

(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2005-537281

(P2005-537281A)

(43) 公表日 平成17年12月8日(2005.12.8)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

C07D 333/38

A61K 31/381

A61P 1/02

A61P 1/04

A61P 1/18

F I

C07D 333/38

C S P

A61K 31/381

A61P 1/02

A61P 1/04

A61P 1/18

テーマコード (参考)

4C023

4C086

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-522889 (P2004-522889)

(86) (22) 出願日 平成15年7月15日 (2003.7.15)

(85) 翻訳文提出日 平成17年3月15日 (2005.3.15)

(86) 国際出願番号 PCT/SE2003/001214

(87) 国際公開番号 W02004/009579

(87) 国際公開日 平成16年1月29日 (2004.1.29)

(31) 優先権主張番号 0202280-4

(32) 優先日 平成14年7月19日 (2002.7.19)

(33) 優先権主張国 スウェーデン (SE)

(71) 出願人 391008951

アストラゼネカ・アクチエボラグ

ASTRAZENECA AKTIEBO

LAG

スウェーデン国エスエー 151 85セ

ーデルテイエ

(74) 代理人 100062144

弁理士 青山 稔

(74) 代理人 100067035

弁理士 岩崎 光隆

(74) 代理人 100064610

弁理士 中嶋 正二

(74) 代理人 100072730

弁理士 小島 一晃

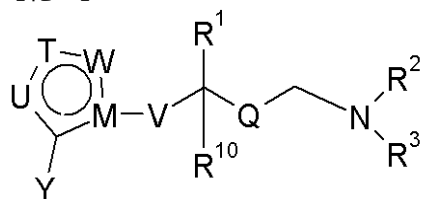
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規化合物

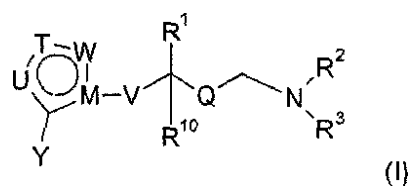
(57) 【要約】

式(I):

【化1】



(I)



(II)

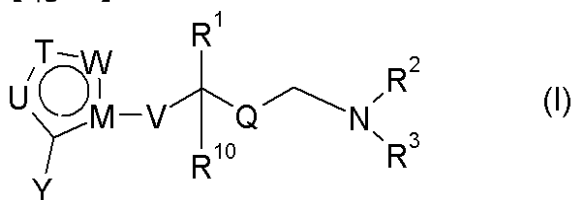
[式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^{10}$ 、M、Q、T、U、Y、V、およびWは、本明細書中で定義した通りである]の新規化合物、およびその薬学的に許容される塩；その製造方法、それらを含む組成物、および治療におけるその使用を提供する。本化合物は、一酸化窒素合成酵素阻害剤であり、そしてそれによる炎症性疾患および疼痛の処置もしくは予防に、特に有用である。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式(I)：

## 【化 1】



10

[式中、

Yは、 $C_1 - 4$  アルキル、 $C_1 - 4$  アルコキシ、ハロゲン、CN、 $C - CH$ 、 $NO_2$ 、 $CH_2OH$ 、CHO、 $COCH_3$ 、 $NH_2$ 、 $NHCHO$ 、 $NHCOCH_3$ 、または $NHSO_2CH_3$ を表し、

該アルキルもしくはアルコキシは、所望により1個以上のフッ素原子によってさらに置換されており；

T、U、およびWは、独立して、 $CX$ 、N、 $NR^9$ 、O、または $S(O)_m$ を表し、ただし、少なくとも1つのT、U、およびWがヘテロ原子を表さなければならず、かつT、U、およびWの1個以上が $NR^9$ 、O、または $S(O)_m$ を表すことはなく；

mは、整数0、1、または2を表し；そして

20

それぞれのXは、独立して、H、 $C_1 - 4$  アルキル、 $C_1 - 4$  アルコキシ、ハロゲン、OH、SH、CN、 $C - CH$ 、 $N(R^{11})_2$ 、 $NO_2$ 、 $CH_2OH$ 、CHO、 $COCH_3$ 、または $NHCHO$ を表し、

該アルキルもしくはアルコキシは、所望により1個以上のフッ素原子によってさらに置換されており；

Vは、 $NR^4$ 、O、 $CH_2$ 、 $S(O)_n$ 、 $OCH_2$ 、 $CH_2O$ 、 $NR^4CH_2$ 、 $CH_2NR^4$ 、 $CH_2S(O)_n$ 、 $S(O)_nCH_2$ 、 $CH_2CH_2$ 、または $CH=CH$ を表し；

nは、整数0、1、または2であり；

MはCを表し、かつ

MがV中の $CH_2$ 部分に結合している場合は、MはまたNを表し得；

30

$R^{10}$ はHまたはMeを表し；

Qは、 $(CH_2)_p$  {pは、整数0、1、2、または3を表す}を表し；

$R^1$ は、フェニル、またはO、S、およびNから独立して選択される1から3個のヘテロ原子を含む5員環もしくは6員環の芳香族性複素環式環を表し；

該フェニルもしくは芳香族性複素環式環は、ハロゲン、 $C_1 - 4$  アルキル、 $C_1 - 4$  アルコキシ、OH、CN、 $NO_2$ 、または $NR^5R^6$ から独立して選択される1個以上の置換基によって、所望により置換されており；

該アルキルもしくはアルコキシは、所望により1個以上のフッ素原子によって、さらに置換されており；

$R^2$ と $R^3$ は、独立して、H、 $C_1 - 4$  アルキル、または $C_3 - 6$  シクロアルキルを表し

40

、  
該アルキルは、 $C_1 - 4$  アルコキシ、ハロゲン、ヒドロキシ、 $-Z-NR^7R^8$ 、フェニル、またはO、S、およびNから独立して選択される1から3個のヘテロ原子を含む5員環もしくは6員環の芳香族性もしくは飽和複素環式環によって、所望により置換されており；

該フェニルもしくは芳香族性複素環式環は、ハロゲン、 $C_1 - 4$  アルキル、 $C_1 - 4$  アルコキシ、 $CF_3$ 、 $OCF_3$ 、CN、または $NO_2$ によって、所望によりさらに置換されており；

Zは、 $-CO-$ または結合を表し；

$R^4$ と $R^{11}$ は、独立して、Hまたは $C_1 - 2$  アルキルを表し；

50

$R^5$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、および $R^8$ は、独立して、Hまたは $C_{1-4}$ アルキルを表し；  
 $R^9$ は、H、 $C_{1-4}$ アルキル、 $CHO$ 、 $COCH_3$ 、 $SO_2CH_3$ 、または $CF_3$ を表す]の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【請求項2】

Vが $S(O)_n$ を表し、nが0を表す、請求項1に記載の式(I)の化合物。

【請求項3】

YがCNを表す、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項4】

3 - [[(1S) - 2 - アミノ - 1 - フェニルエチル]チオ] - 5 - メチル - 2 - チオフェンカルボニトリル、またはその薬学的に許容される塩、エナンチオマー、もしくはラセミ体である、請求項1に記載の式(I)の化合物。 10

【請求項5】

医薬として使用するための、請求項1から4の何れか1項に記載の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項6】

薬学的に許容されるアジュバント、希釈剤、もしくは担体と混合した、請求項1から4の何れか1項に記載の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項7】

一酸化窒素合成酵素活性の阻害が有益であるヒトの疾患もしくは状態の処置もしくは予防のための医薬の製造における、請求項1から4の何れか1項に記載の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用。 20

【請求項8】

主として誘導型一酸化窒素合成酵素が阻害される、請求項7に記載の使用。

【請求項9】

炎症性疾患の処置もしくは予防のための医薬の製造における、請求項1から4の何れか1項に記載の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用。

