

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4361800号
(P4361800)

(45) 発行日 平成21年11月11日 (2009.11.11)

(24) 登録日 平成21年8月21日 (2009.8.21)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 213/64	(2006.01)	C O 7 D 213/64	C S P
C O 7 D 213/65	(2006.01)	C O 7 D 213/65	
C O 7 D 213/80	(2006.01)	C O 7 D 213/80	
C O 7 D 401/12	(2006.01)	C O 7 D 401/12	
C O 7 D 409/12	(2006.01)	C O 7 D 409/12	

請求項の数 4 (全 35 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-559423 (P2003-559423)
(86) (22) 出願日	平成14年12月20日 (2002.12.20)
(65) 公表番号	特表2005-514432 (P2005-514432A)
(43) 公表日	平成17年5月19日 (2005.5.19)
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/040996
(87) 国際公開番号	W02003/059258
(87) 国際公開日	平成15年7月24日 (2003.7.24)
審査請求日	平成16年11月8日 (2004.11.8)
(31) 優先権主張番号	60/343,088
(32) 優先日	平成13年12月21日 (2001.12.21)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	504236628
	サイトキネティックス, インコーポレイ テッド
	アメリカ合衆国 カリフォルニア 940 80, サウス サン フランシスコ, イースト グランド アベニュー 280
(74) 代理人	100078282
	弁理士 山本 秀策
(74) 代理人	100062409
	弁理士 安村 高明
(74) 代理人	100113413
	弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

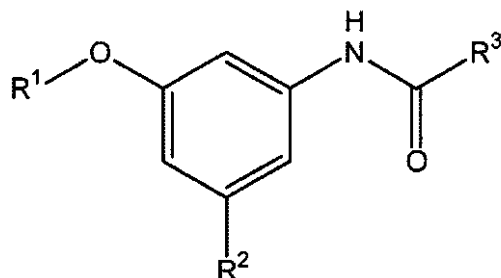
(54) 【発明の名称】 心不全を処置するための組成物および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I により表される化合物、またはその薬学的に受容可能な塩であって：

【化 1】



式 I

ここで、

R¹ は、ピリジン - 3 - イルであり；R² は、シアノ、水素、トリフルオロメチル、エトキシカルボニル、フルオロ、ピリジン - 2 - イル、またはピラジン - 2 - イルであり；そしてR³ は、3 - ヒドロキシフェニル、4 - ヒドロキシフェニル、4 - フルオロフェニル、

イソオキサゾール - 5 - イル、ピリジン - 3 - イル、ピリジン - 4 - イル、チオフェン - 2 - イルまたは 5 - メチル - チオフェン - 2 - イルである、化合物。

【請求項 2】

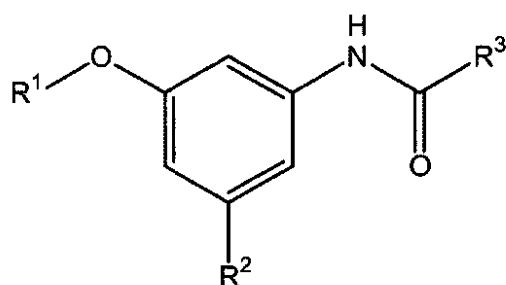
以下の化合物またはその薬学的に受容可能な塩：

4 - フルオロ - N - [3 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド
；
N - [3 - シアノ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 4 - フルオロ
- ベンズアミド；
4 - フルオロ - N - [3 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - 5 - トリフルオロメチル -
フェニル] - ベンズアミド；
3 - (4 - フルオロ - ベンゾイルアミノ) - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - 安息
香酸エチルエステル；
4 - フルオロ - N - [3 - ピリジン - 2 - イル - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) -
フェニル] - ベンズアミド；
4 - フルオロ - N - [3 - ピラジン - 2 - イル - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) -
フェニル] - ベンズアミド；
N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 3 - ヒドロキ
シ - ベンズアミド；
N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 4 - ヒドロキ
シ - ベンズアミド；
N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ニコチンアミ
ド；または
イソキサゾール - 5 - カルボン酸 [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ)
- フェニル] - アミド。

