₃ -
14	F	(*S)-SH	H	b2	OCH ₃	(*S)-BH ₃ -
15	F	(*R)-BH ₃	H	b2	OCH ₃	OH
16	F	(*S)-BH ₃	H	b2	OCH ₃	OH
17	F	OH	H	b2	OCH ₃	(*R)-BH ₃
18	F	OH	H	b2	OCH ₃	(*S)-BH ₃
19	-O-	OH	R _{1A} と環を形成するCH ₂	b2	OCH ₃	(*R)-BH ₃
20	-O-	(*R)-SH	R _{1A} と環を形成するCH ₂	b2	OCH ₃	(*R)-BH ₃
21	-O-	(*R)-BH ₃	R _{1A} と環を形成するCH ₂	b2	OCH ₃	(*R)-BH ₃
22	-O-	(*R)-BH ₃	R _{1A} と環を形成するCH ₂	b2	OCH ₃	OH
23	-O-	(*R)-BH ₃	R _{1A} と環を形成するCH ₂	b2	OCH ₃	(*R)-SH

20

30

40

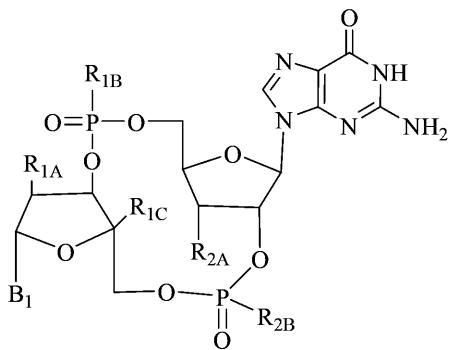
【0062】

本発明は、式Iの化合物であって、

【0063】

50

【化4】



式 (I)

10

[式中、

R_{1A}は、ヒドロキシ若しくはフルオロであり、R_{1C}は水素であり、又は、R_{1A}とR_{1C}が、これらが結合する原子と共に5員環を形成するように、R_{1A}は-O-であり、R_{1C}はCH₂であり；

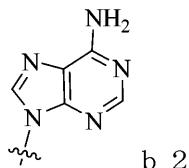
R_{1B}は、ヒドロキシ、チオール及びBH₃⁻からなる群から選択され；

B₁はb₂であり、

【0064】

20

【化5】



R_{2A}は、ヒドロキシ及びメトキシからなる群から選択され；

R_{2B}は、ヒドロキシ、チオール及びBH₃⁻からなる群から選択され；

但し、式(I)の化合物は、(1R,6R,8R,9R,10R,15R,17R,18R)-17-(2-アミノ-6-オキソ-6,9-ジヒドロ-1H-プリン-9-イル)-8-(6-アミノ-9H-プリン-9-イル)-9-フルオロ-3,12,18-トリヒドロキシ-2,4,7,11,13,16-ヘキサオキサ-3⁵,12⁵-ジホスファトリシクロ[13.2.1.0^{6,10}]オクタデカン-3,12-ジオン、ビスアンモニウム塩以外である]

30

又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容される塩形態に関する。

【0065】

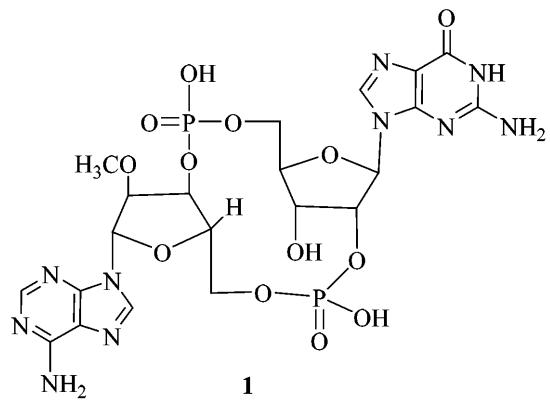
本発明の更なる実施形態は、化合物1～23から選択される式(I)の化合物：

【0066】

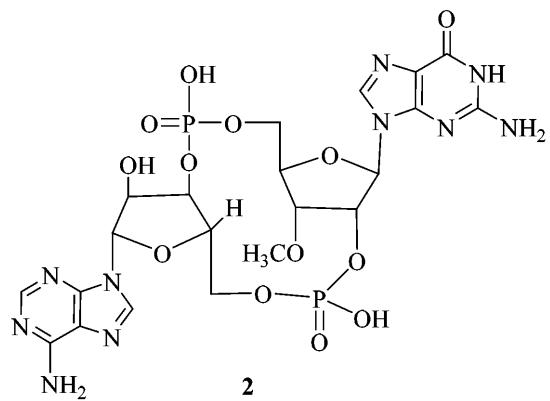
40

50

【化 6】



10



20

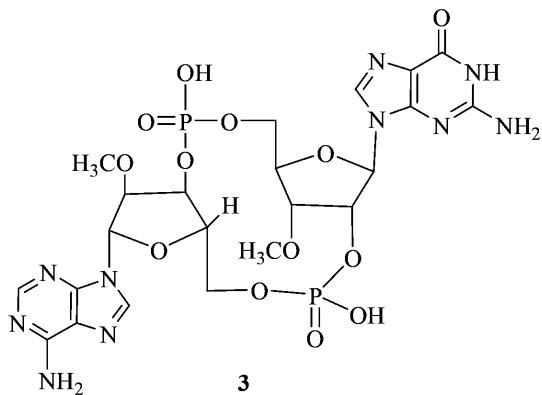
【0067】

30

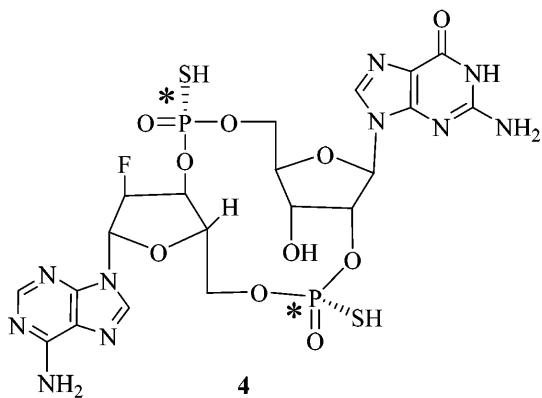
40

50

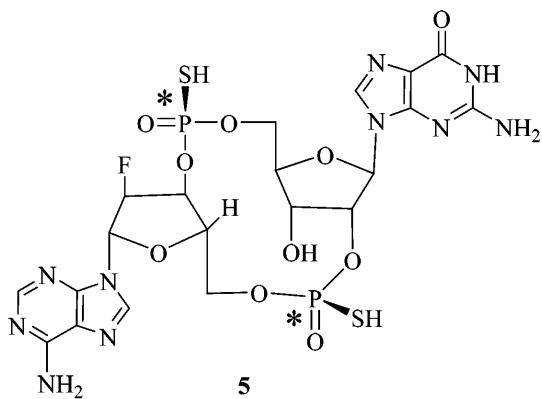
【化 7】



、



、



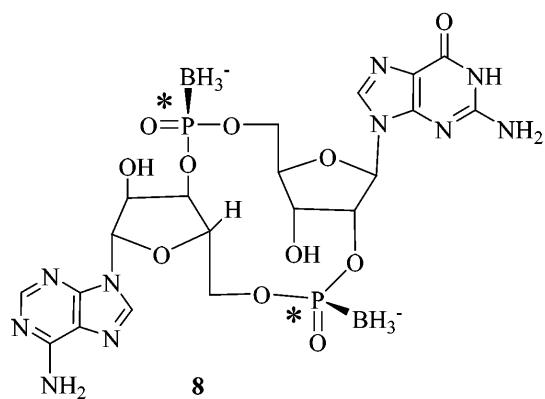
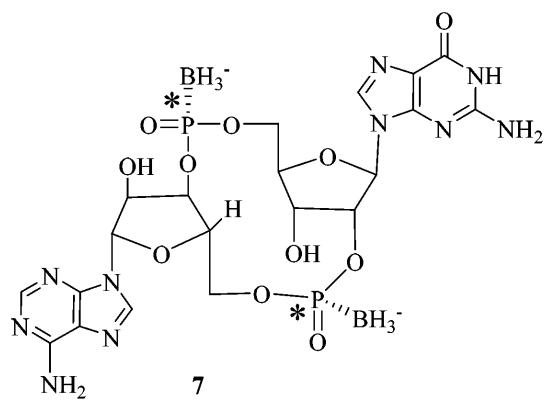
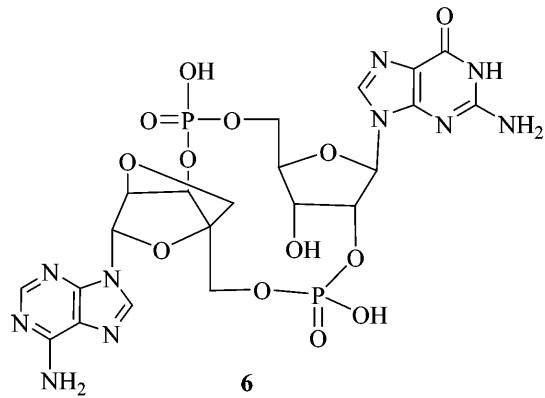
、

【0068】

40

50

【化 8】



【0069】

10

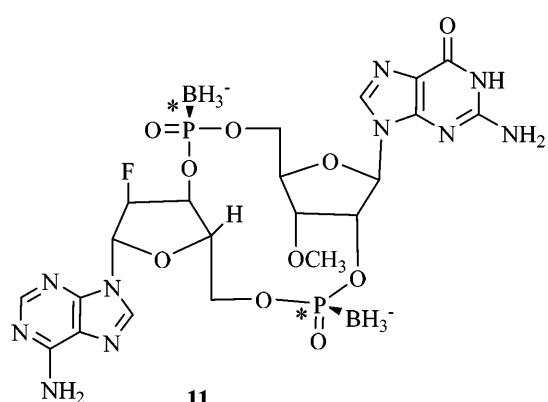
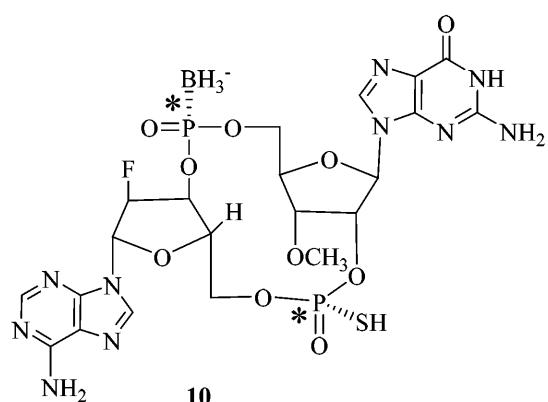
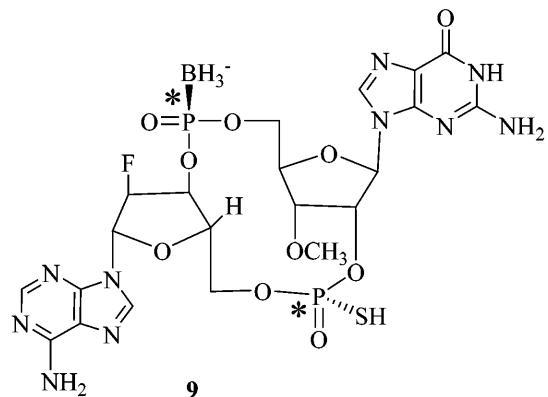
20

30

40

50

【化 9】

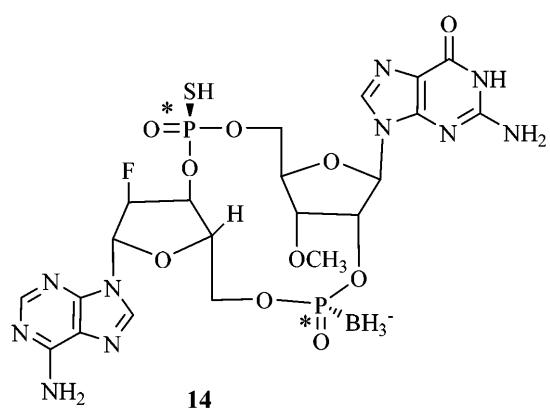
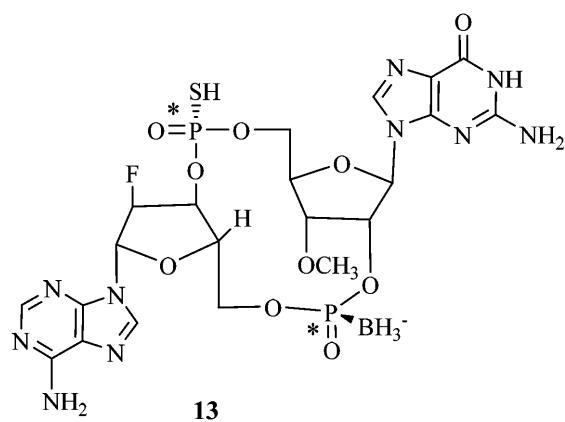
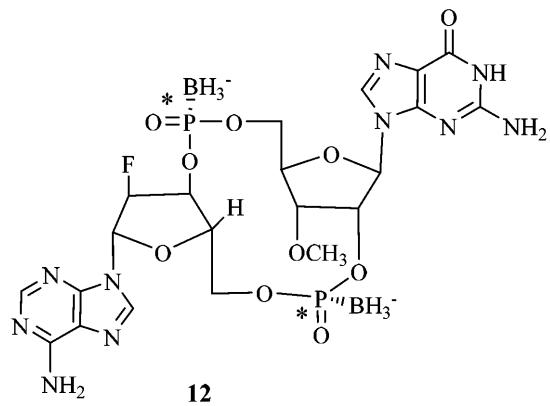


【0070】

40

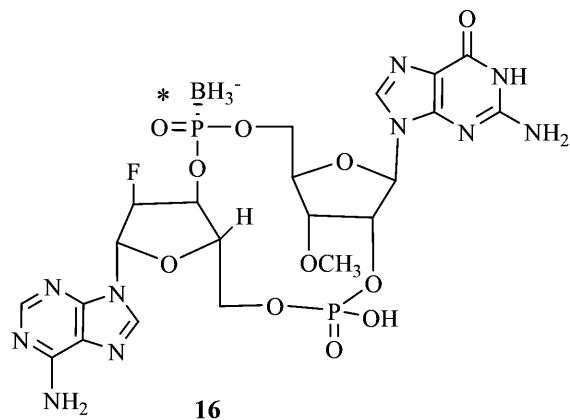
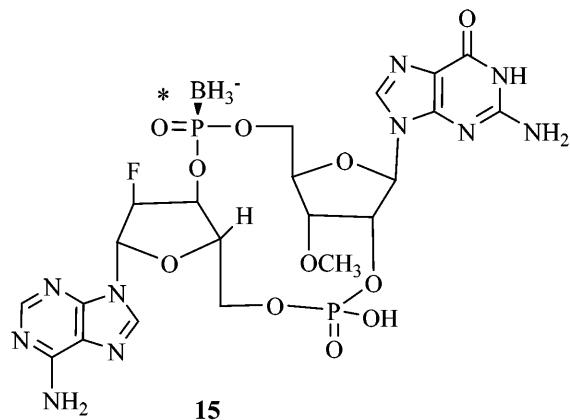
50

【化 1 0】



【0 0 7 1】

【化 1 1】



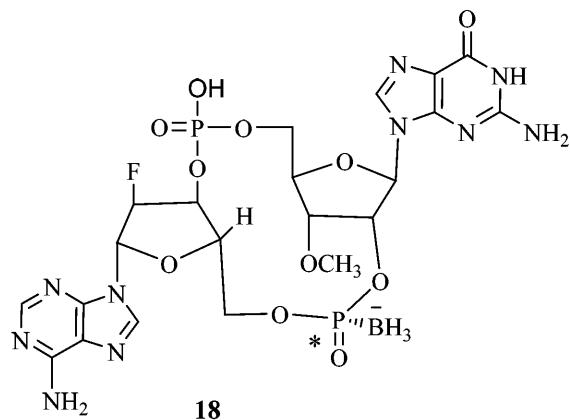
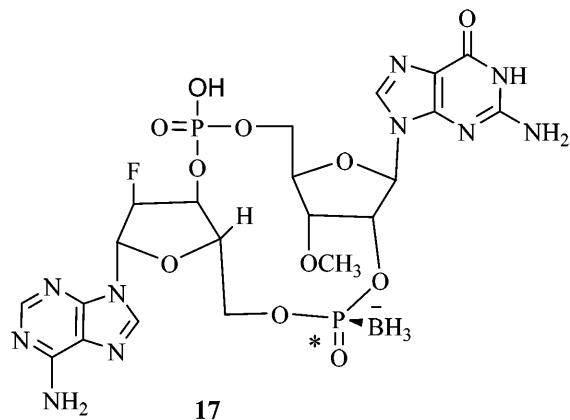
【0 0 7 2】

30

40

50

【化 1 2】



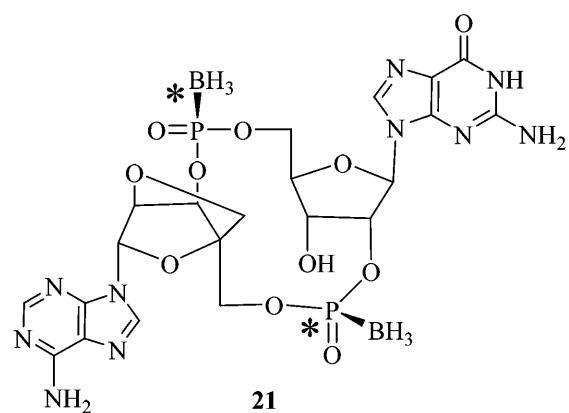
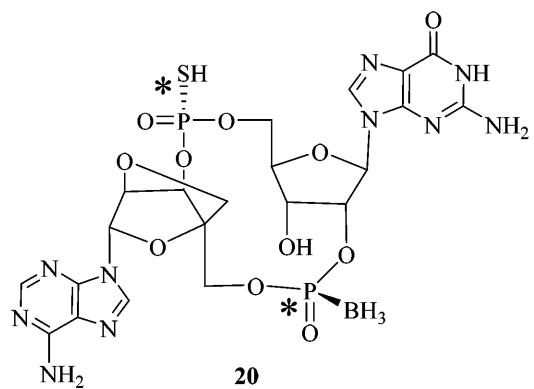
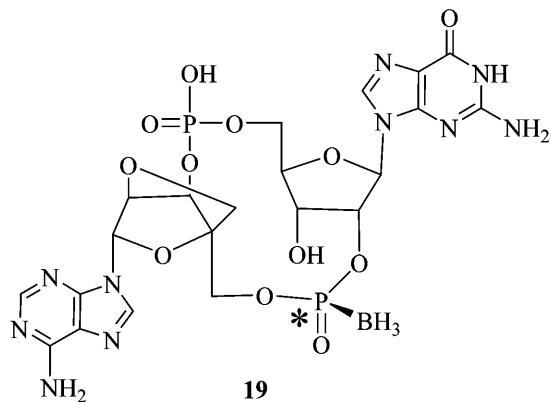
【0 0 7 3】

30

40

50

【化 1 3】

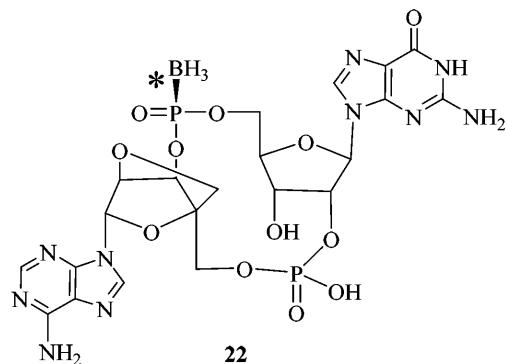


【 0 0 7 4 】

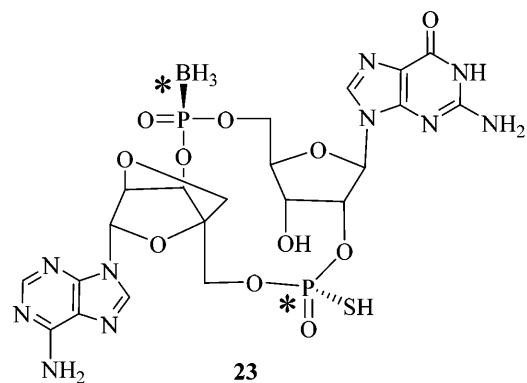
40

50

【化14】



及び



10

20

又はその医薬的に許容される塩形態に関する。

【0075】

医療において使用する場合、式(I)の化合物の塩とは、非毒性の「医薬的に許容される塩」を指す。しかし、他の塩が式(I)の化合物又はその医薬的に許容される塩形態の調製において有用である場合もある。式(I)の化合物の適切な医薬的に許容される塩としては、例えば、化合物の溶液を、塩酸、硫酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酢酸、安息香酸、クエン酸、酒石酸、炭酸又はリン酸のような医薬的に許容される酸の溶液と混合することにより形成され得る酸付加塩が挙げられる。更に、式(I)の化合物が酸性部分を有する場合、その適切な医薬的に許容される塩としては例えば、アルカリ金属塩(ナトリウム塩及びカリウム塩)、アルカリ土類金属塩(例えば、カルシウム塩又はマグネシウム塩)、及び適切な有機リガンドと形成される塩(例えば、第四級アンモニウム塩)を挙げることができる。すなわち、代表的な医薬的に許容される塩としては、酢酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重炭酸塩、重硫酸塩、重酒石酸塩、ホウ酸塩、臭化物、カルシウムエデト酸塩、カンシル酸塩、炭酸塩、塩化物、クラブラン酸塩、クエン酸塩、二塩酸塩、エデト酸塩、エジシル酸塩、エストレート、エシラート、フマル酸塩、グルセプト酸塩、グルコン酸塩、グルタミン酸塩、グリコリルアルサニレート、ヘキシルレゾルシネット、ハイドロバミニン、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヒドロキシナフトエート、ヨウ化物、イソチオネート、乳酸塩、ラクトビオン酸塩、ラウリン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、メチル臭化物、メチル硝酸塩、メチル硫酸塩、ムチン酸塩、ナブシリ酸塩、硝酸塩、N-メチルグルカミンアンモニウム塩、オレイン酸塩、パモン酸塩(エンボナート)、パルミチン酸塩、パントテン酸塩、リン酸塩/ニリン酸塩、ポリガラクトロン酸塩、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、硫酸塩、塩基性酢酸塩、コハク酸塩、タンニン酸塩、酒石酸塩、テオクル酸塩、トシリ酸塩、トリエチオジド、及び吉草酸塩が挙げられる。

【0076】

30

40

50

医薬的に許容可能な塩の調製に使用することができる代表的な酸及び塩基としては、酢酸、2,2-ジクロロ酢酸、アシル化アミノ酸、アジピン酸、アルギン酸、アスコルビン酸、L-アスパラギン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、4-アセトアミド安息香酸、(+)-樟脳酸、カンファースルホン酸、(+)-(1S)-カンファー-10-スルホン酸、カプリン酸、カプロン酸、カブリル酸、ケイ皮酸、クエン酸、シクラミン酸、ドデシル硫酸、エタン-1,2-ジスルホン酸、エタンスルホン酸、2-ヒドロキシ-エタンスルホン酸、ギ酸、フマル酸、ガラクタル酸、ゲンチジン酸、グルコヘプトン酸、D-グルコン酸、D-グルクロン酸、L-グルタミン酸、-オキソ-グルタル酸、グリコール酸、馬尿酸、臭化水素酸、塩化水素酸、(+)-L-乳酸、(±)-DL-乳酸、ラクトビオン酸、マレイン酸、(-)-L-リンゴ酸、マロン酸、(±)-DL-マンデル酸、メタンスルホン酸、ナフタレン-2-スルホン酸、ナフタレン-1,5-ジスルホン酸、1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸、ニコチン酸、硝酸、オレイン酸、オロチン酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、リン酸、L-ピログルタミン酸、サリチル酸、4-アミノ-サリチル酸、セバシン酸、ステアリン酸、コハク酸、硫酸、タンニン酸、(+)-L-酒石酸、チオシアノ酸、p-トルエンスルホン酸及びウンデシレン酸を含む酸、並びに、アンモニア、L-アルギニン、ベネタミン(benethamine)、ベンザチン、水酸化カルシウム、コリン、デアノール、ジエタノールアミン、ジエチルアミン、2-(ジエチルアミノ)-エタノール、エタノールアミン、エチレンジアミン、N-メチル-グルカミン、ヒドロバミン、1H-イミダゾール、L-リジン、水酸化マグネシウム、4-(2-ヒドロキシエチル)-モルホリン、ピペラジン、水酸化カリウム、1-(2-ヒドロキシエチル)-ピロリジン、水酸化ナトリウム、トリエタノールアミン、トロメタミン、及び水酸化亜鉛を含む塩基が挙げられる。

【0077】

本発明の実施形態には、式(I)の化合物のプロドラッグが含まれる。一般的には、このようなプロドラッグは、インビポで必要な化合物に容易に変換可能な化合物の機能的誘導体である。したがって、本発明の治療又は予防の方法の実施形態において、「投与すること」という用語には、具体的に開示された化合物による、又は具体的には開示されていない場合もあるが患者への投与後にインビポで特定の化合物に変換される化合物による、記載された様々な疾患、状態、症候群及び障害の治療又は予防が含まれる。適切なプロドラッグ誘導体の選択及び調製に関する通常の手順は、例えば、「Design of Prodrugs」, ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985に記載されている。

【0078】

本発明の実施形態に基づく化合物が少なくとも1個のキラル中心を有する場合、それに応じて化合物はエナンチオマーとして存在し得る。化合物が2つ以上のキラル中心を有する場合、ジアステレオマーとして追加的に存在してもよい。かかる異性体及びその混合物は全て、本発明の範囲内に包含されると理解される。更に、化合物の結晶型のなかには、多形として存在できるものもあり、そのような多形も本発明に含まれることが意図される。加えて、化合物のなかには、水との溶媒和物(すなわち、水和物)又は一般的な有機溶媒との溶媒和物を形成できるものもあり、このような溶媒和物もまた、本発明の範囲に包含されることが意図される。当業者は、本明細書で用いる「化合物」という用語が、式(I)の化合物の溶媒和物を含むことを理解するであろう。

【0079】

本発明の特定の実施形態に基づく化合物の調製プロセスにより立体異性体の混合物を生じる場合、これらの異性体は、分取クロマトグラフィーなどの従来技術により分離することができる。化合物はラセミ体で調製されてもよく、又は個々のエナンチオマーをエナンチオ選択的合成若しくは分解のいずれかにより調製することもできる。化合物は、例えば、(-)-ジ-p-トルオイル-d-酒石酸及び/又は(+)-ジ-p-トルオイル-1-酒石酸などの光学活性酸と塩を形成させた後に、分別結晶化を行い、遊離塩基を再生させることによりジアステレオマー対を形成させるなどの標準的技術により、それら化合物

10

20

30

40

50

の成分であるエナンチオマーに分割することができる。化合物はまた、ジアステレオマーのエステル又はアミドを形成した後、クロマトグラフィー分離を行い、キラル補助基を除去することにより、分解することもできる。あるいは、化合物はキラルHPLCカラムを用いて分割してもよい。

【0080】

本発明の一実施形態は、式(I)の化合物の(+) - エナンチオマーを含む、それからなる、及び/又はそれから本質的になる医薬組成物を含む組成物であって、当該化合物の(-) - 異性体を実質的に含まない、組成物を目的とする。本文脈において、実質的に含まないとは、下式で算出される(-) - 異性体が、約25%未満、好ましくは約10%、より好ましくは約5%、更により好ましくは約2%未満、及び更により好ましくは約1%未満であることを意味する。

【0081】

【数1】

$$\% (+)-\text{エナンチオマー} = \frac{(\text{質量}(+)-\text{エナンチオマー})}{(\text{質量}(+)-\text{エナンチオマー}) + (\text{質量}(-)-\text{エナンチオマー})} \times 100$$

10

【0082】

本発明の別の実施形態は、式(I)の化合物の(-) - エナンチオマーを含むか、それからなるか、及び/又はそれから本質的になる医薬組成物を含む組成物であって、当該化合物の(+) - 異性体を実質的に含まない、組成物である。本文脈において、実質的に含まないとは、下式で算出される(+) - 異性体が、約25%未満、好ましくは約10%未満、より好ましくは約5%未満、更により好ましくは約2%未満、更により好ましくは約1%未満であることを意味する。

20

【0083】

【数2】

$$\% (-)-\text{エナンチオマー} = \frac{(\text{質量}(-)-\text{エナンチオマー})}{(\text{質量}(+)-\text{エナンチオマー}) + (\text{質量}(-)-\text{エナンチオマー})} \times 100$$

30

【0084】

本発明の種々の実施形態の化合物を調製するための任意のプロセスにおいて、関連する分子のいずれかにおける感受性基又は反応性基を保護することが必要及び/又は望ましい場合がある。これは、Protective Groups in Organic Chemistry, Second Edition, J. F. W. McOmie, Pergamon Press, 1973; T. W. Greene & P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 1991; 及び T. W. Greene & P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Third Edition, John Wiley & Sons, 1999などに記載されるような従来の保護基を用いることによって達成されるであろう。保護基は、その後の好都合な段階において、当該技術分野で周知の方法を用いて除去することができる。

40

【0085】

本発明の実施形態の化合物(その医薬的に許容される塩及び医薬的に許容される溶媒和物を含む)は単独で投与することができるが、これらの化合物は、一般的には、意図された投与経路及び標準的な製薬学的又は獣医学的な慣行の観点から選ばれる、医薬的に許容される担体、医薬的に許容される賦形剤及び/又は医薬的に許容される希釈剤との混合物として投与される。したがって、本発明の特定の実施形態は、式(I)の化合物及び少なくとも1つの医薬的に許容される担体、医薬的に許容される賦形剤、及び/又は医薬的に許容される希釈剤を含む製薬学的及び獣医学的組成物を目的とする。

50

【 0 0 8 6 】

一例として、本発明の実施形態の医薬組成物では、式(Ⅰ)の化合物は、任意の適切な結合剤、潤滑剤、懸濁化剤、コーティング剤、可溶化剤、及びそれらの組み合わせと混合することができる。

【 0 0 8 7 】

本発明の化合物を含む固体の経口投与形態、例えば、錠剤又はカプセルを、必要に応じて1回につき少なくとも1つの投与形態で投与することができる。持続放出性製剤で化合物を投与することも可能である。

【 0 0 8 8 】

本発明の化合物が投与され得る追加の経口形態としては、エリキシル剤、溶液、シロップ剤及び懸濁液が挙げられる。それぞれ任意選択的に香味剤及び着色剤を含有する。

10

【 0 0 8 9 】

あるいは、式(Ⅰ)の化合物は、吸入(気管内又は経鼻的に)により、又は座薬若しくはペッサリーの形態で投与することができる。あるいは、式(Ⅰ)の化合物は、ローション、溶液、クリーム、軟膏若しくは散布剤として局所的に塗布することもできる。例えば、式(Ⅰ)の化合物は、ポリエチレングリコール又は流動パラフィンの水性エマルジョンを含む、それからなる、及び/又は本質的にそれからなるクリームに添加することができる。式(Ⅰ)の化合物は、クリームの約1重量%~約10重量%の濃度で、必要に応じて任意の安定剤及び保存剤と共にワックス又は軟パラフィン基剤を含む、それからなる、及び/又はそれから本質的になる軟膏に添加することもできる。投与の代替手段としては、皮膚又は経皮貼付剤を使用することによる経皮投与が挙げられる。

20

【 0 0 9 0 】

本発明の医薬組成物(本発明の化合物単独と同様に)は、非経口的に、例えば、陰茎海綿体内、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、又は髄腔内に注入することができる。この場合、組成物はまた、適切な担体、適切な賦形剤、及び適切な希釈剤のうちの少なくとも1つを含む。

【 0 0 9 1 】

非経口投与について、本発明の医薬組成物は、例えば、溶液を血液と等張に保つうえで充分な塩及び単糖などの他の物質を含んでもよい滅菌水溶液の形態で最もよく使用される。

【 0 0 9 2 】

癌の治療のための上述の投与経路に加えて、医薬組成物は、腫瘍内又は腫瘍周囲への注射による投与に適合され得る。このように免疫系を活性化して、離れた部位で腫瘍を死滅させることは、アブスコバル効果として一般的に知られており、多数の治療法を用いて動物において実証されている(van der Jeugt, et al., Oncotarget, 2015, 6(3), 1359-1381)。局所投与又は腫瘍内若しくは腫瘍周囲への投与の更なる利点は、はるかに低用量で同等の有効性を達成し、ひいては高用量の場合に観察され得る有害事象を最小限に抑えるか又は排除するという能力である(Marabelle, A., et al., Clinical Cancer Research, 2014, 20(7), 1747-1756)。

30

【 0 0 9 3 】

口腔又は舌下投与では、本発明の医薬組成物を錠剤又はトローチ剤の形態で投与してもよく、これは従来法で製剤することができる。

40

【 0 0 9 4 】

更なる例として、活性成分として式(Ⅰ)の化合物の少なくとも1つを含有する医薬組成物を、従来の製薬学的配合技術に従って、化合物と、医薬的に許容される担体、医薬的に許容される希釈剤、及び/又は医薬的に許容される賦形剤とを混合することによって調製することができる。担体、賦形剤、及び希釈剤は、所望の投与経路(例えば、経口、非経口など)に応じ、広範な形態を取ることができる。それゆえに、懸濁液、シロップ剤、エリキシル剤及び溶液などの液体経口製剤の場合、適切な担体、賦形剤及び希釈剤としては、水、グリコール、油、アルコール、着香剤、防腐剤、安定剤、着色剤及びこれらに類似する物質を用いることができる。

50

するものが挙げられる。散剤、カプセル剤及び錠剤などの固体経口製剤の場合、適切な担体、賦形剤及び希釈剤としては、デンプン、糖類、希釈剤、造粒剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤及びこれらに類するものが挙げられる。吸収及び崩壊の主要部位を調節するために、固体経口製剤を糖などの物質で任意にコーティングするか、又は腸溶性コーティングを施すことができる。非経口投与の場合、担体、賦形剤及び希釈剤は、通常、滅菌水を含み、組成物の溶解度及び保存性を高めるために他の成分を添加してもよい。注射用懸濁剤又は溶剤はまた、水性担体を、適切な添加剤、例えば、可溶化剤及び保存剤と共に使用して、調製することもできる。

【0095】

式(I)の化合物又はその医薬組成物の治療有効量としては、平均的な(70kgの)ヒトについて1日当たり、約1～約4回のレジメンで、約0.01mg～約3000mgの用量範囲、又はこれに含まれる任意の特定の量若しくは範囲、特に、約0.05mg～約1000mg、又はこれに含まれる任意の特定の量若しくは範囲、又は更に特定的には、約0.05mg～約250mg、又はこれに含まれる任意の特定の量若しくは範囲の活性成分を含む用量を含むが、式(I)の化合物の治療有効量は、治療される疾患、症候群、状態及び障害によって変動することが当業者には明らかである。10

【0096】

経口投与では、医薬組成物は、式(I)の化合物を約1.0、約10、約50、約100、約150、約200、約250、及び約500mg含む錠剤の形態で提供されることが好ましい。20

【0097】

有利な点として、式(I)の化合物は、1日量を1回で投与してもよく、1日当たりの総投与量を1日に2回、3回及び4回に分割して投与してもよい。

【0098】

式(I)の化合物の投与される最適投与量は、容易に決定することができ、用いられる具体的な化合物、投与形態、製剤の強度、及びウイルス感染、疾患、症候群、状態又は障害の進行状態によって変わる。加えて、治療される具体的な対象に関連する要因、例えば、対象の性別、年齢、体重、食事及び投与タイミングにより、適切な治療レベル及び所望の治療効果を得るために用量を調節する必要が生じる。したがって、上記の投与量は平均的な場合の例である。当然、これより高いか低い用量範囲が有効である個々の例が存在することができ、これらも本発明の範囲内に含まれる。30

【0099】

式(I)の化合物は、これを必要とする対象に式(I)の化合物を使用することが求められる場合には、上記の組成物及び投与レジメンのいずれかによって、又は当技術分野において確立されているこれらの組成物及び投与レジメンによって投与することができる。