【請求項10】

該疾患が炎症性腸疾患である、請求項9に記載の使用。

【請求項11】

該疾患がリウマチ性関節炎である、請求項9に記載の使用。 30

【請求項12】

該疾患が骨関節炎である、請求項9に記載の使用。

【請求項13】

疼痛の処置もしくは予防のための医薬の製造における、請求項1から4の何れか1項に定義した通りの式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用。

【請求項14】

炎症性疾患の処置もしくは予防のための医薬の製造における、 $COX-2$ 阻害剤と組み合わせた、請求項1から4の何れか1項に定義した通りの式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用。

【請求項15】

一酸化窒素合成酵素活性の阻害が有益であるヒトの疾患もしくは状態を処置する、またはそのリスクを軽減する方法であって、該疾患もしくは状態に罹患している もしくはそのリスクが増大しているヒトに、請求項1から4の何れか1項に定義した通りの式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を、治療上効果的な量で投与することを含む方法。 40

【請求項16】

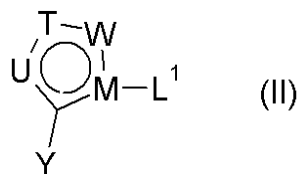
炎症性疾患を処置する、またはそのリスクを軽減する方法であって、該疾患に罹患している もしくはそのリスクが増大しているヒトに、請求項1から4の何れか1項に定義した通りの式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩、エナンチオマー、またはラセミ体を、治療上効果的な量で投与することを含む方法。

【請求項17】

請求項 1 から 4 の何れか 1 項に定義した通りの式 (I) の化合物、またはその薬学的に許容される塩、エナンチオマー、またはラセミ体を製造する方法であって、該方法が、

(a) 式 (II) :

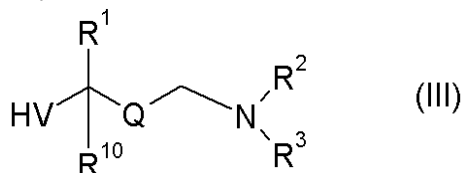
【化 2】



[式中、T、U、W、Y、およびMは、請求項 1 で定義した通りであり；そして L¹ は脱離基を表す]の化合物を、式 (III) :

10

【化 3】

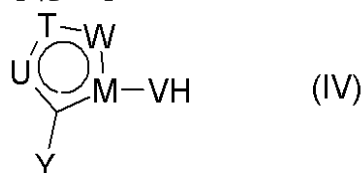


[式中、R¹、R²、R³、R¹⁰、Q、およびVは、請求項 1 で定義した通りである]の化合物と反応させること；または

(b) 式 (IV) :

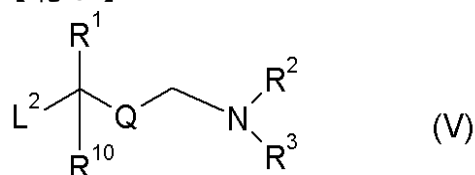
20

【化 4】



[式中、T、U、W、M、Y、およびVは、請求項 1 で定義した通りである]の化合物を、式 (V) :

【化 5】



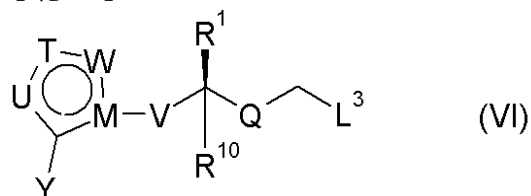
30

[式中、R¹、R²、R³、R¹⁰、およびQは、請求項 1 で定義した通りであり；そして

L² は脱離基である]の化合物と反応させること；または

(c) 式 (VI) :

【化 6】

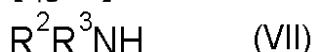


40

[式中、R¹、R¹⁰、Q、T、U、W、M、Y、およびVは、請求項 1 で定義した通りであり；そして

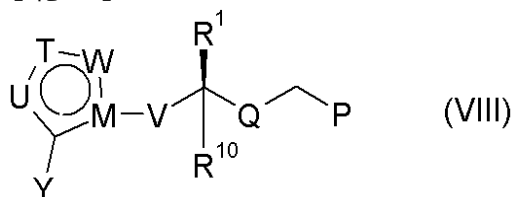
L³ は脱離基である]の化合物を、式 (VII) :

【化 7】



[式中、 $R^2$  と  $R^3$  は請求項 1 で定義した通りである]の化合物と反応させること；または  
(d) 式(VIII)：

【化 8】



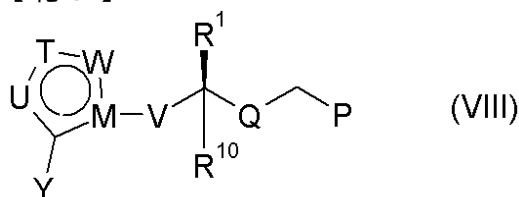
10

[式中、 $R^1$ 、 $R^{10}$ 、Q、T、U、W、M、Y、および V は、請求項 1 で定義した通りであり；そして

P は、アジド( $N_3$ )を表す]の化合物を還元すること；または

(e) 式(VIII)：

【化 9】



20

[式中、 $R^1$ 、 $R^{10}$ 、Q、T、U、W、M、Y、および V は、請求項 1 で定義した通りであり；そして

P はイミドを表す]の化合物を加水分解すること；および

望ましいならば、または必要であれば、得られた式(I)の化合物もしくはその別の塩を、その薬学的に許容される塩に変換すること；または

式(I)の化合物の 1 つを別の式(I)の化合物に変換すること；および

望ましいならば、得られた式(I)の化合物をその光学異性体に変換すること；

を含む方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明の分野

本発明は、新規のヘテロアリーールアルキルアミン誘導体、その製造方法、それらを含む組成物、および治療におけるその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

本発明の背景

一酸化窒素は、哺乳動物の細胞中で、特定の一酸化窒素合成酵素の作用によって、L-アルギニンから生成される。これらの酵素は、2つの別個のクラス、すなわち構成型 NOS (constitutive NOS) (cNOS) と、誘導型 NOS (inducible NOS) (iNOS) に分類される。現在、2つの構成型 NOS と、1つの誘導型 NOS が、同定されている。構成型 NOS のうち、内皮型酵素 (eNOS) は、平滑筋弛緩、および血圧と血流の制御に関するが、神経型酵素 (nNOS) は、様々な生物学的機能の制御に関すると思われる。誘導型 NOS は、特に炎症性疾患の病状に関与している。従って、これらの酵素の制御は、広く様々な疾患状態の処置において、多くの可能性を提供する (J. E. Macdonald, Ann. Rep. Med. Chem., 1996, 31, 221 - 230)。

40

【0003】

50

多くの努力が、1個以上の一酸化窒素合成酵素のアイソフォームの特異的阻害剤として作用する化合物を同定するための労力に費やされている。治療における該化合物の使用もまた、広く要請されている。

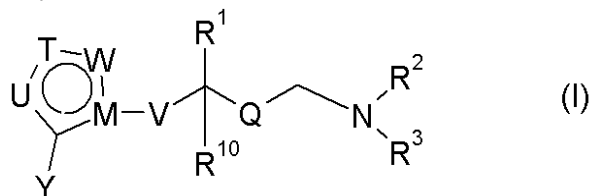
【発明の開示】

【0004】

本発明の開示

本発明に従って、式(I)：

【化1】



10

[式中、

Yは、 $C_{1-4}$ アルキル、 $C_{1-4}$ アルコキシ、ハロゲン、CN、 $C(CH_3)_3$ 、 $NO_2$ 、 $CH_2OH$ 、CHO、 $COCH_3$ 、 $NH_2$ 、 $NHCHO$ 、 $NHCOCH_3$ 、または $NHSO_2CH_3$ を表し、

