

(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2016-504348
(P2016-504348A)

(43) 公表日 平成28年2月12日(2016.2.12)

(51) Int.Cl.	F 1	C 0 7 D 413/14 A 6 1 P 7/02 A 6 1 K 31/5377 A 6 1 P 9/10	C 0 7 D 413/14 A 6 1 P 7/02 A 6 1 K 31/5377 A 6 1 P 9/10	テーマコード (参考) 4 C 0 6 3 4 C 0 8 6
C07D 413/14	(2006.01)			
A61P 7/02	(2006.01)			
A61K 31/5377	(2006.01)			
A61P 9/10	(2006.01)			

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁)

(21) 出願番号	特願2015-550211 (P2015-550211)	(71) 出願人	515069808 ワンブリー リミテッド インド国、マハーラーシュトラ州、400 703、ナビムンバイ バシ、レイルウェ イ ステイション バシ、ビーエスイーエ ル テックパーク、ビーウイング、10階 セクター 30エー、オーピーピー
(86) (22) 出願日	平成25年12月24日 (2013.12.24)	(74) 代理人	100120145 弁理士 田坂 一朗
(85) 翻訳文提出日	平成27年6月23日 (2015.6.23)	(74) 代理人	100151688 弁理士 今 智司
(86) 國際出願番号	PCT/IN2013/000801		
(87) 國際公開番号	W02014/102822		
(87) 國際公開日	平成26年7月3日 (2014.7.3)		
(31) 優先権主張番号	3359/MUM/2012		
(32) 優先日	平成24年12月26日 (2012.12.26)		
(33) 優先権主張国	インド (IN)		

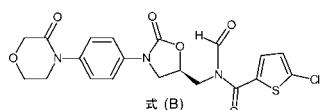
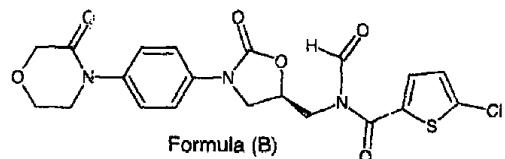
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】置換オキサゾリジノンのアルデヒド誘導体

(57) 【要約】

【課題】本願発明は、5-クロロ-N-[(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソ-モルフォリン-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、すなわち、リバロキサバンのプロドラッグ、その調整プロセス、及び疾患、特に血栓塞栓症の治療及び予防における適用に関する。前記式(B)化合物であるプロドラッグは、化学的に5-クロロ-N-ホルミル-N-[(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルフォリン-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-カルボキサミドとして表わされる。

【化1】

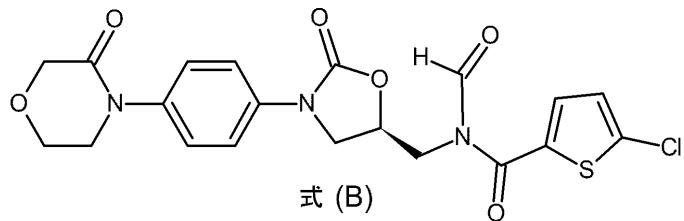


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (B) の化合物。

【化 1】



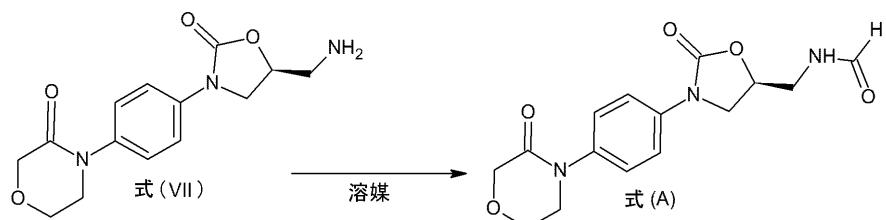
10

【請求項2】

請求項 1 に記載の式 (B) 化合物の調製方法であって、

a) 式 (VII) 化合物を、適當な 1 又は複数の溶媒中で有機酸と処理をして、新規な式 (A) 中間体である $N - \{ (5S) - 2 - \text{オキソ} - 3 - [4 - (3 - \text{オキソモルフィン} - 4 - \text{イル}) \text{フェニル}] - 1, 3 - \text{オキサゾリジン} - 5 - \text{イル} \} \text{メチル} \text{ ホルムアミド}$ を得ること、及び

【化 2】

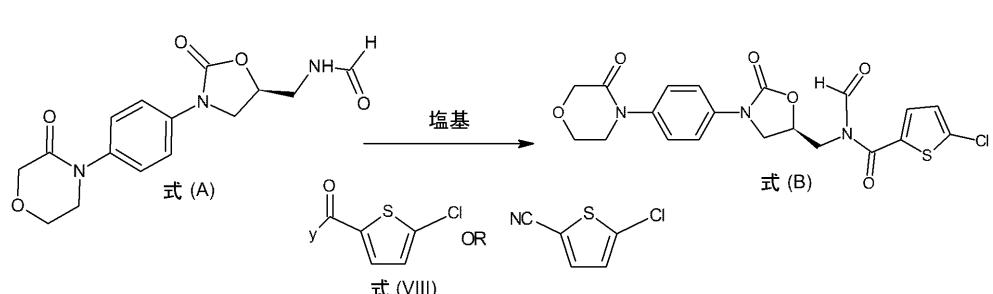


20

b) 式 (A) 化合物を、塩化メチレン、アセトン、トルエン及びエーテルからなる群から選択される適当な溶媒中又はそれらの混合物中で、塩基の存在下、式 (VII) 化合物又は 5-クロロチオフェン-2-カルボニトリルと処理して、式 (B) 化合物を得ること

1

を含み、



30

ここで、Yが、スルフォニルオキシ、イミダゾール、トリアゾール、テトラゾール、アルコキシ、置換アルコキシ、トリハロメトキシ、N-ヒドロキシコハク酸アミド、ヒドロキシ、エステル、一級アミン、二級アミン、p-ニトロフェノール、N-ヒドロキシフタルイミド、N-ヒドロキシベンゾトリアゾール、塩素、フッ素、臭素及びヨウ素である、方法。

【請求項 3】

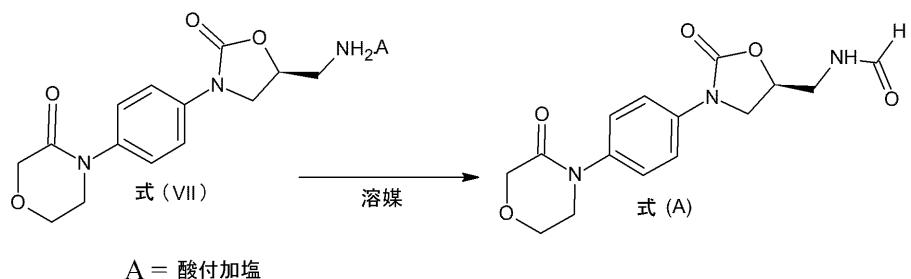
請求項 1 に記載の式 (B) 化合物の調製方法であって、

a) 式 (VIII) 化合物の酸付加塩を、適当な 1 又は複数の溶媒中に塩基と処理して、式

50

(VII) 化合物を得、これをさらに適当な 1 又は複数の溶媒中に有機酸と処理して、式 (A) の新規な中間体である N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルフォリン - 4 - イル) フェニル] - 1 , 3 - オキサゾリジン - 5 - イル } メチル) ホルムアミドを得ること、及び

【化 4】

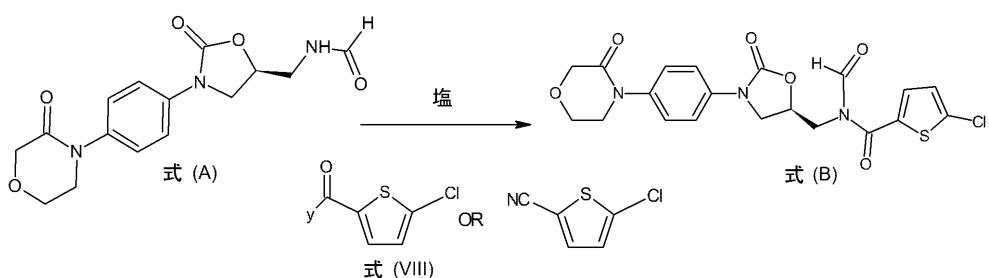


ここで、A は酸付加塩であり、

b) 式 (A) 化合物を、塩化メチレン、アセトン、トルエン及びエーテルからなる群から選択される適当な溶媒中又はそれらの混合物中で塩基の存在下、式 (VII) 化合物又は 5 - クロロチオフェン - 2 - カルボニトリルと処理して、式 (B) 化合物を得ること、を含み、

【化 5】

20



ここで、Y が、スルフォニルオキシ、イミダゾール、トリアゾール、テトラゾール、アルコキシ、置換アルコキシ、トリハロメトキシ、N - ヒドロキシコハク酸アミド、ヒドロキシ、エステル類、一級アミン、二級アミン、p - ニトロフェノール、N - ヒドロキシフルアミド、N - ヒドロキシベンゾトリアゾール、塩素、フッ素、臭素及びヨウ素である、方法。

30

【請求項 4】

前記有機酸が、ギ酸、シュウ酸及びコハク酸から選択される 1 又は複数のカルボン酸である、請求項 2 又は 3 に記載の式 (B) 化合物。

【請求項 5】

洗浄、沈殿、濾過、乾燥及び蒸留の操作の 1 又は複数の操作の組み合わせにより精製される、請求項 2 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の式 (B) 化合物。

40

【請求項 6】

適当な薬学的に許容可能な添加剤と組み合わせる、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の式 (B) 化合物を含む医薬組成物。

【請求項 7】

ヒト又は動物における血栓塞栓症の治療又は予防のための医薬に含まれる、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の式 (B) 化合物。

【請求項 8】

抗凝固剤として用いられる、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の式 (B) 化合物。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

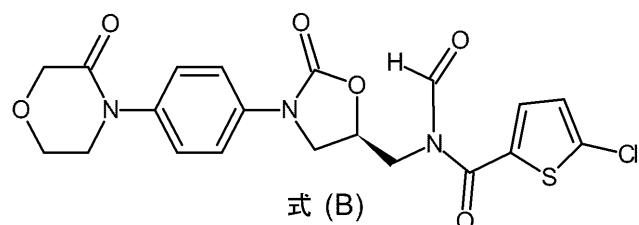
【0001】

本願発明は、主に置換オキサゾリジノンのアルデヒド誘導体に関し、特に5-クロロ-N-[(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルフォリン-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-カルボキサミドのプロドラッグ、及び当該プロドラッグの調製方法に関する。式(B)のプロドラッグは、5-クロロ-N-ホルミル-N-[(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルフォリン-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、若しくはその薬学的に許容可能な塩、溶媒和物形態、又は水和物形態として表わされる。さらに本願発明は、肺血栓及び深部静脈血栓、特に血栓塞栓症のような疾患の治療及び予防におけるプロドラッグの使用に関する。

10

【0002】

【化1】



20

【背景技術】

【0003】

多くの医薬が、その潜在的な活性成分と比較して改善された生物学的利用性（例えば、物理化学的プロファイル、特に溶解性、積極的又は消極的吸収特性、若しくは組織特異的分布の改善による）を示すプロドラッグとして投与される。効果の至適プロファイルを達成するためには、所望の放出機序と同様に前記プロドラッグ残基のデザインが、その個々の活性成分、その効能、その作用部位、及びその投与経路に非常に正確に適合することが必要である。その主な部分(moiety)が溶解性、安定性、及び経口の生物学的利用性の関係を高めるとき、そのプロドラッグの重要性はより大きくなる。

30

【0004】

リバロキサバン(Rivaroxaban)は、様々な塞栓血栓症、特に、肺血栓、深部静脈血栓、心筋梗塞、狭心症、血管形成術又は大動脈冠動脈バイパス術後の再閉塞及び再狭窄、脳卒中、一過性虚血発作、並びに末梢動脈閉塞性疾患の予防及び治療に用いられる、経口で有効なXaファクター(FXa)の直接阻害薬剤である。

