

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-504143

(P2012-504143A)

(43) 公表日 平成24年2月16日(2012.2.16)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/4433 (2006.01)	A 6 1 K 31/4433	4 C 0 6 3
A 6 1 K 9/20 (2006.01)	A 6 1 K 9/20	4 C 0 7 6
A 6 1 K 9/48 (2006.01)	A 6 1 K 9/48	4 C 0 8 4
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/26	4 C 0 8 6
A 6 1 K 47/38 (2006.01)	A 6 1 K 47/38	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 47 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2011-529338 (P2011-529338)
 (86) (22) 出願日 平成21年9月29日 (2009. 9. 29)
 (85) 翻訳文提出日 平成23年4月14日 (2011. 4. 14)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2009/058677
 (87) 国際公開番号 W02010/037066
 (87) 国際公開日 平成22年4月1日 (2010. 4. 1)
 (31) 優先権主張番号 61/100, 787
 (32) 優先日 平成20年9月29日 (2008. 9. 29)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/163, 629
 (32) 優先日 平成21年3月26日 (2009. 3. 26)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

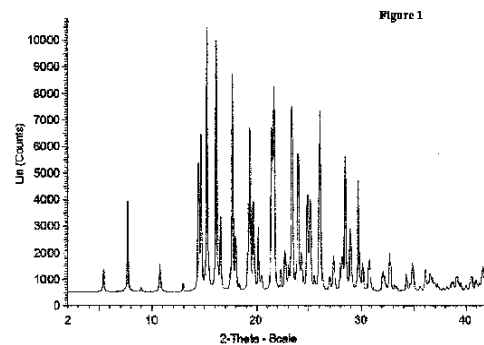
(71) 出願人 598032106
 バーテックス ファーマシューティカルズ
 インコーポレイテッド
 VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ O2
 139-4242, ケンブリッジ, ウ
 ェーバリー ストリート 130
 130 Waverly Street,
 Cambridge, Massachu
 setts 02139-4242, U
 . S. A.
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸の用量単位

(57) 【要約】

本発明は、形態 I の 3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸の処方物、その医薬パックまたはキットと、それらを用いた処置方法に関する。この化合物は、薬学的に許容される塩として存在し得、また、形態 I と呼ばれ、本明細書中に記載され、特性決定される遊離の形態でも存在し得る。用量単位にはさらに、増量剤、崩壊剤、界面活性剤、流動促進剤、または粘性剤、および/または潤滑剤が含まれる場合がある。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

25 ~ 400 mg の 3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸を含有する用量単位。

【請求項 2】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸の量が 100 ~ 300 mg である、請求項 1 に記載の用量単位。

【請求項 3】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸の量が 200 mg である、請求項 1 に記載の用量単位。

【請求項 4】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、CuK 線照射を使用して得られた X 線粉末回折において 15.2 ~ 15.6 度、16.1 ~ 16.5 度、および 14.3 ~ 14.7 度での 1 つまたは複数のピークを特徴とする、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 5】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、約 15.4 度、16.3 度、および 14.5 度での 1 つまたは複数のピークを特徴とする、請求項 4 に記載の用量単位。

【請求項 6】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、14.6 ~ 15.0 度での 1 つのピークをさらに特徴とする、請求項 4 または 5 に記載の用量単位。

【請求項 7】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、14.8 度での 1 つのピークをさらに特徴とする、請求項 4 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 8】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、17.6 ~ 18.0 度での 1 つのピークをさらに特徴とする、請求項 4 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 9】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、17.8 度での 1 つのピークをさらに特徴とする、請求項 4 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 10】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、16.4 ~ 16.8 度での 1 つのピークをさらに特徴とする、請求項 4 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 11】

10

20

30

40

50

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、16 . 6 度での1つのピークをさらに特徴とする、請求項4 ~ 10のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項12】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、7 . 6 ~ 8 . 0 度での1つのピークをさらに特徴とする、請求項4 ~ 11のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項13】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、7 . 8 度での1つのピークをさらに特徴とする、請求項4 ~ 12のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項14】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、25 . 8 ~ 26 . 2 度での1つのピークをさらに特徴とする、請求項4 ~ 13のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項15】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、26 . 0 度での1つのピークをさらに特徴とする、請求項4 ~ 14のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項16】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、21 . 4 ~ 21 . 8 度での1つのピークをさらに特徴とする、請求項4 ~ 15のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項17】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、21 . 6 度での1つのピークをさらに特徴とする、請求項4 ~ 16のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項18】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、23 . 1 ~ 23 . 5 度での1つのピークをさらに特徴とする、請求項4 ~ 17のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項19】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、23 . 3 度での1つのピークをさらに特徴とする、請求項4 ~ 18のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項20】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、単斜晶系、 $P2_1/n$ 空間群、および以下の格子定数を有する、請求項4 ~ 19のいずれか1項に記載の用量単位：

$$a = 4 . 9626 (7) \quad = 90 . \circ$$

10

20

30

40

50

$$b = 12.2994(18) = 93.938(9)^\circ$$

$$c = 33.075(4) = 90^\circ.$$

【請求項 2 1】

3 - (6 - (1 - (2, 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1, 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、図 1 の回折パターンと実質的に類似する回折パターンを特徴とする、請求項 4 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 2 2】

3 - (6 - (1 - (2, 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1, 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸が、図 2 の回折パターンと実質的に類似する回折パターンを特徴とする、請求項 4 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

10

【請求項 2 3】

前記用量単位が経口用量単位である、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 2 4】

前記用量単位が固体の経口用量単位である、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 2 5】

前記用量単位が錠剤またはカプセル剤の形態である、請求項 1 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

20

【請求項 2 6】

前記用量単位がカプセル剤の形態である、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 2 7】

前記用量単位に 1 つより多くのカプセル剤が含まれる、請求項 1 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 2 8】

前記用量単位に、各 50 mg の 3 - (6 - (1 - (2, 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1, 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸のカプセル剤 4 個が含まれる、請求項 1 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

30

【請求項 2 9】

増量剤をさらに含有する、請求項 1 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 3 0】

前記増量剤が以下からなる群より選択される、請求項 2 9 に記載の用量単位：ラクトース、微結晶セルロース、無水リン酸水素カルシウム、リン酸水素カルシウム二水和物、リン酸三カルシウム、セルロース粉末、炭酸マグネシウム、硫酸カルシウム、澱粉、タルク、スクロース、デキストロース、マンニトール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、フルクトース、キシリトール、ソルビトール、およびそれらの組み合わせ。

40

【請求項 3 1】

前記増量剤がラクトースおよび微結晶セルロースである、請求項 2 9 または 3 0 に記載の用量単位。

【請求項 3 2】

前記増量剤の量が 40 ~ 80 重量%である、請求項 2 9 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 3 3】

前記増量剤の量が 50 ~ 70 重量%である、請求項 2 9 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 3 4】

50

前記増量剤の量が60重量%である、請求項29～31のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項35】

崩壊剤をさらに含有する、請求項1～34のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項36】

崩壊剤が以下からなる群より選択される、請求項35に記載の用量単位：カルボキシメチルスターチナトリウム、アルギン酸、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、セルロース粉末、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、キチン、重炭酸塩、ゲランガム、およびそれらの組み合わせ。

【請求項37】

前記崩壊剤がカルボキシメチルスターチナトリウムである、請求項35または36に記載の用量単位。

【請求項38】

前記崩壊剤の量が1～20重量%である、請求項35～37のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項39】

前記崩壊剤の量が5～15重量%である、請求項35～37のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項40】

前記崩壊剤の量が10重量%である、請求項35～37のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項41】

界面活性剤をさらに含有する、請求項1～40のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項42】

前記界面活性剤が、陰イオン性界面活性剤、陽イオン性界面活性剤、または非イオン性界面活性剤である、請求項41に記載の用量単位。

【請求項43】

前記界面活性剤が以下からなる群より選択される陰イオン性界面活性剤である、請求項41または42に記載の用量単位：ラウリル硫酸塩、ラウレス硫酸塩、アルキルベンゼンスルホン酸塩、ブタン酸塩、ヘキサン酸塩、オクタン酸塩、デカン酸塩、ラウリン酸塩、ミリスチン酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、アラキジン酸塩、ベヘン酸塩、ミリストレイン酸塩、パルミトレイン酸塩、オレイン酸塩、リノール酸塩、 α -リノレン酸塩、アラキドン酸塩、エイコサペンタエン酸塩、エルカ酸塩、およびドコサヘキサエン酸塩。

【請求項44】

前記界面活性剤がラウリル硫酸ナトリウムである、請求項41～43のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項45】

前記界面活性剤が以下からなる群より選択される陽イオン性界面活性剤である、請求項41または42に記載の用量単位：臭化セチルトリメチルアンモニウム、塩化セチルピリジニウム、ポリエトキシ化タローアミン (polyethoxylated tallow amine)、塩化ベンザルコニウム、および塩化ベンゼトニウム。

【請求項46】

前記界面活性剤が以下からなる群より選択される非イオン性界面活性剤である、請求項41または42に記載の用量単位：ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート60、ポリソルベート65、ポリソルベート80、アルキルポリ(エチレンオキサイド)、ポロキサミン、アルキルポリグルコシド、オクチルグルコシド、デシルマルトシド、脂肪族アルコール、セチルアルコール、オレイルアルコール、ココミドMEA、ココミドDEA、およびココミドTEA。

【請求項47】

前記界面活性剤の量が0.5～15重量%である、請求項41～46のいずれか1項に記載

10

20

30

40

50

載の用量単位。

【請求項 4 8】

前記界面活性剤の量が 1 ~ 10 重量%である、請求項 4 1 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 4 9】

前記界面活性剤の量が 5 重量%である、請求項 4 1 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 5 0】

流動促進剤または粘性剤をさらに含有する、請求項 1 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

10

【請求項 5 1】

前記流動促進剤または粘性剤が以下からなる群より選択される、請求項 5 0 に記載の用量単位：コロイド状二酸化ケイ素、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、キサンタンゴム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、カラギーナン、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、アルギン酸ナトリウム、ポビドン、アカシア、グアーガム、トラガカント、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、カルボマー、およびそれらの組み合わせ。

【請求項 5 2】

前記流動促進剤がコロイド状二酸化ケイ素である、請求項 5 0 または 5 1 に記載の用量単位。

20

【請求項 5 3】

前記流動促進剤または粘性剤の量が 0.05 ~ 2 重量%である、請求項 5 0 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 5 4】

前記流動促進剤または粘性剤の量が 0.1 ~ 1 重量%である、請求項 5 0 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 5 5】

前記流動促進剤または粘性剤の量が 0.5 重量%である、請求項 5 0 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 5 6】

滑沢剤をさらに含有する、請求項 1 ~ 5 5 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

30

【請求項 5 7】

前記滑沢剤が以下からなる群より選択される、請求項 5 6 に記載の用量単位：ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、三ケイ酸マグネシウム、ステアリルフマル酸ナトリウム、ステアリン酸、ステアリン酸亜鉛、およびそれらの組み合わせ。

【請求項 5 8】

前記滑沢剤がステアリン酸マグネシウムである、請求項 5 6 または 5 7 に記載の用量単位。

【請求項 5 9】

前記滑沢剤の量が 0.05 ~ 2 重量%である、請求項 5 6 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

40

【請求項 6 0】

前記滑沢剤の量が 0.1 ~ 1 重量%である、請求項 5 6 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 6 1】

前記滑沢剤の量が 0.5 重量%である、請求項 5 6 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の用量単位。

【請求項 6 2】

前記用量単位に、50 mg の 3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン -

50

2 - イル)安息香酸、40～44重量%のラクトース、15～20重量%の微結晶セルロース、10重量%のカルボキシメチルスターチナトリウム、5～6重量%のラウリル硫酸ナトリウム、0.5～0.6重量%のコロイド状二酸化ケイ素、および0.5重量%のステアリン酸マグネシウムを含有するカプセル剤が1つ含まれる、請求項1～61のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項63】

25mgの3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸を含有するカプセル剤を1つ含む、請求項1～27のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項64】

前記用量単位がさらに、40または44重量%のラクトース、15～20重量%の微結晶セルロース、10重量%のカルボキシメチルスターチナトリウム、5～6重量%のラウリル硫酸ナトリウム、0.5～0.6重量%のコロイド状二酸化ケイ素、および0.5重量%のステアリン酸マグネシウムを含有する、請求項63に記載の用量単位。

【請求項65】

3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸が、0.1ミクロン～50ミクロンの粒径を有する、請求項1～64のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項66】

3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸が、0.1ミクロン～20ミクロンの粒径を有する、請求項1～64のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項67】

3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸が、0.1ミクロン～10ミクロンの粒径を有する、請求項1～64のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項68】

3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸が、1.0ミクロン～5ミクロンの粒径を有する、請求項1～64のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項69】

3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸が、2.0ミクロンの粒径D50を有する、請求項1～64のいずれか1項に記載の用量単位。

【請求項70】

有効量の請求項1～69のいずれか1項に記載の用量単位をそれが必要な被験体に投与する工程を含む、被験体の嚢胞性線維症を処置する方法。

【請求項71】

前記方法が、追加の治療薬を投与する工程を含む、請求項70に記載の方法。

【請求項72】

前記追加の治療薬が、粘液溶解薬、気管支拡張薬、抗生物質、抗感染症薬、抗炎症剤、本発明の化合物以外のCFTR調節因子、および成分栄養剤からなる群より選択される、請求項71に記載の方法。

【請求項73】

前記用量単位が2週間に1回被験体に投与される、請求項70～72のいずれか1項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 7 4】

前記用量単位が 1 週間に 1 回被験体に投与される、請求項 7 0 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記用量単位が 3 日に 1 回被験体に投与される、請求項 7 0 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 6】

前記用量単位が 1 日 1 回被験体に投与される、請求項 7 0 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 7】

請求項 1 ~ 6 9 のいずれか 1 項に記載の用量単位と、その使用のための説明書を含む医薬パックまたはキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、有効量の 3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸 (化合物 1) を含有する用量単位に関する。化合物 1 は、薬学的に許容される塩として存在し得、また、形態 I と呼ばれ、本明細書中に記載され、特性決定される遊離の形態でも存在し得る。用量単位にはさらに、増量剤、崩壊剤、界面活性剤、流動促進剤、または粘性剤、および / または潤滑剤が含まれる場合がある。本発明はさらに、CFTR 媒介疾患 (例えば、嚢胞性線維症) を処置する方法、および効果的な処置スケジュールに関する。

【背景技術】

【0002】

CFTR は、吸収性および分泌性上皮細胞を含む、様々なタイプの細胞の中で発現される cAMP / ATP 媒介性陰イオンチャネルであり、これが、膜を通過する陰イオンの流速、ならびに他のイオンチャネルおよびタンパク質の活性を調節する。上皮細胞では、CFTR の正常な機能が、呼吸器および消化組織を含む体全体への電解質輸送の維持に非常に重要である。CFTR は、それぞれが 6 個の膜貫通ヘリックスと 1 つのヌクレオチド結合ドメインを含む、膜貫通ドメインの縦列反復からなるタンパク質をコードするおよそ 1480 個のアミノ酸により構成される。2 つの膜貫通ドメインは、チャネル活性と細胞の輸送を調節する複数のリン酸化部位を持つ大きな極性調節性 (R) ドメインにより結合されている。

【0003】

CFTR をコードする遺伝子は同定され、配列決定されている (非特許文献 1 ; 非特許文献 2 を参照のこと) (非特許文献 3) 。この遺伝子の欠損が CFTR において突然変異を誘発し、最も一般的なヒトにとっての致命的遺伝疾患である嚢胞性線維症 (「 CF 」) を引き起こす。嚢胞性線維症には、米国では幼児 2500 人に約 1 人が罹患する。米国の一般的な集団内では、明らかな病的影響が見られない形で、1000 万人までの人々が 1 コピーの欠損遺伝子を持っている。対照的に、CF 関連遺伝子を 2 コピー持つ個体は衰弱し、慢性肺疾患を含む致命的な CF の影響に見舞われる。

【0004】

嚢胞性線維症の患者では、呼吸器上皮内で内因的に発現される CFTR の突然変異により、イオンおよび体液の輸送において不均衡を引き起こす頂端側 (apical) の陰イオン分泌の減少が導かれる。生じるこの陰イオン輸送の減少は、肺における粘液蓄積の増大およびそれに付随する微生物感染の一因となり、これは最終的に CF 患者の死を招くことになる。呼吸器疾患に加えて、CF 患者は、消化器の問題および膵臓機能不全を患うことが典型的であり、処置しないまま放置した場合、死亡することになる。さらに、嚢胞性線維症の男性の大多数は生殖能力が無く、嚢胞性線維症の女性は生殖能力が低下している

10

20

30

40

50

。2コピーのCF関連遺伝子の深刻な影響とは対照的に、1コピーのCF関連遺伝子を持つ個体は、コレラおよび下痢による脱水症に対して高い耐性を示し、このことは、この集団における比較的高頻度のCF遺伝子を説明していると考えられる。

