

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5116681号
(P5116681)

(45) 発行日 平成25年1月9日 (2013.1.9)

(24) 登録日 平成24年10月26日 (2012.10.26)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 413/12 (2006.01)

C O 7 D 413/12 C S P

C O 7 D 413/14 (2006.01)

C O 7 D 413/14

A 6 1 K 31/422 (2006.01)

A 6 1 K 31/422

A 6 1 P 7/02 (2006.01)

A 6 1 P 7/02

請求項の数 11 (全 21 頁)

(21) 出願番号 特願2008-531582 (P2008-531582)
 (86) (22) 出願日 平成18年9月14日 (2006.9.14)
 (65) 公表番号 特表2009-508893 (P2009-508893A)
 (43) 公表日 平成21年3月5日 (2009.3.5)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2006/008949
 (87) 国際公開番号 W02007/036306
 (87) 国際公開日 平成19年4月5日 (2007.4.5)
 審査請求日 平成21年9月3日 (2009.9.3)
 (31) 優先権主張番号 102005045518.2
 (32) 優先日 平成17年9月23日 (2005.9.23)
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

(73) 特許権者 507113188
 バイエル・ファルマ・アクチエンゲゼルシ
 ャフト
 Bayer Pharma Aktien
 gesellschaft
 ドイツ連邦共和国デー 1 3 3 5 3 ベルリ
 ン、ミューラーシュトラッセ 1 7 8 番
 (74) 代理人 100081422
 弁理士 田中 光雄
 (74) 代理人 100101454
 弁理士 山田 卓二
 (74) 代理人 100067035
 弁理士 岩崎 光隆
 (74) 代理人 100062144
 弁理士 青山 稜

最終頁に続く

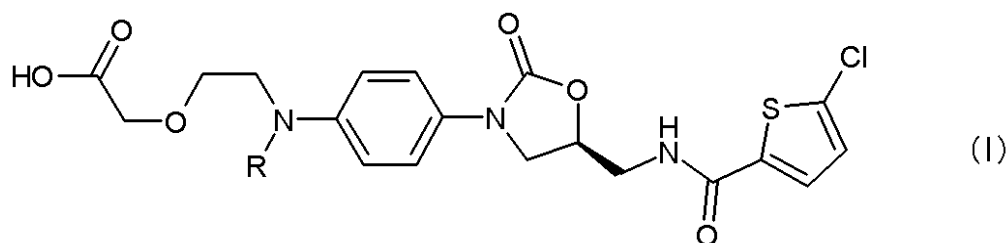
(54) 【発明の名称】 2-アミノエトキシ酢酸誘導体およびそれらの使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I)

【化 1】



10

[式中、

R は、水素、(C₁ - C₆) - アルキル、(C₁ - C₆) - アルカノイル、(C₁ - C₆) - アルコキシカルボニル、モノ - またはジ - (C₁ - C₆) - アルキルアミノカルボニル、ベンゾイルまたはヘテロアロイルを表し、

ここで、ベンゾイルおよびヘテロアロイルは、ハロゲン、シアノ、(C₁ - C₄) - アルキルまたは (C₁ - C₄) - アルコキシにより置換されていてもよい]

の化合物、またはそれらの塩、溶媒和物もしくは塩の溶媒和物。

【請求項 2】

式中、R が、水素、イソブチルアミノカルボニルまたは 5 - クロロ - 2 - チエニルカル

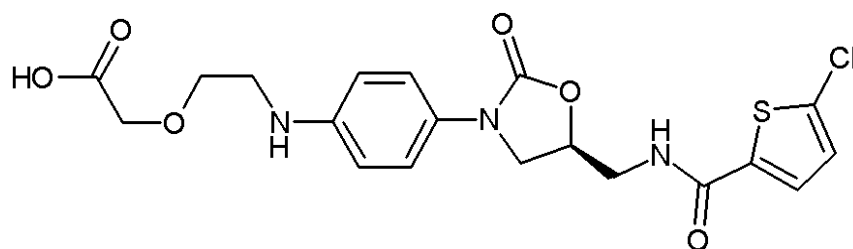
20

ボニルを表す、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物またはそれらの塩、溶媒和物もしくは塩の溶媒和物。

【請求項 3】

下記の構造：

【化 2】



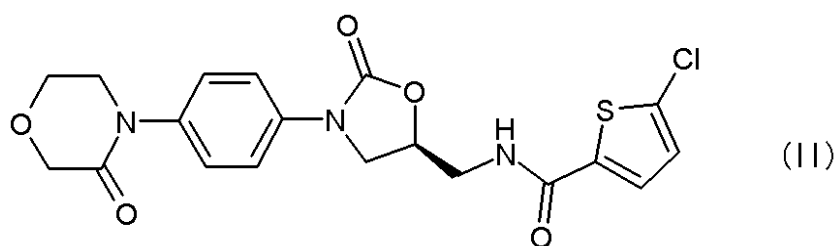
10

を有する、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物またはその塩、溶媒和物もしくは塩の溶媒和物。

【請求項 4】

請求項 1 に記載の式 (I) の化合物の製造方法であって、式 (I I)

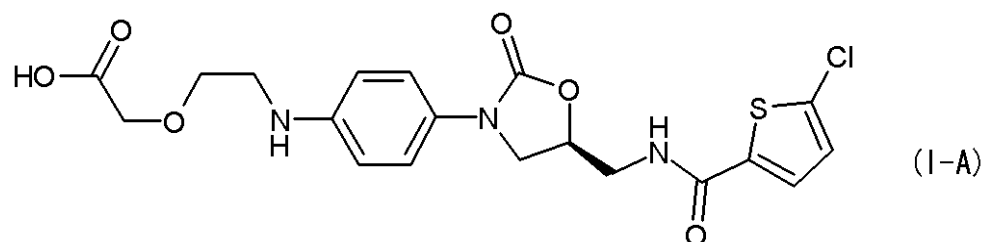
【化 3】



20

の化合物を、加水分解により式 (I - A)

【化 4】



30

の化合物に変換し、次いで、これを、不活性溶媒中、必要に応じて塩基の存在下、式 (I I I)

【化 5】



(式中、

R^A は、($C_1 - C_6$) - アルキル、($C_1 - C_6$) - アルカノイル、($C_1 - C_6$) - アルコシカルボニル、ジ - ($C_1 - C_6$) - アルキルアミノカルボニル、ベンゾイルまたはヘテロアロイルを表し、ここで、

ベンゾイルおよびヘテロアロイルは、ハロゲン、シアノ、($C_1 - C_4$) - アルキルまたは ($C_1 - C_4$) - アルコキシにより置換されていてもよく、

そして、

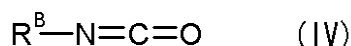
X は、ハロゲンを表す)

の化合物と反応させるか、

または、R がモノ - ($C_1 - C_6$) - アルキルアミノカルボニルを表すならば、式 (I V)

40

【化 6】



(式中、 R^B は、 $(C_1 - C_6)$ - アルキルを表す)

の化合物と反応させ、

必要に応じて、得られた式 (I) または (I - A) の化合物を、適切な (i) 溶媒および / または (ii) 塩基もしくは酸を用いて、それらの溶媒和物、塩および / または塩の溶媒和物に変換することを特徴とする、方法。

【請求項 5】

疾患の処置および / または予防のための、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物。

10

【請求項 6】

血栓塞栓性障害の処置および / または予防用の医薬を製造するための、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物の使用。

【請求項 7】

インビトロで血液凝固を防止するための、請求項 1 に記載の式 (I) の化合物の使用。

【請求項 8】

請求項 1 に記載の式 (I) の化合物を、不活性、非毒性の医薬的に適する補助剤と組み合わせる含む、医薬。

【請求項 9】

請求項 1 に記載の式 (I) の化合物を、さらなる活性化合物と組み合わせる含む、医薬

20

【請求項 10】

血栓塞栓性障害の処置および / または予防のための、請求項 8 または請求項 9 に記載の医薬。

【請求項 11】

抗凝血的に有効な量の請求項 1 に記載の式 (I) の化合物を添加することを特徴とする、インビトロで血液凝固を防止する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

30

本願は、新規 2 - アミノエトキシ酢酸誘導体、それらの製造方法、疾患 (特に血栓塞栓性障害) の処置および / または予防のためのそれらの使用、疾患の処置および / または予防用の医薬を製造するためのそれらの使用に関する。

【背景技術】

【0002】

血液凝固は、生物の保護メカニズムであり、それは、血管壁の欠損を迅速かつ確実に「封止」するのを助ける。かくして、血液の損失を回避または最小に維持できる。血管損傷後の止血は、主に、血漿タンパク質の複雑な反応の酵素的カスケードが誘起される凝血系により実行される。多数の血液凝固因子がこの過程に関与し、それらの因子の各々は、活性化されると、各々の次の不活性な前駆体をその活性形態に変換する。カスケードの終わりでは、可溶性のフィブリノーゲンが不溶性のフィブリンに変換されるに至り、血餅の形成をもたらす。血液凝固では、共通の反応経路で終わる内因性と外因性のシステムは、伝統的に区別されている。ここで、酵素前駆体の X 因子から形成される Xa 因子は、この 2 つの凝血経路を連結するので、鍵となる役割を果たす。活性化されたセリンプロテアーゼ Xa は、プロトロンビンをトロンビンに切断する。生じるトロンビンは、次いで、フィブリノーゲンをフィブリンに切断する。続くフィブリン単量体のクロスリンクは、血餅の形成を、従って止血を引き起こす。加えて、トロンビンは、同様に止血にかなり貢献する血小板凝集の強力なエフェクターである。

