

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7337909号
(P7337909)

(45)発行日 令和5年9月4日(2023.9.4)

(24)登録日 令和5年8月25日(2023.8.25)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 D 487/04 (2006.01)

C 0 7 D 487/04 1 4 1

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

C 0 7 D 487/04 C S P

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 47/60 (2017.01)

A 6 1 P 43/00 1 2 1

A 6 1 K 39/395(2006.01)

A 6 1 K 47/60

請求項の数 13 (全65頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-505870(P2021-505870)

(86)(22)出願日 令和1年8月1日(2019.8.1)

(65)公表番号 特表2021-533135(P2021-533135
A)

(43)公表日 令和3年12月2日(2021.12.2)

(86)国際出願番号 PCT/US2019/044578

(87)国際公開番号 WO2020/028610

(87)国際公開日 令和2年2月6日(2020.2.6)

審査請求日 令和4年7月28日(2022.7.28)

(31)優先権主張番号 62/714,238

(32)優先日 平成30年8月3日(2018.8.3)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者 391015708

ブリistol-マイヤーズ スクイブ カン
パニーBRISTOL-MYERS SQUI
BB COMPANYアメリカ合衆国08543ニュージャ
ージー州 プリンストン、ルート206ア
ンド・プロビンス・ライン・ロード

(74)代理人 100145403

弁理士 山尾 憲人

(74)代理人 100126778

弁理士 品川 永敏

(74)代理人 100162695

弁理士 釜平 双美

(74)代理人 100156155

最終頁に続く

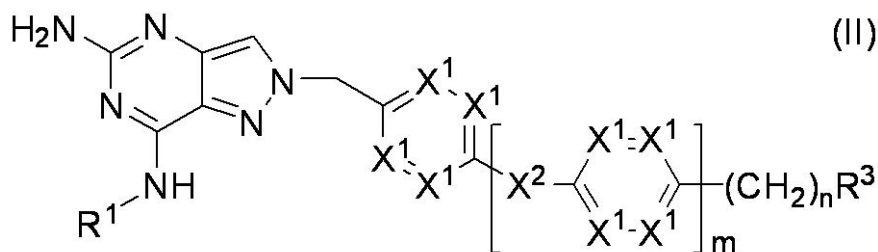
(54)【発明の名称】 トル様受容体7 (TLR7) アゴニストとしての2H-ピラゾロ [4, 3-d] ピリミジン化合物ならびにその方法および使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

式 (II)

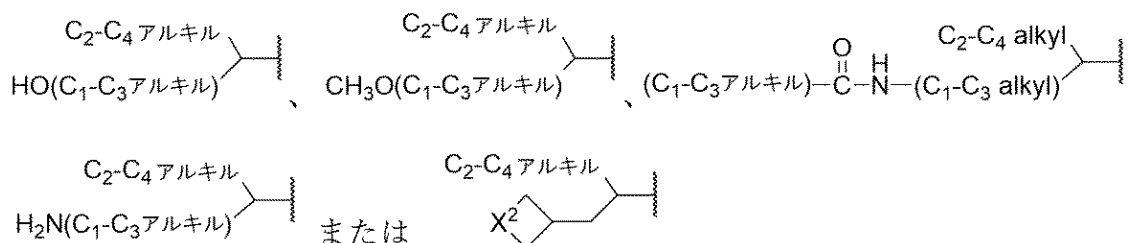
【化1】



[式中、

各 X^1 は、独立して、N または CR^2 であり； X^2 は、O、 CH_2 、NH、S または $N(C_1-C_3 \text{ アルキル})$ であり； R^1 は、H、 $CH_3(CH_2)_{1-3}$ 、 $CH_3(CH_2)_{0-1}O(CH_2)_{2-3}$ 、 $CH_3(CH_2)_{0-3}C(=O)$ 、 $CH_3(CH_2)_{0-1}O(CH_2)_{2-3}C(=O)$ 、

【化 2】

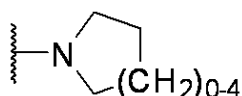


であり；

R^2 は、H、O(C₁-C₃アルキル)、C₁-C₃アルキル、Cl、F または CN であり；

R^3 は、H、ハロ、OH、CN、NH₂、NH(C₁-C₅アルキル)、N(C₁-C₅アルキル)₂、NH(CH₂)₀₋₁(C₃-C₆シクロアルキル)、NH(C₄-C₈ビスシクロアルキル)、NH(C₆-C₁₀スピロシクロアルキル)、N(C₃-C₆シクロアルキル)₂、NH(CH₂)₁₋₃(アリール)、N((CH₂)₁₋₃(アリール))₂、構造：

【化 3】



を有する環状アミン基、6員環の芳香族基またはヘテロ芳香族基または5員環のヘテロ芳香族基であって；

ここで、アルキル、シクロアルキル、ビスシクロアルキル、スピロシクロアルキル、環状アミン、6員環の芳香族基またはヘテロ芳香族基あるいは5員環のヘテロ芳香族基は、所望により、OH、ハロ、CN、(C₁-C₃アルキル)、O(C₁-C₃アルキル)、C(=O)(Me)、SO₂(C₁-C₃アルキル)、C(=O)(Et)、NH₂、NH(Me)、N(Me)₂、NH(Et)、N(Et)₂ および N(C₁-C₃アルキル)、(CH₂)₁₋₂OH、(CH₂)₁₋₂OMe から選択される1以上の置換基で置換されていてもよく；および

シクロアルキル、ビスシクロアルキル、スピロシクロアルキルまたは環状アミン基は、O、S、SO₂、NH、C(=O)、N(C₁-C₃アルキル)、NC(=O)(C₁-C₃アルキル)またはN(Boc)により置換されたCH₂基を有していてもよい；

m は、0 または 1 であり；および

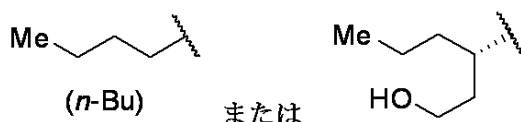
n は、1、2 または 3 である]

の構造を有する、化合物。

【請求項 2】

R^1 が、

【化 4】



である、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 3】

基：

10

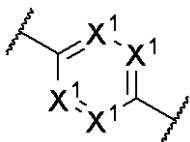
20

30

40

50

【化 5】

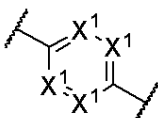


において、各 X^1 が CR^2 であるか、または 2 以下の X^1 が N である、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 4】

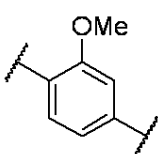
基：

【化 6】



が、

【化 7】



である、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 5】

 R^3 が、C、H、

10

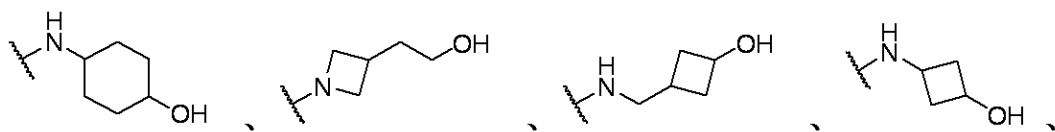
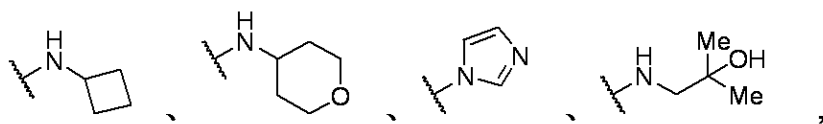
20

30

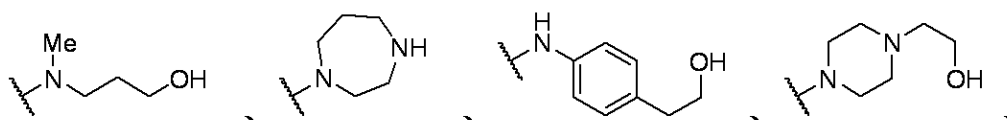
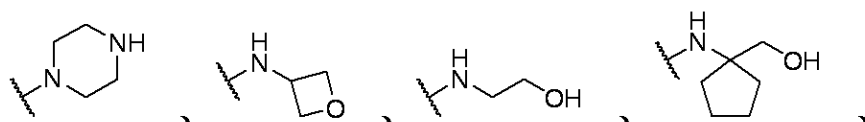
40

50

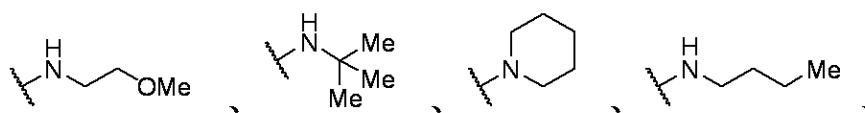
【化 8】



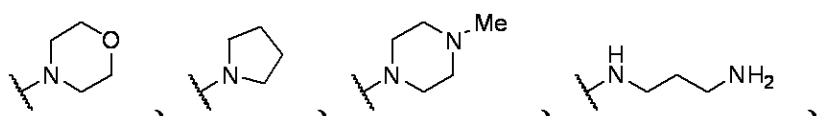
10



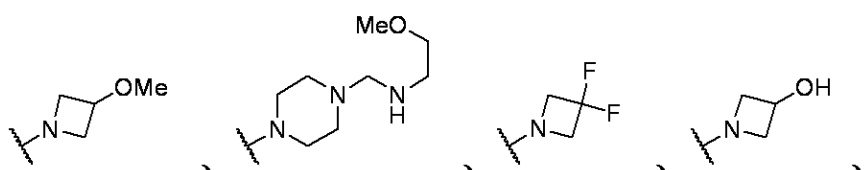
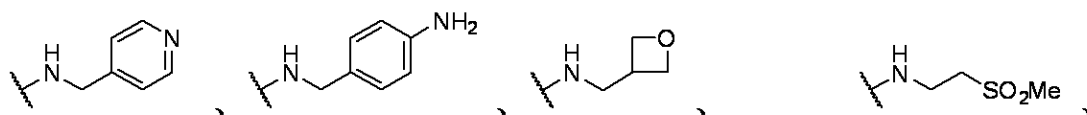
20



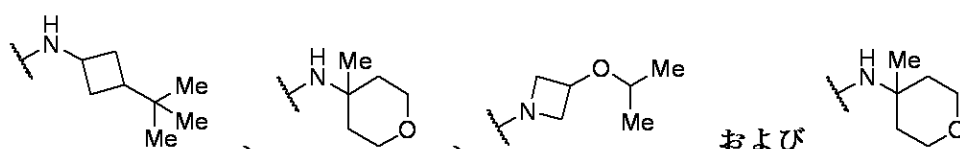
【化 9】



30



40



および

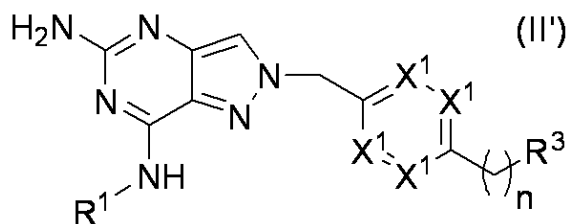
50

からなる群から選択される、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 6】

式 (II') :

【化 10】



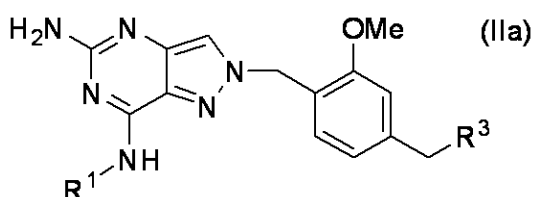
10

の構造を有する、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 7】

式 II a :

【化 11】



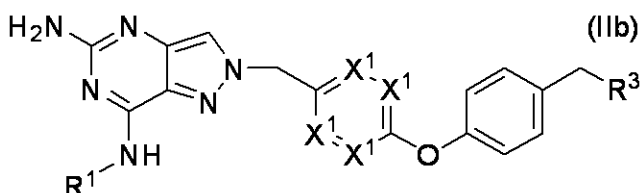
20

の構造を有する、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 8】

式 II b :

【化 12】



30

の構造を有する、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 9】

2 k D a ~ 4 0 k D a の大きさであるポリ(エチレングリコール)基に共有結合されている、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 10】

がんを治療するための、抗がん免疫療法剤および請求項 1 記載の化合物を含む、医薬組成物。

【請求項 11】

抗がん免疫療法剤が、アンタゴニスト性の抗 C T L A - 4、抗 P D - 1 または抗 P D - L 1 抗体である、請求項 10 記載の医薬組成物。

40

【請求項 12】

抗がん免疫療法剤が、イピリムマブ、ニボルマブまたはペムブロリズマブである、請求項 10 記載の医薬組成物。

【請求項 13】

がんが、肺がん(非小細胞肺がんを含む)、膵臓がん、腎臓がん、頭頸部がん、リンパ腫(ホジキンリンパ腫を含む)、皮膚がん(メラノーマおよびメルケル皮膚がんを含む)、尿路上皮がん(膀胱がんを含む)、胃がん、肝細胞がんまたは大腸がんである、請求項 10 ~ 12 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本願は、35 U.S.C. § 119(e)のもとに米国仮出願第62/714,238号(2018年8月3日出願)の優先権を主張し、その内容は引用により本明細書に援用される。

【背景技術】

【0002】

本開示は、トル様受容体7(「TLR7」)アゴニストおよびそのコンジュゲート、ならびに前記アゴニストおよびそれらのコンジュゲートの製造および使用のための方法に関する。

【0003】

トル様受容体(「TLR」)は、病原体の特定の分類に保存された低分子モチーフである病原体関連分子パターン(「PAMP」)を認識する受容体である。TLRは、細胞表面上または細胞内部に存在することができる。TLRがその同族PAMPと結合して活性化されると、関連する病原体が宿主体内に存在すること(即ち、感染)をシグナル伝達し、宿主免疫系を刺激して感染に対抗する。ヒトには、TLR1、TLR2、TLR3などと命名された10種類のTLRが存在する。

【0004】

アゴニストによるTLRの活性化(最も研究されているのはTLR7の活性化)は、免疫反応全体を刺激することで、実際の病原体感染以外の様々な症状を治療する際に、ワクチンや免疫療法剤の作用に対して良好な効果を提供する。そのため、TLR7アゴニストを、ワクチンのアジュバントとして、あるいはがん免疫療法のエンハンサーとして使用することに大きな期待が寄せられている。例えば、Vasilakos and Tomai 2013, Sato-Kaneko et al. 2017, Smits et al. 2008およびOta et al. 2019を参照されたい。

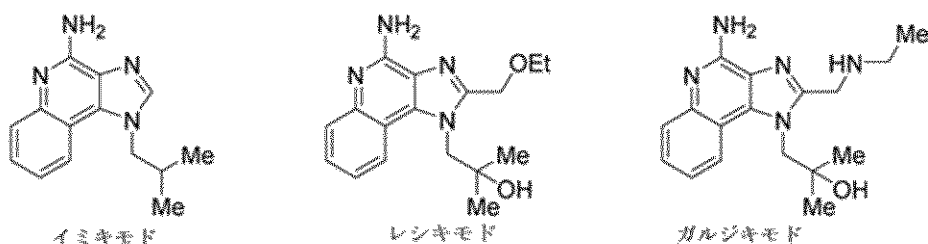
【0005】

エンドソームの膜上に存在する細胞内受容体であるTLR7は、一本鎖RNAウイルスに関連するPAMPを認識する。その活性化により、IFN α およびIFN β などのI型インターフェロンの分泌が誘導される(Lund et al., 2004)。TLR7は、一本鎖RNAリガンドに対する結合部位(Berghoefer et al., 2007)とグアノシンなどの低分子に対する結合部位(Zhang et al., 2016)の2つの結合部位を有する。

【0006】

TLR7は、1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン骨格をベースとするイミキモド、レシキモドおよびガルジキモドなどのグアノシン様合成アゴニストに結合して、活性化され得る。低分子TLR7アゴニストのレビューとしては、Cortez and Va 2018を参照されたい。

【化1】



【0007】

ベサトリモドに例示されるようなプテリジノン分子骨格に基づいて合成された合成TLR7アゴニストも、知られている(Desai et al. 2015)。

10

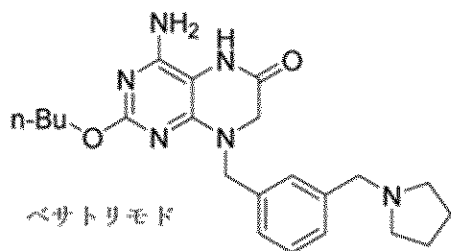
20

30

40

50

【化 2】

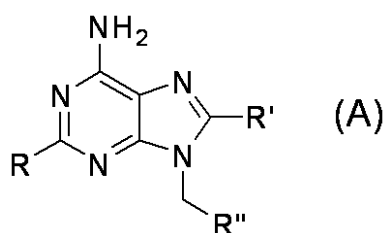


10

【0008】

プリン様分子骨格をベースとしたその他の合成 TLR7 アゴニストが、開示されており、多くの場合、一般式 (A) :

【化 3】



20

(式中、R、R'およびR''は、構造変数であり、R''は、通常、非置換または置換の芳香族または芳香族ヘテロ環を含んでいる) に関する。

【0009】

プリン様骨格を有する生物活性分子、ならびに線維症、炎症性障害、がんまたは病原性感染症などの症状を治療する際のそれらの使用に関する文献については、以下のものが挙げられる：Akinbobuyi et al. 2015 and 2016; Barberis et al. 2012; Carson et al. 2014; Ding et al. 2016, 2017a, and 2017b; Graupe et al. 2015; Hashimoto et al. 2009; He et al. 2019a and 2019b; Holldack et al. 2012; Isobe et al. 2009a and 2012; Poudel et al. 2019a and 2019b; Pryde 2010; および Young et al. 2019。

30

【0010】

基 R'' は、ピリジルであり得る：Bonfanti et al. 2015a and 2015b; Halcomb et al. 2015; Hirota et al. 2000; Isobe et al. 2002, 2004, 2006, 2009a, 2009b, 2011, and 2012; Kasibhatla et al. 2007; Koga-Yamakawa et al. 2013; Musmuca et al. 2009; Nakamura 2012; Ogita et al. 2007; および Yu et al. 2013。

【0011】

式 (A) の 6,5 縮合環系 (ピリミジン 6 員環がイミダゾール 5 員環に縮合したもの) が修飾された関連分子に関する文献がある。(a) Dellaria et al. 2007, Jones et al. 2010 and 2012, および Pilatte et al. 2017 には、ピリミジン環がピリジン環に置換されている化合物が開示されている。(b) Chen et al. 2011, Coe et al. 2017 および Zhang et al. 2018 には、イミダゾール環がピラゾール環に置換された化合物が開示されている。(c) Cortez et al. 2017 and 2018; Li et al. 2018; および McGowan et al. 2016a, 2016b, and 2017 には、イミダゾール環がピロール環で置換された化合物が開示されている。

40

【0012】

Bonfanti ら (2015b and 2016) および Purandare ら (2019) は、プリン基部分の 2 つの環に跨って、一つのマクロ環を形成する TLR7 モジュレーターを開示している。

【0013】

TLR7 アゴニストは、パートナー分子とコンジュゲートすることができ、このパート

50

ナー分子とは、例えば、リン脂質、ポリ(エチレングリコール) (「PEG」)、抗体、または別のTLR (一般的には、TLR2) であることが可能である。文献の例には、以下のものが挙げられる: Carson et al. 2013, 2015, and 2016, Chan et al. 2009 and 2011, Cortez et al. 2017, Gadd et al. 2015, Lioux et al. 2016, Maj et al. 2015, Vernejoul et al. 2014 および Zurawski et al. 2012。頻度が高いコンジュゲート部位は、式(A)のR''基である。

【0014】

Jensenら(2015)は、TLR7アゴニストを送達するためのカチオン性脂質ビヒクルの使用を開示している。

【0015】

レシキモドを含むいくつかのTLR7アゴニストは、デュアルTLR7/TLR8アゴニストである。例えば、Beesuら(2017)、Embrechtsら(2018)、Liouxら(2016)および Vernejoulら(2014)を参照されたい。

【0016】

本明細書の引用文献に対する筆頭著者または発明者および発行年による完全な引用は、本明細書の最後に記載している。

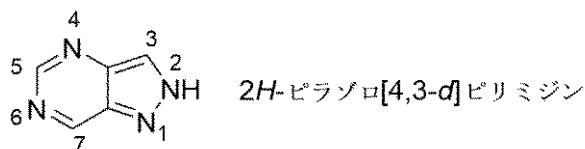
【発明の概要】

【0017】

(本発明の簡単な説明)

本明細書は、TLR7アゴニストとしての活性を示す2H-ピラゾロ[4,3-d]ピリミジン芳香族系を有する化合物に関する。

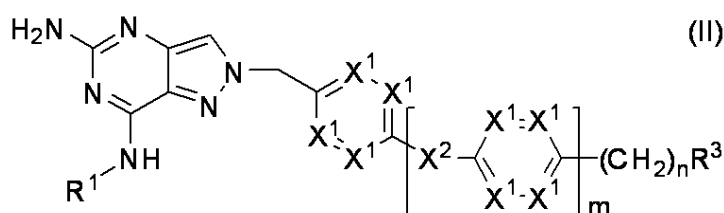
【化4】



【0018】

一態様において、式II:

【化5】



[式中、

各X¹は、独立して、NまたはCR²であり；

X²は、O、CH₂、NH、SまたはN(C₁-C₃アルキル)であり；

R¹は、H、CH₃(CH₂)₁₋₃、CH₃(CH₂)₀₋₁O(CH₂)₂₋₃、CH₃(CH₂)₀₋₃C(=O)、CH₃(CH₂)₀₋₁O(CH₂)₂₋₃C(=O)、

10

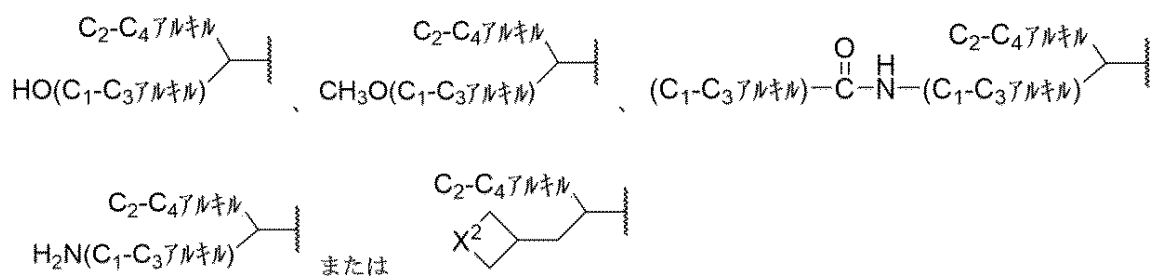
20

30

40

50

【化 6】



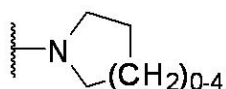
10

であり；

R^2 は、H、O(C₁ - C₃ アルキル)、C₁ - C₃ アルキル、Cl、F または CN であり；

R^3 は、H、ハロ、OH、CN、NH₂、NH(C₁ - C₅ アルキル)、N(C₁ - C₅ アルキル)₂、NH(CH₂)₀₋₁(C₃ - C₆ シクロアルキル)、NH(C₄ - C₈ ビシクロアルキル)、NH(C₆ - C₁₀ スピロシクロアルキル)、N(C₃ - C₆ シクロアルキル)₂、NH(CH₂)₁₋₃(アリール)、N((CH₂)₁₋₃(アリール))₂、構造：

【化 7】



20

を有する環状アミン基、6 員環の芳香族基またはヘテロ芳香族基、あるいは 5 員環のヘテロ芳香族基であり；

ここで、アルキル、シクロアルキル、ビシクロアルキル、スピロシクロアルキル、環状アミン、6 員環の芳香族基またはヘテロ芳香族基、あるいは 5 員環のヘテロ芳香族基は、所望により、OH、ハロ、CN、(C₁ - C₃ アルキル)、O(C₁ - C₃ アルキル)、C(=O)(Me)、SO₂(C₁ - C₃ アルキル)、C(=O)(Et)、NH₂、NH(Me)、N(Me)₂、NH(Et)、N(Et)₂ および N(C₁ - C₃ アルキル)、(CH₂)₁₋₂OH、(CH₂)₁₋₂OMe から選択される 1 以上の置換基で置換されていてもよく；および

30

シクロアルキル、ビシクロアルキル、スピロシクロアルキルまたは環状アミン基は、O、S、SO₂、NH、C(=O)、N(C₁ - C₃ アルキル)、NC(=O)(C₁ - C₃ アルキル)またはN(Boc)により置換されたCH₂基を有していてもよい；

m は 0 または 1 であり；および

n は 1、2 または 3 である]

の構造を有する化合物が提供される。

【0019】

本明細書に開示されている化合物は、TLR7 アゴニストとしての活性を有しており、いくつかの化合物は、目的とする作用に関する標的組織または器官への標的化送達のために、抗体とコンジュゲートさせることができる。また、これらの化合物を、PEG 化することにより、その医薬特性を調節することができる。

40

【0020】

本明細書に開示されている化合物、そのコンジュゲートまたはそのPEG化誘導体は、免疫系の活性化により治療可能な症状を有する対象に、治療上有効な量の化合物、そのコンジュゲートまたはそのPEG化誘導体を、特に、ワクチンまたはがん免疫療法剤と組み合わせ投与することによって治療することが可能である。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図 1】 図 1 は、本願化合物を製造するための反応スキームを示す。

【図 2】 図 2 A および 2 B は、本願化合物を製造するための反応スキームを示す。

50

【図 3】図 3 は、本願化合物を製造するための反応スキームを示す。

【図 4】図 4 A および 4 B は、本願化合物を製造するための反応スキームを示す。

【図 5】図 5 は、本願化合物にリンカーを結合させて、コンジュゲーションを好適化するためのスキームを示す。

【図 6】図 6 は、本願化合物にリンカーを結合させて、コンジュゲーションを好適化するためのスキームを示す。

【発明の詳細な説明】

【0022】

(定義)