【0005】

CF染色体のCFTR遺伝子の配列分析により、病因となる様々な突然変異が明らかにされている（非特許文献4；非特許文献5；および非特許文献6；特許文献7）。現在までのところ、CF遺伝子について1000を超える病因となる突然変異が同定されている（<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>）。最も優勢な突然変異は、CFTRアミノ酸配列の508位のフェニルアラニンの欠失であり、これは、一般的にはF508-CFTRと呼ばれている。この突然変異は、嚢胞性線維症の症例のおよそ70%に存在しており、これは重篤な疾患と関連がある。

10

【0006】

F508-CFTRにおける残基508の欠失は、形成されつつあるタンパク質の正確な折りたたみを妨げる。この結果、突然変異タンパク質がERを出て、原形質膜へ輸送されることが不可能となる。結果として、膜に存在するチャネルの数は、野生型CFTRを発現する細胞中で観察される数よりはるかに少なくなる。損なわれた輸送機構に加えて、この突然変異はチャネルの開閉にも欠陥をもたらす。まとめて考えると、膜におけるチャネル数の減少と開閉の欠陥により、上皮を通過する陰イオンの輸送は減少し、イオンおよび体液輸送の欠陥を招くことになる。（非特許文献8）。しかしながら、複数の研究により、野生型CFTRより少ないが、膜におけるこの少ない数のF508-CFTRが機能的であることが示されている（非特許文献9；Dennigら、前出；非特許文献10）。F508-CFTRに加えて、輸送、合成、および/またはチャネル開閉の欠陥を生じるCFTRにおける他の病因となる突然変異は、アップレギュレーションまたはダウンレギュレーションされて、陰イオンの分泌を変化させ、疾患の進行および/または重症度を変え得る。

20

【0007】

CFTRは陰イオンに加えて様々な分子を輸送するが、この役割（陰イオンの輸送）が、上皮を通過してイオンおよび水を輸送する重要な機構における1つの要素を表すことは明らかである。他の要素としては、上皮Na⁺チャネル、ENaC、Na⁺/2Cl⁻/K⁺共輸送体、Na⁺-K⁺-ATPaseポンプ、および側底膜K⁺チャネルが挙げられ、これらは細胞への塩化物の取込に参与している。

30

【0008】

これらの要素が一緒に作用して、細胞内でのそれらの選択的発現および局在性により上皮を通過する方向性をもつ輸送を達成する。塩化物の吸収は、頂端側膜上に存在するENaCとCFTRの協調活性および細胞の側底膜側表面で発現されるNa⁺-K⁺-ATPaseポンプおよびCl⁻チャネルにより行われる。管腔側からの塩化物の二次的な能動輸送は細胞内塩化物の蓄積を導き、これが次いで、Cl⁻チャネルを介して受動的に細胞から離れることにより、ベクトル輸送が生じ得る。側底膜側表面上にNa⁺/2Cl⁻/K⁺共輸送体、Na⁺-K⁺-ATPaseポンプおよび側底膜K⁺チャネルが、そして管腔側上にCFTRが配置されることにより、管腔側でのCFTRを介した塩化物の分泌が調和させられる。水はそれ自体能動輸送されないと思われるので、上皮を通過するその流れは、ナトリウムおよび塩化物の大きな流れにより生じた小さな経上皮浸透圧勾配に左右される。

40

【0009】

上記で述べたように、F508-CFTRにおける残基508の欠失は形成されつつあるタンパク質の正確な折りたたみを妨げ、その結果、この突然変異タンパク質がERを出て、原形質膜へ輸送されることを不可能にすると考えられる。結果として、原形質膜に存在する成熟タンパク質の量は不十分となり、上皮組織内での塩化物の輸送は著しく減少する。事実、ER機構によるABC輸送体のERプロセッシングの欠陥というこの細胞の現象は、CF疾患だけでなく、広範囲の他の孤立性疾患（isolated disease）

50

se) および遺伝性疾患の根本要因であることが示されている。ER機構が機能不全に陥る可能性がある2つの過程は、分解に至るタンパク質のER排出のためのカップリングが失われること、またはこれらの欠損/誤って折り畳まれたタンパク質のER蓄積のいずれかによるものである[非特許文献11;非特許文献12;非特許文献13;非特許文献14;非特許文献15]。

【0010】

塩形態の化合物1は、特許文献1(上記刊行物はその全体が引用により本明細書中に組み入れている)に、CFTR活性の調節因子として開示されており、したがって、嚢胞性線維症のようなCFTR媒介疾患の処置に有用である。しかし、有効量の化合物1を含有する安定な固体の用量単位が求められている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0011】

【特許文献1】国際公開第2007/056341号

【非特許文献】

【0012】

【非特許文献1】Gregory, R. J. *ら* (1990) *Nature* 347: 382 - 386

【非特許文献2】Rich, D. P. *ら* (1990) *Nature* 347: 358 - 362

【非特許文献3】Riordan, J. R. *ら* (1989) *Science* 245: 1066 - 1073

【非特許文献4】Cutting, G. R. *ら* (1990) *Nature* 346: 366 - 369

【非特許文献5】Dean, M. *ら* (1990) *Cell* 61: 863 - 870

【非特許文献6】Kerem, B - S. *ら* (1989) *Science* 245: 1073 - 1080

【非特許文献7】Kerem, B - S. *ら* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 8447 - 8451

【非特許文献8】Quinton, P. M. (1990), *FASEB J.* 4: 2709 - 2727

【非特許文献9】Dalemans *ら* (1991), *Nature Lond.* 354: 526 - 528

【非特許文献10】Pasyk and Foskett (1995), *J. Cell. Biochem.* 270: 12347 - 50

【非特許文献11】Aridor M. *ら*, *Nature Med.*, 5(7), pp. 745 - 751 (1999)

【非特許文献12】Shastry, B. S., *ら*, *Neurochem. International*, 43, pp. 1 - 7 (2003)

【非特許文献13】Rutishauser, J. *ら*, *Swiss Med Wkly*, 132, pp. 211 - 222 (2002)

【非特許文献14】Morello, J P. *ら*, *TIPS*, 21, pp. 466 - 469 (2000)

【非特許文献15】Bross P., *ら*, *Human Mut.*, 14, pp. 186 - 198 (1999)

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0013】

(発明の要旨)

本発明は、以下の構造を有する3 - (6 - (1 - (2, 2 - ジフルオロベンゾ[d])[

10

20

30

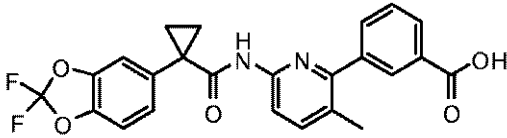
40

50

1, 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸の用量単位に関する：

【0014】

【化1】



化合物1

10

化合物1は、例えば、HCl塩のような薬学的に許容される塩として存在し得る。化合物1はまた、実質的な結晶で存在し得、そして本明細書中に記載され、特性決定される形態Iと呼ばれる塩の遊離の形態でも存在し得る。化合物1は、様々なCFTR媒介疾患を処置するか、またはその重篤度を下げるために有用である。

【0015】

1つの態様においては、本発明は、25～400mgの化合物1を含有する用量単位に関する。さらなる実施形態においては、化合物1の量は100～300mgである。さらなる実施形態においては、化合物1の量は200mgである。

【0016】

別の実施形態においては、本発明は、化合物1が、CuK α 線照射を使用して得られた粉末X線回折における15.2～15.6度、16.1～16.5度、および14.3～14.7度での1つまたは複数のピークを特徴とする形態1である、上記実施形態のいずれかの用量単位に関する。

20

【0017】

別の実施形態においては、形態1の化合物1は、約15.4、16.3、および14.5度での1つまたは複数のピークを特徴とする。

【0018】

別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、14.6～15.0度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、14.8度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、17.6～18.0度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、17.8度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、16.4～16.8度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、16.6度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、7.6～8.0度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、7.8度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、25.8～26.2度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、26.0度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、21.4～21.8度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、21.6度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、23.1～23.5度での1つのピークを特徴とする。別の実施形態においては、形態1の化合物1はさらに、23.3度での1つのピークを特徴とする。

30

40

【0019】

別の実施形態においては、形態1の化合物1は、単斜晶系、P2 $_1$ /n空間群、および以下の格子定数を有する：

$$a = 4.9626(7) \quad = 90^\circ$$

$$b = 12.2994(18) \quad = 93.938(9)^\circ$$

$$c = 33.075(4) \quad = 90^\circ$$

50

【0020】

別の実施形態においては、形態1の化合物1は、図1の回折パターンと実質的に類似する回折パターンを特徴とする。

【0021】

別の実施形態においては、形態1の化合物1は、図2の回折パターンと実質的に類似する回折パターンを特徴とする。

【0022】

別の実施形態においては、本発明は、用量単位が経口用量単位である、上記実施形態のいずれかの用量単位に関する。別の実施形態においては、用量単位は、固体の経口用量単位である。別の実施形態においては、用量単位は、錠剤またはカプセル剤の形態である。別の実施形態においては、用量単位はカプセル剤の形態である。別の実施形態においては、用量単位には2個以上のカプセル剤が含まれる。別の実施形態においては、用量単位には、それぞれが50mgの化合物1である4個のカプセル剤が含まれる。別の実施形態においては、用量単位には、それぞれが25mgの化合物1である1個~4個のカプセル剤が含まれる。

10

【0023】

別の実施形態においては、本発明は、増量剤をさらに含有する、上記実施形態のいずれかの用量単位に関する。別の実施形態においては、増量剤は、ラクトース、微結晶セルロース、無水リン酸水素カルシウム、リン酸水素カルシウム二水和物、リン酸三カルシウム、セルロース粉末、炭酸マグネシウム、硫酸カルシウム、澱粉、タルク、スクロース、デキストロース、マンニトール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、フルクトース、キシリトール、ソルビトール、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。別の実施形態においては、増量剤は、ラクトースおよび微結晶セルロースである。別の実施形態においては、増量剤の量は、40~80重量%である。別の実施形態においては、増量剤の量は、50~70重量%である。別の実施形態においては、増量剤の量は60重量%である。

20

【0024】

別の実施形態においては、本発明は、さらに崩壊剤を含有する、上記実施形態のいずれかに関する。別の実施形態においては、崩壊剤は、カルボキシメチルスターチナトリウム、アルギン酸、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、セルロース粉末、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、キチン、重炭酸塩、ゲランガム、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。別の実施形態においては、崩壊剤は、カルボキシメチルスターチナトリウムである。別の実施形態においては、崩壊剤の量は、1~20重量%である。別の実施形態においては、崩壊剤の量は、5~15重量%である。別の実施形態においては、崩壊剤の量は10重量%である。

30

【0025】

別の実施形態においては、本発明は、さらに界面活性剤を含有する、上記実施形態のいずれかに関する。別の実施形態においては、界面活性剤は、陰イオン性界面活性剤、陽イオン性界面活性剤、または非イオン性界面活性剤である。別の実施形態においては、界面活性剤は、ラウリル硫酸、ラウレス(laureth)硫酸、アルキルベンゼンスルホン酸、ブタン酸、ヘキサン酸、オクタン酸、デカン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ベヘン酸、ミリストレイン酸、バルミトレイン酸、オレイン酸、リノール酸、 γ -リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、エルカ酸、およびドコサヘキサエン酸の塩からなる群より選択される、陰イオン性界面活性剤である。別の実施形態においては、界面活性剤は、ラウリル硫酸ナトリウムである。別の実施形態においては、界面活性剤は、臭化セチルトリメチルアンモニウム、塩化セチルピリジニウム、ポリエトキシ化タローアミン、塩化ベンザルコニウム、および塩化ベンゼトニウムからなる群より選択される、陽イオン性界面活性剤である。別の実施形態においては、界面活性剤は、ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート60

40

50

、ポリソルベート65、ポリソルベート80、アルキルポリ(エチレンオキサイド)、ポロキサミン、アルキルポリグルコシド、オクチルグルコシド、デシルマルトシド、脂肪族アルコール、セチルアルコール、オレイルアルコール、ココミドMEA、ココミドDEA、およびココミドTEAからなる群より選択される非イオン性界面活性剤である。別の実施形態においては、界面活性剤の量は、0.5~15重量%である。別の実施形態においては、界面活性剤の量は、1~10重量%である。別の実施形態においては、界面活性剤の量は、5重量%である。

【0026】

別の実施形態においては、本発明は、さらに流動促進剤または粘性剤を含有する、上記実施形態のいずれかに関する。別の実施形態においては、流動促進剤または粘性剤は、コロイド状二酸化ケイ素、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、キサンタンゴム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、カラギーナン、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、アルギン酸ナトリウム、ポビドン、アカシア、グアーガム、トラガカント、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、カルボマー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。別の実施形態においては、流動促進剤はコロイド状二酸化ケイ素である。別の実施形態においては、流動促進剤または粘性剤の量は、0.05~2重量%である。別の実施形態においては、流動促進剤または粘性剤の量は、0.1~1重量%である。別の実施形態においては、流動促進剤または粘性剤の量は0.5重量%である。

10

【0027】

別の実施形態においては、本発明は、さらに滑沢剤を含有する、上記実施形態のいずれかに関する。別の実施形態においては、滑沢剤は、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、三ケイ酸マグネシウム、ステアリルフマル酸ナトリウム、ステアリン酸、ステアリン酸亜鉛、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。別の実施形態においては、滑沢剤はステアリン酸マグネシウムである。別の実施形態においては、滑沢剤の量は、0.05~2重量%である。別の実施形態においては、滑沢剤の量は、0.1~1重量%である。別の実施形態においては、滑沢剤の量は、0.5重量%である。

20

【0028】

別の実施形態においては、本発明は、用量単位が、50mgの化合物1、40重量%のラクトース、20重量%の微結晶セルロース、10重量%のカルボキシメチルスターチナトリウム、5重量%のラウリル硫酸ナトリウム、0.5重量%のコロイド状二酸化ケイ素、および0.5重量%のステアリン酸マグネシウムを含有するカプセル剤を含む、上記実施形態のいずれかに関する。

30

【0029】

別の実施形態においては、本発明は、用量単位が、0.1ミクロン~10ミクロンの粒径を有している3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸を含む、上記実施形態のいずれかに関する。別の実施形態においては、3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸の粒径は、1.0ミクロン~5ミクロンである。別の実施形態においては、3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸は、2.0ミクロンの粒径D50を有する。

40

【0030】

別の態様においては、本発明は、有効量の上記実施形態のいずれかの用量単位を嚢胞性線維症の処置を必要とする被験体に投与する工程を含む、被験体の嚢胞性線維症を処置する方法に関する。別の実施形態においては、この方法は、追加の治療薬を投与する工程を含む。別の実施形態においては、追加の治療薬は、粘液溶解薬、気管支拡張薬、抗生物質、抗感染症薬、抗炎症剤、本発明の化合物以外のCFTR調節因子、および成分栄養剤か

50

らなる群より選択される。別の実施形態においては、用量単位は、2週間に1回被験体に投与される。別の実施形態においては、用量単位は、1週間に1回被験体に投与される。別の実施形態においては、用量単位は、3日間に1回被験体に投与される。別の実施形態においては、用量単位は、1日1回被験体に投与される。

【0031】

別の態様においては、本発明は、上記実施形態のいずれかの用量単位と、その使用についての説明書を含む、医薬パック (pharmaceutical pack) またはキットに関する。

【0032】

本明細書中に記載されるプロセスは、本発明の組成物を調製するために使用することができる。これらのプロセスにおいて使用される成分の量と特徴は、本明細書中に記載されるとおりであろう。

10

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図1】図1は、形態Iの化合物1の単結晶構造から計算したX線回折パターンである。

【図2】図2は、形態Iの化合物1の実際のX線粉末回折パターンである。

【図3】図3は、形態Iの化合物1の単結晶から計算したX線回折パターンと、形態Iの化合物1の実際のX線粉末回折パターンの重ね合わせである。

【図4】図4は、形態Iの化合物1の示差走査熱量測定 (DSC) トレースである。

【図5】図5は、単結晶X線分析に基づく形態Iの化合物1の立体配座の絵である。

20

【図6】図6は、単結晶X線分析に基づく、カルボン酸基を介して形成された二量体としての形態Iの化合物1の立体配座の絵である。

【図7】図7は、単結晶X線分析に基づく形態Iの化合物1の立体配座の絵であり、複数の分子が互いに積み重なっていることを示している。

【図8】図8は、単結晶X線分析に基づく形態Iの化合物1の立体配座の絵であり、異なる観点を示している (aの下)。

【図9】図9は、T(0)での、50mg/mLの0.5メチルセルロース-ポリソルベート80懸濁液中の形態Iの化合物1の¹H NMR分析である。

【図10】図10は、室温で24時間保存した50mg/mLの0.5メチルセルロース-ポリソルベート80懸濁液中の形態Iの化合物1の¹H NMR分析である。

30

【図11】図11は、化合物1・HCl標準物の¹H NMR分析である。

【図12】図12は、5%および10%の崩壊剤であるカルボキシメチルスターチナトリウム (SSG) を比較する、化合物1の50mgのカプセル処方物の溶解率 (%) 対時間のグラフ (75rpm USP App 2、2.5%のCTAB) である。