30

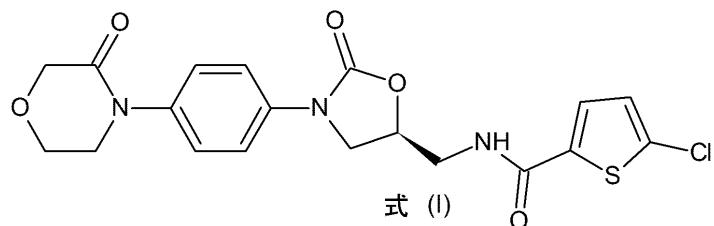
【0005】

リバロキサバン、すなわち、5-クロロ-N-[(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルフォリン-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-カルボキサミドは、CAS番号366789-02-8、分子式C₁₉H₁₈C₁N₃O₅S、及び次の構造を有する。

40

【0006】

【化2】



10

【0007】

リバロキサバンは、様々な血栓塞栓疾患の予防及び治療に有効であるが、しばしば用量及び関連する生物学的利用性の問題を生じる。

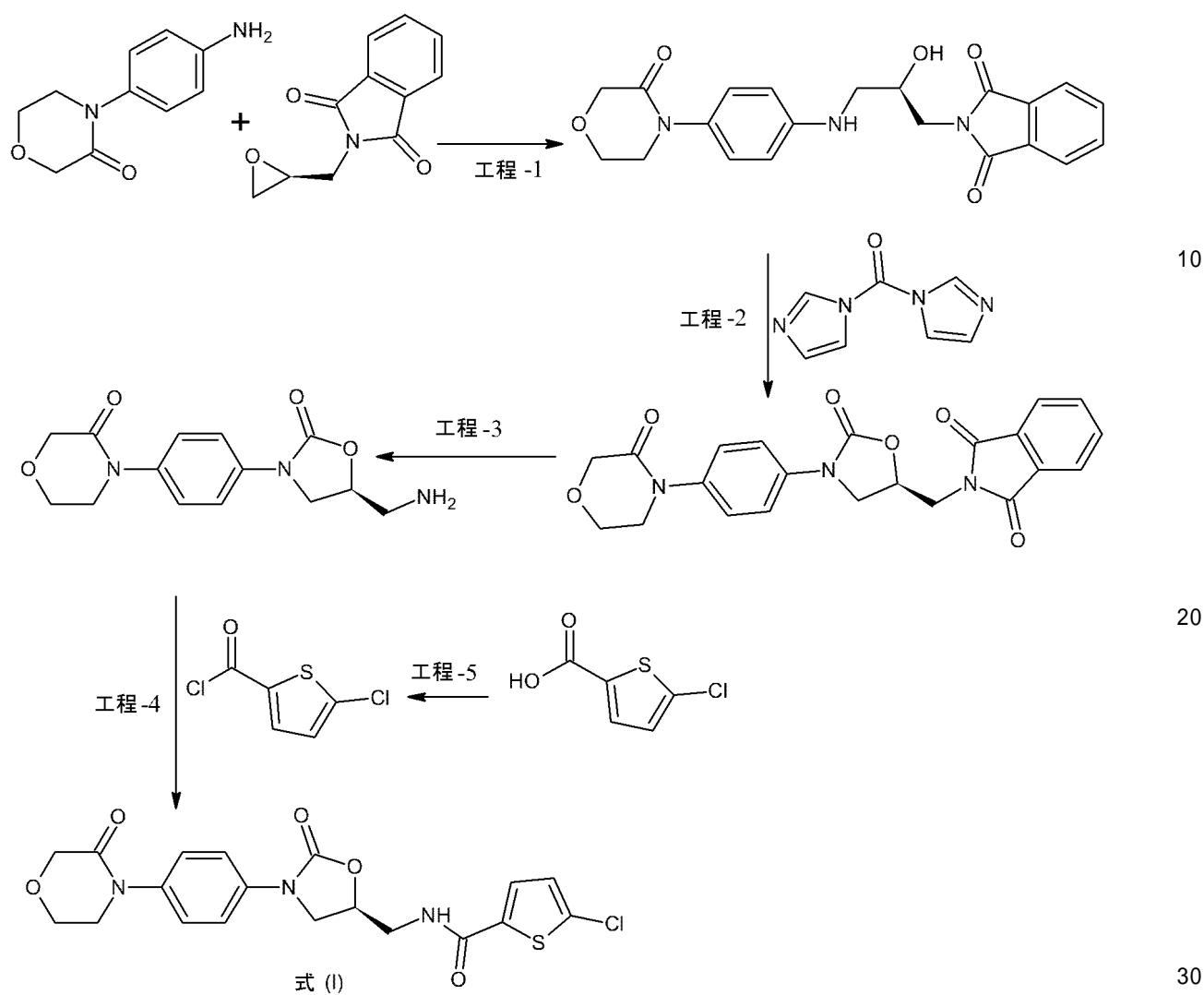
WO 01/47919出願は、様々な血栓塞栓疾患の予防及び治療のための適用を有するリバロキサバンを開示した。さらに、この特許は、式(I)のリバロキサバンの調製方法について記載している。ここで、4-(4-アミノフェニル)モルフォリン-3-オンを、溶媒の存在下で2-[(2S)-オキシラン-2-イルメチル]-1H-イソインドール-1,3(2H)-ジオンと反応させて、2-[(2R)-2-ヒドロキシ-3-{[4-(3-オキソモルフォリン-4-イル)フェニル]アミノ}プロピル]-1H-イソインドール-1,3(2H)-ジオンを得た。これを、さらに、ホスゲン等価物により2-{(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルフォリン-4-イル)フェニル]-1,3(2H)-ジオンに変換した。フタルアミド(phthalamide)基を脱離して、4-[(5S)-5-(アミノメチル)-2-オキソ-1,3-オキサゾリジン-5-イル]フェニルモルフォリン-3-オンを得、最後にこれを塩化5-クロロチオフェン-2-カルボニルと縮合して、5-クロロ-N-{(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルフォリン-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、すなわち、スキーム-Iにおいて式(I)で示されるリバロキサバンを得た。

20

30

【0008】

【化 3】



スキーム - I

【 0 0 0 9 】

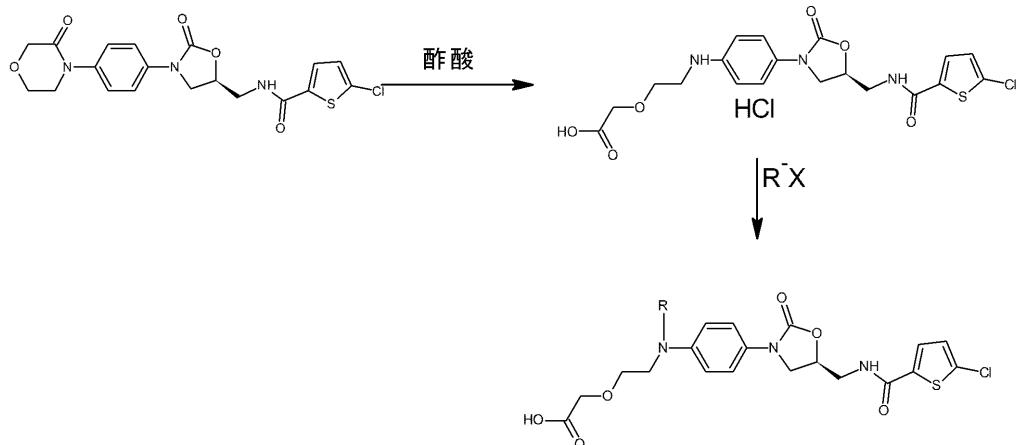
上記開示のプロセスは、長い反応期間、過剰モルの反応物及び試薬、メタノール及び塩化メチレンのような安全でない溶媒の使用を含む。さらに、表題化合物は、商業スケールで容易ではないカラムクロマトグラフィーにより単離される。

【 0 0 1 0 】

米国特許第7,932,278号公報は、下記合成スキームによる化合物リバロキサバンの調製を開示する。

【 0 0 1 1 】

【化4】



【0012】

本願発明に記載の化合物は、ヒト及び動物における疾患の治療及び／又は予防のための医薬としての使用に好適である。

【0013】

WO 2009 / 023233 は、置換オキサゾリジノン誘導体及びその薬学的に許容可能な塩である化合物を開示する。特に、本願発明は、リバロキサバンの誘導体である新規なオキサゾリジノン化合物に関する。また、本願発明は、本願発明の1又は複数の化合物及び担体を含む発熱物質フリーな組成物、並びに疾患の治療法における開示化合物及び組成物の使用、及びリバロキサバンのようなXa因子の選択的な阻害剤を投与することにより有益に治療される条件を提供する。

20

【0014】

本願発明は、リバロキサバンのプロドラッグに関する。本願発明に記載の化合物は、特に抗凝固剤として作用する、血液凝固Xa因子(blood coagulation factor Xa)の選択的な阻害剤である。この阻害剤は、特に、好ましい物理化学的特徴をもち、例えば、血栓塞栓症の治療、Xa因子の阻害剤及び／又は血栓塞栓性合併症、の治療上の適用において有利である。

30

【発明の概要】

【0015】

主要な側面において、本願発明は、化学的に5-クロロ-N-ホルミル-N-(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルフォリン-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-カルボキサミドとしてデザインされる、式(B)の化合物を開示する。

【0016】

もう一つの側面において、本願発明は、血栓塞栓症のような疾患の予防及び／又は治療、Xa因子の阻害剤、及び／又は血栓塞栓性の合併症のための、式(B)の化合物の使用について開示する。前記「血栓塞栓症」は、本願発明の文脈において、ST上昇を有する心筋梗塞(STEMI)、ST上昇を有さない心筋梗塞(非STEMI)、安定狭心症、不安定狭心症、血管形成術又は冠状動脈バイパス術のような冠動脈の処置に続く再閉塞及び再狭窄、末梢動脈閉塞疾患、肺栓塞、深部静脈血栓及び腎静脈血栓、一過性虚血発作、並びに血栓性及び血栓塞栓性の発作のような疾患を含む。

40

【0017】

さらにもう一つの側面において、本願発明は、例えば、心房細動のような急性、一時的、又は持続性の心臓不整脈を有する患者及び電気的除細動(cardioversion)を発症する患者、また、心臓弁の疾患又は人工心臓弁をもつ患者における、例えば、脳の虚血及び発作並びに全身の血栓塞栓症及び虚血のような、心原性の血栓塞栓症の予防及び治療のための化合物(B)の使用について開示する。

50

〔 0 0 1 8 〕

本願発明のもう1つの側面は、実質的に不純物を含まない式(B)化合物の調製プロセスを提供することである。

【 0 0 1 9 】

さらに、本願発明のもう1つの側面は、結晶形態の又はアモルファス形態の式(B)化合物を提供することである。

[0 0 2 0]

さらに、もう1つの側面において、本願発明は、式(B)化合物の薬学的に許容される塩、水和物形態、又は溶媒和物形態の式(B)の化合物を開示する。

【発明を実施するための形態】

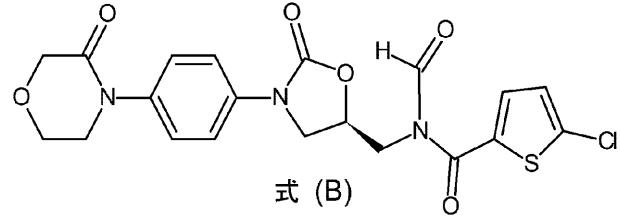
【 0 0 2 1 】

その主な熊

N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルフォリン - 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 - カルボキサミドとして化学的にデザインされる、式 (B) 化合物を含む。