「抗体」は、抗体全体およびあらゆる抗原結合フラグメント(即ち、「抗原結合部分」)またはその単鎖変異体を意味する。抗体全体または完全長抗体は、ジスルフィド結合により相互に連結された少なくとも2つの重鎖(H)および2つの軽鎖(L)を含むタンパク質である。各重鎖は、重鎖可変領域(V_H)ならびに3つのドメイン C_{H1} 、 C_{H2} および C_{H3} を含む重鎖定常領域を含んでいる。各軽鎖は、軽鎖可変領域(V_L または V_K)および1つのシングルドメイン C_L を含む軽鎖定常領域を含む。 V_H および V_L 領域は、高度に保存されたフレームワーク領域(FR)と共に点在する超可変領域、いわゆる相補性決定領域(CDR)内で更に細分され得る。各々 V_H および V_L は、3つのCDRおよび4つのFRを含み、アミノ末端からカルボキシ末端へと次の順番で配置されている: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3およびFR4。可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。定常領域は、宿主の組織または因子[例えば、エフェクター細胞などの免疫系の様々な細胞および古典的補体系の第一成分($C1q$)]への抗体の結合を媒介し得る。抗体が、 $5 \times 10^{-8} M$ 以下の K_D 、より好ましくは $1 \times 10^{-8} M$ 以下の K_D 、より好ましくは $6 \times 10^{-9} M$ 以下の K_D 、より好ましくは $3 \times 10^{-9} M$ 以下の K_D 、更により好ましくは $2 \times 10^{-9} M$ 以下の K_D にて抗原Xに結合するならば、該抗体は、抗原Xに「特異的に結合する」といえる。抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体または好ましくはヒト抗体であり得る。重鎖定常領域を、グリコシル化の型またはその程度に影響を及ぼすように遺伝子設計して、抗体の半減期を延長させること、エフェクター細胞または補体系との相互作用を増強または低下させること、または別の性質を調節することができる。遺伝子設計は、1以上のアミノ酸の置換、付加または削除によるか、あるドメインを別のイムノグロブリン型由来のドメインに置き換えるか、または前記組合せにより達成され得る。

【0023】

抗体の「抗原結合フラグメント」および「抗原結合部分」(または、単純に「抗体部分」または「抗体フラグメント」)とは、抗原に特異的に結合する能力を保持する1以上の抗体フラグメントを意味する。抗体の抗原-結合機能は、完全長抗体のフラグメント、例えば(i) Fab フラグメント、即ち V_L 、 V_H 、 C_L および C_{H1} ドメインからなる一価フラグメント;(ii) $F(a b')$ フラグメント、即ちヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結された2つのFab フラグメントを含む二価フラグメント;(iii) 主にヒンジ領域の部分を有するFabである $F(a b')$ フラグメント(例えば、Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 6th Ed., Saunders Elsevier 2007を参照されたい);(iv) V_H および C_{H1} ドメインから成るFd フラグメント;(v) 抗体の1つのアームの V_L および V_H ドメインから成るFv フラグメント;(vi) V_H ドメインから成るdAb フラグメント(Ward et al., (1989) Nature 341:544-546);(vii) 単離された相補性決定領域領域(CDR);および(viii) ナノボディ、すなわち1つの可変ドメインおよび2つの定常ドメインを含有する重鎖可変領域、により発揮されることが示されている。好ましい抗原結合フラグメントは、Fab、 $F(a b')$ 、Fab'、FvおよびFd フラグメントである。さらに、Fv フラグメントの2つのドメインである V_L および V_H は、別の遺伝子にコードされているが、それらを、組み換え手法を用いて合成リンカーにより連結させて、 V_L および V_H 領域が対になり一価の分子を形成する1つのタンパク質鎖(1本鎖FvまたはscFvとして知られる)として作製できる;例えば、Bird et al. (1988) Science 242:423-426;およびHuston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883

を参照されたい。このような1本鎖抗体もまた、用語、抗体の「抗原結合部分」に含まれる。

【0024】

別段の記載が無ければ—例えば、配列表における直線の行上のナンバリングに関して—抗体の重鎖または軽鎖の可変領域(V_H または V_L)におけるアミノ酸の位置に関するナンバリングは、Kabatシステム(Kabat et al., "Sequences of Proteins of immunological interest, 5th ed., Pub. No. 91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, Md., 1991, 以後「Kabat」という)に従い、抗体の重鎖または軽鎖の定常領域(C_{H1} 、 C_{H2} 、 C_{H3} または C_L)におけるアミノ酸の位置に関するナンバリングは、Kabatに示されるようなEUインデックスに従う(Lazar et al., US 2008/0248028 A1を参照されたい; この開示内容は、出典明示により本明細書に含まれる(例えば、この使用法など)。さらに、ImMunoGeneTics Information System(IMG T)は、そのウェブサイトにおいて"IMGT Scientific Chart: Correspondence between C Numberings"の表題として、重鎖定常領域についてEUナンバリングシステムおよびKabatナンバリングの対応を示している。

【0025】

「単離された抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を意味する(例えば、抗原Xを特異的に結合する単離された抗体とは、抗原X以外の抗原を特異的に結合する抗体を実質的に含まない)。しかし、抗原Xを特異的に結合する単離された抗体は、他の抗原(例えば、別の種由来の抗原X分子)との交差反応性を有していてもよい。特定の実施態様において、単離された抗体は、ヒト抗原Xに特異的に結合し、別の(非ヒト)抗原Xの抗原とは交差反応しない。さらに、単離された抗体は、他の細胞物質および／または化学物質を実質的に含んでいなくても良い。

【0026】

「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」は、特定のエピトープについて1つの結合特異性および親和性を提示する単分子組成物である抗体分子の調製物を意味する。

【0027】

「ヒト抗体」は、フレームワークおよびCDR領域(および定常領域、もし存在する場合)の双方が、ヒト生殖細胞系のイムノグロブリン配列から得られる可変領域を有する抗体を意味する。ヒト抗体は、後の修飾、例えば天然または合成の修飾を含み得る。ヒト抗体は、ヒト生殖細胞系列イムノグロブリン配列によりコードされないアミノ酸残基(例えば、インビトロでのランダムまたは部位特異的突然変異が導入される突然変異またはインビボでの体細胞突然変異)を包含し得る。しかし、「ヒト抗体」は、別の哺乳類の種、例えばマウスから得られたCDR配列がヒトのフレームワーク配列に組み込まれた抗体を含まない。

【0028】

「ヒトモノクローナル抗体」は、フレームワークおよびCDR領域の両方が、ヒト生殖細胞系のイムノグロブリン配列から得られる可変領域を有する1つの結合特異性を提示する抗体を意味する。一実施態様において、ヒトモノクローナル抗体は、不死化細胞に融合されたヒトの重鎖導入遺伝子および軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有する遺伝子組み換え非ヒト動物、例えば、遺伝子組み換えマウスから得られたB細胞を包含するハイブリドーマにより提供される。

【0029】

「脂肪族」とは、特定数の炭素原子(例えば、「 C_3 脂肪族」、「 C_{1-5} 脂肪族」、「 C_1-C_5 脂肪族」または「 $C_1\sim C_5$ 脂肪族」のように、この後者3つのフレーズは、1～5個の炭素原子を有する脂肪族基と同義である)を有するか、または炭素原子の数が明確に特定されていない場合には、1～4個の炭素原子(不飽和脂肪族基の例では2～4個の炭素)を有する直鎖または分枝鎖の飽和または不飽和の非芳香族炭化水素基を意味する。同様に、 C_2-4 アルケン、 C_4-C_7 脂環式化合物のような別の形式で炭素数を用いられることも理解される。同様に、「 $(CH_2)_{1-3}$ 」などの用語は、下付き文字としての略記が1

、2または3であって、前記単語が、 CH_2 、 CH_2CH_2 および $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ を示すことは理解される。

【0030】

「アルキル」とは、飽和脂肪族基を意味しており、炭素原子数を表すために同様の慣習が適用できる。例えば、 C_1 – C_4 アルキル基は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、イソブチル、*tert*-ブチル、1-ブチル、2-ブチルなどを包含するが、これに限定するものではない。「アルキレン」は、アルキル基の二価のカウンターパート、例えば CH_2CH_2 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ および $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ を意味する。

【0031】

「アルケニル」とは、少なくとも一つの炭素–炭素の二重結合を有する脂肪族基を意味しており、炭素原子数を表すために同様の慣習が適用できる。例えば、 C_2 – C_4 アルケニル基は、エテニル(ビニル)、2-プロペニル(アリルまたはプロパー-2-エニル)、*cis*-1-プロペニル、*trans*-1-プロペニル、*E*-(または*Z*)-2-ブテニル、3-ブテニル、1,3-ブタジエニル(ブター-1,3-ジエニル)などを包含するが、これに限定されるものではない。

【0032】

「アルキニル」とは、少なくとも一つの炭素–炭素三重結合を有する脂肪族基を意味しており、炭素原子数を表すために同様の慣習が適用できる。例えば、 C_2 – C_4 アルキニル基は、エチニル(アセチレニル)、プロパルギル(プロパー-2-イニル)、1-プロピニル、ブター-2-イニルなどを包含する。

【0033】

「脂環式」とは、1~3個の環を有する飽和または不飽和の非芳香族炭化水素基を意味しており、各環は3~8個(好ましくは、3~6個)の炭素原子を有するものである。「シクロアルキル」は、各環が飽和である脂環式基を意味する。「シクロアルケニル」は、少なくとも一つの環が、少なくとも一つの炭素–炭素二重結合を有する脂環式基を意味する。「シクロアルキニル」は、少なくとも一つの環が、少なくとも一つの炭素–炭素三重結合を有する脂環式基を意味する。例としては、脂環式基は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンテニル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、シクロヘプチル、シクロオクチルおよびアダマンチルを包含するが、これに限定するものではない。好ましい脂環式基は、シクロアルキル基、特にシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルおよびシクロヘキシルである。「シクロアルキレン」は、シクロアルキル基の二価のカウンターパートを意味する。同様に、「ビスシクロアルキレン」および「スピロシクロアルキル」(または「スピロアルキレン」)は、ビスシクロアルキル基およびスピロシクロアルキル/スピロアルキル基の2価のカウンターパートを示す。

【0034】

「ヘテロ脂環式」は、少なくとも一つのその環において3個まで(好ましくは、1~2個)の炭素が、N、OまたはSから独立して選択されるヘテロ原子により置換されている(このNおよびSは所望により酸化されていてもよく、かつNが所望により四級化されてもよい)脂環式基を意味する。好ましい脂環式基は、5~6員である1つの環から成る。同様に、「ヘテロシクロアルキル」、「ヘテロシクロアルケニル」および「ヘテロシクロアルキニル」とは、少なくとも一つのその環が上記のように修飾されているシクロアルキル、シクロアルケニルまたはシクロアルキニル基の各々を意味する。ヘテロ脂環式基の例は、アジリジニル、アゼチジニル、1,3-ジオキサニル、オキセタニル、テトラヒドロフリル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、テトラヒドロチオピラニルスルホン、モルホリニル、チオモルホリニル、チオモルホリニルスルホキシド、チオモルホリニルスルホン、1,3-ジオキサラニル、テトラヒドロ-1,1-ジオキソチエニル、1,4-ジオキサニル、チエタニルなどを包含する。「ヘテロシクロアルキレン」は、ヘテロシクロアルキル基の二価のカウンターパートを意味する。

【0035】

10

20

30

40

50

「アルコキシ」、「アリーールオキシ」、「アルキルチオ」および「アリーールチオ」は、 $-O$ (アルキル)、 $-O$ (アリーール)、 $-S$ (アルキル)および $-S$ (アリーール)を各々意味する。この例は、各々メトキシ、フェノキシ、メチルチオおよびフェニルチオである。

【0036】

「ハロゲン」または「ハロ」は、より狭義の意味が示されない限り、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を意味する。

【0037】

「アリーール」は、単環、二環または三環系(好ましくは、単環式)を有する炭化水素基を意味し、ここで各環は、3～7個の炭素原子を有しており、少なくとも一つの環が芳香族である。該環系の環は、互いに縮合され得るか(ナフチルのように)、または互いに結合され得るか(ビフェニルのように)、非芳香族環(インダニルまたはシクロヘキシルフェニルのように)と縮合または結合され得る。更なる例としては、アリーール基は、フェニル、ナフチル、テトラヒドロナフチル、インダニル、ビフェニル、フェナントリル、アントラセニルおよびアセナフチルを包含するが、これに限定するものではない。「アリーレン」は、アリーール基の二価のカウンターパートを意味し、例えば1,2-フェニレン、1,3-フェニレンまたは1,4-フェニレンである。

【0038】

「ヘテロアリーール」は、各環が3～7個の炭素原子を有しており、かつ少なくとも一つの環が、N、OまたはSから独立して選択される1～4個のヘテロ原子を含有する芳香族環(ここで、NおよびSは、所望により酸化されていてもよく、Nは所望により四級化されてもよい)である単環、二環または三環系(好ましくは、5員～7員の単環)を有する基を意味する。少なくとも一つのヘテロ原子を含有する芳香族環は、別の環と縮合され得るか(ベンゾフラニルまたはテトラヒドロイソキノリルのように)、または別の環と直接結合され得る(フェニルピリジルまたは2-シクロペンチルピリジルなど)。更なる例としては、ヘテロアリーール基は、ピロリル、フラニル、チオフエニル(チエニル)、イミダゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、ピリジル、N-オキソピリジル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、キノリニル、イソキノリニル、キナゾリニル、シンノリニル、キノザリニル、ナフチリジニル、ベンゾフラニル、インドリル、ベンゾチオフエニル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、フェノチアゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾトリアゾリル、ジベンゾフラニル、カルバゾリル、ジベンゾチオフエニル、アクリジニルなどを包含する。「ヘテロアリーレン」は、ヘテロアリーール基の二価のカウンターパートを意味する。

【0039】

ある部分が置換されていてもよいことを、例えば「置換されていない、または置換された C_1-C_5 アルキル」または「所望により置換されていてもよいヘテロアリーール」にあるような、「置換されていない、または置換された」または「所望により置換されていてもよい」のフレーズを用いて示す場合、そのような部分は、1以上の、好ましくは1～5、より好ましくは1または2の、独立して選択される置換基を有し得る。置換基および置換パターンにより、置換基が結合する部分を考慮して当業者により選択され、化学的に安定で、かつ当該分野の技術および本明細書に記載した方法により合成できる化合物が提供される。「置換されていない、または置換された」または「所望により置換されていてもよい」として基が規定されている場合、ある好ましい実施態様において、かかる基は置換されていない。

【0040】

「アリーールアルキル(ヘテロ脂環式)アルキル」、「アリーールアルケニル」、「アリーールアルキニル」、「ビアリーールアルキル」などは、場合により、アリーール、ヘテロ脂環式、ビアリーール基などで置換されていてもよいアルキル、アルケニルまたはアルキニル基を意味し、この基は、場合により、アルキル、アルケニルまたはアルキニル基でオープンな(満たされていない)原子価であってもよく、例えば、ベンジル、フェネチル、N-イミダゾイルエチル、N-モルホリノエチルなどでもよい。逆に、「アルキルアリーール」、「アルケ

ニルシクロアルキル」などは、アルキル、アルケニルなどの基で置換されていてもよいアリール、シクロアルキルなどの基を意味し、例えばメチルフェニル(トリル)またはアリルシクロヘキシルであってもよい。「ヒドロキシアルキル」、「ハロアルキル」、「アルキルアリール」、「シアノアリール」などは、アルキル、アリールなどの基を意味し、場合により、1以上の同定された置換基(場合により、ヒドロキシル、ハロなどで)で置換されていてもよい。

【0041】

例えば、許容され得る置換基は、アルキル(特に、メチルまたはエチル)、アルケニル(特に、アリル)、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、脂環式基、ヘテロ脂環式基、ハロ(特に、フルオロ)、ハロアルキル(特に、トリフルオロメチル)、ヒドロキシル、ヒドロキシアルキル(特に、ヒドロキシエチル)、シアノ、ニトロ、アルコキシ、 $-O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-O$ (ハロアルキル)(特に、 $-OCF_3$)、 $-O$ (シクロアルキル)、 $-O$ (ヘテロシクロアルキル)、 $-O$ (アリール)、アルキルチオ、アリールチオ、 $=O$ 、 $=NH$ 、 $=N$ (アルキル)、 $=NOH$ 、 $=NO$ (アルキル)、 $-C(=O)$ (アルキル)、 $-C(=O)H$ 、 $-CO_2H$ 、 $-C(=O)NHOH$ 、 $-C(=O)O$ (アルキル)、 $-C(=O)O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)NH$ (アルキル)、 $-C(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、 $-OC(=O)$ (アルキル)、 $-OC(=O)$ (ヒドロキシアルキル)、 $-OC(=O)O$ (アルキル)、 $-OC(=O)O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-OC(=O)NH_2$ 、 $-OC(=O)NH$ (アルキル)、 $-OC(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、アジド、 $-NH_2$ 、 $-NH$ (アルキル)、 $-N$ (アルキル) $_2$ 、 $-NH$ (アリール)、 $-NH$ (ヒドロキシアルキル)、 $-NHC(=O)$ (アルキル)、 $-NHC(=O)H$ 、 $-NHC(=O)NH_2$ 、 $-NHC(=O)NH$ (アルキル)、 $-NHC(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-OSO_2$ (アルキル)、 $-SH$ 、 $-S$ (アルキル)、 $-S$ (アリール)、 $-S$ (シクロアルキル)、 $-S(=O)$ アルキル、 $-SO_2$ (アルキル)、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH$ (アルキル)、 $-SO_2N$ (アルキル) $_2$ などを包含するが、これに限定するものではない。

【0042】

置換される基が脂肪族基である場合、好ましい置換基は、アリール、ヘテロアリール、脂環式基、ヘテロ脂環式基、ハロ、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、アルコキシ、 $-O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-O$ (ハロアルキル)、 $-O$ (シクロアルキル)、 $-O$ (ヘテロシクロアルキル)、 $-O$ (アリール)、アルキルチオ、アリールチオ、 $=O$ 、 $=NH$ 、 $=N$ (アルキル)、 $=NOH$ 、 $=NO$ (アルキル)、 $-CO_2H$ 、 $-C(=O)NHOH$ 、 $-C(=O)O$ (アルキル)、 $-C(=O)O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)NH$ (アルキル)、 $-C(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、 $-OC(=O)$ (アルキル)、 $-OC(=O)$ (ヒドロキシアルキル)、 $-OC(=O)O$ (アルキル)、 $-OC(=O)O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-OC(=O)NH_2$ 、 $-OC(=O)NH$ (アルキル)、 $-OC(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、アジド、 $-NH_2$ 、 $-NH$ (アルキル)、 $-N$ (アルキル) $_2$ 、 $-NH$ (アリール)、 $-NH$ (ヒドロキシアルキル)、 $-NHC(=O)$ (アルキル)、 $-NHC(=O)H$ 、 $-NHC(=O)NH_2$ 、 $-NHC(=O)NH$ (アルキル)、 $-NHC(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-OSO_2$ (アルキル)、 $-SH$ 、 $-S$ (アルキル)、 $-S$ (アリール)、 $-S(=O)$ アルキル、 $-S$ (シクロアルキル)、 $-SO_2$ (アルキル)、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH$ (アルキル)および $-SO_2N$ (アルキル) $_2$ を包含する。より好ましい置換基は、ハロ、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、アルコキシ、 $-O$ (アリール)、 $=O$ 、 $=NOH$ 、 $=NO$ (アルキル)、 $-OC(=O)$ (アルキル)、 $-OC(=O)O$ (アルキル)、 $-OC(=O)NH_2$ 、 $-OC(=O)NH$ (アルキル)、 $-OC(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、アジド、 $-NH_2$ 、 $-NH$ (アルキル)、 $-N$ (アルキル) $_2$ 、 $-NH$ (アリール)、 $-NHC(=O)$ (アルキル)、 $-NHC(=O)H$ 、 $-NHC(=O)NH_2$ 、 $-NHC(=O)NH$ (アルキル)、 $-NHC(=O)N$ (アルキル) $_2$ および $-NHC(=NH)NH_2$ である。特に好ましいものは、フェニル、シアノ、ハロ、ヒドロキシル、ニトロ、 C_1-C_4 アルキルオキシ、 $O(C_2-C_4$ アルキレン) OH および $O(C_2-C_4$ アルキレン)ハロである。

【0043】

置換される基が、脂環式基、ヘテロ脂環式基、アリール基またはヘテロアリール基であ

る場合、好ましい置換基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロ、ハロアルキル、ヒドロキシル、ヒドロキシアルキル、シアノ、ニトロ、アルコキシ、 $-O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-O$ (ハロアルキル)、 $-O$ (アリール)、 $-O$ (シクロアルキル)、 $-O$ (ヘテロシクロアルキル)、アルキルチオ、アリールチオ、 $-C(=O)$ (アルキル)、 $-C(=O)H$ 、 $-CO_2H$ 、 $-C(=O)NHOH$ 、 $-C(=O)O$ (アルキル)、 $-C(=O)O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)NH$ (アルキル)、 $-C(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、 $-OC(=O)$ (アルキル)、 $-OC(=O)$ (ヒドロキシアルキル)、 $-OC(=O)O$ (アルキル)、 $-OC(=O)O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-OC(=O)NH_2$ 、 $-OC(=O)NH$ (アルキル)、 $-OC(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、アジド、 $-NH_2$ 、 $-NH$ (アルキル)、 $-N$ (アルキル) $_2$ 、 $-NH$ (アリール)、 $-NH$ (ヒドロキシアルキル)、 $-NHC(=O)$ (アルキル)、 $-NHC(=O)H$ 、 $-NHC(=O)NH_2$ 、 $-NHC(=O)NH$ (アルキル)、 $-NHC(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-OSO_2$ (アルキル)、 $-SH$ 、 $-S$ (アルキル)、 $-S$ (アリール)、 $-S$ (シクロアルキル)、 $-S(=O)$ アルキル、 $-SO_2$ (アルキル)、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH$ (アルキル)および $-SO_2N$ (アルキル) $_2$ である。より好ましい置換基は、アルキル、アルケニル、ハロ、ハロアルキル、ヒドロキシル、ヒドロキシアルキル、シアノ、ニトロ、アルコキシ、 $-O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-C(=O)$ (アルキル)、 $-C(=O)H$ 、 $-CO_2H$ 、 $-C(=O)NHOH$ 、 $-C(=O)O$ (アルキル)、 $-C(=O)O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)NH$ (アルキル)、 $-C(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、 $-OC(=O)$ (アルキル)、 $-OC(=O)$ (ヒドロキシアルキル)、 $-OC(=O)O$ (アルキル)、 $-OC(=O)O$ (ヒドロキシアルキル)、 $-OC(=O)NH_2$ 、 $-OC(=O)NH$ (アルキル)、 $-OC(=O)N$ (アルキル) $_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH$ (アルキル)、 $-N$ (アルキル) $_2$ 、 $-NH$ (アリール)、 $-NHC(=O)$ (アルキル)、 $-NHC(=O)H$ 、 $-NHC(=O)NH_2$ 、 $-NHC(=O)NH$ (アルキル)、 $-NHC(=O)N$ (アルキル) $_2$ および $-NHC(=NH)NH_2$ である。特に好ましいものは、 C_1-C_4 アルキル、シアノ、ニトロ、ハロおよび C_1-C_4 アルコキシである。

【0044】

範囲が「 C_1-C_5 アルキル」または「5～10%」のように記載されている場合、この範囲は、最初の例では C_1 および C_5 の通り、また二番目の例では5%および10%の通りに、その範囲のエンドポイントを包含する。

【0045】

特定の立体異性体が、具体的に示されない限り(例えば、構造式において相応するキラル中心で太字または点線で書いた結合により、構造式においてEまたはZ配置を有するような二重結合の記載により、または立体化学を指定する命名法または記号を用いて)、全ての立体異性体は、純粋な化合物ならびにその混合物として、本発明の範囲内に包含される。別段の記載が無ければ、ラセミ体、個々のエナンチオマー(光学純粋または部分分割)、ジアステレオマー、幾何異性体ならびにその組合せおよび混合物の全てが、本発明に包含される。

【0046】

当業者は、化合物が、互変異性体(例えば、ケトおよびエノール形態)、共鳴構造および双性イオン形体を有し得ること、またこれらが本明細書で使用される構造式に示されるものと等価であること、該構造式が、かかる互変異性体、共鳴構造体または双性イオン形体を包含することは理解されよう。

【0047】

「医薬的に許容し得るエステル」は、インビボ(例えば、ヒトの体内で)で加水分解して、親化合物またはその塩を提供するか、またはそれ自体親化合物と同等の活性を有するエステルを意味する。適切なエステルは、 C_1-C_5 アルキル、 C_2-C_5 アルケニルまたは C_2-C_5 アルキニルエステル、特にメチル、エチルまたはn-プロピルを包含する。

【0048】

「医薬的に許容される塩」は、医薬組成物として適切な化合物の塩を意味する。化合物が1以上の塩基性基を有する場合、該塩は、酸付加塩、例えば硫酸塩、臭化水素酸塩、酒

10

20

30

40

50

石酸塩、メシル酸塩、マレイン酸塩、クエン酸塩、リン酸塩、酢酸塩、パモ酸塩(エンボン酸塩)、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、塩酸塩、乳酸塩、硫酸メチル、フマル酸塩、安息香酸塩、コハク酸塩、メシル酸塩、ラクトビオン酸塩、スベリン酸塩、トシル酸塩などであってもよい。化合物が1以上の酸性基である場合、該塩は、塩、例えばカルシウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、メグルミン塩、アンモニウム塩、亜鉛塩、ピペラジン塩、トロメタミン塩、リチウム塩、コリン塩、ジエチルアミン塩、4-フェニルシクロヘキシルアミン塩、ベンザチン塩、ナトリウム塩、テトラメチルアンモニウム塩などであり得る。多形結晶体および溶媒和物は、本発明の範囲内に包含される。