【0100】

STINGタンパク質アゴニストとして、式(I)の化合物は、STINGタンパク質の調節(アゴニスト活性を含む)によってウイルス感染、疾患、症候群、状態又は障害が影響を受ける、動物、哺乳類及びヒトなどの対象における、ウイルス感染、疾患、症候群、状態又は障害を治療又は予防するための方法において有用である。かかる方法は、かかる治療又は予防を必要とする動物、哺乳動物及びヒトなどの対象に、治療有効量の式(I)の化合物、塩、又は溶媒和物を投与する工程を含むか、それよりなるか、及び/又は本質的にそれよりなる。40

【0101】

一実施形態では、本発明は、癌の治療、並びに癌疾患及び状態、又はウイルス感染における使用のための、式(I)の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態を目的とする。

【0102】

式(I)の化合物又はその医薬的に許容される塩若しくは溶媒和物が潜在的に有益な抗腫瘍効果を有し得る癌疾患及び病状の例としては、限定されないが、肺、骨、脾臓、皮膚、頭部、頸部、子宮、卵巣、胃、結腸、乳房、食道、小腸、腸、内分泌系、甲状腺、副甲

状腺、副腎、尿道、前立腺、陰茎、精巣、尿管、膀胱、腎臓又は肝臓の癌、直腸癌；肛門部分の癌；卵管、子宮内膜、子宮頸管、腔、外陰部、腎孟、腎細胞の癌；軟組織の肉腫；粘液腫；横紋筋腫；線維腫；脂肪腫；奇形腫；胆管癌；肝芽腫；血管肉腫；血管腫；肝癌；線維肉腫；軟骨肉腫；骨髄腫；慢性白血病又は急性白血病；リンパ球性リンパ腫；原発性中枢神経リンパ腫；中枢神経系の腫瘍形成；脊髄軸腫瘍；扁平上皮細胞癌；滑膜肉腫；悪性胸骨上皮腫；脳幹神経膠腫；下垂体腺腫；気管支腺腫；軟骨性過誤腫(*chondromatous hanlartoma*)；中皮腫；ホジキン病、又は前述の癌のうちの1つ以上の組み合わせが挙げられる。好適には、本発明は、脳(神経膠腫)、膠芽腫、星状細胞腫、多型性グリオプラストーマ、*Bannayan-Zonana症候群*、カウデン病、レルミット・ダクロス病、ウィルムス腫瘍、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫、上衣腫、髓芽腫、頭頸部、腎臓、肝臓、黒色腫、卵巣、膀胱、腺癌、導管腺癌、腺扁平上皮癌、腺房細胞癌、グルカゴノーマ、インスリノーマ、前立腺、肉腫、骨肉腫、骨の巨細胞腫瘍、甲状腺、リンパ芽球性T細胞白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、有毛細胞白血病、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、慢性好中球性白血病、急性リンパ芽球性T細胞白血病、形質細胞腫、免疫芽球性大細胞白血病、マントル細胞白血病、多発性骨髄腫、巨核芽球性白血病、多発性骨髄腫、急性巨核芽球性白血病、前骨髄球性白血病、赤白血病、悪性リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、リンパ芽球性T細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、濾胞性リンパ腫、神経芽細胞腫、膀胱癌、尿路上皮癌、外陰癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、腎癌、中皮腫、食道癌、唾液腺癌、肝細胞癌、胃癌、上咽頭癌、口腔癌、口の癌、GIST(消化管間質腫瘍)及び精巣癌からなる群から選択される癌を治療するか、又は重篤度を下げるための方法に関する。10
20

【0103】

別の実施形態では、本発明は、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌、線維肉腫及びB型肝炎からなる群から選択される、STINGのアゴニスト活性によって影響を受ける障害の治療に使用するための式(I)の化合物、又はその意訳的に許容される塩形態に関する。30

【0104】

開示される式(I)の化合物は、HBV感染症の治療に有用な1種以上の追加の化合物と併用するのに有用であり得る。これらの追加の化合物は、他にも開示される化合物、及び/又はHBV感染症の症状又は効果を治療、予防、若しくは低減することが公知である化合物を含み得る。そのような化合物としては、限定されないが、HBVポリメラーゼ阻害剤、インターフェロン、ウイルス侵入阻害剤、ウイルス成熟阻害剤、文献記載のカプシドアセンブリ調節因子、逆転写酵素阻害剤、免疫調節因子、TLR-アゴニスト、及びHBVのライフサイクルに影響を及ぼす、又はHBV感染症の転帰に影響を及ぼす、異なる又は未知の機構を伴う他の薬剤が挙げられる。30

【0105】

非限定的な例では、開示される化合物は、次のものを含む群から選択される1つ以上の薬物(又はその塩)と併用され得る：

ラミブジン(3TC、Zeffix、Heptovir、Epivir、及びEpivir-HBV)、エンテカビル(Baraclude、Entavir)、アデフォビルジピボキシル(Hepsara、Preveon、bis-POM PMEA)、テノホビルジソプロキシルスマレート(Viread、TDF又はPMPA)を含むがこれらに限定されないHBV逆転写酵素阻害剤、並びにDNA及びRNAポリメラーゼ阻害剤；40

インターフェロンアルファ(IFN-α)、インターフェロンベータ(IFN-β)、インターフェロンラムダ(IFN-λ)、及びインターフェロンガンマ(IFN-γ)を含むがこれらに限定されないインターフェロン；

ウイルス侵入阻害剤；

ウイルス成熟阻害剤；

カプシドアセンブリ調節因子、例えば、限定されないが、BAY41-4109；

逆転写酵素阻害剤；50

T L R - アゴニストなどの免疫調節因子；及び

異なる又は未知の機序を伴う薬剤、例えば、限定されないが、A T - 6 1 ((E) - N - (1 - クロロ - 3 - オキソ - 1 - フェニル - 3 - (ピペリジン - 1 - イル) プロパ - 1 - エン - 2 - イル) ベンズアミド)、A T - 1 3 0 ((E) - N - (1 - プロモ - 1 - (2 - メトキシフェニル) - 3 - オキソ - 3 - (ピペリジン - 1 - イル) プロパ - 1 - エン - 2 - イル) - 4 - ニトロベンズアミド) 及びこれらの類似体。

【 0 1 0 6 】

一実施形態では、追加の治療剤はインターフェロンである。「インターフェロン」又は「I F N」という用語は、ウイルス複製及び細胞増殖を阻害し、免疫反応を調節する、高度に相同な種特異的タンパク質のファミリーの任意のメンバーを指す。例えば、ヒトインターフェロンは、インターフェロンアルファ (I F N -)、インターフェロンベータ (I F N -)、及びインターフェロンオメガ (I F N -) を含む I 型、インターフェロンガンマ (I F N -) を含む I I 型、並びにインターフェロンラムダ (I F N -) を含む I I I 型の 3 つに分類される。開発され、市販されている組み換え型のインターフェロンは、本明細書で使用する用語「インターフェロン」により包含される。化学修飾インターフェロン又は変異インターフェロンなどのインターフェロンのサブタイプも、本明細書で使用する用語「インターフェロン」に包含される。化学修飾インターフェロンとしては、ペグ化インターフェロン及びグリコシル化インターフェロンを挙げてよい。インターフェロンの例としては、インターフェロンアルファ 2 a、インターフェロンアルファ 2 b、インターフェロンアルファ n 1、インターフェロン - ベータ 1 a、インターフェロンベータ 1 b、インターフェロンラムダ 1、インターフェロンラムダ 2、及びインターフェロンラムダ 3 も挙げられるが、これらに限定されない。ペグ化インターフェロンの例としては、ペグ化インターフェロンアルファ 2 a 及びペグ化インターフェロンアルファ 2 b が挙げられる。

【 0 1 0 7 】

したがって、一実施形態では、式 (I) の化合物は、インターフェロンアルファ (I F N -)、インターフェロンベータ (I F N -)、インターフェロンラムダ (I F N -) 及びインターフェロンガンマ (I F N -) からなる群から選択されるインターフェロンと併用投与することができる。特定の一実施形態では、インターフェロンは、インターフェロンアルファ 2 a、インターフェロンアルファ 2 b、又はインターフェロンアルファ n 1 である。別の特定の実施形態では、インターフェロンアルファ 2 a 又はインターフェロンアルファ 2 b はペグ化されている。好ましい実施形態では、インターフェロンアルファ 2 a はペグ化インターフェロンアルファ 2 a (P E G A S Y S) である。別の実施形態では、追加の治療剤は、インターフェロンクラスに属する生物学的薬剤を含む、免疫調節療法又は免疫刺激剤療法から選択される。

【 0 1 0 8 】

更に、追加の治療剤は、他の必須ウイルスタンパク質又は H B V 複製若しくは持続に要求される宿主タンパク質の機能を破壊する薬剤であってもよい。

【 0 1 0 9 】

別の実施形態では、追加の治療剤は、ウイルスの侵入若しくは成熟をブロックする、又はヌクレオシド若しくはヌクレオチド若しくは非ヌクレオシ(チ)ドポリメラーゼ阻害剤などの H B V ポリメラーゼを標的とする抗ウイルス剤である。併用療法の更なる実施形態では、逆転写酵素阻害剤又は D N A 若しくは R N A ポリメラーゼ阻害剤は、ジドブシン、ジダノシン、ザルシタビン、d d A、スタブシン、ラミブシン、アバカビル、エムトリシタビン、エンテカビル、アブリシタビン、アテビラビン、リバビリン、アシクロビル、ファムシクロビル、バラシクロビル、ガンシクロビル、バルガンシクロビル、テノホビル、アデフォビル、P M P A、シドフォビル、エファビレンツ、ネビラビン、デラビルジン、又はエトラビリンである。

【 0 1 1 0 】

一実施形態では、追加の治療剤は、無関係のウイルスに対して免疫応答の誘導をもたら

10

20

30

40

50

す、自然の限定された免疫応答を誘導する免疫調節剤である。換言すれば、免疫調節因子は、抗原提示細胞の成熟、T細胞の増殖、及びサイトカイン放出（例、とりわけIL-12、IL-18、IFN-γ、及び並びにTNF-α）に影響を及ぼし得る。

【0111】

更なる実施形態では、追加の治療剤は、TLR調節因子又はTLRアゴニスト、例えばTLR-7アゴニスト若しくはTLR-9アゴニストなどである。併用療法の更なる実施形態において、TLR-7アゴニストは、SM360320(9-ベンジル-8-ヒドロキシ-2-(2-メトキシ-エトキシ)アデニン)及びAZD8848(メチル[3-(3-(6-アミノ-2-ブトキシ-8-オキソ-7,8-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル)プロピル][3-(4-モルホリニル)プロピル]アミノ}メチル)フェニル]アセテート)からなる群から選択される。10

【0112】

本明細書で提供する方法のいずれかにおいて、方法は、少なくとも1つのHBVワクチン、ヌクレオシドHBV阻害剤、インターフェロン、又はそれらの任意の組み合わせを個体に投与することを更に含み得る。一実施形態では、HBVワクチンは、RECOMBIVAX HB、ENGERRIX-B、ELOVAC B、GENEVAC-B、又はSHANVAC Bのうちの少なくとも1つである。

【0113】

一実施形態では、本明細書に記載の方法は、ヌクレオチド/ヌクレオシド類似体、侵入阻害剤、融合阻害剤、及びこれらの又は他の抗ウイルス機序の任意の組み合わせからなる群から選択される少なくとも1つの追加の治療剤を投与する工程を更に含む。20

【0114】

別の態様では、治療有効量の開示される化合物を単独で、又は逆転写酵素阻害剤と組み合わせて個体に投与すること；及び、個体に治療有効量のHBVワクチンを更に投与することにより、HBVウイルス負荷を低下させることを含む、必要のある個体においてHBV感染症を治療する方法を本明細書で提供する。逆転写酵素阻害剤は、ジドブジン、ジダノシン、ザルシタビン、ddA、スタブジン、ラミブジン、アバカビル、エムトリシタビン、エンテカビル、アブリシタビン、アテビラピン、リバビリン、アシクロビル、ファムシクロビル、バラシクロビル、ガンシクロビル、バルガンシクロビル、テノホビル、アデフォビル、PMPA、シドフォビル、エファビレンツ、ネビラピン、デラビルジン、又はエトラビリンのうち少なくとも1つであり得る。30

【0115】

別の態様では、本明細書で提供されるのは、HBV感染の治療を必要としている個体においてHBV感染を治療する方法であって、治療有効量の開示される化合物を単独で、又は、HBV核酸を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチド又はRNA干渉剤と組み合わせて個体に投与するか、治療有効量のHBVワクチンを個体に更に投与することによってHBVウイルス負荷を低下させることを含む、治療方法である。アンチセンスオリゴヌクレオチド又はRNA干渉剤は、ウイルスゲノムの複製、ウイルスRNAの転写、又はウイルスタンパク質の翻訳を阻害するため、標的のHBV核酸に対する十分な相補性を有する。40

【0116】

別の実施形態では、開示される化合物と少なくとも1種類の更なる治療薬とは同時配合される。更なる別の実施形態では、開示される化合物と少なくとも1種類の更なる治療薬とは同時投与される。本明細書に記載される任意の併用療法では、適切な方法、例えばsigmoid-E_{max}式(Holzfried & Scheiner, 19981, Clin. Pharmacokinetics 6: 429~453)、Loewe加法の式(Loewe & Muenschek, 1926, Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 114: 313~326)、及びメジアン効果式(Chou & Talalay, 1984, Adv. Enzyme Regul. 22: 27~55)などを使用し、相乗効果を計算することができる。上記に挙げた各式に実験データを代入し、対応するグラフを50

生成して、薬物併用の効果を評価する助けとすることができます。上記の方程式と関連付けられる対応するグラフは、それぞれ濃度 - 効果曲線、アイソボログラム曲線、及び組み合わせ指標曲線である。

【0117】

本明細書において提供する併用療法を施す方法のいずれかの実施形態では、この方法は、対象のHBVウイルス負荷のモニタリング又は検出を更に含むことができ、方法は、一定期間、例えばHBVウイルスが検出不可となるまで実施される。

【0118】

本明細書、特にスキーム及び実施例で使用される略語は、以下のとおりである。

【0119】

10

20

30

40

50

【表2】

ACN	アセトニトリル	
AcOH	氷酢酸	
ADDP	アゾジカルボン酸ジピペリジド	
aq.	水溶液	
Bn又はBzl	ベンジル	
BINAP	2, 2'-ビス(ジフェニルホスフィノ)-1, 1'-ビナフチル	
Boc	tert-ブチルオキシカルボニル	
conc.	濃	
dba	ジベンジリデンアセトン	
DBU	1, 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]ウンデカ-7-エン	
DCC	N, N'-ジシクロヘキシリカルボジイミド	
DCE	1, 2-ジクロロエタン	
DCM	ジクロロメタン	
DEAD	ジエチルアゾジカルボキシレート	
DIBAL	ジイソブチルアルミニウム水素化物	
DIEA又はDIEA	ジイソプロピルエチルアミン	
DMA	ジメチルアニリン	
DMAP	4-ジメチルアミノピリジン	
DME	ジメトキシエタン	
DMF	N, N-ジメチルホルムアミド	
DMSO	ジメチルスルホキシド	
DMT	4, 4'-ジメトキシトリチル	
DPPA	ジフェニルホスホリルアジド	
dppf	1, 1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン	
EA	酢酸エチル	
EDCI	1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド	
ESI	エレクトロスプレーイオン化	
EtoAc又はEA	酢酸エチル	
EtOH	エタノール	
GCMS	ガスクロマトグラフィー-質量分析	
h又はhr	時間	
HEK	ヒト胎児由来腎臓	
HPLC	高速液体クロマトグラフィー	
LAH	リチウムアルミニウム水素化物	
LDA	リチウムジイソプロピルアミド	
LHMDS	リチウムビス(トリメチルシリル)アミド	
MIBK	メチルエチルケトン	
MeOH	メタノール	
MHz	メガヘルツ	
min	分	
MS	質量分析	
Ms	メタンスルホニル	
NBS	N-ブロモスクシンイミド	
NIS	N-ヨードスクシンイミド	
NMM	N-メチルモルホリン	
NMP	N-メチルピロリドン	
NMR	核磁気共鳴	
PCC	ピリジニウムクロロクロメート	
PE	石油エーテル	
RP	逆相	
rt又はRT	室温	
R _t	保持時間	
Sec	秒	
SEM-Cl	2-(トリメチルシリル)エトキシメチルクロリド	
TBAF	フッ化テトラブチルアンモニウム	
TBDMS	t-ブチルジメチルシリル	
TBP	トリブチルリン酸	
TEA又はEt ₃ N	トリエチルアミン	
TFA	トリフルオロ酢酸	
THF	テトラヒドロフラン	
TIPS	トリイソプロピルシリル	
TLC	薄層クロマトグラフィー	
TMS	テトラメチルシラン	
Ts	4-トルエンスルホニル	

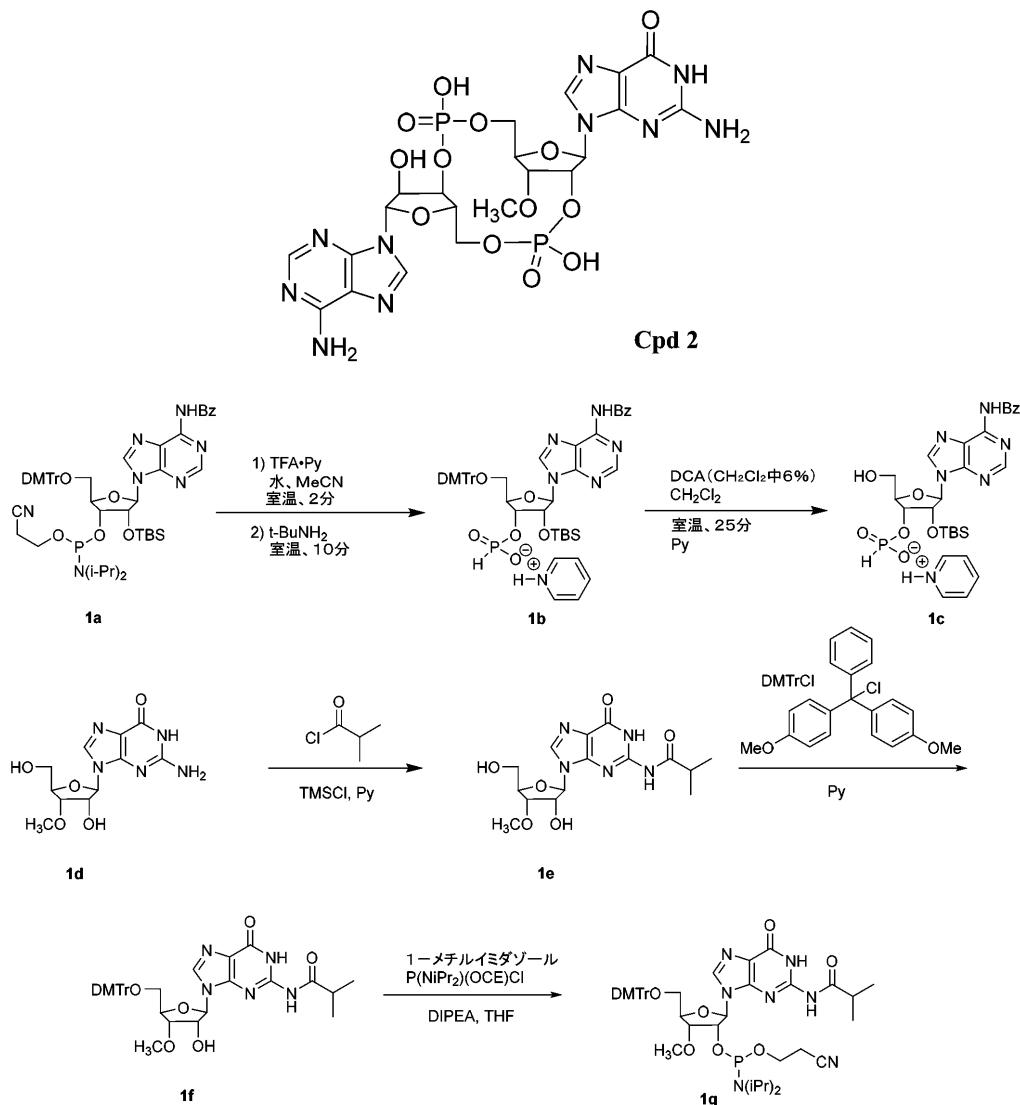
【0120】

具体的実施例

(実施例1)

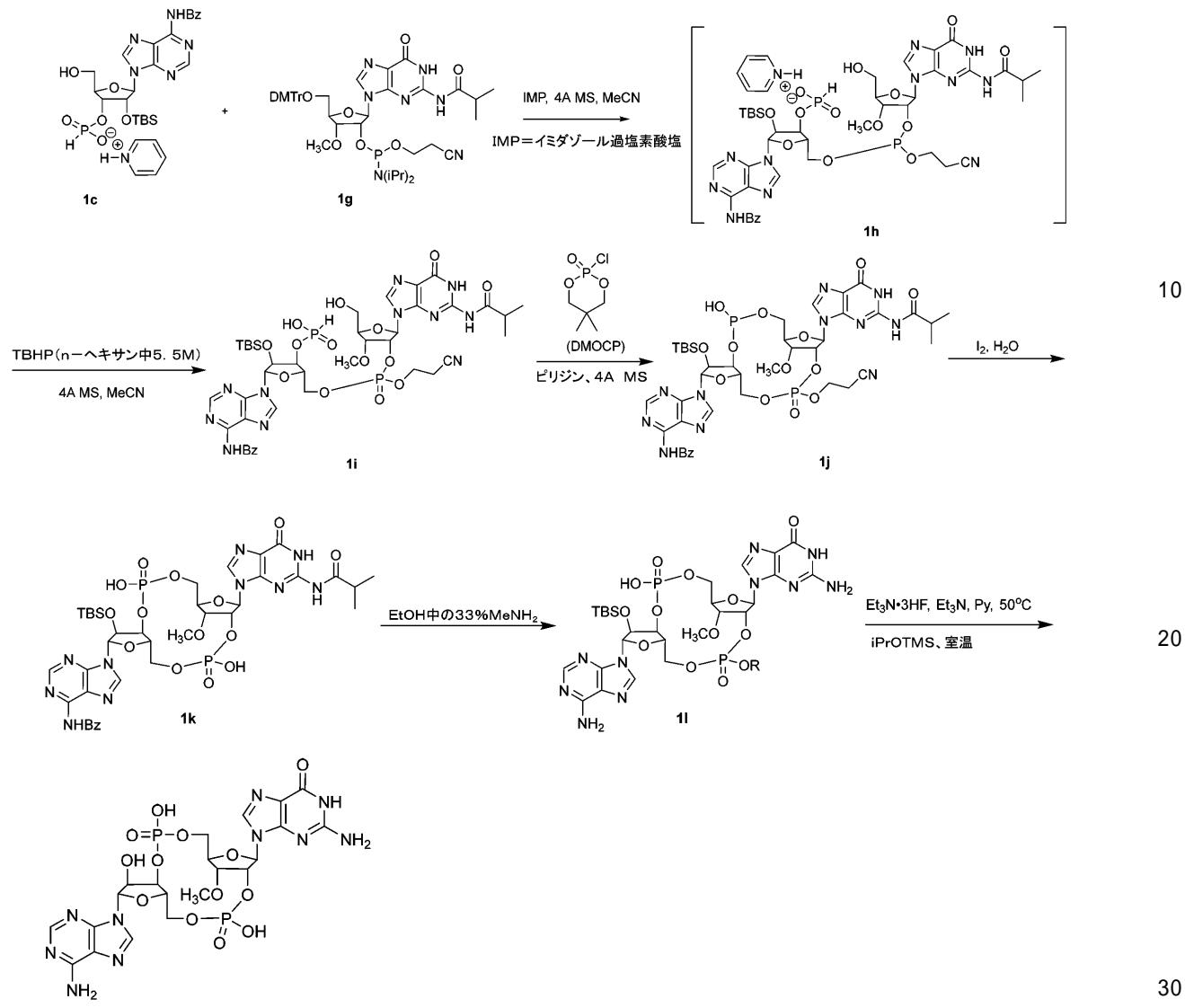
【0121】

【化 1 5】



【0 1 2 2】

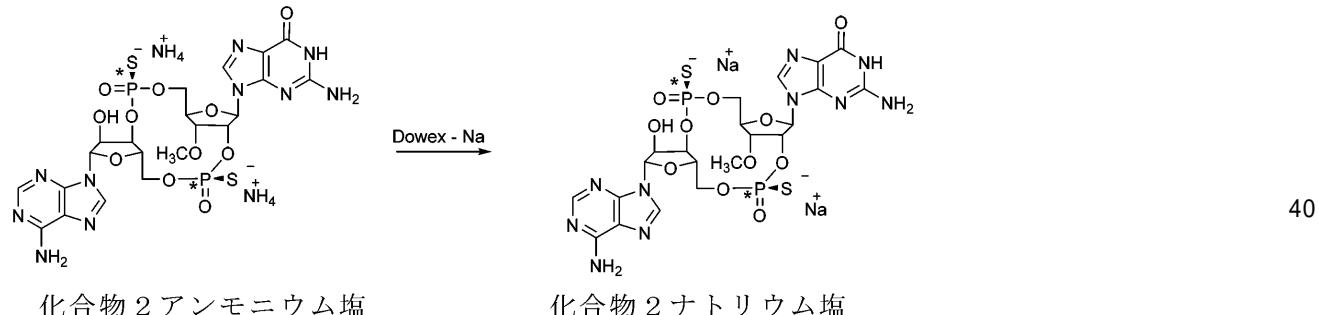
【化16】



化合物2

【0123】

【化17】



化合物2アンモニウム塩

化合物2ナトリウム塩

【0124】

工程1：化合物1eの調製

3'-O-メチル-グアノシン1d (C A S 1 0 3 0 0 - 2 7 - 3、1.0 g、3.3 mmol) のピリジン (20 mL) 溶液に、tert-ブチルクロロジメチルシラン (3.2 mL、25.2 mmol) を室温で滴下した。1時間後、塩化イソブチリル (1.08 g、10.1 mmol) を室温で滴下した。最終混合物を室温で2時間攪拌した。混

合物を、水(30 mL)を用いて0でクエンチし、NH₄OH(6 mL)を0で滴下した。10分後、混合物を室温で0.5時間攪拌した。混合物を濃縮した。粗生成物をFCC(DCM:MeOH = 10:1)によって精製し、白色固体として1e(790 mg、63.9%)を得た。¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) 12.08(s, 1H), 11.67(s, 1H), 8.27(s, 1H), 5.81(d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.51(d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.10(t, J = 5.2 Hz, 1H), 4.59 - 4.57(m, 1H), 4.01 - 3.99(m, 1H), 3.86 - 3.84(m, 1H), 3.65 - 3.57(m, 2H), 3.41(s, 3H), 3.17(d, J = 5.2 Hz, 1H), 2.79 - 2.76(m, 1H), 1.14(s, 3H), 1.12(s, 3H)。ESI-MS: m/z = 368.0 [M+1]⁺。

【0125】

工程2：化合物1fの調製

化合物1e(790 mg、2.15 mmol)とDMTrCl(0.765 g、2.26 mmol)のピリジン(10 mL)溶液を、室温で一晩攪拌した。DMTrCl(0.765 g、2.26 mmol)を加え、反応物を室温で2時間攪拌した。混合物を水(10 mL)でクエンチし、DCMで抽出した(10 mL × 4回)。合わせた有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過して、濾液を濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィーにより精製し(DCM:MeOH = 15:1、R_f = 0.5)、化合物1f(1.28 g、88.9%)を淡黄色固体として得た。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) 11.87(s, 1H), 7.68 - 7.66(m, 2H), 7.57(d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.44(t, J = 9.2 Hz, 4H), 7.31 - 7.29(m, 2H), 7.22 - 7.19(m, 1H), 6.87 - 6.81(m, 4H), 5.70(d, J = 7.2 Hz, 1H), 5.30 - 5.27(m, 1H), 5.05 - 5.03(m, 1H), 4.19 - 4.18(m, 1H), 4.09 - 4.07(m, 1H), 3.78(s, 3H), 3.77(s, 3H), 3.58 - 3.55(m, 1H), 3.47(s, 3H), 3.05 - 3.03(m, 1H), 1.47 - 1.40(m, 1H), 0.85(d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.55(d, J = 6.8 Hz, 3H); ESI-MS: m/z = 670.2 [M+1]⁺。

【0126】

工程3：化合物1gの調製

化合物1f(1.28 g、1.91 mmol)及びDIPSEA(741.0 mg、5.73 mmol)のTHF(5 mL)溶液に、3-(クロロ(ジイソプロピルアミノ)エスフィノ)オキシ)プロパンニトリル(1.36 g、5.73 mmol)を室温で添加した。混合物を室温で1時間攪拌した。反応をMeOHでクエンチした。混合物をEtOAcで抽出し、合わせた有機層をブラインで2回洗浄した。この有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過して、濾液を濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィーにより精製し(DCM:MeOH = 10:1、R_f = 0.6)、化合物1g(1 g、60.1%)を得た。¹H NMR(400 MHz, CD₃CN) 7.88(d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.48 - 7.41(m, 2H), 7.35 - 7.24(m, 7H), 6.88 - 6.79(m, 4H), 6.02 - 5.89(m, 1H), 5.19 - 4.95(m, 1H), 4.28 - 4.20(m, 1H), 4.07 - 4.04(m, 1H), 3.78(d, J = 1.6 Hz, 7H), 3.67 - 3.48(m, 4H), 3.44(d, J = 15.6 Hz, 3H), 3.33(td, J = 2.8, 10.8 Hz, 1H), 2.72 - 2.65(m, 1H), 2.61 - 2.53(m, 1H), 2.51(t, J = 6.0 Hz, 1H), 1.26 - 1.24(m, 4H), 1.18 - 1.12(m, 12H), 0.91(d, J = 6.8 Hz, 3H); ³¹P NMR(162 MHz, CD₃CN) 150.90(s, 1P), 150.81(s, 1P), 13.80(s, 1P); ESI-MS: m/z = 787.2 [M+1]⁺。

【0127】

工程4：化合物1bの調製

10

20

30

40

50

化合物 1 a (4.3 g、4.51 mmol) 及び水 (156.8 mg、8.7 mmol) の乾燥 CH_3CN (16 mL) 溶液に、ピリジニウムトリフルオロアセテート (1.0 g、5.2 mmol) を室温で添加した。1分後、 t -ブチルアミン (4 mL) を添加した。得られた混合物を 15 度で 20 分間攪拌した。混合物を 2 時間濃縮して、粗生成物 1 b を白色固体として得た (4.0 g)。この粗生成物を、次の工程で直接使用した。

【0128】

工程 5：化合物 1 c の調製

化合物 1 b (4.05 g、4.35 mmol) 及び水 (832.0 mg、46.2 mmol) の DCM (40 mL) 溶液に、ジクロロ酢酸 (2.1 g、16.3 mmol) を室温で 50 分間添加した。10 分後、ピリジン (730.6 mg、9.24 mmol) を添加した。混合物を濃縮し、残渣をフラッシュクロマトグラフィーにより精製し ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{MeOH} = 5 : 1$ 、 $R_f = 0.4$)、化合物 1 c (2.45 g、89.5%) を白色固体として得た。

10

【0129】

ESI-MS : $m/z = 449.9 [M + 1]^+$ 。

【0130】

工程 6：化合物 1 i の調製

乾燥 CH_3CN (20 mL) 中の化合物 1 c (300 mg、0.48 mmol) の溶液と 4 モレキュラーシーブを室温、 N_2 下で 10 分間攪拌した。1 H - イミダゾール過塩素酸塩 (1.5 g、8.8 mmol) を添加した。10 分後、乾燥 CH_3CN (5 mL) 中の化合物 1 g (0.54 g、0.62 mmol) を添加した。混合物を室温で 50 分間攪拌した。 t -ブチルヒドロペルオキシド (0.43 mL、2.39 mmol) を添加した。得られた混合物を室温で 1 時間攪拌し、濃縮した。混合物を濃縮し、残渣を分取 HPLC (水 (10 mM NH_4HCO_3) - CH_3CN) により精製して、白色固体として化合物 1 i (168 mg、34.1%) を得た。 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.89 (s, 1 H), 8.79 (s, 1 H), 8.36 (s, 1 H), 8.16 (d, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.73 - 7.67 (m, 1 H), 7.62 (t, $J = 7.0$ Hz, 2 H), 6.27 - 6.18 (m, 2 H), 5.38 - 5.30 (m, 1 H), 4.81 (m, 2 H), 4.44 (s, 1 H), 4.29 (s, 1 H), 4.26 - 4.15 (m, 3 H), 3.92 - 3.85 (m, 1 H), 3.75 (d, $J = 12.4$ Hz, 1 H), 3.61 - 3.57 (m, 3 H), 2.74 (td, $J = 6.6, 13.1$ Hz, 1 H), 1.21 (dd, $J = 6.8, 15.2$ Hz, 6 H), 0.85 (s, 9 H), 0.12 (s, 3 H), -0.04 (s, 3 H); ^{31}P NMR (162 MHz, CD_3OD) δ 3.61 (s, 1 P), -1.68 (s, 1 P); ESI-MS : $m/z = 1033.2 [M + 1]^+$ 。

20

【0131】

工程 7：化合物 1 k の調製

ピリジン (40 mL) 中の化合物 1 i (160 mg、0.16 mmol) の溶液及び 4 モレキュラーシーブに、DMOCP (87.0 mg、0.47 mmol) を室温で添加した。混合物を室温で 1 時間攪拌した。ヨウ素 (199.4 mg、0.79 mmol) 及び水 (28.3 mg、1.57 mmol) を添加した。1 時間後、混合物を濾過し、次いで、濾液の色が淡黄色に変わるまで、 Na_2SO_3 の飽和溶液を滴下した。混合物を濾過し、濾液を濃縮した。残渣を分取 HPLC (水 (10 mM NH_4HCO_3) - 23% から 53% までの CH_3CN) により精製して、白色固体として標的化合物 1 k (48 mg、31.3%) を得た。ESI-MS : $m/z = 977.5 [M + 1]^+$ 。

30

【0132】

工程 8：化合物 1 l の調製

化合物 1 k (40.0 mg、0.041 mmol) を、メチルアミンの EtOH 溶液 (33%、10 mL) で処理し、室温で 1 時間攪拌した。反応混合物を濃縮して粗化合物 1 l (32.9 mg、100%) を得て、これを次の工程に直接使用した。ESI-MS :

50

$m/z = 803.4 [M+1]^+$ 。

【0133】

工程9：化合物2の調製

化合物11(32.86mg、0.041mmol)、Et₃N(248.5mg、2.46mmol)及びトリエチルアミン三フッ化水素酸塩(198.0mg、1.2mmol)のピリジン(5mL)溶液を50で5時間攪拌した。混合物をTHF(10mL)で希釈し、イソプロロポキシトリエチルシラン(541.5mg、4.1mmol)を室温で1.5時間添加した。混合物を濃縮し、残渣を分取HPLC(水(0.05%NH₄OH v/v)-CH₃CN(0%-15%))により精製して、白色固体として、アンモニウム塩(6.7mg)として標的生成物2を得た。¹H NMR(400MHz, D₂O)=8.18-8.16(d, J=10Hz, 2H), 7.74(s, 1H), 6.06(s, 1H), 5.79-5.77(d, J=8.8Hz, 1H), 5.62-5.56(m, 1H), 4.99-4.94(m, 1H), 4.45(m, 1H), 4.39-4.34(m, 2H), 4.15-4.03(m, 4H), 3.46(s, 3H); ³¹P NMR(162MHz, D₂O)-1.28(s, 1P), -2.65(s, 1P); ESI-MS: m/z = 689.5 [M+1]⁺。