【図13】図13は、増量剤である微結晶セルロース (MCC) をリン酸二カルシウム (Dical) に対して比較する、化合物1の50mgのカプセル処方物の溶解率 (%) 対時間のグラフ (75rpm USP App 2、2.5%のCTAB) である。

【発明を実施するための形態】

【0034】

(発明の詳細な説明)

40

(定義)

本明細書中で使用される場合は、他に指定のない限りは以下の定義を適用するものとする。

【0035】

用語「CFTR」は、本明細書中で使用される場合は、嚢胞性線維性経膜コンダクタンズ調節因子、または調節活性があるその突然変異体 (F508 CFTRおよびG551D CFTRを含むがこれらに限定されない) を意味する (例えば、CFTRの突然変異体については、<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>を参照のこと)。

【0036】

50

「CFTR媒介疾患」は、本明細書中で使用される場合は、以下から選択される疾患である：嚢胞性線維症、遺伝性気腫、遺伝性ヘモクロマトーシス、凝血-線維素溶解欠損症 (Coagulation-Fibrinolysis deficiencies) (例えば、プロテインC欠乏症、1型遺伝性血管浮腫)、脂質処理欠損症 (lipid processing deficiencies) (例えば、家族性高コレステロール血症、1型カイロミクロン症、無リポタンパク質血症)、リソソーム蓄積病 (例えば、I細胞病/偽性ハーラー)、ムコ多糖沈着症、Sandhof/Tay-Sachs、クリグラー-ナジャII型、多発性内分泌腺症/高インスリン血症、真性糖尿病、ラロン型小人症、ミエロペルオキシダーゼ欠損症 (Myeloperoxidase deficiency)、原発性上皮小体機能低下症、黒色腫、グリカノーシスCDG1型 (glycanosis CDG type 1)、遺伝性気腫、先天性甲状腺機能亢進症、骨形成不全症、遺伝性低フィブリノゲン血症、ACT欠損症、尿崩症 (DI)、下垂体性DI、腎性DI、シャルコー・マリー・トゥース症候群、ペリツェウス・メルツバッハー病、神経変性疾患 (例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、進行性核上性麻痺、ピック病、いくつかのポリグルタミン神経障害 (例えば、ハンチントン、脊髄小脳失調症I型、脊髄および延髄性筋萎縮症 (Spinal and bulbar muscular atrophy)、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症 (Dentatorubal pallidoluysian)、および筋緊張性ジストロフィー)、ならびに海綿状脳症 (例えば、遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病)、ファブリー病、およびシュトロイスラー・シャインカー症候群、COPD、眼球乾燥症候群、およびシェーグレン症候群。

10

20

【0037】

本明細書中で使用される場合は、「結晶」は、構造単位が一定の幾何学的パターンまたは格子に配置され、その結果、結晶性固体が厳格な長距離秩序 (rigid long range order) を有する化合物または組成物をいう。結晶構造を構成する構造単位は、原子、分子、またはイオンであり得る。結晶性固体は、明確な融点を示す。

【0038】

用語「D50」は、本明細書中で使用される場合は、半分をその直径より大きく、そして半分をその直径よりも小さい粒径分布に分ける、ミクロンでの大きさをいう。

【0039】

表現「用量単位」は、本明細書中で使用される場合は、処置される患者に適している、薬剤の物理的に独立した単位をいう。

30

【0040】

本発明によれば、化合物1の「有効量」は、上記疾患のいずれかを処置するか、またはそれらの重篤度を下げるために有効なその量である。

【0041】

用語「調節する」は、本明細書中で使用される場合は、例えば、活性を、測定可能な量だけ増大させるまたは低下させることを意味する。

【0042】

用語「患者」または「被験体」は、本明細書中で使用される場合は、動物、好ましくは哺乳動物、そして最も好ましくはヒトを意味する。

40

【0043】

本明細書中で使用される場合は、用語「薬学的に許容される塩」は、信頼できる医学的判断の範囲内で、過度の毒性、炎症性刺激、アレルギー応答などを伴わない、ヒトおよび下等動物の組織との接触に使用するのに適しており、合理的な利益/危険度比 (benefit/risk ratio) に見合う塩をいう。「薬学的に許容される塩」は、レシipientに投与すると、本発明の化合物またはその阻害活性代謝物もしくは残留物を直接的または間接的のいずれかで提供できる、本発明の化合物の全ての非毒性の塩またはエステルの塩を意味する。

【0044】

50

(化合物 1 の調製方法)

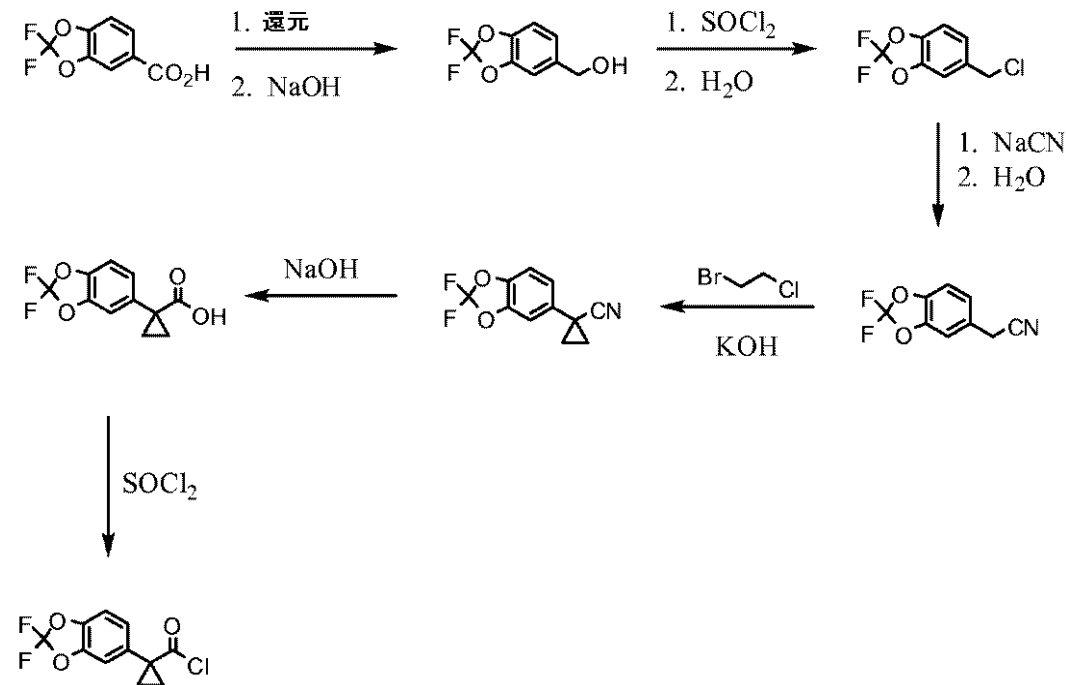
1つの実施形態においては、化合物 1 の塩の形態は、スキーム 1 ~ 3 にしたがって、酸塩化物部分をアミン部分とカップリングさせることによって調製することができる。形態 I の化合物 1 は、1つの実施形態においては、適切な溶媒中に化合物 1 の塩の形態（例えば、HCl 塩）を分散または溶解させることにより調製される。別の実施形態においては、化合物 1 および形態 I は、化合物 1 の安息香酸塩前駆体と適切な酸（例えば、ギ酸）から直接形成させることができる。

【 0 0 4 5 】

スキーム 1 . 酸塩化物部分の合成

【 0 0 4 6 】

【化 2】



10

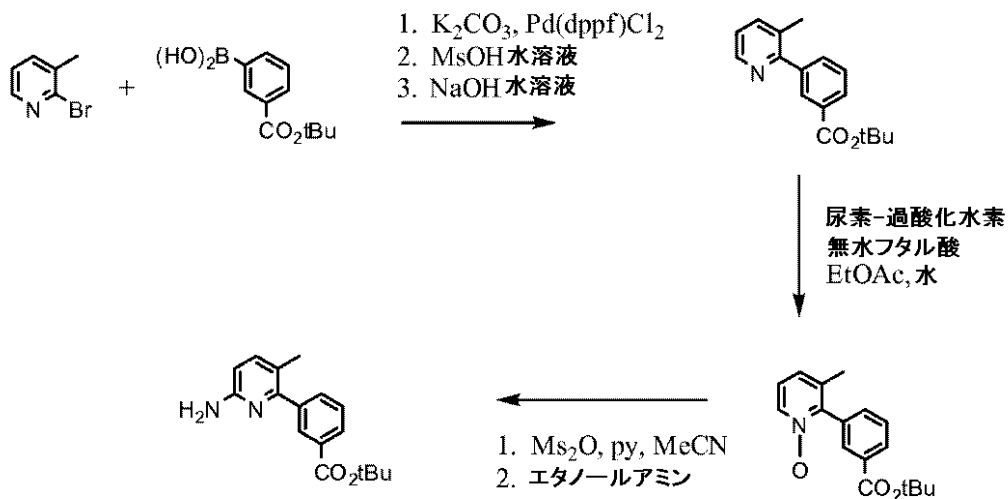
20

30

スキーム 2 . アミン部分の合成

【 0 0 4 7 】

【化 3】



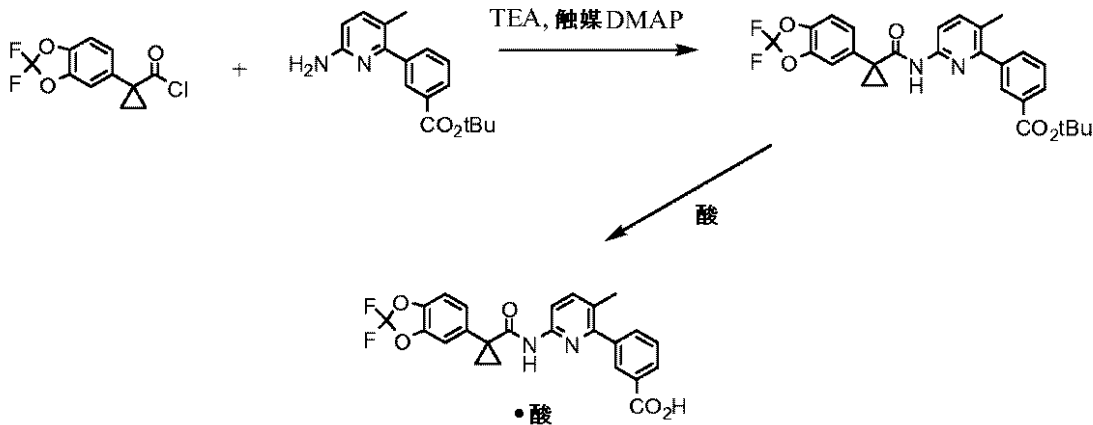
40

スキーム 3 . 化合物 1 の酸塩の形成

【 0 0 4 8 】

50

【化 4】



10

例えば、化合物 1 の HCl 塩の形態を出発点として使用すると、形態 I の化合物 1 は、適切な溶媒中に有効な時間の間、化合物 1・HCl 塩を分散または溶解させることにより、高い収率で形成させることができる。化合物 1 の他の塩の形態（例えば、他の鉱酸塩の形態または有機酸塩の形態）を使用することができる。他の塩の形態は、*t*-ブチルエステルの対応する酸での加水分解によって生じる。他の酸/塩の形態としては、硝酸/硝酸塩、硫酸/硫酸塩、リン酸/リン酸塩、ホウ酸/ホウ酸塩、酢酸/酢酸塩、安息香酸/安息香酸塩、マロン酸/マロン酸塩などが挙げられる。化合物 1 の塩の形態は、使用される溶媒に応じて可溶性である場合も、また可溶性ではない場合もあるが、溶解度がないことが形態 I の化合物 1 の形成の妨げとなることはない。例えば、1 つの実施形態においては、化合物 1・HCl は水にごくわずかしが溶解しないが、適切な溶媒は、水、あるいはアルコール/水混合物（例えば、約 50% のメタノール/水混合物）であり得る。1 つの実施形態においては、適切な溶媒は水である。

20

【0049】

化合物 1 の塩の形態からの形態 I の化合物 1 の形成のための有効な時間は、約 1 ~ 24 時間の間の任意の時間であり得る。一般的には、高い収率（約 98%）を得るためには 24 時間より長い時間は必要ないが、特定の溶媒についてはさらに長い時間が必要であり得る。必要な時間の長さは、一般的には温度に反比例することもまた理解されている。すなわち、温度が高ければ高いほど、形態 I の化合物 1 を形成させるための酸の解離を行うために必要な時間は短くなる。溶媒が水である場合は、分散液を室温でおよそ 24 時間攪拌することにより、形態 I の化合物 1 がおよそ 98% の収率で得られる。化合物 1 の塩の形態の溶液が処理の目的のために所望される場合は、高温および有機溶媒が使用され得る。この溶液を高温で有効な時間の間攪拌した後、冷却して再結晶化させると、形態 I の化合物 1 の実質的に純粋な形態が得られる。1 つの実施形態においては、実質的に純粋は、約 90% を上回る純度をいう。別の実施形態においては、実質的に純粋は、約 95% を上回る純度をいう。別の実施形態においては、実質的に純粋は、約 98% を上回る純度をいう。別の実施形態においては、実質的に純粋は、約 99% を上回る純度をいう。選択される温度は、使用される溶媒に部分的に依存し、これは決定を行う当業者の能力の十分に範囲内にある。1 つの実施形態においては、温度は、室温から約 80 °C の間である。別の実施形態においては、温度は、室温から約 40 °C の間である。別の実施形態においては、温度は、約 40 °C から約 60 °C の間である。別の実施形態においては、温度は、約 60 °C から約 80 °C の間である。

30

40

【0050】

別の実施形態においては、形態 I の化合物 1 は、安息香酸塩前駆体（例えば、*t*-ブチル安息香酸塩前駆体）と酸（例えば、ギ酸）から直接形成させることができる。安息香酸塩前駆体とギ酸の高温での反応、その後のこの混合物の水への移動と、高温への再加熱により、形態 I の化合物 1 が酸塩中間体を単離することなく直接形成される。

50

【0051】

いくつかの実施形態においては、形態Ⅰの化合物1は、有機溶媒からの再結晶化によりさらに精製され得る。有機溶媒の例としては、トルエン、クメン、アニソール、1-ブタノール、酢酸イソプロピル、酢酸ブチル、酢酸イソブチル、メチルト-ブチルエーテル、メチルイソブチルケトン、または1-プロパノール/水(様々な割合のもの)が挙げられるが、これらに限定されない。上記に記載されたような温度が使用され得る。例えば、1つの実施形態においては、形態Ⅰの化合物1は、これが完全に溶解するまで、約75で1-ブタノール中に溶解させられる。この溶液を、約0.2 /分の速度で約10に冷却することにより、形態Ⅰの化合物1の結晶が得られ、これは、濾過により単離することができる。

10

【0052】

形態Ⅰの化合物1には、化合物1の塩の形態よりも安定であるという利点がある。

【0053】

(処方物および投与)

したがって、本発明の別の態様においては、薬学的に許容される組成物が提供される。ここでは、これらの組成物には、本明細書中に記載される化合物のいずれかが含まれ、状況に応じて、薬学的に許容される担体、アジュバント、またはビヒクルが含まれる。特定の実施形態においては、これらの組成物には、状況に応じてさらに1種類以上の追加の治療薬が含まれる。

20

【0054】

本発明の化合物のうち特定のものは処置のための遊離の形態で存在することができ、また、適切である場合には、その薬学的に許容される誘導体またはプロドラッグとして存在することができることも理解されるであろう。本発明にしたがうと、薬学的に許容される誘導体またはプロドラッグには、薬学的に許容される塩、エステル、そのようなエステルの塩、あるいは必要な患者に投与されると本明細書中の別の場所に記載される化合物またはその代謝物もしくは残留物を直接的または間接的に提供できる任意の他の付加物または誘導体が含まれるが、これらに限定されない。

【0055】

薬学的に許容される塩は当該分野で周知である。例えば、S. M. Bergerらにより、薬学的に許容される塩がJ. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19(引用により本明細書中に組み入れられる)に詳細に記載されている。本発明の化合物の薬学的に許容される塩としては、適切な無機および有機の酸および塩基由来のものが挙げられる。薬学的に許容される非毒性の酸付加塩の例は、無機酸(例えば、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸、および過塩素酸)と、または有機酸(例えば、酢酸、シュウ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸、もしくはマロン酸)とともに形成されたアミノ基の塩、あるいは、当技術分野で使用される他の方法(例えば、イオン交換)を使用することにより形成された塩である。他の薬学的に許容される塩としては、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、ショウノウ酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ニグルコン酸塩、ラウリル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、グルコン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサ酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシ-エタンスルホン酸塩、ラクチオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、バルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。適切な塩基由来の塩としては、アルカリ金属、アルカリ土類金属、アンモニウム、およびN⁺(C₁₋₄アルキル)₄塩が挙げられる。本発明はまた、本明細書中に開示される化合物