【0049】

「対象」とは、霊長類(例えば、ヒト)、サル、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、マウスなどの動物を指す。「対象」および「患者」という用語は、本明細書においては、例えば、ヒトなどの哺乳類の対象を指し、互換的に使用される。

10

【0050】

疾患または障害を治療するという意味で、「治療する」、「治療すること」および「治療」という用語は、障害、疾患もしくは症状、または障害、疾患もしくは症状に関連する1つ以上の症状を緩和または無効にすること；または、疾患、障害または症状、またはその1つ以上の症状の進行、転移もしくは悪化を遅らせることを含むことを意味する。がんの治療とは、以下の1つ以上の効果を示す：(1)腫瘍の成長をある程度抑制すること、例えば、(i)成長速度の低下、(ii)完全な成長停止；(2)腫瘍細胞数の低下；(3)腫瘍サイズの維持；(4)腫瘍サイズの退縮；(5)末梢臓器への腫瘍細胞の浸潤を抑制すること、例えば、末梢臓器への腫瘍細胞の浸潤の(i)低下、(ii)速度低下または(iii)完全な防止；(6)転移を抑制すること、例えば、転移の(i)低下、(ii)速度低下または(iii)完全な防止；(7)抗腫瘍免疫反応を増強すること、これは(i)腫瘍サイズの維持、(ii)腫瘍サイズの縮小、(iii)腫瘍成長の速度低下、(iv)浸潤の低下、浸潤の速度低下または浸潤の防止に至らしめること、ならびに/または(8)障害に関連する1つ以上の症状の重症度または症状の数についてのある程度の緩和。

20

【0051】

本明細書の式において、結合に対して直角となる波線

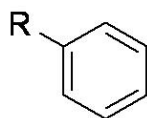
【化8】

(~~~~~)

30

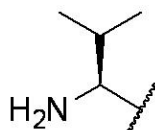
または結合手の末端にあるアスタリスク(*)は、共有結合部位を表している。例えば、式：

【化9】



において、Rが、

【化10】

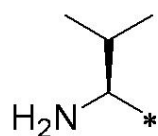


40

であるか、またはRが、

50

【化 1 1】



であるという記載は、

【化 1 2】



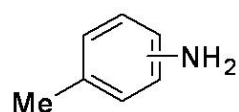
10

を意味する。

【0 0 5 2】

本明細書の式において、芳香族環の2つの炭素原子の間を横切る結合手は、この結合手に結合された基が、環に当然存在している水素が除かれることにより利用できるようになる芳香族環のいずれの位置に存在していてもよいことを意味する。例示すると、式：

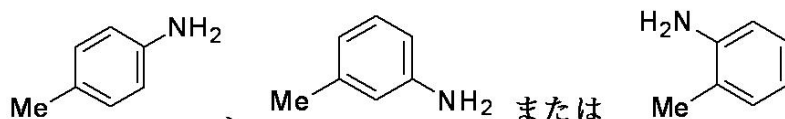
【化 1 3】



20

は、

【化 1 4】



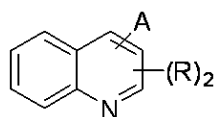
30

を表す。

【0 0 5 3】

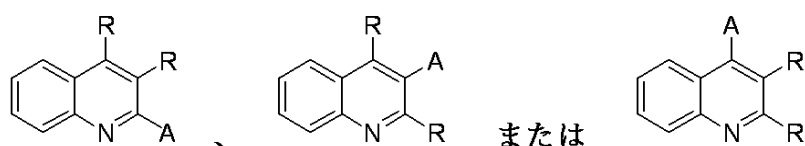
別の例においては、

【化 1 5】



は、

【化 1 6】

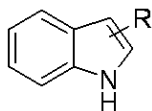


40

を示し、

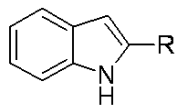
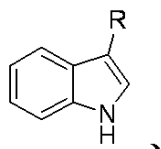
50

【化 17】

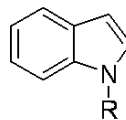


は、

【化 18】



または



10

を示す。

【0054】

当業者であれば、特定の構造が1つの互変異性体で描写されることがあるが、例えばケトに対してエノールのように、2つの形態が等価であることは理解されるであろう。

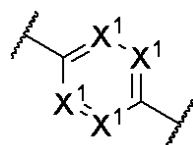
【0055】

化合物

一実施態様において、下記基：

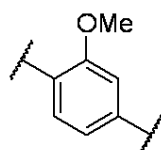
20

【化 19】



において、各 X^1 は、 CR^2 であるか、または2以下の X^1 がNであり、好ましくは、

【化 20】



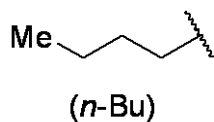
30

である。

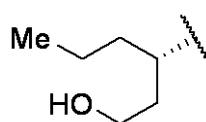
【0056】

好ましくは、基 R^1 は、

【化 21】



または



40

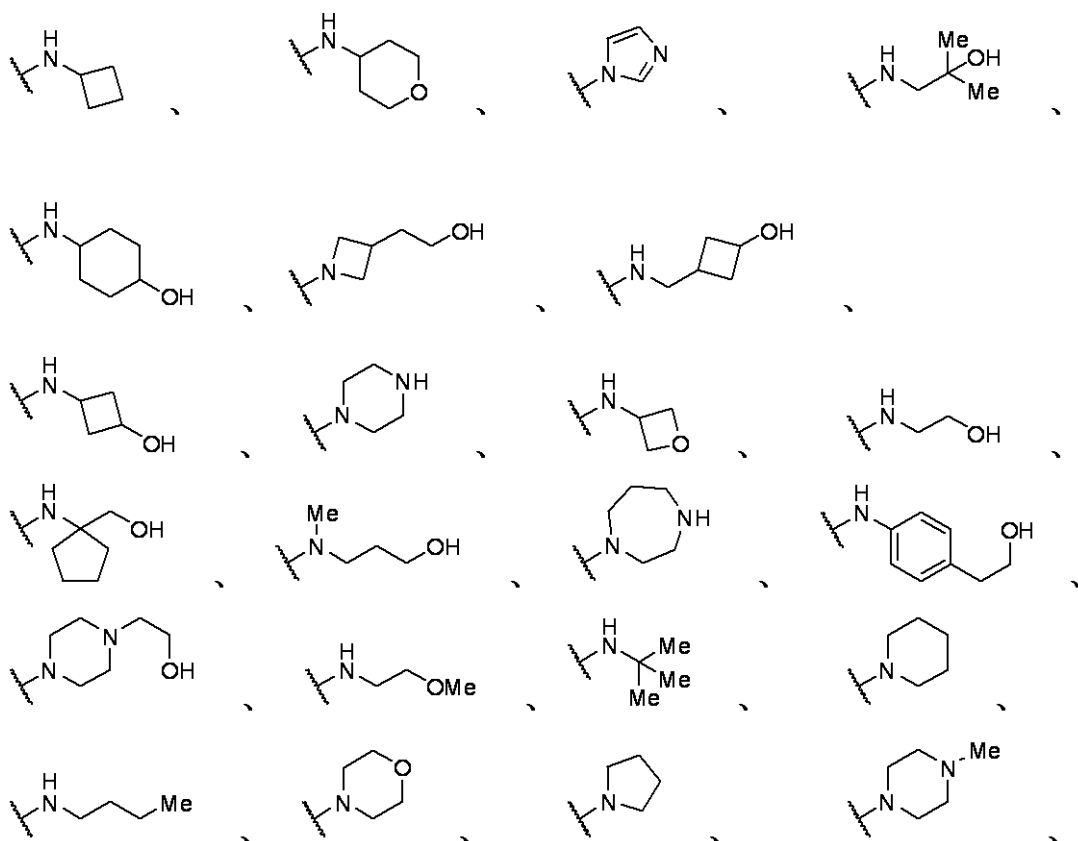
である。

【0057】

 R^3 の例には、Cl、OH、

50

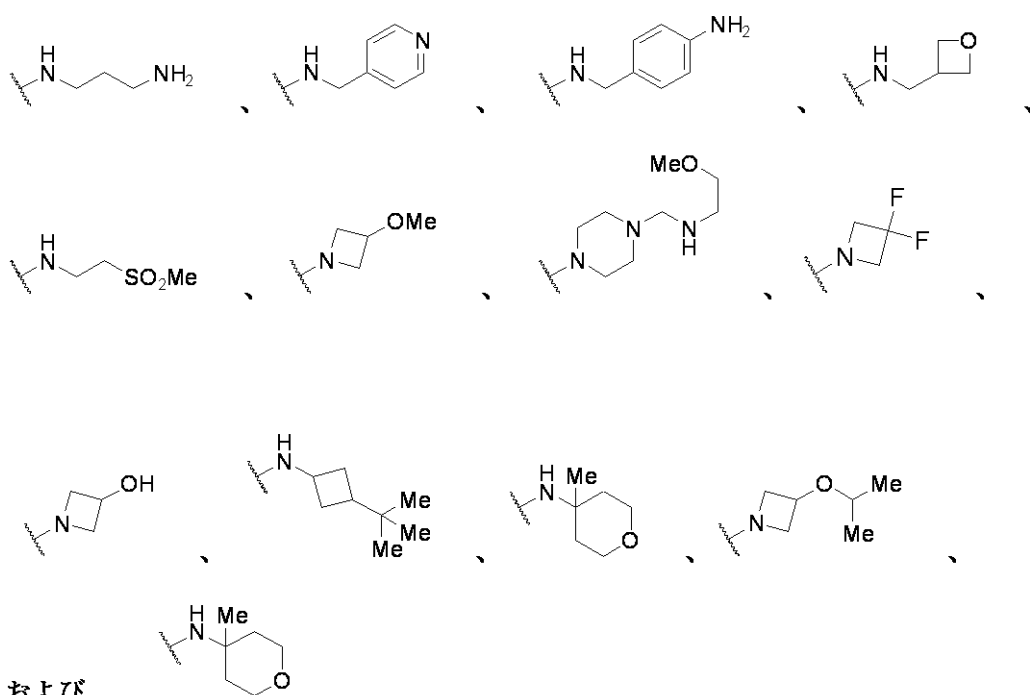
【化 2 2】



10

20

【化 2 3】



30

40

および

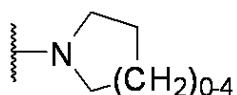
が挙げられる。

【0058】

基 R³が、構造：

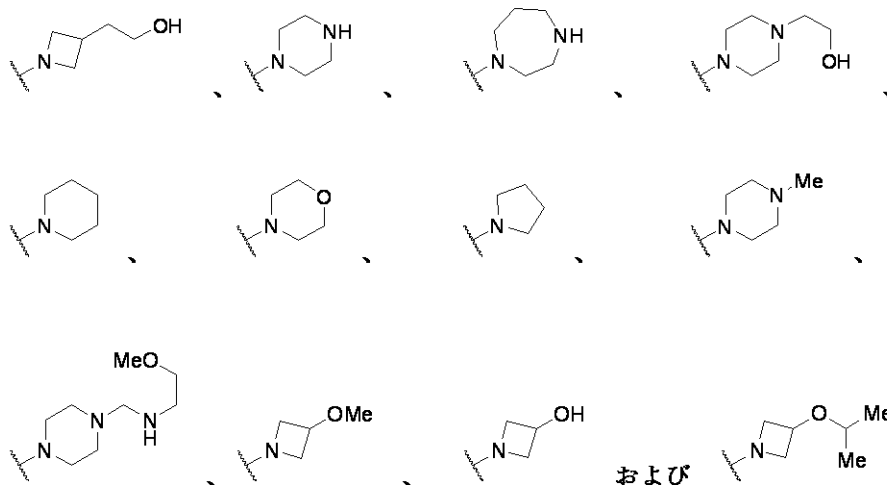
50

【化 2 4】



(例えば、1以上のO、S、SO₂、NH、C(=O)、N(C₁–C₃アルキル)、NC(=O)(C₁–C₃アルキル)またはN(Boc)により所望により置換されていてもよい1以上のメチレン(CH₂)基を有するか、あるいはそれに縮合した別の環を有する場合を含む)を有する場合の例は、上記した通りに、

【化 2 5】

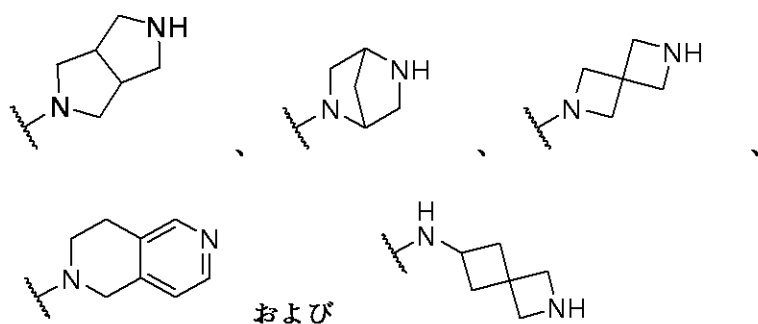


である。

【0059】

別の実施形態において、R³は、

【化 2 6】



からなる群から選択される。

【0060】

式IIの一実施態様において、mは0である場合、それはII'：

10

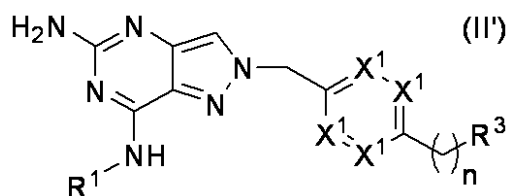
20

30

40

50

【化 2 7】

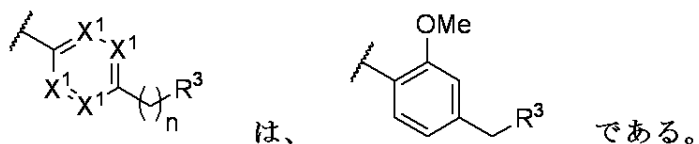


として簡略化される。

【0061】

式 II において、好ましくは、

【化 2 8】



【0062】

式 II の化合物の一実施態様は、式 II a で表され、式中の R^1 および R^3 は、本明細書の式 II に関して定義されている通りである。このような化合物の例を、表 A に示す。表 A には、本明細書に記載されている通りの、HEK-Blue (登録商標) TLR7 レポーターアッセイを用いた TLR7 アゴニズム活性についての生物学的活性データが含まれる。比較のために、レシキモドとガーディキモドの活性も示す。

【0063】

10

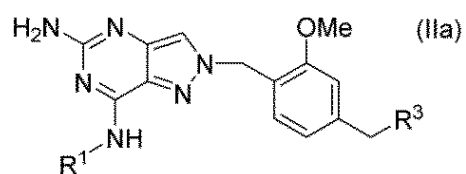
20

30

40

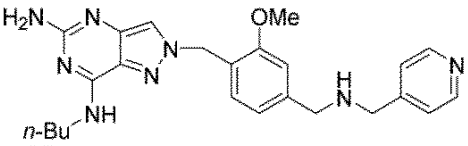
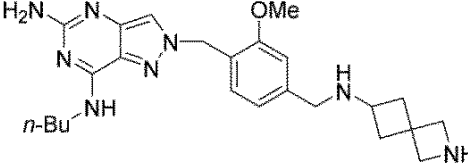
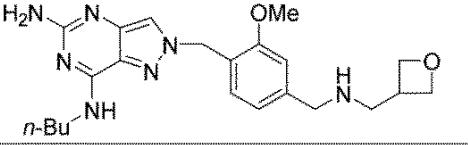
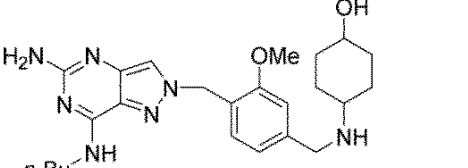
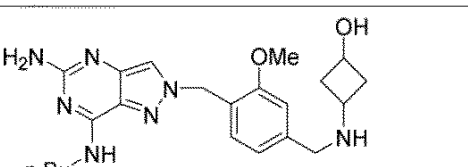
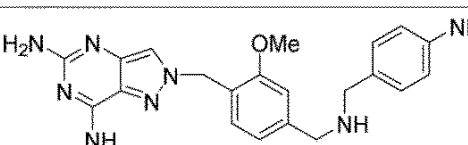
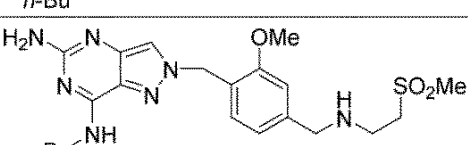
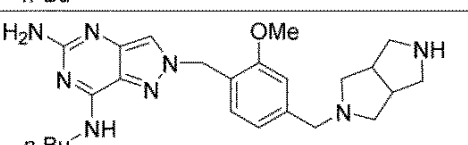
50

【表 1】



表A 式IIa化合物		
化合物番号	TLR7 EC ₅₀ (nM)	構造
レシキモド	450	
ガーディキモド	3,300	
IIa-01	340	
IIa-02	510	
IIa-03	1,000	
IIa-04	1,600	

【表 2】

表A 式IIa化合物		
化合物番号	TLR7 EC ₅₀ (nM)	構造
IIa-05	450	
IIa-06	5,000	
IIa-07	610	
IIa-08	650	
IIa-09	420	
IIa-10	270	
IIa-11	540	
IIa-12	840	

10

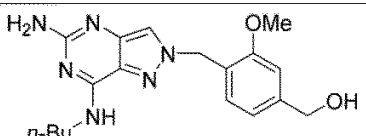
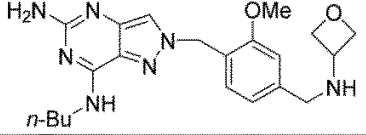
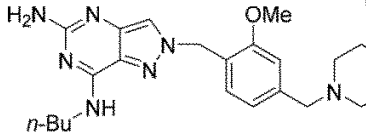
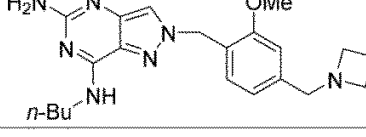
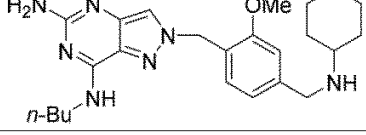
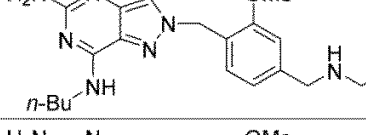
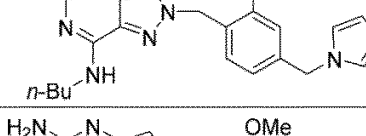
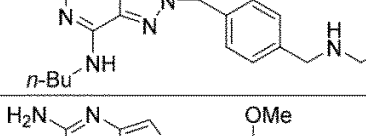
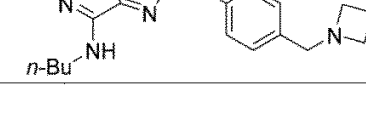
20

30

40

50

【表 3】

表A 式IIa化合物		
化合物番号	TLR7 EC ₅₀ (nM)	構造
IIa-14	550	
IIa-15	300	
IIa-17	180	
IIa-18	520	
IIa-19	320	
IIa-20	280	
IIa-21	190	
IIa-22	200	
IIa-23	303	

10

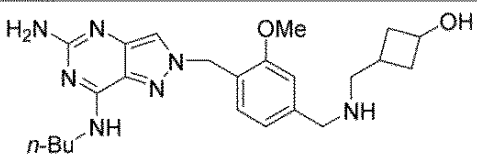
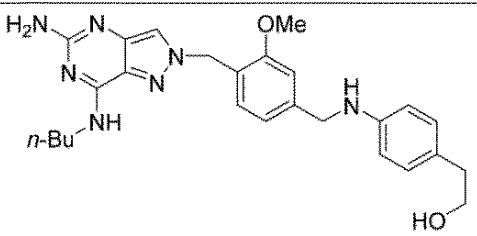
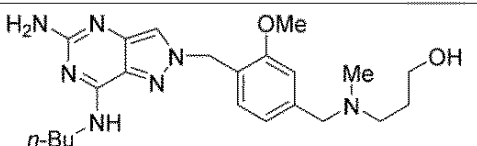
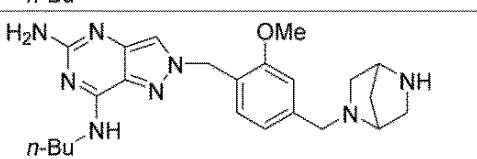
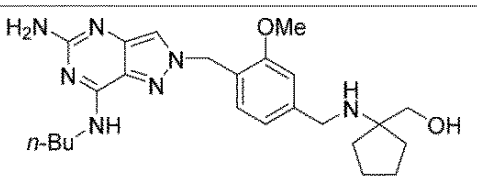
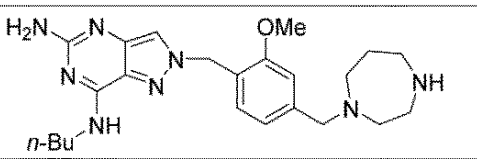
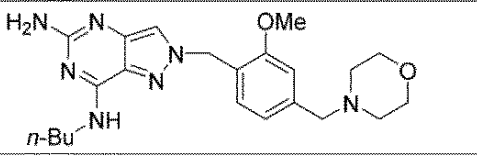
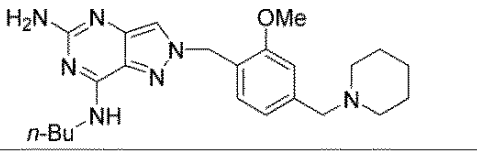
20

30

40

50

【表 4】

表A 式IIa化合物		
化合物番号	TLR7 EC ₅₀ (nM)	構造
Ila-24	130	
Ila-25	880	
Ila-26	194	
Ila-27	710	
Ila-28	430	
Ila-29	760	
Ila-30	580	
Ila-31	410	

10

20

30

40

50

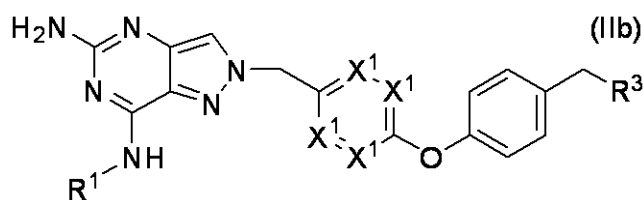
【表 5】

表A 式IIa化合物		
化合物番号	TLR7 EC ₅₀ (nM)	構造
IIa-32	600	
IIa-33	810	
IIa-34	550	
IIa-35	2,100	
IIa-36	520	

【0064】

式IIの化合物(式中、mが1である)の実施態様は、式IIb(式中、R¹、R³およびX¹は、上記式IIに定義される通りである)により示される。

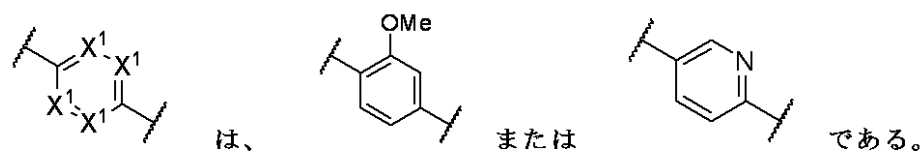
【化29】



【0065】

好ましくは、式IIbにおいて、

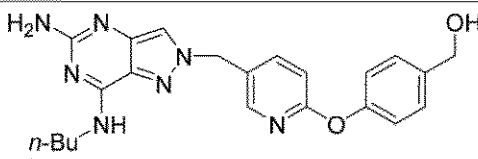
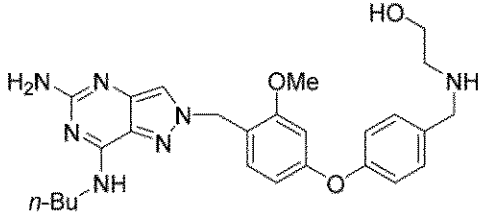
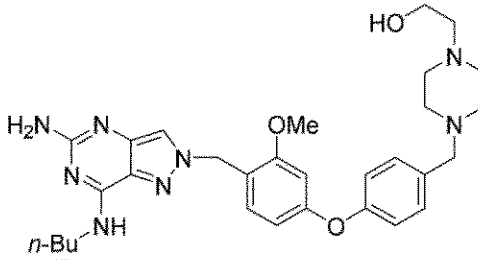
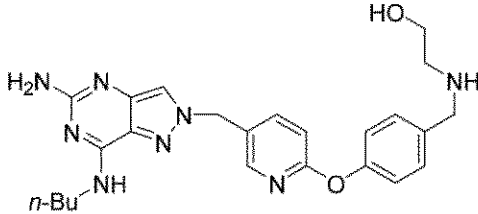
【化30】



【0066】

式IIbの化合物の例は、表B：

【表 6】

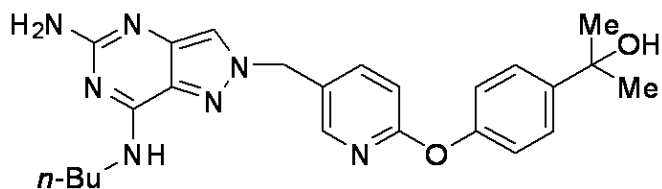
表 B -式IIb化合物		
化合物番号	TLR7 EC ₅₀ (nM)	構造
IIb-01	820	
IIb-02	1,600	
IIb-03	5,000	
IIb-04	2100	