40

【0003】

止血は、複雑な調節メカニズムに従う。凝血系の制御されない活性化または活性化過程

50

の障害の欠陥は、血管（動脈、静脈、リンパ管）または心腔における局所的な血栓または塞栓の形成を引き起こし得る。これは、深刻な血栓塞栓性障害を導き得る。加えて、消費性凝固障害の場合、過凝固状態 - 全身的な - は、汎発性の血管内凝血をもたらす得る。血栓塞栓性の合併症は、さらに、微小血管障害性の溶血性貧血、血液透析などの体外血液循環で、および心臓代用弁（prosthetic heart valves）とも関連して起こる。

【 0 0 0 4 】

血栓塞栓性障害は、最も工業化された国々における最も頻繁な罹患と死亡の原因である。[Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, Eugene Braunwald, 5th edition, 1997, W.B. Saunders Company, Philadelphia]。

【 0 0 0 5 】

先行技術から知られている抗凝血剤、即ち、血液凝固を阻害または予防する物質は、様々な、しばしば深刻な、欠点を有する。従って、血栓塞栓性障害の有効な処置方法または予防は、実際のところ非常に困難かつ不満足なものである。

【 0 0 0 6 】

血栓塞栓性障害の治療および予防では、ヘパリンが最初に使用され、非経腸で、または皮下に投与される。現今では、より好適な薬物動態学的特性のために、低分子量ヘパリンがますます好まれている；しかしながら、低分子量ヘパリンを用いても、ヘパリン治療に伴う後述する既知の欠点を回避するのは不可能である。このように、ヘパリンは、経口投与されると効果がなく、比較的短い半減期しかない。ヘパリンは血液凝固カスケードの複数の因子を同時に阻害するので、作用は非選択的である。さらに、高い出血のリスクがある；特に、脳出血および消化管での出血が起こり得、それは、血小板減少、薬物誘導脱毛症または骨粗鬆症をもたらす得る [Pschyrembel, Klinisches Woerterbuch, 257th edition, 1994, Walter de Gruyter Verlag, page 610, entry "Heparin"; Roempp Lexikon Chemie, Version 1.5, 1998, Georg Thieme Verlag Stuttgart, entry "Heparin"]。

【 0 0 0 7 】

第2のクラスの抗凝血剤は、ビタミンKアンタゴニストである。これらには、例えば1,3-インダンジオン類、並びに、ことさらに、肝臓におけるある種のビタミンK依存性凝血因子の様々な生成物の合成を非選択的に阻害する、ワーファリン、フェノプロクモン（phenprocoumon）、ジクマロールおよび他のクマリン誘導体などの化合物が含まれる。しかしながら、作用メカニズムのために、作用の開始は非常に遅い（作用開始までの潜時36ないし48時間）。この化合物は経口投与できる；しかしながら、出血のリスクが高く治療係数が狭いために、時間のかかる患者の個別の調整と監視が必要である [J. Hirsh, J. Dalen, D.R. Anderson et al., "Oral anticoagulants: Mechanism of action, clinical effectiveness, and optimal therapeutic range" Chest 2001, 119, 8S-21S; J. Ansell, J. Hirsh, J. Dalen et al., "Managing oral anticoagulant therapy" Chest 2001, 119, 22S-38S; P.S. Wells, A.M. Holbrook, N.R. Crowther et al., "Interactions of warfarin with drugs and food" Ann. Intern. Med. 1994, 121, 676-683]。

【 0 0 0 8 】

最近、血栓塞栓性障害の処置および予防のための新規治療アプローチが記載された。この新規治療アプローチのねらいは、Xa因子の阻害である。血液凝固カスケードにおいてXa因子が果たす中心的役割のために、Xa因子は、抗凝血剤の最も重要な標的の1つである [J. Hauptmann, J. Stuerzebecher, Thrombosis Research 1999, 93, 203; S.A.V. Raghavan, M. Dikshit, "Recent advances in the status and targets of antithrombotic agents" Drugs Fut. 2002, 27, 669-683; H.A. Wieland, V. Laux, D. Kozian, M. Lorenz, "Approaches in anticoagulation: Rationales for target positioning" Curr. Opin. Investig. Drugs 2003, 4, 264-271; U.J. Ries, W. Wienen, "Serine proteases as targets for antithrombotic therapy" Drugs Fut. 2003, 28, 355-370; L.-A. Linkins, J.I. Weitz, "New anticoagulant therapy" Annu. Rev. Med. 2005, 56, 63-77（オンライン公開、2004年8月）]。

【 0 0 0 9 】

動物モデルで、様々なペプチド性および非ペプチド性化合物がXa因子阻害剤として有効であることが示された。既に、多数の直接的Xa因子阻害剤が知られている [J.M. Walenga, W.P. Jeske, D. Hoppensteadt, J. Fareed, "Factor Xa Inhibitors: Today and beyond" Curr. Opin. Investig. Drugs 2003, 4, 272-281; J. Ruef, H.A. Katus, "New antithrombotic drugs on the horizon" Expert Opin. Investig. Drugs 2003, 12, 781-797; M.L. Quan, J.M. Smallheer, "The race to an orally active Factor Xa inhibitor: Recent advances" Curr. Opin. Drug Discovery & Development 2004, 7, 460-469]。オキサゾリジノンコア構造を有する非ペプチド性Xa因子阻害剤は、WO 01/047919およびWO 02/064575に記載されている。

【発明の開示】

10

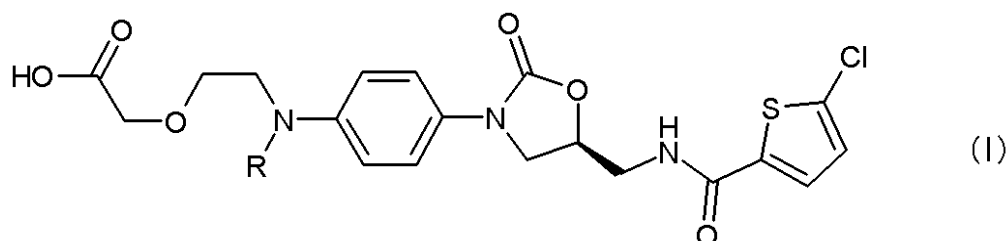
【0010】

本発明の目的は、障害、特に血栓塞栓性障害を制御するための新規物質を提供することであり、その物質は、改良された水および生理的媒体中での溶解性を有する。

【0011】

本発明は、一般式 (I)

【化1】



20

[式中、

Rは、水素、(C₁ - C₆) - アルキル、(C₁ - C₆) - アルカノイル、(C₁ - C₆) - アルコキシカルボニル、モノ - またはジ - (C₁ - C₆) - アルキルアミノカルボニル、ベンゾイルまたはヘテロアロイルを表し、

ここで、ベンゾイルおよびヘテロアロイルは、ハロゲン、シアノ、(C₁ - C₄) - アルキルまたは(C₁ - C₄) - アルコキシにより置換されていてもよい]

の化合物、並びにそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物を提供する。

30

【0012】

本発明による化合物は、式 (I) の化合物およびそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物、式 (I) に包含される後述する式の化合物およびそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物、並びに、式 (I) に包含される実施態様として後述する化合物およびそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物 (後述する式 (I) に包含される化合物が、既に塩、溶媒和物および塩の溶媒和物でない場合に) である。

【0013】

本発明による化合物は、それらの構造によって、立体異性体 (エナンチオマー、ジアステレオマー) で存在できる。従って、本発明は、エナンチオマーまたはジアステレオマーおよびそれらの各々の混合物を含む。そのようなエナンチオマーおよび/またはジアステレオマーの混合物から、立体異性的に均一な構成成分を既知の方法で単離できる。

40

本発明による化合物が互変異性体で存在できる場合、本発明は、全ての互変異性体を含む。

【0014】

本発明に関して、好ましい塩は、本発明による化合物の生理的に許容し得る塩である。本発明はまた、それら自体は医薬適用に適さないが、例えば本発明による化合物の単離または精製に使用できる塩も含む。

【0015】

本発明による化合物の生理的に許容し得る塩には、鉱酸、カルボン酸およびスルホン酸の酸付加塩、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、メタンスルホン酸、エタンスル

50

ホン酸、トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、プロピオン酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、クエン酸、フマル酸、マレイン酸および安息香酸の塩が含まれる。

【0016】

本発明による化合物の生理的に許容し得る塩には、また、常套の塩基の塩、例えば、そして好ましくは、アルカリ金属塩（例えばナトリウム塩およびカリウム塩）、アルカリ土類金属塩（例えばカルシウム塩およびマグネシウム塩）、および、アンモニアまたは1個ないし16個の炭素原子を有する有機アミン（例えば、そして好ましくは、エチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、エチルジイソプロピルアミン、モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、ジメチルアミノエタノール、プロカイン、ジベンジルアミン、N - メチルモルホリン、アルギニン、リジン、エチレンジアミンおよびN - メチルピペリジン）から誘導されるアンモニウム塩が含まれる。