30

40

50

の任意の塩基性窒素含有基の四級化を想定している。水溶性もしくは油溶性または水分散性もしくは油分散性の生成物を、そのような四級化により得ることができる。代表的なアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどが挙げられる。さらなる薬学的に許容される塩としては、適切である場合は、非毒性アンモニウム、四級アンモニウム、ならびに、ハロゲン化物、水酸化物、カルボン酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、低級アルキルスルホン酸塩およびアリアルスルホン酸塩のような、対イオンを用いて形成されるアミンカチオンが挙げられる。

【0056】

上記のように、本発明の薬学的に許容される組成物にはさらに、薬学的に許容される担体、アジュバント、またはビヒクルが含まれる。これには、本明細書中で使用される場合は、所望される特定の投薬形態に適している限りは、任意の、およびあらゆる溶媒、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散補助剤もしくは懸濁補助剤、表面活性剤、等張化剤、増粘剤もしくは乳化剤、保存剤、固体結合剤、滑沢剤などが含まれる。Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) には、薬学的に許容される組成物の処方に使用される様々な担体と、その調製のための公知の技術が開示されている。任意の従来 of 担体媒体が本発明の化合物と不適合である(例えば、何らかの望ましくない生物学的作用を生じるか、または、そうでなければ薬学的に許容される組成物の任意の他の成分(単数または複数)と有害な様式で相互作用することによる)場合を除き、その使用は本発明の範囲内に含まれるとする。薬学的に許容される担体とすることができる物質のいくつかの例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、血清タンパク質(例えば、ヒト血清アルブミン)、緩衝物質(例えば、リン酸塩)、グリシン、ソルビン酸、またはソルビン酸カリウム、飽和植物性脂肪酸の部分グリセリド混合物、水、塩類または電解質、例えば、硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイド状シリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、ポリアクリレート、蠟、ポリエチレン-ポリオキシプロピレン-ブロックポリマー、羊毛脂、糖類(例えば、ラクトース、グルコース、およびスクロース)、澱粉類(例えば、コーンスターチおよびジャガイモ澱粉)、セルロースおよびその誘導体(例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、および酢酸セルロース)、粉末状トラガカント、麦芽、ゼラチン、タルク、賦形剤(例えば、ココアバターおよび坐薬ワックス)、油類(例えば、ピーナツ油、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油、および大豆油)、グリコール類(例えば、プロピレングリコールまたはポリエチレングリコール)、エステル類(例えば、エチルオレエートおよびエチルラウレート)、寒天、緩衝剤(例えば、水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウム)、アルギン酸、発熱物質を含まない水、等張性生理食塩水、リンゲル液、エチルアルコール、およびリン酸緩衝液。さらに他の適合し得る非毒性滑沢剤(例えば、ラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウム)、ならびに着色剤、放出剤、コーティング剤、甘味料、調味料および香料、保存剤および酸化防止剤も、調剤者の判断にしたがって、組成物中に存在させることができる。

【0057】

1つの実施形態においては、本発明の用量単位には、塩の形態または形態I、あるいはそれらの両方の化合物1と、以下の薬学的に許容される賦形剤の少なくとも1つが含まれる。

【0058】

(1. 増量剤)

薬学的増量剤は希釈剤としても知られており、これは一般的には不活性であり、用量単位の大部分を占める。1つの実施形態においては、増量剤は以下の群より選択され得る: ラクトース、微結晶セルロース、無水リン酸水素カルシウム、リン酸水素カルシウム二水

10

20

30

40

50

和物、リン酸三カルシウム、セルロース粉末、炭酸マグネシウム、硫酸カルシウム、澱粉、タルク、スクロース、デキストロース、マンニトール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、フルクトース、キシリトール、ソルビトール、およびそれらの組み合わせ。別の実施形態においては、増量剤は、ラクトースおよび微結晶セルロースである。図 13 に見ることができるよう、全ての増量剤が同じように作用するわけではない。化合物 1 については、微結晶セルロース (MCC) は、リン酸水素カルシウム (Dical) よりもすぐれた溶解プロフィールを生じる。

【0059】

本発明の用量単位には、一般的には、40 ~ 80 重量%の増量剤が含まれる。別の実施形態においては、本発明の用量単位には、50 ~ 70 重量%の増量剤が含まれる。別の実施形態においては、本発明の用量単位には、60 重量%の増量剤が含まれる。

10

【0060】

(2. 崩壊剤)

崩壊剤は、一般的には、消化器系での用量単位の分散を助ける。1つの実施形態においては、崩壊剤は以下の群より選択され得る：カルボキシメチルスターチナトリウム、アルギン酸、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、セルロース粉末、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、キチン、重炭酸塩、ゲランガム、およびそれらの組み合わせ。別の実施形態においては、崩壊剤はカルボキシメチルスターチナトリウムである。図 12 においては、カルボキシメチルスターチナトリウム (SSG) の量は、溶出速度に明らかに影響を及ぼし、10%のSSGは5%のSSGよりもすぐれた結果を生じる。

20

【0061】

本発明の用量単位には、一般的には、1 ~ 20 重量%の崩壊剤が含まれる。別の実施形態においては、本発明の用量単位には、5 ~ 15 重量%の崩壊剤が含まれる。別の実施形態においては、本発明の用量単位には、10 重量%の崩壊剤が含まれる。

【0062】

(3. 界面活性剤)

界面活性剤は、水と有機化合物 (例えば、化合物 1) との間の表面張力を、水 - 化合物 1 界面で吸収することにより低下させる。界面活性剤は、多くの場合は、4つの主要なグループに分類される；陰イオン性、陽イオン性、非イオン性、および双性イオン性 (二重電荷)。1つの実施形態においては、界面活性剤は、陰イオン性、陽イオン性、または非イオン性界面活性剤である。

30

【0063】

陰イオン性界面活性剤は、ラウリル硫酸、ラウレス硫酸、アルキルベンゼンスルホン酸、ブタン酸、ヘキサン酸、オクタン酸、デカン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ベヘン酸、ミリストレイン酸、パルミトレイン酸、オレイン酸、リノール酸、 γ -リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、エルカ酸、またはドコサヘキサエン酸の塩から選択され得る。1つの実施形態においては、本発明の用量単位にはラウリル硫酸ナトリウムが含まれる。

40

【0064】

陽イオン性界面活性剤は、臭化セチルトリメチルアンモニウム、塩化セチルピリジニウム、ポリエトキシ化タローアミン (polyethoxylated tallow amine)、塩化ベンザルコニウム、および塩化ベンゼトニウムから選択され得る。

【0065】

非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート、アルキルポリ (エチレンオキサイド)、ポロキサミン、アルキルポリグルコシド、オクチルグルコシド、デシルマルトシド、脂肪族アルコール、セチルアルコール、オレイルアルコール、ココミドMEA、ココミドDEA、およびココミドTEAから選択され得る。

【0066】

50

1つの実施形態においては、本発明の用量単位には、0.5～15重量%の界面活性剤が含まれる。別の実施形態においては、本発明の用量単位には、1～10重量%の界面活性剤が含まれる。別の実施形態においては、本発明の用量単位には、5重量%の界面活性剤が含まれる。

【0067】

(4.流動促進剤または粘性剤)

1つの実施形態においては、流動促進剤または粘性剤は、薬学的に許容される流動促進剤または粘性剤(例えば、コロイド状二酸化ケイ素、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、キサンタンゴム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、カラギーナン、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、アルギン酸ナトリウム、ポビドン、アカシア、グアーガム、トラガカント、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、カルボマー、およびそれらの組み合わせ)から選択される。別の実施形態においては、流動促進剤はコロイド状二酸化ケイ素である。

10

【0068】

1つの実施形態においては、本発明の用量単位には、0.05～2重量%の流動促進剤または粘性剤が含まれる。別の実施形態においては、本発明の用量単位には、0.1～1重量%の流動促進剤または粘性剤が含まれる。別の実施形態においては、本発明の用量単位には、0.5重量%の流動促進剤または粘性剤が含まれる。

【0069】

(5.滑沢剤)

1つの実施形態においては、滑沢剤は、薬学的に許容される滑沢剤(例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、三ケイ酸マグネシウム、ステアリルフマル酸ナトリウム、ステアリン酸、ステアリン酸亜鉛、およびそれらの組み合わせ)から選択される。別の実施形態においては、滑沢剤はステアリン酸マグネシウムである。

20

【0070】

1つの実施形態においては、本発明の用量単位には、0.05～2重量%の滑沢剤が含まれる。別の実施形態においては、本発明の用量単位には、0.1～1重量%の滑沢剤が含まれる。別の実施形態においては、本発明の用量単位には、0.5重量%の滑沢剤が含まれる。

【0071】

別の実施形態においては、本発明には、3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸を適切な従来のミル装置の中で、0.1ミクロンから50ミクロンの間の有意な粒径の画分を有する粒子を生じさせるために適している気圧を使用して、ジェットミルする(jet milling)ことが含まれる。別の実施形態においては、粒径は、0.1ミクロンから20ミクロンの間である。別の実施形態においては、粒径は、0.1ミクロンから10ミクロンの間である。別の実施形態においては、粒径は、1.0ミクロンから5ミクロンの間である。なお別の実施形態においては、3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸は、2.0ミクロンの粒径D50を有する。

30

40

【0072】

(化合物および薬学的に許容される組成物の使用)

なお別の態様においては、本発明は、CFTRが関係している症状、疾患、または障害を処置する方法を提供する。特定の実施形態においては、本発明は、CFTR活性の欠損が関係している症状、疾患、または障害を処置する方法を提供する。この方法には、有効量の本明細書中に記載される化合物1を含有する用量単位を、それが必要な被験体(好ましくは、哺乳動物)に投与する工程が含まれる。

【0073】

特定の実施形態においては、本発明は、哺乳動物のCFTR媒介疾患を処置する方法を

50

提供する。この方法には、上記哺乳動物に、有効量の本明細書中に記載される化合物 1 を含有する用量単位を投与する工程が含まれる。

【0074】

別の実施形態にしたがうと、本発明は、ヒトの嚢胞性線維症を処置する方法を提供する。この方法には、上記ヒトに、有効量の本明細書中に記載される化合物 1 を含有する用量単位を投与する工程が含まれる。

【0075】

特定の実施形態においては、本明細書中に記載される化合物 1 の用量単位は、呼吸器および非呼吸器上皮の頂端側膜において残留 CFTR 活性を示している患者において嚢胞性線維症を処置するか、またはその重篤度を下げるために有用である。上皮表面での残留 CFTR 活性の存在は、当該分野で公知の方法（例えば、標準的な電気生理学的、生化学的、または組織化学的技術）を使用して容易に検出することができる。そのような方法は、インピボもしくはエキスピボでの電気生理学的技術、汗もしくは唾液の Cl^- 濃度の測定、またはエキスピボでの生化学的もしくは組織化学的技術を使用して細胞表面密度をモニタリングすることにより CFTR 活性を同定する。そのような方法を使用して、残留 CFTR 活性を、異なる様々な突然変異についてヘテロ接合性またはホモ接合性である患者（最も一般的な突然変異である F508 についてホモ接合性またはヘテロ接合性である患者を含む）において容易に検出することができる。

10

【0076】

1 つの実施形態においては、本明細書中に記載される化合物 1 の用量単位は、残留 CFTR 活性を示している特定の遺伝子型（例えば、クラス III 突然変異群（調節または開閉が損なわれている）、クラス IV 突然変異群（伝導性が変化している）、またはクラス V 突然変異群（合成が低下している））の患者において嚢胞性線維症を処置するか、またはその重篤度を下げるために有用である（Lee R. Choo-Kang, Pamela L., Zeitlin, Type I, II, III, IV, and V cystic fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Defects and Opportunities of Therapy; Current Opinion in Pulmonary Medicine 6: 521-529, 2000）。残留 CFTR 活性を示す他の患者の遺伝子型には、これらのクラスのうちの 1 つについてホモ接合性であるか、あるいは、クラス I 突然変異群、クラス II 突然変異群、または分類されない突然変異群を含む任意の他のクラスの突然変異群とヘテロ接合性である患者が含まれる。

20

30

【0077】

1 つの実施形態においては、本明細書中に記載される化合物 1 の用量単位は、特定の臨床的表現形（例えば、典型的には上皮の頂端側膜における残留 CFTR 活性の量と相関関係がある中程度～軽度の臨床表現形）の患者において嚢胞性線維症を処置するか、またはその重篤度を下げるために有用である。そのような表現形には、膵臓機能不全を示している患者または特発性膵炎および先天性両側精管欠損症、または軽度の肺疾患と診断された患者が含まれる。

【0078】

必要とされる正確な量は、被験体の種、年齢、および全身状態、感染症の重篤度、特定の薬剤、その投与方法などに応じて、被験体一人ひとりについて異なるであろう。本発明の化合物は、好ましくは、投与しやすく、投与量の均一性が保たれる用量単位に処方される。しかし、本発明の化合物および組成物の 1 日の総投与量は、信頼できる医学的判断の範囲内で、担当医によって決定されることが理解されるであろう。任意の特定の患者または生物に特異的な有効投与量レベルは、処置される障害およびその障害の重篤度；使用される特定の化合物の活性；使用される特定の組成物；患者の年齢、体重、全般的な健康状態、性別、および食事；投与時間、投与経路、および使用される特定の化合物の排泄速度；処置の持続時間；使用される特定の化合物と併用または同時使用される薬剤、ならびに、医学の分野で周知の同様の因子を含む様々な因子により変わるであろう。

40

50

【0079】

特定の実施形態においては、本発明の化合物は、所望される治療効果を得るために、1日あたり被験体の体重あたり約0.01mg/kg～約50mg/kg、好ましくは、約1mg/kg～約25mg/kgの投与量レベルで、1日に1回以上で経口投与され得る。

【0080】

化合物1の用量単位は、併用療法において使用することができる、すなわち、化合物1の用量単位を、1つ以上の他の所望される治療薬または医療手法と同時に、その前に、あるいはそれに続いて投与することができることも理解されるであろう。併用レジメンにおいて使用される治療（治療薬または手法）の特定の組み合わせは、所望される治療薬および/または手法との適合性、ならびに達成されるように所望される治療効果が考慮されるであろう。使用される治療により同じ障害について所望される効果が達成され得る（例えば、本発明の化合物が、同じ障害を処置するために使用される別の薬剤と同時に投与され得る）か、または、これらが異なる効果（例えば、あらゆる副作用の制御）を達成し得ることも理解されるであろう。本明細書中で使用される場合は、特定の疾患もしくは症状を処置または予防するために通常投与される追加の治療薬は、「処置される疾患または症状に適している」として知られているものである。

10

【0081】

1つの実施形態においては、さらに別の薬剤は、粘液溶解薬、気管支拡張薬、抗生物質、抗感染症薬、抗炎症剤、本発明の化合物以外のCFTR調節因子、または成分栄養剤から選択される。

20

【0082】

別の実施形態においては、さらに別の薬剤は、ゲンタマイシン、クルクミン、シクロホスファミド、4-フェニルブチレート、ミグルスタット、フェロジピン、ニモジピン、フィロキシンB (Philoxin B)、ゲニステイン (geniestein)、アピゲニン (Apigenin)、cAMP/cGMP調節因子（例えば、ロリプラム、シルデナフィル、ミルリノン、タダラフィル、アムリノン、イソプロテレノール、アルブテロール、およびアルメテロール）、デオキシスベルグアリン、HSP 90阻害剤、HSP 70阻害剤、プロテオソーム阻害剤（例えば、エボキシオミシン、ラクタシスチンなどから選択される化合物である。

30

【0083】

別の実施形態においては、さらに別の薬剤は、WO2004028480、WO2004110352、WO2005094374、WO2005120497、またはWO2006101740に開示されている化合物である。

【0084】

別の実施形態においては、さらに別の薬剤は、CFTR調節活性を示すベンゾ(c)キノリジニウム誘導体、またはCFTR調節活性を示すベンゾピラン誘導体である。

【0085】

別の実施形態においては、さらに別の薬剤は、US7202262、US6992096、US20060148864、US20060148863、US20060035943、US20050164973、WO2006110483、WO2006044456、WO2006044682、WO2006044505、WO2006044503、WO2006044502、またはWO2004091502に開示されている化合物である。

40

【0086】

別の実施形態においては、さらに別の薬剤は、WO2004080972、WO2004111014、WO2005035514、WO2005049018、WO2006002421、WO2006099256、WO2006127588、またはWO2007044560に開示されている化合物である。

【0087】

50

別の実施形態においては、さらに別の薬剤は、2005年6月24日に出願された米国特許出願公開番号2006/0074075として公開された、その全体が引用により本明細書中に組み入れられる米国特許出願番号11/165,818の中で開示されている化合物から選択される。別の実施形態においては、さらに別の薬剤は、N-(5-ヒドロキシ-2,4-ジtert-ブチル-フェニル)-4-オキソ-1H-キノリン-3-カルボキサミドである。これらの組み合わせは、嚢胞性線維症を含む本明細書中に記載される疾患を処置するために有用である。これらの組み合わせはまた、本明細書中に記載されるキットにおいても有用である。