該アルキルもしくはアルコキシは、所望により1個以上のフッ素原子によってさらに置換されており；

20

T、U、およびWは、独立して、 $CX$ 、N、 $NR^9$ 、O、または $S(O)_m$ を表し、ただし、少なくとも1つのT、U、およびWがヘテロ原子を表さなければならず、かつT、U、およびWの1個以上が $NR^9$ 、O、または $S(O)_m$ を表すことはなく；

mは、整数0、1、または2を表し；そして

それぞれのXは、独立して、H、 $C_{1-4}$ アルキル、 $C_{1-4}$ アルコキシ、ハロゲン、OH、SH、CN、 $C(CH_3)_3$ 、 $N(R^{11})_2$ 、 $NO_2$ 、 $CH_2OH$ 、CHO、 $COCH_3$ 、または $NHCHO$ を表し、

該アルキルもしくはアルコキシは、所望により1個以上のフッ素原子によってさらに置換されており；

Vは、 $NR^4$ 、O、 $CH_2$ 、 $S(O)_n$ 、 $OCH_2$ 、 $CH_2O$ 、 $NR^4CH_2$ 、 $CH_2N$ 、 $R^4$ 、 $CH_2S(O)_n$ 、 $S(O)_nCH_2$ 、 $CH_2CH_2$ 、または $CH=CH$ を表し；

30

nは、整数0、1、または2であり；

MはCを表し、かつ

MがV中の $CH_2$ 部分に結合している場合は、MはまたNを表し得；

$R^{10}$ はHまたはMeを表し；

Qは、 $(CH_2)_p$  {pは、整数0、1、2、または3を表す}を表し；

$R^1$ は、フェニル、またはO、S、およびNから独立して選択される1から3個のヘテロ原子を含む5員環もしくは6員環の芳香族性複素環式環を表し；

該フェニルもしくは芳香族性複素環式環は、ハロゲン、 $C_{1-4}$ アルキル、 $C_{1-4}$ アルコキシ、OH、CN、 $NO_2$ 、または $NR^5R^6$ から独立して選択される1個以上の置換基によって、所望により置換されており；

40

該アルキルもしくはアルコキシは、所望により1個以上のフッ素原子によって、さらに置換されており；

$R^2$ と $R^3$ は、独立して、H、 $C_{1-4}$ アルキル、または $C_{3-6}$ シクロアルキルを表し、

該アルキルは、 $C_{1-4}$ アルコキシ、ハロゲン、ヒドロキシ、 $-Z-NR^7R^8$ 、フェニル、またはO、S、およびNから独立して選択される1から3個のヘテロ原子を含む5員環もしくは6員環の芳香族性もしくは飽和複素環式環によって、所望により置換されており；

該フェニルもしくは芳香族性複素環式環は、ハロゲン、 $C_{1-4}$ アルキル、 $C_{1-4}$ アル

50

コキシ、 $\text{CF}_3$ 、 $\text{OCF}_3$ 、 $\text{CN}$ 、または $\text{NO}_2$ によって、所望によりさらに置換されており；

Zは、 $-\text{CO}-$ または結合を表し；

$\text{R}^4$ と $\text{R}^{11}$ は、独立して、Hまたは $\text{C}_{1-2}$ アルキルを表し；

$\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$ 、 $\text{R}^7$ 、および $\text{R}^8$ は、独立して、Hまたは $\text{C}_{1-4}$ アルキルを表し；

$\text{R}^9$ は、H、 $\text{C}_{1-4}$ アルキル、 $\text{CHO}$ 、 $\text{COCH}_3$ 、 $\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、または $\text{CF}_3$ を表す]の化合物、またはその薬学的に許容される塩を提供する。

【0005】

式(I)の化合物は、エナンチオマーの形態で存在し得る。全てのエナンチオマー、ジアステレオマー、ラセミ体、およびそれらの混合物は本発明の範囲に含まれると解されるべきである。

【0006】

U、T、またはWがCXを表し、XがOHを表す、式(I)の化合物は、別のケト互変異性体の形態で存在し得ることが認められる。同様に、U、T、またはWがCXを表し、XがNHを表す式(I)の化合物は、別のイミノ互変異性体の形態で存在し得る。同様に、U、T、またはWがCXを表し、XがSHを表す式(I)の化合物は、別のチオケト互変異性体の形態で存在し得る。全てのこのような可能性のある互変異性体の形態およびそれらの混合物は、本発明の範囲に含まれると解されるべきである。

【0007】

式(I)の化合物およびその薬学的に許容される塩は、一酸化窒素合成酵素(NOS)の阻害剤であるという利点を有する。特に、式(I)の化合物およびその薬学的に許容される塩は、誘導型一酸化窒素合成酵素のアイソフォーム(iNOS)の阻害剤であるという利点を有する。

【0008】

本発明は、さらに、式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩、エナンチオマー、またはラセミ体の製造方法を提供する。

本発明に従って、医薬として使用するための、式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を提供する。

【0009】

本発明の別の態様は、一酸化窒素合成酵素活性の阻害が有益である疾患もしくは状態を処置するもしくは予防する医薬の製造における、式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。

【0010】

本発明の別の態様は、誘導型一酸化窒素合成酵素活性の阻害が有益である疾患もしくは状態を処置するもしくは予防する医薬の製造における、式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。

【0011】

本発明のより特定の態様は、炎症性疾患を処置するもしくは予防する医薬の製造における、式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。

本発明のより特定の態様は、疼痛を処置するもしくは予防する医薬の製造における、式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。

【0012】

本発明に従って、一酸化窒素合成酵素活性の阻害が有益である疾患もしくは状態を処置する、もしくはそのリスクを軽減する方法であって、該疾患もしくは状態に罹患しているもしくはそのリスクがあるヒトに、治療上効果的な量の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む方法もまた提供する。

【0013】

より特定には、炎症性疾患に罹患しているもしくはそのリスクがあるヒトにおいて、炎症性疾患を処置するもしくはそのリスクを軽減する方法であって、該ヒトに、治療上効果的な量の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む方法も

10

20

30

40

50

また提供する。

【 0 0 1 4 】

本発明の化合物はまた、第 2 の薬学的に活性な成分と組み合わせて；特にシクロオキシゲナーゼ阻害剤と組み合わせて；より特定のには誘導型シクロオキシゲナーゼのアイソフォーム(inducible isoform of cyclooxygenase) (C O X - 2)の選択的阻害剤と組み合わせて、有利に用いられ得る。従って、本発明のさらなる態様において、炎症、炎症性疾患、および炎症関連疾患を処置するための、C O X - 2 阻害剤と組み合わせた、式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。そして、炎症、炎症性疾患、および炎症関連疾患に罹患しているもしくはそのリスクがあるヒトにおいて、炎症、炎症性疾患、および炎症関連疾患を処置する もしくはそのリスクを軽減する方法であって、該ヒトに、C O X - 2 阻害剤と組み合わせた式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を、治療上効果的な量で投与することを含む方法もまた提供する。

10

【 0 0 1 5 】

1 つの具体的態様において、式(I)における V は、 $S(O)_n$  を表し、そして n は 0 を表す。

別の具体的態様において、式(I)における Y は、C N を表す。

【 0 0 1 6 】

別の具体的態様において、式(I)における  $R^1$  は、所望により置換されているフェニルまたは O、S、および N から独立して選択される 1 から 3 個のヘテロ原子を含む 5 員環もしくは 6 員環の芳香族性複素環式環を表す。さらなる具体的態様において、式(I)における  $R^1$  は、所望により置換されているフェニル、ピリジル、チエニル、イソオキサゾリル、イソチアゾリル、またはチアゾリルを表す。さらにさらなる具体的態様において、式(I)における  $R^1$  は、所望により置換されているフェニルを表す。