10

【0017】

本発明に関して、溶媒和物は、固体または液体状態で、溶媒分子との配位により錯体を形成している本発明による化合物の形態である。水和物は、配位が水とのものである、溶媒和物の特別な形態である。本発明に関して、好ましい溶媒和物は水和物である。

【0018】

さらに、本発明はまた、本発明による化合物のプロドラッグも含む。用語「プロドラッグ」は、それら自体は生物学的に活性であっても不活性であってもよいが、それらが体内に滞在する時間中に、本発明による化合物に変換される（例えば代謝的または加水分解的に）化合物を含む。

20

【0019】

本発明に関して、断りのない限り、置換基は、以下の意味を有する：

本発明に関して、(C₁ - C₆) - アルキルおよび(C₁ - C₄) - アルキルは、各々、1個ないし6個および1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルキルラジカルを表す。好ましいのは、1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルキルラジカルである。以下のラジカルは、例として、そして好ましいものとして言及し得る：メチル、エチル、n - プロピル、イソプロピル、n - ブチル、イソブチル、sec - ブチル、tert - ブチル、1 - エチルプロピル、n - ペンチルおよびn - ヘキシル。

30

【0020】

本発明に関して、(C₁ - C₆) - アルコキシおよび(C₁ - C₄) - アルコキシは、各々、1個ないし6個および1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルコキシラジカルを表す。好ましいのは、1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルコキシラジカルである。以下のラジカルは、例として、そして好ましいものとして言及し得る：メトキシ、エトキシ、n - プロボキシ、イソプロボキシ、n - ブトキシおよびtert - ブトキシ。

【0021】

本発明に関して、(C₁ - C₆) - アルカノイル[(C₁ - C₆) - アシル]は、1個ないし6個の炭素原子を有し、二重結合した酸素原子を1位に有し、1位を介して結合している、直鎖または分枝鎖のアルキルラジカルを表す。好ましいのは、1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルカノイルラジカルである。以下のラジカルは、例として、そして好ましいものとして言及し得る：ホルミル、アセチル、プロピオニル、n - ブチリル、イソブチリルおよびピバロイル。

40

【0022】

本発明に関して、(C₁ - C₆) - アルコキシカルボニルは、1個ないし6個の炭素原子を有し、カルボニル基を介して結合している、直鎖または分枝鎖のアルコキシラジカルを表す。好ましいのは、アルコキシ基中に1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルコキシカルボニルラジカルである。以下のラジカルは、例として、そして好

50

ましいものとして言及し得る：メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、*n*-プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニルおよび *tert*-ブトキシカルボニル。

【0023】

本発明に関して、モノ-(C₁-C₆)-アルキルアミノは、1個ないし6個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルキル置換基を有するアミノ基を表す。好ましいのは、1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のモノアルキルアミノラジカルである。以下のラジカルは、例として、そして好ましいものとして言及し得る：メチルアミノ、エチルアミノ、*n*-プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、*n*-ブチルアミノ、イソブチルアミノおよび *tert*-ブチルアミノ。

【0024】

本発明に関して、ジ-(C₁-C₆)-アルキルアミノは、各場合で1個ないし6個の炭素原子を有する2個の同一かまたは異なる直鎖または分枝鎖のアルキル置換基を有するアミノ基を表す。好ましいのは、各場合で、1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のジアルキルアミノラジカルである。以下のラジカルは、例として、そして好ましいものとして言及し得る：N,N-ジメチルアミノ、N,N-ジエチルアミノ、N-エチル-N-メチルアミノ、N-メチル-N-*n*-プロピルアミノ、N-イソプロピル-N-*n*-プロピルアミノ、N-*tert*-ブチル-N-メチルアミノ、N-エチル-N-*n*-ペンチルアミノおよび N-*n*-ヘキシル-N-メチルアミノ。

【0025】

本発明に関して、モノ-(C₁-C₆)-アルキルアミノカルボニルおよび モノ-(C₁-C₄)-アルキルアミノカルボニルは、カルボニル基を介して結合している、各々1個ないし6個および1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のモノアルキルアミノラジカルを表す。好ましいのは、アルキルアミノ基中に1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のモノアルキルアミノカルボニルラジカルである。以下のラジカルは、例として、そして好ましいものとして言及し得る：メチルアミノカルボニル、エチルアミノカルボニル、*n*-プロピルアミノカルボニル、イソプロピルアミノカルボニル、*n*-ブチルアミノカルボニル、イソブチルアミノカルボニルおよび *tert*-ブチルアミノカルボニル。

【0026】

本発明に関して、ジ-(C₁-C₆)-アルキルアミノカルボニルは、カルボニル基を介して結合している、各場合で1個ないし6個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のジアルキルアミノラジカルを表す。好ましいのは、アルキルアミノ基中に1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のジアルキルアミノカルボニルラジカルである。以下のラジカルは、例として、そして好ましいものとして言及し得る：N,N-ジメチルアミノカルボニル、N,N-ジエチルアミノカルボニル、N-エチル-N-メチルアミノカルボニル、N-メチル-N-*n*-プロピルアミノカルボニル、N-イソプロピル-N-*n*-プロピルアミノカルボニル、N-*tert*-ブチル-N-メチルアミノカルボニル、N-エチル-N-*n*-ペンチルアミノカルボニルおよび N-*n*-ヘキシル-N-メチルアミノカルボニル。

【0027】

本発明に関して、ヘテロアロイル（ヘテロアリールカルボニル）は、カルボニル基を介して結合している、全部で5個または6個の環原子を有し、N、OおよびSからなる群から3個までの同一かまたは異なる環のヘテロ原子を有する芳香族性複素環（複素芳香族）を表す。以下のラジカルは、例として言及し得る：フロイル、ピロイル、チエノイル、ピラゾイル、イミダゾイル、チアゾイル、オキサゾイル、イソオキサゾイル、イソチアゾイル、トリアゾイル、オキサジアゾイル、チアジアゾイル、ピリジノイル、ピリミジノイル、ピリダジノイル、ピラジノイル。好ましいのは、N、OおよびSからなる群から2個までのヘテロ原子を有する5員または6員のヘテロアロイルラジカル、例えば、フロイル、チエノイル、チアゾイル、オキサゾイル、イソオキサゾイル、イソチアゾイル、ピリジノイル、ピリミジノイル、ピリダジノイル、ピラジノイルである。

【 0 0 2 8 】

本発明に関して、ハロゲンは、フッ素、塩素、臭素およびヨウ素を含む。好ましいのは、フッ素または塩素である。

【 0 0 2 9 】

本発明による化合物中のラジカルが置換されている場合、そのラジカルは、断りのない限り、一置換または多置換されていてよい。本発明に関して、1回以上出てくるラジカルの意味は、相互に独立している。1個、2個または3個の同一かまたは異なる置換基による置換が好ましい。1個の置換基による置換がことさら特に好ましい。

【 0 0 3 0 】

好ましいのは、式中、

10

R が、水素、メチル、アセチルを表すか、または、塩素により置換されていてよいチエニルカルボニルを表す、

式 (I) の化合物並びにそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物である。

【 0 0 3 1 】

好ましいのは、また、式中、

R が、モノ - (C₁ - C₄) - アルキルアミノカルボニルを表す、

式 (I) の化合物並びにそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物である。

【 0 0 3 2 】

特に好ましいのは、式中、

R が、水素、イソブチルアミノカルボニルまたは 5 - クロロ - 2 - チエニルカルボニルを表す、

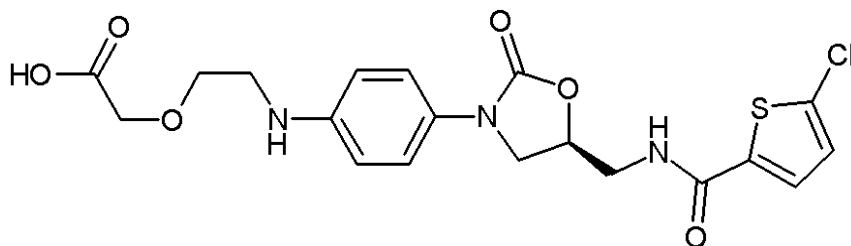
20

式 (I) の化合物並びにそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物である。

【 0 0 3 3 】

ことさら特に好ましいのは、以下の構造：

【 化 2 】



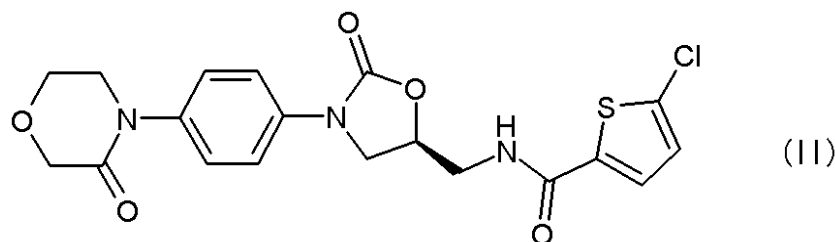
30

を有する、式 (I) の化合物並びにその塩、溶媒和物および塩の溶媒和物である。

【 0 0 3 4 】

本発明は、さらに、本発明による式 (I) の化合物の製造方法を提供し、それは、式 (I I)