に示される。

【0067】

本明細書は、化合物 III-02 (EC₅₀ 5,000 nM) をさらに開示するものである。

【化 31】



【0068】

コンジュゲート

概要

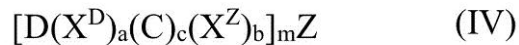
本明細書に開示された TLR7 アゴニストは、局所投与またはターゲティング送達によるか、あるいはターゲティング基を含むコンジュゲートにより目的の作用部位に送達され得る。好ましくは、ターゲティング基とは、抗体またはその抗原結合部分であり、その抗原は目的とする作用付近に存在しており、例えば、目的とする作用部位が腫瘍(がん)であるならば腫瘍関連抗原である。好ましくは、腫瘍関連抗原は、正常細胞と比べると、がん細胞により特異的または過剰に発現される。腫瘍関連抗原は、がん細胞の表面に存在し得

るか、またはそのがん細胞周辺にがん細胞により分泌され得る。

【0069】

一態様において、式(IV)：

【数1】



により示される本発明の化合物およびリガンドを含むコンジュゲートが提供され、式中のZは、ターゲティング基であり、Dは、本発明のアゴニストであり、 $-(X^D)_aC(X^Z)_b$ は、ZおよびDを連結するという理由から、それらをまとめて「リンカー基」または「リンカー」という。リンカー内にて、Cは、Dの目的とする生物学的作用部位または部位付近で開裂されるように設計された開裂可能な基であり； X^D および X^Z は、DとCおよびCとZを、夫々空間的に分離するスペーサー基(または「スペーサー」)であり；下付き文字a、bおよびcは、独立して、0または1(即ち、 X^D 、 X^Z およびCの存在は任意である)である。下付き文字mは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10(好ましくは、1、2、3または4)である。D、 X^D 、C、 X^Z およびZは、より詳細に後述される。

【0070】

抗原または受容体が存在している標的組織または細胞に結合することにより、Zは、その場所にコンジュゲートを導く。標的組織または細胞で基Cが開裂することで、Dを放出して、その効果を局所的に発揮させる。この方法において、Dの正確な送達、目的の作用部位で達成されて、必要な投薬量を低下することができる。またDは、通常、コンジュゲートされた状態では生物学的に不活性(または、かなり活性が低い)であるので、これによりオフターゲット作用を低減できる。

【0071】

下付き文字mに示されるように、各Zは、結合に利用できる部位Zの数および用いる実験条件によって、1以上のDとコンジュゲートできる。個々のZは、Dの整数までコンジュゲートされるが、コンジュゲートの調製物は、統計学的平均値を反映させてD：Zの非整数比として判定されることは当業者には理解されよう。この比は、置換比(「SR」)または薬剤-抗体比(「DAR」)として示される。

【0072】

ターゲティング基Z

好ましくは、ターゲティング基Zは抗体である。便宜上かつ簡潔化のために、限定するものではないが、Zおよびそのコンジュゲートについての本明細書における詳細な説明は、それらが抗体であるという文脈で書かれているが、所望により変更して、別のタイプのZをコンジュゲートし得ることも当業者には理解されよう。例えば、ターゲティング基として葉酸を含むコンジュゲートは、その表面上に葉酸受容体を有する細胞を標的とし得る(Leamon et al., Cancer Res. 2008, 68(23), 9839)。同じ理由から、本明細書における詳細な説明は、主に、ZとD(m=1)が1：1の比として記載されている。

【0073】

本発明のコンジュゲートに使用され得る抗体は、以下の抗原を認識するものを包含する：メソテリン、前立腺特異的膜抗原(PSMA)、CD19、CD22、CD30、CD70、B7H3、B7H4(08Eとしても知られる)、タンパク質チロシンキナーゼ7(PTK7)、グリピカン-3、RG1、フコシル-GM1、CTLA-4およびCD44。抗体は、動物(例えば、マウス)の抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、または好ましくはヒト抗体であってもよい。抗体は、好ましくは、モノクローナル、特にモノクローナルヒト抗体である。前記抗原の幾つかに対するヒトモノクローナル抗体の製造は、Korman et al., US 8,609,816 B2(2013；B7H4、08Eとしても知られる；特に、抗体2A7、1G11および2F9)；Rao-Naik et al., 8,097,703 B2(2012；CD19；特に、抗体5G7、13F1、46E8

10

20

30

40

50

、21D4、21D4a、47G4、27F3および3C10)；King et al., US 8,481,683 B2(2013；CD22；特に、抗体12C5、19A3、16F7および23C6)；Keler et al., US 7,387,776 B2(2008；CD30；特に、抗体5F11、2H9および17G1)；Terrett et al., US 8,124,738 B2(2012；CD70；特に、抗体2H5、10B4、8B5、18E7および69A7)；Korman et al., US 6,984,720 B1(2006；CTLA-4；特に、抗体10D1、4B6および1E2)；Korman et al., US 8,008,449 B2(2011；PD-1；特に、抗体17D8、2D3、4H1、5C4、4A11、7D3および5F4)；Huang et al., US 2009/0297438 A1(2009；PSMA、特に、抗体1C3、2A10、2F5、2C6)；Cardarelli et al., US 7,875,278 B2(2011；PSMA；特に、抗体4A3、7F12、8C12、8A11、16F9、2A10、2C6、2F5および1C3)；Terrett et al., US 8,222,375 B2(2012；PTK7；特に、抗体3G8、4D5、12C6、12C6aおよび7C8)；Harkins et al., US 7,335,748 B2(2008；RG1；特に、抗体A、B、CおよびD)；Terrett et al., US 8,268,970 B2(2012；メソテリン；特に、抗体3C10、6A4および7B1)；Xu et al., US 2010/0092484 A1(2010；CD44；特に、抗体14G9.B8.B4、2D1.A3.D12および1A9.A6.B9)；Deshpande et al., US 8,258,266 B2(2012；IP10；特に、抗体1D4、1E1、2G1、3C4、6A5、6A8、7C10、8F6、10A12、10A12Sおよび13C4)；Kuhne et al., US 8,450,464 B2(2013；CXCR4；特に、抗体F7、F9、D1およびE2)；およびKorman et al., US 7,943,743 B2(2011；PD-L1；特に、抗体3G10、12A4、10A5、5F8、10H10、1B12、7H1、11E6、12B7および13G4)；に開示され、これらの開示内容は、出典明示により本明細書に組み込まれる。好ましくは、前記抗体は、抗メソテリン抗体である。

【0074】

抗体であることに加えて、Zはまた、抗体フラグメント(例えば、Fab、Fab'、F(ab')₂、FdまたはFv)または抗体擬体、例えばアフィボディ、ドメイン抗体(dAb)、ナノボディ、ユニボディ、DARPin、アンチカリン、バーサボディ(versabody)、デュオカリン、リボカリンまたはアビメールでもあり得る。

【0075】

Z上の異なる幾つかの反応基のいずれか1つは、例えばリジン残基内のε-アミノ基、ペンダント炭水化物基、アスパラギン酸またはグルタミン酸側鎖上のカルボン酸基、システイン-システインジスルフィド基およびシステインチオール基などのコンジュゲーション部位であり得る。コンジュゲーションに適切な抗体の反応基についてのレビューは、例えば、Garnett, Adv. Drug Delivery Rev. 2001, 53, 171-216およびDubowchik and Walker, Pharmacology & Therapeutics 1999, 83, 67-123を参照されたい；これらの開示内容は、出典明示により本明細書に組み込まれる。

【0076】

殆どの抗体は、複数のリジン残基を有しており、リジンのε-アミノ基により、アミド、ウレア、チオウレアまたはカルバメート結合を介してコンジュゲートされ得る。

【0077】

システイン側鎖中のチオール(-SH)基を用いて、いくつかの方法によりコンジュゲートを形成できる。前記チオール基は、この基とリンカー上のチオール基の間にジスルフィド結合を形成するために使用できる。別の方法とは、リンカー上のマレイミド基へのマイケル付加反応である。

【0078】

通常、抗体は、システイン残基を有しているが、それらの全てのシステインが鎖間または鎖内のジスルフィド結合に関与しており、遊離のチオール基は存在しない。遊離のチオール基を生成させるために、元々のジスルフィド基を還元することができる。例えば、Packard et al., Biochemistry 1986, 25, 3548；King et al., Cancer Res. 1994, 54, 6176；and Doronina et al., Nature, Biotechnol. 2003, 21, 778を参照されたい。あるいは、抗体を突然変異させることによるか、システインを別のアミノ酸に代えて置き換えることによるか、またはシステインをポリペプチド鎖中に導入することにより、遊離の-SH基を有するシステインを導入することができる。例えば、Eigenbrot et

al., US 7,521,541 B2(2009); Chilkoti et al., Bioconjugate Chem. 1994, 5, 504; Urnovitz et al., US 4,698,420(1987); Stimmel et al., J. Biol. Chem. 2000, 275, 30445; Bam et al., US 7,311,902 B2(2007); Kuan et al., J. Biol. Chem. 1994, 269, 7610; Poon et al., J. Biol. Chem. 1995, 270, 8571; Junutula et al., Nature Biotechnology 2008, 26, 925 and Rajpal et al., US Provisional Application No. 62/270245, filed Dec. 21, 2015を参照されたい。また別の手法としては、システインは、重鎖または軽鎖のC末端に加えられる。例えば、Liu et al., US 8,865,875 B2(2014); Cumber et al., J. Immunol. 1992, 149, 120; King et al., Cancer Res. 1994, 54, 6176; Li et al., Bioconjugate Chem. 2002, 13, 985; Yang et al., Protein Engineering 2003, 16, 761; and Olafson et al., Protein Engineering Design & Selection 2004, 17, 21を参照されたい。このパラグラフに引用された文献の開示内容は、出典明示によりその内容が本明細書に組み込まれる。

10

【0079】

リンカーおよびそれらの成分

上記の通り、リンカーは、3つまでの要素：開裂可能な基Cおよび任意のスペーサーX^ZおよびX^Dを含む。

【0080】

基Cは、生理学的条件下において開裂可能である。好ましくは、基Cは、コンジュゲートが血中で循環している間は比較的安定であるが、コンジュゲートが目的とするその作用部位に到達した時点で容易に開裂される。

20

【0081】

好ましい基Cは、血清中のプロテアーゼによる開裂とは異なり、標的細胞内部のプロテアーゼにより選択的に開裂されるペプチドである。通常、該ペプチドは、1~20個のアミノ酸、好ましくは1~6個のアミノ酸、より好ましくは2~3個のアミノ酸を含む。アミノ酸は、天然および／または非天然のα-アミノ酸であってもよい。天然アミノ酸は、遺伝子コードによりコードされたアミノ酸、加えてそれらから誘導されるアミノ酸、例えばヒドロキシプロリン、γ-カルボキシグルタメート、シトルリンおよびO-ホスホセリンである。本明細書において、用語「アミノ酸」とは、アミノ酸アナログおよびアミノ酸擬体も包含する。アナログとは、R基が天然アミノ酸の中に存在する基ではないこと以外、天然アミノ酸の一般構造H₂N(R)CHCO₂Hと同じ構造を有する化合物である。アナログの例示は、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニン-スルホキシドおよびメチオニン-メチルスルホニウムが挙げられる。アミノ酸擬体は、α-アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、α-アミノ酸と類似した様式で機能する化合物である。アミノ酸は、遺伝子的にコードされたアミノ酸の「L」立体配置として、同様にエナンチオマーの「D」立体配置としても存在し得る。

30

【0082】

好ましくは、Cは、プロテアーゼに対して開裂認識配列であるアミノ酸配列を含有する。多くの開裂認識配列は、当業者には知られている。例えば、Matayoshi et al. Science 247:954(1990); Dunn et al. Meth. Enzymol. 241:254(1994); Seidah et al. Meth. Enzymol. 244:175(1994); Thornberry, Meth. Enzymol. 244:615(1994); Weber et al. Meth. Enzymol. 244:595(1994); Smith et al. Meth. Enzymol. 244:412(1994); and Bouvier et al. Meth. Enzymol. 248:614(1995)を参照されたい；これらの内容は、出典明示により、本明細書にその内容が組み込まれる。

40

【0083】

基Cは、がん近傍において細胞外マトリックスに存在するプロテアーゼ、例えば、死亡がん細胞周辺で放出されたプロテアーゼまたはがん細胞により分泌された腫瘍関連プロテアーゼにより開裂されるように選択され得る。細胞外の腫瘍関連プロテアーゼの例は、プラスミン、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)、チメット(thimet)オリゴペプチダーゼ(TOP)およびCD10である。例えば、Trouet et al., US 7,402,556 B2(

50

2008); Dubois et al., US 7,425,541 B2(2008);およびBebbington et al., US 6,897,034 B2(2005)を参照されたい。カテプシンDは、通常、細胞内部に存在するリソソーマル酵素であるが、腫瘍環境内に存在することもあり、これはおそらく死亡がん細胞により放出されるのであろう。

【0084】

酵素により為されるように設計されたコンジュゲートのために、Cは、好ましくは、カテプシンB、C、D、H、LおよびSなどのプロテアーゼ、特にカテプシンBによる開裂のために選択されたアミノ酸配列を含む。カテプシンBの開裂可能なペプチドの例は、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Lys-Val-Ala、Asp-Val-Ala、Val-Ala、Lys-Val-Cit、Ala-Val-Cit、Val-Gly、Val-GlnおよびAsp-Val-Cit(ここで、アミノ酸配列は、前後関係が別段明確に記載されていない限り、 $H_2N-AA^2-AA^1-CO_2H$ のように、N-からC方向に記載されている)。Dubowchik et al., Biorg. Med. Chem. Lett. 1998, 8, 3341; Dubowchik et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 1998, 8, 3347;およびDubowchik et al., Bioconjugate Chem. 2002, 13, 855を参照されたい;これらの開示内容は、出典明示により本明細書の一部に組み込まれる。

【0085】

ペプチジルリンカーを開裂するために利用し得る別の酵素はレグマインであり、これはAla-Ala-Asnで優先的に開裂するリソソーマルシステインプロテアーゼである。

【0086】

一実施態様において、基Cは、2つのアミノ酸配列、 $-AA^2-AA^1-$ (式中、 AA^1 は、リジン、アルギニンまたはシトルリンであり、 AA^2 は、フェニルアラニン、バリン、アラニン、ロイシンまたはイソロイシンである)を含むペプチドである。別の実施態様において、Cは、Val-Cit、Ala-Val、Val-Ala-Val、Lys-Lys、Ala-Asn-Val、Val-Leu-Lys、Cit-Cit、Val-Lys、Ala-Ala-Asn、Lys、Cit、SerおよびGluからなる群から選択される1~3つのアミノ酸の配列から構成される。より好ましくは、Cは、前記基から選択される2~3つのアミノ酸ペプチドである。

【0087】

1つのアミノ酸からなる開裂可能な基Cの製造および設計は、Chenら(US 8,664,407 B2(2014))に開示されており、これらの開示内容は、出典明示により本明細書に組み込まれる。

【0088】

基Cは、ZまたはDに直接結合され得る;即ち、スパーサー X^Z または X^D は、場合により非存在であり得る。

【0089】

存在する場合、スパーサー X^Z は、CおよびZの間の空間的分離を提供して、前者が後者による抗原結合と立体的に干渉するか、または後者が前者の開裂を立体的に干渉することを防ぐ。さらに、スパーサー X^Z を用いて、コンジュゲートに高い溶解性または低い凝集性という特性を与えることができる。スパーサー X^Z は、あらゆる数の組合せでアセンブルされ得る1以上のモジュラーセグメントを含み得る。スパーサー X^Z として適切なセグメントの例は、以下:

10

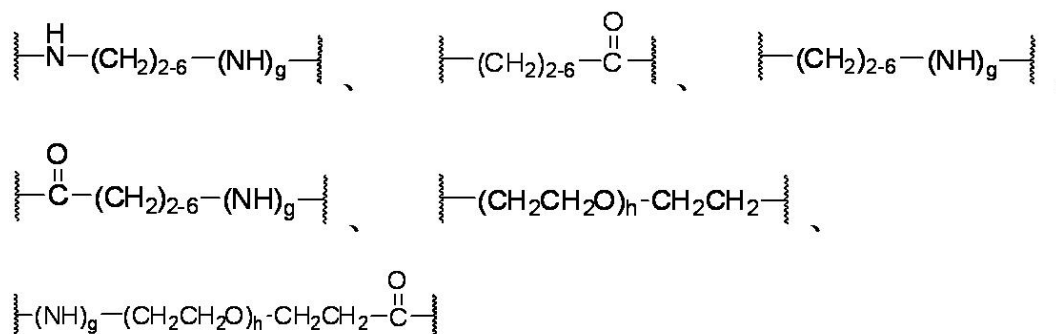
20

30

40

50

【化 3 2】

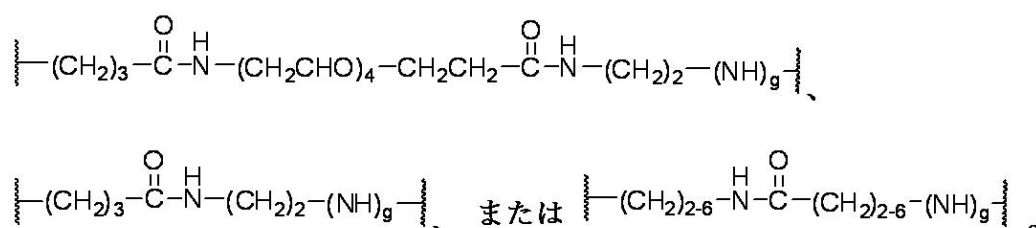


10

(ここで、下付き文字 g は、0 または 1 であり、下付き文字 h は、1 ~ 24 であり、好ましくは 2 ~ 4 である)

およびその組合せである。これらのセグメントを、下記に示したように合わせることもできる：

【化 3 3】



20

【0090】

スペーサー X^D は、もし存在するならば、C および D の間の空間的分離を提供して、後者が、前者の開裂と立体的または電氣的に干渉することを防ぐ。スペーサー X^D は、追加の分子量および化学的官能基をコンジュゲートに導入することにも役立ち得る。一般的には、追加の質量および官能基は、コンジュゲートの血清半減期およびその他の特性に影響を及ぼす。このように、スペーサー基の適正な選択により、コンジュゲートの血清半減期を調節することができる。スペーサー X^D もまた、スペーサー X^Z について上記したものと同様に、モジュラーセグメントからアセンブルされ得る。

30

【0091】

スペーサー X^Z および／または X^D は、存在している場合、各々 Z と C の間または D と C の間に、好ましくは 4 ~ 25 個の原子、より好ましくは 4 ~ 20 個の原子の直線状の間隔を提供する。

【0092】

リンカーは、抗体および薬剤の共有結合に加えて、別の機能を果たし得る。例えば、リンカーは、ポリ(エチレングリコール)(「PEG」)基を含有し得る。コンジュゲーション工程には、通常、水性媒体中での薬剤-リンカーおよび抗体のカップリング工程が含まれるので、PEG 基の多くは、薬剤-リンカーの水溶性を増強する。また、PEG 基は、溶解度を増強し得るか、または得られる ADC の凝集を減少し得る。PEG 基が存在する場合、PEG 基は、スペーサー X^Z または X^D 、あるいは両方のいずれかに組み込まれ得る。PEG 基中のリピート単位数は、2 ~ 20、好ましくは 4 ~ 10 であり得る。

40

【0093】

スペーサー X^Z または X^D 、あるいは両方のいずれかは、自己崩壊基を含み得る。自己崩壊基とは、(1) C、および Z または D のいずれかに結合される基、かつ(2) 基 C からの開裂により、場合によっては Z または D からの開裂により、自己崩壊基自体の結合を開裂させる反応経路が開始されるような構造を有する基である。言い換えると、Z または D と

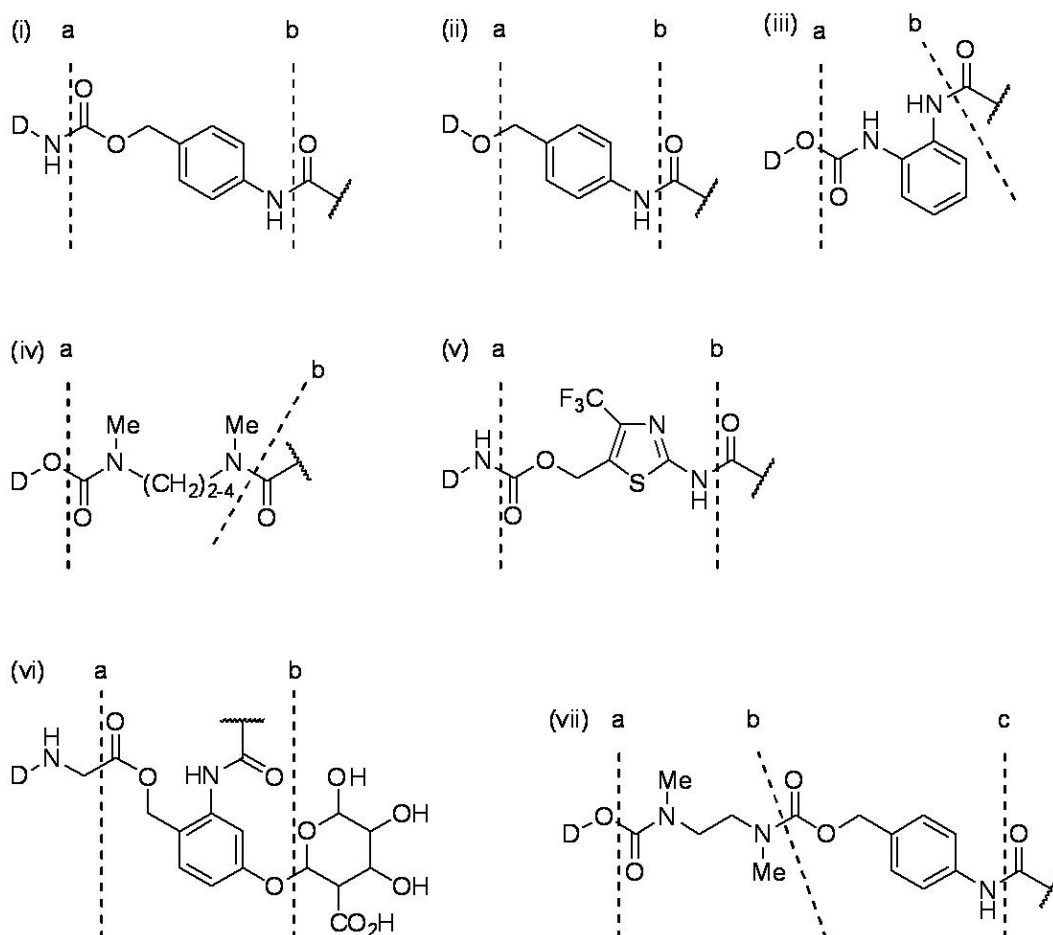
50

は遠い部位での反応(基 C からの開裂)は、 X^Z-Z または X^D-D の結合を同じ様に開裂させる。自己崩壊基の存在は、スペーサー X^D の場合には望ましい。この理由は、コンジュゲートの開裂後に、スペーサー X^D またはその部分が D との結合を維持していた場合、D の生物学的活性が損なわれる可能性があるためである。自己崩壊基の使用は、特に、開裂可能な基 C がポリペプチドである場合に必要であり、この場合、ペプチド開裂と立体的または電氣的な干渉から D を保護するために、自己崩壊基は、通常、ポリペプチドに隣接して配置される。

【0094】

D のヒドロキシル基またはアミノ基に結合された自己崩壊基 (i) - (v) の例を、以下に示す：

【化34】



。

【0095】

自己崩壊基は、点線 a および b (または点線 b および c) の間にある構造であり、隣接する構造的特徴は文脈に示される。自己崩壊基 (i) および (v) は、 $D-NH_2$ (即ち、コンジュゲーションはアミノ基を介する) と結合され、一方で自己崩壊基 (iii)、(iii) および (iv) は、 $D-OH$ (即ち、コンジュゲーションは、ヒドロキシル基またはカルボキシル基による) と結合される。酵素[構造 (i) - (v) の例においてはペプチダーゼ、および構造 (vi) の例においては β -グルクロニダーゼ]による点線 b での結合の開裂により、点線 a で結合の開裂をもたらす自己崩壊の反応経路が開始され、その結果、この場合は $D-OH$ または $D-NH_2$ が放出される。例として、構造 (i) ~ (iv) についての自己崩壊メカニズムを、以下に示す：

10

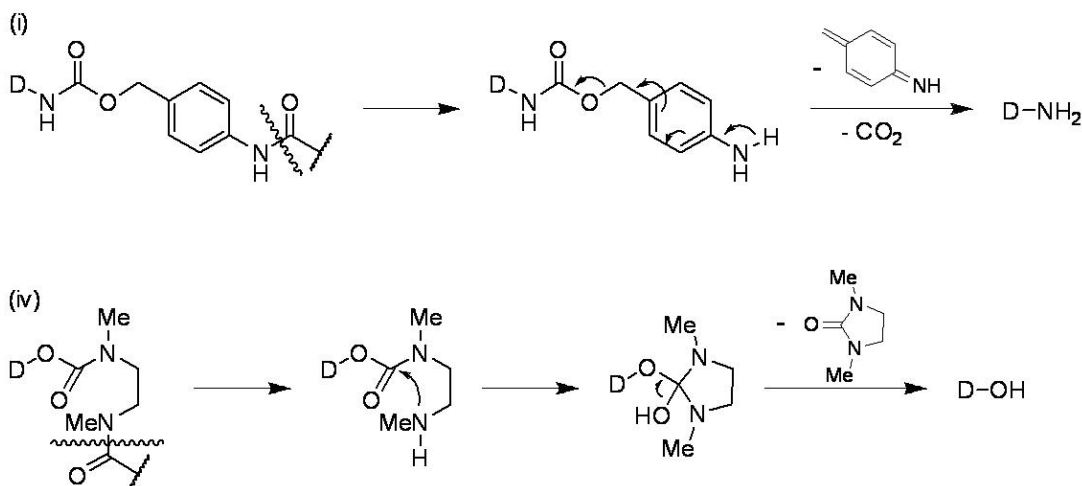
20

30

40

50

【化 3 5】



10

【0096】

言い換えれば、自己崩壊基の一部にて、最初の化学結合の開裂がおり、自己崩壊基の異なる部分で、第二の化学結合(自己崩壊基と薬剤とを連結する結合)の開裂へと至る工程経路が順に開始されて、薬剤が放出される。