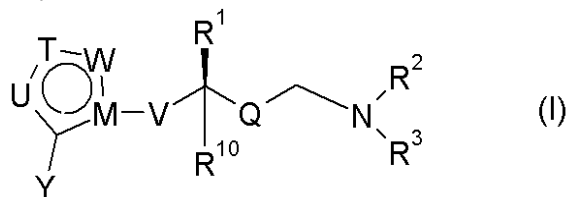
20

【 0 0 1 7 】

1 つの具体的態様において、式(I)における T、U、および W の 1 つは S を表し、そして他の 2 つは C X を表し、そして M は C を表す。

特定の具体的態様において、式(I)の化合物は、

【化 2】



30

に示した通りの絶対配置を有する。

【 0 0 1 8 】

本発明の特定の化合物は、3 - [[(1 S) - 2 - アミノ - 1 - フェニルエチル]チオ] - 5 - メチル - 2 - チオフェンカルボニトリル、およびその薬学的に許容される塩を含む。

【 0 0 1 9 】

別記しない限り、本明細書中で記載する“ $C_{1-4}$  アルキル”という用語は、1 から 4 個の炭素原子を有する直鎖もしくは分枝鎖のアルキルを表す。このような基の例は、メチル、エチル、n - プロピル、i - プロピル、n - ブチル、i - ブチル、および t - ブチルを含む。

40

【 0 0 2 0 】

別記しない限り、本明細書中で記載する“ $C_{3-6}$  シクロアルキル”という用語は、3 から 6 個の炭素原子を有するシクロアルキルを表す。このような基の例は、シクロプロピル、シクロペンチル、およびシクロヘキシルを含む。

【 0 0 2 1 】

別記しない限り、本明細書中で記載する“ $C_{1-4}$  アルコキシ”という用語は、1 から 4 個の炭素原子を有する直鎖もしくは分枝鎖のアルコキシを表す。このような基の例は、

50



メトキシ、エトキシ、n - プロポキシ、i - プロポキシ、および t - ブトキシを含む。

別記しない限り、本明細書中で記載する“ハロゲン”という用語は、フルオロ、クロロ、ブロモ、およびヨードを表す。

【0022】

O、S、およびNから独立して選択される1から3個のヘテロ原子を含む5員環もしくは6員環の芳香族性複素環式環の例は、フラン、チオフェン、ピリジン、チアゾール、イミダゾール、オキサゾール、トリアゾール、オキサジアゾール、チアジアゾール、およびピリミジンを含む。

【0023】

O、S、およびNから独立して選択される1から3個のヘテロ原子を含む5員環もしくは6員環の飽和複素環式環の例は、ピロリジン、テトラヒドロフラン、ピペリジン、およびピペラジンを含む。

【0024】

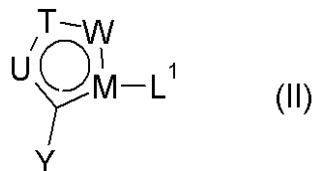
“所望により1個以上のフッ素原子によってさらに置換されているC<sub>1-4</sub>アルキルもしくはC<sub>1-4</sub>アルコキシ”の例は、CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub>CF<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>FCH<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>CF<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>、OCF<sub>3</sub>、およびOCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>を含む。

【0025】

本発明に従って、我々は、さらに、式(I)の化合物、またはその薬学的に許容される塩、エナンチオマー、またはラセミ体を製造する方法であって、該方法が、

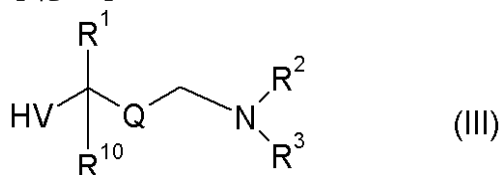
(a) 式(II)：

【化3】



[式中、T、U、W、Y、およびMは、式(I)で定義した通りであり；そしてL<sup>1</sup>は脱離基を表す]の化合物を、式(III)：

【化4】

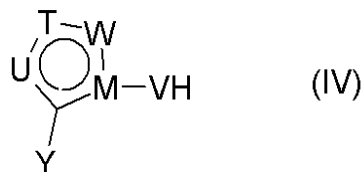


[式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>10</sup>、Q、およびVは、式(I)で定義した通りである]の化合物と反応させること；または

【0026】

(b) 式(IV)：

【化5】



[式中、T、U、W、M、Y、およびVは、式(I)で定義した通りである]の化合物を、式(V)：

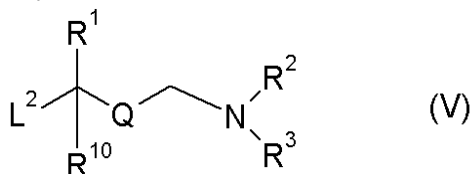
10

20

30

40

【化 6】

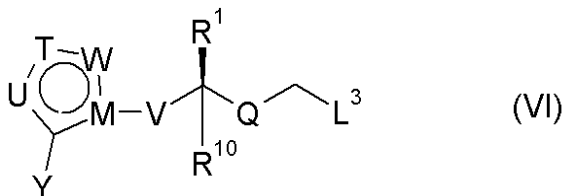


[式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^{10}$ 、および $Q$ は、式(I)で定義した通りであり；そして  
 $L^2$ は脱離基である]の化合物と反応させること；または

【0027】

(c) 式(VI)：

【化 7】



[式中、 $R^1$ 、 $R^{10}$ 、 $Q$ 、 $T$ 、 $U$ 、 $W$ 、 $M$ 、 $Y$ 、および $V$ は、式(I)で定義した通りであり；そして

$L^3$ は脱離基である]の化合物を、式(VII)：

【化 8】

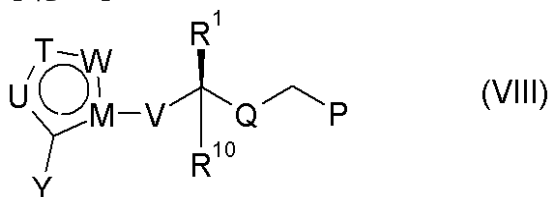


[式中、 $R^2$ と $R^3$ は式(I)で定義した通りである]の化合物と反応させること；または

【0028】

(d) 式(VIII)：

【化 9】



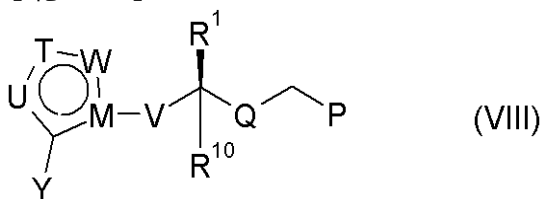
[式中、 $R^1$ 、 $R^{10}$ 、 $Q$ 、 $T$ 、 $U$ 、 $W$ 、 $M$ 、 $Y$ 、および $V$ は、式(I)で定義した通りであり；そして

$P$ は、アジド( $N_3$ )を表す]の化合物を還元すること；または

【0029】

(e) 式(VIII)：

【化 10】



[式中、 $R^1$ 、 $R^{10}$ 、 $Q$ 、 $T$ 、 $U$ 、 $W$ 、 $M$ 、 $Y$ 、および $V$ は、式(I)で定義した通りであり；そして

$P$ はイミドを表す]の化合物を加水分解すること；および

望ましいならば、または必要であれば、得られた式(I)の化合物もしくはその別の塩を、その薬学的に許容される塩に変換すること；または

10

20

30

40

50

式(I)の化合物の1つを別の式(I)の化合物に変換すること；および  
望ましいならば、得られた式(I)の化合物をその光学異性体に変換すること；  
を含む方法を提供する。

【0030】

方法(a)において、反応は、不活性な溶媒中で、式(III)の求核剤を、式(II)の求電子剤で処理することによって行われる。適切な脱離基 $L^1$ は、スルホネートおよびハライドを含み、特にフルオライドもしくはクロライドである。反応は、一般的に、非求核性塩基、例えば水素化ナトリウムもしくは炭酸セシウムの存在下で行われる。適切な有機溶媒は、例えばN,N-ジメチルホルムアミド、N-メチル-2-ピロリジノン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、およびジメチルスルホキシドである。反応は、一般的に、0