【 0 0 2 2 】

【化 5】

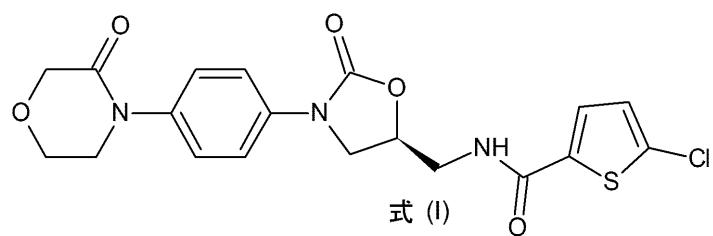


【 0 0 2 3 】

または、次の構造を有する、5-クロロ-N-[{ (5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルフォリン-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-カルボキサミドとして化学的にデザインされる式(I)化合物のプロドラッグとして働くその薬学的に許容される塩、溶媒和形態、又は水和物形態を含む。

【 0 0 2 4 】

【化 6 】



【 0 0 2 5 】

用語「プロドラッグ」は、薬学的に活性又は不活性であり得る化合物を含むが、経口摂取されて、生体により酵素的に又は加水分解的に、その活性化合物に変換される。本願発明は、これらの関連事項に関する。インビトロ (in vitro) 又はインビボ (in vivo) の動物における研究で開示される、式 (B) 化合物は、実施例で明示的に示されるように、優れた溶解性と安定性を示し、それゆえに臨床試験の契機になる。

〔 0 0 2 6 〕

式 (B) の本願化合物は、立体異性体 (エナンチオマー、ジアステレオマー) の形態で存在する。したがって、本願発明は、そのエナンチオマー又はジアステレオマー、及びそ

10

20

30

40

50

これらのそれぞれの混合物を含む。そのようなエナンチオマー及び／又はジアステレオマーの混合物から、既知の様式で立体異性的に統一された形態を単離することができる。本願発明に記載の化合物が互変異生体の形態で存在できるならば、本願発明は全ての互変異生体の形態を含む。

【0027】

本願発明において、本願発明化合物（式（B）化合物）の溶解性、安定性、及び放出挙動に関する詳細な研究が実施された。さらに、式（B）化合物について、インビトロ及びインビボの研究が、例えば、インビトロ肝臓ミクロソーム安定性アッセイ、ラット、マウス及びヒト血漿におけるインビトロ安定性、CYP阻害アッセイ、ウイスター系ラットにおける静脈内投与及び経口投与における血漿タンパク結合、静脈内投与用の懸濁液及び経口投与用の溶液、抗凝固活性及び抗血栓活性のように、選択的活性を確立するために実施された。これらの研究は、実施例の項／実施例（B）において、ベストモードにより十分に具体化され、説明されている。

10

【0028】

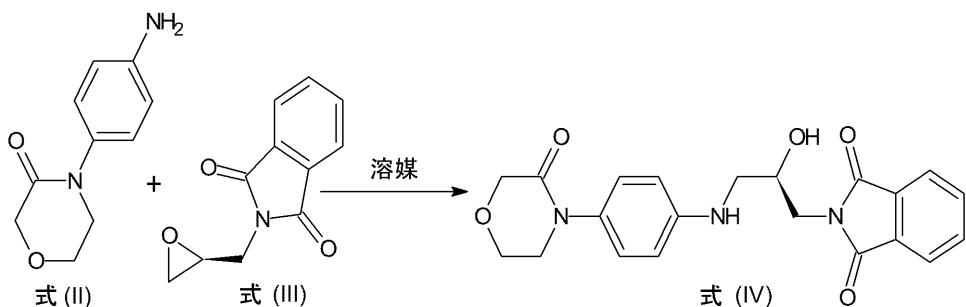
1つの重要な態様において、本願発明は、下記を含む、式（B）化合物の調製のためのプロセスを提供する。

a) 式（II）の4-（4-アミノフェニル）モルフォリン-3-オンを、式（III）の2-[(2S)-オキシラン-2-イルメチル]-1H-イソインドール-1,3(2H)-ジオンと、適当な溶媒中で反応し、式（IV）の2-[(2R)-2-ヒドロキシ-3-{[4-(3-オキソモルフォリン-4-イル)フェニル]アミノ}プロピル]-1H-イソインドール-1,3(2H)-ジオンを得ること。

20

【0029】

【化7】



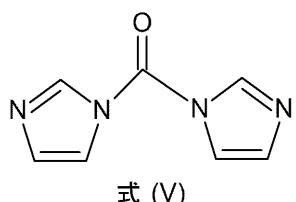
30

【0030】

b) 式（IV）の化合物を、式（V）のジ-1H-イミダゾール-1-イルメタノンと反応させることにより、式（VI）の化合物を調製すること。

【0031】

【化8】



40

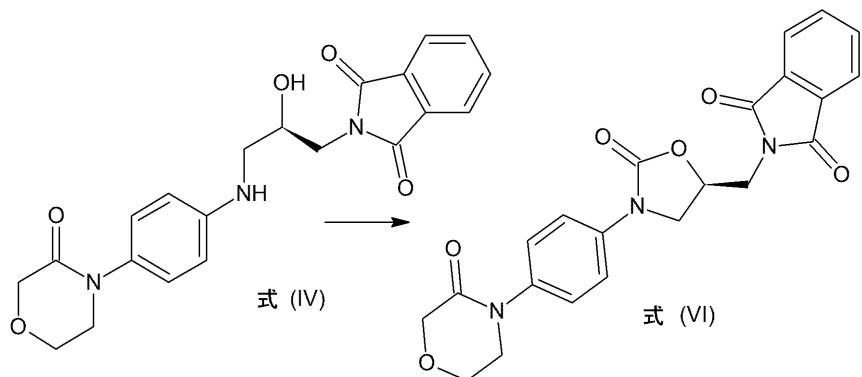
【0032】

選択的に、適当な溶媒中で、式（IV）の化合物を塩基の存在下、式（VI）の化合物に変換すること。

【0033】

50

【化9】



10

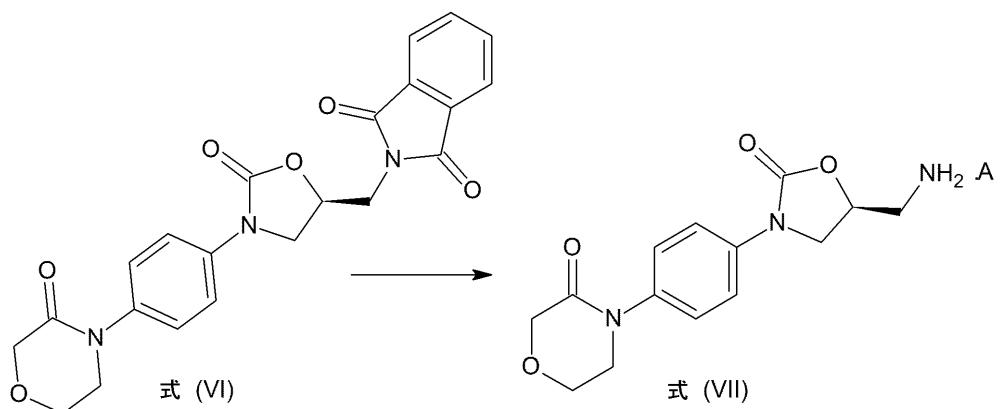
【0034】

c) 適当な溶媒中で適当な脱保護剤及び酸を用いて、式(VI)の化合物からフタルアミド基を脱離して、式(VII)の4-{(4-[(5S)-5-(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)モルフォリン-3-オンの酸付加塩を得ること。

【0035】

【化10】

20



30

【0036】

Aが酸付加塩の場合、選択的に、式(VII)の化合物は遊離塩基として単離することもできる。式(VII)の化合物の合成は、酸付加塩としても遊離塩基としても既知であり、したがってクレームされていない。式(VII)の化合物は如何なる既知の方法によっても調整することができる。

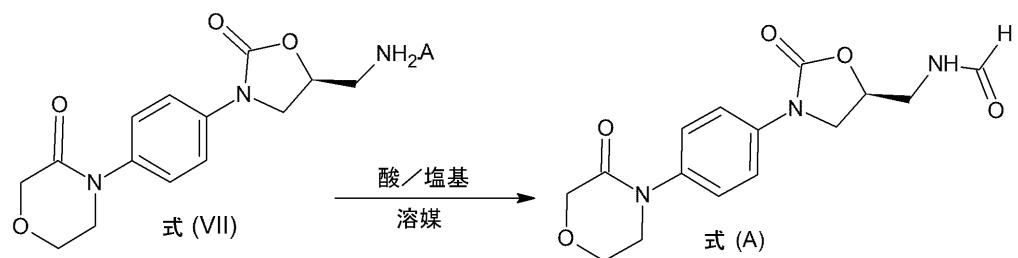
【0037】

40

d) 酸付加塩の式(VII)の化合物は、塩基存在下に酸と反応させて、式(A)の新規中間体であるN-((5S)-2-オキソ-3-[(4-(3-オキソモルフォリン-4-イル)フェニル)-1,3-オキサゾリジン-5-イル]メチル)ホルムアミドを得る。

【0038】

【化11】



10

【0039】

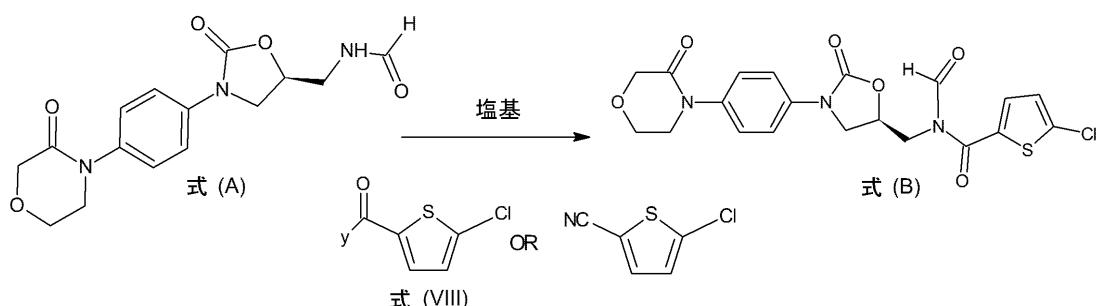
選択的に、式 (VII) の化合物が遊離塩基の場合、酸と直接反応して、式 (A) の新規中間体である $N - \{ (5S) - 2 - \text{オキソ} - 3 - [4 - (3 - \text{オキソモルフォリン} - 4 - \text{イル}) \text{フェニル}] - 1, 3 - \text{オキサゾリジン} - 5 - \text{イル} \} \text{メチル} \text{ ホルムアミド}$ を与える。

【0040】

e) 式 (VII) の化合物を、適当な溶媒及び塩基中で、任意に触媒及び／又は活性化剤の存在下、式 (VII) 又は 5 - クロロチオフェン - 2 - カルボニトリルと反応させて、式 (B) 化合物を得ること。

【0041】

【化12】



20

30

【0042】

ここで、Y は、スルフォニルオキシ、イミダゾール、トリアゾール、テトラゾール、アルコキシ、置換アルコキシ、トリハロメトキシ、N - ヒドロキシコハク酸アミド、ヒドロキシ、エステル、一級アミン、二級アミン、p - ニトロフェノール、N - ヒドロキシフタルアミド、N - ヒドロキシベンゾトリアゾール、塩素、フッ素、臭素、及びヨウ素であり得る。用いる塩基は、無機又は有機塩基であり得る。