10

【0134】

工程9：(化合物2Na塩)の調製

体積3mLのDowex 50W×8, 200-400(H形態)をビーカー(化合物5のアンモニウム塩6.7mg用)に添加し、脱イオン水(2回)で洗浄した。次いで、樹脂に15%H₂SO₄脱イオン水溶液(50mL)を添加し、混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂を、15%H₂SO₄脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15%H₂SO₄で洗浄し(少なくとも4CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂を上述のビーカーに戻し、15%NaOH水溶液(50mL)を添加し、混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂をカラムに移し、15%NaOH水溶液で洗浄し(少なくとも4CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した(少なくとも4CV)。化合物5(6.7mg)を脱イオン水に溶解し(1mL中6.7mg)、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。TLC(UV)によって検出されるように、化合物は、初期の画分に溶出した。生成物を凍結乾燥し、標的化合物2Na塩(6.4mg、94.2%)を白色泡状物として得た。¹H NMR(400MHz, D₂O) 8.16(s, 1H), 8.13(s, 1H), 7.74(s, 1H), 6.04(s, 1H), 5.78(d, J=8.8Hz, 1H), 5.61-5.56(m, 1H), 4.98-4.93(m, 1H), 4.65(s, 1H), 4.44-4.35(m, 3H), 4.15-4.05(m, 4H), 3.46(s, 3H); ³¹P NMR(162MHz, D₂O)-1.26, -2.64; ESI-MS: m/z = 689.0 [M+1]⁺。

20

【0135】

(実施例2)

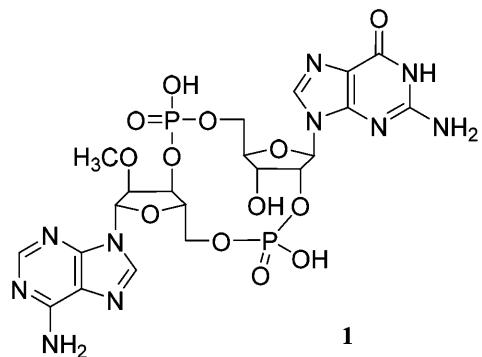
【0136】

30

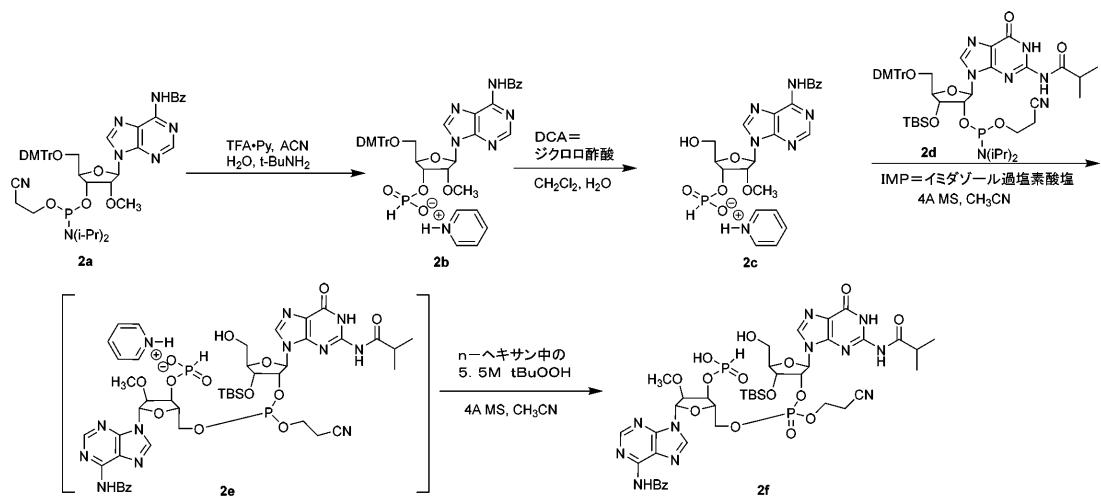
40

50

【化 1 8】



10



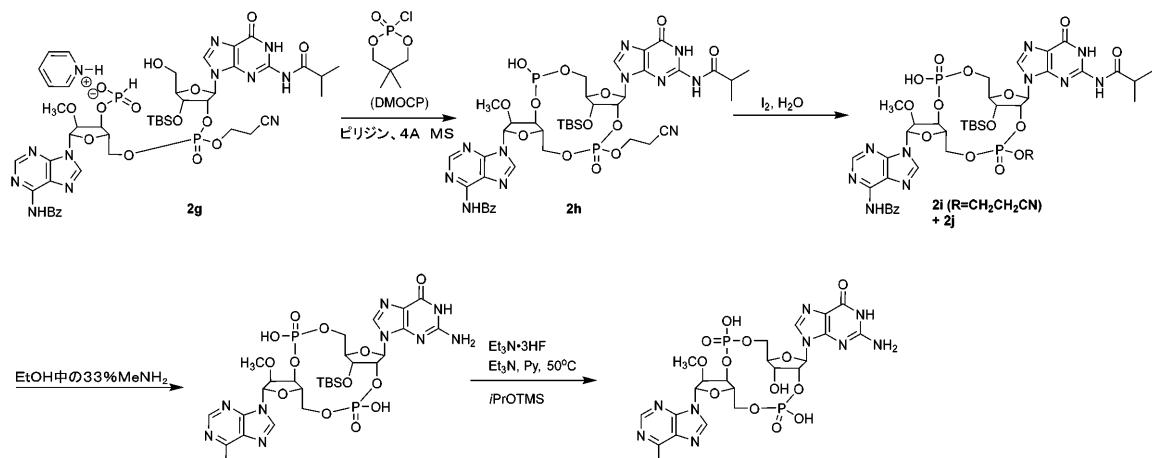
【 0 1 3 7 】

30

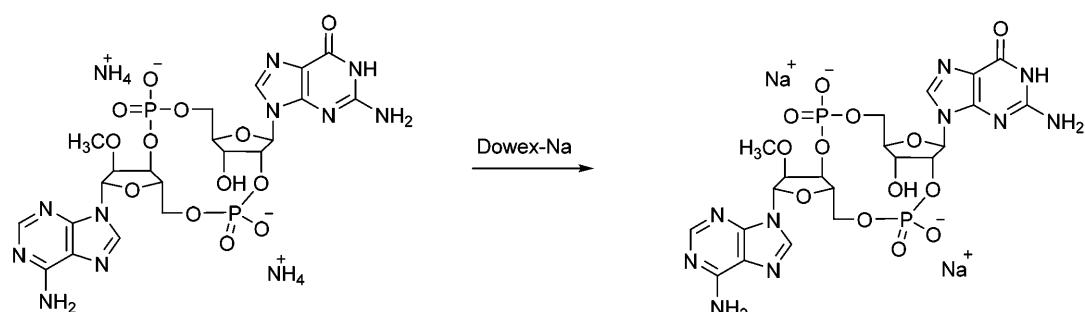
40

50

【化19】



化合物1、アンモニウム塩



化合物1、アンモニウム塩

化合物1、ナトリウム塩

【0138】

工程1：化合物2bの調製

D M T - 2' - O M e - B z - アデノシン - C E ホスホラミダイト 2 a (1 . 0 g, 1 . 1 3 m m o l) 及び水 (4 0 . 6 m g, 2 . 2 5 m m o l) の乾燥 C H 3 C N (4 m L) 溶液に、ピリジニウムトリフルオロアセテート (2 6 1 . 0 m g, 1 . 3 5 m m o l) を 1 5 で添加した。反応混合物に t - プチルアミン (4 m L) を添加した。混合物を濃縮して、1 g の粗化合物 2 b を白色固体として得て、これを D C M と共に沸させ (3 回) 、次の工程に直接使用した。E S I - M S : m / z = 4 5 0 . 0 [M + 1] + 。(D M T = 4 , 4 ' - ジメトキシトリチル。)

【0139】

工程2：化合物2cの調製

化合物 2 b (9 3 0 . 0 m g, 1 . 1 2 m m o l) 及び水 (0 . 2 g, 1 1 . 2 m m o l) の C H 2 C l 2 (1 0 m L) 溶液に、ジクロロ酢酸 (0 . 5 1 g, 4 . 0 m m o l) を 1 5 で 0 . 5 時間かけて添加した。10分後、ピリジンを添加した。混合物を濃縮し、残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し (C H 2 C l 2 : M e O H = 5 : 1, R f = 0 . 5) 、化合物 2 c (4 0 0 m g, 0 . 7 6 m m o l, 6 7 . 6 % 収率) を白色固体として得た。³¹P N M R (4 0 0 M H z, D M S O - d 6) 0 . 0 5 ; E S I - M S : m / z = 4 5 0 . 0 (M + 1) 。

【0140】

工程3：化合物2fの調製

乾燥 C H 3 C N (1 6 m L) 中の化合物 2 c (8 6 0 . 0 m g, 1 . 6 3 m m o l) 溶液及び 4 モレキュラーシーブ (1 g) を N 2 下、15 で 10 分間攪拌した。1 H - イミダゾール過塩素酸塩 (5 . 1 6 g, 3 0 . 2 6 m m o l) を添加した。10分後、乾燥 C H 3 C N (4 m L) 中の D M T - 3' - O - T B D M S - G (i B u) - C E ホスホラミダイト 2 d (2 . 0 5 g, 8 . 1 1 m m o l) を添加した。混合物を室温で 5 0 分間攪拌した。

10

20

30

40

50

T e r t - ブチルヒドロペルオキシド溶液 (T B H P、1 . 4 8 m L、8 . 1 4 m m o l) 、ヘキサン中 5 . 5 M) を添加した。得られた混合物を 1 5 で 1 時間攪拌した。混合物を濃縮し、残渣を分取H P L C (水 (1 0 m M N H 4 H C O 3) - C H 3 C N) により精製して、白色固体として化合物 2 f (6 0 0 m g、0 . 5 8 m m o l 、3 5 . 7 % 収率) を得た。¹H N M R (4 0 0 M H z , C D 3 O D) 8 . 6 1 (d, J = 5 . 2 H z , 1 H) , 8 . 4 1 - 8 . 3 0 (m, 1 H) , 8 . 2 4 - 8 . 1 7 (m, 1 H) , 8 . 0 4 - 7 . 9 0 (m, 2 H) , 7 . 6 1 - 7 . 4 9 (m, 2 H) , 7 . 4 8 - 7 . 4 0 (m, 2 H) , 6 . 1 1 - 6 . 0 3 (m, 1 H) , 6 . 0 2 - 5 . 9 8 (m, 1 H) , 5 . 3 6 - 5 . 1 2 (m, 1 H) , 4 . 5 5 - 4 . 4 3 (m, 2 H) , 4 . 4 1 - 4 . 3 2 (m, 1 H) , 4 . 3 0 - 4 . 1 9 (m, 2 H) , 4 . 1 3 - 4 . 0 2 (m, 1 H) , 3 . 9 9 - 3 . 8 5 (m, 2 H) , 3 . 7 5 - 3 . 6 5 (m, 1 H) , 3 . 6 3 - 3 . 5 3 (m, 1 H) , 3 . 3 7 (s, 3 H) , 2 . 7 0 - 2 . 6 9 (m, 1 H) , 2 . 6 0 - 2 . 5 2 (m, 2 H) , 1 . 1 0 - 1 . 0 3 (m, 6 H) , 0 . 8 2 - 0 . 7 7 (m, 9 H) , 0 . 0 4 - 0 . 0 0 (m, 6 H) ; ³P N M R (1 6 2 M H z , C D 3 O D) 3 . 1 7 , 3 . 1 3 , - 2 . 5 8 , - 2 . 6 9 ; E S I - M S : m / z = 5 1 7 . 1 [M / 2 + 1]⁺ 及び 1 0 3 2 . 3 [M + 1]⁺。

【0 1 4 1】

工程 4 : 化合物 2 i + 化合物 2 j の調製

ピリジン (6 0 m L) 中の化合物 2 g (2 8 0 . 0 m g、0 . 2 7 m m o l) 溶液及び 4 モレキュラーシーブ (1 g) に、5 , 5 - ジメチル - 2 - オキソ - 2 - クロロ - 1 , 3 , 2 - ジオキサ - ホスフィナン (D M O C P、1 5 0 . 2 m g、0 . 8 1 m m o l) を 1 6 で添加した。混合物を 1 6 で 1 時間攪拌した。ヨウ素 (3 4 4 . 3 m g、1 . 3 6 m m o l) 及び水 (4 8 . 9 m g、2 . 7 1 m m o l) を添加した。1 時間後、飽和N a 2 S O 3 溶液を用い、反応をクエンチした。混合物を濾過し、濾液を濃縮した。残渣を分取H P L C (水 (1 0 m M N H 4 H C O 3) - C H 3 C N) により精製して、白色固体として化合物 2 i と化合物 2 j の混合物 (1 7 0 m g、0 . 1 7 m m o l 、6 0 . 8 %) を得た。E S I - M S : m / z = 1 0 3 0 . 4 [M + H]⁺。

【0 1 4 2】

工程 5 : 化合物 2 j の調製

化合物 2 i と化合物 2 j の混合物 (1 7 0 m g、0 . 1 7 m m o l) を、メチルアミン の E t O H 溶液 (1 5 m L 、3 3 %) で処理し、得られた溶液を 1 5 で 1 時間攪拌した。粗生成物 2 j (1 3 4 . 3 m g) を次の工程に直接使用した。

【0 1 4 3】

工程 6 : 化合物 1 の調製

化合物 2 j (1 3 4 . 3 m g 、粗) 、E t 3 N (1 . 0 g、1 0 . 0 m m o l) 及びトリエチルアミン三フッ化水素酸塩 (E t 3 N · 3 H F、8 0 7 . 4 m g、5 . 0 0 m m o l) のピリジン (1 0 m L) 溶液を 5 0 で 5 時間攪拌した。混合物を T H F (1 0 m L) で希釈し、イソプロポキシトリメチルシラン (2 . 2 g、1 6 . 7 m m o l) を添加した。1 5 で 1 時間攪拌した後、混合物を 1 5 で濃縮し、残渣を分取H P L C (水 (0 . 0 5 % N H 4 O H v / v) - C H 3 C N) により精製して、凍結乾燥時に白色固体として、アンモニウム塩として化合物 1 (1 9 . 5 m g、0 . 0 2 8 m m o l) を得た。¹H N M R (4 0 0 M H z , D 2 O) 8 . 2 6 (s, 1 H) , 8 . 1 5 (s, 1 H) , 7 . 7 8 (s, 1 H) , 6 . 1 1 6 (s, 1 H) , 5 . 8 7 (d, J = 8 . 4 H z , 1 H) , 5 . 6 6 (s, 1 H) , 4 . 9 5 (s, 1 H) , 4 . 4 8 (d, J = 4 . 4 H z , 1 H) , 4 . 2 4 (m, 5 H) , 3 . 9 7 (d, J = 1 1 . 7 H z , 1 H) , 3 . 8 3 (d, J = 1 2 . 0 H z , 1 H) , 3 . 6 9 (s, 3 H) ; ³P N M R (1 6 2 M H z , D 2 O) - 1 . 5 7 , - 3 . 3 8 ; E S I - M S : m / z = 6 8 8 . 9 [M + H]⁺。

【0 1 4 4】

化合物 1 ナトリウム塩の調製

D o w e x 5 0 W × 8 , 2 0 0 ~ 4 0 0 (2 5 m L 、H 形態) をビーカーに加え、脱

10

20

30

40

50

イオン水(60mL)で洗浄した。次いで、樹脂に15%H₂SO₄脱イオン水溶液を添加し、混合物を穏やかに5分間攪拌し、デカンテーションした(50mL)。樹脂を、15%H₂SO₄脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15%H₂SO₄で洗浄し(少なくとも4CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂を上述のビーカーに戻し、15%NaOH水溶液(脱イオン水)を添加し、混合物を穏やかに5分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂をカラムに移し、15%NaOH水溶液で洗浄し(少なくとも4CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。化合物1アンモニウム塩(16mg)を最小限の量の脱イオン水に溶解し、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。UVに基づきCDNの適切な画分を一緒にプールし、凍結乾燥させ、化合物1のナトリウム塩形態(13.5mg)を得た。

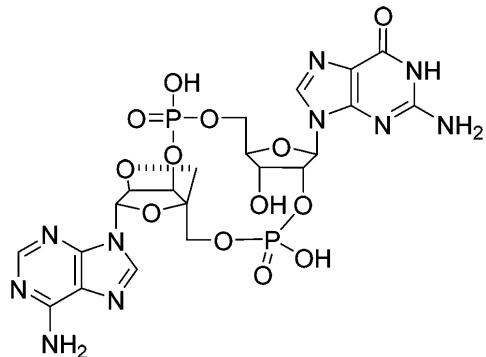
¹H NMR(400MHz, D₂O) 8.17(s, 1H), 8.14(s, 1H), 7.73(s, 1H), 6.14(s, 1H), 5.83(d, J = 8.8Hz, 1H), 5.58 - 5.52(m, 1H), 5.01(s, 1H), 4.98 - 4.90(m, 1H), 4.04 - 4.51(m, 5H), 4.04(d, J = 11.7Hz, 1H), 3.78(d, J = 12.0Hz, 1H), 3.69(s, 3H); ³¹P NMR(162MHz, D₂O) -1.63, -2.29; ESI-MS: m/z = 689 [M+H]⁺。

【0145】

(実施例3)

【0146】

【化20】



化合物6

【0147】

10

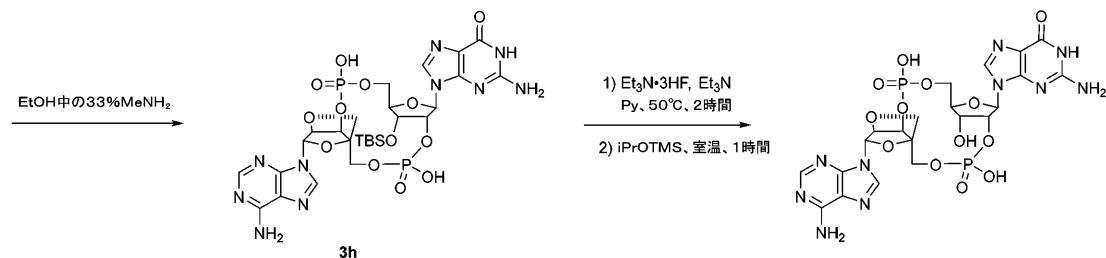
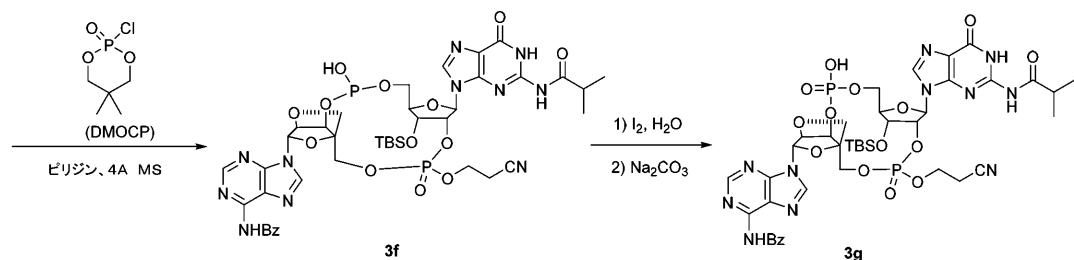
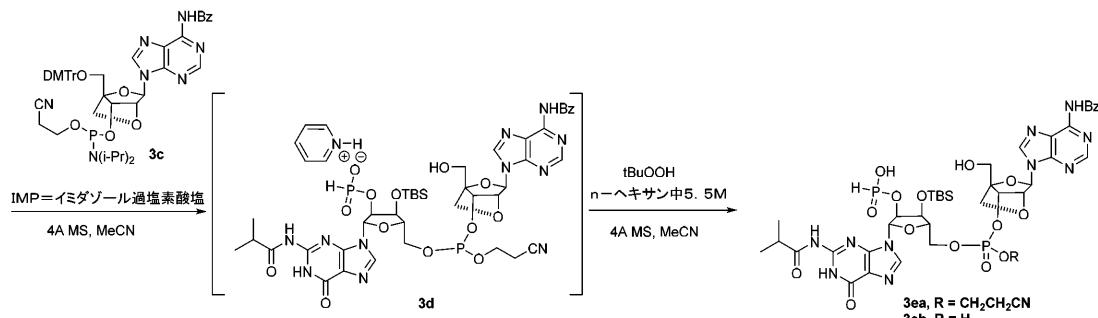
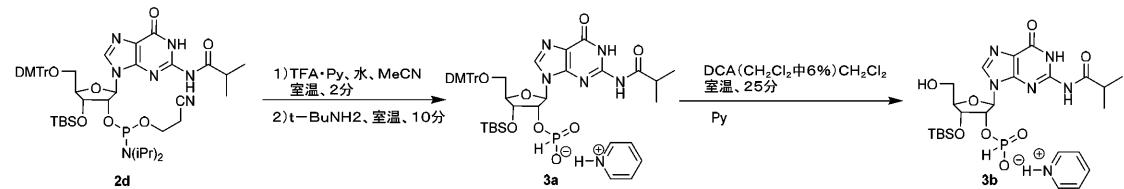
20

30

40

50

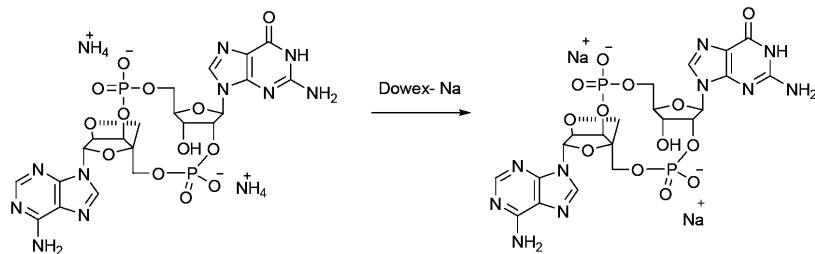
【化 2 1】



化合物 6 アンモニウム塩

【0 1 4 8】

【化 2 2】



化合物 6 アンモニウム塩

化合物 6 ナトリウム塩

【0 1 4 9】

工程 1：化合物 3 a の調製

D M T - 3 ' - O - T B D M S - G (i B u) - C E ホスホラミダイト化合物 2 d (1 g 、 1 . 0 3 m m o l) 及び水 (3 7 . 1 m g 、 2 . 0 6 m m o l) の C H 3 C N (4 m L) 溶液に、ピリジニウムトリフルオロアセテート (2 3 8 . 9 m g 、 1 . 2 m m o l) を室温で加えた。反応混合物に t e r t - ブチルアミン (4 m L) を添加した。得られた混合物を室温で 2 0 分間攪拌した。混合物を濃縮して、化合物 3 a (9 4 1 . 1 m g) を白色

固体として得て、これを D C M と共に沸させ（3回）、次の工程に直接使用した。

【0150】

工程2：化合物3bの調製

化合物3a（941.1mg、1.03mmol）及び水（0.19g、10.0mmol）のCH₂Cl₂（30mL）溶液に、ジクロロ酢酸溶液（0.47g、3.62mmol、DCM中6%）の溶液を室温で0.5時間かけて添加した。ピリジン（0.163g、2.06mmol）を添加した。10分後、混合物を濃縮し、残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し（DCM：MeOH = 5:1、R_f = 0.5）、化合物3c（515mg、0.84mmol）を白色固体として得た。ESI-MS: m/z = 532.1 [M + 1]⁺。

10

【0151】

工程3：化合物3ea + 化合物3ebの調製

乾燥CH₃CN（10mL）中の化合物3b（500mg、0.82mmol溶液）及び4MS（0.5g）を室温、N₂下で3分間攪拌した。1H-イミダゾール過塩素酸塩（IMP、2.54g、15.1mmol）を添加した。10分後、CH₃CN（5mL）中のLNA-dA（Bz）-CEホスホラミダイト、化合物3c（943mg、1.06mmol）を添加した。混合物を室温で50分間攪拌した。tert-ブチルヒドロペルオキシド溶液（TBP、ヘキサン中5.5M、0.74mL、4.09mmol）を添加した。得られた混合物を室温で1時間攪拌した。混合物を濃縮し、残渣を分取HPLC（水（10mM NH₄HCO₃）-ACN）により精製して、白色固体として化合物3eaと化合物3ebの混合物（135.7mg、0.132mmol）を得た。この生成物の混合物を、次の工程で直接使用した。ESI-MS: m/z = 1030.1 [M + 1]⁺。

20

【0152】

工程4：化合物3gの調製

ピリジン（30mL）中の化合物3eaと化合物3eb（135.7mg、0.132mmol）の溶液と4モレキュラーシーブ（0.5g）に、29でDMOCP（72.6mg、0.39mmol）を添加した。混合物を29で1時間攪拌した。ヨウ素（166.3mg、0.66mmol）及び水（23.6mg、1.31mmol）を添加した。1時間後、飽和Na₂SO₃溶液を用い、反応をクエンチした。混合物を濾過し、濾液を濃縮した。残渣を分取HPLC（水（10mM NH₄HCO₃）-35%から65%までのCH₃CN）により精製して、白色固体として化合物3g（22mg、0.021mmol）を得た。ESI-MS: m/z = 514.5 [M / 2 + 1]⁺及び1029.3 [M + 1]⁺。

30

【0153】

工程5：化合物3hの調製

化合物3g（22mg、0.021mmol）を、メチルアミンのEtOH溶液（33%、10mL）で処理し、室温で1時間攪拌した。反応混合物を濃縮して粗化合物3hを得て、これをピリジンと共に沸させ（3回）、次の工程に直接使用した。

40

【0154】

工程6：化合物6アンモニウム塩の調製

化合物3h、Et₃N（176.7mg、1.75mmol）及びトリエチルアミン三フッ化水素酸塩（Et₃N·3HF、140.7mg、0.87mmol）のピリジン（10mL）溶液を50で5時間攪拌した。混合物をTHF（10mL）で希釈し、イソプロポキシトリエチルシラン（384.9mg、2.91mmol）を15で1時間かけて添加した。混合物を室温で濃縮し、残渣を分取HPLC（水（0.05%NH₄OH v/v）-CH₃CN（0%~15%））により精製して、凍結乾燥時に白色固体として、アンモニウム塩（6.1mg、0.009mmol）として化合物6を得た。¹H NMR（400MHz, D₂O）δ 8.30 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.83 (br s, 1H), 6.19 (s, 1H), 5.96 (d, J = 6.8Hz, 1H), 4.98 (s,

50

1 H) , 4 . 5 7 (s , 1 H) , 4 . 3 6 - 4 . 3 0 (m , 3 H) , 4 . 1 6 (d , J = 6 . 0 H z , 3 H) , 4 . 0 4 (d , J = 7 . 6 H z , 1 H) , 3 . 8 6 (d , J = 1 1 . 6 H z , 2 H) ; ^{31}P NMR (1 6 2 M H z , D₂O) - 1 . 7 3 , - 3 . 4 0 ; E S I - M S : m / z = 6 8 7 . 0 [M + 1]⁺。

【 0 1 5 5 】

化合物 6 ナトリウム塩の調製

Dowex 50W × 8 , 2 0 0 ~ 4 0 0 (2 m L 、 H 形態) をビーカーに加え、脱イオン水 (1 5 m L) で洗浄した。次いで、樹脂に 1 5 % H₂S O₄ 脱イオン水溶液を添加し、混合物を穏やかに 5 分間攪拌し、デカンテーションした (1 0 m L) 。樹脂を、 1 5 % H₂S O₄ 脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、 1 5 % H₂S O₄ で洗浄し (少なくとも 4 C V) 、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂を上述のビーカーに戻し、 1 5 % NaOH 水溶液 (脱イオン水) を添加し、混合物を穏やかに 5 分間攪拌し、デカンテーションした (1 回) 。樹脂をカラムに移し、 1 5 % NaOH 水溶液で洗浄し (少なくとも 4 C V) 、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。化合物 6 アンモニウム塩 (3 . 5 m g) を最小限の量の脱イオン水に溶解し、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。UV に基づき CDN の適切な画分と一緒にプールし、凍結乾燥させ、化合物 6 のナトリウム塩 (3 . 0 2 m g) を得た。¹H NMR (4 0 0 M H z , D₂O) :

8 . 1 1 (s , 1 H) , 7 . 8 8 (s , 1 H) , 7 . 7 4 (s , 1 H) , 6 . 0 2 (s , 1 H) , 5 . 8 5 (d , J = 8 . 4 H z , 1 H) , 5 . 6 5 - 5 . 5 8 (s , 1 H) , 4 . 9 1 (d , J = 3 . 2 H z , 1 H) , 4 . 8 3 (s , 1 H) , 4 . 5 0 (d , J = 4 . 8 H z , 1 H) , 4 . 3 5 - 4 . 2 8 (m , 1 H) , 4 . 2 6 - 4 . 1 9 (m , 2 H) , 4 . 1 3 - 4 . 0 1 (m , 3 H) , 3 . 9 0 (d , J = 8 H z , 1 H) , 3 . 7 6 (d , J = 1 2 . 4 H z , 2 H) ; ^{31}P NMR (1 6 2 M H z , D₂O) - 1 . 6 4 , - 1 . 9 1 。

【 0 1 5 6 】

(実施例 4)

【 0 1 5 7 】

10

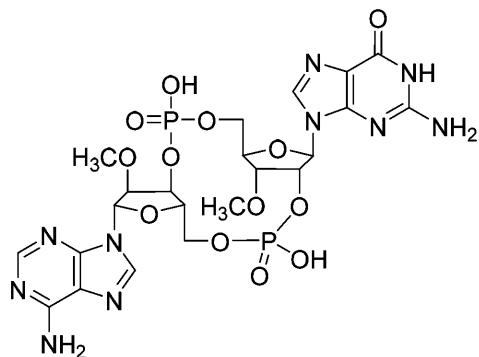
20

30

40

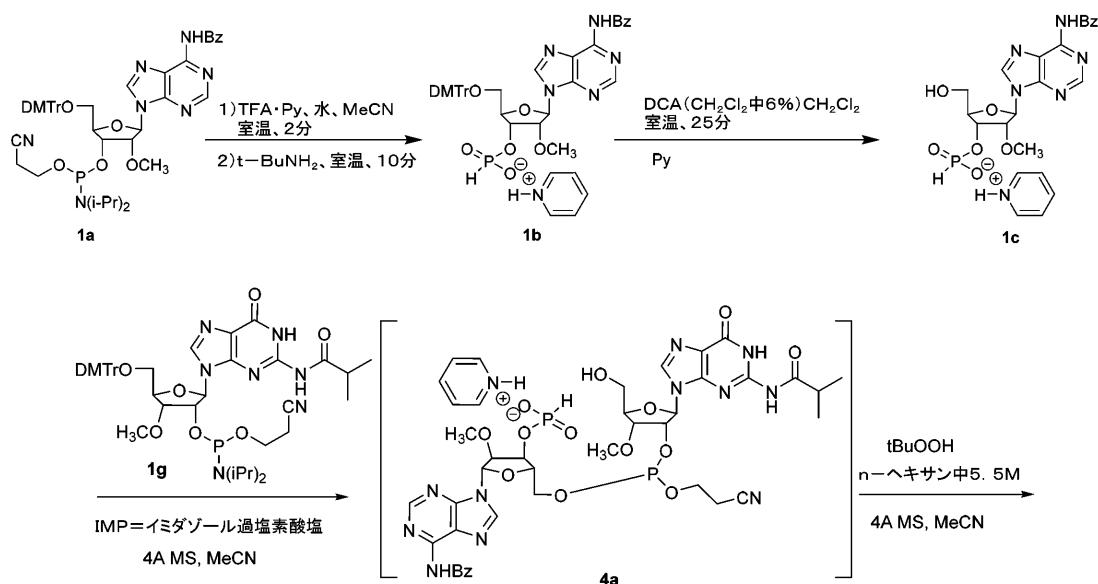
50

【化 2 3】



10

化合物 3



20

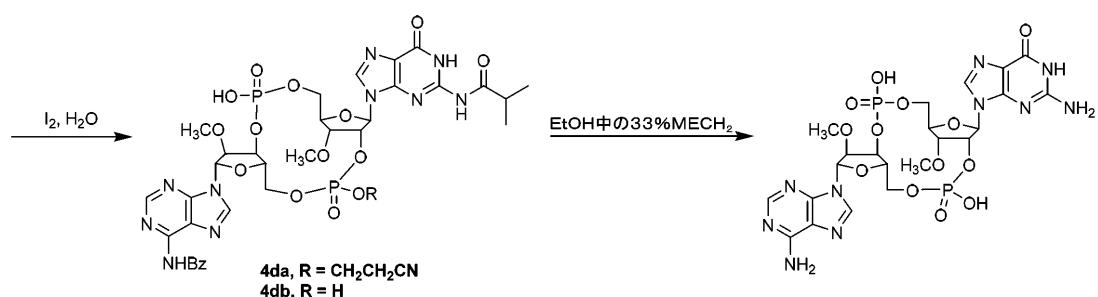
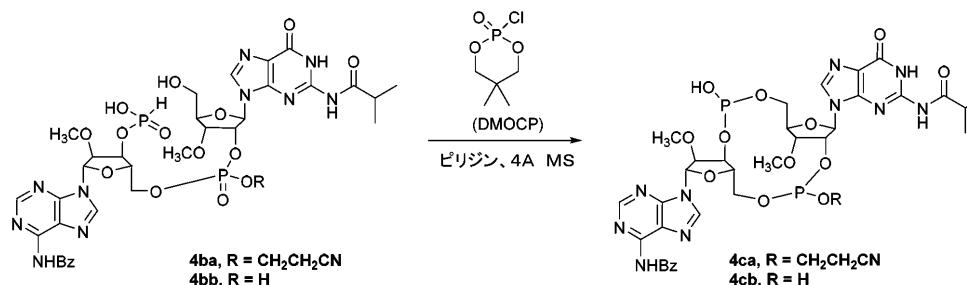
【 0 1 5 8 】

30

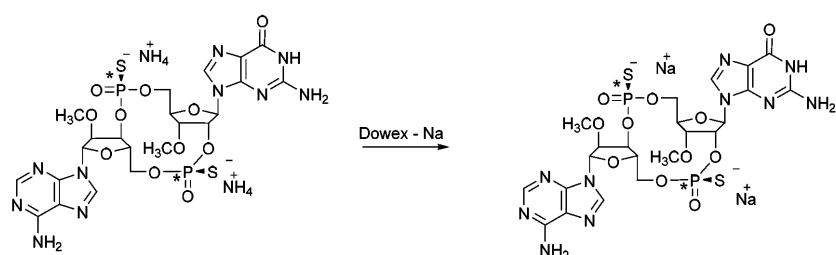
40

50

【化24】



化合物3



化合物3アンモニウム塩

化合物3ナトリウム塩

【0159】

工程1：化合物4ba及び化合物4bbの調製

乾燥CH₃CN(10mL)中の化合物1c(300mg、0.57mmol)溶液及び4モレキュラーシーブ(0.5g)をN₂下、29で3分間攪拌した。1H-イミダゾール過塩素酸塩(1.76g、10.5mmol)を添加した。10分後、乾燥CH₃CN(10mL)中の化合物1g(500mg、0.58mmol)溶液を添加した。混合物を室温で50分間攪拌し、tert-ブチルヒドロペルオキシド(TBHP、0.52mL、2.84mmol)を添加した。得られた混合物を29で1時間攪拌した。混合物を濃縮し、残渣を分取HPLC(水(10mM NH₄HCO₃) - CH₃CN)により精製して、白色固体として化合物4baと4bbの混合物(100mg、0.114mmol)を得た。³¹P NMR(162MHz, DMSO) - 0.66, -2.44; ESI-MS: m/z = 932.3(M+1)。

【0160】

工程2：化合物4da及び化合物4dbの調製

ピリジン(30mL)中の化合物4baと化合物4bb(100.0mg、0.11mmol)と4モレキュラーシーブ(0.5g)の懸濁物に、28でDMOCP(59.4mg、0.32mmol)を添加した。混合物を28で1時間攪拌した。ヨウ素(136.2mg、0.54mmol)及び水(19.3mg、1.1mmol)を添加した。1時間後、飽和Na₂SO₃溶液を用い、反応をクエンチした。混合物を濾過し、濾液を濃縮した。残渣を分取HPLC(水(10mM NH₄HCO₃) - 1%から28%までのACN)により精製して、白色固体として化合物4daと4dbの混合物(50mg、0.057mmol)を得た。この生成物を、次の工程で直接使用した。

10

20

30

40

50

【0161】

工程3：化合物3アンモニウム塩の調製

化合物4d-a及び4d-bの混合物(50mg、0.057mmol)を、メチルアミンのEtOH(33%、20mL)溶液で処理し、混合物を室温で2時間攪拌した。反応混合物を濃縮して粗化合物3を得て、これを分取HPLC(水(0.05%NH₄OH v/v)-CH₃CN(0%~10%))により精製して、化合物3アンモニウム塩を白色固体として得た(16mg、0.023mmol)。³¹P NMR(162MHz, D₂O)-1.53, -3.41。