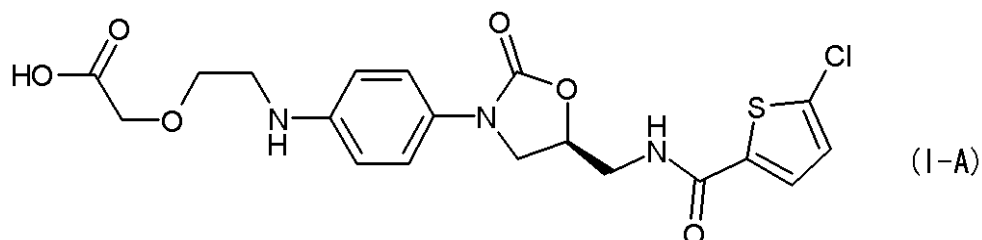
【 化 3 】



40

の化合物を、選択的加水分解により式 (I - A)

【化 4】



の化合物に変換し、次いで、これを、不活性溶媒中、必要に応じて塩基の存在下、式 (I I I)

【化 5】



(式中、

R^A は、($C_1 - C_6$) - アルキル、($C_1 - C_6$) - アルカノイル、($C_1 - C_6$) - アルコキシカルボニル、ジ - ($C_1 - C_6$) - アルキルアミノカルボニル、ベンゾイルまたはヘテロアロイルを表し、ここで、

ベンゾイルおよびヘテロアロイルは、ハロゲン、シアノ、($C_1 - C_4$) - アルキルまたは($C_1 - C_4$) - アルコキシにより置換されていてもよく、

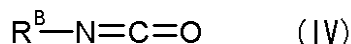
そして、

X は、例えばハロゲンなどの脱離基を表す)

の化合物と反応させるか、

または、 R がモノ - ($C_1 - C_6$) - アルキルアミノカルボニルを表すならば、式 (I V)

【化 6】



(式中、 R^B は、($C_1 - C_6$) - アルキルを表す)

の化合物と反応させ、

必要に応じて、得られた式 (I) または (I - A) の化合物を、適切な (i) 溶媒および / または (i i) 塩基もしくは酸を用いて、それらの溶媒和物、塩および / または塩の溶媒和物に変換することを特徴とする。

【 0 0 3 5 】

工程 (I I) $\rightarrow$ (I - A) の加水分解は、有利には、酸性条件下で実施する。好ましくは、酢酸と塩酸の混合物をこの目的で使用する。この反応は、+ 5 0 ないし + 1 0 0 の温度範囲で、好ましくは + 7 0 で実施する。この反応は、大気圧、加圧または減圧で実施できる (例えば 0.5 ないし 5 b a r)。一般に、この反応は、大気圧で実施する。

【 0 0 3 6 】

工程 (I - A) + (I I I) または (I V) $\rightarrow$ (I) のための不活性溶媒は、例えば、ジエチルエーテル、t e r t - ブチルメチルエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフラン、グリコールジメチルエーテルまたはジエチレングリコールジメチルエーテルなどのエーテル類、ベンゼン、トルエン、キシレン、ヘキサン、シクロヘキサンまたは鉱油留分 (m i n e r a l o i l f r a c t i o n s) などの炭化水素類、ジクロロメタン、トリクロロメタン、四塩化炭素、1, 2 - ジクロロエタン、トリクロロエチレンまたはクロロベンゼンなどのハロゲン化炭化水素、または、酢酸エチル、アセトン、アセトニトリル、ピリジン、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、N, N' - ジメチルプロピレンウレア (D M P U)、N - メチルピロリドン (N M P) などの他の溶媒、または、必要に応じて、水である。言及した溶媒の混合物を使用することも可能である。好ましいのは、ジクロロメタン、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、アセトン、水またはこれらの溶媒の混合物である。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 7 】

工程 (I - A) + (I I I) または (I V) → (I) は、有利には、塩基の存在下で実施できる。この目的に適するのは、常套の無機または有機塩基である。これらには、好ましくは、例えば、水酸化リチウム、水酸化ナトリウムまたは水酸化カリウムなどのアルカリ金属水酸化物、重炭酸ナトリウムまたは重炭酸カリウムなどのアルカリ金属重炭酸塩、炭酸リチウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸カルシウムまたは炭酸セシウムなどのアルカリ金属またはアルカリ土類金属炭酸塩、水素化ナトリウムなどのアルカリ金属水素化物、リチウムビス(トリメチルシリル)アミドまたはカリウムビス(トリメチルシリル)アミドまたはリチウムジイソプロピルアミドなどのアミド類、トリエチルアミン、N - メチルモルホリン、N - メチルピペリジン、N, N - ジイソプロピルエチルアミン、ピリジン、1, 5 - ジアザビシクロ[4. 3. 0]ノナ - 5 - エン(DBN)、1, 4 - ジアザビシクロ[2. 2. 2]オクタン(DABCO (登録商標)) または 1, 8 - ジアザビシクロ[5. 4. 0]ウンデカ - 7 - エン(DBU) などの有機アミン類が含まれる。特に好ましいのは、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムまたは炭酸セシウム、トリエチルアミン、N, N - ジイソプロピルエチルアミンまたはピリジンである。

10

【 0 0 3 8 】

反応 (I - A) + (I I I) または (I V) → (I) は、好ましくは、0 ないし + 5 0 の温度範囲で実施する。この反応は、大気圧、加圧または減圧で実施できる(例えば 0. 5 ないし 5 bar)。一般に、この反応は、大気圧で実施する。

【 0 0 3 9 】

20

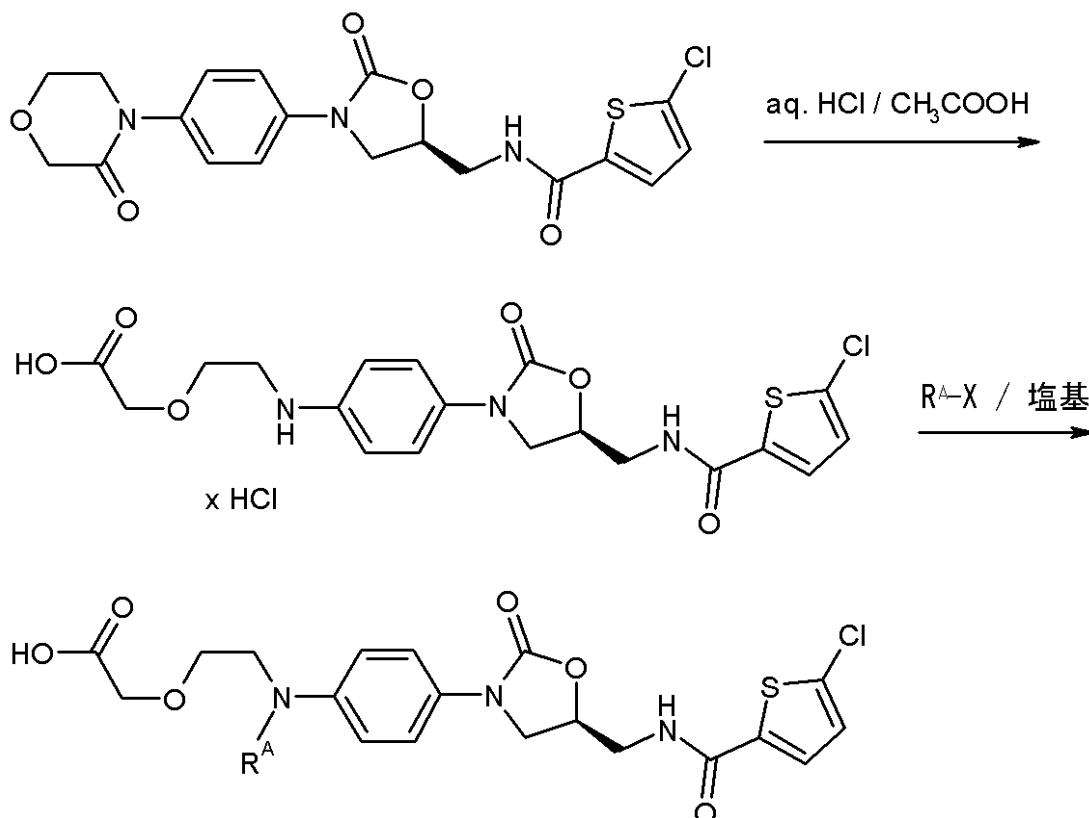
式 (I I) の化合物およびその製造は、WO 0 1 / 0 4 7 9 1 9 (実施例 4 4) に記載されている。式 (I I I) および (I V) の化合物は、購入できるか、文献から知られているか、または、文献から知られている方法と同様に製造できる。

【 0 0 4 0 】

本発明による化合物の製造は、下記の合成スキームにより例示説明できる：

スキーム

【 化 7 】



30

40

[a q . = 水性 ; X = 脱離基、例えばハロゲン]

50

【 0 0 4 1 】

本発明による化合物は、予想し得なかった有用な薬理活性スペクトルを有する。従って、それらは、ヒトおよび動物における疾患の処置および／または予防用の医薬としての使用に適する。

【 0 0 4 2 】

本発明による化合物は、特に抗凝血剤として作用する、血液凝固因子 X a の選択的阻害剤である。加えて、本発明による化合物は、好都合な物理化学的特性、例えば、治療的適用に有利である、水および生理的媒体における良好な溶解度を有する。