【0088】

本発明の組成物中に存在する追加の治療薬の量は、唯一の有効成分としてその治療薬を含有する組成物において通常投与されるであろう量以下であろう。本明細書中に開示される組成物中の追加の治療薬の量が、唯一の治療有効成分としてその薬剤を含有する組成物中に通常存在する量の約50%~100%の範囲であることが好ましいであろう。

【実施例】

【0089】

(方法および材料)

(示差走査熱量測定(DSC))

化合物1の示差走査熱量測定(DSC)データを、DSC Q100 V9.6 Build 290(TA Instruments, New Castle, DE)を使用して集めた。温度はインジウムで校正し、熱容量はサファイアで校正した。3~6mgの試料を秤量してアルミニウムパンに入れ、ピンホールが1つあるリッドを使用して両端をかしめた(crimped)。試料を25 から350 まで、1.0 /分の加熱速度で、そして50ml/分の窒素ガスパーズを用いて走査した。データをThermal Advantage Q SeriesTMバージョン2.2.0.248ソフトウェアにより集め、Universal Analysisソフトウェアバージョン4.1D(TA Instruments, New Castle, DE)により分析した。記録された数は単分析(single analyses)を表す。

【0090】

(熱重量分析(TGA))

熱重量分析(TGA)は、TGA測定に使用したTGA Q500 V6.3 Build 189(TA Instruments, New Castle, DE)を用いて行った。温度はニッケルでキュリー点まで平衡化させた。10~20mgの試料を25 から350 まで、10 /分の加熱速度で走査した。10ml/分の窒素ガスバランスパーズおよび90ml/分の試料パーズを使用した。データをThermal Advantage Q SeriesTMソフトウェアバージョン2.2.0.248により集め、Universal Analysisソフトウェアバージョン4.1D(TA Instruments, New Castle, DE)により分析した。記録された数は単分析を表す。

【0091】

(XRPD(X線粉末回折))

化合物1のX線回折(XRD)データを、HI-STAR 2次元検出装置と平型グラフィット製モノクロメーターを備えたBruker D8 DISCOVER粉末X線回折装置で収集した。K線源(K radiation)を備えたCuシール管を40kV、35mAで使用した。試料を25 のゼロバックグラウンドのシリコンウェハー上に置いた。各試料について2つのデータフレームを、各々2種類の2角:8°および26°で、120秒で集めた。これらのデータをGADDSソフトウェアにより統合し、DIFFRACT PLUS EVAソフトウェアでマージした(merged)。記録されたピーク位置についての不確かさは±0.2度である。

【0092】

(ジェットミルについての記載)

微粉化していない化合物 1 は、塊を分解する (de-lump) ためにこれを篩にかけ、その後、ジェットミルホッパー (jet mill hopper) にこれを投入した。篩は全て使い捨てとし、使用する前に拭き、化合物 1 を入れた。微粉化していない化合物 1 を、制御された供給速度で高圧窒素ガスを使用してジェットミルホッパーに添加した。ガスの圧力は、40 ~ 45 / 45 ~ 70 (Venturi/Mill) PSI の範囲とし、供給速度は、0.5 ~ 1.6 Kg / 時間の範囲とした。化合物 1 を、粒子同士および粒子と壁との衝突によりミルの中で微粉化し、処理した化合物 1 を微粉化した生成物の容器の中に流し込んだ。当業者は、上記条件に一部基づいて、ピンミル (pin milling) によってもまた好ましい粒径を持つ化合物 1 が得ることができると考えられる。

【0093】

Vitride (登録商標) (ナトリウムビス(2-メトキシエトキシ)アルミニウムヒドリド [すなわち、 $\text{NaAlH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3)_2$]、トルエン中の 65 wt% の溶液) は、Aldrich Chemicals から購入した。

【0094】

2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-カルボン酸は、Saltigo (Lanxess Corporation の系列会社) から購入した。

【0095】

本出願の全てにおいて、化合物の名称がその化合物の構造を正確に記載できていない場合は、その構造が名称よりも優先され、支配するものとする。

【0096】

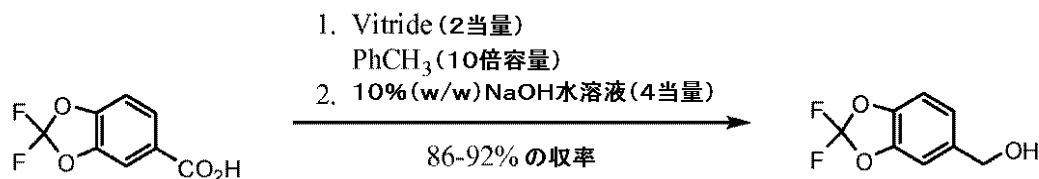
(3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸・HCl の合成)

(酸塩化物部分)

(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-メタノールの合成

【0097】

【化5】



市販されている 2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-カルボン酸 (1.0 当量) をトルエン (10 倍容量) の中でスラリーにする。Vitride (登録商標) (2 当量) を、滴下漏斗を通じて、15 ~ 25 の温度を維持する速度で添加する。滴下が終了した時点で、温度を 2 時間かけて 40 に上昇させ、その後、10% (w/w) の NaOH 水溶液 (4.0 当量) を、40 ~ 50 の温度を維持しながら、滴下漏斗を通じて注意深く添加する。さらに 30 分間の攪拌の後、40 で層を分離させる。有機相を 20 に冷却し、その後、水で洗浄し (2 回 × 1.5 倍容量)、乾燥させ (Na₂SO₄)、濾過し、そして濃縮して、粗 (2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-メタノールを得る。これを次の工程に直接使用する。

【0098】

5-クロロメチル-2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソールの合成

【0099】

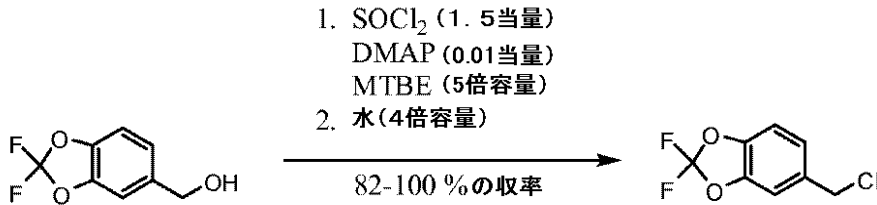
10

20

30

40

【化6】



(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-メタノール(1.0当量)をMTBE(5倍容量)に溶解させる。触媒量のDMAP(1mol%)を添加し、 SOCl_2 (1.2当量)を滴下漏斗を通じて添加する。 SOCl_2 は、反応器内の温度を15~25に維持する速度で添加する。温度を1時間かけて30に上昇させ、その後、20に冷却し、次いで水(4倍容量)を、温度を30未満に維持しながら、滴下漏斗を通じて添加する。さらに30分間の攪拌の後、層を分離させる。有機層を攪拌し、10%(w/v)のNaOH水溶液(4.4倍容量)を添加する。15~20分間の攪拌の後、層を分離させる。次いで、有機相を乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、濃縮して、粗5-クロロメチル-2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソールを得る。これを次の工程に直接使用する。

10

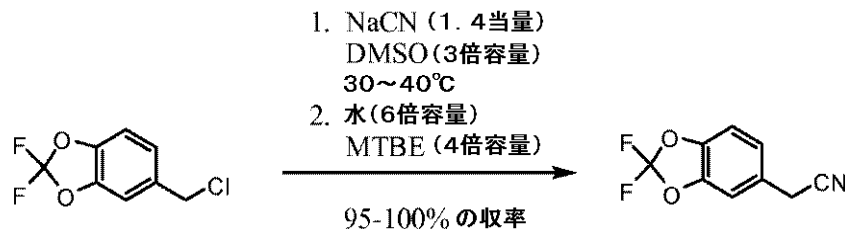
【0100】

(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-アセトニトリルの合成

20

【0101】

【化7】



30

DMSO(1.25倍容量)中の5-クロロメチル-2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール(1当量)の溶液を、温度を30~40に維持しながら、DMSO(3倍容量)中のNaCN(1.4当量)のスラリーに添加する。この混合物を1時間攪拌し、その後、水(6倍容量)を添加し、続いてMTBE(4倍容量)を添加する。30分間の攪拌の後、層を分離させる。水層をMTBE(1.8倍容量)で抽出する。合わせて1つにした有機層を水(1.8倍容量)で洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、濃縮して、粗(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-アセトニトリル(95%)を得る。これを次の工程に直接使用する。

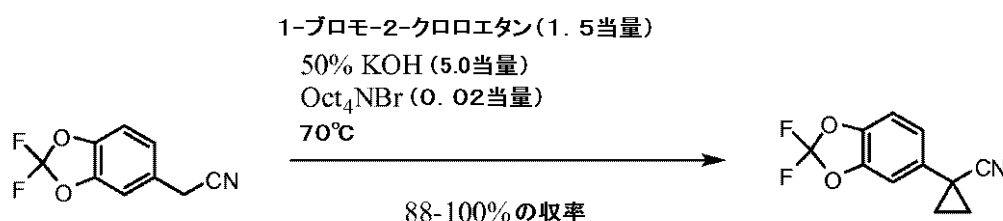
【0102】

(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-シクロプロパンカルボニトリルの合成。

40

【0103】

【化8】



50

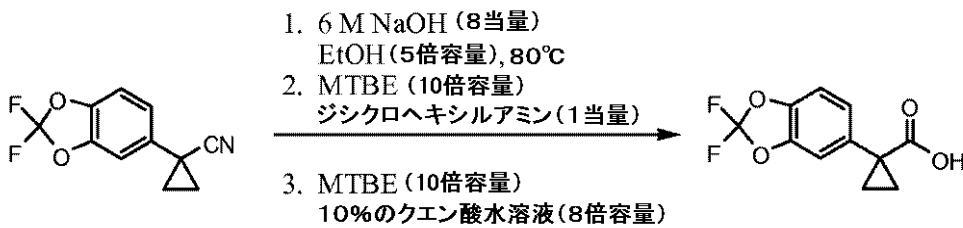
(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-アセトニトリル(1.0当量)、50wt%のKOH水溶液(5.0当量)、1-ブロモ-2-クロロエタン(1.5当量)、およびOct₄NBr(0.02当量)の混合物を、70で1時間加熱する。この反応混合物を冷却し、次いで、MTBEおよび水で後処理する(worked up)。有機相を水および食塩水で洗浄し、溶媒を除去して、(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-シクロプロパンカルボニトリルを得る。

【0104】

1-(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-シクロプロパンカルボン酸の合成

【0105】

【化9】



69%の収率

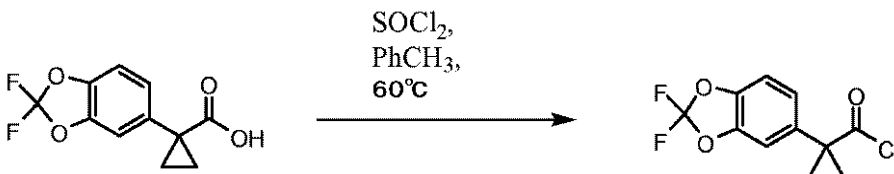
(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-シクロプロパンカルボニトリルを、エタノール(5倍容量)中の6MのNaOH(8当量)を使用して、80で一晩加水分解する。この混合物を室温に冷却し、エタノールを減圧下で蒸発させる。残渣を水およびMTBE中に採り、1MのHClを添加し、層を分離させる。次いで、MTBE層をジシクロヘキシルアミン(0.97当量)で処理した。このスラリーを0に冷却し、濾過し、ヘプタンで洗浄して、対応するDCHA塩を得る。この塩をMTBEおよび10%のクエン酸中に採り、全ての固体が溶解するまで攪拌する。層を分離させ、MTBE層を水および食塩水で洗浄した。溶媒をヘプタンに交換し、続いて濾過すると、50で一晩の真空オープンの中での乾燥後に1-(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-シクロプロパンカルボン酸が得られる。

【0106】

1-(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-シクロプロパンカルボニルクロリドの合成

【0107】

【化10】



1-(2,2-ジフルオロ-1,3-ベンゾジオキソール-5-イル)-シクロプロパンカルボン酸(1.2当量)をトルエン(2.5倍容量)中でスラリーにし、この混合物を60に加熱する。SOCl₂(1.4当量)を滴下漏斗を通じて添加する。30分後に、トルエンとSOCl₂をこの反応混合物から蒸留する。さらにトルエン(2.5倍容量)を添加し、再び蒸留する。

【0108】

(アミン部分)

tert-ブチル-3-(3-メチルピリジン-2-イル)ベンゾエートの合成

【0109】

10

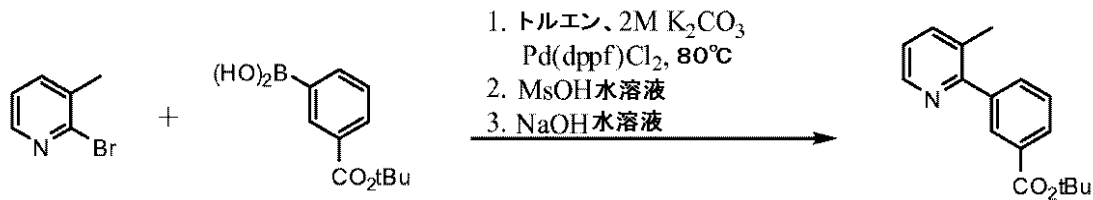
20

30

40

50

【化 1 1】



2 - ブロモ - 3 - メチルピリジン (1 . 0 当量) をトルエン (1 2 倍容量) 中に溶解させる。 K_2CO_3 (4 . 8 当量) を添加し、続いて水 (3 . 5 倍容量) を添加し、この混合物を、 N_2 流下で 1 時間かけて、 65 に加熱する。その後、 3 - (t - ブトキシカルボニル) フェニルボロン酸 (1 . 0 5 当量) と Pd (d p p f) $Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (0 . 0 1 5 当量) を添加し、この混合物を 80 に加熱する。 2 時間後、加熱を止め、水 (3 . 5 倍容量) を添加し、層を分離させる。その後、有機相を水 (3 . 5 倍容量) で洗浄し、 1 0 % のメタンスルホン酸水溶液 (2 当量の MsOH、 7 . 7 倍容量) で抽出する。水相を 5 0 % の NaOH 水溶液 (2 当量) で塩基性にし、 EtOAc (8 倍容量) で抽出する。有機層を濃縮して、粗 tert - ブチル - 3 - (3 - メチルピリジン - 2 - イル) ベンゾエート (8 2 %) を得る。これを次の工程に直接使用する。

10

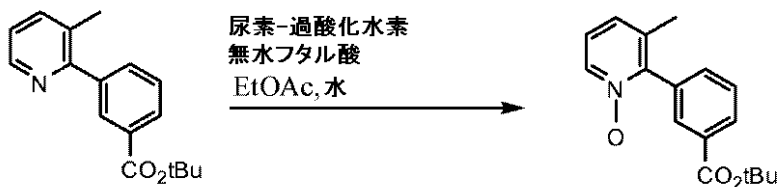
【 0 1 1 0 】

2 - (3 - (tert - ブトキシカルボニル) フェニル) - 3 - メチルピリジン - 1 - オキシドの合成

20

【 0 1 1 1 】

【化 1 2】



tert - ブチル - 3 - (3 - メチルピリジン - 2 - イル) ベンゾエート (1 . 0 当量) を EtOAc (6 倍容量) 中に溶解させる。水 (0 . 3 倍容量) を添加し、続いて、尿素 - 過酸化水素 (3 当量) を添加する。無水フタル酸 (3 当量) を、反応器内の温度を 4 5 未満に維持し、固体として何度かに分けて (p o r t i o n - w i s e) 添加する。無水フタル酸の添加の完了後、この混合物を 4 5 に加熱する。さらに 4 時間の攪拌の後、加熱を止める。 1 0 % w / w の Na_2SO_3 水溶液 (1 . 5 当量) を滴下漏斗を通じて添加する。 Na_2SO_3 の添加の完了後、この混合物をさらに 3 0 分間攪拌し、層分離させる。有機層を攪拌し、 1 0 % w / w の Na_2CO_3 水溶液 (2 当量) を添加する。 3 0 分間の攪拌の後、層を分離させる。有機相を 1 3 % w / v の NaCl 水溶液で洗浄する。その後、有機相を濾過し、濃縮して、粗 2 - (3 - (tert - ブトキシカルボニル) フェニル) - 3 - メチルピリジン - 1 - オキシド (9 5 %) を得る。これを次の工程に直接使用する。

30

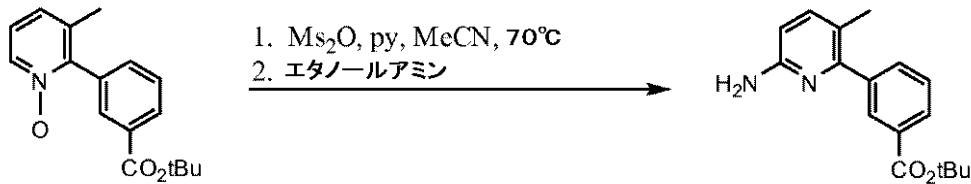
40

【 0 1 1 2 】

tert - ブチル - 3 - (6 - アミノ - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) ベンゾエートの合成