【請求項 3】

式 I によって表される化合物、またはその薬学的に受容可能な塩であって：

【化 2】



式 I

ここで、

R¹ は、4 - フルオロフェニル、ピリジン - 2 - イルまたはピリジン - 3 - イルであり；

R² は、ニトロであり；そして

R³ は、4 - フルオロフェニル、イソオキサゾール - 5 - イル、チオフェン - 2 - イル、または 5 - メチル - チオフェン - 2 - イルであり；ただし、

R¹ が、ピリジン - 3 - イルである場合、R³ は、4 - フルオロフェニルではない、化合物。

【請求項 4】

以下の化合物またはその薬学的に受容可能な塩：

チオフェン - 2 - カルボン酸 [3 - (4 - フルオロ - フェノキシ) - 5 - ニトロ - フェ
ニル - アミド；

イソキサゾール - 5 - カルボン酸 [3 - (4 - フルオロ - フェノキシ) - 5 - ニトロ -

フェニル - アミド ;

5 - メチル - チオフェン - 2 - カルボン酸 [3 - ニトロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) フェニル] - アミド ; または

4 - フルオロ - N - [3 - ニトロ - 5 - (ピリジン - 2 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願に対する相互参照)

本出願は、2001年12月21日に出願した同時係属中の米国特許出願番号60/343,088の利益を主張する。この米国特許出願番号60/343,088は、参考として援用される。

【0002】

(政府の利益の陳述)

本発明は、NIH助成金番号1R43HL66647-01の下で政府の支援を受けてなされた。従って、米国政府は、本発明において特定の利益を有し得る。

【0003】

(発明の分野)

本発明は、置換ベンズアミド誘導体に関し、特に、心臓筋節を選択的に調節する化合物に関し、詳細には、収縮期心不全 (先天性心不全を含む) について処置するための化合物、薬学的処方物、および方法に関する。

【背景技術】

【0004】

(発明の背景)

(心臓筋節)

「筋節」とは、心筋および骨格筋において見出される優雅に組織化された細胞構造であり、互いに入り組んだ細いフィラメントおよび太いフィラメントから構成される。筋節は、心臓細胞体積のほぼ60%を構成する。太いフィラメントは、「ミオシン」から構成される。ミオシンとは、化学的エネルギー (ATP加水分解) から力および指向性運動への変換を担うタンパク質である。ミオシンおよびその機能的に関連するいとこ (cousin) は、運動タンパク質と呼ばれる。細いフィラメントは、タンパク質複合体から構成される。これらのタンパク質のうちの1つである「アクチン」 (線維状ポリマー) は、ミオシンが力生成の間に纏う基質である。1組の調節タンパク質 (「トロポニン複合体」および「トポミオシン」) がアクチンに結合される。これらの調節タンパク質は、アクチン - ミオシン相互作用を細胞内 Ca^{2+} レベルの変化依存性にする。各心拍に伴い、 Ca^{2+} レベルは上昇および下降し、心筋収縮と、その後の心筋弛緩を開始する (Robbins JおよびLeinwand LA. (1999) Molecular Basis of Cardiovascular Disease, 第8章、Chien, K. R., W. B. Saunders 編, Philadelphia)。筋節の構成要素の各々は、その収縮応答に寄与する。

【0005】

ミオシンは、すべてのうちで最も広範に研究されている運動タンパク質である。ヒト細胞中の13種の別個のクラスのうち、ミオシンIIクラスは、骨格筋、心筋、および平滑筋の収縮を担う。このクラスのミオシンは、アミノ酸組成および全体的構造が、他の12種の別個のクラスのミオシンとは有意に異なる (Goodson HVおよびSpudich JA. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 659 ~ 663)。ミオシンIIは、長いヘリックスコイルドコイルテールにより一緒に結合された2つの球状ヘッドドメインからなり、このヘリックスコイルドコイルテールは、他のミオシンIIと集合して、筋節の太いフィラメントのコアを形成する。この球状ヘッドは、アクチン結合とミオシンのATP機能とが生じる、触媒ドメインを有する。一旦