【 0 0 4 3 】

本発明はさらに、障害、好ましくは血栓塞栓性障害および／または血栓塞栓性合併症の処置および／または予防のための、本発明による化合物の使用を提供する。

10

【 0 0 4 4 】

本発明の目的上、「血栓塞栓性障害」には、特に、S T 上昇型心筋梗塞 (S T E M I) または非 S T 上昇型心筋梗塞 (非 S T E M I)、安定狭心症、不安定狭心症、血管形成術または大動脈冠動脈バイパス術などの冠動脈介入後の再閉塞および再狭窄、末梢動脈閉塞疾患、肺栓塞症、深部静脈血栓および腎静脈血栓、一過性虚血発作および血栓性および血栓塞栓性卒中などの障害が含まれる。

【 0 0 4 5 】

従って、これらの物質は、例えば心房細動などの急性、間欠性または持続性心不整脈を有する患者、および電氣的除細動を受けている者、さらに、心臓弁障害を有するか、または人工心臓弁を有する患者における、心原性血栓塞栓症、例えば、脳虚血、卒中および全身性血栓塞栓症および虚血の予防および処置にも適する。加えて、本発明による化合物は、汎発性血管内凝固症候群 (D I C) の処置に適する。

20

【 0 0 4 6 】

血栓塞栓性合併症は、さらに、微小血管障害性溶血性貧血、血液透析などの体外血液循環において、そして心臓代用弁と関連して起こる。

【 0 0 4 7 】

さらに、本発明による化合物は、アテローム硬化性血管障害および炎症障害、例えば運動器のリウマチ性障害の予防および／または処置にも、およびそれに加えて、アルツハイマー病の予防および／または処置にも適する。さらに、本発明による化合物は、腫瘍成長および転移形成の阻害、微小血管障害、加齢に伴う黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性腎症および他の微小血管の障害、また、例えば、腫瘍患者における、特に大きい外科的介入または化学もしくは放射線治療を受けている患者における、静脈血栓塞栓症などの血栓塞栓性合併症の予防および処置にも使用できる。

30

【 0 0 4 8 】

本発明による化合物は、さらに、エクスピボの凝血の防止、例えば、血液および血清製品の保存、カテーテルおよび他の医療器具および装置の清浄化／予処理、インビボまたはエクスピボで使用される医療器具および装置の合成表面 (synthetic surface) の被覆、または、X a 因子を含む生物学的サンプルにも使用できる。

【 0 0 4 9 】

本発明は、さらに、障害、特に上述の障害の処置および／または予防のための、本発明による化合物の使用を提供する。

40

【 0 0 5 0 】

本発明は、さらに、障害、特に上述の障害の処置および／または予防用の医薬を製造するための、本発明による化合物の使用を提供する。

【 0 0 5 1 】

本発明は、さらに、抗凝血的に有効な量の本発明による化合物を使用する、障害、特に上述の障害の処置および／または予防方法を提供する。

【 0 0 5 2 】

本発明は、さらに、抗凝血的に有効な量の本発明による化合物を添加することを特徴と

50

する、インビトロの、特に、保存血液またはX a因子を含む生物学的サンプルにおける、血液凝固の防止方法を提供する。

【0053】

本発明は、さらに、特に上述の障害の処置および/または予防のための、本発明による化合物および1種またはそれ以上のさらなる活性化合物を含む医薬を提供する。以下の化合物は、組合せに適する活性化合物として、例として、そして好ましく言及し得る：

- ・脂質低下剤、特にHMG-CoA(3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル-補酵素A)リダクターゼ阻害剤；
- ・冠血管治療剤/血管拡張剤、特にACE(アンジオテンシン変換酵素)阻害剤；AII(アンジオテンシンII)受容体アンタゴニスト； β -アドレナリン受容体アンタゴニスト；アルファ-1-アドレナリン受容体アンタゴニスト；利尿剤；カルシウムチャネル遮断剤；環状グアノシンーリン酸(cGMP)濃度の上昇をもたらす物質、例えば、可溶性グアニル酸シクラーゼの刺激剤；
- ・プラスミノゲン活性化剤(血栓溶解剤/線維素溶解剤)および血栓溶解/線維素溶解を高める化合物、例えば、プラスミノゲン活性化因子阻害因子の阻害剤(PAI阻害剤)またはトロンビン活性型線維素溶解阻害因子の阻害剤(TAFI阻害剤)；
- ・抗凝血剤；
- ・血小板凝集阻害性物質(血小板凝集阻害剤、栓球凝集阻害剤)；
- ・フィブリノーゲン受容体アンタゴニスト(糖タンパク質IIb/IIIIaアンタゴニスト)；
- ・並びに抗不整脈薬。

【0054】

本発明は、さらに、少なくとも1種の本発明による化合物を、通常1種またはそれ以上の不活性、非毒性の医薬的に許容し得る補助剤と共に含む医薬、および上述の目的でのそれらの使用を提供する。

【0055】

本発明による化合物は、全身のおよび/または局所的に作用できる。この目的で、それらは、適する方法で、例えば、経口で、非経腸で、肺に、鼻腔に、舌下に、舌に、頬側に、直腸に、皮膚に、経皮で、結膜もしくは耳の経路で、またはインプラントもしくはステントとして、投与できる。

これらの投与経路のために、本発明による化合物に適する投与形で投与できる。

【0056】

経口投与に適するのは、先行技術で説明される通りに働き、本発明による化合物を迅速におよび/または改変された形態で送達し、本発明による化合物を結晶および/または無定形および/または溶解形態で含むものであり、例えば、錠剤(非被覆および被覆錠剤、例えば、腸溶性被覆、または、溶解が遅延されるか、または不溶であり、本発明による化合物の放出を制御する被覆を施された錠剤)、口腔中で迅速に崩壊する錠剤、またはフィルム/オブラート、フィルム/凍結乾燥剤、カプセル剤(例えば、ハードまたはソフトゼラチンカプセル剤)、糖衣錠、顆粒剤、ペレット剤、散剤、乳剤、懸濁剤、エアゾール剤または液剤である。

【0057】

非経腸投与は、吸収段階を回避して(例えば、静脈内、動脈内、心臓内、脊髄内または腰椎内に)、または吸収を含めて(例えば、筋肉内、皮下、皮内、経皮または腹腔内)、行うことができる。非経腸投与に適する投与形は、なかんずく、液剤、懸濁剤、乳剤、凍結乾燥剤または滅菌粉末剤形態の注射および点滴用製剤である。

【0058】

他の投与経路に適する例は、吸入用医薬形態(なかんずく、粉末吸入器、噴霧器)、点鼻薬/液/スプレー；舌、舌下または頬側投与用の錠剤、フィルム/オブラートまたはカプセル剤、坐剤、眼または耳用製剤、腔用カプセル剤、水性懸濁剤(ローション、振盪混合物)、親油性懸濁剤、軟膏、クリーム、経皮治療システム(例えば、パッチ)、ミルク

、ペースト、フォーム、散布用粉末剤 (dusting powder)、インプラントまたはステントである。

好ましいのは、経口または非経腸投与、特に経口投与である。

【0059】

本発明による化合物は、上述の投与形に変換できる。これは、不活性、非毒性、医薬的に適する補助剤と混合することにより、それ自体既知の方法で行うことができる。これらの補助剤には、なかんずく、担体 (例えば微結晶セルロース、ラクトース、マンニトール)、溶媒 (例えば液体ポリエチレングリコール類)、乳化剤および分散剤または湿潤剤 (例えばドデシル硫酸ナトリウム、ポリオキシソルビタンオレエート)、結合剤 (例えばポリビニルピロリドン)、合成および天然ポリマー (例えばアルブミン)、安定化剤 (例えば抗酸化剤、例えばアスコルビン酸など)、着色料 (例えば無機色素、例えば酸化鉄など) および香味および/または臭気の隠蔽剤が含まれる。

10

【0060】

一般に、非経腸投与で約 0.001 ないし 1 mg / 体重 kg、好ましくは約 0.01 ないし 0.5 mg / 体重 kg の量を投与するのが、有効な結果を達成するために有利であると明らかになった。経口投与の投与量は、約 0.01 ないし 100 mg / 体重 kg、好ましくは約 0.01 ないし 20 mg / 体重 kg、ことさら特に好ましくは約 0.1 ないし 10 mg / 体重 kg である。

【0061】

それにも拘わらず、必要に応じて、体重、投与経路、活性化合物に対する個体の応答、製剤の様式および投与を行う時間または間隔に応じて、上述の量から逸脱することが必要であり得る。従って、上述の最小量より少なくても十分な場合があり、一方上述の上限を超えなければならない場合もある。大量に投与する場合、これらを 1 日に亘る数回の個別投与に分割するのが望ましいことがある。

20

【0062】

下記の実施例により、本発明を例示説明する。本発明は、これらの実施例に限定されない。

以下の試験および実施例における百分率のデータは、断りの無い限り、重量パーセントである；部は、重量部である。液体 / 液体溶液の溶媒比、希釈比および濃度のデータは、各場合で体積に基づく。