20

【0097】

幾つかの例において、自己崩壊基は、構造(vii)に示されるように、縦一列に用いられ得る。そのような場合、点線cでの開裂により、点線bとcとの間の1,6-排除反応により、基の自己崩壊が始まり、その後に環化排除反応により点線aとbとの間に基の自己崩壊がおこる。自己崩壊基に関する更なる開示については、Carl et al., J. Med. Chem. 1981, 24, 479; Carl et al., WO 81/01145(1981); Dubowchik et al., Pharmacology & Therapeutics 1999, 83, 67; Firestone et al., US 6,214,345 B1(2001); Toki et al., J. Org. Chem. 2002, 67, 1866; Doronina et al., Nature Biotechnology 2003, 21, 778(erratum, p. 941); Boyd et al., US 7,691,962 B2; Boyd et al., US 2008/0279868 A1; Sufi et al., WO 2008/083312 A2; Feng, US 7,375,078 B2; Jeffrey et al., US 8,039,273; および Senter et al., US 2003/0096743 A1を参照されたい; これらの開示内容は、出典明示により本明細書に組み込まれる。

30

【0098】

別の実施態様において、ZおよびDは、開裂出来ないリンカーにより結合される(即ち、Cは存在しない)。Dの代謝により、最終的には、リンカーをDの生物学的活性と干渉しない低分子の付加基にまで分解される。

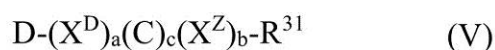
【0099】

コンジュゲーション技術

本明細書において開示されたTLR7アゴニストのコンジュゲートは、好ましくは、Dおよびリンカー(X^D)_a(C)_c(X^Z)_b(式中、 X^D 、C、 X^Z 、a、bおよびcは、式(II)に定義された通りである)を含む化合物を最初に製造して、

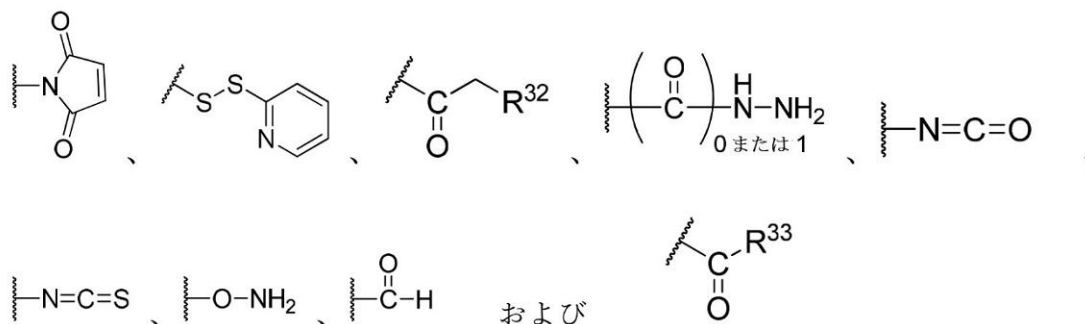
式(V):

【数2】



50

(式中、 R^{31} は、Z上の相補的官能基と反応するために適切な官能基である)
により示される薬剤-リンカー化合物を形成して、コンジュゲートを形成することにより
製造される。適切な基 R^{31} の例は、アミノ、アジド、チオール、シクロオクチン、
【化36】



10

(式中、 R^{32} は、Cl、Br、F、メシレートまたはトシレートであり、 R^{33} は、Cl、
Br、I、F、OH、-O-N-スクシンイミジル、-O-(4-ニトロフェニル)、-
O-ペンタフルオロフェニルまたは-O-テトラフルオロフェニルである)
が包含される。適切な基： $D-(X^D)_a C(X^Z)_b - R^{31}$ を製造するために広く使用でき
る化学的手法は、Ng et al., US 7,087,600 B2(2006); Ng et al., US 6,989,452 B
2(2006); Ng et al., US 7,129,261 B2(2006); Ng et al., WO 02/096910 A1;
Boyd et al., US 7,691,962 B2; Chen et al., US 7,517,903 B2(2009); Gangwar
et al., US 7,714,016 B2(2010); Boyd et al., US 2008/0279868 A1; Gangwar
et al., US 7,847,105 B2(2010); Gangwar et al., US 7,968,586 B2(2011); Sufi
et al., US 8,461,117 B2(2013); および Chen et al., US 8,664,407 B2(2014)に
開示されており、これらの開示内容は、出典明示によりその内容は本明細書に組み込まれ
る。

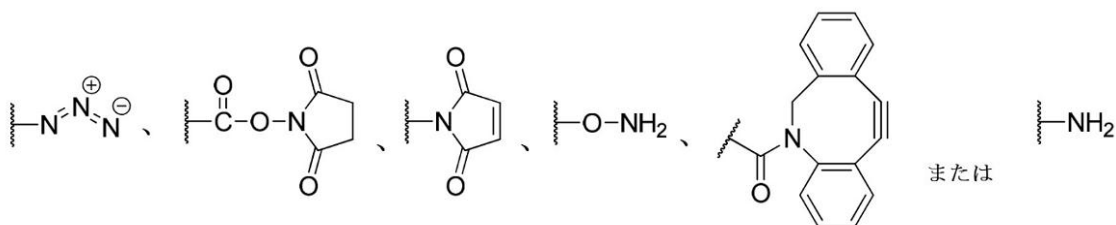
20

【0100】

好ましい反応性官能基- R^{31} は、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SH$ 、マレイミド
、シクロオクチン、アジド($-N_3$)、ヒドロキシルアミノ($-ONH_2$)またはN-ヒドロキ
シスクシンイミドである。特に好ましい官能基- R^{31} は、

30

【化37】



40

である。

【0101】

-OH基は、抗体上のカルボキシ基(例えば、アスパラギン酸またはグルタミン酸側鎖上
の)とエステル化され得る。

【0102】

-CO₂H基は、-OH基とエステル化され得るか、または抗体上のアミノ基(例えば、
リジン側鎖上で)とアミド化され得る。

【0103】

N-ヒドロキシスクシンイミド基は、機能的に活性化されたカルボキシル基であり、ア
ミノ基(例えば、リジンからの)との反応により好都合にアミド化され得る。

50

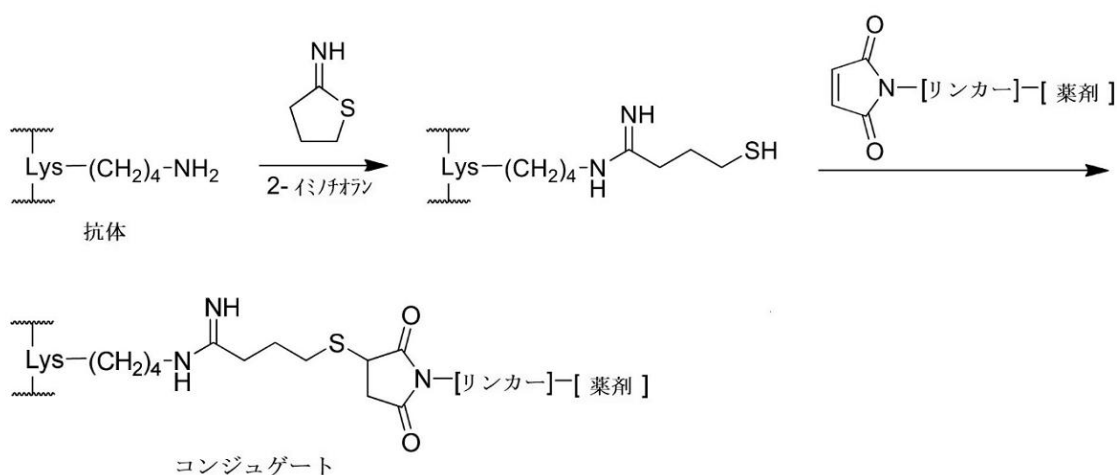
【0104】

マレイミド基は、マイケル付加反応において、抗体上の-SH基(例えば、システインによるか、またはスルフィドリル官能基を導入するような抗体の化学修飾による)とコンジュゲートされ得る。

【0105】

抗体がコンジュゲーションに利用できるシステイン-SHを有さない場合、リジン残基の側鎖内のε-アミノ基を、2-イミノチオランまたはN-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(「SPDP」)と反応させて、遊離チオール(-SH)基を導入して、いわばシステイン代用物を作出することができる。チオール基を、マレイミドまたは他の求核試薬アクセプター基と反応させて、コンジュゲーションを行うことができる。2-イミノチオランを用いた場合のこのメカニズムを下記に示した。

【化38】



【0106】

通常、抗体あたりに2~3つのチオールのチオール化レベルが達成される。代表的な方法については、Cong et al., US 8,980,824 B2(2015)を参照されたい；出典明示により、その内容は本明細書に組み込まれる。

【0107】

逆の配置では、抗体Zを、N-スクシンイミジル 4-(マレイミドメチル)-シクロヘキサンカルボキシレート(「SMCC」)またはそのスルホン化バリエーションであるスルホ-SMCC(これらの両方は、Sigma-Aldrichから購入できる)で修飾して、それらにマレイミド基を導入することができる。その後、コンジュゲーションを、リンカー上の-SH基を有する薬剤-リンカー化合物を用いて行い得る。

【0108】

別のコンジュゲーション方法は、銅不含の「クリック・ケミストリー」を用いるものであり、アジド基が直線状シクロオクチンと付加環化して、1,2,3-トリアゾール環を形成する。例えば、Agard et al., J. Amer. Chem. Soc. 2004, 126, 15046; Best, Biochemistry 2009, 48, 6571を参照されたい；この開示内容は、出典明示により本明細書に組み込まれる。アジドは、抗体上に存在していても、あるいは逆に、薬剤-リンカー基上のシクロオクチンに存在していてもよい。好ましいシクロオクチン基は、ジベンゾシクロオクチン(DIBO)である。DIBO基を有する様々な試薬は、Invitrogen/Molecular Probes, Eugene, Oregonから購入できる。この反応について、DIBO基が、抗体(Ab)：

10

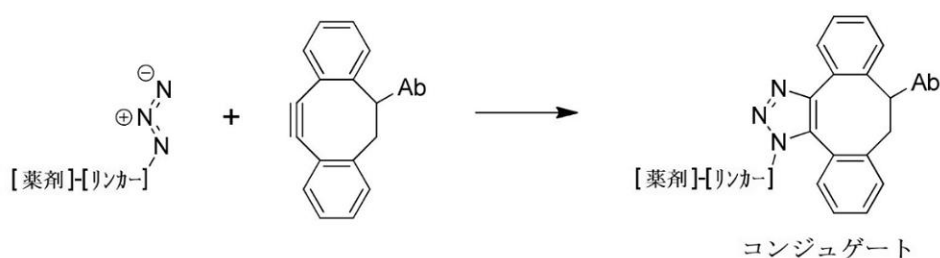
20

30

40

50

【化 3 9】



10

に結合されている例として、クリック・ケミストリー・コンジュゲーションを上記に示す。

【0109】

また別のコンジュゲーション技術には、薬剤基中の反応性官能基とのコンジュゲーションのための官能基を提供する非天然アミノ酸を抗体に導入することが挙げられる。例えば、非天然アミノ酸である p-アセチルフェニルアラニン、Tian et al., WO 2008/030612 A2(2008)に教示の通り、抗体または他のポリペプチドに導入され得る。p-アセチルフェニルアラニン内のケトン基は、リンカー-薬剤基上のヒドロキシルアミノ基とオキシムを形成することによるコンジュゲーション基として存在し得る。あるいは、非天然アミノ酸である p-アジドフェニルアラニンを抗体に組み込んで、上記に説明したようにクリック・ケミストリーによるコンジュゲーションのためにアジド官能基を提供できる。非天然アミノ酸もまた、Goerke et al., US 2010/0093024 A1(2010) and Goerke et al., Biotechnol. Bioeng. 2009, 102(2), 400-416に教示されている通り、細胞不合法を用いて抗体または他のポリペプチド中に組み込まれ得る。前記開示内容は、参照により本明細書に組み込まれる。即ち、一実施態様において、コンジュゲートを作成するために使用される抗体は、非天然アミノ酸により置き換えられた1以上のアミノ酸を有しており、これは、好ましくは、p-アセチルフェニルアラニンまたはp-アジドフェニルアラニン、より好ましくは、p-アセチルフェニルアラニンである。

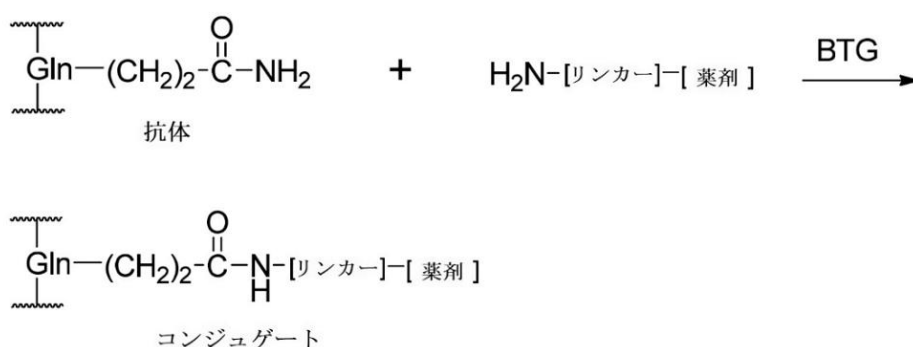
20

【0110】

また別のコンジュゲーション技術は、酵素トランスグルタミナーゼ(好ましくは、Streptomyces mobaraensis由来のバクテリアトランスグルタミナーゼまたはBTG)を使用する技術である(Jeger et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 9995)。BTGは、グルタミンの側鎖のカルボキサミド(アミンアクセプター)およびアルキレンアミノ基(アミンドナー)(例えば、リジンまたは5-アミノ-n-ペンチル基のε-アミノ基であり得る)との間にアミド結合を形成する。典型的なコンジュゲーション反応において、グルタミン残基は、抗体上に存在しており、一方でアルキレンアミノ基は、下記に示したようなリンカー-薬剤基上に存在する：

30

【化 4 0】



40

【0111】

50

ポリペプチド鎖上のグルタミン残基の位置は、B T G 媒介性のアミド基転移に対するその感受性に大きな影響を及ぼす。抗体上のグルタミン残基は、通常B T G 基質ではない。しかし、抗体が脱グリコシル化されれば[該グリコシル化部位は、重鎖のアスパラギン297(N297; E U インデックスによるナンバリング、Kabat et al., "Sequences of proteins of immunological interest." 5th ed., Pub. No. 91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, Md., 1991; 以後「K a b a t」に記載した通り)である]、グルタミン295(Q295)付近がB T G 感受性となる。抗体は、P N G a s e F (ペプチド-N-グリコシダーゼF)を用いる処理により、酵素的に脱グリコシル化され得る。あるいは、定常領域にN297A突然変異を導入することにより、N297グリコシル化部位を排除して、グリコシドを含まずに抗体を合成できる。さらに、N297Q置換は、グリコシル化を排除するのみならず、アミンアクセプターでもある第二のグルタミン残基を(位置297で)誘導できることも判っている。そのため、一実施態様において、抗体は脱グリコシル化される。別の実施態様において、抗体はN297Q置換を有する。合成後の修飾またはN297A突然変異の導入による脱グリコシル化によって、2つのB T G 反応性グルタミン残基/抗体(重鎖あたりに1ヶ所、295位置で)が生成されるが、一方でN297Q置換を有する抗体は、4つのB T G -反応性グルタミン残基(重鎖あたりに2ヶ所、位置295および297で)を有することは当業者には理解されるであろう。

【0112】

抗体は、グルタミン含有ペプチドまたは「タグ(t a g)」(例えば、Pons et al., US 2013/0230543 A1(2013)およびRao-Naik et al., WO 2016/144608 A1教示されている通り)を抗体に導入することにより、B T G 媒介性のコンジュゲーションに感受性となり得る。

【0113】

補完的手法において、B T G の基質特異性は、Rao-Naik et al., WO 2017/059158 A1(2017)に教示された通り、そのアミノ酸配列を改変することにより、非修飾抗体中のグルタミン295と反応できるように変わり得る。

【0114】

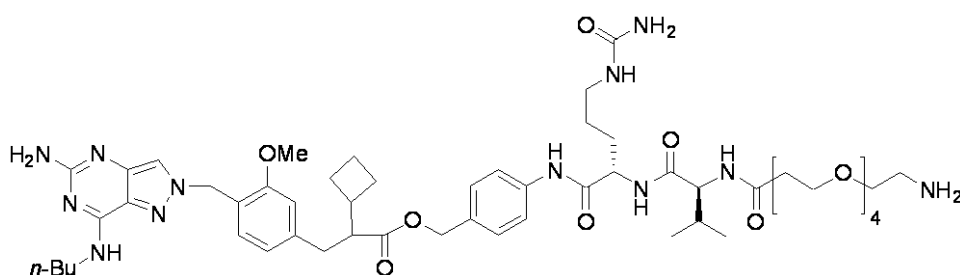
一方で、最も広く利用可能なバクテリアのトランスグルタミナーゼは、*S. mobaraensis*由来のものであるが、多少異なる基質特異性を有するその他のバクテリア由来のトランスグルタミナーゼも、例えばStreptovercillium ladakanum由来のトランスグルタミナーゼなども検討され得る(Hu et al., US 2009/0318349 A1(2009), US 2010/0099610 A1(2010)およびUS 2010/0087371 A1(2010))。

【0115】

第一級または第二級アルキルアミンを有する本発明のT L R 7 アゴニストは、特に、コンジュゲートに使用するために適切であり、第二級アミンはリンカーに結合するための官能基を提供する。かかるT L R 7 アゴニスト-リンカー化合物の例は、化合物41であって、これは、化合物I I a -01から製造することができ、また酵素的に開裂可能なリンカーを含有している。図5は、化合物41を製造することができるスキームを示す。

【0116】

【化41】

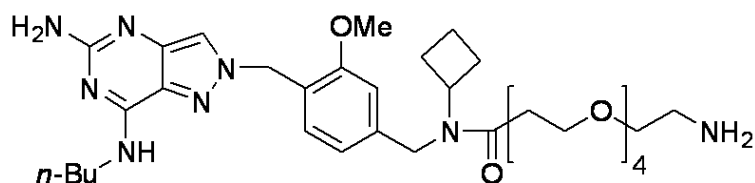


41

【0117】

非酵素的に開裂可能なリンカーを含有するTLR7アゴニストリンカー化合物の例は、化合物43であり、これもまた、化合物IIa-01から製造することができる。図6は、化合物43を合成するための経路を示す。

【化42】



43

10

【0118】

化合物41および43はどちらも、第一級アルキルアミノ基を含有しており、これによりトランスグルタミナーゼを用いてコンジュゲーションすることが可能である。適切なコンジュゲーション方法は、下記の実施例に記述される。

【0119】

コンジュゲーションは、Levary et al., PLoS One 2011, 6(4), e18342; Proft, Biotechnol. Lett. 2010, 32, 1-10; Ploegh et al., WO 2010/087994 A2(2010); および Mao et al., WO 2005/051976 A2(2005)に教示される通り、酵素ソルターゼAを用いても実施され得る。ソルターゼAの認識モチーフ(通常LPXTGであって、Xは任意の天然アミノ酸である)は、リガンドZに存在していてもよく、また求核性アクセプターモチーフ(通常、GGG)は、式(III)中の基 R^{31} であってもよい;あるいは、その逆であってもよい。

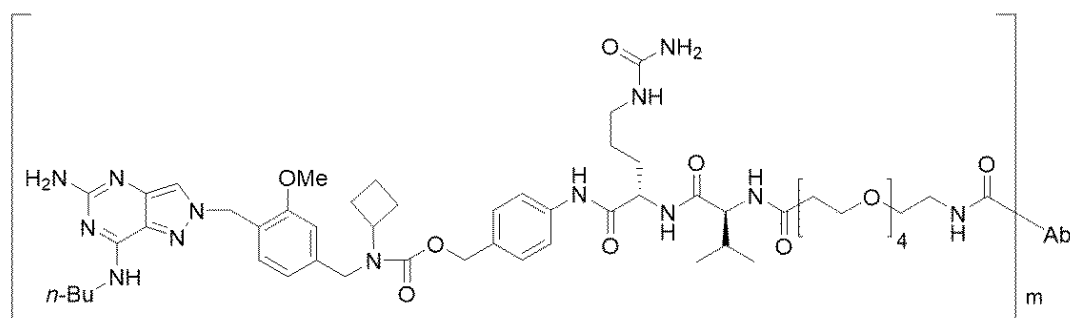
20

【0120】

TLR7アゴニストコンジュゲート

前記技術を用いて、TLR7アゴニストコンジュゲート、例えば下記に示されるコンジュゲートが、製造され得る:

【化43】



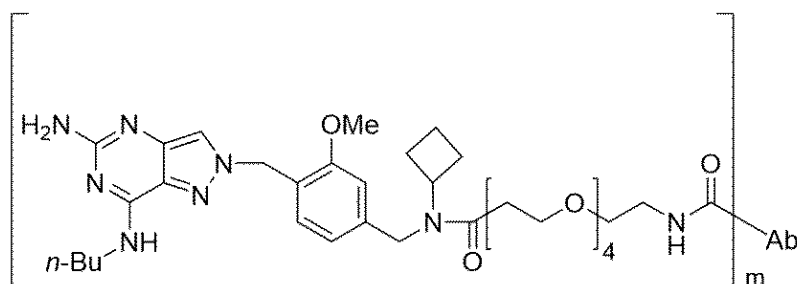
コンジュゲート 1

30

40

50

【化 4 4】



コンジュゲート 2

10

(式中、mは、1、2、3または4であり、Abは抗体である)。

【0121】

ペグ化

ポリ(エチレングリコール)(PEG)鎖および薬剤(「PEG化」)の結合により、後者の薬物動態特性を改善することができる。薬剤の循環半減期は、時には一桁以上も増長されると同時に、目的とする治療効果を達成するのに必要な投薬量を低下することができる。また、PEG化により、薬剤の代謝分解を減らし、その免疫原性を低下させることもできる。概要として、Kolate et al., J. Controlled Release 2014, 192, 167を参照されたい。

20

【0122】

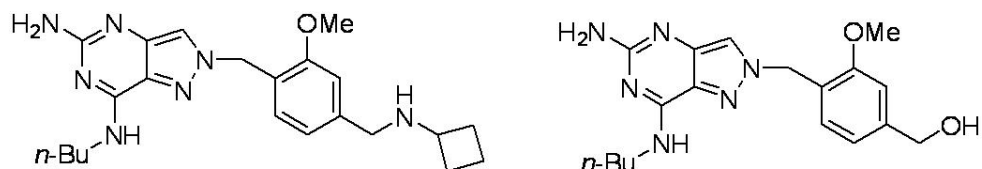
当初PEG化は生物製剤に適用された。2016年の時点では、10以上のPEG化生物製剤が承認されていた(Turecek et al., J. Pharmaceutical Sci. 2016, 105, 460.)。最近では、生物製剤に対するこのコンセプトの適用が成功したことが刺激となって、低分子薬のペグ化が注目されている。前記の利点に加えて、PEG化低分子薬は、溶解度を増加させて、毒性効果を低下させ得る(Li et al. Prog. Polymer Sci. 2013, 38, 421)。

【0123】

本明細書に開示された化合物は、PEG化され得る。化合物が、脂肪族第一級または第二級アミンあるいは脂肪族ヒドロキシル、例えば、矢印で示される位置で下記化合物の場合、化合物は、従来技術を利用して、カルボキシ含有PEG分子(例えば、ジシクロヘキシルカルボジイミド、HATU、N-ヒドロキシスクシンイミドエステルなど)と、エステル、アミド、カーボネートまたはカルバメート基を介してPEG化され得る。医薬分子をPEG化するための様々な別の方法は、Alconcel et al., Polymer Chem. 2011, 2, 1442に開示されており、この開示内容は、出典明示によりその内容を本明細書の一部に組み込まれる。