10

【0031】

方法(b)において、式(IV)および式(V)の反応剤は、適切な不活性な溶媒(例えばテトラヒドロフラン)中で、例えば Mitsunobu 条件を用いてカップリングする。従って、例えば、反応剤を、ホスフィン誘導体およびアゾ誘導体で、適切な温度で、一般的に0 から溶媒の沸点の間の温度で処理する。適切なホスフィン誘導体は、トリフェニルホスフィンおよびトリブチルホスフィンを含む。適切なアゾ誘導体は、アゾジカルボン酸ジエチル、アゾジカルボン酸ジイソプロピル、および1,1'-(アゾジカルボニル)ジピペリジンを含む。適切な脱離基 $L^2$ はヒドロキシを含む。

【0032】

20

あるいは、方法(b)において、反応は、不活性な溶媒中で、式(IV)の求核剤を、式(V)の求電子剤で処理することによって行われる。適切な脱離基 $L^2$ は、スルホネートおよびハライドを含み、特にクロライドまたはプロマイドである。反応は、一般的に、非求核性塩基、例えば水素化ナトリウムもしくは炭酸セシウムの存在下で行われる。適切な有機溶媒は、例えばN,N-ジメチルホルムアミド、N-メチル-2-ピロリジノン、テトラヒドロフラン、およびジメチルスルホキシドである。反応は、一般的に、0 から溶媒の沸点の間の温度で行われる。

【0033】

方法(c)において、式(VI)および式(VII)の化合物を、適切な不活性な溶媒(例えばジメチルスルホキシドもしくはテトラヒドロフラン)中で、一緒に反応させる。反応は、一般的に、塩基の存在下で行われる。塩基は、さらなる成分または過剰量の式(VII)のアミンの何れであってもよい。適切な脱離基 $L^3$ は、アイオダイド(iodide)およびp-トルエンスルホネートを含む。

30

方法(d)および(e)において、反応は当業者に周知の標準的な条件を用いて行われる。

【0034】

上記の方法において、アミンまたはヒドロキシルまたは他の可能性のある反応基を保護することが望ましい、または必要であることが、当業者に明らかである。適切な保護基および該基の付加および除去の方法の詳細は、標準的な教科書である“Protective Groups in Organic Synthesis”, 3rd Edition (1999) by Greene and Wuts を参照することによって分かる。

40

【0035】

1つの望ましい具体的態様において、アミンを、カルバメート誘導体として、例えばt-ブチルオキシカルバメートとして保護する。

保護基の使用の特定の例は、実施例の章に示す。

【0036】

本発明は、塩の、特に酸付加塩の形態の式(I)の化合物を含む。適切な塩は、有機酸および無機酸と形成される塩の両方を含む。該酸付加塩は、通常薬学的に許容されるが、薬学的に許容されない塩は、対象の化合物の製造および精製に有用であり得る。従って、望ましい塩は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、クエン酸、酒石酸、乳酸、ピルビン酸、酢酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、メタンスルホン酸、およびベンゼンスルホン酸

50

から形成される塩を含む。

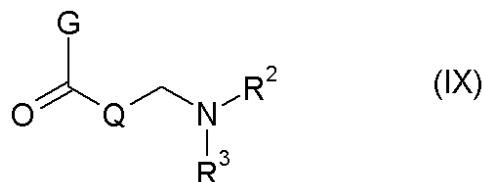
【0037】

式(I)の化合物の塩は、遊離塩基またはその塩、エナンチオマー、もしくはラセミ体を、1当量以上の適切な酸と反応させることによって形成され得る。反応は、塩が不溶の溶媒もしくは媒体または塩が可溶である溶媒(例えば水、ジオキサン、エタノール、テトラヒドロフラン、またはジエチルエーテル)中で、または溶媒の混合物中で行い得、該溶媒は真空でもしくは凍結乾燥によって除去し得る。反応はまた、代謝プロセスであってもよく、またはイオン交換樹脂上で行ってもよい。

【0038】

式(III)の化合物は、式(IX)：

【化11】



10

[式中、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^3$ 、およびQは、式(I)で定義した通りであり；そしてGは、H、Cl、または $\text{NCH}_3$  ( $\text{OCH}_3$ )を表す]の化合物を、

有機金属誘導体： $\text{R}^1\text{M}$

20

[式中、 $\text{R}^1$ は、式(I)で定義した通りであり；そして

Mは、金属性の基、例えばリチウムまたはマグネシウム - ハライドを表す]と反応させ、次に必要であれば還元することによって製造され得る。得られたVが酸素を表す式(III)の化合物は、その後Vが硫黄を表す式(III)の化合物に変換され得る。

【0039】

式(II)、(IV)、(V)、(VI)、(VIII)、および(IX)の化合物は、既知であるか、または当業者に直ちに明らかである慣用の方法によって製造され得るかの何れかである。

中間体化合物は、そのまま、または保護された形態で用いられ得る。保護基およびその除去方法の詳細は、“Protective Groups in Organic Synthesis”, 3rd Edition (1999) by Greene and Wuts の記載に見出され得る。

30

【0040】

本発明の化合物およびその中間体を、その反応混合物から単離し、必要であれば、さらに標準的な方法を用いることによって精製し得る。

【0041】

式Iの化合物は、エナンチオマーの形態で存在し得る。従って、全てのエナンチオマー、ジアステレオマー、ラセミ体、およびその混合物は、本発明の範囲に含まれる。様々な光学異性体は、慣用の方法、例えば分別結晶化またはHPLCを用いて、本化合物のラセミ混合物の分割によって単離され得る。

【0042】

中間体化合物はまた、エナンチオマーの形態で存在し得、精製したエナンチオマー、ジアステレオマー、ラセミ体、または混合物として用いられ得る。

40

【0043】

式(I)の化合物およびその薬学的に許容される塩、エナンチオマー、およびラセミ体は、動物において薬理学的活性を有することから、有用である。特に、本化合物は、一酸化窒素合成酵素の阻害剤として活性である。より特定的には、それらは、誘導型一酸化窒素合成酵素のアイソフォームの阻害剤であり、そしてこのことから、治療において、例えば抗炎症剤として有用であると予測される。それらはまた、神経型一酸化窒素合成酵素のアイソフォームの阻害剤として有用性を有し得る。一般的に、式(I)の化合物およびその薬学的に許容される塩は、内皮型アイソフォーム(eNOS)と比較して、iNOSおよび/またはnNOSの阻害剤に良好な選択性を示すという利点を有する。

50

## 【 0 0 4 4 】

本化合物およびその薬学的に許容される塩を、一酸化窒素合成酵素の合成または過剰合成が寄与する部分のある疾患もしくは状態の処置または予防に使用するために適応する。特に、本化合物を、ヒトを含む哺乳動物において炎症状態の処置に使用するために適応する。

## 【 0 0 4 5 】

特に記載し得る状態は、

骨関節炎、リウマチ性関節炎、リウマチ様脊椎炎、痛風性関節炎、および他の関節炎の状態、炎症を起こした関節；

湿疹、乾癬、皮膚炎、または他の炎症性皮膚状態、例えば日焼け；

10

ブドウ膜炎、緑内障、および結膜炎を含む炎症性眼状態；

炎症が関与している肺疾患、例えば喘息、気管支炎、慢性閉塞性肺疾患、ハト飼育者疾患(pigeon fancier's disease)、農夫肺、急性呼吸窮迫症候群；