30

【実施例】

【0063】

A. 実施例

略語および頭字語：

【表 1】

DMSO	ジメチルスルホキシド
ESI	エレクトロスプレーイオン化法 (MS中)
h	時間
HPLC	高圧高速液体クロマトグラフィー
LC-MS	液体クロマトグラフィー-質量分析の組合せ
min	分
MS	質量分析
NMR	核磁気共鳴
RT	室温
R _t	保持時間

40

【0064】

HPLCの方法：

温度制御カラムオープン、UV検出器およびデータ評価システムを備えた高圧液体クロマ

50

トグラフィー；カラム：Cosmosil 5C18-AR-II 5 μm、25 cm x 4.6 mm；移動相 A：水中でリン酸二水素カリウム 1.36 g を 1 l とし、オルト - リン酸（85%強度）で pH 2.1 に調節する；移動相 B：メタノール；グラジエント：0 分 30% B → 35 分 90% B → 40 分 90% B；流速：1 ml / 分；カラムオープンの温度：45；UV 検出：250 nm；注入量：5.0 μl（試験溶液：アセトニトリル 50 ml 中、サンプル 25 mg）。

【0065】

LC - MS の方法：

装置：HPLC Agilent series 1100 を有する Micromass Quattro LCZ；カラム：Phenomenex Onyx Monolithic C18, 100 mm x 3 mm；移動相 A：水 1 l + 50% 強度ギ酸 0.5 ml、移動相 B：アセトニトリル 1 l + 50% 強度ギ酸 0.5 ml；グラジエント：0.0 分 90% A → 2 分 65% A → 4.5 分 5% A → 6 分 5% A；流速：2 ml / 分；オープン：40；UV 検出：208 - 400 nm。

10

【0066】

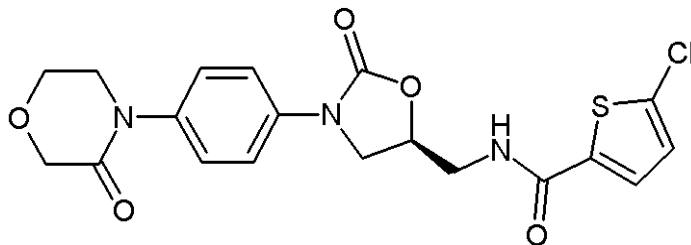
出発物質および中間体：

実施例 1 A

5 - クロロ - N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルホリン - 4 - イル) フェニル] - 1,3 - オキサゾリジン - 5 - イル } メチル) チオフェン - 2 - カルボキサミド

【化 8】

20



WO 01 / 047919 (Chem. Abstr. 2001, 135, 92625) の実施例 44 に記載の経路により、表題化合物を製造する。

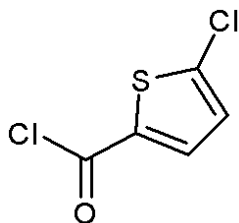
【0067】

30

実施例 2 A

5 - クロロチオフェン - 2 - カルボニルクロリド

【化 9】



40

5 - クロロチオフェン - 2 - カルボン酸を塩化チオニルと反応させることにより、表題化合物を製造する。R. Aitken et al., Arch. Pharm. (Weinheim Ger.) 1998, 331, 405-411 参照。

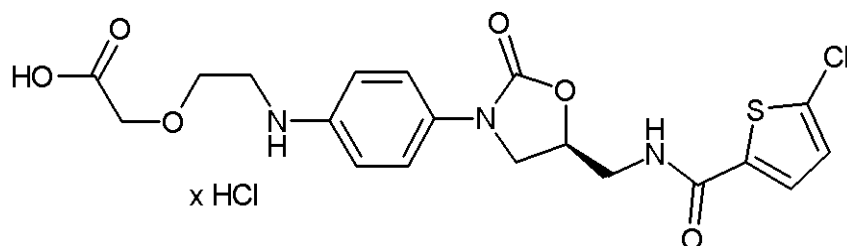
【0068】

実施例：

実施例 1

2 - ({ 4 - [(5 S) - 5 - ({ [(5 - クロロ - 2 - チエニル) カルボニル] アミノ } メチル) - 2 - オキソ - 1,3 - オキサゾリジン - 3 - イル] フェニル } - アミノ) エトキシ] 酢酸塩酸塩

【化 10】



5 - クロロ - N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルホリン - 4 - イル) フェニル] - 1, 3 - オキサゾリジン - 5 - イル } メチル) チオフェン - 2 - カ
 ルボキサミド 50 g (115 mmol) を、酢酸 100 g、水 50 g および 37 % 強度塩
 酸 300 g に懸濁し、混合物を 70 に加熱する。反応混合物を 70 で 5 - 6 時間攪拌
 し、約 2 時間後に透明な溶液が形成される。次いで、混合物を室温に冷却し、得られる懸
 濁液を室温で 15 時間静置する。結晶を吸引濾過し、酢酸 40 ml で洗浄する。さらなる
 精製のために、結晶を 2 回各場合で 150 ml のイソプロパノールに懸濁し、吸引濾過し
 、次いで各場合でイソプロパノール 200 ml を用いて 2 回洗浄する。依然として残存水
 分を含有している結晶を、15 時間、35 、 < 80 mbar の圧力で乾燥させる。

収量 : 43 g (理論値の 76 %)

HPLC : $R_t = 12.74$ 分 ;

MS (ESI) : $m/z = 454 [M + H]^+$;

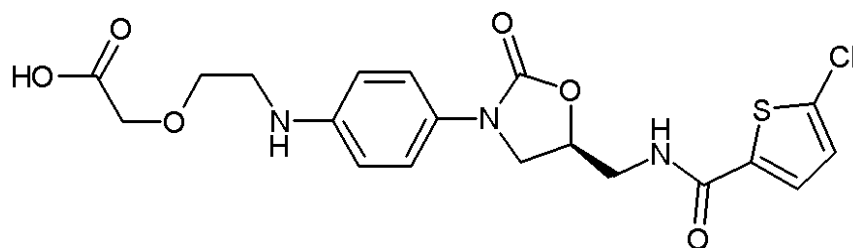
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) : $\delta = 3.39$ (m, 2H), 3.60 (m, 2H), 3.71 (m, 2H), 3.85 (m, 1H), 4.10 (s, 2H), 4.15 (m, 1H), 4.82 (m, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.27 (br. m, 2H), 7.53 (m, 2H), 7.74 (d, 1H), 9.01 (m, 1H) .

【0069】

実施例 2

2 - ({ 4 - [(5 S) - 5 - ({ [(5 - クロロ - 2 - チエニル) カルボニル] アミノ } メチル) - 2 - オキソ - 1, 3 - オキサゾリジン - 3 - イル] フェニル } - アミノ) エトキシ] 酢酸

【化 11】



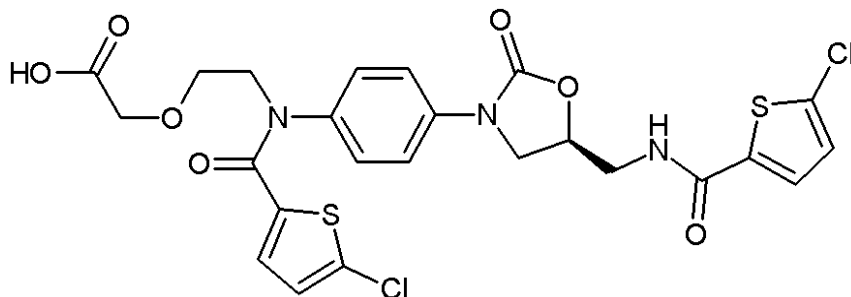
実施例 1 の中性化合物は、実施例 1 で得られる粗生成物の水性溶液をトリエチルアミンで pH 7 - 8 に調節し、ジクロロメタンで繰り返し抽出し、少量の酢酸の添加により生成物を沈殿させることにより製造できる。濃縮後、次いで、残渣をメタノール / tert - ブチルメチルエーテルから結晶化し、tert - ブチルメチルエーテルで洗浄し、乾燥さ
 せる。

【0070】

実施例 3

[2 - ([(5 - クロロ - 2 - チエニル) カルボニル] { 4 - [(5 S) - 5 - ({ [(5 - クロロ - 2 - チエニル) カルボニル] アミノ } メチル) - 2 - オキソ - 1, 3 - オキサゾリジン - 3 - イル] フェニル } アミノ) エトキシ] 酢酸

【化 1 2】



室温で、炭酸カリウム 87 mg (0.63 mmol、2.1 eq.) を、水 1.5 ml 中の 2 - ({ 4 - [(5 S) - 5 - ({ [(5 - クロロ - 2 - チエニル) カルボニル] アミノ } メチル) - 2 - オキソ - 1,3 - オキサゾリジン - 3 - イル] フェニル } アミノ) エトキシ] 酢酸塩 147 mg (0.30 mmol) の懸濁液に添加し、溶液の形成をもたらす。次いで、室温で、アセトン 1.5 ml 中の 5 - クロロチオフエン - 2 - カルボニルクロリド 60 mg (0.33 mmol、1.1 eq.) の溶液を、反応混合物に滴下して添加し、混合物を室温で 1 時間攪拌する。次いで、アセトンを減圧下で除去し、濃塩酸を使用して水性残渣を pH 1 に調節する。得られた沈殿を濾過し、水で洗浄し、減圧下で乾燥する。