30

【化 4 5】



40

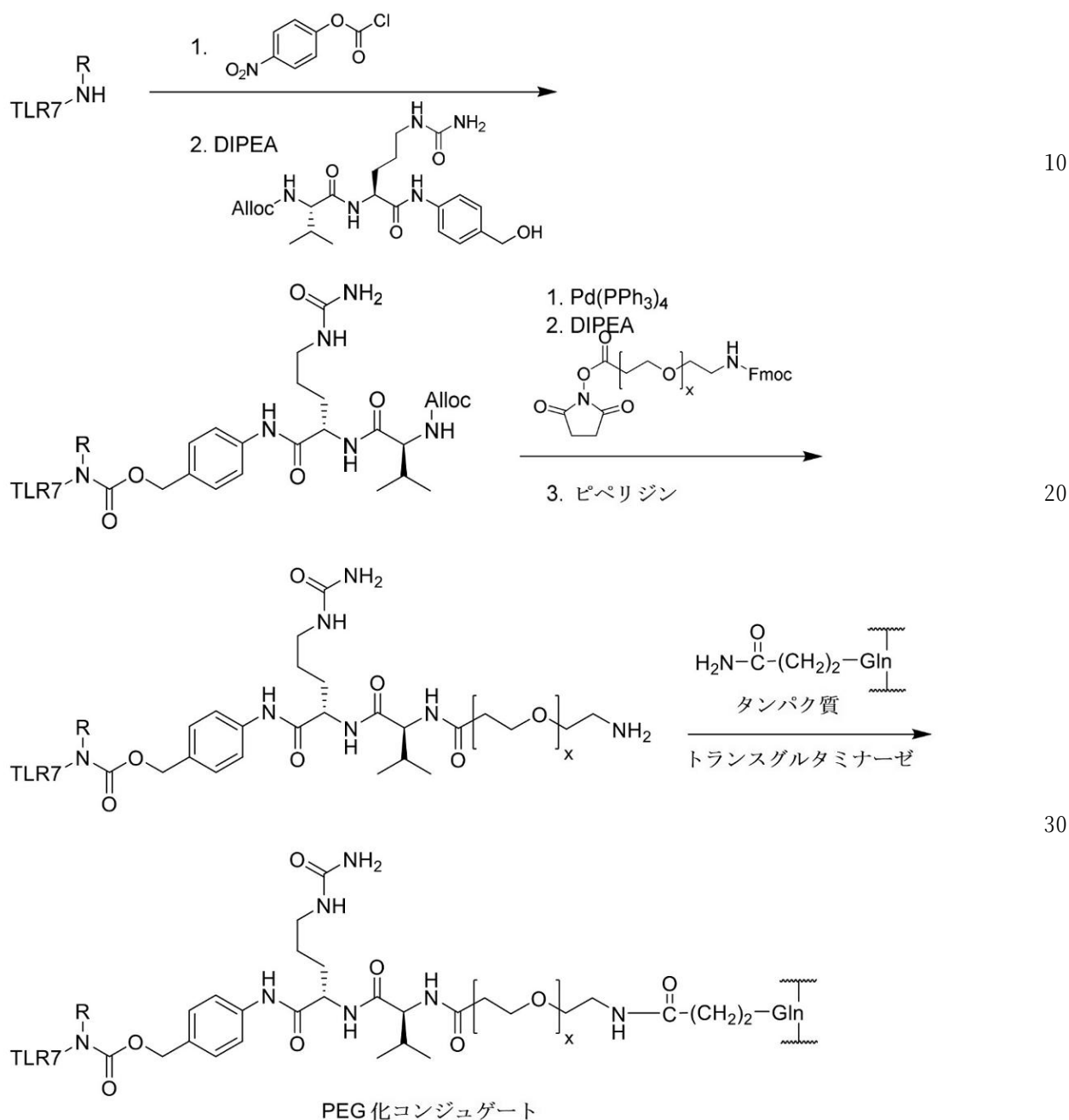
【0124】

必要であれば、本明細書に開示されたTLR7アゴニストを、自己崩壊基を含む酵素的に開裂可能なリンカーを介してPEG化して、所望の様式にて非PEG化アゴニストを放出させることができる。さらに、PEG含有分子が、タンパク質に結合するための適切な官能基、例えばアミンを持っている場合は、PEG化は、抗体などのタンパク質とのコンジュゲーションと組み合わせることができる。このタンパク質は、更なる治療的機能を提

50

供できるか、または、このタンパク質が抗体であれば、ターゲティング機能を提供できる。これらの概念は、以下の反応手順に示され、TLR7-NH-Rは、一般的に、TLR7アゴニスト：

【化46】



数、例えば約 45 ～ 約 910 である。

【0126】

この手順が例示であって、当業者には周知のその他の要因ーペプチド、自己崩壊基、コンジュゲーション方法、PEGの長さなどーを用い得ることは、当業者には理解されよう。上記の手順は、PEG化およびコンジュゲーションを組み合わせているが、PEG化はコンジュゲーションを必要としない(または、必要としてもよい)ことは当業者には理解されよう。

【0127】

化合物に脂肪族ヒドロキシル基または脂肪族の第一級または第二級アミンが無い場合、化合物を、ピリミジン環上の芳香族アミンで更にPEG化することができる。この部位でPEG化するための方法は、Zarraga, US 2017/0166384 A1(2007)に開示されており、この開示内容は、出典明示により本明細書の一部に組み込まれる。

10

【0128】

ある実施態様において、一つの分子内に連結された複数のPEG化されたアゴニストを有することが望まれ得る。例えば、4つのPEG化アームを、ペンタエリトール($C(CH_2OH)_4$)で構築することができ、TLR7アゴニストは、各PEG化アームに結合され得る(Gao et al., US 2013/0028857 A1(2013)を参照されたい；この開示内容は、出典明示により、出典明示により本明細書の一部に組み込まれる。

【0129】

薬物動態を改変するために、一般的には、PEG基は、約2kDa(約45の $-(CH_2CH_2O)-$ リピート単位に相当する)～約40kDa(約910の $-(CH_2CH_2O)-$ リピート単位に対応する)の間、より好ましくは約5kDa～約20kDaの間の式量を有するものが好ましい。即ち、上記式中の下付き文字xの範囲は、約45～約910である。PEG組成物は100%同質ではなく、むしろ分子量の分布を提示することは理解されよう。即ち、参照として、例えば「20kDa PEG」とは、20kDaの平均分子量を有するPEGを意味する。

20

【0130】

PEG化は、アゴニストの溶解度を改善するためにも使用され得る。そのような例には、短いPEG鎖(例えば、2、4、8、12または24のリピート単位を含むもの)が、使用され得る。

30

【0131】

(医薬組成物および投与)

別の態様において、本明細書で開示されている化合物またはそのコンジュゲートを、医薬的に許容される担体または賦形剤と一緒に製剤される医薬組成物が提供する。また、生物学的製剤や低分子製剤などの1以上の別の医薬活性成分を、所望により含んでもよい。本発明の医薬組成物は、別の治療薬、特に抗がん剤との併用療法にて投与することができる。

【0132】

医薬組成物は、1または複数の賦形剤を含んでもよい。使用し得る賦形剤としては、担体、界面活性剤、増粘剤または乳化剤、固体結合剤、分散助剤、懸濁補助剤、可溶化剤、着色剤、香料、コーティング剤、崩壊剤、滑沢剤、甘味料、防腐剤、等張剤およびこれらの組み合わせが挙げられる。適切な賦形剤の選択および使用については、Gennaro, ed., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed.(Lippincott Williams & Wilkins 2003)に教示されている。

40

【0133】

好ましくは、医薬組成物は、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄または表皮への投与(例えば、注射または点滴による)に適切である。投与経路に応じて、活性化合物を、酸の作用や不活性化を起こす可能性のあるその他の自然条件から保護するために、活性化合物をある材料によりコーティングしてもよい。用語「非経口投与」とは、経腸投与および局所投与以外の投与様式を意味し、通常は注射によるものを指し、例えば、静脈内、筋肉内、

50

動脈内、髄腔内、被膜内、眼窩内、心腔内、皮内、腹腔内、経気管内、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内の注射および点滴が挙げられるが、これに限定するものではない。あるいは、医薬組成物は、局所的投与経路、表皮的投与経路または粘膜的投与経路などの非経口投与経路、例えば、鼻腔内、口腔内、膣内、直腸内、舌下または局所的な投与経路を介して投与することができる。

【0134】

医薬組成物は、無菌水溶液または分散液の形で存在し得る。また、高い薬剤濃度を達成するために適切なマイクロエマルジョン、リポソームまたはその他の規則的な構造物に製剤することもできる。前記組成物は、投与前に水中に溶解するために、凍結乾燥物の形態で提供することもできる。

【0135】

単一剤形を製造するために担体材料と組み合わせることができる活性成分の量は、治療対象および特定の投与方法によって異なり、一般的には、治療効果を提供する組成物の量である。一般的には、100%のうち、この量は、約0.01%~約99%の有効成分、好ましくは約0.1%~約70%、最も好ましくは約1%~約30%の有効成分を、医薬的に許容される担体と組み合わせた量である。

【0136】

投与レジメンは、治療効果が得られるように調整される。例えば、1回のボーラス投与を行ってもよく、数回の分割用量を経時的に投与してもよく、あるいは用量を、状況の急性にに応じた適応に合わせて、増減させて投与してもよい。非経口的な組成物は、投与を容易にし、かつ投与量を均一にするために、投薬単位形態にて製剤することが特に有利である。「投与量の単位形態」とは、治療対象に対する単回投与量として適切な物理的に分離された単位であり、各単位には、必要な医薬用担体と関連して、所望の治療効果をもたらすように計算された所定量の活性化合物が含まれている。

【0137】

投与量は、宿主の体重に対して、約0.0001~100mg/kg、より一般的には0.01~5mg/kgの範囲である。例えば、投与量は、0.3mg/kg体重、1mg/kg体重、3mg/kg体重、5mg/kg体重、10mg/kg体重または1~10mg/kgの範囲内、あるいは0.1~5mg/kgの範囲内とすることができる。治療レジメンの例としては、1週間に1回、2週間毎に1回、3週間毎に1回、4週間毎に1回、1ヶ月に1回、3ヶ月に1回または3~6ヶ月に1回の投与である。好ましい投与レジメンとしては、以下の投与スケジュール：(i)4週間ごとに6回投与した後、3ヶ月ごとに投与するスケジュール、(ii)3週間ごとに投与するスケジュール、(iii)3mg/kg体重を1回投与した後、3週間ごとに1mg/kg体重を投与するスケジュールの内の1つを用いて、1mg/kg体重または3mg/kg体重を静脈内投与する方法が挙げられる。いくつかの方法では、投与量を、血漿中の抗体濃度が、約1~1000μg/mLになるように調整し、いくつかの方法においては約25~300μg/mLになるように調整する。

【0138】

本発明の化合物の「治療上有効な量」とは、好ましくは、病状の重症度の軽減、病状が無い期間の頻度と期間の増加または疾患の苦痛による機能不全または障害の予防をもたらす。例えば、腫瘍を有する対象を治療するための、「治療上有効な量」は、治療を受けていない対象と比較して、好ましくは少なくとも約20%、より好ましくは少なくとも約40%、さらに好ましくは少なくとも約60%、さらに好ましくは少なくとも約80%、腫瘍の成長を阻害する。治療上有効な量の治療用の化合物は、腫瘍の大きさを低下させるか、または対象(通常ヒトであるが、他の哺乳類でもよい)の症状を改善することができる。2以上の治療剤を併用して(組み合わせで)投与する場合、「治療上有効な量」とは、個々の治療剤ではなく、全体として、その併用に関する有効性をいう。

【0139】

医薬組成物は、インプラント、経皮パッチおよびマイクロカプセル化送達システムなど

10

20

30

40

50

の放出制御製剤または徐放性製剤であり得る。生分解性の生体適合性ポリマーを使用することができ、例えば、エチレンビニルアセテート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルソエステルおよびポリ乳酸などが挙げられる。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978を参照されたい。

【0140】

治療用組成物は、(1) 無針皮下注射装置、(2) マイクロ注入ポンプ、(3) 経皮装置、(4) 輸液装置、および(5) 浸透圧装置などの医療装置を介して投与することができる。

【0141】

ある実施態様において、医薬組成物は、生体内での適切な分布を確保するように製剤され得る。例えば、本発明の治療用化合物が、血液脳関門を通過することを確実にするために、リポソームに製剤化することが可能であり、このリポソームは、特定の細胞または器官への選択的輸送を強化するために、標的化部位をさらに含むこともできる。

【0142】

(産業上利用性)

本明細書に開示されたTLR7アゴニスト化合物は、TLR7の活性化によって改善され得る疾患または症状を治療するために使用され得る。

【0143】

一実施態様において、TLR7アゴニストは、抗がん免疫療法剤(免疫腫瘍剤としても知られている)と組み合わせて使用される。抗がん免疫療法剤は、体の免疫系を刺激して、特にT細胞を活性化することにより、がん細胞を攻撃して破壊するよう機能する。免疫系には多数のチェックポイント(制御)分子が存在し、正当な標的細胞を攻撃すること、ならびに健康な正常細胞を攻撃しないようにすることのバランスを保っている。チェックポイント分子の中には、刺激因子(アップレギュレーター)となるものがあり、これが作用するとT細胞の活性化が促進され、免疫反応が増強する。一方で、阻害剤(ダウンレギュレーターまたはブレーキ)となるものも存在し、これが作用するとT細胞の活性化が阻害され、免疫反応が抑制される。刺激性チェックポイント分子にアゴニストの免疫療法薬が結合すると、チェックポイント分子が活性化され、がん細胞に対する免疫応答が増強される。逆に、阻害性チェックポイント分子にアゴニストの免疫療法剤を結合させると、チェックポイント分子による免疫系のダウンレギュレーションを防ぎ、がん細胞に対して有効な反応を維持することができる。刺激性チェックポイント分子の例としては、B7-1、B7-2、CD28、4-1BB(CD137)、4-1BBL、ICOS、CD40、ICOS-L、OX40、OX40L、GITR、GITRL、CD70、CD27、CD40、DR3およびCD28Hなどが挙げられる。阻害性チェックポイント分子の例としては、CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG-3、TIM-3、ガレクチン9、CEACAM-1、BTLA、CD69、ガレクチン-1、CD113、GPR56、VISTA、2B4、CD48、GARP、PD1H、LAIR1、TIM-1、CD96、TIM-4が挙げられる。

【0144】

抗がん免疫療法剤の作用機序が何であれ、TLR7の活性化などによる免疫系の全般的なアップレギュレーションによって、その効果を増強することができる。従って、一実施態様においては、本明細書は、抗がん免疫療法剤と本明細書に開示されるTLR7アゴニストとの治療上有効な組み合わせを、前記がん罹患している患者に投与することの特徴とする、がんを治療する方法を提供する。投与のタイミングは、同時に、連続的に、または別々に行うことができる。投与様式は、全身または局所である。TLR7アゴニストは、コンジュゲートを介して、標的化の手法で送達され得る。

【0145】

上記のような併用療法によって治療できるがんには、急性骨髄性白血病、副腎皮質がん、カポジ肉腫、リンパ腫、肛門がん、虫垂がん、テラトイド／ラブドイド腫瘍、基底細胞がん、胆管がん、膀胱がん、骨がん、脳がん、乳がん、気管支腫瘍、カルチノイド腫瘍、

10

20

30

40

50

心臓腫瘍、子宮頸がん、脊索腫、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄増殖性新生物、大腸がん、結腸直腸がん、頭蓋咽頭がん、胆管がん、子宮内膜がん、上衣腫、食道がん、鼻腔神経芽細胞腫、ユーイング肉腫、眼がん、卵管がん、胆嚢がん、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、胚細胞腫瘍、ヘアリーセル白血病、頭頸部がん、心臓がん、肝臓がん、下咽頭がん、膵臓がん、腎臓がん、喉頭がん、慢性骨髄性白血病、口唇/口腔がん、肺がん、メラノーマ、メルケル細胞がん、中皮腫、口腔がん、口唇がん、骨肉腫、卵巣がん、陰茎がん、咽頭がん、前立腺がん、直腸がん、唾液腺がん、皮膚がん、小腸がん、軟部組織肉腫、精巣がん、咽喉がん、甲状腺がん、尿道がん、子宮がん、膣がん、外陰がんなどが挙げられる。

【0146】

10

本明細書で開示されている併用療法に使用できる抗がん免疫療法剤には、以下のものが挙げられる：AMG557、AMP-224、アテゾリズマブ、アベルマブ、BMS936559、セミプリマブ、CP-870893、ダセツズマブ、ダルバルマブ、エノブリツズマブ、ガリキシマブ、IMP321、イピリムマブ、ルカツムマブ、MED1-570、MED1-6383、MED1-6469、ミューロモナブ-CD3、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピディリズマブ、スパルタリズマブ、トレメリムマブ、ウレルマブ、ウトミルマブ、バルリルマブ、ボンレラロリズマブ。以下の表Cには、各々別名(ブランド名、旧名称、リサーチコードまたは同義語)および各々が標的とするチェックポイント分子を示す。

【0147】

20

30

40

50

【表 7】

表C		
免疫療法剤	別名	標的
AMG 557		B7RP-1 (ICOSL)
AMP-224		PD-1
アテゾリズマブ	MPDL3280A, RO5541267, TECENTRIQ®	PD-L1
アベルマブ	BAVENCIO®	PD-L1
BMS 936559		PD-L1
セミプリマブ	LIBTAYO®	PD-1
CP-870893		CD40
ダセツズマブ		CD40
ダルバルマブ	IMFINZI®	PD-L1
エノブリツズマブ	MGA271	B7-H3
ガリキシマブ		B7-1 (CD80)
IMP321		LAG-3
イピリムマブ	YERVOY®	CTLA-4
ルカツムマブ		CD40
MEDI-570		ICOS (CD278)
MEDI-6383		OX40
MEDI-6469		OX40
ミューロモナブ-CD3		CD3
ニボルマブ	OPDIVO®	PD-1
ペムブロリズマブ	KEYTRUDA®	PD-1
ピディリズマブ	MDV9300	PD-1
スパルタリスマブ	PDR001	PD-1
トレメリムマブ	チシリムマブ, CP-675, CP-675, 206	CTLA-4
ウレルマブ	BMS-663513	CD137
ウトミルマブ	PF-05082566	CD137
バルリルマブ	CDX 1127	CD27
ボンレラロリズマブ (Vonlerolizumab)	RG7888, MOXR0916, ポガリズマブ (pogalizumab)	OX40

【0148】

T L R 7 アゴニストとの併用療法の一実施態様において、抗がん免疫療法剤は、アンタゴニスト性の抗 C T L A - 4 抗体、抗 P D - 1 抗体または抗 P D - L 1 抗体である。がんは、肺がん(非小細胞肺がんを含む)、膵臓がん、腎臓がん、頭頸部がん、リンパ腫(ホジキンリンパ腫を含む)、皮膚がん(メラノーマおよびメルケル皮膚がんを含む)、尿路上皮がん(膀胱がんを含む)、胃がん、肝細胞がんまたは大腸がんであり得る。

【0149】

T L R 7 アゴニストとの併用療法の別の実施態様においては、抗がん免疫療法剤は、アンタゴニスト性の抗 C T L A - 4 抗体、好ましくはイピリムマブである。

【0150】

T L R 7 アゴニストとの併用療法の別の実施態様においては、抗がん免疫療法剤は、アンタゴニスト性の抗 P D - 1 抗体であり、好ましくはニボルマブまたはペムブロリズマブである。

【0151】

本明細書に開示した T L R 7 アゴニストは、ワクチンアジュバントとしても有用である。

【0152】

(生物学的活性)

T L R 7 アゴニストとして本明細書に開示された化合物の生物学的活性は、以下の方法によりアッセイされ得る。

【0153】

ヒト T L R 7 アゴニスト活性アッセイ

本方法は、本明細書に開示された化合物のヒト T L R 7 (h T L R 7) アゴニスト活性をアッセイするための方法を記載するものである。

【0154】

ヒト T L R 7 分泌型胚性アルカリホスファターゼ (S E A P) レポーター導入遺伝子を有する遺伝子組換え型ヒト胎児腎由来ブルー細胞 (H E K - B l u e (登録商標) T L R 細胞; Invitrogen) を、10% ウシ胎児血清 (Sigma) を加えた非選択培地 (D M E M 高グルコース (Invitrogen) に懸濁した。H E K - B l u e (登録商標) T L R 7 細胞を、384 ウェル組織培養プレートの各ウェルに加えて (15,000 細胞/ウェル)、37℃、5% C O₂ で 16~18 時間インキュベートした。化合物 (100 n l) を、H E K - B l u e (登録商標) T L R 細胞を入れたウェルに分注し、処理済細胞を、37℃、5% C O₂ でインキュベートした。18 時間処理後、各ウェルに新たに調製した Q u a n t i - B l u e (登録商標) 試薬 (Invivogen) を、10 μ l ずつ加えて、30 分間インキュベートし (37℃ で 5% C O₂)、E n v i s i o n プレートリーダーを用いて S E A P レベルを測定した (O D = 620 n m)。半分の最大有効濃度値 (E C₅₀; アッセイのベースラインと最大値の間の半分の反応を誘発する化合物濃度) を算出した。報告した活性は、複数回の測定の平均値であり得る。

【0155】

ヒト全血中の I 型インターフェロン遺伝子 (M X - 1) および C D 6 9 の誘導

I 型インターフェロン (I F N) M X - 1 遺伝子および B 細胞活性化マーカーである C D 6 9 の誘導は、T L R 7 経路の活性化によりおこる下流の事象である。以下の記載は、T L R 7 アゴニストへの反応におけるそれらの誘導を測定するヒト全血アッセイである。

【0156】

ヘパリン処理したヒト全血を、ヒト対象から採血し、1 mM の試験用 T L R 7 アゴニスト化合物で処理した。血液を R P M I 1640 培地で希釈して、E c h o を用いて、1 ウェルあたり 10 n l に分注して、最終濃度を 1 u M とした (10 u l の血液に 10 n l)。シェーカーで 30 秒間攪拌した後、プレートに蓋をして、37℃ のチャンバー内に 17 時間静置した。固定/溶解用緩衝液を調製して (H₂O 中で 5 x → 1 x, 37℃ に温める; C a t # B D 558049)、後で使用するための P e r m 緩衝液を (氷上で) 保持した。

【0157】

表面マーカー染色 (C D 6 9) のために、0.045 u l の表面 A b s : h C D 14 - F I T C (ThermoFisher Cat # MHCD1401) + 0.6 u l の h C D 19 - e f 450 (ThermoFisher Cat # 48-0198-42) + 1.5 u l の h C D 69 - P E (cat# BD555531) + 0.855 u l の F A C S 緩衝液を調製した。3 u l / ウェルを添加して、1000 r p m で 1 分間回転させた後、シェーカーで 30 秒間攪拌し、30 分間氷上に静置した。30 分後に予め温めておいた 1 x 固定/溶解用緩衝液 (70 u l) を用いて、刺激を停止して、F e l i e x m a t e を使用して、再懸濁し (15 回、各プレート毎にチップを交換)、37℃ で 10 分間インキュベートした。

【0158】

10

20

30

40

50

遠心を行い(2000 rpm, 5分)、HCSプレートウォッシャーで吸引し、シェーカーで30秒間混合した後、dPBS(70 uL)を用いて洗い、2 x (2000 rpm, 5分)ペレット化して、FACSバッファー(50 uL)で洗い、1 x (2000 rpm, 5分)ペレット化した。シェーカーで30秒間攪拌した。細胞内マーカー染色(MX-1)の場合には、BD Perm緩衝液IIIを50 uL加えて、シェーカーで30秒間攪拌した。氷上で30分間インキュベートした(暗所にて)。50 uLのFACS緩衝液で2 X 洗い(per m後に、2300 rpm x 5分間の回転)、その後シェーカーで30秒間攪拌した。MX1抗体((4812)-Alexa 647: Novus Biologicals #NBP2-43704AF647) (20 uL) + FACS緩衝液(20 uL) + 0.8 uL hIgG + 0.04 uL MX-1を含有するFACSバッファー(20 uL)に再懸濁した。1000 rpmで1分間回転させて、シェーカー上で30秒間混合した後、サンプルを、暗所にてRTで45分間インキュベートした後、2 x FACS緩衝液で洗った(per m後、@ 2300 rpm x 5分間)。20 uLのFACS緩衝液(ウェルあたり35 uLの全量)に再懸濁し、ホイルで覆い、4℃で保管して、翌日に実測した。プレートの読み取りは、iQue Plusで行った。結果を、ツールセットに読み込ませて、カーブマスターでIC₅₀曲線を作成した。y軸の100%は、レシキモドの1 uMに設定されている。

【0159】

マウス血液中のTNF-αおよびI型IFN応答遺伝子の誘導

TNF-αおよびI型IFN応答遺伝子の誘導は、TLR7経路の活性化によりおこる下流の事象である。以下の記載は、TLR7アゴニストに反応したマウス全血中のそれらの誘導を測定するアッセイである。

【0160】

ヘパリン処理したマウス全血を、5:4の割合でPen-Strepを含むRPMI 1640培地を用いて希釈した(全血50 uLと培地40 uL)。希釈した血液90 uLを、Falcon平底96ウェル組織培養プレートに分注し、このプレートを、4℃で1時間インキュベートした。試験化合物/100% DMSOストックを、濃度応答アッセイと同じ培地で20倍に希釈して、次いで10 uLの希釈した試験化合物をウェルに加えて、DMSO終濃度を0.5%とした。コントロールウェルに、5% DMSOを含有する10 uLの培地を入れた。次いで、このプレートを、5% CO₂のインキュベーター内において37℃で17時間インキュベートした。インキュベーション後、100 uLの培養培地を各ウェルに加えた。プレートを遠心分離に供し、130 uLの上清を取り出して、ELISA(Invitrogen, Catalog Number 88-7324, Thermo-Fisher Scientific)によるTNFα産生アッセイに使用した。DTTを含有するmRNA捕捉溶解緩衝液(1 x)(70 uL)(the Invitrogen mRNA Catcher Plus kit(Cat#K1570-02)を、残りの70 uLサンプル/ウェルに加えて、ピペティングにより5回上下させて混合した。次いで、プレートを、室温で5~10分間振盪して、その後2 uLのプロテインキナーゼK(20 mg/mL)を各ウェルに加えた。次いで、プレートを、15~20分間室温で振盪した。次いで、プレートを、次の処理を行うまで-80℃で保管した。

【0161】

凍結サンプルを解凍し、Invitrogen社のmRNA Catcher Plus キット(Cat# K1570-02)を用いて、メーカーの指示書に従ってmRNAを抽出した。RNA抽出から得たmRNAの半分量を用いて、Invitrogen社のSuperScript IV VIL0 Master Mix(Cat# 11756500)を用いた20 μLの逆転写酵素反応において、cDNAを合成した。TaqMan(登録商標)リアルタイムPCRは、ThermoFisher社(Applied Biosystems)のQuantStudio Real-Time PCRシステムを用いて行った。全てのリアルタイムPCR反応は、マウスIFIT1、IFIT3、MX1およびPPIA遺伝子発現用に市販されている事前設計されたTaqManアッセイおよびTaqMan Master Mixを用いて二回行った。PPIAを、ハウスキーピング遺伝子として利用した。製造元の指示書に従った。全ての生データ(Ct)を、ハウスキーピング遺伝子の平均値(Ct)を用いて正規化した後

10

20

30

40

50

、比較Ct($\Delta\Delta Ct$)法を用いて遺伝子の相対発現量(RQ)を定量化し、実験の解析を行った。

【0162】

合成

本発明の実施は、以下の実施例を参照して更に理解され得るが、これらは説明を目的として提供されるものであって、制限するものではない。

【0163】

実施例以後の表は、本明細書に使用した頭字語および略語とその意味を記載したものである。

【実施例】

【0164】

実施例1—図1についての化合物の合成

本実施例および図1は、化合物IIa-01の合成に関する。

【0165】

化合物3. メタノール(50 mL)中のメチル 4-アミノ-1H-ピラゾール-5-カルボキシレート2(4 g, 28.3 mmol)およびメチル(Z)-4-(2,3-ビス(メトキシカルボニル)グアニジノ)-1H-ピラゾール-5-カルボキシレート1を、酢酸(8.11 mL, 142 mmol)で処理すると、沈殿が生じた。この反応混合物を終夜攪拌した。ナトリウムメトキシド(64.8 mL, 283 mmol)を加えて、終夜攪拌を続けた。LCMSにより、反応の完了が示された。酢酸をゆっくりと加えて、pHを5に調整すると、沈殿物が形成し、これを水、次いでアセトニトリルで洗い、乾燥させて、5.2 gの化合物3をオフホワイトの固体として得た。

LCMS ESI: $C_7H_7N_5O_3$ についての計算値 = 210.16 ($M+H^+$), 実測値 210.0 ($M+H^+$).