【0162】

生成物を分取HPLC(水(0.05%NH₄v/v)-0%から10%までのCH₃CN)により更に精製して、白色固体として化合物3をアンモニウム塩として得た。

10

【0163】

工程4：化合物3ナトリウム塩の調製

化合物3アンモニウム塩を高真空中で乾燥させて、白色固体(12mg)を得た。Dowex 50W×8, 200-400(H形態、3mL)をビーカー(化合物612mg用)に添加し、脱イオン水(2回)で洗浄した。次いで、樹脂に15%H₂SO₄脱イオン水溶液(50mL)を添加し、混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂を、15%H₂SO₄脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15%H₂SO₄で洗浄し(少なくとも4CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂を上述のビーカーに戻し、15%NaOH水溶液(50mL、脱イオン水)を添加し、混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂をカラムに移し、15%NaOH水溶液(脱イオン水)で洗浄し(少なくとも4CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した(少なくとも4CV)。化合物3を脱イオン水に溶解し(1mL中12mg)、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。TLC(UV)によって検出されるように、変換されたナトリウム塩は、初期の画分に溶出した。生成物を凍結乾燥し、化合物3ナトリウム塩(7.4mg、0.010mmol)を得た。¹H NMR(400MHz, D₂O) ppm 8.17(s, 1H), 8.14(s, 1H), 7.74(s, 1H), 6.14(s, 1H), 5.79(d, J=8.8Hz, 1H), 5.65-5.59(m, 1H), 5.02-5.00(m, 1H), 4.44(s, 1H), 4.36-4.29(m, 3H), 4.15-4.11(m, 3H), 4.04-4.01(m, 1H), 3.66(s, 3H), 3.46(s, 3H); ³¹P NMR(162MHz, D₂O)-1.53, -2.62; ESI-MS: m/z = 702.5(M+1)。

20

30

【0164】

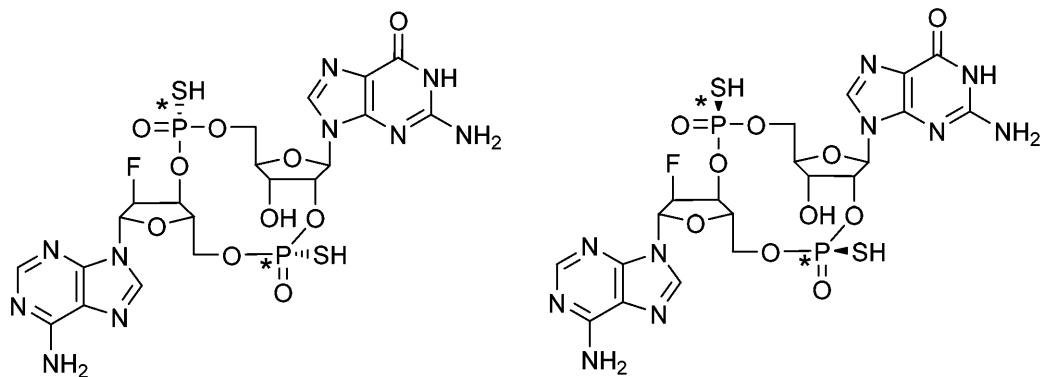
(実施例5)

【0165】

40

50

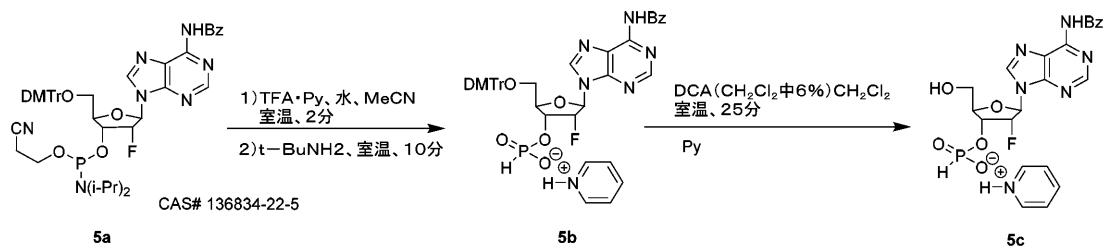
【化 2 5】



10

化合物 4

化合物 5



20

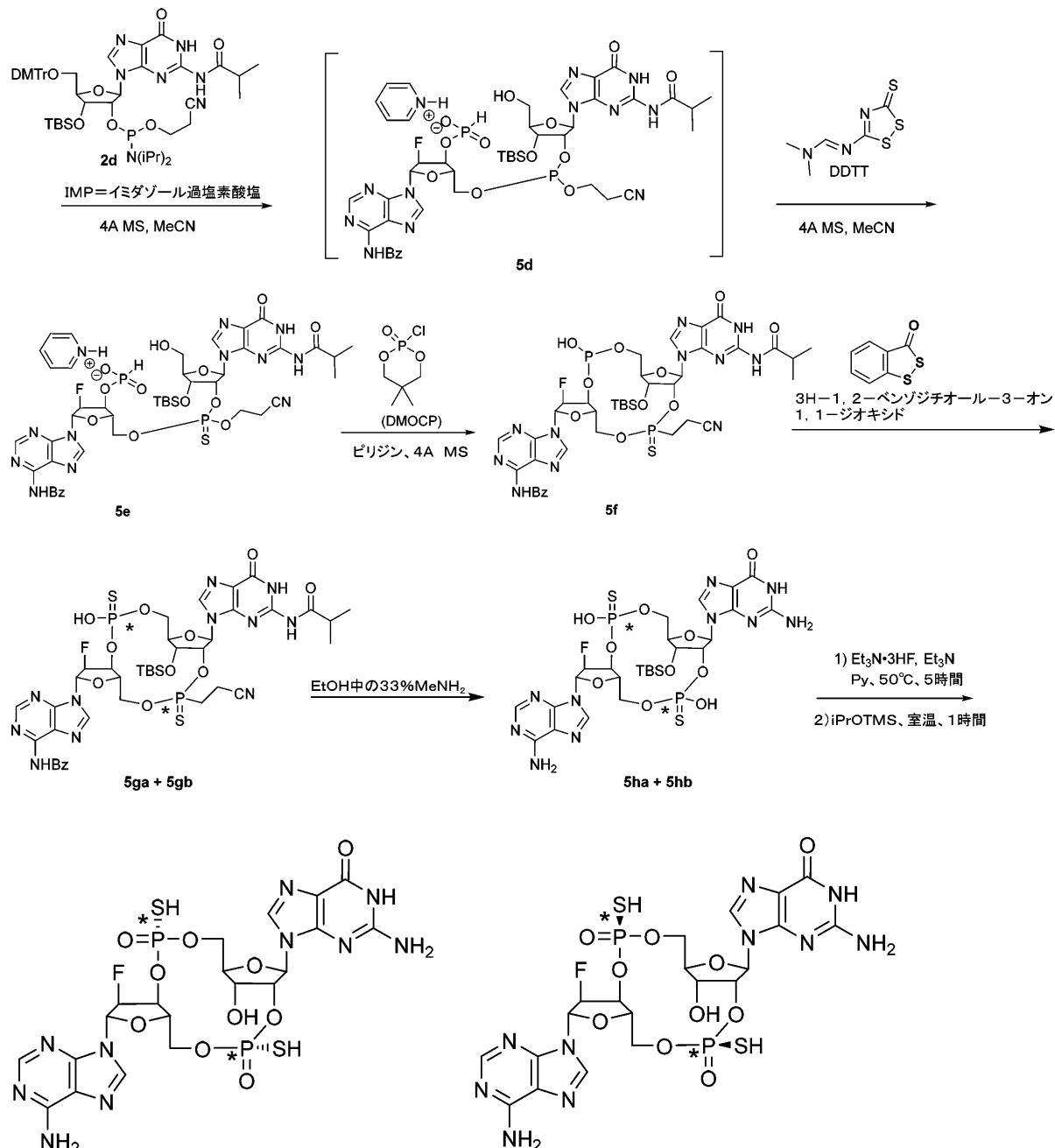
【 0 1 6 6 】

30

40

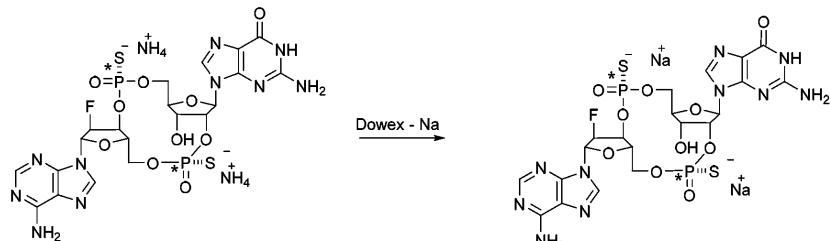
50

【化 2 6】



【0 1 6 7】

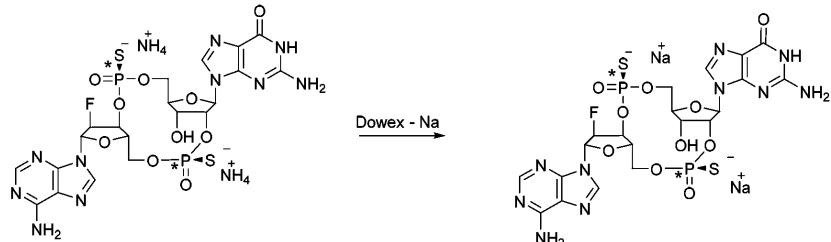
【化27】



化合物4アンモニウム塩

化合物4ナトリウム塩

10



化合物5アンモニウム塩

化合物5ナトリウム塩

20

【0168】

工程1：化合物5bの調製

DMT-2'-F-dA(Bz)-CEホスホラミダイト5a(2.20g、2.51mmol)のCH₃CN(12.0mL)溶液に、水(90.5mg、5.02mmol、2.0当量)及びピリジニウムトリフルオロアセテート(582.1mg、3.01mmol、1.1.2当量)を添加した。混合物を25℃で5分間攪拌した。次いで、tert-ブチルアミン(12.0mL)を添加し、反応混合物を25℃で15分間攪拌した。混合物を減圧下で濃縮して泡状物を得て、これをCH₃CN(10.0mL)に溶解し、再度濃縮して、白色泡状物として化合物5b(1.69g、2.29mmol、収率91.0%)を得た。ESI-MS: m/z = 740.2 [M + H]⁺。

【0169】

30

工程2：化合物5cの調製

化合物5b(1.69g、2.29mmol)のCH₂Cl₂(24.0mL)溶液に、水(411.8mg、21.9mmol、10.0当量)及び2,2-ジクロロ酢酸の溶液(DCM中6%、24mL)をゆっくりと加えた。混合物を25℃で0.5時間攪拌した。反応物をピリジン(2mL)でクエンチし、反応混合物を濃縮して残渣を得て、これをシリカゲル上のカラムクロマトグラフィー(DCM / MeOH = 10 / 1 ~ 5 / 1)によって精製して、白色泡状物として化合物5c(856mg、1.62mmol、70.9%収率)を得た。

【0170】

40

工程3：化合物5eの調製

化合物5c(380mg、0.70mmol)のCH₃CN(12.0mL)溶液に、4モレキュラーシーブ(0.5g)を加え、得られた混合物を25℃で10分間攪拌した。1H-イミダゾール過塩素酸塩(IMP、356.7mg、2.1mmol、3.0当量)を加え、混合物を更に10分間攪拌した後、DMT-3'-O-TBDMS-G(iBu)-CEホスホラミダイト2d((J. Am. Chem. Soc. 2001, 123, 8165-8176)、811.6mg、0.84mmol、1.2当量)を添加した。混合物を25℃で1時間攪拌して、化合物5dの溶液(CH₃CN溶液)を得て、次いで、N,N-ジメチル-N'-(5-スルファニリデン-1,2,4-ジチアゾール-3-イル)メタンイミドアミド(DDTT、715.7mg、3.49mmol、5当量)を、上の反応混合物に25℃で加え、同じ温度で1時間攪拌した。反応混合物を濾過し、濾液を

50

減圧下で濃縮して残渣を得て、これを分取HPLC ($\text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3\text{CN}$)により精製して、白色固体として化合物5e (130.0 mg, 0.125 mmol, 2工程かけて収率18.0%)を得た。ESI-MS: m/z = 1036.1 [M + H]⁺。

【0171】

工程4：化合物5fの調製

化合物5e (130.0 mg, 0.125 mmol)のピリジン (24 mL) 溶液に、2-クロロ-5,5-ジメチル-1,3,2-ジオキサホスホリナン (dioxaphosphorinane) 2-オキシド (DMOC P, 69.5 mg, 0.38 mmol, 3.0当量) を25で添加し、混合物を25で1時間攪拌して、化合物5fの溶液 (127.7 mg, 0.125 mmol, 100%収率、ピリジン溶液)を得て、これを更に精製することなく次の工程に使用した。

10

【0172】

工程5：化合物5ga + 化合物5gbの調製

化合物5f (127.7 mg, 0.125 mmol)のピリジン溶液に、3H-ベンゾ[c][1,2]ジチオール-3-オン (211.1 mg, 1.26 mmol, 10当量) を25で添加し、得られた混合物を25で1時間攪拌した。反応混合物を濾過し、濾液を減圧下で濃縮して残渣を得て、これを分取HPLC (水 (0.225% ギ酸) - CH_3CN)により精製して、白色固体として化合物5ga (22.0 mg, 0.021 mmol, 2工程にわたって収率18.1%)を、白色固体として化合物5gb (55.0 mg, 0.052 mmol, 2工程にわたって収率45.2%)を得た。ESI-MS: m/z 1050.2 [M + H]⁺, 525.8 [M / 2 + H]⁺ (化合物5ga)。ESI-MS: m/z 1050.2 [M + H]⁺, 525.6 [M / 2 + H]⁺ (化合物5gb)。

20

【0173】

工程6：化合物5hbの調製

化合物5gb (55.0 mg, 0.052 mmol, 1.00当量)をメチルアミン溶液 (3.00 mL, EtOH中35%)で処理し、得られた混合物を25で12時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、化合物5hb (39.0 mg, 0.047 mmol, 90.5%収率)を得て、これを更に精製することなく次の工程に使用した。ESI-MS: m/z = 823.1 [M + H]⁺。

30

【0174】

工程7：化合物4アンモニウム塩の調製

化合物5hb (44.0 mg, 0.053 mmol)のピリジン (13.0 mL) 溶液に、Et₃N (324.7 mg, 3.2 mmol, 60当量) 及びトリエチルアミン三フッ化水素酸塩 (258.6 mg, 1.6 mmol, 30当量) を25で添加し、混合物を50で5時間攪拌した後、次いで、イソプロポキシトリメチルシリラン (707.4 mg, 5.3 mmol, 100当量) を15で添加し、1時間攪拌した。混合物を15で濃縮し、残渣を分取HPLC (水 (0.05% NH₄OH v/v) - CH_3CN)により精製して、白色固体としてアンモニウム塩としての化合物4を得た (6.0 mg, 0.008 mmol, 15.8%収率)。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.33 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 6.45 (d, J = 14.3 Hz, 1H), 5.92 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.77 (s, 1H), 5.51 (s, 0.5H), 5.38 (s, 0.5H), 5.23 (d, J = 21.5 Hz, 1H), 4.53 - 4.42 (m, 5H), 4.10 (d, J = 11.3 Hz, 1H), 3.99 (d, J = 12.8 Hz, 1H); ¹⁹F NMR (376 MHz, D₂O) -122.94 (br, s, 1F); ³¹P NMR (162 MHz, D₂O) 55.99 (br s, 1P), 51.19 (br s, 1P); ESI-MS: m/z = 708.9 [M + H]⁺。

40

【0175】

工程6a：化合物5haの調製

50

化合物 5 g a (13.0 mg、0.012 mmol、1.00 当量) をメチルアミンの溶液 (1.00 mL、EtOH 中 35%) で処理し、溶液を 25 ℃ で 12 時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、化合物 5 h a (9.0 mg、0.011 mmol、88.4% 収率) を得て、これを更に精製することなく次の工程に使用した。ESI-MS: m/z = 823.3 [M + H]⁺。

【0176】

工程 7 a : 化合物 5 アンモニウム塩の調製

化合物 5 h a (39.0 mg、0.047 mmol) のピリジン (7.0 mL) 溶液に、Et₃N (287.8 mg、2.84 mmol、60 当量) 及びトリエチルアミン三フッ化水素酸塩 (229.2 mg、1.42 mmol、30 当量) を 25 ℃ で添加し、混合物を 50 ℃ で 5 時間攪拌した後、イソプロポキシトリメチルシリラン (627.0 mg、4.74 mmol、100 当量) を加え、15 ℃ で 1 時間攪拌した。混合物を 15 ℃ で濃縮し、残渣を分取 HPLC (水 (0.05% NH₄OH v/v) - CH₃CN) により精製して、白色固体として、アンモニウム塩としての化合物 5 を得た (6.60 mg、0.009 mmol、19.6% 収率)。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.54 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 6.46 (d, J = 13.8 Hz, 1H), 5.94 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 5.81 - 5.75 (m, 1H), 5.54 (d, J = 2.8 Hz, 0.5H), 5.41 (d, J = 3.0 Hz, 0.5H), 5.30 - 5.23 (m, 1H), 4.54 - 4.40 (m, 5H), 4.09 - 4.04 (m, 2H); ¹⁹F NMR (376 MHz, D₂O) δ -201.92 (br s, 1F); ³¹P NMR (162 MHz, D₂O) δ 55.97 (s, 1P), 53.90 (br s, 1P); MS: m/z 708.9 [M + H]⁺。

10

20

30

40

【0177】

工程 8 : 化合物 4 ナトリウム塩の調製

Dowex 50W × 8, 200 ~ 400 (3 mL、H 形態) をビーカーに加え、脱イオン水 (15 mL) で洗浄した。次いで、樹脂に 15% H₂SO₄ 脱イオン水溶液を添加し、混合物を穏やかに 5 分間攪拌し、デカンテーションした (10 mL)。樹脂を、15% H₂SO₄ 脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15% H₂SO₄ で洗浄し (少なくとも 4 CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂を上述のビーカーに戻し、15% NaOH 水溶液 (脱イオン水) を添加し、混合物を穏やかに 5 分間攪拌し、デカンテーションした (1 回)。樹脂をカラムに移し、15% NaOH 水溶液で洗浄し (少なくとも 4 CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。化合物 4 アンモニウム塩 (6.9 mg) を最小限の量の脱イオン水に溶解し、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。UV に基づき CDN の適切な画分を一緒にプールし、凍結乾燥させ、化合物 4 のナトリウム塩形態 (6.45 mg) を得た。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.41 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 6.35 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 5.83 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.72 - 5.68 (m, 1H), 5.43 (d, J = 2.8 Hz, 0.5H), 5.30 (d, J = 2.8 Hz, 0.5H), 5.18 - 5.10 (m, 1H), 4.65 - 4.29 (m, 5H), 4.05 - 3.93 (m, 2H); ¹⁹F NMR (376 MHz, D₂O) δ -201.76; ³¹P NMR (162 MHz, D₂O) δ 55.88, 53.91.

30

40

【0178】

工程 9 : 化合物 5 ナトリウム塩の調製

Dowex 50W × 8, 200 ~ 400 (3 mL、H 形態) をビーカーに加え、脱イオン水 (15 mL) で洗浄した。次いで、樹脂に 15% H₂SO₄ 脱イオン水溶液を添加し、混合物を穏やかに 5 分間攪拌し、デカンテーションした (10 mL)。樹脂を、15% H₂SO₄ 脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15% H₂SO₄ で洗浄し (少なくとも 4 CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂を上述のビーカーに戻し、15% NaOH 水溶液 (脱イオン水) を添加し、混合物を穏やかに 5 分間攪拌し、デカンテーションした (1 回)。樹脂をカラムに移し、15% NaOH 水溶液で洗浄し (少なく

50

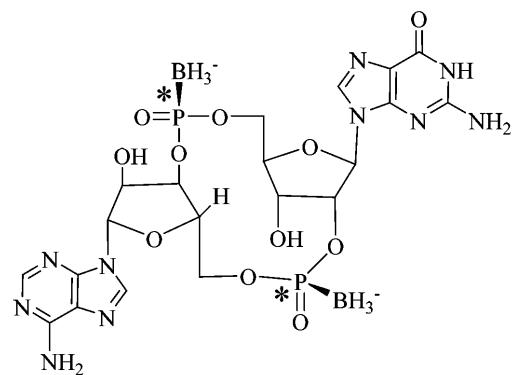
とも 4 C V)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。化合物 5 アンモニウム塩 (6.0 mg) を最小限の量の脱イオン水に溶解し、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。UVに基づき CDN の適切な画分と一緒にプールし、凍結乾燥させ、化合物 5 のナトリウム塩形態 (5.12 mg)を得た。¹H NMR (400 MHz, D₂O) 8.15 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 6.34 (d, J = 14.4 Hz, 1H), 5.81 (d, J = 8 Hz, 1H), 5.65 - 5.58 (m, 1H), 5.45 (d, J = 3.2 Hz, 0.5H), 5.32 (d, J = 3.6 Hz, 0.5H), 5.20 - 5.05 (m, 1H), 4.65 - 4.29 (m, 5H), 3.90 - 4.04 (m, 2H); ¹⁹F NMR (376 MHz, D₂O) -201.92; ³¹P NMR (162 MHz, D₂O) 55.74, 53.23; MS: m/z 709.00 [M + H]⁺.

【0179】

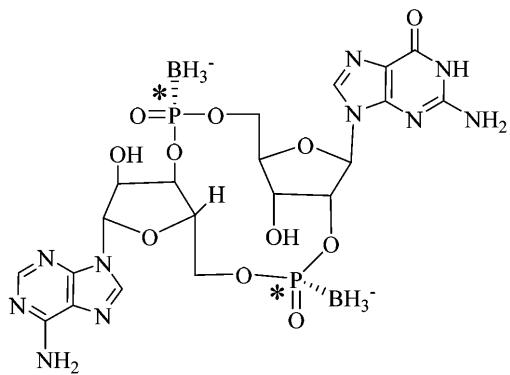
(実施例 6)

【0180】

【化28】



化合物 7



化合物 8

【0181】

10

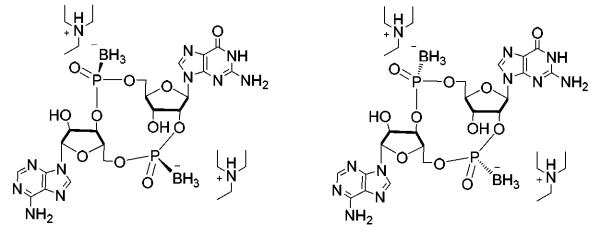
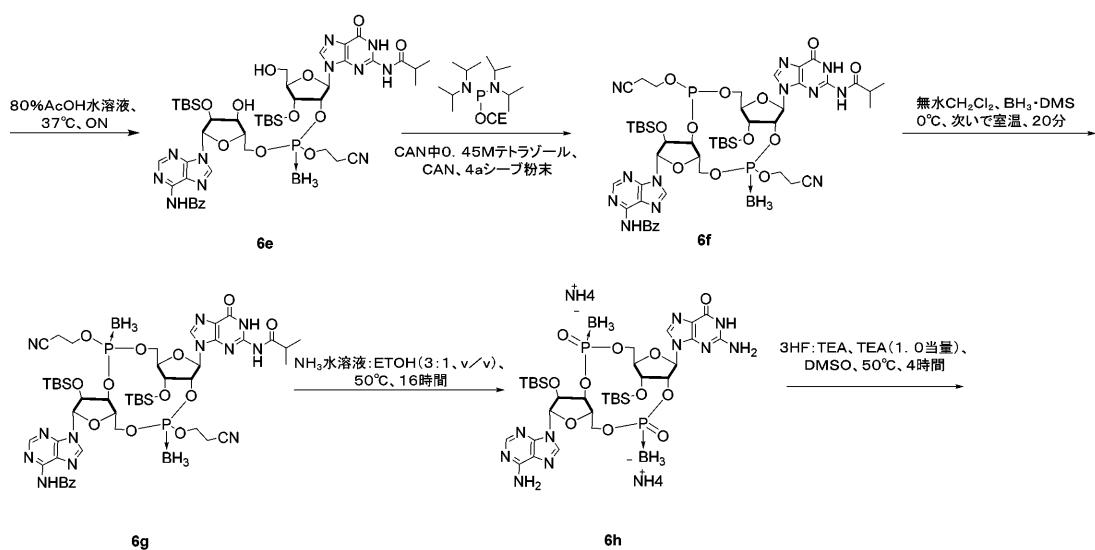
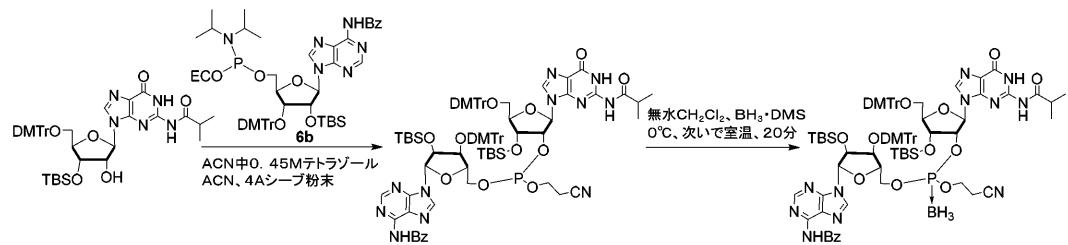
20

30

40

50

【化29】



【0182】

10

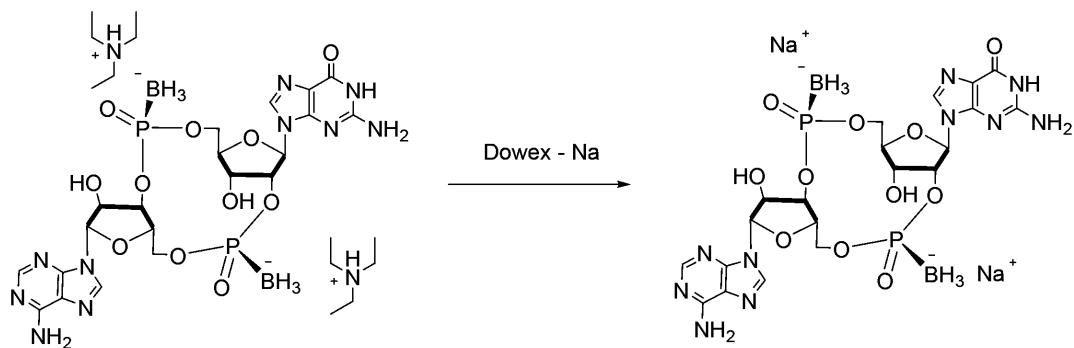
20

30

40

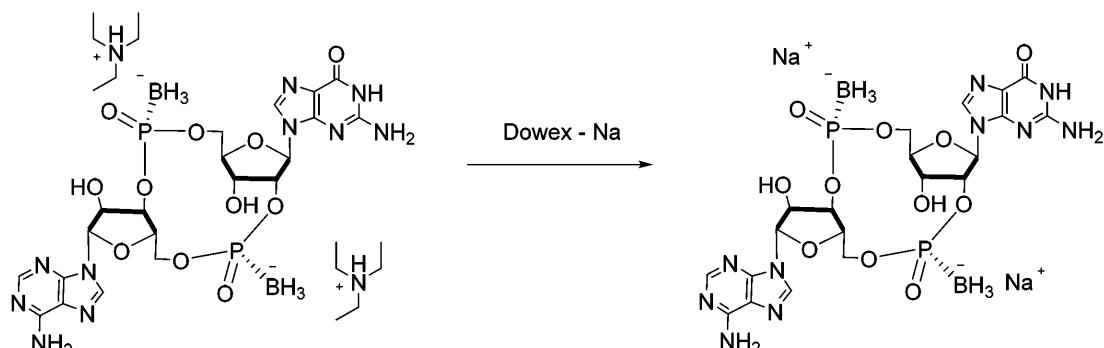
50

【化30】



6i-異性体1

化合物7



6j-異性体2

化合物8

【0183】

工程1：化合物6dの調製

ヌクレオシド化合物6a(1.63g、2.12mmol)を無水トルエン：無水アセトニトリル(1:1、v/v、3×20mL)の混合物と共に沸させた後、無水アセトニトリル(50mL)及びホスホラミダイト6b(2.1g、2.12mmol)に溶解した。4モレキュラーシーブ粉末(4.0グラム)をこれに添加した。得られた不均質混合物をアルゴンガスで4分間バブリングした。この混合物を室温で30分間攪拌した後、0.45Mテトラゾールをアセトニトリル(30mL、12.72mmol)に室温で添加した。反応物を45分間攪拌した後、反応混合物を濾過し、次いで、飽和NaHCO₃水溶液(1回×20mL)及び飽和NaCl水溶液(1回×20mL)で洗浄し、MgSO₄で乾燥させ、濾液を乾燥するまで濃縮させ、亜リン酸化合物6cを得て、これを更に精製することなく次の工程に直接使用した。

【0184】

粗亜リン酸塩化合物6cを無水CH₂Cl₂(40mL)に溶解し、次いで、4モレキュラーシーブ粉末(4.0グラム)をこれに添加した。得られた不均質混合物をアルゴンガスで4分間バブリングした。この混合物を室温で30分間攪拌した後、ボランジメチルスルフィド錯体溶液(THF中2.0M、BH₃·DMS、3.49mL、6.99mmol)を0℃で5分間にわたって非常にゆっくりと添加した。反応物を室温で20分間攪拌した後、反応混合物を素早く濾過し、EtOAc(120mL)で希釈し、水(20mL)でクエンチした。相を分離させ、有機相を水(1回×20mL)、飽和NaCl水溶液で洗浄し(1回×20mL)、次いで、水相をEtOAcで逆抽出した(1回×20mL)。合わせた有機相を乾燥するまで蒸発させ、得られた粗物質をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー(ヘキサン中0~85%EtOAc、v/v)により精製して、ボラノホスフェートダイマー-6d(980mg)を得た。ESI-MS: m/z 167.0.30 [M+H]⁺。

【0185】

10

20

30

40

50

工程 2 : 化合物 6 e の調製

ジ - D M T r - ボラノホスフェートダイマー 6 d (2 . 3 グラム、 1 . 3 7 m m o l) を 8 0 % A c O H : C H₃C N 水溶液 (3 : 1 、 v / v 、 1 3 m L) に溶解した。反応混合物を 3 7 °C で 1 6 時間攪拌した後、混合物を E t O A c (7 0 m L) で希釈し、次いで、飽和 N a H C O₃ 水溶液 (3 回 × 2 0 m L) 及び飽和 N a C l (1 回 × 1 5 m L) 水溶液で連続して洗浄した。有機相を乾燥するまで蒸発させて粗残渣を得て、これをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン中 2 0 ~ 1 0 0 % アセトン、 v / v) により精製して、ジオール - ボラノホスフェートダイマー 6 e (0 . 9 g) を得た。 E S I - M S : m / z 1 0 6 6 . 4 5 [M + H]⁺。

【 0 1 8 6 】

工程 3 : 化合物 6 f の調製

ジオールヌクレオシド化合物 6 e (0 . 5 5 g 、 0 . 5 1 6 m m o l) を無水トルエン : 無水アセトニトリル (1 : 1 、 v / v 、 3 × 2 0 m L) の混合物と共に沸させた後、無水アセトニトリル (2 0 m L) 及び 4 モレキュラーシーブ粉末 (1 . 0 g) をこれに添加した。得られた不均質混合物をアルゴンガスで 4 分間バブリングした。この混合物を室温で 3 0 分間攪拌した後、アセトニトリル中 0 . 4 5 M テトラゾール (7 m L 、 3 . 0 9 m m o l) を室温で加え、反応物を 7 5 分間攪拌し、次いで混合物を濾過し、濾液を飽和 N a H C O₃ 水溶液 (1 回 × 2 0 m L) 及び飽和 N a C l (1 × 2 0 m L) 水溶液で洗浄し、 M g S O₄ で乾燥させ (5 分間攪拌し、次いで、濾過し) 、乾燥するまで蒸発させ、化合物 6 f を得た。得られた混合物を、更なる精製は行わずに次の工程に直接使用した。粗亜リン酸塩 6 f を無水 C H₂C l₂ (2 0 m L) に溶解し、次いで、4 モレキュラーシーブ粉末 (1 . 0 g) をこれに添加した。得られた不均質混合物をアルゴンガスで 4 分間バブリングした。この混合物を室温で 3 0 分間攪拌した後、ボランジメチルスルフィド錯体溶液 (T H F 中 2 . 0 M 、 B H₃ · D M S 、 0 . 9 3 m L 、 1 . 8 4 m m o l) を 0 °C で 5 分間にわたって非常にゆっくりと添加した。反応物を室温で攪拌した後、反応混合物を素早く濾過し、 E t O A c (8 0 m L) で希釈し、水 (2 0 m L) でクエンチした。相を分配させ、有機相を飽和 N a C l 水溶液で洗浄し (1 回 × 2 0 m L) 、次いで、水相を E t O A c で逆抽出した (1 回 × 2 0 m L) 。合わせた有機相を乾燥するまで蒸発させ、得られた粗物質をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (ジクロロメタン中 0 ~ 1 0 % M e O H 、 v / v) により精製して、完全に保護された環状ボラノホスフェート 6 f (4 8 0 m g 、純度 7 5 %) を得た。 E S I - M S : m / z 1 1 7 9 . 7 3 [M + H]⁺。

【 0 1 8 7 】

工程 4 : 化合物 6 g の調製

3 ' - シリル - G (i B u) - 2 ' - シリル - A (B z) - 2 ' 、 3 ' - シクロジヌクレオチド (cyclicdinucleotide) - ボラノホスフェート 6 f (4 3 7 m g 、約 7 5 % 純度) を、アンモニア水溶液 : E t O H (7 m L 、 3 : 1 、 v / v) の混合物に溶解した。反応混合物を 5 0 °C で 1 6 時間攪拌した後、反応混合物を乾燥するまで濃縮し、 E t O H (2 回 × 1 0 m L) 及びトルエン (2 回 × 2 0 m L) と共に沸させた。得られた粗固体をジクロロメタン (4 0 m L) で洗浄し、沈殿物を濾過により回収して、ジ - T B S 保護環状ダイマー 6 g (E S I - M S : m / z 8 9 6 . 2 0 [M - H]⁻) を得て、これを更なる精製を行わずに次の反応に使用した。

【 0 1 8 8 】

T B S 基を除去するために、環状ダイマー化合物 6 g (3 5 0 m g 粗) を無水 D M S O (5 . 5 m L) に溶解し、これにトリエチルアミン三フッ化水素酸塩 (H F . 3 T E A 、 2 . 8 m L 及びトリメチルアミン (0 . 6 m L) を添加した。反応混合物を 5 0 °C で 3 . 5 時間攪拌した後、トリエチルアミンで中和し、分取 H P L C (緩衝液 A : H₂O 中の 5 0 m M 酢酸トリエチルアンモニウム) 緩衝剤 B : C H₃C N 中の 5 0 m M トリエチルアンモニオムアセテート、勾配 : 3 0 分にわたって B を 0 ~ 3 0 % 、流速 2 4 m L / 分) により精製し、白色固体として、トリエチルアンモニウム塩としてボラノホスフェート 6 i (9 m g) 及び 6 j (4 m g) の 2 つの異性体を得た。 E S I - M S : m / z 6 6 8 . 6 [M]⁺

10

20

30

40

50

- H] ⁻。

【0189】

工程5：化合物7及び化合物8のナトリウム塩としての調製

Dowex 50W×8, 200~400(3mL、H形態)をビーカーに加え、脱イオン水(20mL)で洗浄した。次いで、樹脂に15%H₂SO₄脱イオン水溶液を添加し、混合物を穏やかに5分間攪拌し、デカンテーションした(10mL)。樹脂を、15%H₂SO₄脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15%H₂SO₄で洗浄し(少なくとも4CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂を上述のビーカーに戻し、15%NaOH水溶液(脱イオン水)を添加し、混合物を穏やかに5分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂をカラムに移し、15%NaOH水溶液で洗浄し(少なくとも4CV)、次いで、中性になるまで脱イオン水で洗浄した。環状ボラノホスフェート6i(9mg)及び6j(4mg)の両方の異性体のトリエチルアンモニウム形態を、最小量の脱イオン水に溶解し、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出した。UVに基づきCDNの適切な画分を一緒にプールし、凍結乾燥させ、化合物7のナトリウム塩形態(8.2mg)及び化合物8のナトリウム塩形態(3.3mg)をそれぞれ得た。

10

【0190】

化合物7：¹H NMR(400MHz, D₂O)：8.15(s, 1H), 8.09(s, 1H), 7.99(s, 1H), 6.01(s, 1H), 5.93(d, J = 8.7Hz, 1H), 4.98~4.93(m, 1H), 4.87~4.80(m, 1H), 4.74~4.60(m, 1H), 4.42~4.37(m, 2H), 4.31(s, 1H), 4.24~4.15(m, 2H), 3.92~3.82(m, 2H), 0.5から-0.5まで(非常に広いピーク, 6H); ³¹P NMR(162MHz, D₂O) 94.70(非常に広いピーク); ESI-MS: m/z 668.6[M - 1]⁻。

20

【0191】

化合物8：¹H NMR(400MHz, D₂O)：8.12(s, 1H), 8.10(s, 1H), 7.95(s, 1H), 5.99(d, J = 2.4Hz, 1H), 5.92(d, J = 8.4Hz, 1H), 5.22~5.15(m, 1H), 4.83~4.76(m, 1H), 4.75~4.71(m, 1H), 4.50(d, J = 4Hz, 1H), 4.40~4.30(m, 1H), 4.31(s, 1H), 4.25~4.18(m, 1H), 4.15~4.10(m, 1H), 4.02~3.96(m, 1H), 3.90~3.84(m, 1H), -0.2から0.9まで(非常に広いピーク, 6H); ³¹P NMR(162MHz, D₂O) 93.75(非常に広いピーク); ESI-MS: m/z : 668.7[M - 1]⁻。

30

【0192】

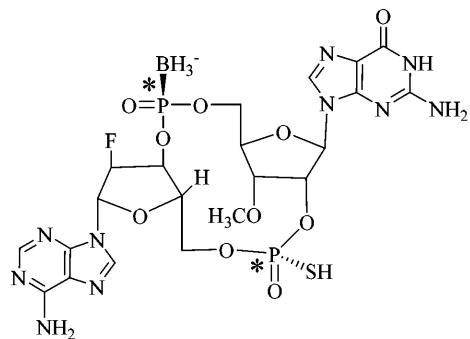
(実施例7)

【0193】

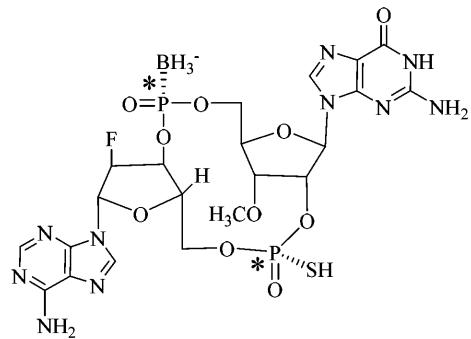
40

50

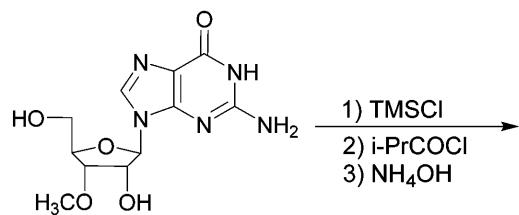
【化 3 1】



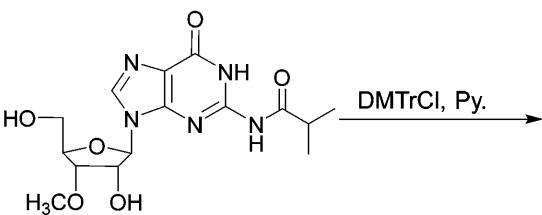
化合物 9



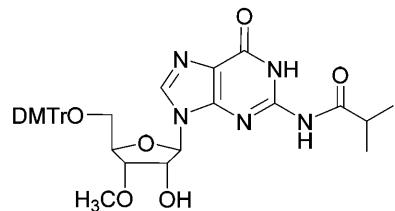
化合物 10



1) TMSCl
2) i-PrCOCl
3) NH₄OH



DMTTrCl, Py.