収量 : 145 mg (理論値の 81%)

HPLC : $R_t = 25.93$ 分 ;

MS (ESI) : $m/z = 598 [M+H]^+$;

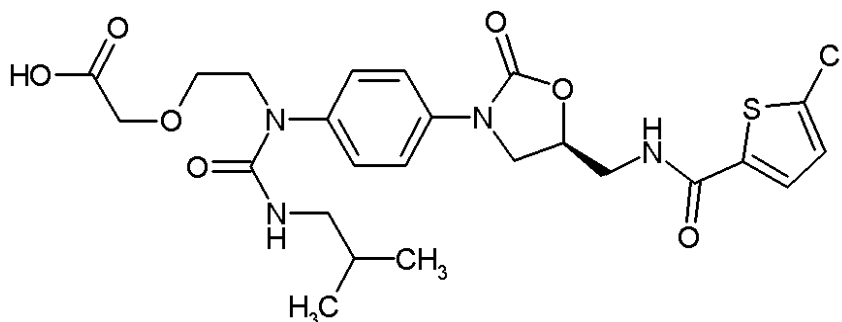
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) : $\delta = 8.99$ (t, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.63 (d, 2H), 7.45 (d, 2H), 7.19 (d, 1H), 6.93 (d, 1H), 6.51 (d, 1H), 4.91-4.80 (m, 1H), 4.22 (t, 1H), 3.98 (s, 2H), 3.92-3.84 (m, 3H), 3.67-3.59 (m, 4H).

【0071】

実施例 4

{ 2 - [{ 4 - [(5 S) - 5 - ({ [(5 - クロロ - 2 - チエニル) カルボニル] アミノ } メチル) - 2 - オキソ - 1,3 - オキサゾリジン - 3 - イル] フェニル } - (イソブチルカルバモイル) アミノ] エトキシ } 酢酸

【化 1 3】



室温で、N,N - ジイソプロピルエチルアミン 38 μ l (0.22 mmol、1.1 eq.) を、テトラヒドロフラン 4 ml 中の 2 - ({ 4 - [(5 S) - 5 - ({ [(5 - クロロ - 2 - チエニル) カルボニル] アミノ } メチル) - 2 - オキソ - 1,3 - オキサゾリジン - 3 - イル] フェニル } アミノ) エトキシ] 酢酸塩 98 mg (0.20 mmol) の懸濁液に添加し、溶液の形成をもたらす。次いで、室温で、1 - イソシアナト - 2 - メチルプロパン 22 mg (0.22 mmol、1.1 eq.) を反応混合物に滴下して添加し、混合物を終夜攪拌する。水および酢酸エチルの添加および相の分離後、水相を酢酸エチルで繰り返し再抽出する。合わせた有機相を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮する。表題化合物を分取 RP - HPLC (CromSil C18, アセトニトリル / 水グラジエント) により単離する。

収量 : 19 mg (理論値の 17%)

LC - MS : $R_t = 3.06$ 分 ;

MS (ESI) : $m/z = 553 [M+H]^+$;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) : $\delta = 12.59$ (br. s, 1H), 8.99 (t, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.56 (d, 2H), 7.29 (d, 2H), 7.20 (d, 1H), 5.55 (t, 1H), 4.89-4.80 (m, 1H), 4.20 (t, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.85 (dd, 1H), 3.69 (t, 2H), 3.60 (t, 2H), 3.50 (t, 2H), 2.70 (t, 2H), 1.69-1.59 (m, 1H), 0.76 (d, 6H).

【0072】

B. 薬理活性の評価

本発明による化合物は、特に凝血因子Xaの選択的阻害剤として作用し、プラスミンまたはトリプシンなどの他のセリンプロテアーゼを阻害しないか、または、顕著に高い濃度でのみ阻害する。

10

【0073】

凝血因子Xaの阻害剤は、Xa因子阻害の IC_{50} 値が、他のセリンプロテアーゼ、特にプラスミンおよびトリプシンの阻害の IC_{50} 値と比較して、少なくとも100倍小さいならば、「選択的」と呼ばれる。ここで、選択性の試験方法に関して、下記の実施例Ba.1)およびa.2)の試験方法を参照する。

【0074】

本発明による化合物の有利な薬理特性は、以下の方法により測定できる。

a) 試験の説明 (インビトロ)

a.1) Xa因子阻害の測定

20

ヒトXa因子(FXa)の酵素的作用を、FXa特異的発色基質の変換を使用して測定する。Xa因子は、発色基質からp-ニトロアニリンを切断する。測定は、マイクロタイタープレートで以下の通りに実施する。

【0075】

試験物質を様々な濃度でDMSOに溶解し、ヒトFXa(0.5 nmol/l、50 mmol/l トリスバッファー [C,C,C-トリス(ヒドロキシメチル)-アミノメタン]、150 mmol/l NaCl、0.1% BSA [ウシ血清アルブミン]、pH = 8.3に溶解)と、25 で10分間インキュベートする。純粋なDMSOを対照として使用する。次いで、発色基質(150 μ mol/l Pefachrome (登録商標) FXa、Pentapharmより)を添加する。25 で20分間のインキュベーション時間の後、405 nmの吸光度を測定する。試験物質を含有する試験混合物の吸光度を、試験物質を含まない対照混合物と比較し、これらのデータから IC_{50} 値を算出する。

30

【0076】

この試験の活性データを下表1に列挙する：

表1

【表2】

実施例番号	IC_{50} [nM]
1	32
3	66
4	59

40

【0077】

a.2) 選択性の測定

選択的FXa阻害を評価するために、トリプシンおよびプラスミンなどの他のヒトセリンプロテアーゼの阻害について試験物質を調べる。トリプシン(500 mU/ml)およびプラスミン(3.2 nmol/l)の酵素活性を測定するために、これらの酵素をTrisバッファー(100 mmol/l、20 mmol/l $CaCl_2$ 、pH = 8.0)に溶解し、試験物質または溶媒と10分間インキュベートする。次いで、対応する特異的発色基質(Chromozym Trypsin (登録商標) および Chromozym Plasmin (登録商標) ; Roche

50

Diagnostics より) を添加することにより酵素反応を開始し、405 nm の吸光度を 20 分後に測定する。全ての測定は 37 で実施する。試験物質を含有する試験混合物の吸光度を、試験物質を含まない対照サンプルと比較し、これらのデータから IC_{50} 値を算出する。

【0078】

a. 3) 抗凝血作用の測定

試験物質の抗凝血作用をインビトロでヒトおよびウサギの血漿で測定する。この目的で、0.11 モル濃度クエン酸ナトリウム溶液を採血液として使用して、クエン酸ナトリウム / 血液の混合比 1 : 9 で血液を採取する。血液を採取した直後に、それを徹底的に混合し、約 2500 g で 10 分間遠心分離する。上清をピペットで取り出す。市販の試験キット (Hemoliance (登録商標) RecombiPlastin、Instrumentation Laboratory より) を使用して、プロトロンビン時間 (PT、同義語: トロンボプラスチン時間、クイック試験 (quick test)) を様々な濃度の試験物質または対応する溶媒の存在下で測定する。試験化合物を血漿と 37 で 3 分間インキュベートする。次いで、トロンボプラスチンの添加により凝血を開始し、凝血が起こる時間を測定する。プロトロンビン時間の倍増をもたらす試験物質の濃度を測定する。

【0079】

b) 抗血栓活性 (インビボ) の測定

b. 1) 動静脈シャントモデル (ウサギ)

絶食しているウサギ (系統: Esd: NZW) を、Rompun/Ketavet 溶液 (各々 5 mg / kg および 40 mg / kg) の筋肉内投与により麻酔する。C.N. Berry ら [Semin. Thromb. Hemost. 1996, 22, 233-241] により記載された方法に従い、動静脈シャントにおいて、血栓形成を開始させる。この目的で、左頸静脈および右頸動脈を露出させる。長さ 10 cm の静脈カテーテルを使用して、2 本の血管を体外シャントにより連結する。中央で、このカテーテルを、ループを形成するように配列した粗いナイロン糸を含む長さ 4 cm のさらなるポリエチレンチューブ (PE 160、Becton Dickenson) に取り付け、血栓形成性表面を形成させる。体外循環を 15 分間維持する。次いでシャントを除去し、血栓を伴うナイロン糸の重さを直ちに測定する。ナイロン糸自体の重量は、実験開始前に測定した。体外循環を設置する前に、耳静脈を介して静脈内に、または咽頭チューブを使用して経口で、試験物質を投与する。

【0080】

c) 溶解度の測定

必要な試薬:

- ・ P B S バッファー pH 7.4 : NaCl p.a. 90.00 g (例えば、Merckより、Art. No. 1.06404.1000)、 KH_2PO_4 p.a. 13.61 g (例えば、Merckより、Art. No. 1.04873.1000) および 1 N NaOH 83.35 g (例えば Bernd Kraft GmbHより、Art. No. 01030.4000) を 1 l のメスフラスコ中に秤量し、フラスコを水で満たし、混合物を約 1 時間攪拌する;
- ・ 酢酸バッファー pH 4.6 : 酢酸ナトリウム 5.4 g $\times 3 H_2O$ p.a. (例えば、Merckより、Art. No. 1.06267.0500) を、100 ml のメスフラスコ中に秤量し、水 50 ml に溶解し、氷酢酸 2.4 g を添加し、フラスコを水で 100 ml まで満たし、pH を確認し、必要であれば pH 4.6 に調節する;
- ・ ジメチルスルホキシド (例えば Baker より、Art. No. 7157.2500) ;
- ・ 蒸留水。