【0166】

化合物4. DMSO(10 mL)中の化合物3(2 g, 9.56 mmol)、ブタン-1-アミン(1.8 mL, 9 mmol)およびDBU(1.6 mL, 10 mmol)を、BOP(5 g, 11 mmol)でゆっくりと処理した。反応混合物を、60°Cで2時間加熱した時点で、反応の完了がLCMSにより示された。この反応物を、80 gのC-18カラムを用いて0~100%アセトニトリル/水(0.1%ギ酸)で溶出する逆相COMBIFLASH(登録商標)装置で直接精製して、化合物4を白色固体として得た。

LCMS ESI: $C_{11}H_{16}N_6O_2$ についての計算値 = 265.28 ($M+H^+$), 実測値 265.2 ($M+H^+$). ^1H NMR(400 MHz, dmsO-d6) δ 8.02(s, 1H), 3.97(s, 3H), 1.74-1.66(m, 2H), 1.49-1.38(m, 2H), 1.25(s, 1H), 0.95(t, J=7.4 Hz, 3H).

【0167】

化合物6. DMF(2 mL)中のメチル 4-(ブロモメチル)-2-メトキシベンゾエート5(1 g, 3.86 mmol)およびシクロブタンアミン5a(0.659 mL, 7.72 mmol)の混合物を、70°Cで30分かけて加熱すると、アミン生成物の形成がLCMSにより確認された。過剰量の塩基を蒸発させて、ヒューニツヒ塩基(1.348 mL, 7.72 mmol)を加え、次いでBoc無水物(0.896 mL, 3.86 mmol)を加えた。LCMSにより、反応の完了が認められた。溶媒を蒸発させて、粗生成物を、EtOAc/ヘキサンを用いてCOMBIFLASH(登録商標)装置で精製し、0.82 gの目的生成物6を、無色油状物として得た。

LCMS ESI: $C_{19}H_{27}NO_5$ についての計算値 = 350.42 ($M+H^+$), 実測値 350.1 ($M+H^+$).

【0168】

化合物7. 0°Cで、THF(5 mL)中の化合物6(0.82 g, 2.347 mmol)の溶液を、LiAlH₄(THF中で2 M, 1.173 mL, 2.347 mmol)を用いてゆっくりと処理し、30分間攪拌すると、反応の完了がLCMSにより示された。この反応を、ゆ

10

20

30

40

50

つくりとメタノールを添加してクエンチし、ロッシェル塩溶液で2時間攪拌した。有機層を分離し、粗生成物7を、EtOAc／ヘキサンによるシリカゲルカラムを用いるCOMBIFLASH(登録商標)装置で精製した。

LCMS ESI: $C_{18}H_{27}NO_4$ についての計算値 = 322.41 ($M+H^+$), 実測値 322.1 ($M+H^+$).

【0169】

化合物8および9. THF (3 mL) 中の化合物4 (100 mg, 0.378 mmol)、化合物7 (182 mg, 0.568 mmol)、トリフェニルホスフィン (248 mg, 0.946 mmol) の混合物を、DIAD (0.110 mL, 0.568 mmol) を用いて5分間かけてゆっくりと処理し、 N_2 下において、RT で30分間攪拌すると、反応の完了がLCMSにより示された。溶媒を蒸発させて、粗生成物を80 g のC-18カラムを用いる0~100%のアセトニトリル／水 (1 mM TEAA) で溶出する逆相COMBIFLASH (登録商標) 装置で精製して、化合物8および9の混合物を、白色固体として得た。

LCMS ESI: $C_{29}H_{41}N_7O_5$ についての計算値 = 566.69 ($M-H^+$), 実測値 566.3 ($M-H^+$).

【0170】

カラム: Kromasil 5-CelluCoat, 21 x 250 mm, 5ミクロン, 移動相: 15% MeOH-DEA / 85% CO_2 , フロー条件: 45 mL/min, 150バール, 40°C, 検出波長: 230 nm, インジェクション詳細: MeOH中で~25 mg/mL (0.5 mL) を用いるキラル超臨界流体クロマトグラフィーにより、異性体を分離して、17 mg の化合物8および25 mg の化合物9を得た。

【0171】

化合物8についての分析データ: ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.61 (s, 2H), 7.86 (s, 2H), 6.94 (s, 2H), 6.83 (s, 2H), 6.63 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 6.51 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 5.69 (s, 4H), 4.39 (s, 4H), 3.79 (s, 6H), 3.63 (s, 6H), 3.48 (d, $J=6.2$ Hz, 4H), 3.33 (s, 20H), 3.18 (d, $J=5.3$ Hz, 1H), 2.05-1.95 (m, 8H), 1.53 (t, $J=7.5$ Hz, 7H), 1.35 (s, 11H), 1.23 (q, $J=7.2$ Hz, 6H), 0.86 (t, $J=7.4$ Hz, 6H).

化合物9についての分析データ: ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.37 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.71 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 5.48 (s, 2H), 4.42 (s, 3H), 3.78 (d, $J=18.0$ Hz, 4H), 3.69 (s, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.51-3.42 (m, 3H), 2.06-1.97 (m, 6H), 1.61-1.47 (m, 6H), 1.36 (s, 8H), 1.34-1.26 (m, 6H), 0.99 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 0.94-0.85 (m, 4H).

【0172】

化合物8a. 化合物8 (13 mg, 0.023 mmol) の溶液を、THF (0.5 mL) に溶解して、TFA (0.018 mL, 0.229 mmol) で処理した。30分後、LCMSによりBocの脱保護が確認された。TFAを蒸発させて、混合物を水酸化ナトリウム (9.16 mg, 0.229 mmol) で処理し、60°Cで2時間加熱した時点で、反応の完了がLCMSにより示された。塩基を、6M塩酸を徐々に添加して中和し、EtOAc／水により後処理した。この粗製物質を、以下の条件で分取HPLCにより精製した; カラム: X-Bridge C18, 200 mm x 19 mm, 5 μ m 粒子; 移動相A: 5:95 アセトニトリル:水 (10 mM 酢酸アンモニウムを含有する); 移動相B: 95:5 アセトニトリル:水 (10 mM 酢酸アンモニウムを含有する); グラジエント: 7% Bで0分保持、20分かけて7~47% B、その後100% Bで4分保持; 流速 20 mL/min.

LCMS ESI: $C_{22}H_{31}N_7O$ についての計算値 = 410.5 ($M+H^+$), 実測値 410.2 ($M+H^+$). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.54 (s, 3H), 7.02 (s, 3H), 6.76 (d, $J=7.6$ Hz, 3H), 6.47-6.38 (m, 5H), 5.60 (d, $J=11.5$ Hz, 10H), 3.58 (s, 2H), 3.47 (s, 1H), 3.42 (s, 2H), 3.38 (s, 2H), 3.18-3.11 (m, 2H), 2.02 (s, 4H), 1.90 (s, 5H), 1.70 (t, $J=9.5$ Hz, 5H), 1.60 (d, $J=9.8$ Hz, 3H), 1.49 (dt, $J=24.2, 8.3$ Hz, 9H), 1.36 (d, $J=19.4$ Hz, 4H), 1.20 (dt, $J=15.0, 7.$

2 Hz, 6H), 0.84(t, J=7.4 Hz, 9H).

【0173】

化合物II a-01. 化合物II a-01を、化合物8aに使用した方法と同様の手法で製造した。LCMS ESI: $C_{22}H_{31}N_7O$ についての計算値=410.5(M-H⁺), 実測値410.2(M-H⁺). ¹H NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ 7.64(s, 1H), 7.02(s, 1H), 6.90(d, J=7.7 Hz, 1H), 6.85(d, J=7.6 Hz, 1H), 5.75(s, 1H), 5.37(s, 2H), 3.56(s, 1H), 3.18-3.11(m, 1H), 2.55(s, 3H), 2.04(d, J=9.0 Hz, 2H), 1.88(s, 6H), 1.71(t, J=9.7 Hz, 2H), 1.56(dq, J=19.1, 10.6, 10.2 Hz, 4H), 1.31(q, J=7.7 Hz, 2H), 0.88(t, J=7.4 Hz, 3H).

【0174】

実施例2-図2A-2Bについての化合物の合成

この実施例および図2A-2Bは、化合物II a-14およびII a-19および同様に製造したその他の化合物の合成に関する。

化合物12および13: メチル 4-ニトロ-1H-ピラゾール-5-カルボキシレート10(3.27g, 19.11mmol)/DMF(20mL)の溶液を、K₂CO₃(2.90g, 21.02mmol)およびメチル 4-(ブロモメチル)-3-メトキシベンゾエート11(5g, 19.30mmol)で処理した。反応を0℃で開始し、1時間進行させると、~1:5の混合物で反応が完了したことがLCMSにより示された。塩基をろ過して、反応物をEtOAcで希釈し、水で2回洗った。溶媒を蒸発させ、粗生成物を、そのまま次の工程に用いた。

LCMS ESI: $C_{15}H_{15}N_3O_7$ についての計算値=350.2(M-H⁺), 実測値350.0(M-H⁺).

【0175】

特徴分析を目的として、少量の生成物の混合物を、0~50% EtOAc/ヘキサンによるシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離した。

【0176】

化合物12についての分析データ: ¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.40(s, 1H), 7.57(dd, J=7.8, 1.5 Hz, 1H), 7.50(d, J=1.6 Hz, 1H), 7.27(d, J=7.9 Hz, 1H), 5.53(s, 2H), 3.96(s, 3H), 3.84(d, J=16.2 Hz, 6H).

化合物13についての分析データ: ¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.05(s, 1H), 7.62-7.51(m, 2H), 7.28(d, J=7.9 Hz, 1H), 5.47(s, 2H), 3.87(s, 8H), 3.31(s, 1H).

【0177】

化合物14および15. 化合物12および13(2g, 5.73mmol)、亜鉛およびギ酸アンモニウムの溶液を、室温で2時間攪拌した後、反応の完了がLCMSにより示された。濾過および濃縮により、化合物14および15の粗製混合物を得た。LCMS ESI: $C_{15}H_{17}N_3O_5$ についての計算値=320.3(M+H⁺), 実測値320.2(M+H⁺).

【0178】

化合物16および17. MeOH(20mL)中の化合物14および15(1.830g, 5.73mmol)と化合物1の混合物を、酢酸(1.640mL, 28.7mmol)で処理し、終夜攪拌した。この溶液を、ナトリウムメトキシド(13.11mL, 57.3mmol)で処理し、終夜攪拌した。LCMSにより、生成物への変換が示された。pHを5に調整し、得られた沈殿物を水で洗った。残留物を乾燥させて、化合物16および17の混合物を得た。

LCMS ESI: $C_{17}H_{17}N_5O_6$ についての計算値=388.3(M+H⁺), 実測値388.1(M+H⁺).

【0179】

化合物18および19. DMSO(10mL)中の化合物16および17(1g, 2.58mmol)の混合物を、ブタン-1-アミン(0.510mL, 5.16mmol)、DBU(0.428mL, 2.84mmol)、次いでBOP(1.370g, 3.10mmol)でゆっくり

と処理した。反応混合物を70℃で2時間加熱した時点で、反応の完了がLCMSにより示された。反応混合物を水で希釈し、EtOAcで抽出した。合わせた有機相をNa₂SO₄上で乾燥させ、そのまま次の工程に用いた。

LCMS ESI: C₂₁H₂₆N₆O₅についての計算値=443.4(M+H⁺), 実測値443.2(M+H⁺). ¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.41(s, 1H), 8.20(s, 1H), 8.08(s, 1H), 7.57–7.42(m, 3H), 6.93(d, J=8.1 Hz, 1H), 5.80(s, 1H), 5.60(s, 2H), 4.04(q, J=7.1 Hz, 1H), 3.95–3.82(m, 10H), 3.62(d, J=6.1 Hz, 4H), 3.45(q, J=7.0 Hz, 3H), 2.68(d, J=9.9 Hz, 1H), 2.57–2.50(m, 6H), 2.00(s, 1H), 1.59(p, J=7.3 Hz, 3H), 1.54–1.48(m, 1H), 1.39–1.26(m, 3H), 1.18(t, J=7.1 Hz, 2H), 0.86(dt, J=29.5, 7.3 Hz, 5H).

10

【0180】

化合物18aおよびIIa-14. 0℃の化合物18および19(1.142 g, 2.58 mmol)/THF(2.58 mL, 5.16 mmol)の溶液を、LiAlH₄(THF, 2.58 mL, 5.16 mmol)で処理し、1時間撹拌した後、LCMSにより反応の完了が示された。反応を、MeOHでクエンチし、ロッシェル塩溶液で終夜撹拌した。生成物をEtOAcで抽出し、粗製化合物の還元された中間体の混合物として次の工程に用いた。

LCMS ESI: C₂₀H₂₆N₆O₄についての計算値=415.4(M+H⁺), 実測値415.2(M+H⁺).

【0181】

1,4-ジオキサン(10 mL)中の還元された中間体(1069 mg, 2.58 mmol)の混合物を、水酸化ナトリウム水溶液(2.58 mL, 25.8 mmol)で処理し、80℃で5時間加熱した後、LCMSにより生成物の形成が確認された。この塩基を6 M 塩酸で中和し、溶媒を蒸発させた。残留物を、5 mLのDMFに移し取り、シリンジにより濾過した。溶媒を蒸発させて、化合物18aおよびIIa-14の3:1の混合物を得た。

20

LCMS ESI: C₁₈H₂₄N₆O₂についての計算値=357.4(M+H⁺), 実測値357.2(M+H⁺).

【0182】

化合物18bおよびIIa-19. THF(1 mL)中の化合物Ia-38およびIIa-14(420 mg, 1.178 mmol)の溶液を、塩化チオニル(0.172 mL, 2.357 mmol)で処理し、30分間撹拌した後、反応の完了がLCMSにより示された。溶媒を蒸発させ、粗生成物をそのまま次の工程に用いた。

30

LCMS ESI: C₁₈H₂₃ClN₆Oについての計算値=375.8(M+H⁺), 実測値375.2(M+H⁺).

【0183】

DMF(1 mL)中の前記粗生成物混合物(20 mg, 0.053 mmol)およびテトラヒドロ-2H-ピラン-4-アミン22(5.40 mg, 0.053 mmol)の混合物を、70℃で1時間加熱した後、反応の完了がLCMSにより示された。反応混合物を、シリンジ濾過し、粗生成物を、以下の条件の分取LC/MSで精製および分離した: カラム; XBridge C18, 200 mm x 19 mm, 5 μm粒子; 移動相A: 5:95 アセトニトリル: 水(0.1%トリフルオロ酢酸を含有する); 移動相B: 95:5 アセトニトリル: 水(0.1%トリフルオロ酢酸を含有する); グラジエント: 6% Bで2分保持、25分かけて6~27% B、その後100% Bで2分保持; 流量: 20 mL/min; カラム温度: 25℃: 画分の回収は、MSシグナルにより開始された。目的とする生成物を含む画分を合わせて、遠心蒸発により、乾燥させた。

40

【0184】

IIa-19についての分析データ: LCMS ESI: C₂₃H₃₃N₇O₂についての計算値=440.5(M+H⁺), 実測値440.1(M+H⁺). ¹H NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ 9.39(s, 1H), 7.98(s, 1H), 7.94(s, 0H), 7.86(s, 1H), 7.24(s, 1H), 7.14–7.03(m, 2H), 5.51(s, 2H), 4.16(s, 2H), 3.96–3.90(m, 2H), 3.84(s, 3H), 3.29(d, J=11.6 Hz, 2H), 2.89(s, 1H), 2.73(s, 1H), 2.55(s, 1H), 2.00

50

(d, J=12.6 Hz, 2H), 1.58(p, J=7.5 Hz, 4H), 1.31(q, J=7.5 Hz, 2H), 0.89(t, J=7.4 Hz, 3H).

【0185】

追加の化合物を、化合物IIa-19と同様に製造したが、最終工程においてテトラヒドロ-2H-ピラン-4-アミン22の代わりに、表Dに示したアミンを使用した。

【表8】

表D -化合物IIa-19と同様に製造された化合物			
化合物番号	予測値 (M+H)	実測値 (M+H)	構造
IIa-02	425.5	425.2	ピペラジン
IIa-03	400.4	400.3	2-アミノエタン-1-オール
IIa-04	413.5	413.1	プロパン-1,3-ジアミン
IIa-05	447.5	447.2	ピリジン-4-イルメタンアミン
IIa-06	427.5	437.1	2-アザスピロ[3.3]ヘプタン-6-アミン
IIa-07	426.5	426.1	オキセタン-3-イルメタンアミン
IIa-08	454.5	454.1	4-アミノシクロヘキサン-1-オール
IIa-09	426.5	426.0	3-アミノシクロブタン-1-オール
IIa-10	461.1	461.3	4-(アミノメチル)アニリン
IIa-11	462.5	462.1	2-(メチルスルホニル)エタン-1-アミン
IIa-12	495.6	495.1	オクタヒドロピロロ[3,4-c]ピロール
IIa-15	412.5	412.2	オキセタン-3-アミン
IIa-17	469.6	469.2	2-(ピペラジン-1-イル)エタン-1-オール
IIa-18	451.5	450.9	2,6-ジアザスピロ[3.3]ヘプタン
IIa-20	428.5	428.2	1-アミノ-2-メチルプロパン-2-オール
IIa-21	407.4	407.0	1H-イミダゾール
IIa-22	414.5	414.2	2-メトキシエタン-1-アミン
IIa-23	440.5	440.3	2-(アゼチジン-3-イル)エタン-1-オール
IIa-24	440.5	439.9	3-(アミノメチル)シクロブタン-1-オール

10

20

30

40

50

【表 9】

表D -化合物IIa-19と同様に製造された化合物			
化合物番号	予測値 (M+H)	実測値 (M+H)	構造
IIa-25	476.5	476.3	2-(4-アミノフェニル)エタン-1-オール
IIa-26	428.5	427.9	3-(メチルアミノ)プロパン-1-オール
IIa-27	437.5	437.9	2,5-ジアザビシクロ[2.2.1]ヘプタン
IIa-28	454.5	453.9	(1-アミノシクロペンチル)メタノール
IIa-29	439.5	438.9	1,4-ジアゼパン
IIa-30	426.5	426.3	モルホリン
IIa-31	424.5	424.2	ピペリジン
IIa-32	410.5	410.1	ピロリジン
IIa-33	412.5	412.1	ブタン-1-アミン
IIa-34	412.5	412.2	2-メチルプロパン-2-アミン
IIa-36	439.5	439.2	1-メチルピペラジン

【0186】

実施例3 - 図3についての化合物の合成

化合物IIa-35を、図3の合成スキームに従って製造した。予測値(M+H)401.4；実測値401.1.

【0187】

実施例4 - 図4A-4Bについての化合物の合成

本実施例および図4A-4Bは、化合物IIb-01、IIb-04および同様に製造した他の化合物の合成に関する。

【0188】

化合物30. ジオキサン(5mL)中の化合物4(400mg, 1.513mmol)の懸濁液を、水酸化ナトリウム(水中で10N, 1.513mL, 15.13mmol)で処理し、60℃で45分間撹拌した。反応混合物を濃縮した。粗生成物を水に溶解し、150gのC-18カラムを用いたCOMBIFLASH(登録商標)ユニットの逆相クロマトグラフィーにより、10mM TEAA/アセトニトリル：水中で10mMを0~70%のグラジエントで溶出して精製した。目的とする画分を凍結乾燥させて、化合物30(150mg, 0.727mmol, 48.1%収率)を得た。

LCMS ESI: C₉H₁₅N₆についての計算値=207.1(M+H⁺), 実測値207.2(M+H⁺). ¹H NMR(400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.56(br s, 1H), 5.53(br s, 2H), 3.43(br d, J=6.2 Hz, 2H), 1.57(t, J=7.2 Hz, 2H), 1.44 - 1.29(m, 2H), 0.95 - 0.76(m, 3H).

【0189】

化合物33. DMF(26.3mL)中の6-フルオロニオコチンアルデヒド31(1.809g, 14.46mmol)、メチル 4-ヒドロキシベンゾエート32(2g, 13.15mmol)およびK₂CO₃(1.998g, 14.46mmol)の懸濁液を、110℃で4時間

撹拌した。LCMSにより、反応の完了が示された。冷却した後に、この反応を、水でクエンチした。得られる固体を、濾取して、水で洗い、真空乾燥させて、化合物33(3.30g, 12.84mmol, 95.1%収率)を得た。

LCMS ESI: $C_{14}H_{11}NO_4$ についての計算値 = 258.1 ($M+H^+$), 実測値 258.0 ($M+H^+$). ^1H NMR(400 MHz, クロロホルム-d) δ 10.01(s, 1H), 8.63(d, $J=2.4$ Hz, 1H), 8.23(dd, $J=8.6, 2.4$ Hz, 1H), 8.17 - 7.97(m, 2H), 7.27 - 7.22(m, 2H), 7.10(d, $J=8.6$ Hz, 1H), 3.93(s, 3H).

【0190】

化合物34. MeOH(100mL)中の化合物33(3.76g, 14.62mmol)の溶液を、0℃でNaBH₄(0.553g, 14.62mmol)を用いて数回に分けて処理した後、冷却しながら10分間撹拌した。LCMSにより、反応の完了が示された。半飽和のNH₄Clを、ゆっくりと加えて反応をクエンチした。撹拌を、RTで30分間続けた。反応混合物を、酢酸エチルで抽出した。有機抽出物をNa₂SO₄上で乾燥させて、濾過して、濃縮した。粗製固体を水中で混合して、濾取し、真空乾燥させて、化合物34(3.37g, 13.00mmol, 89%収率)を得た。

LCMS ESI: $C_{14}H_{13}NO_4$ についての計算値 = 260.1 ($M+H^+$), 実測値 260.0 ($M+H^+$). ^1H NMR(400 MHz, クロロホルム-d) δ 8.21(d, $J=2.2$ Hz, 1H), 8.12 - 8.04(m, 2H), 7.81(dd, $J=8.4, 2.4$ Hz, 1H), 7.21 - 7.13(m, 2H), 6.99(d, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.71(s, 2H), 3.91(s, 3H).

【0191】

化合物35. 化合物34(7.9g, 30.5mmol)/DCM(75mL)を、0℃でMSCl(2.61mL, 33.5mmol)により処理した。RTで16時間撹拌した後、反応を行った。この反応を水でクエンチした。DCM(3×20mL)で抽出した後、合わせた有機抽出液を、Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過して、濃縮した。粗製生成物をISCOシリカカラム(80g)で精製し、酢酸エチル：ヘキサン(0～70%のグラジエントで溶出した。目的とする画分を濃縮して、化合物35(7.47g, 26.9mmol, 88%収率)を得た。

LCMS ESI: $C_{14}H_{13}ClNO_3$ についての計算値 = 278.1 ($M+H^+$), 実測値 278.0 ($M+H^+$). ^1H NMR(400 MHz, クロロホルム-d) δ 8.19(d, $J=2.2$ Hz, 1H), 8.13 - 8.02(m, 2H), 7.79(dd, $J=8.5, 2.5$ Hz, 1H), 7.22 - 7.14(m, 2H), 6.99(d, $J=8.6$ Hz, 1H), 4.57(s, 2H), 3.92(s, 3H).

【0192】

化合物36および37. DMF(1mL)中の化合物30(70mg, 0.339mmol)を、炭酸セシウム(332mg, 1.018mmol)で処理し、続いて化合物35(94mg, 0.339mmol)を処理した。RTで5時間撹拌した後、反応が完了した。水でクエンチし、酢酸エチル(3×10mL)で抽出した後、合わせた有機抽出液をNa₂SO₄上で乾燥させ、濾過して、濃縮した。粗生成物を、ISCOシリカカラム(24g)で精製し、DCM中の20%MeOH：DCMの0～60%のグラジエントで溶出した。目的とする画分を濃縮し、化合物36および37の混合物(120mg, 0.080mmol, 収率79%)を1：4の比率で得た。

LCMS ESI: $C_{23}H_{26}N_7O_3$ についての計算値 = 448.2 ($M+H^+$), 実測値 448.3 ($M+H^+$).