菌血症、内毒血症(敗血症ショック)、アフタ性潰瘍、歯肉炎、不全麻痺(pyresis)、疼痛、髄膜炎、および膀胱炎；

炎症性腸疾患を含む胃腸管の状態、クローン病、萎縮性胃炎、変形性胃炎(gastritis variationalis)、潰瘍性大腸炎、セリアック病、限局性回腸炎(regional ileitis)、消化性潰瘍、過敏性腸症候群、逆流性食道炎(reflux oesophagitis)、例えば *Helicobacter pylori* による感染に起因する、または非ステロイド性抗炎症剤での処置に起因する胃腸管の損傷；および

20

炎症に関する他の状態；

である。

## 【 0 0 4 6 】

本化合物はまた、癌の処置に有用であり得る。

本化合物はまた、急性疼痛、または持続性炎症性疼痛、または神経因性疼痛、または中枢起源の疼痛の処置および緩和に有用である。

## 【 0 0 4 7 】

我々は、炎症性腸疾患、リウマチ性関節炎、骨関節炎、慢性閉塞性肺疾患、疼痛、および癌の状態に、特に興味深い。

式(I)の化合物およびその薬学的に許容される塩はまた、さらに上記の疾患もしくは状態の処置もしくは予防に有用であり得る。例えば、本化合物は、アテローム性硬化症、嚢胞性線維症、敗血症ショックおよび/または毒素ショックに関連する低血圧症の処置、臓器移植治療における短期間免疫抑制に対するアジュバントとして免疫系の機能不全の処置に、糖尿病の発症の制御に、糖尿病における膵臓機能の維持に、糖尿病に関連する血管性合併症の処置に、およびサイトカイン(例えばTNFまたはインターロイキン)との併用治療(co-therapy)に有用であり得る。

30

## 【 0 0 4 8 】

式(I)の化合物はまた、例えば心停止や卒中の場合における低酸素症、例えば虚血、低酸素症、低血糖、癲癇などの疾患や 外傷(例えば脊髄損傷や頭部損傷)における 神経変性

および/または 神経壊死を含む神経変性疾患、高圧酸素痙攣および毒、痴呆、例えば初老期痴呆や アルツハイマー病や A I D S 関連痴呆、シドナム舞蹈病、パーキンソン病、トゥレット症候群、ハンチントン舞蹈病、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、筋ジストロフィー、コルサコフ病、大脳血管障害に係る痴呆、睡眠障害、統合失調症、鬱病、疼痛、自閉症、季節性情動障害、時差ぼけ、鬱病、または月経前症候群(PMS)に伴う別の症状、不安、および敗血症ショックの処置に有用であり得る。式(I)の化合物はまた、薬物中毒または薬物抵抗性、例えばアヘン剤やジアゼピンに対する抵抗性の予防や回復、薬物中毒の処置、偏頭痛や他の血管性頭痛、神経因性炎症の処置、胃腸運動障害の処置、および分娩の誘発において、活性を示すと期待され得る。

40

## 【 0 0 4 9 】

我々は、卒中、アルツハイマー病、パーキンソン病、多発性硬化症、統合失調症、偏頭

50

痛、敗血症ショック、および疼痛の状態に、特に関心がある。

【0050】

予防は、問題の疾患もしくは状態の病歴があるヒト、またはそうでなくとも発症のリスクが増大していると考えられるヒトの処置に、特に適切であると期待される。特定の疾患もしくは状態の発症のリスクがあるヒトは、一般的に、その疾患もしくは状態の家族の病歴があるヒト、または特にその疾患もしくは状態にかかりやすいと、遺伝子試験もしくはスクリーニングによって特定されたヒトを含む。

【0051】

上記の治療的適応において、投与される用量は、用いられた化合物、投与方法、および望ましい処置に応じて、当然に変化する。しかし、一般的に、本化合物を、1日当たり1

10

【0052】

式(I)の化合物およびその薬学的に許容される誘導体は、それ自身、または該化合物が薬学的に許容されるアジュバント、希釈剤、もしくは担体と混合した適切な医薬組成物の形態で用いられ得る。投与は、経腸(経口、舌下、もしくは直腸を含む)、鼻腔の、吸入の、静脈の、局所の、もしくは他の非経腸の経路(これらに制限されない)によって行われ得る。適切な医薬組成物の選択および製造の慣用の手順は、例えば "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988 に記載された。医薬組成物は、好ましくは、80%未満の、より好ましくは50%未満の式

20

【0053】

本発明に従って、我々は、さらに、薬学的に許容されるアジュバント、希釈剤、もしくは担体と混合した式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物を提供する。

該成分を混合することを含む医薬組成物の製造方法を提供する。

【0054】

式(I)の化合物およびその薬学的に許容される誘導体はまた、便宜的に、下記：NSAIDS、COX-2阻害剤、アセトアミノフェン、トラマドール、コルチコステロイド、グルコサミン、ドキシサイクリン、プラナルナカサン(Pralnacasan)、MMP阻害剤、またはCO11-3阻害剤の1つとの組み合わせで用いられ得る。式(I)の化合物および併用治療は、1回単位用量で投与するために同じ医薬組成物と一緒に製剤化されるか、またはそれぞれの成分を個別に製剤化し、別個の投与形を同時にもしくは連続して投与するかの何れであってもよい。

30

【0055】

本発明を下記の実施例によって説明するが、これは全く本発明を制限しない。

下記の略号：DMSO(ジメチルスルホキシド)、DMF(N,N-ジメチルホルムアミド)、THF(テトラヒドロフラン)を用いる。

【実施例】

【0056】

40

実施例 1

3 - [[(1S) - 2 - アミノ - 1 - フェニルエチル]チオ] - 5 - メチル - 2 - チオフェンカルボニトリル オキサレート

a) 3 - ブロモ - 5 - メチル - 2 - チオフェンカルボニトリル

水(10 ml)中の3 - ブロモ - 5 - メチル - 2 - チオフェンカルボアルデヒド(500 mg)の懸濁液に、ヒドロキシルアミン - O - スルホン酸(330 mg)を加えた。混合物を50で12時間加熱し、冷却した。次に混合物を酢酸エチル(3 x 50 ml)で抽出した。合わせた有機層を洗浄(塩水)し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)し、濾過し、蒸発させ、副題化合物を褐色の固体として得た(410 mg)。

<sup>1</sup>H NMR 300MHz (CDCl<sub>3</sub>) 6.79 (1H, s), 2.54 (3H, s).

50

## 【 0 0 5 7 】

b) 1, 1 - ジメチルエチル [(2 R) - 2 - ヒドロキシ - 2 - フェニルエチル]カルバメート

(R) - (アミノメチル)ベンゼンメタノール(1.70 g)と、ビス(1, 1 - ジメチルエチル)カーボネート(2.98 g)を、メタノール(20 ml)に溶解し、トリエチルアミン(4.3 ml)を加えた。混合物を室温で4日間攪拌し、次に濃縮し、副題化合物を油状物として得た(2.60 g)。

$^1\text{H}$  NMR 300MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) 7.27-7.38 (5H, m), 4.92 (1H, m), 4.83 (1H, m), 3.50 (1H, m), 3.25 (1H, m), 1.45 (9H, s).

## 【 0 0 5 8 】

c) S - [(1 S) - 2 - [(1, 1 - ジメチルエトキシ)カルボニル]アミノ] - 1 - フェニルエチル]ベンゼンカルボチオエート

THF(100 ml)中のトリフェニルホスフィン(5.75 g)の溶液に、窒素下、0 で、ジイソプロピルアゾジカルボキシレート(4.55 ml)を滴下した。混合物を0 で45分間攪拌し、次にTHF(50 ml)中の、チオ安息香酸(3.05 ml)と、段階(b)の生成物(2.60 g)の溶液を0 で滴下した。添加完了後、混合物を室温で24時間攪拌した。混合物を濃縮し、残渣をクロマトグラフィー(シリカ, 溶出液として10%ジエチルエーテル/イソヘキサン)によって精製し、副題化合物を黄色の固体として得た(3.30 g)。

$^1\text{H}$  NMR 300MHz ( $\text{CDCl}_3$ ) 7.95 (2H, m), 7.56 (1H, m), 7.28-7.44 (7H, m), 4.94 (1H, m), 4.75 (1H, bs), 3.70 (2H, m), 1.38 (9H, s).