1f

【0 1 9 4】

10

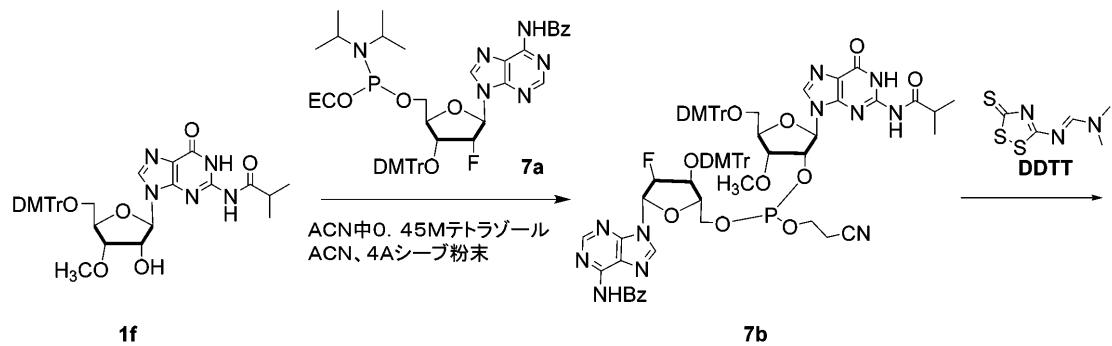
20

30

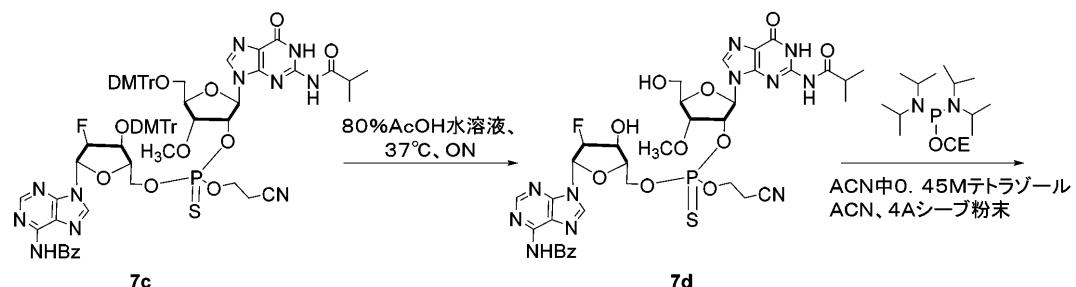
40

50

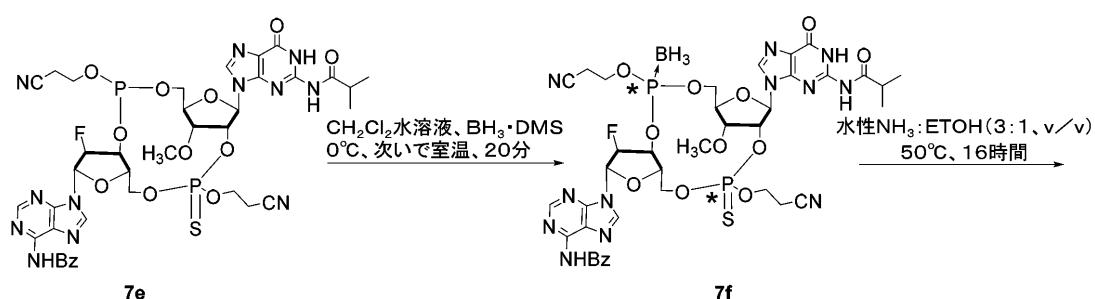
【化32】



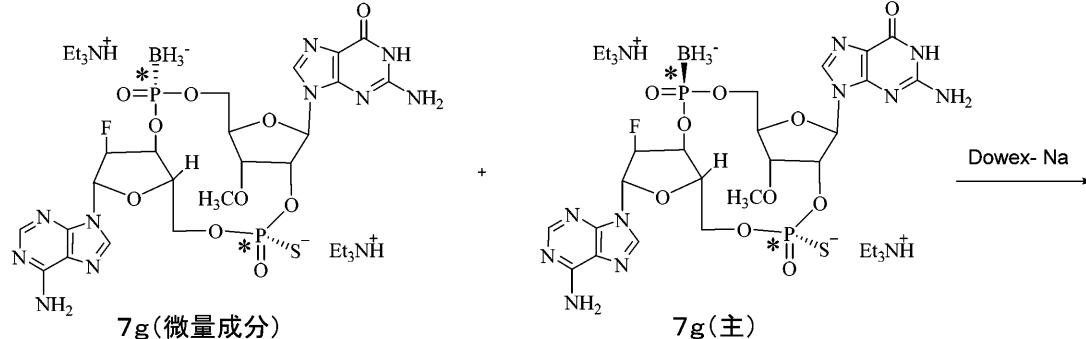
10



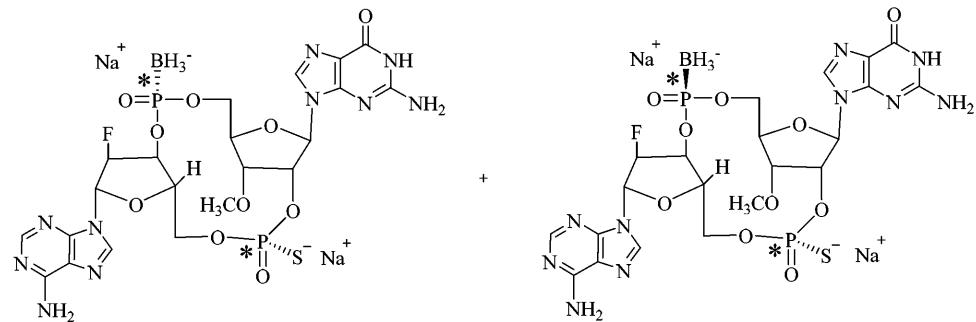
20



30



40



50

化合物 10 (微量成分)

化合物 9 (主)

【0196】

工程1：化合物7cの調製

ヌクレオシド化合物1f(2.3g、3.43mmol)を無水トルエン/無水アセトニトリル(1:1、v/v、3×50mL)の混合物と共に沸させた後、無水アセトニトリル(80mL)に溶解した。4モレキュラーシーブ粉末(4.0g)及びアセトニトリル(61mL、0.45M、27.44mmol)中のテトラゾールを反応混合物に添加した。得られた不均質混合物をバブリングAr(g)で4分間パージした。室温で10分間攪拌した後、アミダイト7a(3.0g、3.43mmol、ChemGenes Corp.)の無水アセトニトリル(15mL)溶液を室温で添加した。室温で1時間45分攪拌した後、反応混合物を酢酸エチル(250mL)で希釈し、濾過し、濾液を飽和NaHCO₃水溶液(1回×40mL)及びブライン(1回×40mL)で洗浄した。次いで、濾液を乾燥させ(MgSO₄)、5分間攪拌し、濾過し、濾液を乾燥するまで濃縮させて、亜リン酸塩7bを得た(ESI-MS: m/z 1444.45 [M+1]⁺)。

【0197】

粗亜リン酸塩化合物7bは、更に精製することなく次の工程で使用した。粗化合物7bを無水ピリジン(100mL)に溶解し、(E)-N,N-ジメチル-N'-(3-チオキソ-3H-1,2,4-ジチアゾール-5-イル)ホルムイミダミド(DDTT、2.12g、10.29mmol)を室温で添加した。室温で1時間攪拌した後、反応混合物を酢酸エチル(250mL)で希釈し飽和NaHCO₃水溶液(1回×40mL)及びブライン(1回×40mL)で連続して洗浄し、乾燥するまで濃縮した。水相を酢酸エチル(1回×20mL)で抽出した。合わせた有機相を減圧下で乾燥するまで濃縮し、粗物質を得て、これをシリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(CH₂Cl₂中0~8%MeOH、v/v)により精製して、ジ-DMTr-ホスホロチオエートダイマー-7c(4.6g、約92%、純度90%)を得た。ESI-MS: m/z 1476.90 [M+H]⁺。

【0198】

工程2：化合物7dの調製

二量体7c(4.5g、3.05mmol)を80%AcOH水溶液:アセトニトリル(90mL、8:2、v/v)に溶解した。反応混合物を45℃で20時間攪拌した後、混合物を酢酸エチル(400mL)で希釈し、飽和NaHCO₃水溶液(3回×80mL)及びブライン(1回×50mL)で連続して洗浄した。水相を分離し、酢酸エチル(1回×20mL)で抽出した。合わせた有機相を減圧下で乾燥するまで濃縮し、得られた粗残渣をシリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(CH₂Cl₂中0~15%MeOH、v/v)により精製して、ダイマー-7d(1.65g、63%)を得た。ESI-MS: m/z 872.10 [M+H]⁺。

【0199】

工程3：化合物7fの調製

ダイマー化合物7d(275mg、0.315mmol)を無水トルエン/無水アセトニトリル(1:1、v/v、3×10mL)の混合物と共に沸させた後、無水アセトニトリル(20mL)に溶解し、化合物7dを完全溶解させるために5分間超音波処理した。次いで、4モレキュラーシーブ粉末(0.6g)及びアセトニトリル中のテトラゾール(5.6mL、0.45M、2.52mmol)を添加した。得られた不均質混合物をバブリングAr(g)で4分間パージした。混合物を室温で10分間攪拌した後、2-シアノエチルN,N-ジイソプロピルクロロホスホラミダイト(142mg、0.473mmol、1.5当量)を5回にわけ、室温で20分間かけて添加した。室温で90分間攪拌した後、反応混合物を酢酸エチル(60mL)で希釈し、濾過し、濾液を飽和NaHCO₃水溶液(1×20mL)及びブライン(1×20mL)で連続して洗浄した。次いで、濾液を5分間攪拌しながら乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、濾液を減圧下で乾燥するまで濃縮し、化合物7e(ESI-MS: m/z 971.10 [M+1]⁺)を得た。得られた残留物を更に精製せずに次の工程で使用した。

【0200】

10

20

30

40

50

粗化合物 7 e を無水ジクロロメタン (25 mL) に溶解し、これに、4 モレキュラーシーブ粉末 (0.5 g) を添加した。得られた不均質混合物をバブリング Ar (g) で4分間ページした。混合物を室温で10分間攪拌したら、混合物を0まで冷却した。ボランジメチルスルフィド錯体溶液 (THF 中 2.0 M、BH₃ · DMS、550 μL、3.5 当量) を0で5分間にわたって非常にゆっくり添加し、反応混合物を室温で12分間攪拌した。次いで、混合物を素早く濾過し、酢酸エチル (80 mL) で希釈し、水 (20 mL) でクエンチした。有機相をブライインで洗浄し (1 × 20 mL)、水層を酢酸エチルで抽出した (1 × 20 mL)。合わせた有機層を減圧下で乾燥するまで濃縮して粗残渣を得て、これをシリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ジクロロメタン中 0 ~ 10% MeOH、v/v) により精製して、ジアステレオマー 7 f の混合物 (130 mg、2工程について約 42%) を得た。ESI-MS : m/z 984.95 [M + H]⁺。

【0201】

工程 4 : 化合物 7 g 及び化合物 7 h の調製

ジアステレオマー 7 f (130 mg) の混合物を、アンモニア / エタノール水溶液の混合物 (7 mL、3 : 1、v/v) に溶解した。反応混合物を 50 で 18 時間攪拌した後、反応混合物を乾燥するまで濃縮し、エタノール (2 回 × 10 mL) 及びトルエン (2 回 × 20 mL) と共に沸させた。得られた粗固体をジクロロメタン (15 mL) で洗浄し、濾過により回収し、逆相分取 HPLC (カラム : Synerg i 4 μ, Hydro RP、250 mm × 30 mm、移動相 : 緩衝液 A : H₂O 中の 50 mM 酢酸トリエチルアンモニウム ; 緩衝剤 B : CH₃CN 中 50 mM のトリエチルアンモニオムアセテート、勾配 : 30 分にわたって B の 0 ~ 30%、流速 2.4 mL / 分) により精製し、第 1 の微量成分のボラノホスホチオエート異性体 7 g (8.7 mg) 及び第 2 の主なボラノホスホチオエート異性体 7 h (13.1 mg) を、酢酸トリエチルアンモニウム (TEAA) 塩として得た。ESI-MS : m/z 703.1 [M - 1]⁻。

【0202】

工程 5 : 化合物 9 及び化合物 10 の調製

Dowex 50W × 8, 200 ~ 400 (5 mL、H 形態) をビーカーに加え、脱イオン水 (30 mL) で洗浄した。次いで、樹脂に 15% H₂SO₄ 脱イオン水溶液を添加し、混合物を穏やかに 5 分間攪拌し、次いで、デカンテーションした (30 mL)。樹脂を、15% H₂SO₄ 脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15% H₂SO₄ で洗浄し (少なくとも 4 CV)、次いで、中性 pH 7 が得られるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂を上述のビーカーに戻し、15% NaOH 水溶液 (脱イオン水) を添加し、混合物を穏やかに 5 分間攪拌し、デカンテーションした (1 回)。樹脂をカラムに移し、15% NaOH 水溶液で洗浄し (少なくとも 4 CV)、次いで、中性 pH 7 が得られるまで脱イオン水で洗浄した。各ボラノホスホチオエート異性体 7 g (8.7 mg) 及び 7 h (13.1 mg) の TEAA 塩を最小量の脱イオン水に溶解し、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出した。化合物 9 及び 10 の適切な画分を一緒にプールし、凍結乾燥して、ナトリウム塩としてそれぞれ化合物 10 (7.8 mg) 及び化合物 9 (12.4 mg) を得た。

【0203】

化合物 9 (主要異性体) : ¹H NMR (400 MHz, D₂O) : 8.07 (s, 1 H), 7.97 (s, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 6.25 (d, J = 16.4 Hz, 1 H), 5.86 (d, J = 8.4 Hz, 1 H), 5.52 (d, J = 3.6 Hz, 0.5 H), 5.40 (d, J = 3.6 Hz, 0.5 H), 5.16 - 5.19 (m, 1 H), 4.83 - 4.89 (m, 1 H), 4.41 - 4.45 (m, 2 H), 4.25 - 4.32 (m, 2 H), 4.06 - 4.17 (m, 2 H), 3.88 - 3.94 (m, 1 H), 3.46 (s, 3 H), -0.1 から 0.65 まで (非常に広いピーク, 3 H); ³¹P NMR (162 MHz, D₂O) 94 - 95 (非常に広いピーク, ボラノホスフェート), 52.59 (ホスホチオエート); ¹⁹F NMR (379 MHz, D₂O) -201.7 (多重); ESI-MS : m/z : 703.1 [M - 1]⁻。

【0204】

10

20

30

40

50

化合物 10 (微量成分異性体) : ^1H NMR (400 MHz, D_2O) : 8.18 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 8.07 (s, 1 H), 6.31 (d, $J = 15.6$ Hz, 1 H), 5.91 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 5.65 (d, $J = 2.8$ Hz, 0.5 H), 5.50 (d, $J = 2.8$ Hz, 0.5 H) 5.07 ~ 5.30 (m, 2 H), 4.40 ~ 4.48 (m, 2 H), 4.20 ~ 4.35 (m, 2 H), 4.10 ~ 4.14 (m, 1 H), 3.96 ~ 4.00 (m, 1 H), 3.83 ~ 3.88 (m, 1 H), 3.48 (s, 3 H), 0.2から0.8まで (非常に広いピーク, 3 H); ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O) 94 ~ 95 (非常に広いピーク, ボラノホスフェート), 57.79 (ホスホロチオエート); ESI-MS: m/z: 703.1 [M - 1]⁻。

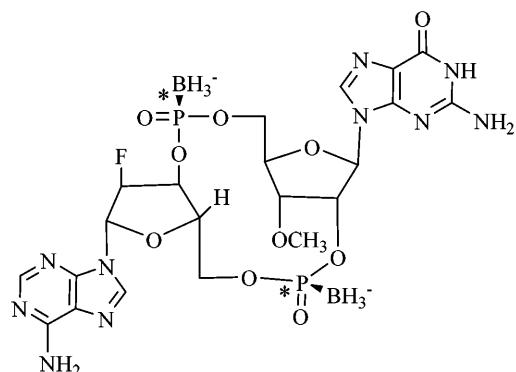
10

【0205】

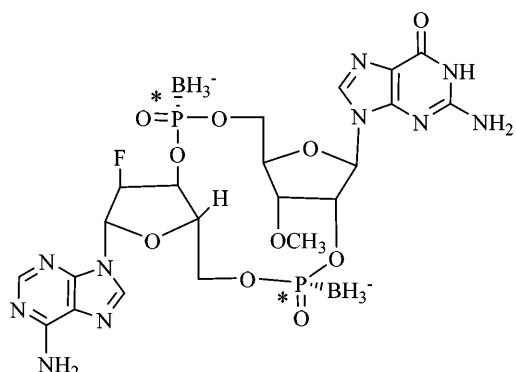
(実施例 8)

【0206】

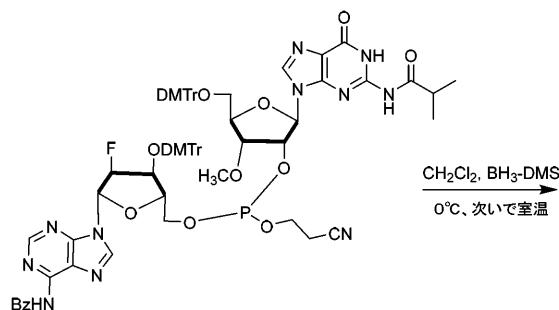
【化34】



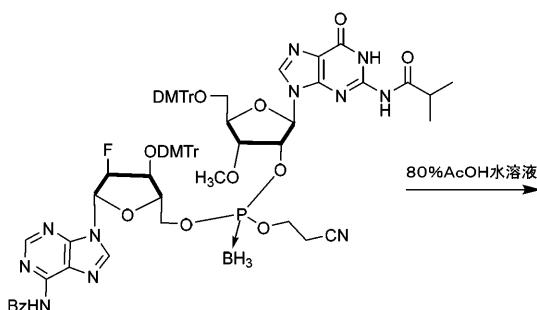
化合物 11



化合物 12



7b



8a

【0207】

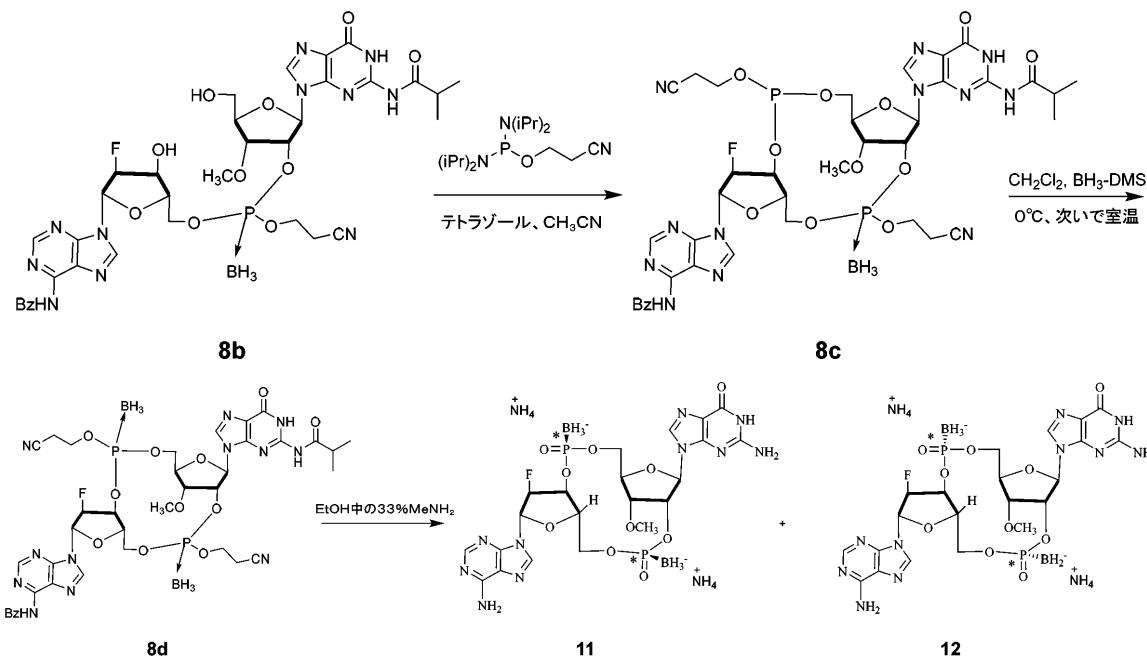
20

30

40

50

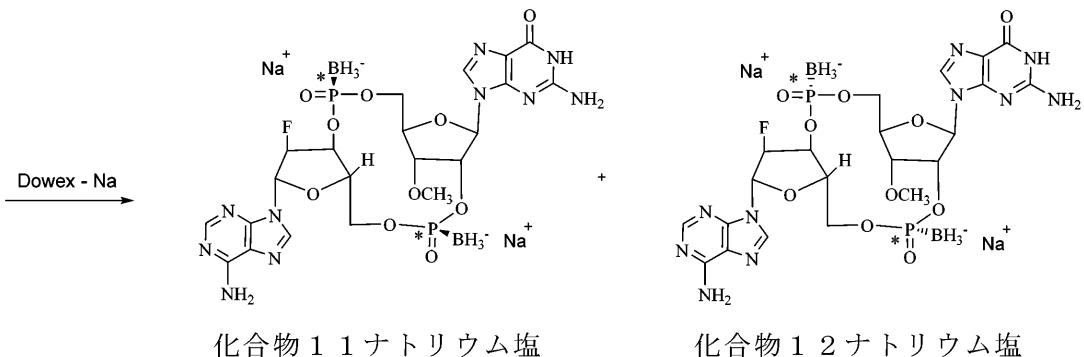
【化35】



【0208】

20

【化36】



【0209】

工程1：化合物8aの調製

化合物7b (8 g、5.538 mmol) の CH_2Cl_2 (80 mL) 溶液に、4モレキュラーシーブ粉末 (8 g) を添加し、得られた不均質な混合物をアルゴンで4分間バブリングした。室温で30分間攪拌した後、ボランジメチルスルフィド錯体溶液 (THF中 2.0 M、 $\text{BH}_3 \cdot \text{DMS}$ 、9.138 mL、18.277 mmol) を0で5分間にわたって非常にゆっくり添加した。反応物を室温で2時間攪拌した後、反応混合物を素早く濾過し、 CH_2Cl_2 (40 mL) で希釈し、水 (50 mL) でクエンチした。相を分離し、有機層を水 (1×50 mL)、ブライン (1×50 mL) で順次洗浄し、水層を CH_2C_1_2 (1 × 50 mL) で逆抽出した。合わせた有機層を減圧下で乾燥するまで濃縮し、得られた粗物質をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (石油エーテル / EtOA
c = 1 / 0 ~ 0 / 1) により精製し、淡黄色の油状物として化合物8a (7.5 g、5.143 mmol)を得た。

【0210】

工程2：化合物8bの調製

化合物8a (7.5 g、5.143 mmol) を、 CH_3CN (20 mL) の 80% 酢酸水溶液 (60 mL) (CH_3CN / 酢酸水溶液 = 1 / 3、酢酸 48 mL、 H_2O 12 mL、 CH_3CN 20 mL) に添加した。混合反応物を 25 で一晩攪拌した後、トリエチルシランを添加し、反応物を 25 で更に1時間攪拌した。反応混合物を素早く濾過し、EtO

40

50

A c (5 0 m L) で希釈し、水 (2 0 m L) でクエンチした。飽和 N a H C O₃ 水溶液を用い、pH を 7 ~ 8 に調整した。相を分離し、有機層を水 (1 × 1 0 0 m L) 、ブライン (1 × 1 0 0 m L) で連続的に洗浄し、減圧下乾燥するまで濃縮した。残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (石油 / E t O A c = 0 / 1 、次いで C H₂C l₂ / M e O H = 1 / 0 ~ 2 0 / 1) により精製して、白色固体として化合物 8 b (6 . 5 g 、 7 . 1 2 6 m m o l) を得た。E S I - M S : m / z = 8 5 4 . 1 [M + 1]⁺; ¹H N M R (4 0 0 M H z , D M S O - d₆) 1 2 . 0 7 (b r d , J = 1 3 . 5 H z , 1 H) , 1 1 . 5 6 (d , J = 9 . 7 H z , 1 H) , 1 1 . 2 2 (b r d , J = 7 . 1 H z , 1 H) , 8 . 7 2 (d , J = 3 . 1 H z , 1 H) , 8 . 5 6 - 8 . 4 1 (m , 1 H) , 8 . 2 7 - 8 . 1 8 (m , 1 H) , 8 . 0 2 (b r d , J = 6 . 2 H z , 2 H) , 7 . 6 5 - 7 . 6 0 (m , 1 H) , 7 . 5 6 - 7 . 5 0 (m , 2 H) , 6 . 3 5 (b r t , J = 1 9 . 0 H z , 1 H) , 6 . 0 0 (d , J = 6 . 4 H z , 1 H) , 5 . 9 5 (t , J = 6 . 5 H z , 1 H) , 5 . 6 5 - 5 . 4 3 (m , 1 H) , 5 . 3 4 - 5 . 2 0 (m , 2 H) , 4 . 7 5 - 4 . 5 5 (m , 1 H) , 4 . 1 6 - 3 . 9 7 (m , 6 H) , 3 . 9 2 - 3 . 8 2 (m , 1 H) , 3 . 6 7 - 3 . 4 9 (m , 2 H) , 3 . 1 4 (d , J = 5 . 1 H z , 3 H) , 2 . 8 1 - 2 . 6 6 (m , 3 H) , 1 . 0 8 (b r d , J = 6 . 8 H z , 6 H) , 0 . 5 9 - - 0 . 1 8 (m , 3 H) ; ³¹P N M R (1 6 2 M H z , D M S O - d₆) 1 1 5 . 8 0 (b r s , 1 P) 。 10

【 0 2 1 1 】

工程 3 : 化合物 8 c の調製

化合物 8 b (1 g 、 1 . 0 9 6 m m o l) を C H₃C N (3 × 2 0 m L) と共に沸させ、無水 C H₃C N (4 4 m L) に溶解した。次いで、4 のモレキュラーシーブ粉末 (1 0 0 0 m g) に加え、混合物を 3 0 分間攪拌した後、テトラゾールの C H₃C N 溶液 (0 . 4 5 M 、 1 4 . 6 m L 、 6 当量) を室温で添加した。得られた混合物を室温で 1 5 分間攪拌した。次いで、3 - ((ピス (ジイソプロピルアミノ) ホスファニル) オキシ) プロパンニトリル (4 9 5 . 6 4 7 m g 、 1 . 6 4 4 m m o l) の無水 C H₃C N (5 . 0 m L) 溶液を 2 0 分かけて滴下した。反応混合物を 1 時間攪拌した後、C H₃C N (0 . 4 5 M 、 9 . 7 m L 、 4 当量) 中のテトラゾールの更なる溶液をこの混合物に室温で添加した。次いで、反応混合物を濾過し、濾液を E t O A c で抽出した (3 回 × 4 0 0 m L) 。合わせた有機層を N a H C O₃ 水溶液 (3 × 2 0 0 m L) 、ブライン (3 × 2 0 0 m L) で連続して洗浄し、無水 N a₂S O₄ で乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (C H₂C l₂ : M e O H 1 0 0 : 0 ~ C H₂C l₂ : M e O H 9 0 : 1 0) により精製して、白色固体として化合物 8 c (6 0 0 m g 、 0 . 6 3 m m o l) を得た。 20

【 0 2 1 2 】

工程 4 : 化合物 8 d の調製

化合物 8 c (6 0 0 m g 、 0 . 6 3 m m o l) の C H₂C l₂ (1 5 m L) 溶液に、2 M ボラン - ジメチルスルフィド錯体の T H F 溶液 (1 0 3 9 . 2 7 6 μ L 、 2 . 0 7 9 m m o l) を 0 度で 5 分間にわたって非常にゆっくりと添加した。反応混合物を 0 度で 1 5 分間攪拌した後、反応を 0 度で M e O H (2 0 m L) を用いてクエンチし、次いで減圧下で濃縮した。この反応を、同じスケールを用いて 2 回繰り返した。2 つの粗バッチを合わせ、シリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (勾配溶出剤 : C H₂C l₂ : M e O H 1 0 0 : 0 ~ C H₂C l₂ : M e O H 9 0 : 1 0) により精製して、白色固体として化合物 8 d (1 g 、 1 . 0 3 5 m m o l 、バッチを合わせたもの) を得た。E S I - M S : m / z = 9 6 6 . 4 [M + 1]⁺。 40

【 0 2 1 3 】

工程 5 : 化合物 1 1 及び 1 2 の調製

化合物 8 d (1 . 0 g 、 1 . 0 3 5 m m o l) を、M e N H₂ の E t O H 溶液 (3 3 % 、 1 0 m L) で処理した。室温で 3 時間攪拌した後、反応混合物を減圧下で濃縮し、残渣を分取高速液体クロマトグラフィー (分取 H P L C 条件 : カラム : P h e n o m e n e x

Kinetex XB-C18 150 mm × 30 mm、5 μm；条件：H₂O (A) - C H₃CN (B)；B：0で開始；B：20で終了；流速：25 mL / 分)により精製した。純粋画分を回収し、乾燥するまで凍結乾燥して、粗化合物11 (0.11 g、0.160 mmol) 及び粗化合物12 (0.14 g、0.204 mmol) を白色固体として得た。

【0214】

粗化合物11及び12を、更に、分取高速液体クロマトグラフィー(Prep HPLC条件：カラム：DuraShe11 150 × 25 mm × 5 μm；条件：水 (10 mM NH₄HCO₃) (A) - CH₃CN (B)；B：0で開始；B：15で終了；流速：35 mL / 分)により精製した。純粋画分を回収し、乾燥するまで凍結乾燥して、化合物11 (0.08 g、0.117 mmol) 及び化合物12 (0.04 g、0.058 mmol) をそれぞれ白色固体として得た。
10

【0215】

化合物11：¹H NMR (400 MHz, D₂O) 8.21 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 8.05 (s, 1H), 6.36 (d, J = 16.3 Hz, 1H), 5.93 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 5.73 - 5.55 (m, 1H), 5.19 - 5.02 (m, 2H), 4.55 - 4.48 (m, 2H), 4.34 - 4.24 (m, 2H), 4.16 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.05 - 3.94 (m, 2H), 3.57 (s, 3H), 0.76 - 0.13 (m, 3H), -0.32 (br s, 3H)；ESI-MS : m/z = 686.9 [M+1]⁺；¹⁹F NMR (376 MHz, D₂O) -202.02 (td, J = 20.0, 50.3 Hz, 1F)；³¹P NMR (162 MHz, D₂O) 20 ppm - 94.42 (br s, 1P)。
20

【0216】

化合物12：¹H NMR (400 MHz, D₂O) 8.31 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.86 (br s, 1H), 6.40 (br d, J = 15.4 Hz, 1H), 5.89 (br d, J = 8.6 Hz, 1H), 5.64 - 5.47 (m, 1H), 5.35 (br s, 1H), 5.00 - 4.86 (m, 1H), 4.54 - 4.45 (m, 2H), 4.38 (br d, J = 11.7 Hz, 1H), 4.20 (br d, J = 17.0 Hz, 2H), 4.07 (br d, J = 8.2 Hz, 1H), 3.96 (br d, J = 10.1 Hz, 1H), 3.53 (s, 3H), 0.24 (br s, 6H)；ESI-MS : m/z = 686.9 [M+1]⁺；¹⁹F NMR (376 MHz, D₂O) -200.77 - 202.57 (m, 1F)；³¹P NMR (162 MHz, D₂O) 99.68 - 84.67 (m, 1P)。
30