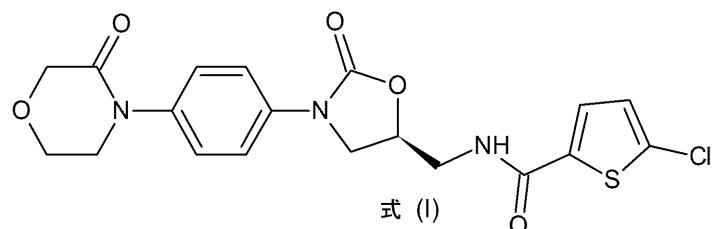
【0043】

式 (B) 化合物は、式 (I) の構造をもち、リバロキサバンとして広範に知られた式 (I) 化合物のプロドラッグである。

40

【0044】

【化13】



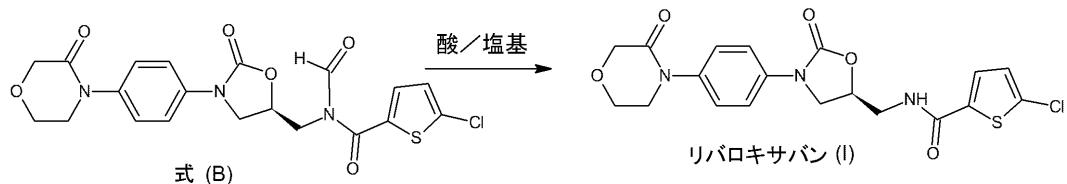
50

〔 0 0 4 5 〕

式 (B) 化合物のアルデヒド基が、酸又は塩基環境にさらされて脱離する場合、活性部分であるリバロキサバンに変換される。したがって、式 (B) 化合物が適當な溶媒中で酸又は塩基で処理されると、式 (B) 化合物からアルデヒド基が脱離して、式 (I) の表題化合物であるリバロキサバンを得る。

【 0 0 4 6 】

【化 1 4 】



10

【 0 0 4 7 】

さらに本願発明は、酸-塩基処理又は溶媒結晶化による追加の如何なる精製もせずに精製された化合物を得るため、式(VII)化合物の酸付加塩の調製に関する。

【 0 0 4 8 】

工程 (a) 及び (c) で使用される溶媒は同一でも異なってもよい。ここで、前記溶媒は、脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素、ジアルキルホルムアミド、エーテル類、冠状エーテル、置換冠状エーテル、アルコール類、ケトン類、ジアルキルスルホキサイド、ジアルキルアセタミド、ニトリル、イオン化液体、ハロゲン化脂肪族炭化水素、及び水を含む群から選択される有機溶媒、又はそれらの混合物であるが、より好ましくは反応物にとって中性の溶媒である。

20

[0 0 4 9]

前記工程 (a) は、0 から 95 の範囲の温度で行うことができる。通常、前記反応は前記溶媒の還流温度までの温度で行うことができる。

[0 0 5 0]

式 (V I) 化合物の調製のために工程 (b) で用いられる溶媒は、脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素、ジアルキルホルムアミド、エーテル類、冠状エーテル、置換冠状エーテル、ケトン類、ジアルキルスルホキサイド、ジアルキルアセタミド、ニトリル類、イオン化液体、ハロゲン化脂肪族炭化水素を含む群から選択される有機溶媒、又はそれらの混合物である。

30

【 0 0 5 1 】

工程(c)で用いられる溶媒は、脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素、ジアルキルホルムアミド、エーテル類、冠状エーテル、置換冠状エーテル、ジアルキルスルホキサイド、ジアルキルアセタミド、ニトリル類、イオン化液体、ハロゲン化脂肪族炭化水素、及び水を含む群から選択される有機溶媒、又はそれらの混合物である。さらに、式(VII)の化合物は、無機又は有機酸を用いることにより酸付加塩として調製することができる。

40

【 0 0 5 2 】

工程 (d) において、式 (VII) の化合物は、遊離塩基形態又はその酸付加塩で用いることができる。工程 (d) で用いられる溶媒は有機溶媒であり、混合物又は水及び有機溶媒であり得る。工程 (d) で用いられるホルミル化剤はギ酸、ギ酸アルキルなどであり得る。当該反応で用いられる溶媒は、芳香族炭化水素、ニトリル類、脂肪族炭化水素、エーテル類であり、好ましくは芳香族炭化水素、より好ましくはトルエン及びキシレンである。工程 (d) で用いられる塩基は、有機又は無機の塩基から選択される。

【 0 0 5 3 】

工程 (e) において、式 (A) の化合物は、式 (VII) 化合物と、任意に、脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素、ジアルキルホルムアミド、エーテル類、環状エーテル、置換

50

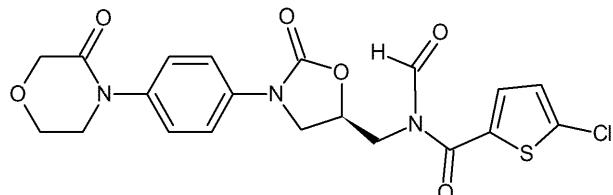
冠状エーテル、ジアルキルスルホキサイド、ジアルキルアセタミド、ニトリル類、イオン化液体、エーテル類、ハロゲン化脂肪族炭化水素、ケトン、環状アミド、及び水を含む群から選択される有機溶媒、又はそれらの混合物中で、無機又は有機であり得る塩基の存在下で処理され、式 (B) のリバロキサバン前駆体を得る。工程 (e) の反応で用いられる活性化剤には、CDI、DCC、HOBT、DMAP、EDCI、ホウ酸 (boric acid)、ボロン酸 (boronic acid)、ボロン酸フェニル (phenyl boronic acid) など、及びそれらの混合物が含まれる。

【0054】

さらに、もう1つの態様にしたがって、本願発明は式 (B) の化合物の調製法を提供する。本調製法は、式 (A) の化合物を式 (VIII) の化合物と反応させて式 (B) の化合物を得ることを含む。

【0055】

【化15】



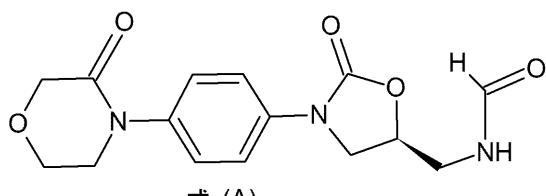
式 (B)

10

20

【0056】

【化16】

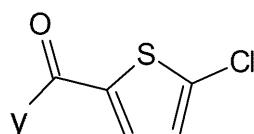


式 (A)

30

【0057】

【化17】



式 (VIII)

40

【0058】

ここで、式 (VIII) において、Yは、スルフォニルオキシ、イミダゾール、トリアゾール、テトラゾール、アルコキシ、置換アルコキシ、トリハロメトキシ、N-ヒドロキシコハク酸アミド、ヒドロキシ、エステル、一級アミン、二級アミンp-ニトロフェノール、N-ヒドロキシフタルアミド、N-ヒドロキシベンゾトリアゾール、塩素、フッ素、臭素及びヨウ素であり得る。用いられる塩基は無機又は有機であり得る。

【0059】

前記反応に用いる溶媒は、式 (B) のリバロキサバン前駆体を得るために、無機でも有機でもよく、脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素、ジアルキルホルムアミド、エーテル類、環状エーテル、置換環状エーテル、ジアルキルスルホキシド、ジアルキルアセタミド、ニトリル類、イオン性液体、エステル類、ハロゲン化脂肪族炭化水素、ケトン類、環状アミド及び水からなる群から選択される溶媒中又はこれらの混合物中で行うことができる。

50

本反応で使用される活性化剤は、CDI、DCC、HOBT、DMAP、EDCI、ホウ酸、ボロン酸、フェニルボロン酸等、及びこれらの混合物を含む。使用される塩基は、有機又は無機の塩基から選択され、任意に、式(B)化合物は次の反応のために精製することができ、そのまま用いることもできる。

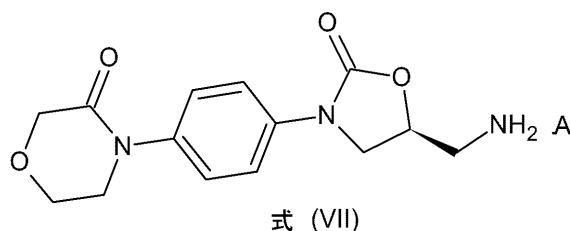
【0060】

本願発明のさらにもう1つの態様にしたがって、遊離塩基又は酸の付加塩である式(VII)化合物のラセミ体は酵素平衡分離法(enzymatic kinetic resolution)を用いて行うことができる。

【0061】

【化18】

10



【0062】

ここで、Aは酸付加塩であり、酸は無機又は有機酸であり得る。

20

【0063】

本願発明のさらにもう1つの態様にしたがって、式(I)のリバロキサバンを得るために、前述の工程で使用される塩基は無機又は有機であり、溶媒は、脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素、ジアルキルホルムアミド、エーテル類、環状エーテル、置換環状エーテル、ジアルキルスルフォキシド、ジアルキルアセタミド、ニトリル類、イオン性液体、エステル類、ハロゲン化脂肪族炭化水素、ケトン類、環状アミド類及び水からなる群から選択され、又はこれらの混合物である。本反応で用いられる活性化剤は、CDI、DCC、HOBT、DMAP、EDCI、ホウ酸、ボロン酸、フェニルボロン酸等、及びこれらの混合物を含む。

【0064】

30

本発明で用いられるように、用語「水和物(hydrate)」は、非共有結合の分子内力により結合する化学平衡的又は非化学平衡的な量の水をさらに含む化合物を意味する。本発明で用いられるように、用語「溶媒和物(solvate)」は、非共有結合の分子内力により結合する化学平衡的又は非化学平衡的な量の、例えば、水、アセトン、エタノール、メタノール、ジクロロメタン、2-プロパノールなどの溶媒をさらに含む化合物を意味する。

【0065】

本願発明は以下に示す実施例に記述され、さらに、これらの実施例は本願発明をただ説明するために提供され、したがって、本願発明の範囲を限定するように理解されるべきではない。

【0066】

40

実施例A

略字及び頭字語

L C - M S : 連結された液体クロマトグラフィー/質量分析器

H P L C : 高速液体クロマトグラフィー

L L Q Q : 定量の下限(Lower limit of quantification)

S D : 標準偏差

A U C : 曲線下の面積

D M S O : ジメチルスルホキサイド

N A D P H : ニコチンアミド アデニン ジヌクレオチドリン酸

C Y P : チトクロム

50

B L O Q : 定量の下限 (below limit of quantification)
 S I F : 人工腸液
 S G F : 人工胃液
 C V : 濃度値
 C m a x : 最大濃度

【0067】

詳細な説明における下記の実施態様は、本願発明を説明するものであるが、操作をともなうこれらの実施例に限定されるものではない。

【0068】

実施例 1

10

N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルフォリン - 4 - イル) フェニル] - 1 , 3 - オキサゾリジン - 5 - イル } メチル) フォルムアミド (一級アミンのアルデヒド) の調製 :

4 口丸底フラスコに、4 - { 4 - [(5 S) - 5 - (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 } モルフォリン - 3 - オンの遊離塩基 (50 g) 、トルエン (350 mL) 及びギ酸 (21.63 g) を入れた。次に、反応物をディーン・スターク装置 (dean-stark apparatus) を用いて 110 ~ 120 まで 3 ~ 4 時間、共沸加熱した (共沸で水を除去)。反応物を 25 ~ 30 に冷却した。得られた個体を濾過し、トルエンで洗浄した。収率 96 %。

【0069】

20

実施例 2

5 - クロロ - N - ホルミル - N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルフォリン - 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 (式 (B) 化合物) の調製

N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルフォリン - 4 - イル) フェニル] - 1 , 3 - オキサゾリジン - 5 - イル } メチル) ホルムアミド (1 g) 、ジクロロメタン (25 mL) を洗浄乾燥した 25 ~ 30 の 4 口丸底フラスコにとった。この澄明な溶液に、炭酸カリウム (0.89 g) を加え、25 ~ 30 で 30 分間攪拌した。この反応物に、塩化 5 - クロロチオフェン - 2 - カルボニル (1.0 g) 及びジクロロメタン (5 mL) の溶液を徐々に加えた。次に、得られた反応物を 25 ~ 30 で 5 ~ 6 時間攪拌した。反応物に水 (25 mL) を加え、有機層を分離した。次に、得られた有機層を水で (25 mL × 2) 洗浄した。最後に、有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥し、減圧下濃縮して残渣を得た。この残渣にメタノール (5 mL) を加えて、加熱還流し、澄明な溶液を得た。この得られて澄明な溶液を 15 ~ 20 まで徐々に冷却した。次に、析出した個体を濾過し、冷やしたメタノール (1 mL) で洗浄した。