アクチンフィラメントに結合すると、リン酸の放出 (ATP → ADP を参照のこと) が、この触媒ドメインの構造コンフォメーションの変化をもたらし、この触媒ドメインは、その後、球状ヘッドから延びる軽鎖結合レバーアームドメインの方向を変化させる。この運動は、パワーストロークと呼ばれる。アクチンに関連するミオシンヘッドのこの方向変化は、ミオシンを部分とする太いフィラメントを、それが結合している細いアクチンフィラメントに対して移動させる (Spudis et al. (2001) Nat Rev Mol Cell Biol. 2 (5): 387~92)。触媒ドメインおよび軽鎖がそのもとのコンフォメーション/方向に戻るのと連関してアクチンフィラメントから球状ヘッドが結合しないことにより、収縮および弛緩のサイクルが完了する。

【0006】

10

哺乳動物の心筋は、2つの形態の心臓ミオシン (および) からなり、それらは、十分に特徴付けられている (Robbins (上記))。この 形態は、成人心筋において優勢な形態 (>90パーセント) である。両方が、転写レベルおよび翻訳レベルの両方でヒト心不全状態において調節されることが観察されており (Miyata, 上記)、 形態が、心不全においてダウンレギュレートされている。

【0007】

ヒト骨格筋ミオシン、心筋ミオシン、および平滑筋ミオシンすべての配列が、決定されている。心臓 ミオシンおよび心臓 ミオシンは非常に類似する (93% 同一性) が、それらは両方とも、ヒト平滑筋とはかなり異なり (42% 同一性)、そして骨格ミオシンとより密接に関連する (80% 同一性)。便利なことに、心筋ミオシンは、哺乳動物種を越えて信じられない程保存されている。例えば、 心臓ミオシンおよび 心臓ミオシンの両方は、ヒトとラットとの間で >96% 保存されており、ブタ心臓 ミオシンについての入手可能な250残基配列は、対応するヒト心臓 ミオシンと100%保存されている。このような配列保存は、動物ベースの心不全モデルにおいてミオシンベースの治療剤を研究する予測性に寄与する。

20

【0008】

心臓筋節の構成要素は、例えば、収縮を増加するかまたは完全な弛緩を促進して、それぞれ、収縮および拡張の機能を調節することによって、心不全の処置のための標的を示す。

【0009】

30

(心不全)

先天性心不全 (「CHF」) は、特定の疾患ではなく、むしろ、一群の徴候および症状であり、その徴候および症状のすべては、心拍出量を増加することにより、労作に対して心臓が十分な応答をできないことにより引き起こされる。CHFに関連する優勢な病態生理は、収縮期性機能不全であり、これは、心臓の収縮性の機能障害である (結果的に、各心拍により駆出される血液の量が減少する)。心室腔の代償性拡張を伴う収縮期性機能不全は、最も一般的な形態の心不全である「拡張型心筋症」を生じる。拡張型心筋症は、しばしば、CHFと同じであると見なされる。収縮期性機能不全に対する対比は、拡張期機能不全である。これは、心室を血液で満たす能力の機能障害であり、これはまた、左心室機能が保存されている場合でさえ、心不全を生じ得る。先天性心不全は、究極的には、心筋細胞自体の不適切な機能 (収縮および弛緩する能力の低下) に関連する。

40

【0010】

基礎をなす同じ状態のうちの多く (例えば、アテローム性動脈硬化症、高血圧、ウイルス感染、弁機能不全、および遺伝的障害) が、収縮期機能不全および/または拡張期機能不全を生じ得る。これらの状態を有する患者は、同じ古典的症狀 (息切れ、浮腫、および圧倒的疲労) を呈する。拡張型心筋症を有する患者のほぼ半分において、その心臓機能不全の原因は、アテローム性冠状動脈硬化症に起因する虚血性心疾患である。これらの患者は、単一の心筋梗塞または複数の心筋梗塞のいずれかを有していた。ここで、結果としての瘢痕およびリモデリングは、拡張した低収縮性心臓を生じる。時折、原因因子が同定され得ず、その結果、この疾患は、「特発性拡張型心筋症」と呼ばれる。虚血起源かまたは