【 0 1 1 3 】

【化 1 3】



MeCN (8倍容量)中の2-(3-(tert-ブチルカルボニル)フェニル)-3-メチルピリジン-1-オキサイド(1当量)とピリジン(4当量)の溶液を70に加熱する。MeCN(2倍容量)中のメタンスルホン酸無水物(1.5当量)の溶液を、75未満に温度を維持しながら、滴下漏斗を通じて50分かけて添加する。添加の完了後、この混合物をさらに0.5時間攪拌する。次いで、この混合物を室温に冷却する。エタノールアミン(10当量)を滴下漏斗を通じて添加する。2時間の攪拌後、水(6倍容量)を添加し、この混合物を約10に冷却する。少なくとも(NLT)3時間の攪拌の後、固体を濾過によって集め、水(3倍容量)、2:1のMeCN/水(3倍容量)、およびMeCN(2回×1.5倍容量)で洗浄する。わずかな N_2 流を用いて50の真空オープンの中で、この固体を恒量(<1%の差)となるまで乾燥させて、tert-ブチル-3-(6-アミノ-3-メチルピリジン-2-イル)ベンゾエートを赤-黄色の固体(53%の収率)として得る。

10

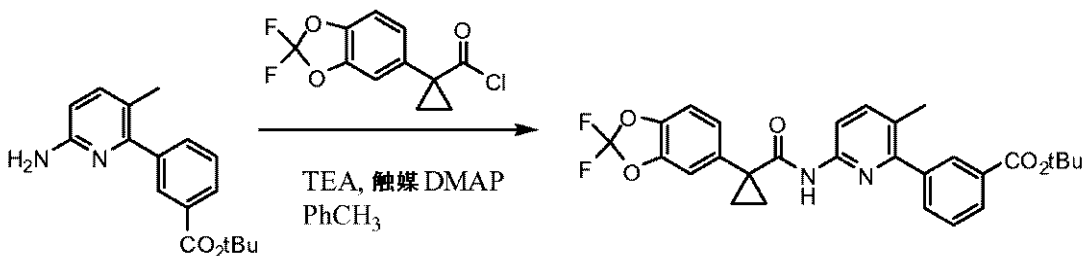
【0114】

20

3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキサール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)-t-ブチルベンゾエートの合成

【0115】

【化 1 4】



30

粗酸塩化物をトルエン(酸塩化物に基づいて2.5倍容量)中に溶解させ、これを、トルエン(tert-ブチル-3-(6-アミノ-3-メチルピリジン-2-イル)ベンゾエートに基づいて4倍容量)中のtert-ブチル-3-(6-アミノ-3-メチルピリジン-2-イル)ベンゾエート(1当量)、ジメチルアミノピリジン(DMAP、0.02当量)、およびトリエチルアミン(3.0当量)の混合物に対して、滴下漏斗を通じて添加する。2時間後、水(tert-ブチル-3-(6-アミノ-3-メチルピリジン-2-イル)ベンゾエートに基づいて4倍容量)をこの反応混合物に添加する。30分間の攪拌の後、層を分離させる。その後、有機相を濾過し、濃縮して、3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキサール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)-t-ブチルベンゾエートの濃い油(定量的な粗収率)を得る。MeCN(粗生成物に基づいて3倍容量)を添加し、結晶化が起こるまで蒸留させる。水(粗生成物に基づいて2倍容量)を添加し、この混合物を2時間攪拌する。固体を濾過によって集め、1:1(容量で)のMeCN/水(2回×粗生成物に基づいて1倍容量)で洗浄し、濾紙上で減圧下で部分的に乾燥させる。わずかな N_2 流を用いて60で真空オープンの中で、この固体を恒量(<1%の差)となるまで乾燥させて、3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキサール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)-t-ブチ

40

50

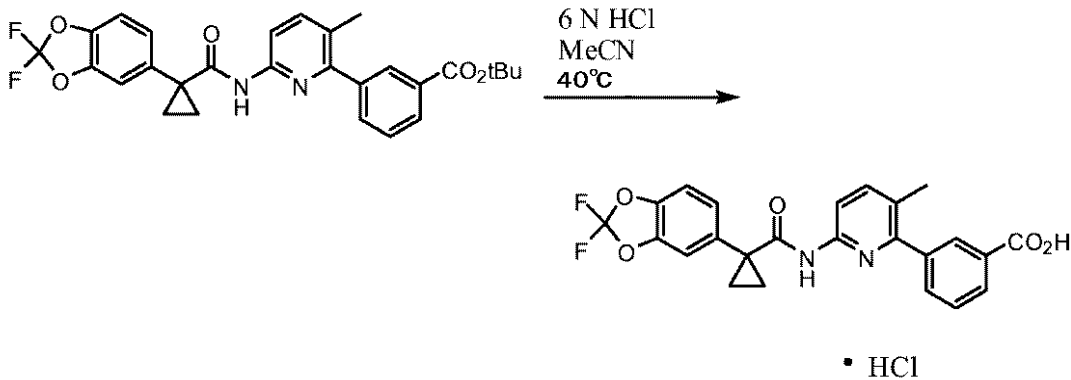
ルベンゾエートを茶色の固体として得る。

【0116】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸・HCl 塩の合成

【0117】

【化15】



10

MeCN (3 . 0 倍容量) 中の 3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) - t - ブチルベンゾエート (1 . 0 当量) のスラリーに対して水 (0 . 8 3 倍容量) を添加し、続いて、濃 HCl 水溶液 (0 . 8 3 倍容量) を添加する。この混合物を 45 ± 5 に加熱する。24 ~ 48 時間の攪拌の後に反応が完了し、この混合物を室温に冷却する。水 (1 . 3 3 倍容量) を添加し、この混合物を攪拌する。固体を濾過によって集め、水 (2 回 \times 0 . 3 倍容量) で洗浄し、濾紙上で減圧下で部分的に乾燥させる。わずかな N_2 流を用いて 60 の真空オープンの中で、この固体を恒量 (< 1 % の差) となるまで乾燥させて、3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸・HCl を灰白色の固体として得る。

20

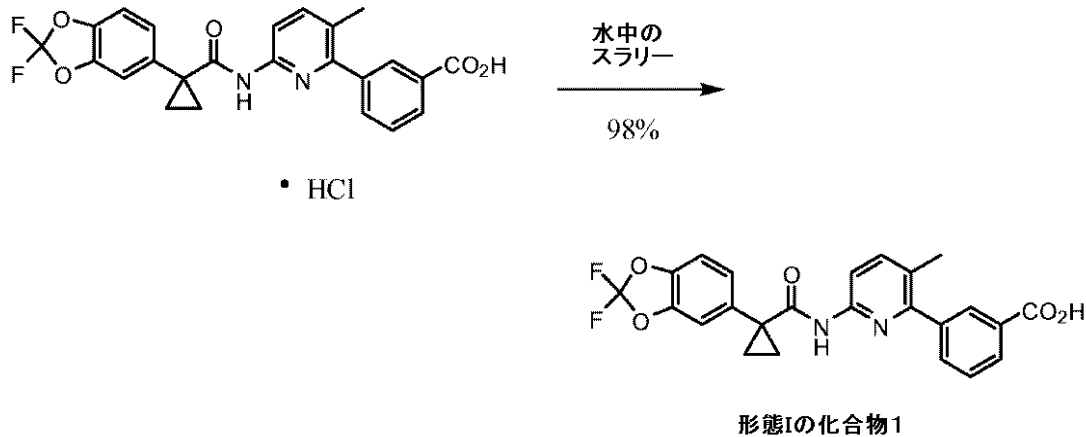
30

【0118】

3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3] ジオキソール - 5 - イル) シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル) 安息香酸 (形態 I の化合物 1) の合成。

【0119】

【化16】



40

水 (1 0 倍容量) 中の 3 - (6 - (1 - (2 , 2 - ジフルオロベンゾ [d] [1 , 3]

50

ジオキソール - 5 - イル)シクロプロパンカルボキサミド) - 3 - メチルピリジン - 2 - イル)安息香酸・HCl (1当量)のスラリーを室温で攪拌する。試料を、24時間の攪拌後に採る。この試料を濾過し、固体を水で洗浄する(2回)。この固体試料をDSC分析に提出する。DSC分析が化合物1への変換の完了を示したら、この固体を濾過によって集め、水(2回×1.0倍容量)で洗浄し、濾紙上で減圧下で部分的に乾燥させる。わずかなN₂流を用いて60の真空オープンの中で、この固体を恒量(<1%の差)となるまで乾燥させて、化合物1を灰白色の固体(98%の収率)として得る。

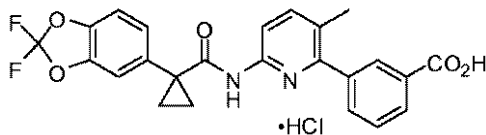
【0120】

水および塩基を使用する3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸(形態Iの化合物1)の合成

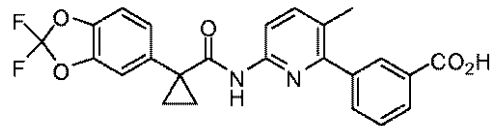
10

【0121】

【化17】



1. H₂O, 50%のNaOH
2. 濃HCl
60-90 °C



20

形態Iの化合物1

室温で攪拌した水(10倍容量)中の3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸・HCl(1当量)のスラリーに対して、50%w/wのNaOH水溶液(2.5当量)を添加する。この混合物を少なくとも(NLT)15分間、または均一な溶液になるまで攪拌する。濃HCl(4当量)を添加して化合物1を結晶化させる。t-ブチルベンゾエートエステルのレベルを下げる必要がある場合には、この混合物を60または90に加熱する。この混合物を、HPLC分析が0.8%(AUC)以下(NMT)のt-ブチルベンゾエートエステルを示すまで加熱する。その後、この混合物を室温に冷却し、固体を濾過によって集め、水(3回×3.4倍容量)で洗浄し、濾紙上で減圧下で部分的に乾燥させる。わずかなN₂流を用いて60の真空オープンの中で、この固体を恒量(<1%の差)となるまで乾燥させて、化合物1を灰白色の固体(97%の収率)として得る。

30

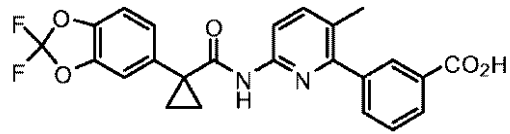
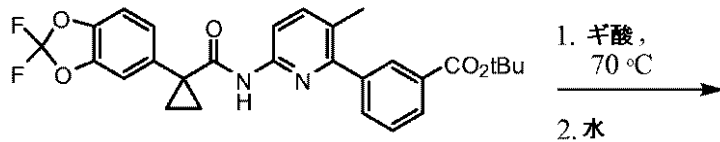
【0122】

ベンゾエートからの直接の3-(6-(1-(2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)シクロプロパンカルボキサミド)-3-メチルピリジン-2-イル)安息香酸(形態Iの化合物1)の合成

40

【0123】

【化 1 8】



形態Iの化合物1

10

希酸（3.0倍容量）中の3-（6-（1-（2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル）シクロプロパンカルボキサミド）-3-メチルピリジン-2-イル）-t-ブチルベンゾエート（1.0当量）の溶液を70±10 に加熱する。この反応は、反応が完了する（1.0% AUC以下（NMT）の3-（6-（1-（2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル）シクロプロパンカルボキサミド）-3-メチルピリジン-2-イル）-t-ブチルベンゾエート）まで継続するか、または8時間以下（NMT）加熱する。この混合物を室温に冷却する。この溶液を、50 に加熱した水（6倍容量）に添加し、混合物を攪拌する。その後、この混合物を、3-（6-（1-（2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル）シクロプロパンカルボキサミド）-3-メチルピリジン-2-イル）-t-ブチルベンゾエートのレベルが0.8%（AUC）未満（NMT）となるまで、70±10 に加熱する。固体を濾過によって集め、水（2回×3倍容量）で洗浄し、濾紙上で減圧下で部分的に乾燥させる。わずかなN₂流を用いて60 の真空オープンの中で、この固体を恒量（<1%の差）となるまで乾燥させて、形態Iの化合物1を灰白色の固体として得る。

20

30

【0124】

形態Iの化合物1の単結晶構造から計算したX線回折パターンを図1に示す。表1は図1について計算したピークを列挙する。

【0125】

【表1】

表1

ピーク ランク	2θ角[度]	相対強度 [%]
11	14.41	48.2
8	14.64	58.8
1	15.23	100.0
2	16.11	94.7
3	17.67	81.9
7	19.32	61.3
4	21.67	76.5
5	23.40	68.7
9	23.99	50.8
6	26.10	67.4
10	28.54	50.1

40

形態Iの化合物1の実際のX線粉末回折パターンを図2に示す。表2は、図2についての実際のピークを列挙する。

50

【 0 1 2 6 】

【 表 2 】

表2

ピーク ランク	2θ角[度]	相対強度 [%]
7	7.83	37.7
3	14.51	74.9
4	14.78	73.5
1	15.39	100.0
2	16.26	75.6
6	16.62	42.6
5	17.81	70.9
9	21.59	36.6
10	23.32	34.8
11	24.93	26.4
8	25.99	36.9

10

形態 I の化合物 1 の単結晶構造から計算した X 線回折パターンと形態 I の化合物 1 の実際の X 線粉末回折パターンの重ね合わせを図 3 に示す。この重ね合わせは、計算したピーク位置と実際のピーク位置との間での良好な一致を示し、差はわずかに約 0.15 度である。

20

【 0 1 2 7 】

形態 I の化合物 1 の D S C トレースを図 4 に示す。形態 I の化合物 1 の融解は約 204 で起こる。

【 0 1 2 8 】

単結晶 X 線分析に基づく形態 I の化合物 1 の立体配座の絵を図 5 ~ 8 に示す。図 6 ~ 8 は、二量体のカルボン酸基の水素結合と、結晶の中に存在するそれによって生じる積み重なりを示す。この結晶構造は、分子の高密度でのパッキングを明らかにする。形態 I の化合物 1 は、以下の格子定数を持つ単斜の $P 2_1/n$ である： $a = 4.9626 (7)$ 、 $b = 12.299 (2)$ 、 $c = 33.075 (4)$ 、 $\beta = 93.938 (9)^\circ$ 、 $V = 2014.0 \text{ \AA}^3$ 、 $Z = 4$ 。構造データから計算した形態 I の化合物 1 の密度は、100 K で 1.492 g/cm^3 である。

30

【 0 1 2 9 】

化合物 1 の $^1\text{H NMR}$ スペクトルを図 9 ~ 11 に示す（図 9 および 10 は、 50 mg/mL の、0.5 メチルセルロース - ポリソルベート 80 懸濁液中の形態 I の化合物 1 を示し、図 11 は、HCl 塩としての化合物 1 を示す）。

【 0 1 3 0 】

以下の表 3 は、化合物 1 についてのさらなる分析データを示す。

【 0 1 3 1 】

【表 3】
表3

化合物 の番号	LC/MS M+1	LC/RT 分	NMR
1	453.3	1.93	H NMR (400 MHz, DMSO-d6) 9.14 (s, 1H), 7.99-7.93 (m, 3H), 7.80-7.78 (m, 1H), 7.74-7.72 (m, 1H), 7.60-7.55 (m, 2H), 7.41-7.33 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.53-1.51 (m, 2H), 1.19-1.17 (m, 2H).