30

【0070】

¹ H - N M R (400 M z , d₆ - D M S O) , = 3.74 - 3.77 (m , 2 H) , 3.84 - 3.87 (m , 1 H) , 4.02 - 4.05 (m , 2 H) , 4.07 - 4.11 (m , 2 H) , 4.12 - 4.15 (m , 1 H) , 4.34 - 4.41 (m , 3 H) , 4.94 - 5.00 (m , 1 H) , 7.00 - 7.01 (d , 1 H : チオフェン) , 7.30 - 7.31 (d , 1 H : チオフェン) , 7.33 - 7.37 (d t , 2 H : 芳香環) , 7.55 - 7.58 (d t , 2 H : 芳香環) , 9.28 (s , 1 H : アルデヒド)

40

【0071】

本実施例 2 を、アセトン、トルエン及びエーテルのような異なる溶媒中において、下記に示す収率で変動する同一のモル比 / 部を用いて、実施した。

【0072】

【表1】

溶媒	収率
アセトン	75% (実施例2にしたがって反応を行った)
トルエン	78% (実施例2にしたがって反応を行った)
エーテル	79% (実施例2にしたがって反応を行った)

10

【0073】

実施例3

5 - クロロ - N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルフォリン - 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 - カルボキサミドの調製 (ニトリル経路)

4 - { 4 - [(5 S) - 5 - (アミノエチル) - 2 - オキソ - 1 , 3 - オキサゾリジン - 3 - イル] フェニル } モルフォリン - 3 - オン 塩酸塩 (5 . 7 g) のエタノール (7 0 mL) 溶液に、炭酸カリウム (7 . 1 g) を加え、この混合物を 25 ~ 30 で 2 時間攪拌し、次に濾過して 4 - { 4 - [(5 S) - 5 - (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 } モルフォリン - 3 - オン (遊離塩基) を得た。もう 1 つのフラスコに、窒素雰囲気下、エタノール - 塩酸 (12 mL) 中に 5 - クロロチオフェン - 2 - カルボニトリル (2 . 9 g) を加え、白色析出物が得られるまで室温で 5 時間攪拌した。湿気を避けるために窒素雰囲気下で蒸留し、得られた残渣を 4 - { 4 - [(5 S) - 5 - (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 } モルフォリン - 3 - オンの溶液に加えた。この混合物を、還流温度で 16 ~ 18 時間攪拌した。水性エタノール (5 mL) を加え、混合物を還流温度で 10 ~ 12 時間加熱し、5 - クロロ - N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルフォリン - 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 (粗製物) を得、これをさらにカラムクロマトグラフィーで精製した。

20

30

【0074】

実施例4

N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルフォリン - 4 - イル) フェニル] - 1 , 3 - オキサゾリジン - 5 - イル } メチル) ホルムアミドの調製

4 口丸底フラスコに、4 - { 4 - [(5 S) - 5 - (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 } モルフォリン - 3 - オン 塩酸塩 (250 g) 、ジクロロメタン (1250 mL) 及びアンモニア (250 mL) を入れた。この溶液を 15 分攪拌し、層分離した。有機層に、水 (500 mL) 及びギ酸 (140 . 6 g) とともに、トルエン (1250 mL) を加えた。次に、反応物をディーン・スターク装置を用いて、110 ~ 120 まで 3 ~ 4 時間、共沸加熱した (水を共沸で除いた)。反応物を 25 ~ 30 に冷却した。次に、得られた個体を濾過し、トルエンで洗浄した。収率 = 80 . 0 %。

40

【0075】

実施例5

5 - クロロ - N - ホルミル - N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルフォリン - 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 - カルボキサミドの調製

N - ({ (5 S) - 2 - オキソ - 3 - [4 - (3 - オキソモルフォリン - 4 - イル) フェニル] - 1 , 3 - オキサゾリジン - 5 - イル } メチル) ホルムアミド (120 g) 、ジクロロメタン (2400 mL) を 25 ~ 30 の洗浄乾燥した 4 口丸底フラスコにとり

50

、反応物を 0 ~ 5 ℃ に冷却した。この溶液にジイソプロピルエチルアミン (145.7 g) を滴下して加え、0 ~ 5 ℃ の塩化 5 - クロロチオフェン - 2 - カルボニル (170 g) 及びジクロロメタン (240 mL) の溶液を加えた。次に、得られた反応物を 25 ~ 30 ℃ で攪拌し、12 時間加熱還流した。この反応物を 25 ~ 30 ℃ に冷却し、10% クエン酸溶液 (2 × 360 mL) で洗浄し、有機層を分離した。次に、得られた有機層を水 (600 mL × 2) で洗浄し、減圧下で濃縮し、残渣を得た。残渣にメタノール (600 mL) を加え、20 分間攪拌した。次に、析出した個体を濾過し、メタノール (240 mL) で洗浄し、乾燥し及び湿ったケーキ状物をメタノール (600 mL) を入れたフラスコに吸い込み、次に、この溶液を 30 分間攪拌し、次に個体を濾過し、メタノール (240 mL) で洗浄した。収率 = 85.0 %

10

【 0076 】

実施例 B

式 B 化合物の S C G 及び S I F 液体における安定性の測定

式 (B) 化合物を DMSO に溶解し、次にメタノール - 水 (90 : 10) で希釈した。様々な pH の緩衝液及び S I F / S C G 溶媒 (medium) における安定性を検討した。

【 0077 】

式 (B) 化合物 5.7 mg を 2 mL の HPLC バイアルに量りとり、0.250 mL の DMSO に溶解した。式 (B) 化合物溶液 2 μL をそれぞれ 250 μL の緩衝溶液に加え、インキュベーター振盪機に 24 時間室温で維持した。インキュベーションし時間の完了時に、この溶液を遠心分離し、上清を採取した。この上清に IS を含む冷アセトニトリルを加え、振盪し、LC - MS / MS に注入した。

20

【 0078 】

LC / MS / MS 法 :

API 4000、ESI アジレント 1100 カラム : ジェミニ N × 100 mm × 4.6 mm 5 μ ; カラム温度 : 30 ℃ ; 溶出液 A : 0.1% ギ酸水溶液、溶出液 B : アセトニトリル ; グラジエント : 0 ~ 2.5 分 95% A、5% B ; 2.5 ~ 2.6 分 5% A、95% B ; 2.6 ~ 4.2 分 95% A、5% B ; 流速 : 0.8 mL / 分 ; ESI . Q1 : 464.098、Q3 : 144.255

【 0079 】

これらの溶液における実施例の化合物の分解を pH 7.4 及び pH 7.8 で観察した。

30

【 0080 】

用いた溶液 :

0.1 モルのクエン酸及び 0.2 モルのリン酸水素二ナトリウムの水溶液を調製した。pH 2.2 及び 7.8 の緩衝液を、クエン酸及びリン酸水素二ナトリウムを用い、pH を 0.1 N 塩酸又は 1 N 水酸化ナトリウムで pH 調整することにより調製した。pH 7.4 : リン酸水素二ナトリウム 8.89 g (水溶液 A) を水 1 L に加え、リン酸二水素ナトリウム 1.5601 g (水溶液 B) を水で 1 L とした。水溶液 A (19 mL) と水溶液 B (81 mL) を混合した。

S I F / S C G : S I F オリジナル粉末 (バイオ関連媒体) をミリ Q 水 1 L に溶解した。本溶液の pH を、0.1 N 塩酸で、S I F (7.4) 及び S C G (2.2) に調整した。開始時間におけるピーク面積に対する各時間点におけるピーク面積の比 (F) を算出した。これらの人工 S I F 及び S C G の検討サンプルにおいて、0 分に比べた腸及び胃の pH 条件の異なる様々な時間点において未変化のまま残留する化合物の程度を観察するために、式 (B) 化合物の人口液安定性を評価した。本ピーク面積 (F) は、LC - MS 法により定量される試験化合物量に直接相関する。

40

【 0081 】

人口腸及び胃液において、式 (B) 化合物の面積を 0 分から 120 分の面積と比較した。本化合物の面積は 120 分を超えて同じように、腸の条件における安定性を示し、同様の結果が人工胃の条件でも観察された。

【 0082 】

50

pH 2.2 及び 7.4 における緩衝液安定性

pH 2.2、4 及び 7.8 の pH 条件を変動させるこの緩衝液安定性において、様々な pH 条件における式 (B) 化合物の安定性を、0 分又は 1 点検量の純粋な水性標準 (single point calibration neat aqueous standard) と比べた特定の時間点における未変化のままの化合物量を観察するために評価した。これら pH 7.4 及び 2.2 の pH 条件において、LC-MS により測定されるリバロキサバンの生成が認められる。これらの pH 条件において分解やリバロキサバンへの変換が認められるが、pH 2.2 及び 4.0 において観察される式 (B) 化合物の存在が認められる。

【0083】

興味あることに、LC-MS により測定されるリバロキサバンの変換が認められた。これにより、式 (B) 化合物は様々な pH の緩衝液条件で分解し、リバロキサバンの生成が観察されることが証明される。pH 緩衝液において in vitro 条件でリバロキサバンへの変換が認められ、これは、ラットにおける in vivo 薬物動態研究における証拠により支持される、in vivo 条件における変換 (translating) としても観察される。また、リバロキサバンへの変換は、マウス、ラット及びヒトにおけるミクロソーム及び血漿安定性による代謝安定性研究のような様々な in vitro アッセイにおいて見出される。

【0084】

このアッセイでは、様々な pH 条件において、試験物質 (式 (B) 化合物) と同様に、リバロキサバンの生成が認められた。しかしながら、式 (B) 試験化合物は人工腸の条件において安定である。様々な pH 条件における式 (B) 化合物の安定性比較のプロットが、表 1、2 及び 3 に十分に示されている。

【0085】

【表 2】

表1 pH7.8, pH4 及び pH2.1における化合物式(B)の安定性比較

	サンプル名	分析ピーク面積 (カウント)	平均	SD	CV
化合物式(B)	pH2.1	20975674	28315038	162.0453269	0.000572294
		35654402			
	pH4	42841292	34879190	285.7428233	0.000819236
		26917087			
	pH7.8	35312	38907.5	0.097829461	0.000251441
		42503			
	標準	40131132	39849828	11.6442782	2.92204E-05
		39542018			
		39876334			

【0086】

10

20

30

【表3】

表2 シミュレーション腸液における化合物式(B)の安定性比較

SIFにおける安定性	サンプル名	分析ピーク面積(カウント)	ISピーク面積(カウント)	面積比	平均	SD	CV
化合物式(B)	0min	38191589	165067	231.371	226.928	6.2833509	2.7688742
		39972052	179662	222.485			
	30min	37765238	188499	200.347	194.377	8.442855	4.3435463
		36339204	192876	188.407			
	60min	35757521	194543	183.803	182.7045	1.5535136	0.8502875
		36426366	200580	181.606			
	120min	34245401	200460	170.834	179.8485	12.748428	7.0884262
		33738135	178638	188.863			

【0087】

【表4】

表3 シミュレーション消化液における化合物式(B)の安定性比較

SGFにおける安定性	サンプル名	分析ピーク面積(カウント)	ISピーク面積(カウント)	面積比	平均	SD	CV	残存親化合物(%)	結果	
化合物式(B)	0min	34733277	186737	186.001	202.267	23.003598	11.372887	100	化合物式(B)は安定	
		32540774	148905	218.533						
	30min	32217743	147631	218.232	200.7875	24.670248	12.286745	99.27		
		36940283	201482	183.343						
	60min	35234526	174138	202.336	204.6365	3.2533983	1.5898426	101.17		
		35427185	171198	206.937						
	120min	36170541	185892	194.578	202.3615	11.007531	5.4395383	100.05		
		31588036	150315	210.145						

【0088】

備考(表1、2及び3)

このアッセイでは、様々なpH条件において、試験物質(式(B)化合物)と同様に、リバロキサバンの生成が認められた。しかしながら、式(B)試験化合物は人工腸の条件において安定である。様々なpH条件における式(B)化合物の安定性比較のプロットが、表1、2及び3に十分に示されている。