【0081】

校正溶液の調製:

校正溶液用の出発溶液 (原液) の製造: 試験物質約 0.5 mg を、2 ml の Eppendorf Safe-Lock tube (Eppendorfより、Art. No. 0030 120.094) に正確に秤量し、DMSO を 600 μ g / ml の濃度まで (例えば物質 0.5 mg + DMSO 833 μ l) 添加し、完全な溶解が達成されるまで混合物をボルテックスする。

校正溶液 1 ($20 \mu\text{g}/\text{ml}$) : $\text{DMSO } 1000 \mu\text{l}$ を原液 $34.4 \mu\text{l}$ に添加し、混合物をホモジナイズする。

校正溶液 2 ($2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$) : $\text{DMSO } 700 \mu\text{l}$ を校正溶液 1 $100 \mu\text{l}$ に添加し、混合物をホモジナイズする。

【 0 0 8 2 】

サンプル溶液の調製 :

PBS バッファー pH 7.4 中、 $10 \text{ g}/\text{l}$ までの溶解度のためのサンプル溶液 : 試験物質約 5 mg を、 2 ml の Eppendorf Safe-Lock tube (Eppendorf より、Art. No. 0030 120.094) に正確に秤量し、PBS バッファー pH 7.4 を $5 \text{ g}/\text{l}$ の濃度まで添加する (例えば、物質 $5 \text{ mg} + \text{PBS バッファー pH } 7.4 \text{ } 500 \mu\text{l}$)。

10

【 0 0 8 3 】

酢酸バッファー pH 4.6 中、 $10 \text{ g}/\text{l}$ までの溶解度のためのサンプル溶液 : 試験物質約 5 mg を、 2 ml の Eppendorf Safe-Lock tube (Eppendorf より、Art. No. 0030 120.094) に正確に秤量し、酢酸バッファー pH 4.6 を $5 \text{ g}/\text{l}$ の濃度まで添加する (例えば物質 $5 \text{ mg} + \text{酢酸バッファー pH } 4.6 \text{ } 500 \mu\text{l}$)。

【 0 0 8 4 】

水中、 $10 \text{ g}/\text{l}$ までの溶解度のためのサンプル溶液 : 試験物質約 5 mg を、 2 ml の Eppendorf Safe-Lock tube (Eppendorf より、Art. No. 0030 120.094) に正確に秤量し、水を $5 \text{ g}/\text{l}$ の濃度まで添加する (例えば物質 $5 \text{ mg} + \text{水 } 500 \mu\text{l}$)。

【 0 0 8 5 】

20

実施 :

24 時間にわたり、温度制御振盪機 (例えば、互換性ブロック Art. No. 5362.000.019 を備えた Eppendorf Thermomixer comfort Art. No. 5355 000.011) を使用して、かくして調製されたサンプル溶液を、 1400 rpm 、 20°C で振盪する。これらの溶液から各場合で $180 \mu\text{l}$ を取り出し、Beckman Polyallomer 遠心管 (Art. No. 343621) に移す。これらの溶液を約 $223000 \times g$ (例えば Beckman Optima L-90K Ultracentrifuge、タイプ 42.2 Ti ローターを用いて、 42000 rpm で) で 1 時間遠心分離する。各サンプル溶液から、上清 $100 \mu\text{l}$ を取り出し、使用した各溶媒 (水、PBS バッファー pH 7.4 または酢酸バッファー pH 4.6) で 1 : 5、1 : 100 および 1 : 1000 に希釈する。各希釈から、サンプルを HPLC 分析に適する容器に移す。

30

【 0 0 8 6 】

分析 :

サンプルを RP-HPLC により分析する。DMSO 中の試験化合物の 2 点校正曲線を使用して、定量を実施する。溶解度を mg/l で表示する。分析順序 : 1) 校正溶液 2.5 mg/ml ; 2) 校正溶液 $20 \mu\text{g}/\text{ml}$; 3) サンプル溶液 1 : 5 ; 4) サンプル溶液 1 : 100 ; 5) サンプル溶液 1 : 1000。

【 0 0 8 7 】

酸用の HPLC 方法 :

DAD (G1315A)、定量ポンプ (G1311A)、オートサンプラー CTC HTS PAL、脱気装置 (G1322A) およびカラムサーモスタット (G1316A) を備えた Agilent 1100 ; カラム : Phenomenex Gemini C18, $50 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$; 温度 : 40°C ; 移動相 A : 水 / リン酸 pH 2 ; 移動相 B : アセトニトリル ; 流速 : $0.7 \text{ ml}/\text{分}$; グラジエント : 0 - 0.5 分 85 % A、15 % B ; 傾斜 : 0.5 - 3 分 10 % A、90 % B ; 3 - 3.5 分 10 % A、90 % B ; 傾斜 : 3.5 - 4 分 85 % A、15 % B ; 4 - 5 分 85 % A、15 % B。

40

【 0 0 8 8 】

塩基用の HPLC 方法 :

DAD (G1315A)、定量ポンプ (G1311A)、オートサンプラー CTC HTS PAL、脱気装置 (G1322A) およびカラムサーモスタット (G1316A) を備えた Agilent 1100 ; カラム : VDSop tilab Kromasil 100 C18, $60 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}$, $3.5 \mu\text{m}$; 温度 : 30°C ; 移動相 A : 水 + 5 ml 過塩素酸 / l ; 移動相 B : アセトニトリル ; 流速 : $0.75 \text{ ml}/\text{分}$; グラジエント :

50

0 - 0.5 分 98 % A、2 % B ; 傾斜 : 0.5 - 4.5 分 10 % A、90 % B ; 4.5 - 6 分 10 % A、90 % B ; 傾斜 : 6.5 - 6.7 分 98 % A、2 % B ; 6.7 - 7.5 分 98 % A、2 % B。

【0089】

C. 医薬組成物の実施例

本発明による化合物は、以下の方法で医薬製剤に変換できる：

錠剤：

組成：

本発明による化合物 100 mg、ラクトース（一水和物）50 mg、トウモロコシデンプン（天然）50 mg、ポリビニルピロリドン（PVP 25）（BASF, Ludwigshafen, Germany より）10 mg およびステアリン酸マグネシウム 2 mg。

錠剤重量 212 mg。直径 8 mm、曲率半径 12 mm。

製造：

本発明による化合物、ラクトースおよびデンプンの混合物を、5 % 強度 PVP 水溶液（m / m）で造粒する。顆粒を乾燥させ、次いで、ステアリン酸マグネシウムと 5 分間混合する。この混合物を常套の打錠機を使用して打錠する（錠剤の形状について、上記参照）。打錠のガイドラインとして、打錠力 15 kN を使用する。

【0090】

経口投与できる懸濁液：

組成：

本発明による化合物 1000 mg、エタノール（96 %）1000 mg、Rhodigel（登録商標）（FMC, Pennsylvania, USA のキサントガム）400 mg および水 99 g。

経口懸濁液 10 ml は、本発明による化合物の単回用量 1000 mg に相当する。

製造：

Rhodigel をエタノールに懸濁し、本発明による化合物を懸濁液に添加する。攪拌しながら水を添加する。Rhodigel の膨潤が完了するまで、混合物を約 6 時間攪拌する。

【0091】

経口投与できる液剤：

組成：

本発明による化合物 500 mg、ポリソルベート 2.5 g およびポリエチレングリコール 40097 g。経口液剤 20 g は、本発明による化合物の単回用量 1000 mg に相当する。

製造：

本発明による化合物を、ポリエチレングリコールおよびポリソルベートの混合物に攪拌しながら懸濁する。本発明による化合物が完全に溶解するまで、攪拌を継続する。

【0092】

i.v. 液剤：

本発明による化合物を、飽和溶解度より低い濃度で、生理的に許容し得る溶媒（例えば、等張塩水、グルコース溶液 5 % および / または PEG 400 溶液 30 %）に溶解する。溶液を濾過滅菌に付し、無菌のバイロジェン不含の注射容器に満たす。

10

20

30

40

フロントページの続き

(74)代理人 100083356

弁理士 柴田 康夫

(72)発明者 クリスティアン・エル・トーマス

ドイツ連邦共和国デー - 4 2 1 1 1 ヴッパータール、レックスヴェーク 1 3 番

(72)発明者 ズザンネ・レーリヒ

ドイツ連邦共和国デー - 4 0 7 2 4 ヒルデン、アウフ・デム・コルクスブルッフ 5 番

(72)発明者 エリーザベト・ペルツボルン

ドイツ連邦共和国デー - 4 2 3 2 7 ヴッパータール、アム・テッシャー・ブッシュ 1 3 番

審査官 深谷 良範

(56)参考文献 特表 2 0 0 3 - 5 1 9 1 4 1 (J P , A)

特表 2 0 0 4 - 5 2 1 9 0 5 (J P , A)

国際公開第 2 0 0 5 / 0 6 8 4 5 6 (W O , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07D 413/

A61K 31/

REGISTRY/CAPLUS(STN)