【0217】

工程6：化合物11ナトリウム塩及び化合物12ナトリウム塩の調製
化合物11ナトリウム塩。Dowex 50W × 8, 200 - 400 (H形態、50 g) をビーカーに添加し(化合物11の45 mg用)、脱イオン水(2回)で洗浄し、次いで樹脂(15% H₂SO₄脱イオン水溶液、50 mL)に添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂を、15% H₂SO₄脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15% H₂SO₄で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、樹脂が中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂をビーカーに戻し、NaOH溶液(15% NaOH水溶液、50 mL)を添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂をカラムに移し、15% NaOH水溶液で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、中性になるまで水で洗浄した(少なくとも4カラムボリューム)。化合物11を脱イオン水に溶解し(40 mL中50 mg)、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。TLC(UV)によって検出されるように、化合物11は、カラムから初期の画分において溶出した。生成物を凍結乾燥し、標的化合物11ナトリウム塩(24.3 mg、0.033 mmol)を白色固体として得た。ESI-MS : m/z = 686.9 [M+1]⁺；¹H NMR (400 MHz, D₂O) 7.81 (2H, d, J = 3.6 Hz), 7.71 (1H, s), 5.99 (1H, d, J = 15.6 Hz), 5.61 (1H, d, J = 8.2 Hz), 5.16 ~ 5.32 (1H, m), 4.65 ~ 4.80 (1H, m)。
40

. 84 (2 H , m) , 4 . 19 ~ 4 . 28 (2 H , m) , 3 . 96 ~ 4 . 11 (2 H , m) , 3 . 88 (1 H , d , J = 4 . 2 Hz) , 3 . 69 ~ 3 . 80 (2 H , m) , 3 . 31 (3 H , s) , - 1 . 07 - 0 . 45 (6 H , m) ; ¹⁹F NMR (377 MHz , D₂O) - 202 . 06 (1 F , s) ; ³¹P NMR (162 MHz , D₂O) 94 . 39 (1 P , b r s) 。

【0218】

化合物12ナトリウム塩。Dowex 50W×8, 200-400(H形態、50g)をビーカーに添加し(化合物12の50mg用)、脱イオン水で洗浄し(2回)、次いで樹脂(15%H₂SO₄脱イオン水溶液、50mL)に添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂を、15%H₂SO₄脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15%H₂SO₄で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、樹脂が中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂をビーカーに戻し、NaOH溶液(15%NaOH水溶液、50mL)を添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂をカラムに移し、15%NaOH水溶液で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、中性になるまで水で洗浄した(少なくとも4カラムボリューム)。化合物12を脱イオン水に溶解し(40mL中50mg)、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。TLC(UV)によって検出されるように、化合物12は、カラムから初期の画分において溶出した。生成物を凍結乾燥し、標的化合物12ナトリウム塩(43.3mg、0.059mmol)を白色固体として得た。ESI-MS: m/z = 686 . 9 [M + 1]⁺; ¹H NMR (400 MHz , D₂O) 8 . 11 (s , 1 H) , 8 . 06 (s , 1 H) , 7 . 94 (s , 1 H) , 6 . 28 (d , J = 16 . 06 Hz , 1 H) , 5 . 89 (d , J = 8 . 53 Hz , 1 H) , 5 . 44 ~ 5 . 60 (m , 1 H) , 5 . 27 (t d , J = 8 . 97 , 4 . 39 Hz , 1 H) , 4 . 86 ~ 5 . 00 (m , 1 H) , 4 . 46 ~ 4 . 55 (m , 2 H) , 4 . 37 (b r d , J = 11 . 80 Hz , 1 H) , 4 . 19 ~ 4 . 28 (m , 1 H) , 4 . 19 ~ 4 . 28 (m , 1 H) , 4 . 15 (b r d d , J = 11 . 67 , 2 . 13 Hz , 1 H) , 4 . 02 (b r d , J = 12 . 30 Hz , 1 H) , 3 . 54 (s , 3 H) , - 0 . 01 ~ 0 . 75 (m , 6 H) ; ¹⁹F NMR (377 MHz , D₂O) - 201 . 59 (s , 1 F) ; ³¹P NMR (162 MHz , D₂O) 94 . 01 (b r s , 1 P) 。

【0219】

(実施例9)

【0220】

10

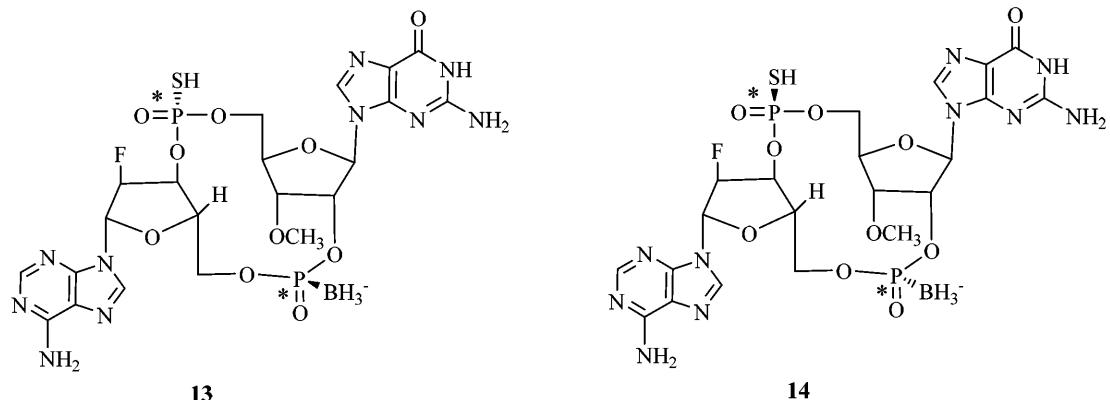
20

30

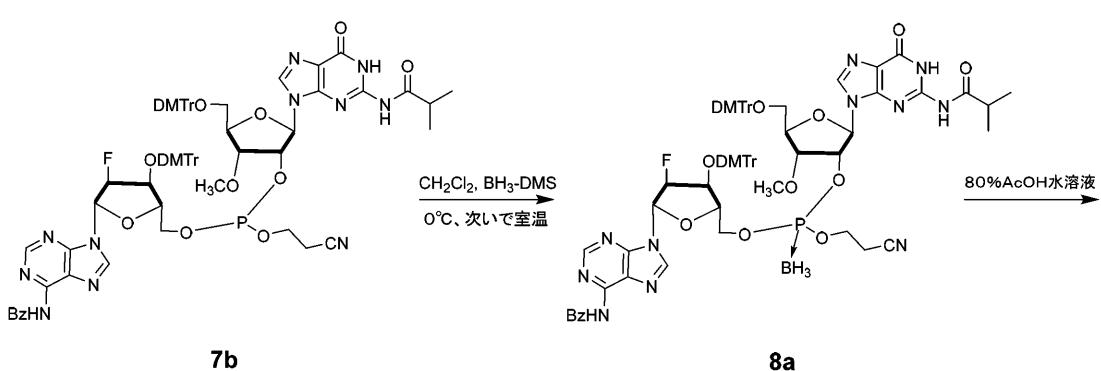
40

50

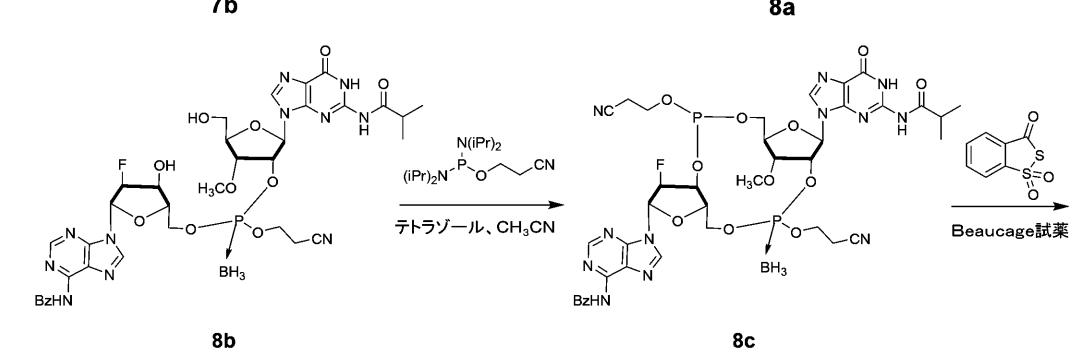
【化 3 7】



10



20



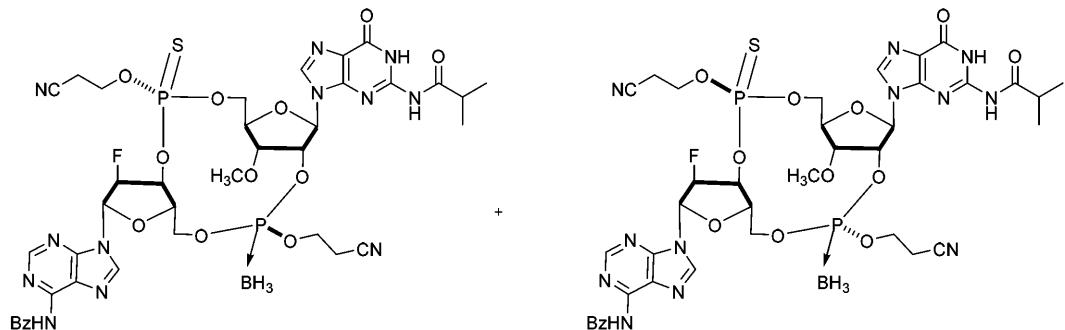
30

【0 2 2 1】

40

50

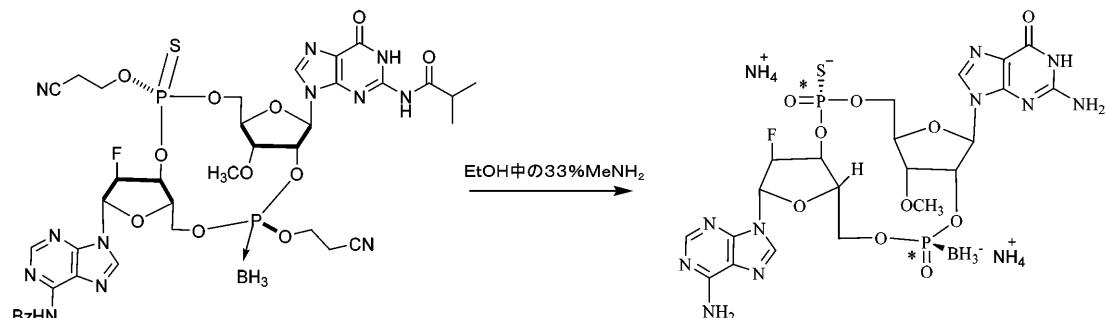
【化 3 8】



10

9a

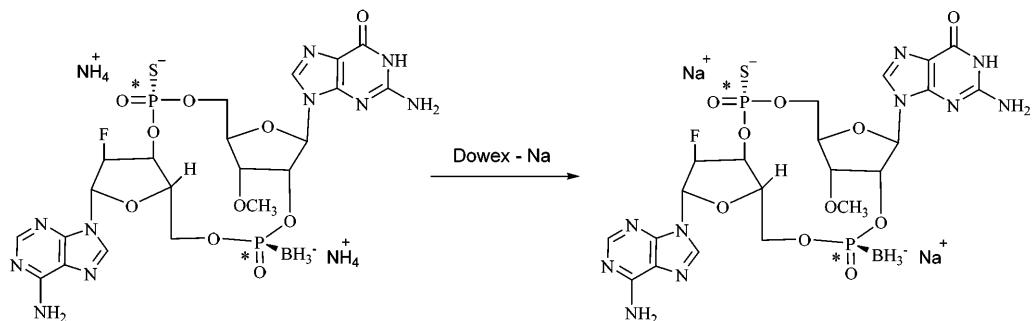
9b



20

9a

化合物13



30

化合物13、アンモニウム塩

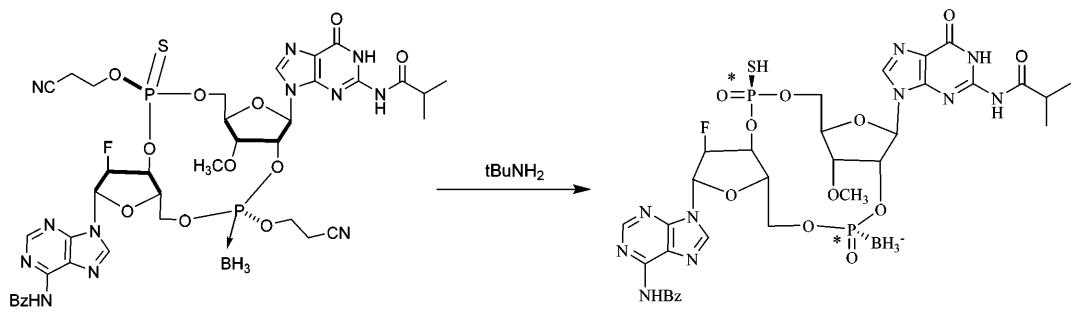
化合物13、ナトリウム塩

【0222】

40

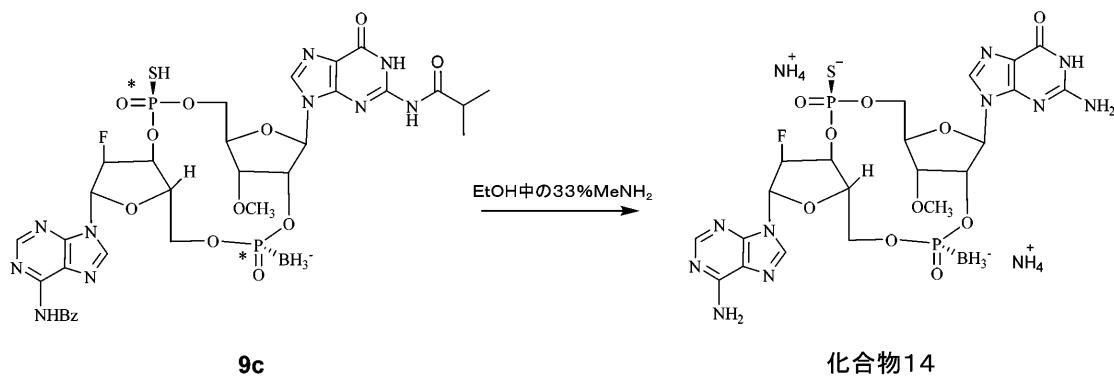
50

【化39】



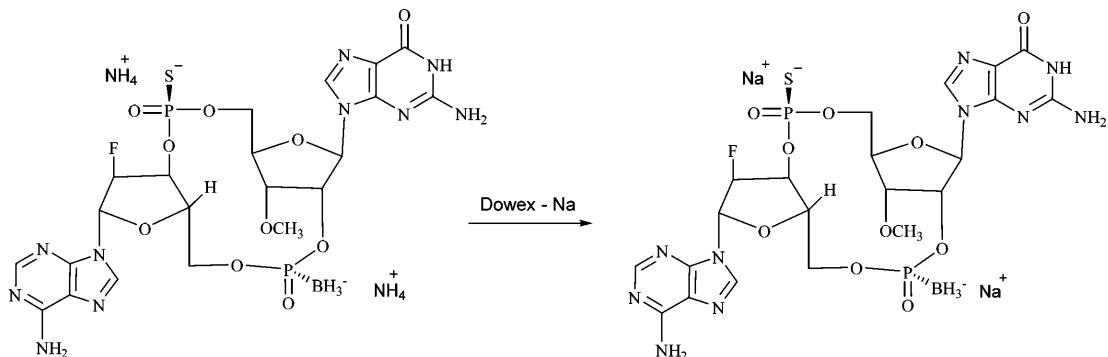
9b

9c



9c

化合物14



化合物14、アンモニウム塩

化合物14、ナトリウム塩

【0223】

工程1：化合物8aの調製

化合物7b (10.46 g, 7.241 mmol) を無水CH₂Cl₂ (100 mL) に溶解し、4 モレキュラーシーブ粉末 (4.0 g) をこの溶液に添加した。得られた不均質な混合物を減圧下で脱気し、アルゴンで数回バージした。この混合物を25で30分間攪拌した後、ボランジメチルスルフィド錯体溶液 (THF中2.0 M、BH₃·DMS、11.948 mL、23.897 mmol) を0で5分間非常にゆっくり添加した。反応物を25で20分間攪拌した後、反応混合物を素早く濾過し、CH₂Cl₂ (120 mL) で希釈し、水 (20 mL) でクエンチした。有機相を、水 (50 mL) 及びブライン (50 mL) で連続的に洗浄した。水層をEtOAcで逆抽出した (50 mL)。合わせた有機層を減圧下で濃縮し、得られた粗物質をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (CH₂Cl₂/MeOH = 100/1~10/1) により精製して、黄色固体として化合物8a (11.1 g、7.612 mmol)を得た。

【0224】

工程2：化合物8bの調製

化合物8a (11.1 g、7.612 mmol) を80% AcOH水溶液/CH₃CN/Et₃SiH (3/1/1、v/v、200 mL) に溶解した。混合物を37で16時間攪拌した後、反応混合物をEtOAc (500 mL) で希釈し、次いで飽和NaHCO₃水

溶液で中和した。有機層を水(500mL)及びブライン(2×250mL)で連続的に洗浄し、次いでNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濾液を乾燥するまで蒸発させ、残渣を得た。残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH₂Cl₂/MeOH=100/1~10/1)により精製して、白色泡状物として化合物8b(3.6g、4.218mmol)を得た。ESI-MS: m/z 854.2 [M+H]⁺; ¹⁹F NMR (376MHz, CD₃CN) -203.09 (s, 1F), -203.36 (s, 1F); ³¹P NMR (162MHz, CD₃CN) 116.95~116.34 (m, 1P)。

【0225】

工程3：化合物8cの調製

化合物8b(1.5g、1.757mmol)を無水トルエン/CH₃CN(1/1 v/v、3×20mL)の混合物と共に沸させて、白色固体を得た。次いで、この固体を無水CH₃CN(80mL)に溶解し、4モレキュラーシープ粉末(2.0g)をこの溶液に添加した。この混合物を25で30分間攪拌した後、この溶液に、テトラゾールのCH₃CN溶液(0.45M、31.242mL、14.059mmol)を、25で添加した。反応混合物を25で20分間攪拌した。この溶液に、2-シアノエトキシビス-(N,N-ジイソプロピルアミノ)ホスфин(794.519mg、2.636mmol)を20分かけて添加した(5回にわけて)。60分間攪拌した後、更なるテトラゾールのCH₃CN溶液(0.45M、10mL)をこの溶液に添加した。更に1時間攪拌した後、反応混合物をEtOAc(100mL)で希釈し、濾過した。有機層を飽和NaHCO₃水溶液(50mL)、ブライン(50mL)で洗浄し、MgSO₄で乾燥させ(5分間攪拌後、濾過)、濾液を乾燥するまで蒸発させて、化合物8c(1.76g、粗)を白色固体として得た。得られた固体を、更なる精製は行わずに次の工程に直接使用した。工程3を、同じスケールを用いて2回繰り返した。

【0226】

工程4：化合物9a及び9bの調製

化合物8c(1.76g、1.848mmol)のMeCN(30mL)溶液に、25で3H-ベンゾ[c][1,2]ジチオール-3-オン1,1-ジオキシド(1.85g、9.238mmol)を添加した。25で1時間攪拌した後、反応混合物を濾過し、得られたケーキをCH₂Cl₂/MeOHで洗浄した(10/1、20mL×3)。合わせた濾液を加圧下で濃縮し、残渣を得た。残渣をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH₂Cl₂/MeOH=100/1~10/1)により精製して、黄色の泡状物として化合物9a(652mg)を得て、黄色の泡状物として化合物9b(660mg)を得た。

【0227】

化合物9aを逆相分取HPLC(カラム: Phenomenex Gemini C18 250×50 10mμ)移動相:水(10mM NH₄HCO₃) - ACN、B: 30で開始、B: 60で終了; 流速: 2.5mL/分勾配時間: 15分)により再精製し、化合物9a(225mg、0.229mmol)を白色固体として得た。化合物9bを逆相分取HPLC(カラム: Waters Xbridge 150×25 5μm; 移動相: 水(10mM NH₄HCO₃) - ACN、B: 37で開始、B: 67で終了; 流速: 2.5mL/分勾配時間: 8分)により再精製し、化合物9b(351mg、0.356mmol、収率19.294%)を白色固体として得た。ESI-MS: m/z 985.5 [M+H]⁺。

【0228】

工程5：化合物13アンモニウム塩の調製

化合物9a(100mg、0.102mmol)をMeNH₂(EtOH中33%、5mL)で処理し、25で12時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して残渣を得た。残渣を逆相分取HPLC(カラム: Agela Durashell C18 150×25 5μm; 移動相: 水(10mM NH₄HCO₃) - ACN、B: 0で開始、B: 15

10

20

30

40

50

%で終了、流速：35 mL / 分、勾配時間：10分)により精製し、化合物13アンモニウム塩(56 mg、0.08 mmol)を白色固体として得た。ESI-MS: m/z 704.8 [M+H]⁺。¹H NMR (400 MHz, D₂O) 8.30 (br, s, 1H), 7.93 (brs, 2H), 6.41 (br, d, J = 15.8 Hz, 1H), 5.98 - 5.68 (m, 2H), 5.57 (br, s, 1H), 5.24 - 4.95 (m, 1H), 4.62 - 4.35 (m, 3H), 4.29 - 4.12 (m, 3H), 4.02 (brd, J = 9.3 Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), -0.48 (br, s, 3H); ¹⁹F NMR (376 MHz, D₂O) -199.64 - -201.37 (m, 1F); ³¹P NMR (162 MHz, D₂O) 91.37 (s, 1P), 91.31 (s, 1P), 90.52 (s, 1P), 89.94 (s, 1P), 52.36 (s, 1P), 52.26 (s, 1P)。

【0229】

工程6：化合物13ナトリウム塩の調製

Dowex 50W×8, 200~400(H形態、50 g)をビーカーに添加し(化合物13の56 mg用)、脱イオン水(2回)で洗浄し、次いで樹脂(15% H₂SO₄脱イオン水溶液、50 mL)に添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂を、15% H₂SO₄脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15% H₂SO₄で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、樹脂が中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂をビーカーに戻し、NaOH溶液(15% NaOH水溶液、50 mL)を添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂をカラムに移し、15% NaOH水溶液で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、中性になるまで水で洗浄した(少なくとも4カラムボリューム)。化合物12を脱イオン水に溶解し(40 mL中50 mg)、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。TLC(UV)によって検出されるように、化合物12は、カラムから初期の画分において溶出した。化合物13を脱イオン水に溶解し(30 mL中56 mg)、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。TLC(UV)によって検出されるように、生成物は、カラムから初期の画分において溶出した。生成物を凍結乾燥し、標的化合物13Na塩(45.4 mg、0.064 mmol)を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, D₂O) 8.25 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 6.42 (d, J = 14.8 Hz, 1H), 5.91 - 5.84 (m, 1.5H), 5.76 (d, J = 3.8 Hz, 0.5H), 5.60 - 5.51 (m, 1H), 5.19 - 5.04 (m, 1H), 4.61 - 4.53 (m, 2H), 4.52 - 4.44 (m, 1H), 4.27 - 4.18 (m, 3H), 4.07 (dd, J = 4.0, 12.0 Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), 0.47 - 0.89 (m, 3H); ¹⁹F NMR (377 MHz, D₂O) -201.93 (s, 1F); ³¹P NMR (162 MHz, D₂O) 92.47 (brdd, J = 26.4, 73.4 Hz, 1P), 91.98 (s, 1P), 91.71 (s, 1P), 91.24 (s, 1P), 91.19 (s, 1P), 91.10 (s, 1P), 90.97 (s, 1P), 52.78 (s, 1P), 52.64 (s, 1P); ESI-MS: m/z 704.8 [M+H]⁺。

【0230】

工程7：化合物9cの調製

化合物9b(311 mg、0.316 mmol)のMeCN/EtOH(1/1、5 mL)溶液にtert-ブチルアミン(5 mL)を加えた。2時間攪拌した後、反応混合物を減圧下で濃縮して残渣を得た。残渣を逆相分取HPLC(カラム: Waters Xbridge 150 × 25 5 μm; 移動相: 水(10 mM NH₄HCO₃) - ACN、B: 8で開始、B: 38で終了; 流速: 25 mL / 分勾配時間: 8分)により再精製し、化合物9c(243 mg、0.277 mmol)を白色固体として得た。

【0231】

工程8：化合物14アンモニウム塩の調製

化合物9c(243 mg、0.277 mmol)をMeNH₂(EtOH中33%、10

10

20

30

40

50

mL)で処理し、25℃で12時間攪拌した。次いで、反応混合物を減圧下で濃縮して残渣を得た。残渣を逆相分取HPLC(カラム: Agela Durashell C18 150×25 5 μm; 移動相: 水(10 mM NH₄HCO₃) - ACN、B: 0で開始、B: 15%で終了、流速: 35 mL/分、勾配時間: 10分)により精製し、化合物14アンモニウム塩(125 mg、0.177 mmol)を白色固体として得た。¹H NMR(400 MHz, D₂O) δ 8.23(d, J = 2.5 Hz, 2H), 8.01(s, 1H), 6.43(d, J = 15.1 Hz, 1H), 5.95-5.76(m, 2H), 5.56(dt, J = 4.3, 8.9 Hz, 1H), 5.21-5.05(m, 1H), 4.64-4.46(m, 3H), 4.33-4.15(m, 4H), 3.56(s, 3H), 0.96--0.39(m, 3H); ¹⁹F NMR(377 MHz, D₂O) -201.77(s, 1F); ³¹P NMR(162 MHz, D₂O) 93.50(s, 1P), 92.44(s, 1P), 52.51(s, 1P); ESI-MS: m/z 704.8 [M+H]⁺。

【0232】

工程9：化合物14ナトリウム塩の調製

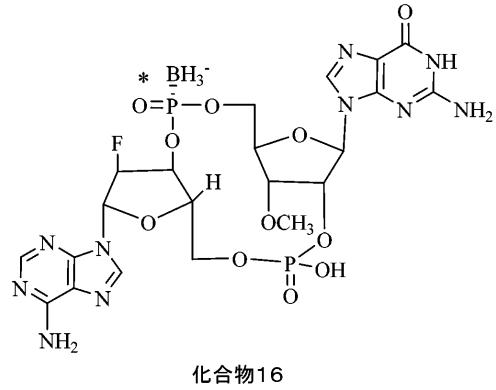
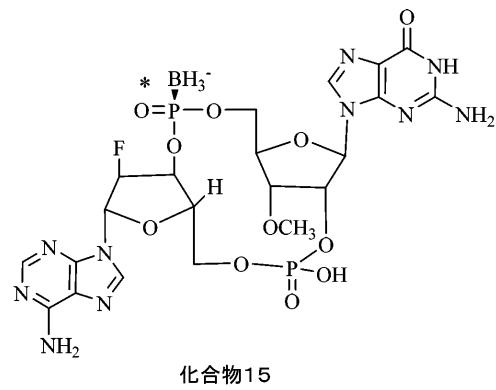
Dowex 50W×8, 200~400(H形態、50 g)をビーカーに添加し(化合物14の125 mg用)、脱イオン水(2回)で洗浄し、次いで樹脂(15% H₂SO₄脱イオン水溶液、50 mL)に添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂を、15% H₂SO₄脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15% H₂SO₄で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、樹脂が中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂をビーカーに戻し、NaOH溶液(15% NaOH水溶液、50 mL)を添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂をカラムに移し、15% NaOH水溶液で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、中性になるまで水で洗浄した(少なくとも4カラムボリューム)。化合物14を脱イオン水に溶解し(40 mL中125 mg)、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。TLC(UV)によって検出されるように、生成物は、初期の画分に溶出した。生成物を凍結乾燥し、標的化合物14ナトリウム塩(105.4 mg、0.141 mmol)を白色固体として得た。¹H NMR(400 MHz, D₂O) δ 8.21(br, d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.89(s, 1H), 6.38(d, J = 15.3 Hz, 1H), 5.89-5.72(m, 2H), 5.67(br, s, 1H), 5.19-5.02(m, 1H), 4.62-4.42(m, 3H), 4.27-4.17(m, 3H), 4.07(br d, J = 9.8 Hz, 1H), 3.57(s, 3H), 0.36(br, s, 3H); ¹⁹F NMR(377 MHz, D₂O) -201.25(s, 1F); ³¹P NMR(162 MHz, D₂O) 92.42-90.93(m, 1P), 52.35(s, 1P); ESI-MS: m/z 704.8 [M+H]⁺。

【0233】

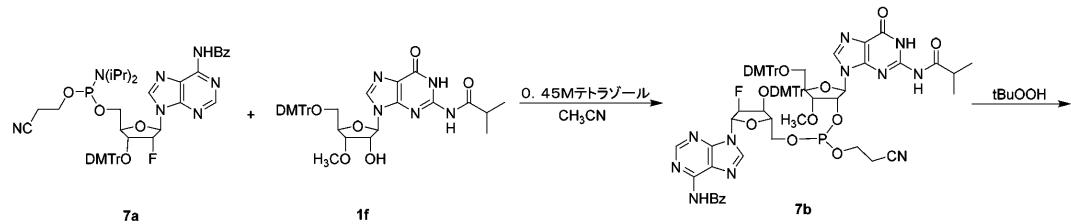
(実施例10)

【0234】

【化40】



10



20

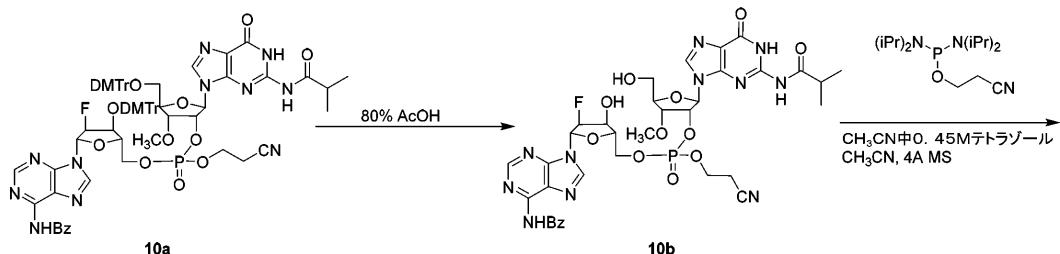
【0235】

30

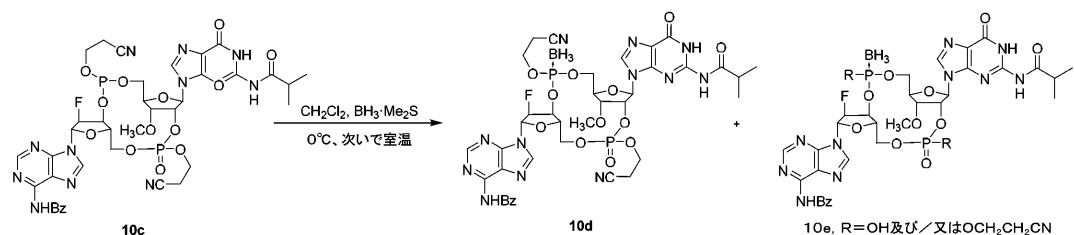
40

50

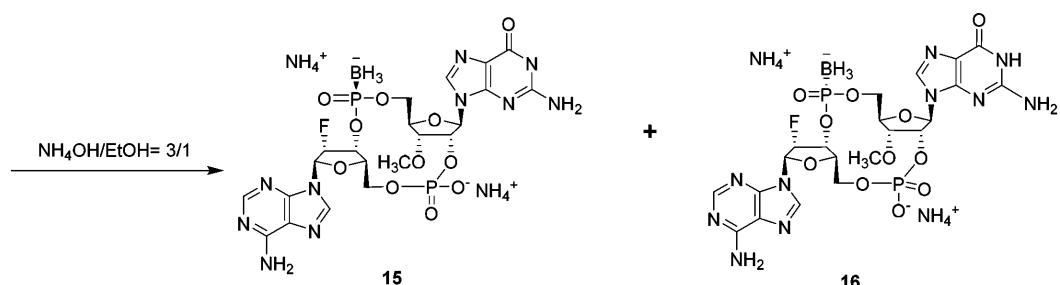
【化 4 1】



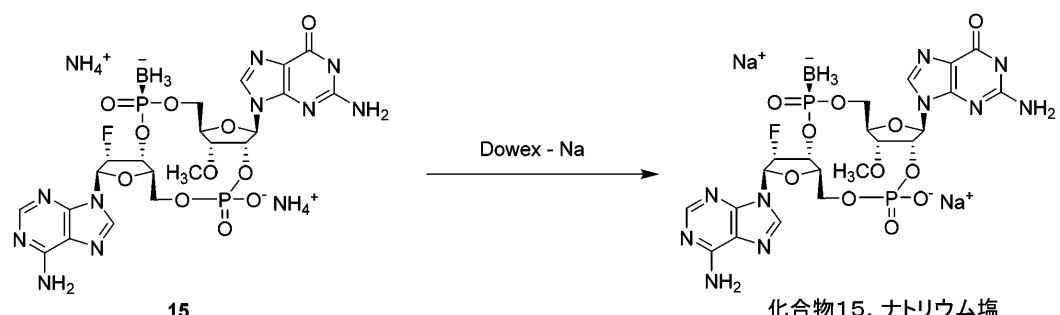
10



20



30



[0 2 3 6]

工程 1：化合物 7 b の調製

化合物 1 f (5 . 0 g 、 7 . 4 7 mmol) のアセトニトリル (1 8 0 mL) 溶液に、
1 H - テトラゾール (0 . 4 5 M 、 1 3 2 . 7 mL) を 2 5 ℃ で添加した。溶液を 2 5
で 1 0 分間攪拌した後、化合物 7 a (6 . 8 7 g 、 7 . 8 4 mmol) のアセトニトリル
(2 0 mL) 溶液を滴下した。2 5 ℃ で 2 時間攪拌した後、この溶液を、更に精製するこ
となく次の工程に使用した。

40

【 0 2 3 7 】

工程 2 : 化合物 10 a の調製

上述の化合物 7 b (332.7 mL, 7.44 mmol) のアセトニトリル溶液に、*t*-ブチルヒドロペルオキシド (3.35 g, 37.22 mmol) を 25 度添加した。25 度 1.5 時間攪拌した後、溶液を EA (100 mL) で希釈し、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (2 × 100 mL) 及びブライン (2 × 100 mL) で洗浄した。有機層を無水 Na₂SO₄ 上で連続的に乾燥させ、濾過し、溶媒を減圧下で蒸発させて、白色固体とし

50

て化合物 10 a (10 g) を得た。

【0238】

工程 3：化合物 10 b の調製

化合物 10 a (10 g、粗) のアセトニトリル (50 mL) 溶液に、トリエチルシラン (40 mL) 及び 80% 酢酸のアセトニトリル溶液 (200 mL) を 25 度添加した。溶液を 50 度で 12 時間攪拌した後、混合物を飽和 NaHCO₃ 水溶液で pH 8 に中和した。混合物を EtOAc (500 mL) で希釈し、有機層を飽和 NaHCO₃ 水溶液 (100 mL)、ブライン (100 mL) で連続的に洗浄し、減圧下で乾燥するまで蒸発させた。水層を EtOAc (2 回 × 200 mL) で抽出し、減圧下で乾燥するまで蒸発させた。混合した粗物質を、シリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (CH₂Cl₂ 中 0 ~ 9 % MeOH、v/v) により精製して、白色固体として化合物 10 b (5 g) を得た。ESI-MS : m/z 856.2 [M + H]⁺。
10

【0239】

工程 4：化合物 10 c の調製

テトラヒドロフラン (2 mL) 及びアセトニトリル (75 mL) 中の化合物 10 b (1.5 g、1.4 mmol) の溶液に、1H - テトラゾール (0.45 M、15.58 mL、7.01 mmol) を 25 度添加した。次いで、3 - ((ビス(ジイソプロピルアミノ)ホスフィノ)オキシ)プロパンニトリル (845.34 mg、2.8 mmol) のアセトニトリル (5 mL) 溶液を 25 度添加した。25 度で 1.5 時間攪拌した後、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (50 mL)、ブライン (50 mL) で溶液を洗浄し、減圧下で蒸発させて、黄色固体として化合物 10 c (1.8 g) を得て、これを更に精製することなく次の工程に使用した。ESI-MS : m/z 955.5 [M + H]⁺。
20

【0240】

化合物 15 の調製

工程 5：化合物 10 d + 10 e の調製

化合物 10 c (1.5 g、1.57 mmol) の DCM (100 mL) 溶液に、0 度で 2 分間かけて、ボランジメチルスルフィド (2.36 mL、4.71 mmol) を添加した。混合物を 25 度で 15 分間攪拌した後、水 (30 mL) を添加した。得られた溶液を濾過し、濾液を減圧下で濃縮して黄色固体を得た。固体を DCM (100 mL) で希釈し、有機層を水 (2 × 100 mL)、ブライン (3 × 100 mL) で連続的に洗浄し、加圧下で濃縮して残渣を得た。粗固体をシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (CH₂Cl₂ 中 0 ~ 9 % MeOH、v/v) により精製して、黄色固体として化合物 10 d 及び 10 e の混合物 (500 mg、粗) を得た。ESI-MS : m/z 969.3 [M + H]⁺。
30

【0241】

工程 6：化合物 15 の調製

エタノール (14 mL) と NH₄OH (42 mL) との混合物中の化合物 10 d 及び 10 e (500 mg、粗) の溶液を 50 度で 12 時間攪拌した。溶液を減圧下で濃縮し、黄色固体を得た。黄色固体を逆相分取 HPLC (カラム: Synergi Polar-RP 100 × 30 5 μM; 条件: 水 (10 mM NH₄HCO₃) - ACN; B: 0 度開始、B: 20 度終了; 勾配時間 (分): 12; 流速 (mL/分): 25) により精製して、白色固体として化合物 15 (110 mg) を得た。化合物 15 を逆相分取 HPLC (カラム: Phenomenex Kinetex XB-C18 150 mm × 30 mm、5 μM; 条件: 水 (10 mM NH₄HCO₃) - ACN; B: 0 度開始、B: 5 度終了; 勾配時間 (分): 7; 流速 (mL/分): 30) により 2 回目の精製を行い、化合物 15 アンモニウム塩 (45 mg) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ: 8.31 (br, s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.94 (br, s, 1H), 6.43 (br, d, J = 16.3 Hz, 1H), 5.98 (br, d, J = 7.7 Hz, 1H), 5.67 - 5.47 (m, 1H), 5.28 (br, s, 1H), 4.93 (br, s, 1H), 4.61 - 4.49 (m, 2H), 4.43 (br, d, J = 9.7 Hz, 50

z , 1 H), 4.26 (br, s, 2 H), 4.18 (br, s, 1 H), 4.05 (br s, 1 H), 3.60 (s, 3 H), 0.33 (br s, 3 H). ^{19}F NMR (376 MHz, D_2O) 201.82 (s, 1 F). ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O) 96.09 (br, s, 1 P), -2.40 (s, 1 P). ESI-MS: m/z 688.9 [M+H]⁺.