【0089】

2. ラット、マウス及びヒト血漿におけるインビトロ(in vitro)安定性(LC-MS検出)

式(B)化合物1mgを1.5エッペンチューブ(microfuge tube)に量りとり、DMsoに溶解した。本アッセイにおける試験化合物の最終濃度は5μモルであった。式(B)化合物をラット、ヒト又はマウス血漿に加え、37でインキュベートした。時間点における100μL分を取り出し、IS(200μu.L)を含む氷冷アセトニトリルで希釈して反応を停止させた。サンプルは10,000rpmで5分間遠心分離して、タンパク質を析出させた。上清をエッペンチューブ(micro centrifuge tubes)に移し、LC/MS/MS分析のため-20で保存した。試験物質の残存未変化体率を、0分におけるピーク面積に対する各時間点におけるピーク面積の比として計算し、これに100を乗じた。式(B)化合物はリバロキサバンに変換されたことが観察された。

【0090】

LC/MS/MS法:

API 4000、ESI アジレント1100カラム:ジェミニN×100mm×4.6mm 5.μ;カラム温度:30;溶出液A:0.1%ギ酸水溶液、溶出液B:アセトニトリル;グラジエント:0-2.5分 95%A、5%B;2.5-2.6分 5

% A、95% B ; 2.6 - 4.2 分 95% A、5% B ; 流速 : 0.8 mL / 分 ; ESI
. Q1 : 464.098, Q3 : 144.255

【0091】

備考(表4)

表4は、式(B)の試験化合物及びリバロキサバンのヒト、ラット及びマウスにおける血漿安定性を示す。

【0092】

【表5】

時間(分)	残存親化合物(ヒト)			残存親化合物(ラット)			残存親化合物(マウス)	
	試験生成物 (化合物式(B))	リバロキサバン 生成	リバロキサバン	試験生成物 (化合物式(B))	リバロキサバン 生成	リバロキサバン	試験生成物 (化合物式(B))	リバロキサバン 生成
0	100	100	リバロキサバン	100	100	リバロキサバン	100	100
30	95.46	100		100	82.35		100	100
60	77.84	99.68		82.43	88.4		82.18	100
変換	リバロキサバンへの 変換は、0分から 観察された。無視できる量の試 験生成物が検出された。	試験物質に おけるリバロキ サバンの生成 が検出された。	99.99%未変化 血漿中で安定	リバロキサバンへ の変換は、0分から 観察された。無視できる量の試 験生成物が検出 された。	試験物質に おけるリバロキ サバンの生成 が検出された。	88.4%未変化 血漿中で安定	リバロキサバンへ の変換は、0分から 観察された。無視できる量の試 験生成物が検出 された。	試験物質に おけるリバロキ サバンの生成 が検出された。

備考(表4)

表4は、式(B)化合物ラット、マウス及びヒトの血漿マトリクスにおける安定性を示す。本実験は、式(B)化合物のリバロキサバンへの変換がマウス、ラット及びヒトの血漿マトリクスで生じるか否かを観察すると同様に、式(B)化合物の安定性を測定するために、実施された。リバロキサバンへの急速な変換が、3種全てを用いて実施した実験で観察された。

【0094】

表4は、式(B)化合物のラット、マウス及びヒトの血漿マトリクスにおける安定性を示す。本実験は、式(B)化合物のリバロキサバンへの変換がマウス、ラット及びヒトの血漿マトリクスで生じるか否かを観察すると同様に、式(B)化合物の安定性を測定するために、実施された。リバロキサバンへの急速な変換が、3種全てを用いて実施した実験で観察された。式(B)化合物の無視できる量がインビトロ血漿安定性試験で観察され、リバロキサバンへの急速な変換が、被検種からの血漿サンプルを用いてインビトロ条件において観察された。

10

【0095】

CYP阻害アッセイ

ヒトにおいてCYP1A2、CYP2C9、CYP2D6、CYP2C19、CYP2J2及びCYP3A4を阻害する物質の性能を、CYPアイソフォーム特異的代謝物を生成する標準基質(下記参照)の存在下で、酵素源としてのプールしたヒト肝臓ミクロソームを用いて検討した。阻害効果は、式(B)化合物の非存在下において標準物質のCYPアイソフォーム特異的代謝物の生成量と比較した、8種の異なる濃度の試験化合物(0.001、0.01、0.1、0.3、1、3、10 μM)を用いて検討し、対応するIC50値を算出した。CYPアイソフォームを特異的に阻害する標準阻害剤は、得られた結果のコントロールとして役立つ。

20

【0096】

操作:

各検討として、8種の異なる濃度の式(B)化合物(潜在的な阻害剤である)の存在下に、ヒト肝臓ミクロソームとともにフェナセチン、ジクロフェナック、デキストロメトルファン、メフェノトイント(mephentoin)、アルベンダゾール(albendazole)及びテストステロンとのインキュベーションを37°のインキュベーターで行った。標準インキュベーション混合物には、全体で200 μLの容量に100 mMリン酸緩衝液(pH 7.4)中のNADPH及び基質が含まれる。試験化合物をアセトニトリルに溶解した。37°で一定時間、プールされたヒト肝臓ミクロソームとインキュベートした。この反応は、適当な内部標準が常に含まれる100 μLのアセトニトリルを添加することにより停止させた。析出したタンパク質を遠心分離で除去し、上清をLC-MSにより分析した。このデータは、3 μMから外挿されたIC50(μM)濃度を示す。

30

【0097】

【表6】

表5 CYP阻害検討		
CYPアイソフォームのIC ₅₀ (μM)		
CYPアイソフォーム	試験生成物式(B)	リバロキサバン
1A2	1.4	18.9
3A4	5.7	9.7
2C9	22.4	16.7
2C19	25.3	13.2
2J2	6.7	阻害なし
2D6	8.2	13.2
解釈	投与時に低い薬物-薬物相互反応(化合物式(B)との他薬物)	
caco2系における浸透性		
	Papp(10 ⁻⁶ cm/sec)	流出速度 (B>A/A>B)
化合物	A>B	B>A
誘導体	17.41	40.3
解釈	誘導体は高い浸透性を示した。Pappに基づく分類	
	誘導体は、流出速度>2を示し、Pgp基質であると観察された。	
(10 ⁻⁶ cm/sec) <2 = 低, 2-20 = 中, >20 = 高		

10

20

30

【0098】

表5において、プローブ基質法 (probe substrate method) を用いたCYP阻害研究を、異なるCYPアイソフォームを阻害するのに必要な濃度を測定するために実行した。これは、薬物-薬物相互作用を評価するための本質的なパラメータである。式(B)化合物は、アッセイされるCYPアイソフォーム(>1μM)の最小阻害を示した。

【0099】

3. インビトロ (in vitro) 肝臓ミクロソーム安定性アッセイ

肝臓ミクロソーム安定性アッセイは、リン酸緩衝液(100mM、pH7.4)中のNADPHを用いて、肝臓ミクロソームタンパク質1mg/mLで行った。試験化合物(本願発明の式(B)化合物)を20%メタノール-水の溶液として調製し、アッセイ混合物(最終アッセイ濃度1μM)へ添加し、37℃でインキュベートした。0、15及び30分の時点で一定量(100μL)を採取し、IS(mu.L)を含む氷冷アセトニトリルで希釈して反応を停止させた。サンプルを10,000rpmで5分間遠心分離して、タンパク質を析出させた。上清をエッペンチューブに移し、LC/MS/MS分析のために-20℃で保存した。試験物質の残存未変化体%を、0分におけるピーク面積に対する各時間点におけるピーク面積の比として計算し、これに100を乗じた。式(B)化合物は、ミクロソームアッセイでリバロキサバンに変換された。

【0100】

表6

40

50

試験化合物(式(B))及びリバロキサバンのヒト、ラット及びマウスにおけるミクロソーム安定性
ソーム安定性を示す。

【0101】

【表7】

時間(分)	残存親ピーカ% (ヒト)		残存親ピーカ% (ラット)		残存親ピーカ% (マウス)	
	試験生成物	リバロキサバン	試験生成物	リバロキサバン	試験生成物	リバロキサバン
0	-	100	-	100	-	100
15	-	100	0.01	-	19.78	0.01
30	-	66.2	0.01	-	5.20	0.02
代謝率%	リバロキサバンへの代謝率は0分より認められた。検出された試験生成物量は無視できる。(44.8%)。	試験物質のミクロソーム蛋白におけるリバロキサバンの生成。生成したリバロキサバンは代謝される(94.8%)。	リバロキサバンへの代謝は0分より認められた。検出された試験生成物量は無視できる。	試験物質のミクロソーム蛋白におけるリバロキサバンの生成。生成したリバロキサバンは代謝される(94.8%)。	99.98%代謝された。生成したリバロキサバンは代謝される(74.3%)。	99.98%代謝された。生成したリバロキサバンは代謝される。
観察	反応の初めからリバロキサバン生成、及び生成したリバロキサバンはヒトミクロソームで安定である。	高代謝	反応の初めからのリバロキサバン生成、及び生成したリバロキサバンは代謝を示した。	高代謝	反応の初めからのリバロキサバン生成、及び生成したリバロキサバンは代謝を示した。	高代謝

【0102】

備考 (表6)

表6に示されたデータにより、式(B)化合物は、ラット、マウス及びヒトにおいて、種を超えて急速に代謝された。このLC-MSによるミクロソーム安定性実験で、リバロキサバンへの急速な変換が観察された。また、生成されたリバロキサバンは、種を超えてミクロソーム実験で代謝されることが観察された。

【0103】

表6に示されたデータにより、式(B)化合物は、ラット、マウス及びヒトにおいて、種を超えて急速に代謝された。このLC-MSによるミクロソーム安定性実験で、リバロキサバンへの急速な変換が観察された。また、生成されたリバロキサバンは、種を超えてミクロソーム実験で代謝されることが観察された。

10

【0104】**4. 血漿蛋白結合の測定**

本願発明にしたがって、1つの化合物溶液(1mMのDMSO溶液)を、ラット、ヒト又はマウスそれぞれの血漿マトリクスに添加した。

透析ウェル(dialysis well)の受け入れ側にリン酸緩衝液150μLを加えた。式(B)化合物5μMを添加した(spiked)血漿150μLを、透析ウェルのサンプル側に加え、6時間透析した。アセトニトリルで析出し、分析前にサンプルを1.5mLポリプロピレンチューブで希釈した。透析ウェルのサンプル側から50μLを取り、リン酸緩衝液50μLとISを含むアセトニトリル300μLとを加えた。透析ウェルの緩衝液側から50μLを取り、それぞれの血漿マトリクス50μLとアセトニトリル300μLとを加えた。次に、振盪し、5分間遠心分離した。上清をとり、LC-MSに注入した。

20

【0105】

0.1μM～20μMの範囲の異なる試験濃度をメタノール・水(90:10)溶液でつくった。試験溶液を、血漿・リン酸緩衝液(50:50)を含む予め混合したマトリクスに加えた。ISを含む冰冷アセトニトリル300μLで析出し、振盪して遠心分離した。上清を取り、LC/MSに注入した。