## 【 0 0 5 9 】

d) 1, 1 - ジメチルエチル [(2 S) - 2 - [(2 - シアノ - 5 - メチル - 3 - チエニル)チオ] - 2 - フェニルエチル]カルバメート

S - [(1 S) - 2 - [(1, 1 - ジメチルエトキシ)カルボニル]アミノ] - 1 - フェニルエチル]ベンゼンカルボチオエート(210 mg)を、メタノール中 7 M アンモニア(10 ml)に溶解し、窒素下で2時間攪拌した。溶液を蒸発乾固し、残渣を乾燥DMF(10 ml)に溶解した。この溶液に、段階(a)の生成物(120 mg)を加え次に炭酸セシウム(195 mg)を加えた。反応混合物を24時間攪拌し、水に注ぎ、酢酸エチル(3 x 50 ml)で抽出した。合わせた有機層を塩水で洗浄し、乾燥した( $\text{MgSO}_4$ )。溶媒を蒸発させて除き、残渣をクロマトグラフィー(シリカ, 溶出液として20%酢酸エチル/イソヘキサン)によって精製し、副題化合物を油状物として得た(65 mg)。

MS (APCI+ve) m/z 275 [ $\text{M}+\text{H}-\text{BOC}$ ] $^+$ .

## 【 0 0 6 0 】

e) 3 - [(1 S) - 2 - アミノ - 1 - フェニルエチル]チオ] - 5 - メチル - 2 - チオフェンカルボニトリル オキサレート

メタノール(5 ml)中の段階(d)の生成物(65 mg)の溶液に、4 MのHClのジオキサン溶液(5 ml)を加えた。混合物を20 で2時間攪拌し、溶媒を真空で除去した。残渣を重炭酸ナトリウム水溶液と酢酸エチルの層間に分配した。水相を酢酸エチル(2 x 50 ml)で抽出し、合わせた抽出物を塩水で洗浄し、乾燥し( $\text{MgSO}_4$ )、濾過し、真空で濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、ジエチルエーテル中のシュウ酸の溶液を加えた。溶液を濾過し、乾燥し、表題化合物を白色の固体として得た(11 mg)。

MS (APCI+ve) m/z 275 [ $\text{M}(\text{H})$ ] $^+$ .

$^1\text{H}$  NMR 400MHz ( $\text{DMSO}-d_6$ ) 7.38 (5H, m), 7.19 (1H, s), 4.74 (1H, m), 3.48 (1H, m), 3.28 (1H, m), 2.50 (3H, s).

## 【 0 0 6 1 】

スクリーン

本発明による化合物の薬理学的活性を、下記のスクリーンで試験した。

スクリーン 1

式(I)の化合物、またはその薬学的に許容される塩、エナンチオマー、もしくはラセミ体の活性を、一酸化窒素合成酵素阻害活性において、Foerstermann et al., Eur. J. P 50

harm., 1992, 225, 161-165 の手順に基づく手順によって、スクリーニングし得る。一酸化窒素合成酵素は、 $^3\text{H}$ -L-アルギニンを $^3\text{H}$ -L-シトルリンに変える。 $^3\text{H}$ -L-シトルリンは、カチオン交換クロマトグラフィーによって分離して液体シンチレーション計数によって定量化し得る。

#### 【0062】

誘発後に、酵素を、培養されたマウスのマクロファージ細胞株 J774A-1 (Imperial Cancer Research Fund の研究所から得た)から製造した。J774A-1 細胞を、10% ウシ胎児血清、4 mM L-グルタミン、および抗生物質(100単位/ml ペニシリン G、100 mg/ml ストレプトマイシン、および0.25 mg/ml アンホテリシン B)を加えたダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)中で培養する。細胞を35 mlの培地を含む225 cm<sup>3</sup> フラスコ中で、37℃で、5% CO<sub>2</sub>を含む加湿雰囲気下で普通に成長させる。

#### 【0063】

一酸化窒素合成酵素は、インターフェロン-g (IFN $\gamma$ )およびリポポリサッカライド (LPS)に対する応答で、細胞によって産生される。コンフルエントな培養フラスコの培地を除き、1 mg/mlのLPSと10単位/mlのIFN $\gamma$ を含む25 ml(フラスコ当たり)の新しい培地に置き換える。培養17~20時間後、培養培地のフラスコ表面から細胞のシートをかき取ることによって、細胞の収穫を行う。細胞を遠心分離(1000 G, 10分間)によって集め、50 mMのTris-HCl(pH 7.5, 20℃)、10%(v/v)のグリセロール、0.1%(v/v) Triton-X-100、0.1 mMのジチオトレイトール、およびロイペプチン(2 mg/ml)、大豆トリプシン阻害剤(10 mg/ml)、アプロチニン(5 mg/ml)、およびフッ化フェニルメチルスルホニル(50 mg/ml)を含むプロテアーゼ阻害剤のカクテルを含む溶液を、細胞のペレットに加えることによってライセートを製造した。

#### 【0064】

アッセイのために、25  $\mu$ lの基質カクテル(50 mMのTris-HCl(pH 7.5, 20℃)、400  $\mu$ MのNADPH、20  $\mu$ Mのフラビン アデニン ジヌクレオチド、20  $\mu$ Mのフラビン モノヌクレオチド、4  $\mu$ Mのテトラヒドロピオプテリン、12  $\mu$ MのL-アルギニン、および0.025 mCi L-[ $^3\text{H}$ ]アルギニン)を、25  $\mu$ lの50 mMのTris-HCl中の試験化合物の溶液を含む96ウェル フィルター プレート(孔のサイズ: 0.45  $\mu$ M)に加える。反応は、50  $\mu$ lの細胞ライセート(上記で製造)を添加することによって始め、1時間室温でインキュベートした後、3 mM ニトロアルギニンと21 mMのEDTAの水溶液50  $\mu$ lを添加することによって終わらせた。

#### 【0065】

ラベルされたL-シトルリンを、ラベルされたL-アルギニンから、Dowex AG-50W を用いて分離した。150  $\mu$ lの25% Dowex 50W (Na<sup>+</sup>型)の水性のスラリーをアッセイに加え、その後全体を96ウェルプレートでろ過した。75  $\mu$ lのろ液をサンプリングし、固形シンチラント(scintillant)を含む96ウェルプレートのウェルに加えた。試料を乾燥させた後、L-シトルリンをシンチレーション計数によって定量した。

#### 【0066】

典型的な実験において、基礎活性(basal activity)は、試料75  $\mu$ l当たり300 dpmであり、試薬コントロールでは1900 dpmに増大する。化合物の活性は、IC<sub>50</sub> (アッセイ中50%酵素阻害を示す薬物の濃度)として表し、アミノグアニジン[IC<sub>50</sub> (50%阻害濃度)が10  $\mu$ M]は、手順を確かめるための標準として試験された。化合物は、濃度の範囲で試験され、IC<sub>50</sub>値を得る阻害から計算される。100  $\mu$ Mで少なくとも25%まで酵素を阻害する化合物は、活性があるとして分類され、少なくとも1回再試験にかけられる。

#### 【0067】

上記のスクリーンにおいて、実施例1の化合物を試験し、10  $\mu$ M未満のIC<sub>50</sub>値を得た。このことは、これらが有用な治療活性を示すことが期待されることを示している。