【0242】

工程7：化合物15ナトリウム塩の調製

Dowex 50W×8, 200~400(H形態、5mL)をビーカーに添加し(化合物15アンモニウム塩の45mg用)、脱イオン水(2回)で洗浄し、次いで樹脂(15% H_2SO_4 脱イオン水溶液、50mL)に添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂を、15% H_2SO_4 脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15% H_2SO_4 で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、樹脂が中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂をビーカーに戻し、NaOH溶液(15% NaOH水溶液、50mL)を添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂をカラムに移し、15% NaOH水溶液で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、中性になるまで水で洗浄した(少なくとも4カラムボリューム)。化合物15アンモニウム塩を脱イオン水に溶解し(5mL中45mg)、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。TLC(UV)によって検出されるように、生成物は、初期の画分に溶出した。生成物を凍結乾燥し、化合物15ナトリウム塩P1(42.6mg)を白色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, D_2O) 8.21 (s, 1 H), 8.09 (s, 1 H), 7.97 (s, 1 H), 6.39 (br, d, J = 16.1 Hz, 1 H), 6.00 (br, d, J = 8.3 Hz, 1 H), 5.70 - 5.52 (m, 1 H), 5.23 (dt, J = 4.5, 8.3 Hz, 1 H), 5.04 - 4.88 (m, 1 H), 4.63 - 4.51 (m, 3 H), 4.44 (br, d, J = 11.8 Hz, 1 H), 4.31 - 4.19 (m, 3 H), 4.06 (br, d, J = 10.8 Hz, 1 H), 3.59 (s, 3 H), 0.67 - 0.12 (m, 3 H). ^{19}F NMR (376 MHz, D_2O) -201.80 (s, 1 F). ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O) 95.45 (s, 1 P), -2.26 (s, 1 P). ESI-MS: m/z 688.8 [M+H]⁺.

【0243】

化合物15及び化合物16の調製

工程5：化合物10d+10eの調製

化合物10c(2.3g、2.41mmol)のDCM(100mL)溶液に、0で2分間、ボランジメチルスルフィド(3.61mL、7.23mmol)を添加した。混合物を25で15分間攪拌した後、水(20mL)を添加した。得られた溶液を濾過し、濾液を減圧下で濃縮して黄色固体を得た。固体をDCM(100mL)で希釈し、有機層を水(2×100mL)、ブライン(3×100mL)で連続的に洗浄し、加圧下で濃縮して黄色残渣を得た。粗固体を逆相分取HPLC(カラム: Agela Durashell 11 C18 150×25 5 μM; 条件: 水(10 mM NH₄CO₃) - ACN; B: 25で開始、B: 55で終了; 勾配時間(分): 12; 流速(mL/分): 25)により精製し、化合物10d及び10e(65mg)を白色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) 8.81 - 8.71 (m, 1 H), 8.50 (d, J = 6.2 Hz, 1 H), 8.08 (br, d, J = 8.4 Hz, 2 H), 7.69 - 7.54 (m, 3 H), 6.59 - 6.50 (m, 1 H), 6.37 - 6.26 (m, 2 H), 6.02 - 5.86 (m, 1 H), 5.26 - 5.04 (m, 2 H), 4.77 - 4.68 (m, 1 H), 4.63 - 4.54 (m, 3 H), 4.43 (br, d, J = 6.2 Hz, 2 H), 4.34 - 4.27 (m, 2 H), 3.86 - 3.69 (m, 2 H), 2.98 - 2.90 (m, 3 H), 2.71 (br, dd, J = 5.8, 13.1 Hz, 1 H), 2.61 - 2.49 (m, 1 H), 1.22 (td, J = 3.3, 6.7 Hz, 7 H)。ESI-MS: m/z 969.3 [M+H]⁺.

10

20

30

40

50

【0244】

工程6：化合物15及び化合物16の調製

エタノール(4mL)とNH₄OH(12mL)との混合物中の化合物10d及び10e(65mg、粗)の溶液を50で12時間攪拌した。溶液を減圧下で濃縮し、残渣を得た。残渣を逆相分取HPLC(カラム：Synerg i Polar-RP 100×30 5μM；条件：水(10mM NH₄HCO₃) - ACN；B：0で開始、B：20で終了；勾配時間(分)：12；流速(mL/分)：25)により精製して、白色固体として化合物15(37mg)及び化合物16(17mg)を得た。

【0245】

化合物15アンモニウム塩：¹H NMR(400MHz, D₂O) 8.41(br, s, 1H), 8.23(br, s, 1H), 7.98(br, s, 1H), 6.46(br, d, J = 16.3Hz, 1H), 5.99(br, s, 1H), 5.74-5.46(m, 1H), 5.27(br, s, 1H), 5.07-4.91(m, 1H), 4.61-4.50(m, 2H), 4.42(br, s, 1H), 4.26(br, s, 2H), 4.16(br, s, 1H), 4.05(br, s, 1H), 3.61(s, 3H), 0.71-0.07(m, 2H)。¹⁹F NMR(376MHz, D₂O) -75.63(s, 1F)。³¹P NMR(162MHz, D₂O) 94.56(s, 1P), -3.69(s, 1P)。ESI-MS: m/z 688.9 [M+H]⁺。

【0246】

化合物16アンモニウム塩：¹H NMR(400MHz, D₂O) 8.37(brs, 1H), 8.24(brs, 1H), 7.85(s, 1H), 6.42(d, J = 14.1Hz, 1H), 5.91-5.88(m, 1H), 5.8(brs, 1H), 5.51(brs, 1H), 5.38(brs, 1H), 5.32-5.20(m, 1H), 4.56-4.48(m, 2H), 4.45-4.36(m, 1H), 4.28-4.17(m, 3H), 4.09(brd, J = 11.0Hz, 1H), 3.59(s, 3H), 0.61-0.10(m, 3H)。¹⁹F NMR(376MHz, D₂O) -202.9(s, 1F)。³¹P NMR(162MHz, D₂O) 96.67(m, 1P), -3.02(s, 1P)。ESI-MS: m/z 689.2 [M+H]⁺。

【0247】

工程7：化合物15ナトリウム塩の調製

Dowex 50W×8, 200~400(H形態、5mL)をビーカーに添加し(化合物15アンモニウム塩の37mg用)、脱イオン水(2回)で洗浄し、次いで樹脂(15%H₂SO₄脱イオン水溶液、50mL)に添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂を、15%H₂SO₄脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15%H₂SO₄で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、樹脂が中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂をビーカーに戻し、NaOH溶液(15%NaOH水溶液、50mL)を添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回)。樹脂をカラムに移し、15%NaOH水溶液で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、中性になるまで水で洗浄した(少なくとも4カラム体積)。化合物15アンモニウム塩を脱イオン水に溶解し(5mL中37mg)、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。TLC(UV)によって検出されるように、生成物は、初期の画分に溶出した。生成物を凍結乾燥し、化合物15ナトリウム塩P1(28.4mg)を白色固体として得た。¹H NMR(400MHz, D₂O) 8.25(s, 1H), 8.12(s, 1H), 7.99(s, 1H), 6.42(br, d, J = 15.8Hz, 1H), 6.02(br, d, J = 8.3Hz, 1H), 5.70-5.52(m, 1H), 5.30-5.21(m, 1H), 5.06-4.91(m, 1H), 4.62-4.54(m, 2H), 4.44(br, d, J = 12.8Hz, 1H), 4.30(br, d, J = 4.3Hz, 2H), 4.21(br, d, J = 12.0Hz, 1H), 4.06(br, d, J = 11.8Hz, 1H), 3.60(s, 3H), 0.71-0.09(m, 3H)。¹⁹F NMR(376MHz, D₂O) -75.62(s, 1F), -201.50(s, 1F)。

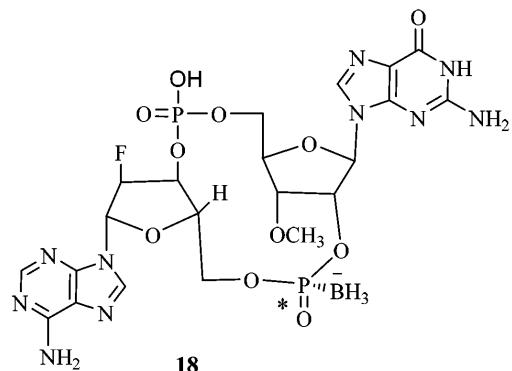
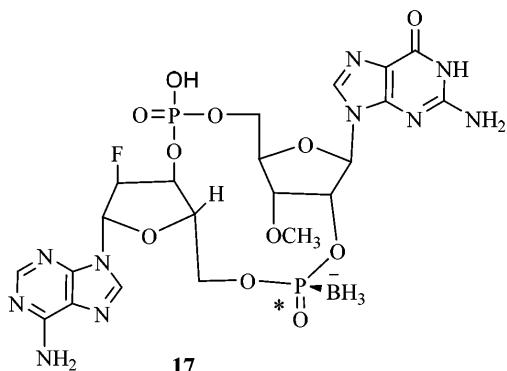
. 8 9 (s , 1 F) 。 ^{31}P N M R (1 6 2 M H z , D₂O) 9 6 . 0 8 (s , 1 P) , - 2 . 2 4 (s , 1 P) 。 E S I - M S : m / z 6 8 8 . 8 [M + H] ^+ 。

【 0 2 4 8 】

(実施例 1 1)

【 0 2 4 9 】

【 化 4 2 】



【 0 2 5 0 】

10

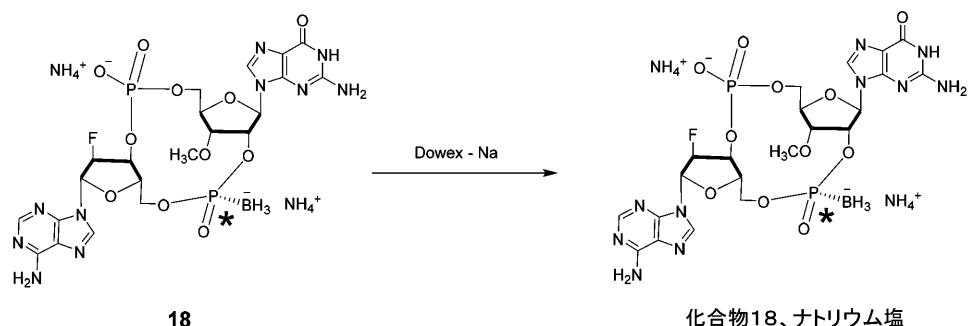
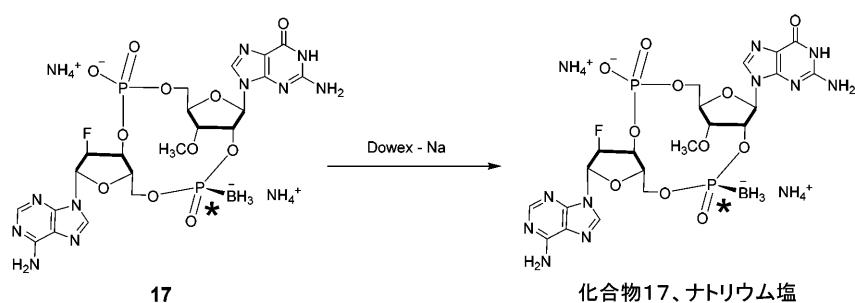
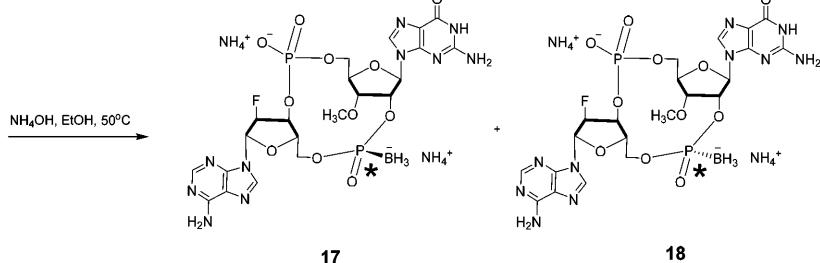
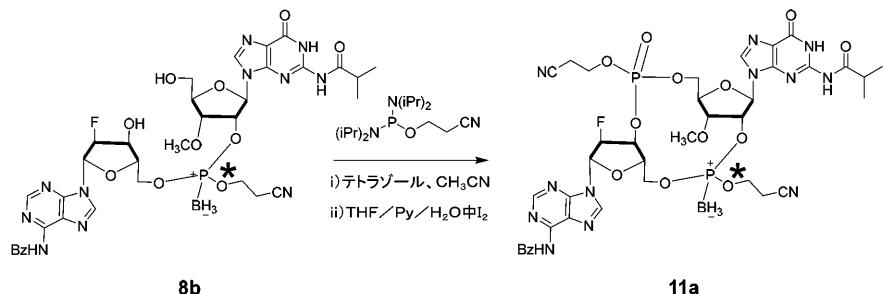
20

30

40

50

【化43】



【0251】

工程1：(11a)の調製

8b (100mg、0.11mmol) のCH₃CN / THF (1:1、v/v、4.4mL) 溶液に、4モレキュラーシーブ (1g) 及び1H-テトラゾールのCH₃CN溶液 (1.94mL、0.9mmol) を加えた。混合物を25で0.5時間攪拌した後、この混合物に、CH₃CN中の2-シアノエチルN,N,N',N'-テトライソプロピルホスホジアミダイト (49.56mg、0.16mmol) を添加した。混合物を25で2時間攪拌し、CH₃CN中の1H-テトラゾール (0.49mL、0.22mmol、0.45M) を混合物に添加した。混合物を25で0.5時間攪拌した後、0.5M I₂のTHF:Py:H₂O (8:1:1; v/v/v) (0.66mL、0.33mmol) を反応物に加えた。混合物を25で2時間攪拌した後、飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液 (2mL) を添加した。得られた混合物を濾過し、濾液を減圧下で乾燥するまで濃縮し

10

20

30

40

50

た。残渣を逆相分取HPLC(カラム: Agela Durashell C18 150 × 25 5 μM; 条件: 水(10 mM NH₄HCO₃) - CAN A: 水(10 mM NH₄HCO₃) B: MeCN; B: 25%で開始、B: 55%で終了、勾配時間(分)12; 100% B保持時間(分)2.2; 流速(mL/分): 25)により精製した。純粋画分を回収し、減圧下で溶媒を濃縮し、水層を乾燥するまで凍結乾燥させ、11aを白色固体として得た(20 mg)。ESI-MS: m/z 969.3 [M+1]+。

【0252】

工程2: 化合物17及び18の調製

11a(20 mg 0.017 mmol)のEtOH(1.5 mL)溶液に、NH₃·H₂O(1.5 mL、25%)を添加した。この溶液を50℃で3日間攪拌した後、反応混合物を濾過し、濾液を減圧下で乾燥するまで濃縮した。残渣を逆相分取HPLC(カラム: Syneri Polar-RP 100×30 5 μM条件: 水(10 mM NH₄HCO₃) - MeCN A: 水(10 mM NH₄HCO₃) B: MeCN; B: 0%で開始、B: 20%で終了、勾配時間(分)12; 100% B保持時間(分)2.2; 流速(mL/分): 25)により精製した。純粋画分を回収し、溶媒を減圧下で蒸発させて、白色固体として17(25 mg)及び18(20 mg)を得た。

【0253】

類似体17アンモニウム塩: ESI-MS: m/z 688.8 [M+1]+。¹H NMR(400 MHz, D₂O) 8.26(br s, 1H) 8.18(s, 1H) 7.77(br s, 1H) 6.38(br d, J = 14.31 Hz, 1H) 5.77(br d, J = 8.03 Hz, 1H) 5.64(br s, 1H) 5.30~5.52(m, 1H) 4.95~5.13(m, 1H) 4.50(br d, J = 9.03 Hz, 1H) 4.34~4.44(m, 2H) 4.07~4.25(m, 3H) 3.99(br d, J = 11.04 Hz, 1H) 3.52(s, 3H) -0.92~-0.05(m, 3H)。

【0254】

類似体18アンモニウム塩: ESI-MS: m/z 688.8 [M+1]+。¹H NMR(400 MHz, D₂O) 8.29(s, 1H) 8.18(s, 1H) 7.75(s, 1H) 6.35(d, J = 14.05 Hz, 1H) 5.76(s, 2H) 5.30~5.52(m, 1H) 4.99~5.20(m, 1H) 4.35~4.50(m, 3H) 4.09~4.22(m, 3H) 3.94~4.03(m, 1H) 3.47(s, 3H) 0.05(s, 3H)。

【0255】

工程3: 17ナトリウム塩の調製

Dowex 50W×8, 200-400(H形態、25 g)をビーカーに添加し(化合物17の33 mg用)、脱イオン水(2回)で洗浄し、次いで樹脂に、15% H₂SO₄脱イオン水溶液(80 mL)を添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回×10 mL)。樹脂を、15% H₂SO₄脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、15% H₂SO₄で洗浄し(少なくとも4カラムボリューム)、次いで、樹脂が中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂をビーカーに戻し、NaOH溶液(15% NaOH水溶液、50 mL)を添加した。混合物を15分間攪拌し、デカンテーションした(1回×10 mL)。樹脂をカラムに移し、15% NaOH水溶液で洗浄し(少なくとも4カラム体積)、次いで、中性になるまで水で洗浄した(少なくとも4カラムボリューム)。化合物17アンモニウム塩を脱イオン水に溶解し(5 mL中33 mg)、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。TLC(UV)によって検出されるように、生成物は、初期の画分に溶出した。生成物を凍結乾燥し、化合物17ナトリウム塩(12.4 mg)を白色固体として得た。ESI-MS: m/z = 688.8 [M+1]+。¹H NMR(400 MHz, D₂O) 8.08~8.05(m, 1H), 7.97(s, 1H), 7.37~7.36(m, 1H), 6.41~6.33(m, 1H), 5.88(d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.64(d, J = 4.4 Hz, 1H), 5.44~5.27(m, 2H), 4.48(d, J = 2.4 Hz, 1H), 4.38~4.30(m, 2H), 4.2

10

20

30

40

50

0 - 4 . 1 1 (m , 2 H) , 3 . 5 0 (s , 3 H) , 3 . 4 6 (d , J = 1 3 . 6 H z , 1 H) , 3 . 2 2 - 3 . 1 8 (m , 1 H) ; ¹⁹F N M R (3 7 6 M H z , D ₂O) - 1 9 6 . 8 7 (s , 1 F) ; ³¹P N M R (1 6 2 M H z , D ₂O) 7 . 8 0 (s , 1 P) , - 1 . 2 2 (s , 1 P) 。

【 0 2 5 6 】

工程 4 : 1 8 ナトリウム塩の調製

D o w e x 5 0 W × 8 , 2 0 0 - 4 0 0 (H 形態、 1 5 g) をビーカーに添加し (化合物 1 8 の 3 0 m g 用) 、脱イオン水 (2 回 × 1 0 m L) で洗浄し、次いで樹脂に 1 5 % H ₂S O ₄ 脱イオン水溶液 (8 0 m L) を添加した。混合物を 1 5 分間攪拌し、デカンテーションした (1 回 × 1 0 m L) 。樹脂を、 1 5 % H ₂S O ₄ 脱イオン水溶液の入ったカラムに移し、 1 5 % H ₂S O ₄ で洗浄し (少なくとも 4 カラムボリューム) 、次いで、樹脂が中性になるまで脱イオン水で洗浄した。樹脂をビーカーに戻し、 N a O H 溶液 (1 5 % N a O H 水溶液、 5 0 m L) を添加した。混合物を 1 5 分間攪拌し、デカンテーションした (1 回 × 1 0 m L) 。樹脂をカラムに移し、 1 5 % N a O H 水溶液で洗浄し (少なくとも 4 カラムボリューム) 、次いで、中性になるまで水で洗浄した (少なくとも 4 カラムボリューム) 。化合物 1 8 アンモニウム塩を脱イオン水に溶解し (5 m L 中 3 0 m g) 、カラムの上部に添加し、脱イオン水で溶出させた。 T L C (U V) によって検出されるように、生成物は、初期の画分に溶出した。生成物を凍結乾燥し、化合物 1 8 ナトリウム塩 (1 3 . 2 m g) を白色固体として得た。 E S I - M S : m / z = 6 8 8 . 8 [M + 1] ⁺ ; ¹H N M R (4 0 0 M H z , D ₂O) 8 . 2 2 (s , 1 H) 8 . 1 4 (s , 1 H) 7 . 7 6 (s , 1 H) 6 . 3 4 (d , J = 1 4 . 0 5 H z , 1 H) 5 . 7 7 (d , J = 8 . 2 8 H z , 1 H) 5 . 6 0 - 5 . 6 9 (m , 1 H) 5 . 3 0 - 5 . 4 8 (m , 1 H) 4 . 9 4 - 5 . 1 1 (m , 1 H) 4 . 4 9 (b r d , J = 9 . 2 9 H z , 1 H) 4 . 3 5 - 4 . 4 5 (m , 2 H) 4 . 1 7 - 4 . 2 3 (m , 1 H) 4 . 1 2 - 4 . 1 7 (m , 1 H) 4 . 0 9 (b r d , J = 4 . 5 2 H z , 1 H) 3 . 9 9 (b r d d , J = 1 2 . 0 5 , 4 . 5 2 H z , 1 H) 3 . 5 2 (s , 3 H) - 0 . 8 7 - 0 . 0 1 (m , 3 H) 。 ³¹P N M R (1 6 2 M H z , D ₂O) 9 2 . 3 8 (b r s , 1 P) - 1 . 3 1 (s , 1 P) 。 ¹⁹F N M R (3 7 6 M H z , D ₂O) - 7 5 . 6 4 (s , 1 F) - 2 0 2 . 9 1 (b r s , 1 F) 。

【 0 2 5 7 】

適切な試薬に置き換え、実施例 3 の方法によって以下の化合物を当業者によって調製することができる。

【 0 2 5 8 】

10

20

30

40

50

【表 3】

化合物番号	構造
19	
20	
21	
22	
23	

【0259】

生物学的実施例

インビトロ・アッセイ

生物学的実施例 1

S T I N G S P A 結合アッセイ

ヒト S T I N G S P A 結合アッセイは、トリチウム標識された 2', 3' c G A M P (環状(グアノシン-(2', 5')-モノホスフェート-アデノシン-(3', 5')-モノホスフェート)から、ビオチン化 S T I N G タンパク質への置換を測定する。4つの膜貫通ドメインを欠いており、232位に R を有する (H 2 3 2 R) Q 8 6 W V 6 の残基 1 3 9 -

379を含む可溶化態様の組み替えSTINGを、*E. coli*内で発現させた。集団について対立遺伝子頻度が58%であることに基づき、H232Rは、野生型であると考えられる(Yi, et al., 'Single Nucleotide Polymorphisms of Human STING can affect innate immune response to cyclic dinucleotides' PLOS ONE. 2013, 8(10), e77846)。STINGコンストラクトは、N末端にHISタグを有しており、それに続き、TEVプロテアーゼ切断部位及びAVIタグを有しており、BirAビオチンリガーゼによる選択的ビオチン化を可能にする(Beckett et al., A minimal peptide substrate in biotin holoenzyme synthetase-catalyzed biotinylation. (1999) Protein Science 8, 921~929)。精製後、かつビオチン化の前に、HISタグを切断させる。

【0260】

8nMの[³H]-2'-3'-cGAMP及び40nMビオチン-STINGタンパク質をアッセイバッファー[25mM HEPES(Corning 25-060-C1)pH 7.5、150mM NaCl(Sigma S5150)、0.5mg/mL BSA(Gibco 15260-037)、0.001%Tween-20(Sigma P7949)、分子生物学グレードの水(Corning 46-000-CM)]に加えることによって、ウェルあたりの合計体積8μLで、1536ウェルプレートでアッセイを行った。試験化合物(80nL)を、アコースティックディスペンサー(EDC Biosystems)を用いて100%DMSOに加え、最終アッセイ濃度を1%DMSOとした。プレートを1分間遠心分離し、室温で60分間インキュベートした。最後に、(2μL)ポリスチレンストレプトアビジンSPAビーズ(PerkinElmer RPNQ0306)を加え、プレートを密封し、室温で1分間遠心分離した。プレートを2時間暗所で適応させ、プレート当たり12分間ViewLux(Perkin Elmer)で読み取った。[³H]-2'-3'-cGAMPに関する飽和結合曲線は、STINGに対する結合について、天然リガンドについて報告されている値に匹敵する3.6±0.3のK_Dを示した(Zhang et al., Cyclic GMP-AMP containing mixed phosphodiester linkages is an endogenous high-affinity ligand for STING.)

【0261】

環状ジ-GMPを含む他の天然リガンドもまた、予想される範囲内で、このアッセイにおいて値を返した。参照化合物はcGAMPであり、結果は、阻害率及びIC₅₀値として報告される。マウスSTINGに対する結合は、Q3TBT3の残基138-378を含有する上述のものと類似のコンストラクトを使用した。

【0262】

完全長ヒトSTING結合アッセイ

232位にRを有し(H232R)、N末端に6HISタグを有し、それに続きFLAタグ、TEVプロテアーゼ開裂部位及びビオチン化のためのAVIタグを有する、Q86WV6の残基1-379由来のヒトSTINGを、HEK293-EXP1細胞内で組み換え発現した。これらの細胞から精製膜を調製し、STING発現を確認し、免疫プロットにより定量した。Greiner 384ウェルアッセイプレート中でSTING含有膜を試験化合物と合わせ、STING SPA結合アッセイに使用したのと同じアッセイバッファー中、室温で1時間インキュベートした。次に、[³H]-2'-3'-cGAMPを加え、プレートを室温で30分間インキュベートした。反応物を予め洗浄したPal115073フィルターブレートに移し、各ウェルを50μLのアッセイバッファーで3回洗浄した。フィルターブレートを50℃で1時間乾燥させた。各ウェルに、10μLのMicroscintシンチレーション流体を加え、プレートを密封し、ウェル当たり1分間TopCount(Perkin Elmer)で読み取った。

【0263】

10

20

30

40

50

STING SPR 結合アッセイ

化合物を、S200 biacore SPR装置(GE Healthcare)で分析した。E. coliで產生した切斷型STINGタンパク質を、ビオチン捕捉(GE Healthcare #BR100531)を介して、一連のSストレプトアビジンチップ上に固定化した。化合物を、実施バッファー(10 mM HEPES、pH 7.4、150 mM NaCl、0.005% P20、1 mM TECSEP)中、100 uM~0.195 uMまで1:2希釈でスクリーニングした。1:1結合モデルを用いて定常状態の親和性及び動態評価を行った(STINGはダイマーとして処理した)。実験パラメータは以下のとおりであった。IFM化合物については60秒オン、300秒オフ、環状ジ-GMP(60秒オン/60秒オフ)、チオール異性体1(60秒オン/300秒オフ)、及びcGAMP(60秒オン/1200 secオフ)、流速50 uL/min及び25°、40 Hzでのデータ収集。

【0264】

STINGヒト細胞レポーターアッセイ

ヒトSTING経路のアゴニスト活性は、インターフェロン調節因子(IFN)により誘導可能なSEAPレポーターコンストラクトの安定な組み込みによって、ヒトTHP1単球細胞株由来のTHP1-ISG細胞(Invivogen, カタログ番号thp-i-sg)において評価される。THP1 Blue ISG細胞は、5つのインターフェロン(IFN)刺激応答配列と共に、ISG54ミニマルプロモーターの制御下で、分泌型胚性アルカリホスファターゼ(SEAP)レポーター遺伝子を発現する。結果として、THP1 Blue ISG細胞により、SEAP活性を測定してIFN活性化をモニタリングすることが可能になる。細胞培養上清中のIFN誘導性SEAPのレベルは、アルカリホスファターゼ検出培地、SEAP検出試薬によって容易に評価される。これらの細胞は、ゼオシン耐性である。このアッセイにおいて、陽性対照として2'3'cGAMPを使用した。アッセイを行うために、60,000個の細胞を、白色で底が不透明の組織培養処理された384ウェルプレートに30 uL/ウェルで分配した。

【0265】

試験化合物を10 uLの体積で添加した(最終濃度1%DMSO)。最初に化合物を100%DMSO中で調製し、中間希釈プレート上にスポットし、その後、移す前に培地で希釈した。アッセイを37°、5%CO₂で24時間インキュベートした後、プレートを1200 rpm(1200×g)で5分間遠心分離した。最後のインキュベートの後、90 uLのアルカリホスファターゼ検出培地を新しい384ウェル透明プレートの各ウェルに加え、Biomek FXを使用して、10 uLの細胞上清をアッセイプレートから新しいアルカリホスファターゼ検出培地プレートに移し、4回混合した。プレートを室温で20分間インキュベートした後、655 nmでの吸光度をTecan Safire 2で決定した。

【0266】

STINGマウス細胞レポーターアッセイ

マウスSTING経路のアゴニスト活性は、インターフェロン誘導性Luciaルシフェラーゼレポーターコンストラクトの安定な組み込みによって、マウスRAW-264.7マクロファージ細胞株由来のRAW Lucia細胞(Invivogen、カタログ番号rawl-isg)において評価される。RAW Lucia細胞は、5つのインターフェロン(IFN)刺激応答配列と共に、ISG54ミニマルプロモーターの制御下で、分泌型ルシフェラーゼレポーター遺伝子を発現する。結果として、RAW Lucia細胞により、ルシフェラーゼの活性を測定してIFN活性化をモニタリングすることができる。細胞培養上清中のIFN誘導性ルシフェラーゼのレベルは、ルシフェラーゼ検出試薬QUANTI-Luc(商標)を用いて容易に評価される。これらの細胞は、ゼオシン耐性である。このアッセイにおいて、陽性対照として2'3'cGAMPを使用する。アッセイを行うために、100,000個の細胞を、透明で底が平らな組織培養物処理された96ウェルプレートに90 uL/ウェルで分配した。試験化合物を10 uLの体積で

10

20

20

30

40

50

添加した。このアッセイを、37°C、5% CO₂で、24時間及び48時間インキュベートした。インキュベート後、アッセイプレートから20 μLの細胞上清を新しい96ウェル白色プレートに移し、50 μLのQUANTI-Luc基質を加えた。プレートをインキュベートし、室温で5分間振盪した後、0.1秒の積分時間で発光をEnVision 2104で読み取った。

【0267】

ヒトインターフェロン-α誘導アッセイ

THP1 Blue ISG細胞を使用して、STING経路活性化後の培養上清へのINF-αの分泌を測定する。アッセイを行うために、抗INF-α捕捉抗体を96ウェルMultiArrayプレート(Mesoscale Discovery)上にコーティングした。1時間のインキュベート後、プレートを洗浄し、このコーティングされたプレート内で、STINGヒト細胞レポーターアッセイプレート由来の50 μLの上清又はIFN-α標準を、Sulfortagを付加した20 μLの共役検出抗体と混合した。プレートをインキュベートし、2時間振盪し、洗浄し、読み取りバッファーを加えた。電気化学発光をSector Imagerで測定した。

【0268】

STING細胞シグナル伝達経路の評価

STING経路のアゴニスト活性は、ホスホ-STING(S366)、ホスホ-TBK1(S172)及びホスホ-IRF3(S396)のウェスタンプロットによって、THP1 BLUE ISG細胞において測定された。簡潔に述べると、90 μLのヌクレオフェクション(商標)バッファー中の5万個の細胞を、10 μLの試験化合物と混合した。これらの混合物を、Amaxa Nucleofector(Lonza)上でプログラムV-001を用いてエレクトロポレーションした。細胞を新鮮な培地を入れた12ウェルプレートに移し、37°C、5% CO₂で1時間回復させた。次いで、細胞を冷HBS-Sで洗浄し、RIPAバッファーに溶解させた。サンプルは、総タンパク質を正規化し、ProteinSimpleサンプルバッファー又はLDSローディングバッファーのいずれかで希釈した。サンプルを95°Cで5分間加熱変性した後、Peggy Sue(ProteinSimple)を使用してホスホ-及び総STING及びIRF3を測定し、一方、NuPAGE(Invitrogen)システムを使用してTBK1を測定した。データを、Compass又はLicor Odysseyソフトウェアを使用してそれぞれ分析した。

【0269】

STINGインビボ活性

全ての試験において、雌性Balb/cマウスはCharles River Labs(Wilmington, MA)から得て、6~8週齢になり、体重が約20gになったときに使用した。全ての動物を、実験での使用前に最低5日間、あらゆる輸送関連ストレスから順応及び回復させた。逆浸透処理し塩素を添加した水及び照射された食品(Laboratory Autoclavable Rodent Diet 5010, Lab Diet)を不断給餌で与え、動物を12時間の明暗サイクルに維持した。使用前にケージ及び床敷きをオートクレーブ処理し、毎週交換した。全ての実験は、The Guide for the Care and Use of Laboratory Animalsに従ってを行い、Institutional Animal Care and Use Committee of Janssen R&D(Spring House, PA)により承認された。各実験群には、8匹のマウスが含まれていた。500,000個のCT26結腸癌腫瘍細胞をBalb/cマウスに皮下移植し、腫瘍を100~300 mm³に成長させることによって、マウスCT26腫瘍モデルにおけるインビボ有効性を決定した。化合物を、リン酸緩衝生理食塩水中で、1回の注入当たり0.1 mLの体積で配合し、腫瘍内注射した。約3日おきに0.05 mg、合計3回用量をマウスに投与した。次式:(C-T)/(C)*100(全ての対照動物が試験下にある場合)により、対照腫瘍体積(C)に対する、治療した腫瘍体積(T)のサイズの減少によって計算される腫瘍

10

20

30

40

50

増殖阻害率（T G I）として、有効性を評価した。治癒は、最後の用量を投与した後に、10腫瘍体積倍加時間（T V D T）を測定可能な腫瘍が検出されなかつた動物の数であると定義された。

【0270】

得られたデータを表2に示す。

【0271】

【表4】

表2.