【0106】

血漿蛋白結合%は、計算式(2): 非結合フラクション% = (緩衝液側濃度 / サンプル側濃度) × 100により得た。

【0107】

30

【表8】

時間(時)	ヒト		ラット		マウス	
	試験生成物	リバロキサバン生成	試験生成物	リバロキサバン生成	試験生成物	リバロキサバン生成
遊離フラクション(%)	未検出	1.34	未検出	9.39	未検出	8.41
結合(%)	未検出	98.66	未検出	96.61	未検出	91.59
観察	試験生成物の量は、定量限界未満であった。 血漿安定性に基づき、リバロキサバンが変換され、血漿蛋白に中程度の高率で結合することがわかった。 試験生成物から生成したリバロキサバンは、リバロキサバンのみに結合する比較的低分子の蛋白である。 試験生成物から生成したリバロキサバンは、リバロキサバンは、リバロキサバンのみに結合する類似蛋白である。	試験生成物の量は、定量限界未満であった。 血漿安定性に基づき、リバロキサバンへ変換され、生成したリバロキサバンは血漿蛋白に中程度の高率で結合することがわかった。 試験生成物から生成したリバロキサバンは、リバロキサバンのみに結合する類似蛋白である。	試験生成物の量は、定量限界未満であった。 血漿安定性に基づき、リバロキサバンへ変換され、生成したリバロキサバンは血漿蛋白に中程度の高率で結合することがわかった。 試験生成物から生成したリバロキサバンは、リバロキサバンのみに結合する類似蛋白である。	試験生成物の量は、定量限界未満であった。 血漿安定性に基づき、リバロキサバンへ変換され、生成したリバロキサバンは血漿蛋白に中程度の高率で結合することがわかった。 試験生成物から生成したリバロキサバンは、リバロキサバンのみに結合する類似蛋白である。	試験生成物の量は、定量限界未満であった。 血漿安定性に基づき、リバロキサバンへ変換され、生成したリバロキサバンは血漿蛋白に中程度の高率で結合することがわかった。 試験生成物から生成したリバロキサバンは、リバロキサバンのみに結合する類似蛋白である。	試験生成物の量は、定量限界未満であった。 血漿安定性に基づき、リバロキサバンへ変換され、生成したリバロキサバンは血漿蛋白に中程度の高率で結合することがわかった。 試験生成物から生成したリバロキサバンは、リバロキサバンのみに結合する類似蛋白である。

【0108】

備考(表7)

ヒト、ラット及びマウスにおける蛋白結合を示す。式(B)化合物の血漿蛋白結合を、ラット、マウス及びヒトの異なる種を用いて、血漿マトリクスにおいて測定した。これは、マウス、ラットからヒト種を超えて、血漿マトリクスにおける式(B)化合物のリバロ

キサバンへの変換を観察すると同様に、式(B)化合物の血漿蛋白結合を観察することを、意図している。3種全てを用いて行われた実験で、リバロキサバンへの急速な変換が観察された。式(B)化合物がインビトロ血漿安定性実験において観察されたのは無視できる量であり、種を超えたインビトロ条件でリバロキサバンへの急速な変換が観察された。また、生成したリバロキサバンは、種を超えて、血漿蛋白に結合していた。

【0109】

5. ウィスター系ラットにおける静脈内及び経口投与による薬物動態

前記物質の投与前日に、イソフルラン (Isofluran) (登録商標) 麻酔下、血液採取用のカテーテルを実験動物 (雄性ウィスター系ラット、体重 200 - 250 g) の頸静脈に移植した (implanted)。

実験当日、式(B)化合物の所定量を尾静脈に溶液で急速投与 (bolus administration) し、懸濁液又は溶液で経口投与を行った。血液サンプル (8 ~ 10 の時点) を、前記物質の投与後 24 時間にわたって、連続的にカテーテルにより採取した。投与量は、雄性ウィスター系ラットにおいて、経口投与で 10 mL / kg であり、静脈内投与で 1 mL / kg であった。静脈内投与としては 2% N₂ / N - デミチルアセタミド / 10% エタノール / 30% PEG 400 / 水の製剤により、経口投与としては Tween 80 / PEG 400 / 無菌水の製剤により、行った。

静脈内投与の場合、0.08、0.25、0.5、1、2、3、4、6、8 及び 12 時間後に採血し、経口投与の場合、0.25、0.5、1.0、2、3、4、6、8 及び 12 時間後に採血した。

【0110】

ヘパリンチューブ (heparinized tube) でサンプルを遠心分離して、血漿を得た。IS を含むアセトニトリルを、時点ごとの所定量の血漿に添加して蛋白質を析出させた。遠心分離後、式(B)化合物、適当な場合には、上清中の式(B)化合物の分解産物を、適当な LC / MS - MS 法を用いて定量した。

【0111】

測定した血漿濃度は、AUC、C_{max}、T_{1/2} (半減期) 及び CL (クリアランス) のようなものに依存しない、前記試験物質及び有効成分化合物 (A) の薬物動態パラメータを計算するために用いた。

前記化合物の静脈内投与後、前記試験物質は初めの測定時点でさえも、もはや血漿中に検出されなかった。有効成分のみが 24 時間の時点にまで検出された。

前記化合物の経口投与後、これらの物質は初めの測定時点でさえも、もはや血漿中に検出されなかった。有効成分 (実施例 1) のみが 24 時間の時点にまで検出された。

【0112】

IS 含有アセトニトリルを、研究サンプル、検量サンプル及び QCs に添加し、前記蛋白質をアセトニトリルを用いて析出させた。振盪し、4000 rpm で遠心分離し、上清を LC - MS / MS (API 4000、AB Sciex 社製) に注入した。クロマトグラフィー分離は島津社製 UFLC により行った。注入量は 10 μL であった。用いた分離カラムは、30 の温度に調整したフェノメネックス社製 (Phenomenex) ジェミニ (Gemini) NX (4.6 × 5 μ 100 mm) であった。800 μL / 分の二次元移動相グラジエント (binary mobile phase gradient) を用いた (A : 0.1% ギ酸水溶液、B : アセトニトリル : API 4000、ESI アジレント 1100 カラム : ジェミニ NX (100 mm × 4.6 mm 5 μ ; カラム温度 : 30 ; 溶出液 A : 0.1% ギ酸水溶液、溶出液 B : アセトニトリル ; グラジエント : 0 - 2.5 分 95% A、5% B ; 2.5 - 2.6 分 5% A、95% B ; 2.6 - 4.2 分 95% A、5% B ; 流速 : 0.8 mL / 分 ; ESL Q1 : 464.098、Q3 : 144.255)。ターボ V (Turbo V) のイオン源は 500 であった。以下の MS 装置のパラメータ (カーテンガス : 20 ユニット、イオンスプレー電圧 : 5 kV、ガス 1 : 50 ユニット、ガス 2 : 50 ユニット、CAD ガス : 6 ユニット)。前記物質は、特異的 MRM 実験 (specific MRM experiments) の抽出イオンクロマトグラム (extracted ion chromatograms) を用いて、ピーク高又は

10

20

30

40

50

面積により定量した。

【0113】

測定された血漿の濃度 / 時間のプロットを、検証された薬物動態計算プログラムにより、AUC、C_{max}、MRT（平均保持時間）、T_{1/2}（半減期）、及びCL（クリアランス）のような薬物動態パラメータを計算するために用いた。

【0114】

6. 静脈内投与用の懸濁液

組成物：

本願発明にかかる化合物2.2mLは、0.22mLのエタノール(10%)、0.66mLPEG400(30%)、1.27mLの静注用水(58%)及び0.04mLN,N-ジメチルアセタミド(2%)に溶解した。本願発明にかかる化合物の単回投与量1mgは、静注溶液1mLに相当する。

10

【0115】

調製：

試験化合物の必要量をガラスバイアルに秤量した。これに、N,N-ジメチルアセタミドを加え、振盪した。次に、エタノール、PEG400を加え、振盪した。最後に、静注水を加え、混合し、振盪して、1mg/mLの最終濃度にするために超音波処理を行った。最終溶液は、外見で透明で無色であった。

20

【0116】

7. 経口投与用の溶液

組成物：

式(B)化合物8.3gに、Tween80、PEG400及び無菌静注水(water for injection)を加えた。試験化合物の必要量をガラスバイアルに秤量した。これに、N,N-ジメチルアセタミドを加え、振盪した。次に、エタノール、PEG400を加え、振盪した。最後に、静注水を加え、混合し、振盪して、1mg/mLの最終濃度にするために超音波処理を行った。最終溶液は、外見で透明で無色であった。

30

【0117】

調製：

式(B)化合物の必要量をガラスバイアルに秤量した。これに、Tween80を加え、振盪した。次に、エタノール、PEG400を加え、振盪した。最後に、静注水を加え、混合し、振盪して、0.5mg/mLの最終濃度にするために超音波処理を行った。最終溶液は、外見で透明で無色であった。

【0118】

10mg/kgの用量における試験化合物の静脈内投与後のリバロキサバンの濃度 - 時間プロファイル

【0119】

【表9】

表8 リバロキサバン単独			
PKパラメータ	単位	平均IV (1 mg/kg)	平均PO (10 mg/kg)
F	[%]	n.c.	81.99
AUC(0-t)	[ng/mL*h]	1002.09	8481.44
AUC	[ng/mL*h]	1102.73	9040.96
ΔAUC	[%]	7.11	6.01
C0(t 用量)	[ng/mL]	581.14	n.c.
C(max)	[ng/mL]	n.c.	1420.27
t(max)	[h]	n.c.	1.42
t(½,Z)	[h]	6.08	5.70
MRT	[h]	3.38	6.29
CL	[mL/min/kg]	25.33	18.75
V(z)	[L/kg]	10.72	9.13

10

20

【0120】

10 mg / kg の用量における試験化合物の経口投与後のリバロキサバンの濃度 - 時間プロファイル

【0121】

【表10】

表9 誘導体(誘導体の投与時に生成されるリバロキサバン)			
PKパラメータ	単位	平均IV (1 mg/kg)	平均PO (10 mg/kg)
F	[%]	n.c.	26.95
AUC(0-t)	[ng/mL*h]	3859.31	10398.42
AUC	[ng/mL*h]	3906.91	10530.40
ΔAUC	[%]	1.51	1.49
C0(t 用量)	[ng/mL]	559.12	n.c.
C(max)	[ng/mL]	n.c.	2022.31
t(max)	[h]	n.c.	1.67
t(½,Z)	[h]	6.61	3.69
MRT	[h]	2.50	4.97
CL	[mL/min/kg]	4.47	17.63
V(z)	[L/kg]	2.78	5.84

30

40

【0122】

表8及び9は、式(B)化合物が、リバロキサバンと比べて上昇したCmaxと同様に、AUCに関する上昇した出現(exposure)を示した。このことは、式(B)化合物が急速に吸収され、即座にリバロキサバンに変換されることを示唆する。

50

【0123】

8. 抗凝固作用の測定

試験物質（式（B）化合物）及びリバロキサバンの抗凝固作用は、ヒト血漿を用いてインピトロで測定された。この実験に用いたヒト血漿は、抗凝固剤であるクエン酸ナトリウムに回収された血液から分離された。プロトロンビン時間（PT）を市販の試験キット（スタギット（Stagid）社製のネオプラチニン）を用いて測定し、APTTをIL社製のシンタジル（Synthasil）キットを用いて同定した。用いた試験物質及びリバロキサバンの異なる濃度は、コントロールである相当する溶液に沿って、0.1～1.0 μg/mLであった。PT同定のために、試験物質及びリバロキサバンを37℃で10分間、血漿とインキュベートした。次に、トロンボプラスチンの添加により凝固を開始させ、凝固発生時間を測定した。PTTの測定のために、試験化合物及びリバロキサバンを、塩化カルシウム添加後、37℃で10分間、血漿とともにインキュベートした。アッセイの結果は、試験化合物（式（B）化合物）が有意な抗凝固作用を有することを示した。

10

【0124】

この発明の1つの態様において、式（B）化合物は、前述の目的で使用するため、通常、1又は複数の非活性、無毒性、薬学的に適当な賦形剤とともに医薬に含有さることができる。

20

【0125】

前記化合物は、全身的及び/又は局所的に作用させるために投与することができる。この目的のために、これらの化合物を、例えば、経口的、経皮的、肺又は鼻経由で、好ましくは経口的のような適当な方法及び形態で投与することができる。

20

【0126】

経口投与にとては、先行技術にしたがって機能し、本願発明にしたがって急速に及び/又は修飾された様式で前記化合物を送達し、結晶性の及び/又は非晶質の及び/又は溶解した形態の本願発明にかかる化合物を含む、例えば、錠剤（例えば、腸用被覆又は不溶な又は遅延性溶解性を有し、本願発明にかかる化合物の放出を制御するような被覆を有する、非被覆又は被覆錠剤）、口内で急速に崩壊する錠剤、またはフィルム/薄片（wafer）、フィルム/凍結乾燥物、カプセル（例えば、ハード又はソフトのゼラチンカプセル）、糖被覆錠剤、顆粒、ペレット、粉末、エマルジョン、懸濁液、エアロゾル又は溶液、の投与形態が好ましい。