10

(アッセイ)

(化合物の F508 - CFTR 矯正特性 (Correction Property) を検出および測定するためのアッセイ)

(化合物の F508 - CFTR 調節特性をアッセイするための膜電位の光学的測定方法)

上記光学的膜電位アッセイでは、Gonzalez および Tsien によって記載された電圧感受性の FRET センサー (Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien (1995) 「Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells」Biophys J 69 (4): 1272 - 80、および Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien (1997) 「Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer」Chem Biol 4 (4): 269 - 77 を参照のこと) を、電圧 / イオンプローブリーダー (VIPR) のような、蛍光変化を測定するための計測器 (Gonzalez, J. E., K. Oades, ら、(1999) 「Cell-based assays and instrumentation for screening ion-channel targets」Drug Discov Today 4 (9): 431 - 439 を参照のこと) と組み合わせて利用した。

20

30

【0132】

これらの電圧感受性アッセイは、膜可溶性の電圧感受性色素である DiSBAC₂ (3) と蛍光性リン脂質である CC2 - DMPE との間での蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET) における変化に基づく。CC2 - DMPE は、原形質膜の外側のリーフレットに結合され、そして FRET 供与体として働く。膜電位 (V_m) の変化は、負に荷電した DiSBAC₂ (3) の原形質膜を横切った再分布を生じさせ、それにしたがって CC2 - DMPE からのエネルギー転移の量が変化する。蛍光放射の変化は、VIPR (商標) II を使用してモニタリングした。VIPR (商標) II は、96 ウェルマイクロタイタープレートまたは 384 ウェルマイクロタイタープレートの中で細胞をベースとするスクリーニングを行うために設計された、一体型の液体ハンドラー (handler) および蛍光検出器である。

40

【0133】

(1. 矯正化合物の同定)

F508 - CFTR に関連する輸送の欠陥を矯正する低分子を同定するために、1 回添加 HTS アッセイ (single addition HTS assay) 形式を開発した。細胞を、試験化合物の存在下または非存在下 (ネガティブコントロール) で、37 °C にて 16 時間、無血清培地中でインキュベーションした。ポジティブコントロールとして、384 ウェルプレートにプレATINGした細胞を、27 °C で 16 時間インキュベ

50

ーションして「温度 - 矯正」 F 5 0 8 - C F T Rとした。続いて、上記細胞を、K r e b s R i n g e r s 溶液で3回リンスし、そして電圧感受性色素を充填した。F 5 0 8 - C F T Rを活性化させるために、10 μ Mのフォルスコリンと、C F T R増強因子であるゲニステイン(20 μ M)を、C l ⁻非含有培地とともに各ウェルに添加した。C l ⁻非含有培地の添加は、F 5 0 8 - C F T Rの活性化にตอบสนองしてC l ⁻流出を促進し、そして生じた膜の脱分極を、F R E Tをベースとする電圧感知色素(v o l t a g e - s e n s o r d y e)を使用して光学的にモニタリングした。

【0134】

(2. 増強因子化合物の同定)

F 5 0 8 - C F T Rの増強因子を同定するために、2回添加H T Sアッセイ形式を開発した。最初の添加の間に、試験化合物を含むC l ⁻非含有培地または試験化合物を含まないC l ⁻非含有培地を、各ウェルに添加した。22秒後、2 ~ 10 μ Mのフォルスコリンを含むC l ⁻非含有培地の2回目の添加を行って、F 5 0 8 - C F T Rを活性化させた。F 5 0 8 - C F T Rの活性化にตอบสนองしてC l ⁻流出を促進した、2回の添加後の細胞外C l ⁻濃度は、28 mMであり、そして生じた膜の脱分極を、F R E Tをベースとする電圧感知色素を使用して光学的にモニタリングした。

10

【0135】

(3. 溶液)

バス溶液番号1: (mM) N a C l 160、K C l 4.5、C a C l ₂ 2、M g C l ₂ 1、H E P E S 10、N a O HによってpH7.4。

20

塩化物非含有バス溶液: バス溶液番号1中の塩化物塩をグルコン酸塩に置き換えた。

C C 2 - D M P E : D M S O中の10 mMのストック溶液として調製し、-20 で保存した。

D i S B A C ₂ (3) : D M S O中の10 mMのストックとして調製し、-20 で保存した。

【0136】

(4. 細胞培養)

F 5 0 8 - C F T Rを安定して発現するN I H 3 T 3マウス線維芽細胞を、膜電位の光学的測定に使用した。この細胞を、175 cm²の培養フラスコ中の、2 mMのグルタミン、10%のウシ胎仔血清、1 x N E A A、- M E、1 x ペニシリン/ストレプトマイシン、および25 mMのH E P E Sを補充したD u l b e c c o ' s 改変E a g l e ' s 培地中で、5%のC O ₂ および90%の湿度で、37 で維持した。全ての光学的アッセイについて、これらの細胞を、384ウェルのマトリゲルをコーティングしたプレートの中に30,000個/ウェルで播種し、増強因子アッセイのためには、37 で2時間培養し、その後、27 で24時間培養した。矯正アッセイについては、上記細胞を、27 または37 で、化合物とともに、および化合物を含めずに、16 ~ 24時間培養した。

30

【0137】

(化合物の F 5 0 8 - C F T R調節特性をアッセイするための電気生理学的アッセイ

(1. ウッシングチャンバーアッセイ(u s i n g c h a m b e r a s s a y))

40

ウッシングチャンバー(u s i n g c h a m b e r) 実験を、光学的アッセイにおいて同定した F 5 0 8 - C F T R調節因子をさらに特性決定するために、F 5 0 8 - C F T Rを発現する分極した上皮細胞について行った。C o s t a r S n a p w e l l 細胞培養挿入物上で増殖させたF R T F 5 0 8 - C F T R上皮細胞を、ウッシングチャンバー(P h y s i o l o g i c I n s t r u m e n t s , I n c . , S a n D i e g o , C A) にマウントし、この単層を、ボルテージクランプシステム(D e p a r t m e n t o f B i o e n g i n e e r i n g , U n i v e r s i t y o f I o w a , I A、および、P h y s i o l o g i c I n s t r u m e n t s , I n c . , S a n D i e g o , C A) を使用して連続的に短絡化させた。経上皮抵抗(t r a n s e p i t h e l i a l r e s i s t a n c e) を、2 mVのパルスを印加することによって測定

50

した。これらの条件下で、このFRT上皮は、 $4\text{ K} / \text{cm}^2$ 以上の抵抗を示した。この溶液を27で維持し、そして空気で泡立てた。電極オフセット電位と流体抵抗を、細胞を含まない挿入物を使用して補正した。これらの条件下では、電流は、その頂端膜の中で発現されたF508-CFTRを通過する Cl^- の流れを反映する。 I_{SC} は、MP100A-CEインターフェースおよびAcqKnowledgeソフトウェア(3.2.6; BIOPAC Systems, Santa Barbara, CA)を使用してデジタル的に取得した。

【0138】

(2. 矯正化合物の同定)

典型的なプロトコルでは、側底膜から頂端膜にかけての Cl^- 濃度勾配を利用した。この勾配を設定するために、通常のリンガー液を側底膜上で使用し、一方、頂端膜のNaClを等モルのグルコン酸ナトリウム(NaOHでpH7.4に滴定した)によって置き換えて、この上皮を横切る大きな Cl^- 濃度勾配を得た。全ての実験を、インタクトな単層を用いて行った。F508-CFTRを完全に活性化させるために、フォルスコリン($10\ \mu\text{M}$)と、PDE阻害剤であるIBMX($100\ \mu\text{M}$)を加え、続いて、CFTR増強因子であるゲニステイン($50\ \mu\text{M}$)を添加した。

10

【0139】

他のタイプの細胞において観察されるように、F508-CFTRを安定して発現するFRT細胞の低温でのインキュベーションは、その原形質膜中のCFTRの機能上の密度を増加させる。矯正化合物の活性を決定するために、上記細胞を、 $10\ \mu\text{M}$ のこの試験化合物とともに37で24時間インキュベーションし、続いて記録前に3回洗浄した。化合物で処理した細胞におけるcAMP媒介性 I_{SC} およびゲニステイン媒介性 I_{SC} を、27のコントロールおよび37のコントロールに対して標準化し、そして活性の割合(%)として表わした。細胞の矯正化合物との前インキュベーションにより、37のコントロールと比較して、cAMP媒介性 I_{SC} およびゲニステイン媒介性 I_{SC} が有意に上昇した。

20

【0140】

(3. 増強因子化合物の同定)

典型的なプロトコルでは、側底膜から頂端膜にかけての Cl^- 濃度勾配を利用した。この勾配を設定するために、通常のリンガー液を側底膜上で使用し、ナスタチン($360\ \mu\text{g}/\text{ml}$)で透過性にし、一方、頂端膜のNaClを、等モルのグルコン酸ナトリウム(NaOHでpH7.4に滴定した)によって置き換えて、この上皮を横切る大きな Cl^- 濃度勾配を得た。全ての実験は、ナスタチンによる透過化の30分後に行った。フォルスコリン($10\ \mu\text{M}$)および全ての試験化合物を、この細胞培養挿入物の両側に添加した。推定のF508-CFTR増強因子の有効性を、公知の増強因子であるゲニステインの有効性と比較した。

30

【0141】

(4. 溶液)

側底膜用溶液(mM): NaCl(135)、 CaCl_2 (1.2)、 MgCl_2 (1.2)、 K_2HPO_4 (2.4)、 KHPO_4 (0.6)、N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンサルホン酸(HEPES)(10)、およびデキストロース(10)。この溶液を、NaOHでpH7.4になるように滴定した。

40

頂端膜用溶液(mM): NaClをグルコン酸Na(135)に置き換えた、側底膜用溶液と同じもの。

【0142】

(5. 細胞培養)

F508-CFTRを発現するFisherラット上皮(FRT)細胞(FRT^{F508-CFTR})を、本発明者らの光学的アッセイにより同定した推定のF508-CFTR調節因子についてのウッシングチャンパー実験に使用した。これらの細胞を、Costar Snapwell細胞培養用挿入物上で培養し、5%のウシ胎仔血清、10

50

0 U / m l のペニシリン、および 1 0 0 μ g / m l のストレプトマイシンを補充した C o n ' s 改変 H a m ' s F - 1 2 培地中で、3 7 $^{\circ}$ C、そして 5 % の C O ₂ で、5 日間培養した。化合物の増強因子活性を特性決定するための使用の前に、これらの細胞を、F 5 0 8 - C F T R を矯正するためには、2 7 $^{\circ}$ C にて 1 6 ~ 4 8 時間インキュベーションした。矯正化合物の活性を決定するためには、この細胞を、2 7 $^{\circ}$ C または 3 7 $^{\circ}$ C で、化合物とともに、および化合物を含めずに、2 4 時間インキュベーションした。

【 0 1 4 3 】

(6 . ホールセル記録)

F 5 0 8 - C F T R を安定して発現する温度で矯正された N I H 3 T 3 細胞および F 5 0 8 - C F T R を安定して発現する試験化合物で矯正された N I H 3 T 3 細胞の巨視的な F 5 0 8 - C F T R 電流 (I_{F508}) を、穿孔パッチ、ホールセル記録を使用してモニタリングした。簡単に説明すると、 I_{F508} のボルテージクランプ記録を、A x o p a t c h 2 0 0 B パッチクランプ増幅器 (A x o n I n s t r u m e n t s I n c . , F o s t e r C i t y , C A) を使用して室温で行った。全ての記録を、1 0 k H z のサンプリング周波数で、そして 1 k H z のローパスフィルターで取得した。ピペットは、細胞内溶液で満たした場合には、5 ~ 6 M Ω の抵抗を有していた。これらの記録条件下では、室温で C l ₁ について計算した逆転電位 (E_{Cl}) は、- 2 8 m V であった。全ての記録は、2 0 G Ω より大きいシール抵抗および 1 5 M Ω より小さい直列抵抗を有していた。パルスの発生、データの取得、および分析は、C l a m p e x 8 (A x o n I n s t r u m e n t s I n c .) とつないだ D i g i d a t a 1 3 2 0 A / D インターフェイスを搭載した P C を使用して行った。このバスには、2 5 0 μ l 未満の生理食塩水を含め、そしてこれを、重力による灌流システムを使用して、2 m l / 分の速度で連続的に灌流させた。

10

20

【 0 1 4 4 】

(7 . 矯正化合物の同定)

原形質膜中の機能的 F 5 0 8 - C F T R の密度を上昇させるための矯正化合物の活性を決定するために、本発明者らは、上記の穿孔パッチ記録技術を使用して、この矯正化合物で 2 4 時間処理した後の電流密度を測定した。F 5 0 8 - C F T R を完全に活性化させるために、1 0 μ M のフォルスコリン、および 2 0 μ M のゲニステインを上記細胞に添加した。本発明者らの記録条件下においては、2 7 $^{\circ}$ C で 2 4 時間インキュベーションした後の電流密度は、3 7 $^{\circ}$ C で 2 4 時間インキュベーションした後に観察された電流密度より高かった。これらの結果は、原形質膜中の F 5 0 8 - C F T R の密度に対する低温でのインキュベーションの公知の効果と一致する。C F T R 電流密度に対する矯正化合物の効果を決めるために、上記細胞を、1 0 μ M のこの試験化合物とともに、3 7 $^{\circ}$ C で 2 4 時間インキュベーションし、この電流密度を、2 7 $^{\circ}$ C のコントロールおよび 3 7 $^{\circ}$ C のコントロールと比較した (% 活性) 。記録前に、これらの細胞を、細胞外記録培地で 3 回洗浄して、残存している試験化合物を全て除去した。1 0 μ M の矯正化合物とのプレインキュベーションは、3 7 $^{\circ}$ C のコントロールと比較して、c A M P 依存性の電流およびゲニステイン依存性の電流を、有意に上昇させた。

30

40

【 0 1 4 5 】

(8 . 増強因子化合物の同定)

F 5 0 8 - C F T R を安定して発現する N I H 3 T 3 細胞における巨視的な F 5 0 8 - C F T R による C l ₁ 電流 (I_{F508}) を上昇させる F 5 0 8 - C F T R 増強因子の能力もまた、穿孔パッチ記録技術を使用して調査した。上記光学的アッセイにより同定した増強因子は、その光学的アッセイにおいて観察されたものと同様の効力および有効性で、 I_{F508} の用量依存的上昇を引き起こした。試験した全ての細胞において、増強因子の添加前および添加の際の逆転電位は、およそ - 3 0 m V であり、これは、計算した E_{Cl} (- 2 8 m V) である。

【 0 1 4 6 】

(9 . 溶液)

50

細胞内溶液 (mM) : アスパラギン酸 Cs (90)、CsCl (50)、MgCl₂ (1)、HEPES (10)、および 240 μg/ml のアンホテリシン-B (CsOH で pH を 7.35 に調整した)。

細胞外溶液 (mM) : N-メチル-D-グルカミン (NMDG) - Cl (150)、MgCl₂ (2)、CaCl₂ (2)、HEPES (10) (HCl で pH を 7.35 に調整した)。

【0147】

(10. 細胞培養)

F508-CFTR を安定して発現する NIH3T3 マウス線維芽細胞をホールセル記録に使用する。これらの細胞を、175 cm² の培養フラスコ中の、2 mM のグルタミン、10% のウシ胎仔血清、1 × NEAA、-ME、1 × ペニシリン/ストレプトマイシン、および 25 mM の HEPES を補充した Dulbecco's 改変 Eagle's 培地中で、5% の CO₂ および 90% の湿度で、37 °C で維持した。ホールセル記録については、2,500 ~ 5,000 個の細胞を、ポリ-L-リジン をコーティングしたガラスカバースリップ上に播種し、増強因子の活性を試験するための使用の前に、27 °C で 24 ~ 48 時間培養し、そして矯正化合物の活性を測定するために、37 °C で、矯正化合物とともに、または矯正化合物を含めずにインキュベーションした。

10

【0148】

(11. 単一チャンネル (single-channel) 記録)

NIH3T3 細胞中で安定して発現された温度矯正 F508-CFTR の単一チャンネル活性および増強因子化合物の活性を、切除したインサイドアウト膜パッチ (inside-out membrane patch) を使用して観察した。簡単に説明すると、単一チャンネル活動のボルテージクランプ記録を、Axopatch 200B パッチクランプ増幅器 (Axon Instruments Inc.) を用いて室温で行った。全ての記録を、10 kHz のサンプリング周波数で、そして 400 Hz のローパスフィルターで取得した。パッチピペットは、Corning Kovar Sealing 番号 7052 ガラス (World Precision Instruments, Inc., Sarasota, FL) により作製されたものであり、そしてこのピペットは、細胞外溶液で満たした場合には、5 ~ 8 M の抵抗を有していた。この F508-CFTR を、切除後に、1 mM の Mg-ATP、および 75 nM の cAMP 依存性プロテインキナーゼ、触媒サブユニット (PKA; Promega Corp. Madison, WI) を添加することによって活性化させた。チャンネル活性が安定化した後、このパッチを、重力によるマイクロ灌流システムを使用して灌流させた。この流入をこのパッチに隣接させて配置し、それにより、1 ~ 2 秒以内に溶液を完全に交換した。速い灌流の間の F508-CFTR 活性を維持するために、非特異的ホスファターゼ阻害剤 F⁻ (10 mM の NaF) をバス溶液に添加した。これらの記録条件下では、チャンネル活性は、パッチ記録の間を通じて (60 分まで) 一定に維持された。その細胞内溶液から細胞外溶液に移動する正電荷 (陰イオンは反対の方向に移動する) によって発生した電流を正電流として示す。ピペット電位 (V_p) は 80 mV に維持した。

20

30

【0149】

チャンネル活性を、2 以下の活性チャンネルを含む膜パッチから分析した。同時に開口する最大数から、実験過程の間の活性チャンネルの数を決定した。単一チャンネルの電流振幅を決定するために、120 秒間の F508-CFTR 活動から記録したデータを、100 Hz にて「オフライン」でフィルターし、次いで Bio-Patch Analysis ソフトウェア (Bio-Logic Comp. France) を使用して多重ガウス関数 (multigaussian function) に適合した全点振幅ヒストグラムを構築するために使用した。微小電流の合計および開口確率 (P_o) を、120 秒間のチャンネル活動から決定した。この P_o を、Bio-Patch ソフトウェアを使用して、または P_o = I / i (N) の関係から決定した (ここでは、I = 平均電流、i = 単一チャンネル電流振幅、そして N = パッチ中の活性チャンネルの数)。

40

50

【 0 1 5 0 】

(1 2 . 溶 液)

細胞外溶液 (m M) : N M D G (1 5 0) 、 アスパラギン酸 (1 5 0) 、 $C a C l _ 2$ (5) 、 $M g C l _ 2$ (2) 、 および H E P E S (1 0) (T r i s 塩基で p H を 7 . 3 5 に調整した) 。