【0193】

化合物36aおよびIIb-01. THF(2mL)中の化合物36および37(60mg, 0.114mmol)の混合物を、N₂下において、0℃でLiAlH₄(THF中で1.0M, 0.22mL, 0.22mmol)を用いてゆっくりと処理した。反応混合物を、0℃で1時間撹拌すると、その時点で反応の完了がLCMSにより示された。Na₂SO₄-10・H₂Oをゆっくりと加えて、その後MeOHを加え、RTで3時間撹拌することで反応をクエンチした。固体を濾去した。濾液を濃縮した。残留物をDMFに溶解し、生成物を以下の条件で分取LC/MSにより精製した：カラム；XBridge C18, 200

mm x 19 mm, 5 μ m 粒子; 移動相 A: 5:95 アセトニトリル:水(0.1%トリフルオロ酢酸を含有する); 移動相 B: 95:5 アセトニトリル:水(0.1%トリフルオロ酢酸を含有する); グラジエント: 10% B で 0 分保持、20 分かけて 10~45% B、その後 100% B で 4 分間保持; 流速: 20 mL/分。画分の回収は、MS および UV シグナルにより開始した。目的とする生成物を含む画分を合わせて、遠心分離で乾燥させた。

化合物 I Ib-01 についての分析データ: LCMS ESI: $C_{22}H_{26}N_7O_2$ についての計算値 = 420.2 (M+H⁺), 実測値 420.2 (M+H⁺). ¹H NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ 9.45 - 9.29(m, 1H), 8.21 - 8.15(m, 1H), 8.13(s, 1H), 7.86 - 7.78(m, 1H), 7.78 - 7.68(m, 1H), 7.35(br d, J=8.2 Hz, 2H), 7.08 - 7.03(m, 2H), 7.03 - 6.99(m, 1H), 5.52(s, 2H), 4.50(br d, J=4.9 Hz, 2H), 2.98 - 2.82(m, 2H), 1.65 - 1.51(m, 2H), 1.40 - 1.27(m, 2H), 0.90(br t, J=7.2 Hz, 3H).
【0194】

化合物 I Ib-04. THF (1 mL) 中の化合物 36a および化合物 I Ib-04 (40 mg, 0.095 mmol) の混合物を、塩化チオニル(0.14 mL, 1.9 mmol) で処理した。RT で 3 時間撹拌した後、LCMS により反応の完了が確認された。溶媒を蒸発させ、過剰量の塩化チオニルを、DCM と共沸させて除去した。粗製塩化物を、さらなる精製を行うことなく次の工程に直接用いた。LCMS ESI: $C_{22}H_{25}N_7O$ についての計算値 = 438.2 (M+H⁺), 実測値 438.1 (M+H⁺).
【0195】

前項塩化物(40 mg, 0.091 mmol) の混合物を、DMF (1.0 mL) に溶解し、2-アミノエタン-1-オール(55.0 μ L, 0.91 mmol) で処理した後、RT で 16 時間撹拌した。LCMS により反応の完了が示された。混合物を、以下の条件の分取 LC/MS で精製した: カラム; X Bridge C18, 200 mm x 19 mm, 5 μ m 粒子; 移動相 A: 5:95 アセトニトリル:水(10 mM 酢酸アンモニウムを含有する); 移動相 B: 95:5 アセトニトリル:水(10 mM 酢酸アンモニウムを含有する); グラジエント: 8% B で 0 分保持、25 分かけて 8~48% B、その後 100% B で 4 分間保持; 流速: 20 mL/分; カラム温度: 25 $^{\circ}$ C。画分の回収は、MS シグナルにより開始した。目的とする生成物を含む画分を合わせて、遠心分離で乾燥させた。

化合物 I Ib-04 についての分析データ: LCMS ESI: $C_{24}H_{31}N_8O_2$ についての計算値 = 463.2 (M+H⁺), 実測値 463.3 (M+H⁺). ¹H NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.18(br s, 2H), 7.91(br s, 1H), 7.84(br d, J=8.7 Hz, 1H), 7.55(br d, J=8.1 Hz, 2H), 7.18(br d, J=8.3 Hz, 2H), 7.09(br d, J=8.7 Hz, 1H), 5.55(s, 2H), 4.18(s, 2H), 3.73 - 3.63(m, 2H), 3.12 - 2.74(m, 4H), 1.69 - 1.50(m, 2H), 1.38 - 1.25(m, 2H), 0.91(br t, J=7.3 Hz, 3H).
【0196】

図 4A-4B のスキームにおいて、6-フルオロニコチンアルデヒドの 31 を 4-フルオロ-2-メトキシベンズアルデヒドに置き換えて、概ね上記手順に従って、所定のアミンを用いて、表 E の化合物を同じ方法で製造した。

【表 10】

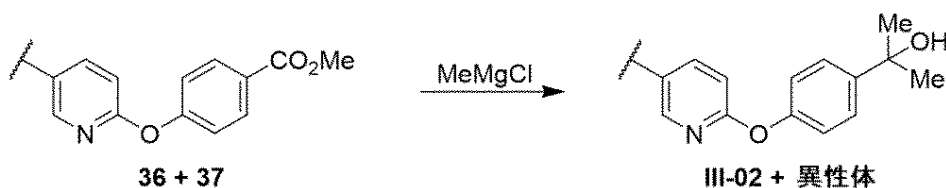
表 E - 図 4A-4B と同様に製造した化合物			
化合物番号	予測質量 (M+H)	実測質量 (M+H)	使用したアミノ酸
I Ib-02	492.3	492.1	2-アミノエタン-1-オール
I Ib-03	561.3	561.4	2-(ピペラジン-1-イル)エタン-1-オール

【0197】

実施例 5 - 化合物 I II-01 および I II-02 の合成

本実施例は、化合物ⅢⅢ-01およびⅢⅢ-02の製造に関するものである。これらの化合物を、化合物36および37を、MeMgClグリニャール試薬と反応させて製造した。

【化47】



10

【0198】

THF(1mL)中の化合物36および37(60mg, 0.134mmol)の混合物に、0℃でMeMgCl(0.171mL, 0.513mmol)を加えた。1時間後、LCMSにより反応が完了したことが示された。混合物を以下の条件の分取LC/MSで精製した：カラム；XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm粒子；移動相A：5：95 アセトニトリル：水(0.1% TFAを含有する)；移動相B：95：5 アセトニトリル：水(0.1% TFAを含有する)；グラジエント：10%Bで0分間保持、20分かけて10～45%B、その後100%Bで4分保持；流速：流量：20mL/分；カラム温度：25℃。画分の回収は、MSシグナルにより開始した。目的の生成物を含む画分を合わせて、遠心蒸発により乾燥させた。

20

ⅢⅢ-02についての分析データ。LCMS ESI：C₂₄H₃₀N₇O₂についての計算値=448.2(M+H⁺)、実測値448.2(M+H⁺)。¹H NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.22(d, J=1.8 Hz, 1H), 8.06 - 7.97(m, 2H), 7.87(br dd, J=8.5, 2.4 Hz, 2H), 7.23(d, J=8.8 Hz, 2H), 7.15(d, J=8.5 Hz, 1H), 5.99 - 5.97(m, 1H), 5.56(s, 2H), 3.58 - 3.54(m, 2H), 1.64 - 1.49(m, 2H), 1.37 - 1.25(m, 2H), 1.17(s, 6H), 0.90(t, J=7.4 Hz, 3H), 0.71 - 0.70(m, 1H)

【0199】

前記発明の詳細な説明には、本発明の特定の部分または態様と、主にまたは排他的に関係する箇所が含まれている。これは、明確化かつ利便性のためであり、具体的な機能は、それが開示されている箇所以外にも関連している可能性があり、本明細書の開示内容は、異なる箇所にある情報の全ての適切な組み合わせを含んでいることを理解されたい。同様に、本明細書の様々な図や説明は、本発明の特定の実施態様に関するものであるが、特定の特徴が、特定の図または実施態様の内容に開示されている場合、そのような特徴は、適切な範囲で、別の図または実施態様の内容において、別の特徴と組み合わせて、または本発明全体に使用することもできることを理解されよう。

30

【0200】

さらに、本発明を、特定の好ましい実施態様により具体的に説明してきたが、本発明は、そのような好ましい実施態様に限定されるものではない。むしろ、本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲により規定されるものである。

40

【0201】

頭字語および略語

以下の表は、本明細書中で使用されている頭字語および略語とその意味の一覧である。

50

【表 1 1】

頭文字または略語	意味または定義
Boc	t-ブチルオキシカルボニル
BOP	(ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリス(ジメチルアミノ)-ホスホニウム ヘキサフルオロリン酸塩(V)
DBU	1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン
DCM	ジクロロメタン
DIAD	ジイソプロピルアゾジカルボキシレート
DIPEA, DIEA	N,N-ジイソプロピルエチルアミン, ヒューニツヒ塩基としても知られる
DMF	N,N-ジメチルホルムアミド
DMSO	ジメチルスルホキシド
ヒューニツヒ塩基 (Hunig's base)	DIPEA, DIEA参照
LCMS	液体クロマトグラフィー質量スペクトル分析法
MsCl	メタンスルホニルクロリド, 塩化メシル
PEG	ポリ(エチレングリコール)
RT	室温, 約25°C
TBDPS	tert-ブチルジフェニルシリル
TEAA	トリエチル酢酸アンモニウム
TFA	トリフルオロ酢酸
THF	テトラヒドロフラン

【0202】

本明細書の冒頭で、筆頭著者(または発明者)および日付により略式に引用されている以下の文献の完全な引用を示す。これらの各文献は、あらゆる目的のために、参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

文献

Akinbobuyi *et al.*, *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 458, "Facile syntheses of functionalized toll-like receptor 7 agonists".

Akinbobuyi *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, 26, 4246, "Synthesis and immunostimulatory activity of substituted TLR7 agonists."

Barberis *et al.*, US 2012/0003298 A1 (2012).

Beesu *et al.*, *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 2084, "Identification of High-Potency Human TLR8 and Dual TLR7/TLR8 Agonists in Pyrimidine-2, 4-diamines."

Berghöfer *et al.*, *J. Immunol.* **2007**, 178, 4072, "Natural and Synthetic TLR7 Ligands Inhibit CpG-A- and CpG-C-オールリゴdeoxynucleotide-Induced IFN- α Production."

Bonfanti *et al.*, US 2014/0323441 A1 (2015) [2015a].

Bonfanti *et al.*, US 2015/0299221 A1 (2015) [2015b].

Bonfanti *et al.*, US 2016/0304531 A1 (2016).

Carson *et al.*, US 2013/0202629 A1 (2013).

Carson *et al.*, US 8, 729, 088 B2 (2014).

Carson *et al.*, US 9, 050, 376 B2 (2015).

Carson *et al.*, US 2016/0199499 A1 (2016).

Chan *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **2009**, 20, 1194, "Synthesis and Immunological Characterization of Toll-Like Receptor 7 Agonistic Conjugates."

Chan *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **2011**, 22, 445, "Synthesis and Characterization of PEGylated Toll Like Receptor 7 Ligands."

Chen *et al.*, US 7, 919, 498 B2 (2011).

Coe *et al.*, US 9, 662, 336 B2 (2017).

Cortez and Va, *Medicinal Chem. Rev.* **2018**, 53, 481, "Recent Advances in Small-Molecule TLR7 Agonists for Drug Discovery".

Cortez *et al.*, US 2017/0121421 A1 (2017).

Cortez *et al.*, US 9, 944, 649 B2 (2018).

10

20

30

40

50

- Dellaria *et al.*, WO 2007/028129 A1 (2007).
- Desai *et al.*, US 9, 127, 006 B2 (2015).
- Ding *et al.*, WO 2016/107536 A1 (2016).
- Ding *et al.*, US 2017/0273983 A1 (2017) [2017a].
- Ding *et al.*, WO 2017/076346 A1 (2017) [2017b].
- Gadd *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **2015**, 26, 1743, "Targeted Activation of Toll-Like Receptors: Conjugation of a Toll-Like Receptor 7 Agonist to a Monoclonal Antibody Maintains Antigen Binding and Specificity." 10
- Graupe *et al.*, US 8, 993, 755 B2 (2015).
- Embrechts *et al.*, *J. Med. Chem.* **2018**, 61, 6236, "2, 4-Diaminoquinazolines as Dual Toll Like Receptor (TLR) 7/8 Modulators for the Treatment of Hepatitis B Virus."
- Halcomb *et al.*, US 9, 161, 934 B2 (2015).
- Hashimoto *et al.*, US 2009/0118263 A1 (2009). 20
- He *et al.*, US 2019/0055246 A1 (2019) [2019a].
- He *et al.*, US 2019/0055247 A1 (2019) [2019b].
- Hirota *et al.*, US 6, 028, 076 (2000).
- Holldack *et al.*, US 2012/0083473 A1 (2012).
- Isobe *et al.*, US 6, 376, 501 B1 (2002).
- Isobe *et al.*, JP 2004137157 (2004).
- Isobe *et al.*, *J. Med. Chem.* **2006**, 49 (6), 2088, "Synthesis and Biological Evaluation of Novel 9-Substituted-8-Hydroxyadenine Derivatives as Potent Interferon Inducers." 30
- Isobe *et al.*, US 7, 521, 454 B2 (2009) [2009a].
- Isobe *et al.*, US 2009/0105212 A1 (2009) [2009b].
- Isobe *et al.*, US 2011/0028715 A1 (2011).
- Isobe *et al.*, US 8, 148, 371 B2 (2012).
- Jensen *et al.*, WO 2015/036044 A1 (2015).
- Jones *et al.*, US 7, 691, 877 B2 (2010). 40

Jones *et al.*, US 2012/0302598 A1 (2012).

Kasibhatla *et al.*, US 7, 241, 890 B2 (2007).

Koga-Yamakawa *et al.*, *Int. J. Cancer* **2013**, 132 (3), 580, "Intratracheal and oral administration of SM-276001: A selective TLR7 agonist, leads to antitumor efficacy in primary and metastatic models of cancer."

Li *et al.*, US 9, 902, 730 B2 (2018).

10

Lioux *et al.*, US 9, 295, 732 B2 (2016).

Lund *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci (USA)* **2004**, 101 (15), 5598, "Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7."

Maj *et al.*, US 9, 173, 935 B2 (2015).

McGowan *et al.*, US 2016/0168150 A1 (2016) [2016a].

McGowan *et al.*, US 9, 499, 549 B2 (2016) [2016b].

McGowan *et al.*, *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 6137, "Identification and Optimization of Pyrrolo[3, 2-d]pyrimidine Toll-like Receptor 7 (TLR7) Selective Agonists for the Treatment of Hepatitis B."

20

Musmuca *et al.*, *J. Chem. Information & Modeling* **2009**, 49 (7), 1777, "Small-Molecule Interferon Inducers. Toward the Comprehension of the Molecular Determinants through Ligand-Based Approaches."

Nakamura *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 13, 669, "Synthesis and evaluation of 8-oxoadenine derivatives as potent Toll-like receptor agonists with high water solubility."

Ogita *et al.*, US 2007/0225303 A1 (2007).

30

Ota *et al.*, WO 2019/124500 A1 (2019).

Pilatte *et al.*, WO 2017/216293 A1 (2017).

Poudel *et al.*, US 2019/0055243 A1 (2019) [2019a].

Poudel *et al.*, US 2019/0055245 A1 (2019) [2019b].

Purandare *et al.*, PCT Application Ser. No. PCT/US19/28697, filed April 23, 2019.

Pryde, US 7, 642, 350 B2 (2010).

40

- Sato-Kaneko *et al.*, *JCI Insight* **2017**, 2, e93397, "Combination Immunotherapy with TLR Agonists and Checkpoint Inhibitors Suppresses Head and Neck Cancer".
- Smits *et al.*, *The Oncologist* **2008**, 13, 859, "The Use of TLR7 and TLR8 Ligands for the Enhancement of Cancer Immunotherapy".
- Vasilakos and Tomai, *Expert Rev. Vaccines* **2013**, 12, 809, "The Use of Toll-like Receptor 7/8 Agonists as Vaccine Adjuvants".
- Vernejoul *et al.*, US 2014/0141033 A1 (2014).
- Young *et al.*, US 2019/0055244 A1 (2019).
- Yu *et al.*, *PLoS One* **2013**, 8 (3), e56514, "Toll-Like Receptor 7 Agonists: Chemical Feature Based Pharmacophore Identification and Molecular Docking Studies."
- Zhang *et al.*, *Immunity* **2016**, 45, 737, "Structural Analysis Reveals that Toll-like Receptor 7 Is a Dual Receptor for Guanosine and Single-Stranded RNA."
- Zhang *et al.*, WO 2018/095426 A1 (2018)>
- Zurawski *et al.*, US 2012/0231023 A1 (2012).

10

20

30

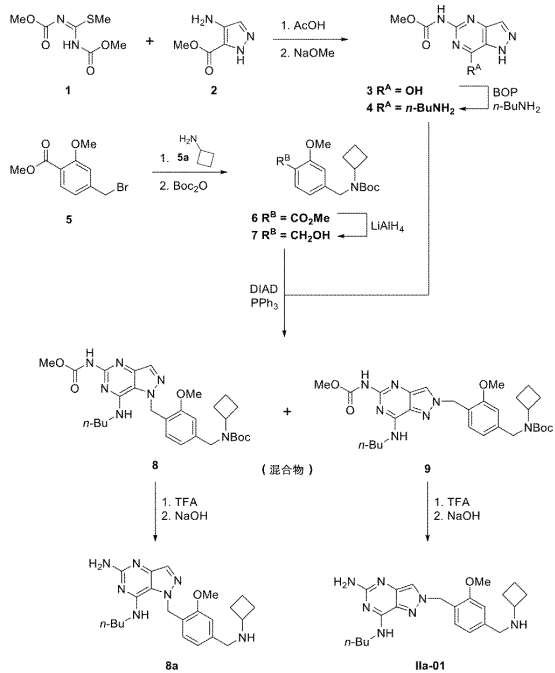
40

50

【図面】

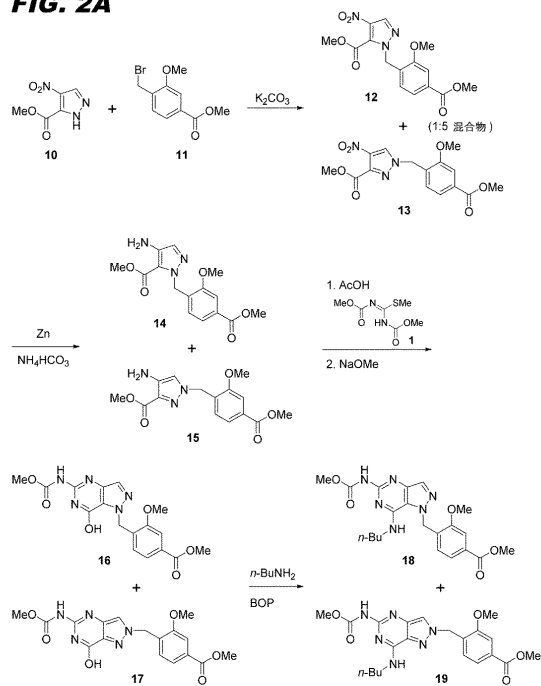
【図 1】

FIG. 1



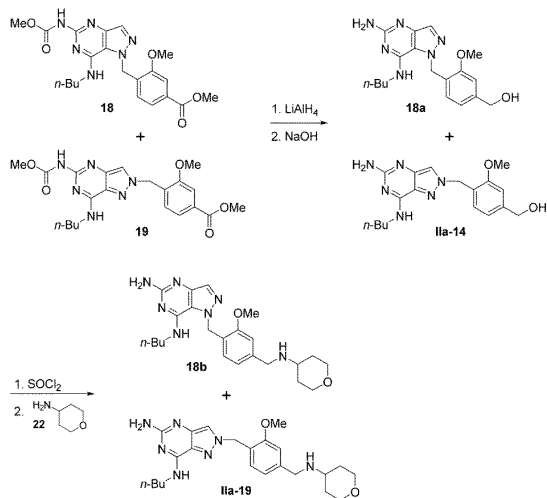
【図 2 A】

FIG. 2A



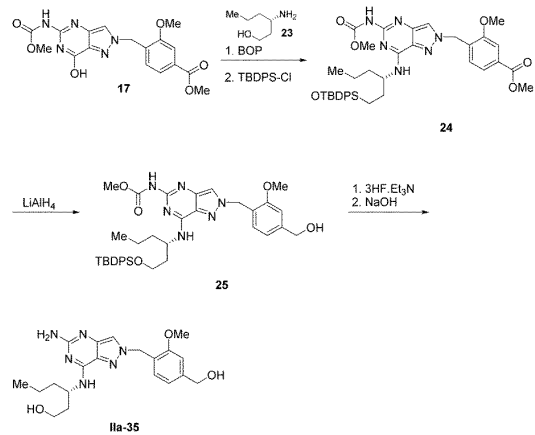
【図 2 B】

FIG. 2B



【図 3】

FIG. 3



10

20

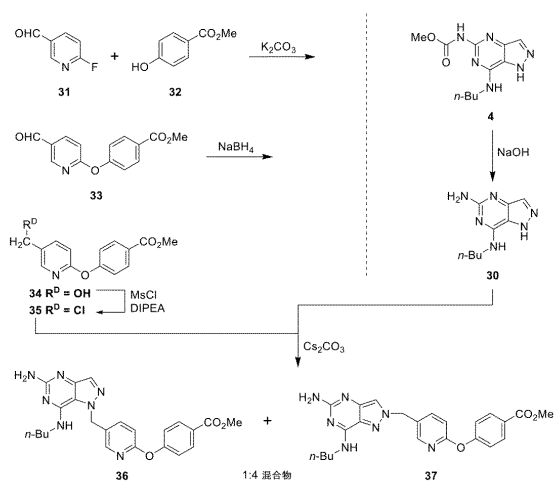
30

40

50

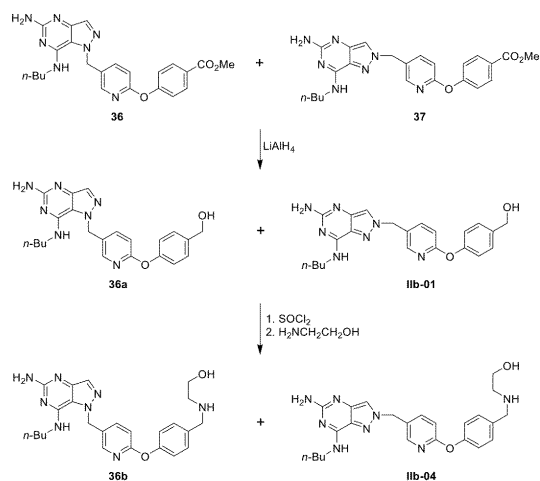
【図 4 A】

FIG. 4A



【図 4 B】

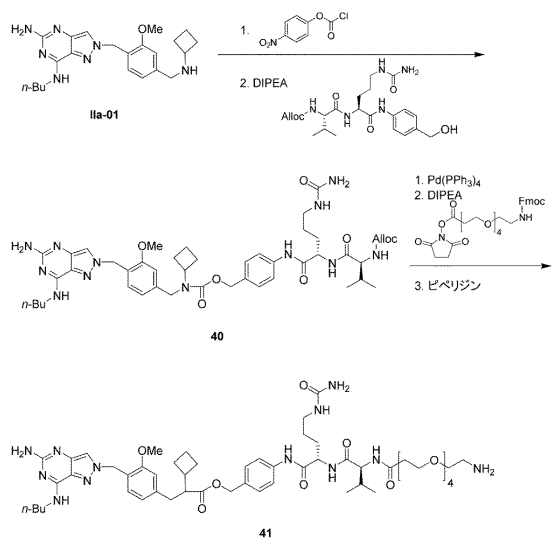
FIG. 4B



10

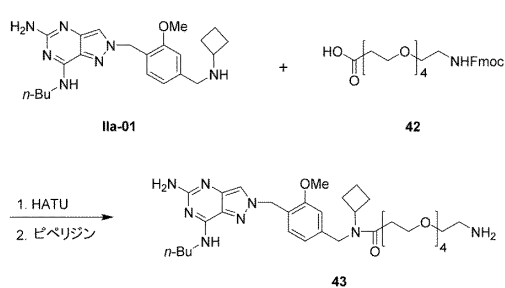
【図 5】

FIG. 5



【図 6】

FIG. 6



20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 0 7 D 519/00 (2006.01)
 A 6 1 K 31/519 (2006.01)
 A 6 1 K 31/551 (2006.01)
 A 6 1 K 31/5355 (2006.01)

F I

A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 K 39/395 N
 C 0 7 D 519/00 3 1 1
 A 6 1 K 31/519
 A 6 1 K 31/551
 A 6 1 K 31/5355

弁理士 水原 正弘

(74)代理人 100162684

弁理士 呉 英燦

(72)発明者 ヤム・ビー・ポウデル

アメリカ合衆国 9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード 7 0 0 番、プリ
 ストルーマイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72)発明者 サンジーブ・ギャングウォー

アメリカ合衆国 9 4 4 0 4 カリフォルニア州フォスター・シティ、ポンパノ・サークル 3 1 2 番

(72)発明者 リイチ・ヘ

アメリカ合衆国 9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード 7 0 0 番、プリ
 ストルーマイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72)発明者 プラサンナ・シヴァプラカサム

アメリカ合衆国 0 8 6 4 8 ニュージャージー州ローレンスビル、フランクリン・コーナー・ロード
 1 6 1 番、アパートメント・ディ 8

審査官 高森 ひとみ

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 8 / 0 9 5 4 2 6 (WO, A 1)

国際公開第 2 0 1 7 / 0 7 2 6 6 2 (WO, A 1)

国際公開第 2 0 1 8 / 0 5 0 5 7 1 (WO, A 1)

SQUARCIALUPI, L. et al., The role of 5-arylalkylamino- and 5-piperazino- moieties on the 7
 -aminopyrazolo[4,3-d]pyrimidine core in affecting adenosine A1 and A2A receptor affinity
 and selectivity profiles, JOURNAL OF ENZYME INHIBITION AND MEDICINAL CHEMISTRY
 , 2017年, VOL. 32, NO. 1, pp.248-263, DOI:10.1080/14756366.2016.1247060

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 0 7 D

A 6 1 K

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)