30

【0127】

9. ウィスター系ラットにおける静脈内投与及び経口投与の排泄プロファイル

前記物質の投与前日に、イソフルラン麻酔下、採血用のカテーテルを実験動物（雄性ラット、体重200～250g）の頸静脈に移植した（implanted）。

【0128】

実験当日、式（B）化合物の所定用量を尾静脈に溶液で急速投与（bolus administration）し、懸濁液又は溶液で経口投与を行った。尿及び糞を、前記物質の投与後144時間にわたって代謝ケージから採取した。投与量は、雄性ウィスター系ラットにおいて、経口投与で10mL/kgであり、静脈内投与で1mL/kgであった。静脈内投与としてはN,N-ジメチルアセタミド（2%）/エタノール（10%）/PEG400（30%）/静注用水（58%）の製剤により、経口投与としてはTween80/PEG400/無菌水の製剤により、行った。尿及び糞の回収は、静脈内投与及び経口投与の場合、0-4、4-8、8-24、24-48、48-72、72-96、96-120、120-144時間後であった。

40

【0129】

尿及び糞を処理し、IS含有アセトニトリルを所定の尿/糞に加え、沈殿させた。遠心分離後、上清中の式（B）化合物及び、適当な場合、式（B）化合物の既知の分解物を、適当なLC/MS-MS法を用いて定量した。

【0130】

測定した尿及び糞の濃度を、例えば、AUC及びCmaxのようなものに依存しない、

50

試験物質及び有効成分化合物（A）のパラメータを計算するために用いた。

【0131】

前記化合物の静脈内投与後に、前記試験物質は最初の測定時点でさえも尿及び糞中にもはや検出できなかった。有効成分のみが、尿及び糞の両方で検出できた。

【0132】

前記化合物の経口投与後に、これらの物質は最初の測定時点でさえも尿及び糞中にもはや検出できなかった。有効成分（実施例1）のみが、糞中でも尿中でも検出できた。

【0133】

IS含有アセトニトリルを、研究サンプル、検量サンプル及びQCsに添加し、前記蛋白質をアセトニトリルを用いて析出させた。振盪し、遠心分離し、上清をLC-MS/MS（API 4000、AB Sciex社製）に注入した。クロマトグラフィー分離は島津社製UFLCにより行った。注入量は10 μLであった。用いた分離カラムは、30度に調整したフェノメネックス（Phenomenex）社製 ジェミニ（Gemini）NX（4.6 × 5 μ 100 mm）であった。800 μL/分の二次元移動相グラジエントを用いた（A：0.1%ギ酸水溶液、B：アセトニトリル：API 4000、ESIアジレント 1100カラム：ジェミニNX（100 mm × 4.6 mm 5 μ；カラム温度：30；溶出液A：0.1%ギ酸水溶液、溶出液B：アセトニトリル；グラジエント：0-2.5分 95%A、5%B；2.5-2.6分 5%A、95%B；2.6-4.2分 95%A、5%B；流速：0.8 mL/分；ESL Q1：464.098、Q3：144.255）。

ターボV（Turbo V）のイオン源は500であった。以下のMS装置のパラメータ（カーテンガス：20ユニット、イオンスプレー電圧：5 kV、ガス1：50ユニット、ガス2：50ユニット、CADガス：6ユニット）を用いた。前記物質は、特異的MRM実験（specific MRM experiments）の抽出イオンクロマトグラム（extracted ion chromatograms）を用いて、ピーク高又は面積により定量した。

【0134】

10. 静脈内投与用の懸濁液：

組成物：

本願発明にかかる化合物2.2 mgを、0.22 mLのエタノール（10%）、0.6 mL PEG 400（30%）、1.27 mLの静注用水（58%）及びN,N-ジメチルアセタミド（2%）に溶解した。本願発明にかかる化合物の単回投与量1 mgは、静注溶液1 mLに相当する。

【0135】

調製：

試験化合物の必要量をガラスバイアルに秤量した。これに、N,N-ジメチルアセタミドを加え、振盪した。次に、エタノール、PEG 400を加え、振盪した。最後に、静注水を加え、混合し、振盪して、1 mg/mLの最終濃度にするために超音波処理を行った。最終溶液は、外見で透明で無色であった。

【0136】

11. 経口投与用の溶液：

組成物：

式（B）化合物に、Tween 80、PEG 400及び無菌静注水を加えた。試験化合物の必要量をガラスバイアルに秤量した。これに、N,N-ジメチルアセタミドを加え、振盪した。次に、エタノール、PEG 400を加え、振盪した。最後に、静注水を加え、混合し、振盪して、1 mg/mLの最終濃度にするために超音波処理を行った。最終溶液は、外見で透明で無色であった。

【0137】

調製：

式（B）化合物の必要量をガラスバイアルに秤量した。これに、Tween 80を加え、振盪した。次に、エタノール、PEG 400を加え、振盪した。最後に、静注水を加え

10

20

30

40

50

、混合し、振盪して、超音波処理を行った。最終溶液は、外見で澄明で無色であった。

【0138】

1 mg / kg の用量における試験化合物（式（B）化合物）の静脈内投与及び 10 mg / kg の用量における試験化合物後の経口投与の後のリバロキサバンの濃度 - 時間プロファイル

【0139】

【表11】

表10(A)

群	動物重量 (g)	用 量 (mg/kg)	投与容積 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)	投与経路	動物数	尿／糞の サンプリング時間
1	250-300	1	1	1	i.v.	3	0-4,4-8,8- 24,24-48,48- 72,72-96,96- 120,120-144
2	250-300	10	10	1	p.o.	3	0-4,4-8,8- 24,24-48,48- 72,72-96,96- 120,120-144

10

20

30

40

【0140】

【表12】

表10(B)

時間 [時]	リバロキサバン (IV 1mg/Kg)		リバロキサバン (PO 10 mg/Kg)		誘導体 (IV 1mg/Kg)		誘導体 (PO 10 mg/Kg)	
	平均 (ng)	平均 (ng/G)	平均 (ng)	平均 (ng/G)	平均 (ng)	平均 (ng/G)	平均 (ng)	平均 (ng/G)
	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
4	559.4	442.8	2381.3	5458.8	345.5	3122.7	1200.6	9675.3
8	28.9	1442.0	1770.9	19583.2	447.0	911.6	1828.5	11184.7
24	169.4	1328.8	1838.1	236961.7	451.5	614.6	3296.0	6274.2
48	333.6	342.8	464.5	35049.4	24.6	164.5	1166.5	4881.3
72	539.5	110.7	236.1	6655.8	20.0	7.4	130.8	360.4
96	41.9	32.6	22.9	2291.2	7.1	3.3	92.5	5.0
120	BLQ	40.3	48.4	63.9	BLQ	5.2	30.6	45.0
144	BLQ	16.8	30.4	57.4	4.2	BLQ	29.7	70.7

【0141】

【表13】

表10(C)

まとめ結果				
	経口 (10mg/kg)	静注 (1mg/kg)		
	リバロキサバン	誘導体	リバロキサバン	誘導体
尿 (ng)	6720.4	7744.6	1425.9	1152.8
糞 (ng/g)	408546.9	32503.0	2937.9	4974.9
血漿 -AUC	9041.0	10530.4	1102.7	3906.9
平均尿 AUC	76389.7	121079.3	20998.3	55548.0
平均糞 AUC	8189000.0	354379.0	12537.0	30631.7
Tmax	1.4	1.7	581.2	559.1

【0142】

表10(A)、10(B)及び10(C)は、血漿出現(exposure)がリバロキサバンより試験生成物(式(B)化合物)において高かったことを示した。リバロキサバン及び試験化合物(式(B)化合物)の尿排泄プロファイルは同様の排泄プロファイルを示したが、非吸収のリバロキサバンは、試験生成物(式(B)化合物)の経口投与でより少なかった。

【0143】

式(B)化合物は、糞中に存在するリバロキサバンがリバロキサバン単独と比べてより少ない量であることを示した。これは、リバロキサバンに比べて、血漿中のより高い出現及び糞中へのより低い排泄を示した。

【国際調査報告】

61500680005



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IN 13/00801

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC(8) - C07D 413/14; A61K 31/381; C07D 409/14 (2015.01)
 CPC - C07D 413/14; C07D 409/12; C07D 333/38
 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)
 IPC(8): C07D 413/14; A61K 31/381; C07D 409/14 (2015.01)
 CPC: C07D 413/14; C07D 409/12; C07D 333/38

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
 USPC: 514/438; 514/444; 514/448

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 PatBase, Google Scholar, PubWEST, SureChem
 prodrug, 5-chloro-N-((5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl]-1,3-oxazolidin-5-yl)methylthiophene-2-carboxamide, N-formyl.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2003/0153610 A1 (STRAUB et al.) 14 August 2003 (14.08.2003) para [0356], [0617], Example 44; para [0628]	1-4
Y	KELLEY et al. '6-(Alkylamino)-9-alkylpurines. A New Class of Potential Antipsychotic Agents'. J. Med. Chem., 1997, Vol.40 (20), pp 3207-3216. abstract; pg 3211, Table 6; pg 3211, col 2, para 2- pg 3212, col 1, para 1; pg 3214, col 1, para 4	1-4
Y	US 2010/0063278 A1 (BRACKEN et al.) 11 March 2010 (11.03.2010) para [0115], [0123]-[0126]	3, 4/3

Further documents are listed in the continuation of Box C.

* 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 application or patent 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
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
19 July 2015 (19.07.2015)	12 AUG 2015
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774 06.11.2015

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IN 13/00801						
Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 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.	<input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:							
2.	<input type="checkbox"/> Claims Nos.: 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:							
3.	<input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 5-8 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).							
Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)								
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:								
1.	<input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.							
2.	<input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.							
3.	<input type="checkbox"/> 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.	<input type="checkbox"/> 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 <table border="0"> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>No protest accompanied the payment of additional search fees.</td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.	<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.	<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.
<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.							
<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.							
<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.							

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,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,R,S,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,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,H,R,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,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,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 ニチン シャラドチャンドラ プラダン

インド国、マハーラーシュトラ州、400703、ナビムンバイ バシ、レイルウエイ ステイション バシ、ビーエスイーエル テックパーク、ビーウイング、10階 セクター 30エー、オーピーピー

(72)発明者 ニーレッシュ スディル パティル

インド国、マハーラーシュトラ州、400703、ナビムンバイ バシ、レイルウエイ ステイション バシ、ビーエスイーエル テックパーク、ビーウイング、10階 セクター 30エー、オーピーピー

(72)発明者 ラジェッシュ ラムチャンドラ ヴァラヴァルカー

インド国、マハーラーシュトラ州、400703、ナビムンバイ バシ、レイルウエイ ステイション バシ、ビーエスイーエル テックパーク、ビーウイング、10階 セクター 30エー、オーピーピー

(72)発明者 ニーレッシュ スバス クルカルニ

インド国、マハーラーシュトラ州、400703、ナビムンバイ バシ、レイルウエイ ステイション バシ、ビーエスイーエル テックパーク、ビーウイング、10階 セクター 30エー、オーピーピー

(72)発明者 サンディップ ババンラオ パワル

インド国、マハーラーシュトラ州、400703、ナビムンバイ バシ、レイルウエイ ステイション バシ、ビーエスイーエル テックパーク、ビーウイング、10階 セクター 30エー、オーピーピー

(72)発明者 タラク サンバジ パワル

インド国、マハーラーシュトラ州、400703、ナビムンバイ バシ、レイルウエイ ステイション バシ、ビーエスイーエル テックパーク、ビーウイング、10階 セクター 30エー、オーピーピー

F ターム(参考) 4C063 AA03 BB09 CC92 DD52 EE01

4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 BC73 GA04 GA09 MA01 MA04 NA14

NA15 ZA36 ZA54