#### 【0068】

#### スクリーン2



リコンビナントのヒトのNO合成酵素(iNOS、eNOS、およびnNOS)を、E. coli 中で発現し、補因子(FAD、FMN、H<sub>4</sub>B)、プロテアーゼ阻害剤、リゾチウム、および界面活性剤 CHAPS を含む、Hepes 緩衝液(pH 7.4)中でライセートを製造した。これらの調製物を、適切な希釈で、様々なアイソフォーム(isoform)の阻害を評価するために用いた。Foerstermann et al.<sup>9</sup>の方法の適応を用いて、NOSの阻害を、L-[<sup>3</sup>H]-アルギニンからのL-[<sup>3</sup>H]-シトルリンの形成を測定することによって決定した。酵素アッセイを、3 μMの[<sup>3</sup>H]-アルギニン、1 mMのNADPH、およびNOS活性を維持するのに必要な他の補因子(FAD、FMN、H<sub>4</sub>B、カルモジュリン、Ca<sup>2+</sup>)の存在下で行った。様々なNOS阻害剤がゆっくりとした結合速度を示すか、または時間依存で酵素を不活性化することが報告されていることから、酵素と阻害剤を、アルギニンを添加して反応を始める前に、NADPHの存在下で、60分間プレインキュベートした。アッセイをクエンチする前に、インキュベーションをさらに60分間続け、96-ウェル形式でのDowex-50W樹脂でのクロマトグラフィーによって、[<sup>3</sup>H]-シトルリンを未反応の基質から分離した。

10

#### 【0069】

上記のスクリーンで、実施例1の化合物を試験し、iNOS酵素に対して10 μM未満のIC<sub>50</sub>値を得た。このことは、これらが有用な治療活性を示すことが期待されることを示している。

#### 【0070】

#### スクリーン3

20

化合物はまた、下記のアッセイで示されるように、ヒト型の誘導型一酸化窒素合成酵素に対して活性を示す。

ヒトの結腸直腸癌細胞株DLD-1(European Collection of Animal Cell Culture - cell line number 90102540 から得られる)を、10%(v/v)ウシ胎児血清と、2 mMのL-グルタミンを加えたRPMI 1640中で、37℃で、5% CO<sub>2</sub>中で、決まった方法で成長させた。

#### 【0071】

一酸化窒素合成酵素を、ヒトのリコンビナント - IFN(1000単位/ml)、TNF-α(200 U/ml)、IL-6(200 U/ml)、およびIL-1β(250 U/ml)を含む培地の添加によって、細胞中で誘発した。37℃で18時間インキュベートした後、培地を除去し、細胞を温リン酸緩衝生理食塩水で洗浄した。試験化合物の存在下および非存在下で、100 μMのL-アルギニンと100 μMのペラパミル-HClを含むRPMI 1640中で、37℃/5% CO<sub>2</sub>で、さらに5時間細胞をインキュベートした。

30

#### 【0072】

亜硝酸塩の蓄積を、Griess 試薬(1 mlの2.5%(v/v)リン酸中の10 mg/mlのスルファニルアミド、1 mgのN-(1-ナフチル)エチレンジアミン)を伴う培養培地を等体積混合することによって決定した。化合物の存在下での阻害を、未処理の細胞によって生産される亜硝酸塩のレベルに関して計算した。IC<sub>50</sub>値を、化合物の濃度に対する%阻害の片対数プロットから見積もった。

#### 【0073】

このスクリーンにおいて、実施例1の化合物は、100 μM未満のIC<sub>50</sub>値を与えた。このことは、これらが有用な治療活性を示すことが予期されることを示している。

40

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/SE 03/01214
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
IPC7: C07D 333/34, A61K 31/381, A61P 29/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC7: C07D, A61K, A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
SE,DK,FI,NO classes as above		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
CHEM ABS DATA		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0373836 A1 (ELI LILLY AND COMPANY), 20 June 1990 (20.06.90) --	1-17
A	WO 0162713 A1 (ASTRAZENECA AB), 30 August 2001 (30.08.01) --	1-17
A	WO 0162704 A1 (ASTRAZENECA AB), 30 August 2001 (30.08.01) -- -----	1-17
<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 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "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) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "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 "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 "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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search <b>22 October 2003</b>		Date of mailing of the international search report <b>24-10-2003</b>
Name and mailing address of the ISA/ Swedish Patent Office Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. +46 8 666 02 86		Authorized officer <b>NEBIL GECER/BS</b> Telephone No. +46 8 782 25 00

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

06/09/03

International application No.

PCT/SE 03/01214

Patent document cited in search report			Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP	0373836	A1	20/06/90	SE	0373836 T3	
				AT	102920 T	15/04/94
				CA	2005173 A	14/06/90
				DE	68913930 D,T	14/07/94
				JP	2218661 A	31/08/90
				US	4902710 A	20/02/90
WO	0162713	A1	30/08/01	AU	1043401 A	08/05/01
				AU	3431301 A	03/09/01
				CA	2387087 A	03/05/01
				EP	1242914 A	25/09/02
				EP	1263714 A	11/12/02
				GB	0004149 D	00/00/00
				JP	2003513365 T	08/04/03
				JP	2003523992 T	12/08/03
				US	2003105161 A	05/06/03
WO	0162704	A1	30/08/01	AU	1043501 A	08/05/01
				AU	3431501 A	03/09/01
				BR	0108613 A	12/11/02
				CA	2387643 A	03/05/01
				CA	2397234 A	30/08/01
				CN	1411435 T	16/04/03
				EP	1229860 A	14/08/02
				EP	1263711 A	11/12/02
				GB	0004153 D	00/00/00
				JP	2003512130 T	02/04/03
				JP	2003523988 T	12/08/03
				NO	20024014 A	25/09/02
				US	2003158185 A	21/08/03

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/SE03/01214

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **15-16**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
**see next sheet**
2. ☒ Claims Nos.: **1-3 and 5-17**  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
**see next sheet**
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

## Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/SE03/01214

## Box I.1

Claims 15-16 relate to methods of treatment of the human or animal body by surgery or by therapy/diagnostic methods practised on the human or animal body/Rule. 39.1.(iv)). Nevertheless, a search has been executed for these claims. The search has been based on the alleged effects of the compounds/compositions.

## Box I:2

Present claims 1-3 and 5-17 relate to an extremely large number of possible compounds. Disclosure within the meaning of Articles 5 and 6 PCT is to be found, however, for only a very small proportion of the compounds. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible.

Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be supported and disclosed, namely those parts related to the exemplified compounds and closely related homologous compounds, i.e. those compounds of formula (I) wherein U = sulphur and T, W, M = carbon.

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 9/02	A 6 1 P 9/02	
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 11/00	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 11/06	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 15/04	A 6 1 P 15/04	
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/02	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 19/02	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 19/06	A 6 1 P 19/06	
A 6 1 P 21/00	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 21/04	A 6 1 P 21/04	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/04	A 6 1 P 25/04	
A 6 1 P 25/08	A 6 1 P 25/08	
A 6 1 P 25/14	A 6 1 P 25/14	
A 6 1 P 25/16	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 25/18	A 6 1 P 25/18	
A 6 1 P 25/20	A 6 1 P 25/20	
A 6 1 P 25/22	A 6 1 P 25/22	
A 6 1 P 25/24	A 6 1 P 25/24	
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/30	A 6 1 P 25/30	
A 6 1 P 25/36	A 6 1 P 25/36	
A 6 1 P 27/02	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 27/06	A 6 1 P 27/06	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 29/02	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 29/02	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 37/02	
// C 0 7 M 7:00	A 6 1 P 43/00	1 1 1
	C 0 7 M 7:00	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,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,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA, GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ, EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,M W,MX,MZ,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA ,ZM,ZW

(72)発明者 アントニオ・メテ

英国エルイー 1 1 ・ 5 アールエイチ、レスターシャー、ラフバラ、ベイクウェル・ロード、アスト  
ラゼネカ・アール・アンド・ディ・チャーンウッド