化合物番号	hSTING SPA IC50 (μM)*	ヒト細胞レポーター EC50 (μM)*	SPRヒト STING KD (μM)	ThermoFluor KD (μM)	ヒトIFN- β (ランク付け値)	インビボ活性 (%TGI)	インビボ活性 (治癒)
1	>100	>100	>100	>83. 33	ND	ND	ND
2	<0. 01	0. 064	0. 003	0. 020	2205	87. 1	2/8
3	>88. 25	>10	ND	>66. 67	ND	ND	ND
4	<0. 01	0. 09	0. 002	0. 001	2247	93. 7	6/8
5	<0. 01	0. 16	0. 008	0. 084	2737	93. 3	7/8
6	0. 023	0. 12	0. 017	0. 310	27	73. 9	1/8
7	0. 06	1. 12	0. 049	1. 270	2260	94. 3	5/8
8	0. 035	0. 11	0. 042	0. 510	2054	95. 3	4/8
9	<0. 01	0. 64	0. 000195	ND	2240	89. 8	ND
10	0. 012	0. 54	0. 00158	ND	1321		
11	<0. 01	0. 49			3840		
12	<0. 01	0. 22			3860		
13	<0. 01	0. 59			2900		
14	<0. 01	0. 45			4964		
15		1. 108					
17		2. 88					

ND - 実施せず。ヒトIFN- β のランク付け値は、THP-1細胞において試験した投与範囲(0.78~50 μM)にわたる全累積IFN- β 誘導によって決定されるランク付け値によって決定される。

* IC₅₀及びEC₅₀は、少なくとも3つの値の平均である。

【0272】

生物学的実施例2

STING初代ヒトPBMCサイトカイン誘導アッセイ

ヒト全血由来の初代ヒト末梢血単核球(PBMC)においてヒトSTING経路のアゴニスト活性を評価する。1パイント(約420mL)の新鮮なドナー血液(Al1Cel1s Inc. (Alameda, CA))を、リンパ球分離培地(1.077~1.080g/mL、Corning (Manassas, VA))上に層状に配置し、次いで、破壊することなく、室温、500gで20分間遠心分離する。血清とリンパ球分離培地との間の界面で集めたPBMCを採取し、洗浄し、次いで計測する。PBMCは、B細胞、T細胞などのリンパ球及び单球のサブタイプから構成され、文献において、これらのサブタイプは、異なるレベルのSTINGタンパク質を発現するとして特徴付けられている。2'3'-cGAMPなどのSTINGアゴニストに応答して、これらの細胞が活性化され、様々な炎症性及び抗ウイルス性サイトカインの発現が誘導される。また、STINGアゴニストで刺激すると、これらの細胞は、活性化マーカーを上方調節する。サイトカイン誘導レベルは、ELISA、Luminex及びMSDを含む様々な方法によって測定することができる。活性化マーカーの上方調節のレベルは、フローサイトメトリーによって測定することができる。

【0273】

アッセイを行うために、1,000,000個の細胞を、底が平らな組織培養処理された96ウェルプレートに225 μL /ウェルで分配した。試験化合物を、10倍濃度で、25 μL の体積で添加した。一部の化合物を100%DMSOに溶解し、これらの化合物

10

20

30

40

50

を投与する培養物におけるDMSOの最終濃度は1%とした。このアッセイを、37%、5%CO₂で48時間インキュベートした。プレートの底部の細胞を乱さないように200μLの上清を採取し、次いで、Luminex測定の時間まで-20℃で凍結させた。MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel-Immunology Multiplex Assay kitからのG-CSF、IFN-2、IFN、IL-1b、IL-6、IL-10、IL-12(p40)、IL-12(p70)、TNF、及びMILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel IVキット(EMD Millipore、ピレリカ、MA)からのIFN-1検体を用い、製造業者のプロトコルに従って、Luminexアッセイを行った。サイトカイン誘導は、Luminex FlexMAP 3D(登録商標)装置(Luminex Corporation(ラドノール、PA))を使用して測定した。収集されたLuminexデータの分析は、MILLIPLEX Analystソフトウェア(EMD Millipore)を使用して行った。

【0274】

STING活性化された初代ヒトPBMCからの馴化培地を使用したPHH細胞におけるHBVウイルスの抑制

初代ヒト肝細胞は、B型肝炎ウイルスに感染し得るものであり、感染中は、ELISAによって検出可能なHBsAg及びHBcAgなどのウイルスタンパク質を産生する。エンテカビルなどの化合物による治療処置は、HBV複製を抑制することができ、この抑制は、ウイルスタンパク質の産生の減少によって評価することができる。(細胞数)4×10⁵個/ウェルの初代ヒト肝細胞(BioReclamation、ウェストベリー、NY)を、500μL/ウェルの底が平らな組織培養処理された24ウェルプレートに分配した。24時間後、細胞を30~75moiのHBVに感染させた。翌日、PHHを3回洗浄し、新鮮な維持培地を細胞に添加した。同時に、ヒトPBMCを、上述のとおり単離した。PBMCを刺激するために、10,000,000個の細胞を、底が平らな組織培養物処理された24ウェルプレートに400μL/ウェルで分配した。試験化合物を体積100μLで添加した後、培養物を37%、5%CO₂で48時間インキュベートした。上清を回収した。フローサイトメトリーを使用して、活性化マーカーのアップレギュレーションについて細胞を測定した。簡潔に述べると、細胞を、CD56、CD19、CD3、CD8a、CD14、CD69、CD54、CD161、CD4及びCD80を対象とする蛍光標識抗体で染色した。Attune NxTフローサイトメーター(Thermo Fisher、カールスバッド、CA)でサンプルを分析した。

【0275】

刺激したPBMC培養物から、上述のとおり、Luminexによるサイトカイン検出のために上清の一部を確保した。残りの上清を半分に分割し、アッセイのd8で使用するために1つのアリコートを4℃で保存した。上清の他のアリコートを2XPHH培地で1:1に希釈した後、d4感染したPHH細胞に添加した。96時間後、使用済み培地を交換し、上清に、2XPHH培地を添加し1:1希釈した。この時点で、HBsAg ELISAキット(Wantai Biopharm、北京、中国)を使用してHBsAgの仮測定を行った。96時間後、培地を回収し、HBsAgを測定した。

【0276】

表3: CDN化合物で刺激したPBMC培養中のサイトカインの誘導倍率。誘導倍率は、約20μMの化合物で48時間後に誘導されたサイトカインの濃度を測定し、次いで、PBSで誘導された細胞のサイトカイン産生のベースラインレベルで割ることによって計算される。データは、3つの実験にわたる複数のドナーの平均である。n.t.=試験せず。

【0277】

10

20

30

40

50

【表 5】

表 3.

化合物番号	IL-6	IL-10	IFN- γ	IL-1b	IFN- α	TNF α	IL-12p40	IL-12p70	G-CSF	IFN- β
1	1. 1	2. 9	401. 3	0. 6	1. 3	26. 1	5. 2	0. 0	0. 1	0. 0
2	0. 3	1. 8	133. 2	0. 1	1. 4	5. 1	1. 4	nt	0. 0	nt
2	7. 1	42. 7	19. 1	11. 9	6. 3	11. 5	1. 4	25. 4	0. 8	13. 6
3	0. 6	2. 0	370. 4	0. 2	2. 6	10. 9	0. 5	nt	0. 0	nt
3	4. 8	39. 8	0. 7	3. 5	0. 2	0. 9	4. 0	1. 5	3. 6	0. 2
4	0. 0	0. 4	0. 1	0. 0	0. 1	0. 1	0. 7	nt	0. 0	nt
5	1. 4	2. 9	605. 1	0. 9	1. 4	50. 4	2. 1	nt	0. 1	nt
7	1. 0	6. 4	502. 1	0. 8	38. 0	29. 5	0. 5	420. 5	0. 0	62. 2
8	0. 6	1. 2	133. 7	0. 3	6. 5	12. 8	0. 5	nt	0. 0	nt
2' 3'-cGAMP	2. 5	5. 9	17. 4	1. 4	6. 8	5. 6	1. 0	5. 5	0. 4	16. 0
PBS	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0	1. 0
DMSO	0. 0	1. 2	0. 2	0. 0	0. 1	0. 1	0. 8	nt	0. 0	nt

【0278】

表4：より高濃度のCDN化合物で刺激したPBM C培養におけるサイトカインの誘導倍率。誘導倍率は、指定の濃度の化合物で48時間後に誘導されたサイトカインの濃度を測定し、次いで、PBSで誘導された細胞のサイトカイン産生のベースラインレベルで割ることによって計算される。データは、3つの実験にわたる複数のドナーの平均である。
nt = 試験せず。

【0279】

【表 6】

表4.

化合物番号	最高濃度 (μM)	IL-6	IL-10	IFN γ	IL-1 β	IFN α 2	TNF α	IL12p40	IL12p70	G-CSF	IFN β 1
1	111. 1	0. 7	0. 4	2. 0	1. 7	0. 9	3. 4	0. 7	35. 2	1. 1	nt
2	40	2523. 6	61. 0	3225. 5	544. 8	27. 0	643. 4	9. 6	252. 7	227. 0	18. 2
3	40	491. 4	21. 2	4. 0	102. 8	1. 4	7. 2	3. 1	3. 7	7. 4	0. 4
4	111. 1	0. 1	0. 0	1. 0	0. 1	0. 3	0. 6	0. 0	7. 0	0. 0	nt
5	111. 1	0. 2	0. 0	3. 1	2. 2	0. 5	4. 4	0. 1	34. 5	0. 3	nt
7	111. 1	321. 9	4. 1	2088. 8	113. 2	1033. 1	244. 6	0. 6	27. 7	2. 6	14. 1
8	111. 1	0. 4	0. 0	2. 1	0. 7	0. 6	1. 4	0. 0	39. 4	0. 1	nt
9	40	5084. 7	121. 4	4776. 7	5072. 5	106. 4	1003. 1	26. 6	640. 0	775. 6	22. 1
10	40	2791. 9	37. 7	3104. 9	342. 6	41. 1	555. 4	25. 5	274. 0	58. 4	20. 7
14	40	2209. 3	24. 1	4760. 1	288. 8	44. 7	811. 7	22. 9	574. 2	295. 5	18. 7
13	40	2536. 1	50. 0	6065. 9	445. 5	39. 5	881. 8	32. 0	686. 4	246. 2	16. 6
2' 3'-cGAMP	40	454. 0	12. 1	1919. 1	251. 2	27. 8	117. 1	1. 8	17. 1	14. 1	13. 5
DMSO		0. 5	0. 3	0. 4	0. 6	0. 5	0. 4	0. 5	0. 6	1. 2	nt

【0280】

表5 . CDNで刺激されたPBM Cからの馴化培地は、HBV感染したPHH細胞のウイルス負荷を抑制することができる。PBM Cを、記載のCDNを用いて20、4、0.8 μM で48時間刺激した。上澄み液を新鮮な培地と1:1の比率で混合した後、HBV感染したPHH細胞に添加した。HBsAg産生は、8日後に測定した。データは、2人の独立したドナーの平均である。

【0281】

【表 7】

表5 .

化合物番号	EC50 (μM)
2	8. 24E-04
3	88119. 3
7	8. 51E-05

【0282】

表6 . CDNはPBM Cを活性化する。PBM Cを20 μM のCDNで48時間刺激した。細胞を、単球上のCD54のアップレギュレーションについて、フローサイトメトリ

10

20

30

40

50

－によって評価した。平均蛍光強度の增加倍率は、休止細胞のレベルに対して計算した。データは、2人の独立したドナーの平均である。

【0283】

【表8】

表6.

化合物番号	MFI
2	5.0
3	2.0
7	5.1
2'3'-cGAMP	4.5
PBS	1.0

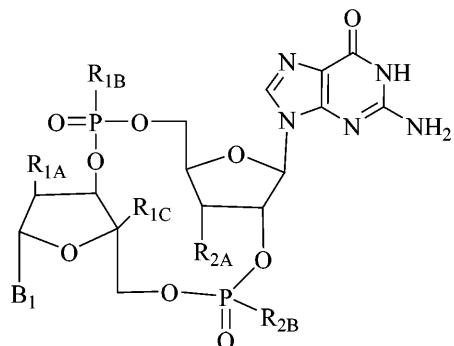
10

【0284】

上記の明細書は、説明を目的として与えられる実施例と共に本発明の原理を教示するものであるが、本発明の実施には、以下の特許請求の範囲及びその均等物の範囲内に含まれる全ての通常の変形例、適合例及び／又は改変例が包含される点が理解されるであろう。以下の態様が包含され得る。

[1] 式(I)の化合物：

【化44-1】



式(I)

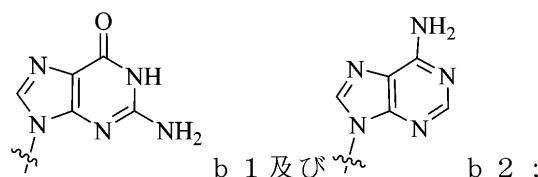
20

[式中、R_{1A}は、ヒドロキシ又はフルオロであり、R_{1C}は水素であり、又は、R_{1A}とR_{1C}が、これらが結合する原子と共に5員環を形成するように、R_{1A}は-O-であり、R_{1C}はCH₂であり；

R_{1B}は、ヒドロキシ、チオール及びBH₃-からなる群から選択され；

B₁は、環b₁及びb₂からなる群から選択され、

【化44-2】



40

R_{2A}は、ヒドロキシ及びメトキシからなる群から選択され；

R_{2B}は、ヒドロキシ、チオール及びBH₃-からなる群から選択され；

但し、式(I)の化合物は、

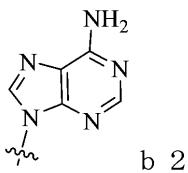
(1R, 6R, 8R, 9R, 10R, 15R, 17R, 18R) - 17 - (2 - アミノ - 6 - オキソ - 6, 9 - ジヒドロ - 1H - プリン - 9 - イル) - 8 - (6 - アミノ - 9H - プリン - 9 - イル) - 9 - フルオロ - 3, 12, 18 - トリヒドロキシ - 2, 4, 7, 11, 13, 16 - ヘキサオキサ - 3⁵, 12⁵ - ジホスファトリシクロ[13.2.1.0]^{6, 10}オクタデカン - 3, 12 - ジオン、ビスアンモニウム塩以外である]

50

又はそのエナンチオマー、ジアステレオマー、若しくは医薬的に許容可能な塩形態。

[2] B₁ が、

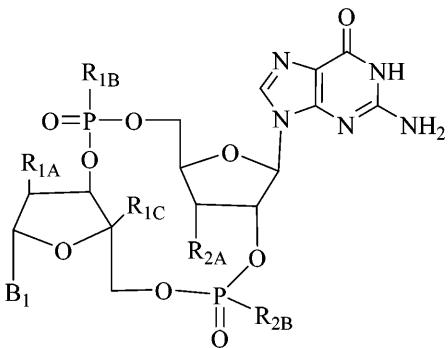
【化 4 4 - 3】



である、上記 [1] に記載の化合物。

[3] 式 (I) の化合物

【化 4 4 - 4】



式 (I)

であつて、以下

10

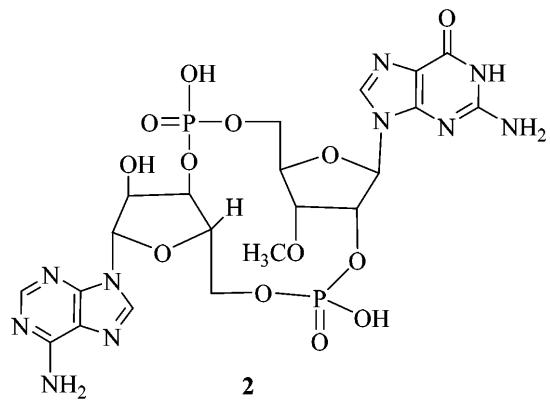
20

30

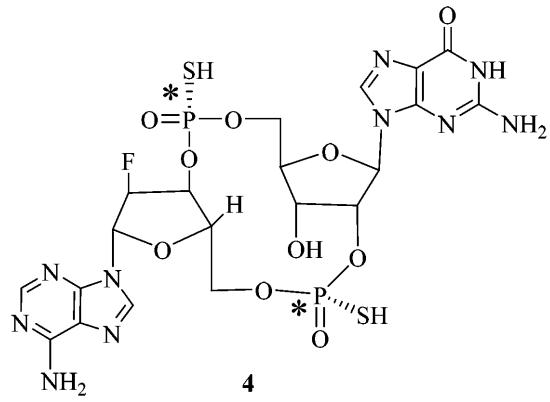
40

50

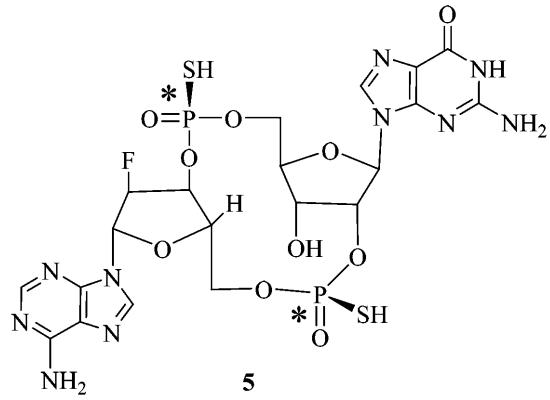
【化 4 4 - 5】



、



、

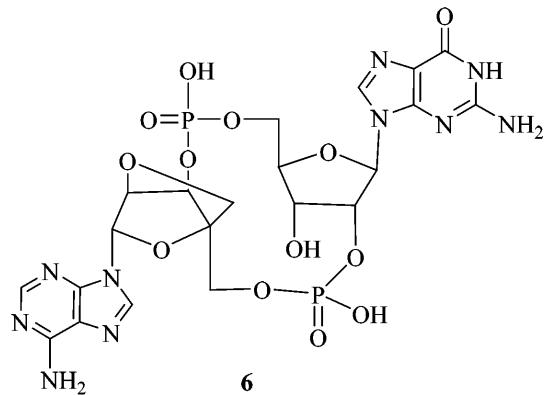


、

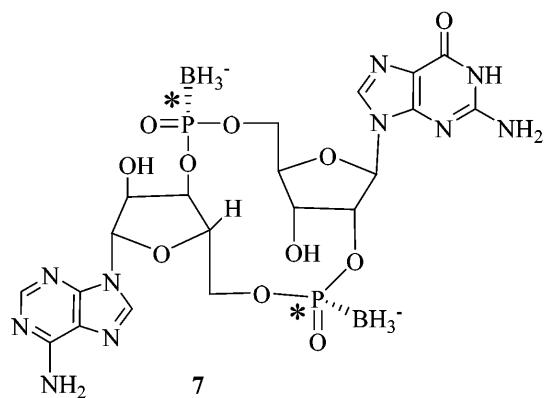
40

50

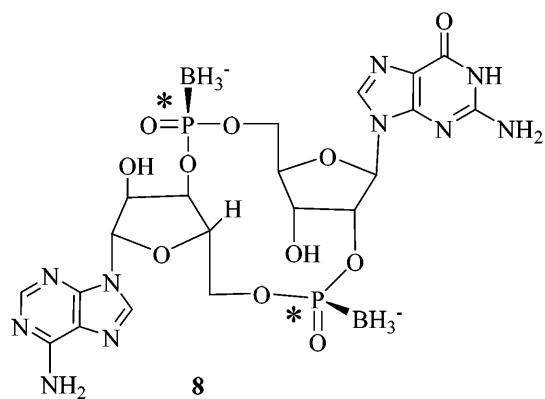
【化 4 4 - 6】



10



20

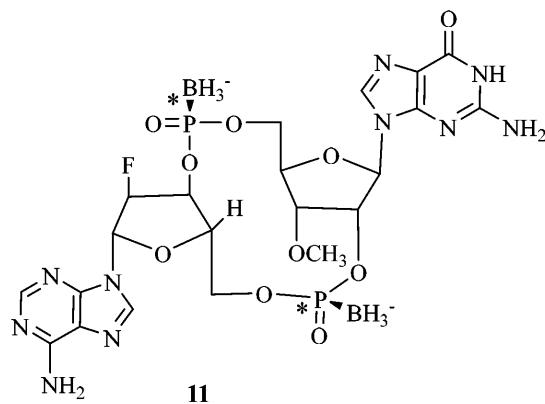
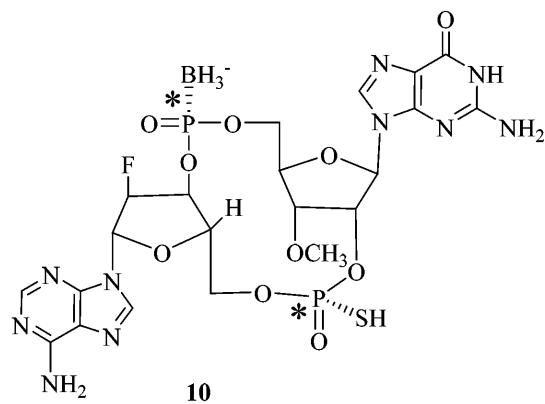
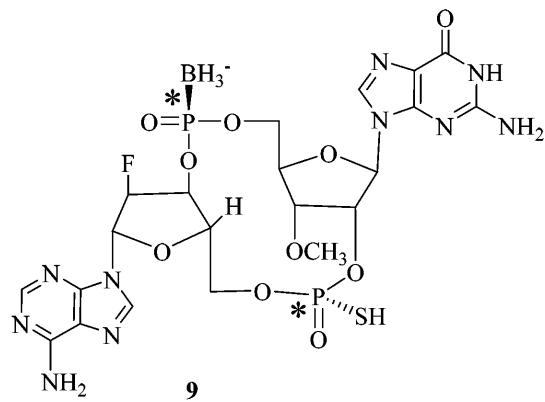


30

40

50

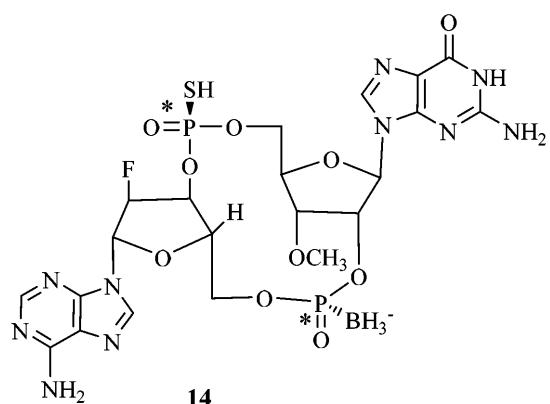
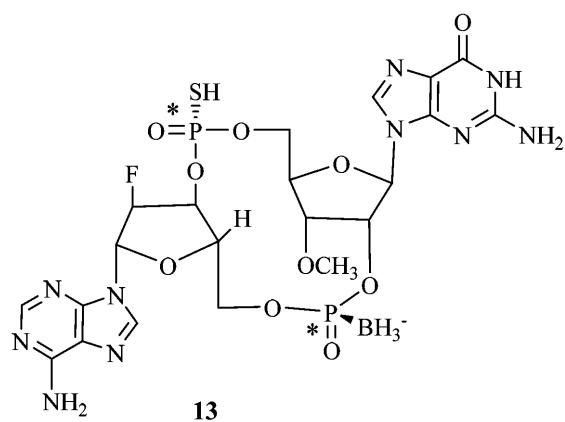
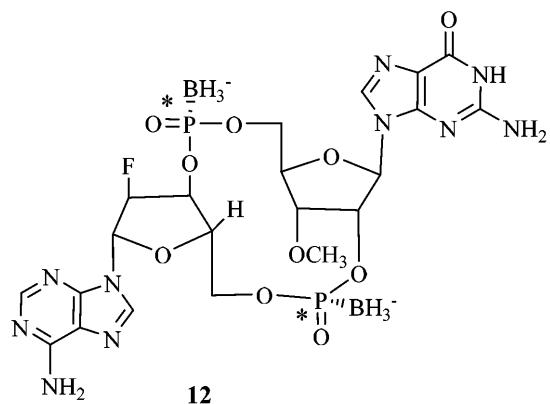
【化 4 4 - 7】



40

50

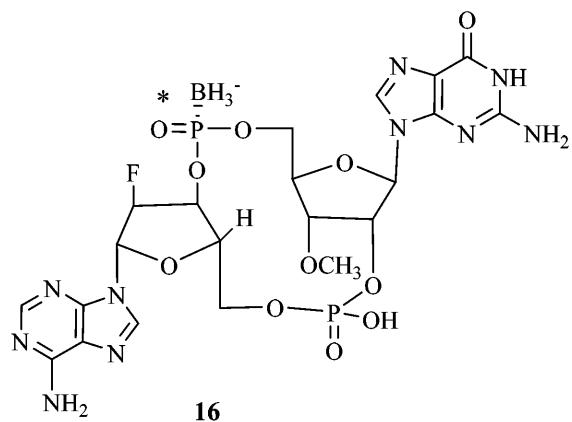
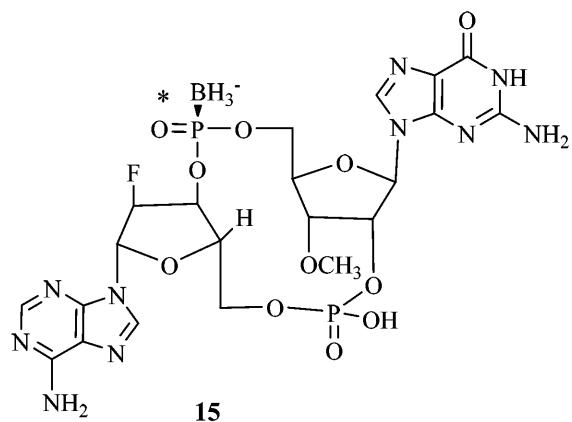
【化 4 4 - 8】



40

50

【化 4 4 - 9】

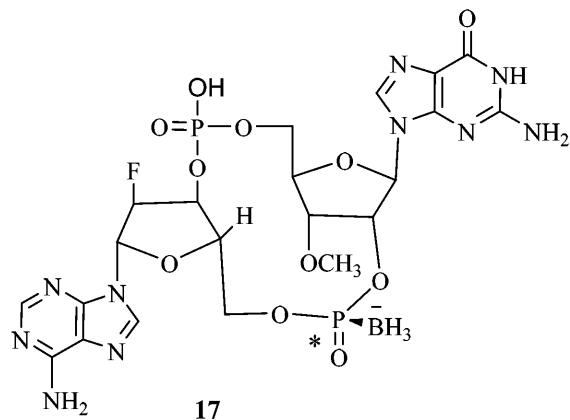


30

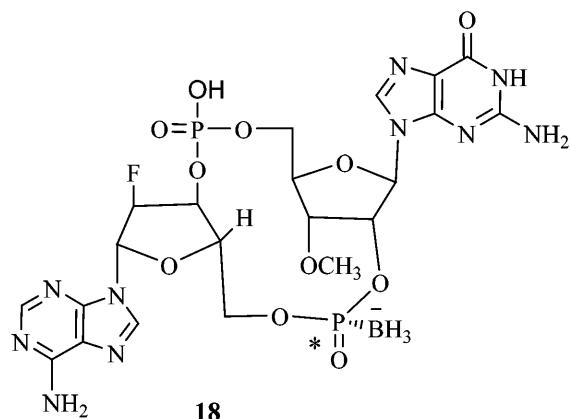
40

50

【化 4 4 - 1 0】



10



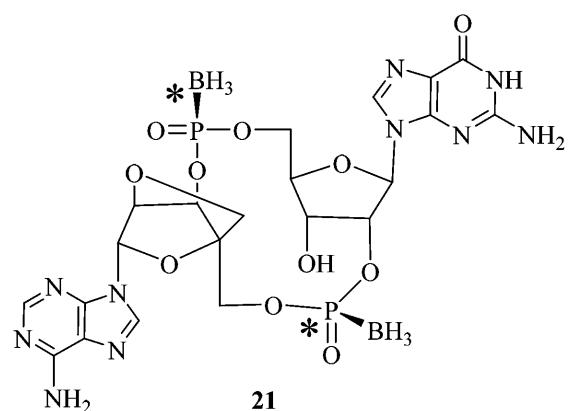
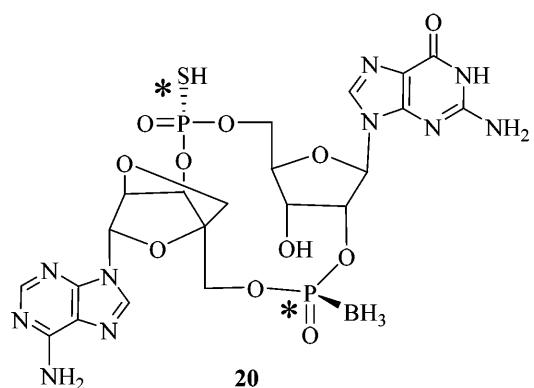
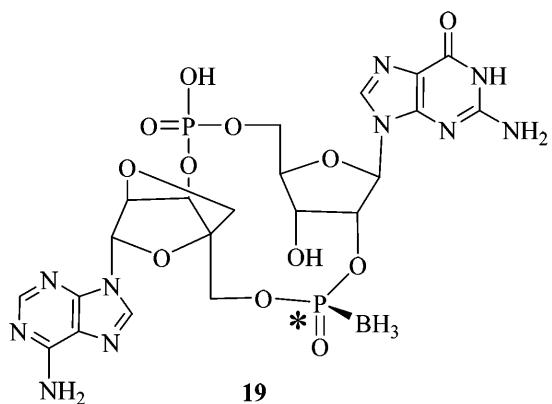
20

30

40

50

【化 4 4 - 1 1】



、

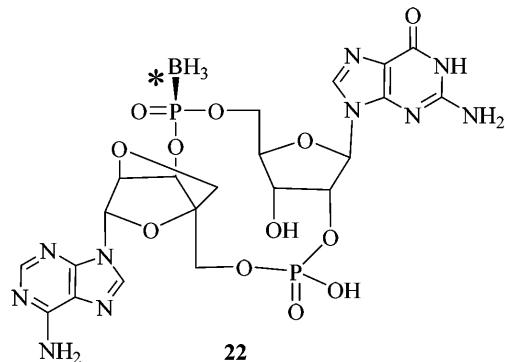
、

、

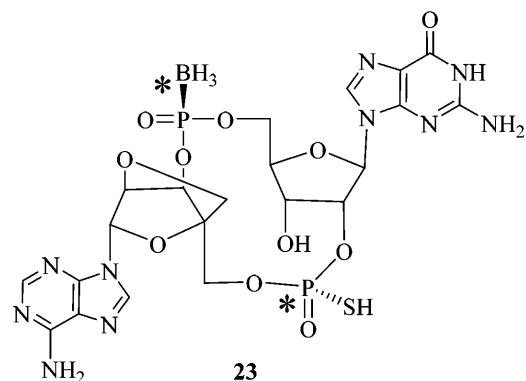
、

、

【化44-12】



及び



10

20

30

40

50

からなる群から選択される式(I)の化合物、又はその医薬的に許容される塩形態。

[4] 上記[1]～[3]のいずれか一項に記載の化合物と、医薬的に許容される担体、医薬的に許容される賦形剤及び医薬的に許容される希釈剤のうち少なくとも1つとを含む、医薬組成物。

[5] 前記組成物が、固体の経口投与形態である、上記[4]に記載の医薬組成物。

[6] 前記組成物が、シロップ剤、エリキシル剤又は懸濁剤である、上記[4]に記載の医薬組成物。

[7] 上記[3]に記載の化合物と、医薬的に許容される担体、医薬的に許容される賦形剤及び医薬的に許容される希釈剤のうち少なくとも1つとを含む、医薬組成物。

[8] STINGによって調節される疾患、症候群又は状態を治療する方法であって、当該治療を必要とする対象に治療有効量の上記[1]に記載の化合物を投与することを含む、方法。

[9] 疾患、症候群又は状態を治療する方法であって、前記疾患、症候群又は状態が、STINGのアゴニスト活性によって影響を受けるものであり、当該治療を必要とする対象に治療有効量の上記[1]に記載の化合物を投与することを含む、方法。

[10] 前記疾患、症候群又は状態が、癌である、上記[9]に記載の方法。

[11] 前記癌が、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌及び線維肉腫からなる群から選択される、上記[10]に記載の方法。

[12] 前記疾患、症候群又は状態が、ウイルス感染である、上記[9]に記載の方法。

[13] 前記ウイルス感染が、B型肝炎である、上記[11]に記載の方法。

[14] ウイルス感染、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌及び線維肉腫からなる群から選択される疾患、症候群又は状態を治療する方法であって、該治療を必要とする対象に、治療有効量の上記[4]に記載の組成物を投与することを含む、方法。

[15] ウイルス感染、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌及び線維肉腫からなる群から選択される疾患、症候群又は状態の治療を必要とする対象において前記疾患、症候

群又は状態を治療するための医薬を調製するための、上記〔1〕に記載の化合物の使用。

〔16〕ウイルス感染、黒色腫、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肺癌及び線維肉腫からなる

群から選択される疾患、症候群又は状態の治療を必要とする対象において前記疾患、症候

群又は状態を治療する方法において使用するための、上記〔1〕に記載の化合物の使用。

〔17〕前記ウイルス感染が、B型肝炎である、上記〔13〕～〔15〕のいずれか一項に記載の方法。

〔18〕上記〔3〕に記載の化合物の投与を必要とする対象に、治療有効量の上記〔3〕に記載の化合物を投与することを含む、上記〔17〕に記載の方法。

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	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00
A 6 1 K	9/14	(2006.01)	A 6 1 K	9/14
A 6 1 K	9/10	(2006.01)	A 6 1 K	9/10
A 6 1 K	9/08	(2006.01)	A 6 1 K	9/08

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/555,232

(32)優先日 平成29年9月7日(2017.9.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁理士 星川 亮

(74)代理人 100104282

弁理士 鈴木 康仁

(72)発明者 ビグナン , ギルス シー .

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 19477 , スプリング ハウス , ウェルシュ アンド マッキーン ローズ 1400 , ヤンセン アールアンドディー , エルエルシー

(72)発明者 コノリー , ピーター

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 19477 , スプリング ハウス , ウェルシュ アンド マッキーン ローズ 1400 , ヤンセン アールアンドディー , エルエルシー

(72)発明者 エドワーズ , ジェームス パトリック

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 19477 , スプリング ハウス , ウェルシュ アンド マッキーン ローズ 1400 , ヤンセン アールアンドディー , エルエルシー

(72)発明者 エマニュエル , スチュアート

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 19477 , スプリング ハウス , ウェルシュ アンド マッキーン ローズ 1400 , ヤンセン アールアンドディー , エルエルシー

(72)発明者 ラケール , シルヴィー

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 19477 , スプリング ハウス , ウェルシュ アンド マッキーン ローズ 1400 , ヤンセン アールアンドディー , エルエルシー

(72)発明者 ルー , ティエンバオ

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 19477 , スプリング ハウス , マッキーン ロード 1400

(72)発明者 リヒター , マーク

アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 19477 , スプリング ハウス ウェルシュ アンド マッキーン ローズ 1400 ヤンセン アールアンドディー , エルエルシー

(72)発明者 ベイゲルマン , レオニード

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94080 , サウス サン フランシスコ , イースト グランド アベニュー 260 , セカンド フロア

(72)発明者 タティコンダ , サンソッシュ クマール

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94080 , サウス サン フランシスコ , イー . グランド アベニュー 260 , ナンバー2 , アリオス バイオファーマ インク .

(72)発明者 ワン , グアンイ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94080 , サウス サン フランシスコ , イースト グランド アベニュー 260 , セカンド フロア

(72)発明者 ゾン , ミンホン

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94080 , サウス サン フランシスコ , イースト グランド アベニュー 260 , セカンド フロア

審査官 田ノ上 拓自

(56)参考文献 国際公開第2017/161349 (WO , A 1)

国際公開第2016/100261 (WO , A 2)

特表2016-520085(JP,A)

国際公開第2016/120305(WO,A1)

特表2016-524593(JP,A)

米国特許出願公開第2014/0341976(US,A1)

国際公開第2014/189805(WO,A1)

Nat. Chem. Biol., 2014年, Vol.10, No.12, p.1043-1048

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2015年, Vol.59, No.2, p.1273-1281

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 07 H 19 / 213

A 61 K 31 / 7084

A 61 P 35 / 00

A 61 P 31 / 12

A 61 P 31 / 20

A 61 P 43 / 00

A 61 K 9 / 14

A 61 K 9 / 10

A 61 K 9 / 08

C A P L U S / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)