細胞内溶液 (m M) : N M D G - C l (1 5 0) 、 $M g C l _ 2$ (2) 、 E G T A (5) 、 T E S (1 0) 、 および T r i s 塩基 (1 4) (H C l で p H を 7 . 3 5 に調整した) 。

【 0 1 5 1 】

(1 3 . 細胞培養)

F 5 0 8 - C F T R を安定して発現する N I H 3 T 3 マウス線維芽細胞を、切除した膜パッチクランプ記録に使用した。これらの細胞を、 $1 7 5 c m ^ 2$ の培養フラスコ中の、2 m M のグルタミン、1 0 % のウシ胎仔血清、1 x N E A A 、 - M E 、 1 x ペニシリン / ストレプトマイシン、および 2 5 m M の H E P E S を補充した D u l b e c c o ' s 改変 E a g l e ' s 培地中で、5 % の $C O _ 2$ および 9 0 % の湿度で、3 7 ° C で維持した。単一チャネル記録のために、2 , 5 0 0 ~ 5 , 0 0 0 個の細胞を、ポリ - L - リジンをコーティングしたガラスカバースリップ上に播種し、そして使用前に 2 7 ° C で 2 4 ~ 4 8 時間培養した。

10

【 0 1 5 2 】

上記手順を使用して試験して、化合物 1 の活性、すなわち、E C 5 0 を測定した。これを表 4 に示す。

20

【 0 1 5 3 】

【 表 4 】

表4

IC50/EC50の分類: +++ <= 2.0 < ++ <= 5.0 < +		
%活性の分類: + <= 25.0 < ++ <= 100.0 < +++		
化合物番号	分類したEC50	分類した最大効力
1	+++	+++

30

(化合物 1 のカプセル剤の調製)

化合物 1 を含有するカプセル剤を、表 5 に列挙する成分および量で調製した。

【 0 1 5 4 】

【 表 5 】

表5

成分	成分機能	mg/カプセル剤	含有量 (%w/w)
化合物1	有効成分	50.00	23.81
ラクトース水和物	増量剤	84.40	40.19
微結晶セルロース	増量剤	42.00	20.00
カルボキシメチル スターチナトリウム	崩壊剤	21.00	10.00
ラウリル硫酸ナトリウム	界面活性剤	10.50	5.00
コロイド状二酸化ケイ素	流動促進剤	1.05	0.50
ステアリン酸マグネシウム	潤滑剤	1.05	0.50
合計		210	100

40

50

化合物 1 を含有するカプセル剤をまた、表 6 に列挙する成分および量でも調製した。

【 0 1 5 5 】

【 表 6 】

表6

成分	成分機能	25mgのカプセル剤		50mgのカプセル剤	
		量/カプセル剤 (mg)	含有量 (%w/w)	量/カプセル剤 (mg)	含有量 (%w/w)
化合物1	有効成分	25.00	23.81	50.00	23.81
ラクトース 一水和物	増量剤	46.51	44.30	93.03	44.30
微結晶 セルロース	増量剤	16.10	15.33	32.19	15.33
カルボキシメチル スターチナトリウム	崩壊剤	10.50	10.00	21.00	10.00
ラウリル硫酸 ナトリウム	界面活性剤	5.79	5.51	11.57	5.51
コロイド状 二酸化ケイ素	流動促進剤	0.577	0.55	1.16	0.55
ステアリン酸 マグネシウム	潤滑剤	0.525	0.50	1.05	0.50
合計		105.00	100%	210.00	100%

10

20

(機器 / 処理)

(機器)

- ・ 30メッシュのハンドスクリーン (hand screen)
- ・ 4クォートシェル (quart shell) を持つV型ブレンダー (V - blender)
- ・ ブレンドのサンプリングのための機器
- ・ In - Capカプセル充填機
- ・ Capsugelサイズ1白色不透明ゼラチンConi - Snapカプセル (Capsugel size 1 white opaque gelatin Coni - Snap capsules)
- ・ 製造工程内試験機器 (In process testing equipment) (平衡および重量を選別する機器)
- ・ 75ccのHDPEボトルおよび蓋
- (スクリーニング / 秤量)

30

化合物 1 は、バッチ秤量前にスクリーニングする。およそ 5 % の余剰材料 (excess material) を秤量し、この材料の塊をバラバラにする (delump) ために、これらの材料を 30メッシュのハンドスクリーン (hand screen) を通過させる。材料をスクリーニングした後、混合のために必要な量にしたがって再度秤量する。

40

【 0 1 5 6 】

バッチ秤量前のスクリーニングは、他のいずれの原材料についても必要はないが、全ての材料を、ブレンドの前に 30メッシュのハンドスクリーンに通過させなければならない。

【 0 1 5 7 】

(ブレンド)

ブレンド (潤滑化前 (Pre - Lubrication) 1) :

4クォートV型ブレンダーシェルには、以下の順序で充填する :

- 1) 全量の 1 / 2 のラクトース (Fast - Flo 316)

50

- 2) ジェットミルした (Jet Milled) 化合物 1
- 3) コロイド状二酸化ケイ素
- 4) ラウリル硫酸ナトリウム

これらの材料を、設定した速度で5分間ブレンドする。

【0158】

ブレンド (潤滑化前 2) :

以下の賦形剤を、この順序でV型ブレンダーに添加する :

- 1) 全量の1/2のラクトース (Fast-Flow 316)
- 2) カルボキシメチルスターチナトリウム (ExploTab)
- 3) 微結晶セルロース (Avicel PH-101)

これらの材料を、設定した速度で20分間混合する。

【0159】

ブレンド (潤滑化後) :

潤滑化前のブレンドが完了した後、ステアリン酸マグネシウムを30メッシュのハンドスクリーンを使用して塊をバラバラにし、V型ブレンダーに添加し、他の原材料とともに設定した速度で5分間混合する。

【0160】

(カプセル剤の充填)

最終的な混合が完了したら、ブレンドをIn-Capカプセル充填機に移す。使用するゼラチンカプセルは、Capsugelサイズ1白色不透明Coni-Snapカプセルである。

【0161】

これらのカプセルは、カプセル殻の重量を決定する前に1~3時間、カプセル化の一式 (encapsulation suite) の中で平衡化させなければならない。カプセル殻の重量は、10個のカプセル殻のうち3個のサンプルの平均値をとることによって決定する。サンプルは、バルク容器の異なる領域から採る。目的の充填量は210mgであり、したがって、製造工程中の目的の重量は、210mg + 平均のカプセルの重量である。許容される重量の範囲は、±5%である (カプセル殻の重量を76mgと仮定すると272~300mg。実際の殻の重量はカプセル化前に決定する)。

【0162】

目的の重量に達したら、カプセルを回収し、平均重量を決定する (プラセボについては10個のカプセル、有効成分を含むバッチについては5個のカプセル)。少なくとも5個のカプセルについての個々の重量もまた、カプセルごとのばらつきを評価するために決定すべきである。重量を、10個 (プラセボ) または5個 (有効成分) のカプセルの平均重量を決定することによって、15分ごとにチェックする。5個のカプセルについての個々の重量もまた記録すべきである。平均重量が範囲内には、上記重量の設定手順を繰り返し行う。

【0163】

使用に適したカプセル剤を、目的の±5%の重量の範囲を使用して重量選別する。

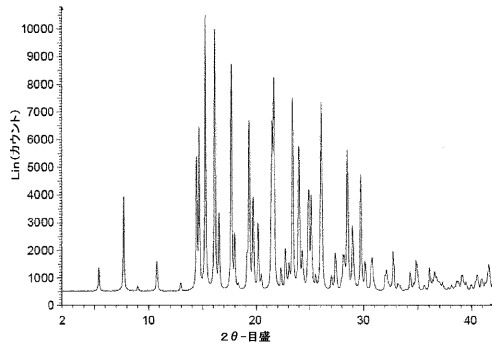
10

20

30

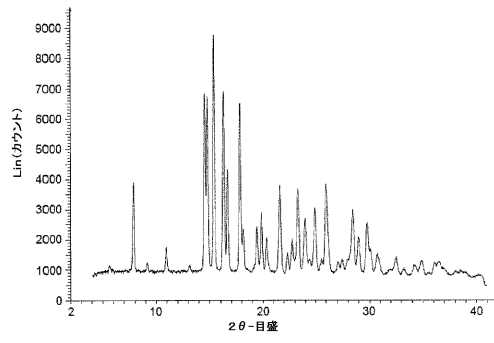
【 図 1 】

Figure 1



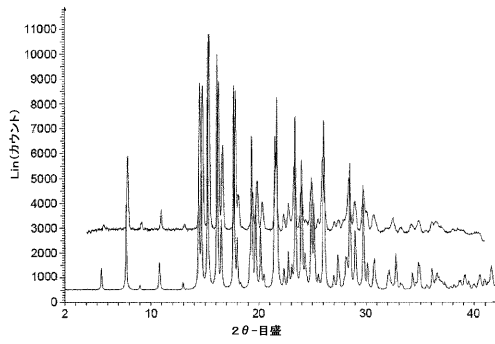
【 図 2 】

Figure 2



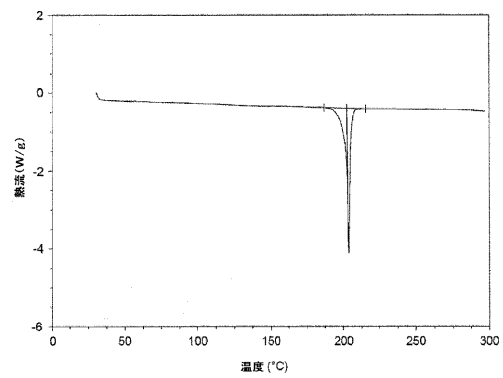
【 図 3 】

Figure 3



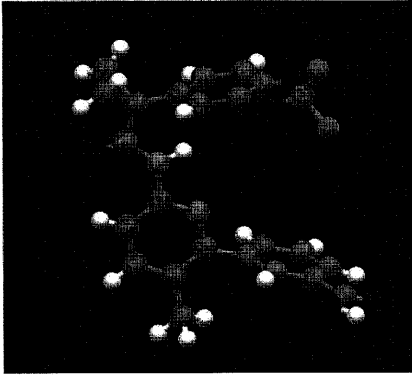
【 図 4 】

Figure 4



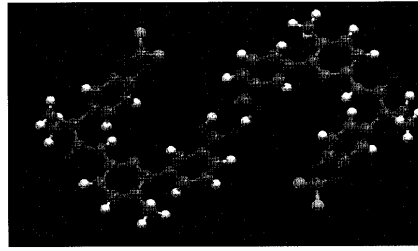
【 図 5 】

Figure 5



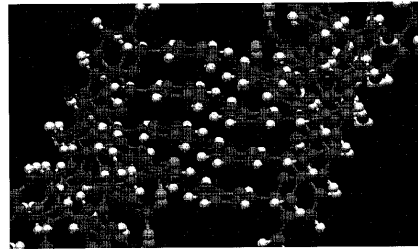
【 図 6 】

Figure 6



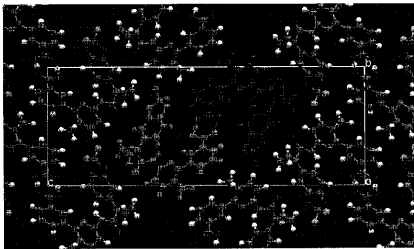
【 図 7 】

Figure 7



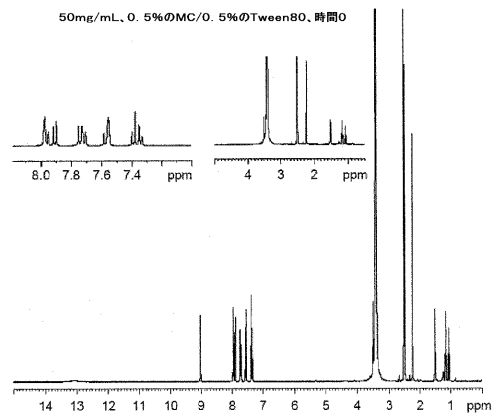
【 図 8 】

Figure 8



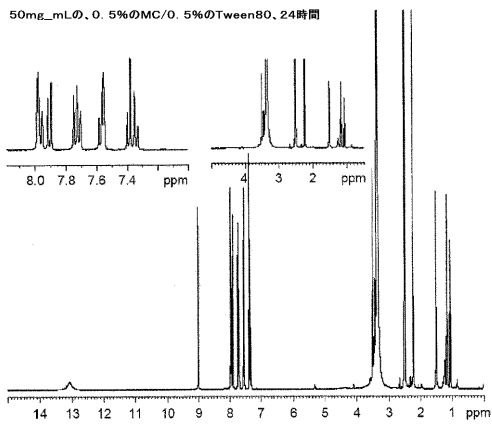
【 図 9 】

Figure 9



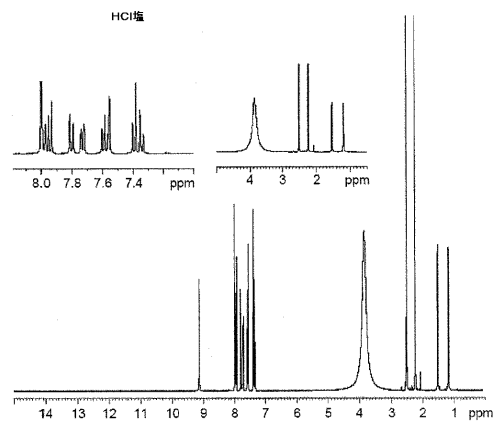
【 図 1 0 】

Figure 10



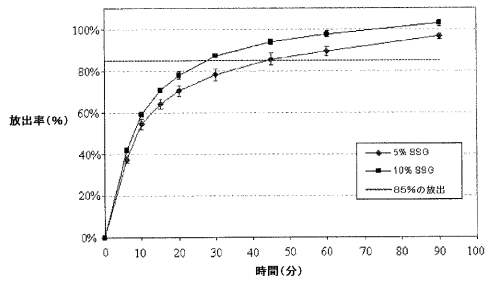
【 図 1 1 】

Figure 11



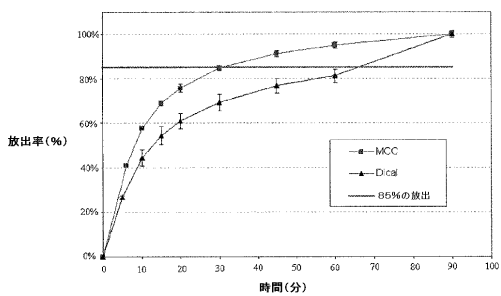
【 図 1 2 】

Figure 12



【 図 1 3 】

Figure 13



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/058677

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K9/48 A61K31/443		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/056341 A1 (VERTEX PHARMA [US]; HADIDA RUAH SARA [US]; HAMILTON MATTHEW [US]; MILL) 18 May 2007 (2007-05-18) compound 396; page 94 page 104, paragraph 326 - page 106, paragraph 334	1-77
X,P	WO 2009/076141 A2 (VERTEX PHARMA [US]; KESHAVARZ-SHOKRI ALI [US]; YOUNG CHRISTOPHER [US]) 18 June 2009 (2009-06-18) paragraph [0063] paragraph [0108]	1-77
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier document but published on or after the international filing date		"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 16 March 2010		Date of mailing of the international search report 23/03/2010
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5816 Patentkan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer S. von Eggelkraut-G.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2009/058677

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WD 2007056341 A1	18-05-2007	AU 2006311650 A1	18-05-2007
		CA 2627358 A1	18-05-2007
		EP 1945632 A1	23-07-2008
		JP 2009514962 T	09-04-2009
		KR 20080066086 A	15-07-2008
		US 2008306062 A1	11-12-2008
		US 2008113985 A1	15-05-2008
		US 2008019915 A1	24-01-2008
WD 2009076141 A2	18-06-2009	US 2009176839 A1	09-07-2009

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 47/36	(2006.01)	A 6 1 K 47/36	
A 6 1 K 47/20	(2006.01)	A 6 1 K 47/20	
A 6 1 K 47/04	(2006.01)	A 6 1 K 47/04	
A 6 1 K 47/12	(2006.01)	A 6 1 K 47/12	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 6 1 K 45/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 0 7 D 401/12	(2006.01)	A 6 1 K 45/00	
		C 0 7 D 401/12	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74) 代理人 100062409

弁理士 安村 高明

(74) 代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(72) 発明者 ヤング, クリストファー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 5 1, ウォルサム, フランシス ストリート 4
2, ユニット 1

F ターム(参考) 4C063 AA01 BB09 CC81 DD12 EE01
4C076 AA36 AA53 BB01 CC26 DD05F DD29 DD41C DD67 EE31 EE38B
FF06 FF09 FF13 FF16 FF43 FF68
4C084 AA19 MA02 MA35 MA37 MA52 NA10 ZA612 ZA632 ZB112 ZB322
ZC022 ZC212 ZC751
4C086 AA01 AA02 BC17 GA02 GA08 GA15 MA01 MA03 MA04 MA05
MA35 MA37 MA52 NA10 ZB21 ZC75