50

他の起源かに関わらず、拡張型心筋症を有する患者は、ひどい予後、過剰な罹病率、および高い死亡率を共有する。

【0011】

母集団が加齢しているために、かつ心臓学者が、虚血性心疾患（すなわちCHFへの最も一般的な前兆）による死亡率を減少させるのにより成功しているために、CHFの罹患率が、流行伝染病のような勢いで増加してきた。およそ460万人の人々が、米国においてCHFと診断されてきた；このような診断の発生率は、65歳より後で1000人につき10人に近づいている。CHFによる入院は、通常不適切な外来患者治療の結果である。CHFのための退院は、377,000（1979年）から957,000（1997年）に上昇し、65歳以上の人々においてCHFは最も一般的な退院の診断となっている。CHFによる5年間の死亡率は、50%に達する（Levy D.（2002）New Engl J Med. 347（18）：1442-4）。従って、心臓疾患のための治療が、非常に改善されて来、かつ平均余命が最近の数年間にわたって延びてきた一方、特にCHFに対する、新しくより良い治療が、探求され続けている。

10

【0012】

「急性の」鬱血性心不全（急性の「代償障害性の」心不全としても知られる）は、種々の原因から生じる心臓機能の急激な低下に関与する。例えば、鬱血性心不全を既に有する患者において、新しい心筋梗塞、投薬の中止、および食事の無分別の全てが、静止状態においてさえ、浮腫流体の蓄積および代謝不全を導き得る。このような急性エピソードの間に心臓機能を増大させる治療剤が、この代謝不全の軽減および浮腫の除去を加速するのを助け得、より安定な「代償性の」鬱血性心不全の軽減に戻すことを容易にする。非常に進んだ鬱血性心不全、特に疾患の最終段階の鬱血性心不全を持つ患者はまた、心臓機能を増大させる治療剤（例えば、心臓移植を待っている間の安定化のための治療剤）から利益を受け得る。他の見込まれる利益が、例えば停止した心臓または遅くなった心臓が、通常の機能を取り戻すのを助ける薬剤の投与によって、バイパスポンプを外している患者に提供され得る。拡張期機能障害（心筋の不十分な弛緩）を有する患者は、弛緩を調節する治療剤から利益を受け得る。

20

【0013】

（治療活性剤）

強心剤（Inotrope）は、心臓の収縮能力を増大させる薬剤である。集団的に、すべての現在の強心剤は、心不全治療のための最も重要な標準（すなわち、患者の生存の延長）に適合していない。加えて、現在の薬剤は、心臓組織に対してあまり選択的でなく、その使用を制限する認識された副作用を一部導く。この事実にも関わらず、静脈内強心剤から、急性の心不全において広く使用されつづけ（例えば、経口投薬の再開を可能にし、患者と心臓移植との橋渡しをする）、一方、慢性心不全において、経口で投与されるジゴキシンが、強心剤として使用され、患者の症状を軽減し、生活の質を改善し、そして入院を減らす。

30

【0014】

現在の薬剤の限界を考えると、鬱血性心不全における心臓機能を改善するための新しいアプローチが、必要である。最も最近認可された短期静脈剤であるミルリノンが、現在ほぼ15年使用されている。唯一の入手可能な経口薬ジゴキシンが、200年以上使用されている。新しい作用機構を開発し、症状の軽減、安全、患者の死亡率に関して、短期間および長期間の両方でより良い結果を有し得る薬剤に対する大きな必要が残る。現在の薬剤の改善された治療指標を持つ新しい薬剤は、これらの臨床治療結果を達成する手段を提供する。心臓筋節に対する（例えば、心臓 ミオシンを標的化する）薬剤の選択性は、この改善された治療指標を達成する重要な手段である。本発明は、このような薬剤（特に筋節活性剤）およびその同定および使用のための方法を提供する。

40

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0015】

50

(本発明の要旨)

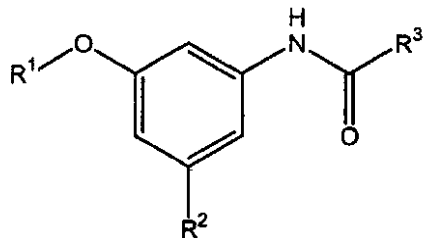
本発明は、CHF (特に収縮期心不全) を含む心臓疾患の処置のための化合物、薬学的組成物および方法を提供する。この組成物は、心臓筋節の選択的なモジュレーターであり、例えば、心臓ミオシンを増強する。

【0016】

1つの局面において、本発明は、式I:

【0017】

【化5】



式I

に関し、単一の立体異性体、立体異性体の混合物、および薬学的に受容可能な塩を含み、ここで、

R¹ は、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、および置換ヘテロアリールであり；

R² は、アセチル、アセチルアミノ、アセチレン、アルコキシカルボニル、カルボキサミド、シアノ、ハロ、ヘテロアリール、水素、ニトリル、ニトロおよびトリフルオロメチルであり；ならびに

R³ は、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、および置換ヘテロアリールである。式Iの化合物は、本発明の処置の方法の実施において、および薬学的処方物の製造における活性剤として、ならびにこのような活性剤の合成における中間体として、有用である。

【0018】

別の局面において、本発明は、式Iによって表される化合物に関しまたはその単一の立体異性体、または立体異性体の混合物、または薬学的に受容可能な塩を含み、ここで、

R¹ は、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、および置換ヘテロアリールである；

R² は、アセチル、アセチルアミノ、アセチレン、アルコキシカルボニル、カルボキサミド、シアノ、ハロ、ヘテロアリール、水素、ニトリル、ニトロおよびトリフルオロメチルであり；ならびに

R³ は、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、および置換ヘテロアリールである。

この局面において好ましいのは、これらの化合物、異性体および塩であり、ここで：

R¹ は、必要に応じて置換されたアリールまたはヘテロアリール、好ましくはフェニル、置換フェニルまたはピリジニル (特に、3-クロロフェニル、4-フルオロフェニル、4-ヒドロキシフェニル、3-メチルフェニル、ピリジン-2-イル、ピリジン-3-イルまたはピリジン-4-イル)；

R² は、アセチル、アセチレン、アルコキシカルボニル、シアノ、ハロ、ヘテロアリール、水素またはトリフルオロメチル (特に、アセチレン、シアノ、エトキシカルボニル、フルオロ、水素、オキサゾール-2-イル、ピリジン-2-イル、ピリミジン-2-イル、チアゾール-2-イルまたはトリフルオロメチル)；ならびに

R³ は、低級アルコキシ、低級アルキル、ハロ、ヒドロキシ、ヒドロキシ低級アルキルまたはニトロで必要に応じて置換されたフェニルであるか、またはR³ は、低級アルキル、低級アルコキシ、またはハロ (特に3-ヒドロキシフェニル、4-ヒドロキシフェニル、4-フルオロフェニル、イソキサゾール-5-イル、ピリジン-3-イル、ピリジン-

10

20

30

40

50

4 - イル、チオフェン - 2 - イルまたは 5 - メチル - チオフェン - 2 - イル) で必要に応じて置換されたベンゾジオキソリル、フラニル、インドリル、イソキサゾリル、ピラゾイル、ピリジニルまたはチオフェニルである。

【 0 0 1 9 】

なお別の局面において、本発明は、式 I によって表される化合物、または 1 つの立体異性体、もしくは立体異性体の混合物、もしくはその薬学的に受容可能な塩に関する。式中：

R^1 は、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、または置換ヘテロアリールであり；

R^2 は、ニトロであり；そして、

R^3 は、アリール、置換アリール、ヘテロアリールまたは置換ヘテロアリールであり；但し：

R^1 がピリジン - 3 - イルである場合、 R^3 は、3 - ブロモフェニルでも、3 - フルオロフェニルでも、4 - フルオロフェニルでも、フラン - 2 - イルでも、4 - メトキシフェニルでも、1 - メチル - 1H - ピラゾール - 3 - イルでもなく；

R^1 が 4 - ヒドロキシフェニル (4 - h y d r o x y o p h e n y l) である場合、 R^3 は、フラン - 2 - イルでなく；

R^1 が 4 - フルオロフェニルである場合、 R^3 は、フラン - 2 - イルでもピリジン - 4 - イルでもなく；そして、

R^3 がピリジン - 4 - イルである場合、 R^1 は、フェニルでも、3 - クロロフェニルでも、4 - ヒドロキシフェニルでも、3 - メチルフェニルでもない。これらの化合物、異性体および塩は、この局面において好ましい。式中：

R^1 は、必要に応じて、置換アリールまたはヘテロアリールであり、好ましくは、フェニル、置換フェニルまたはピリジニル (特に、3 - クロロフェニル、4 - フルオロフェニル、4 - ヒドロキシフェニル、3 - メチルフェニル、ピリジン - 2 - イルまたはピリジン - 3 - イル) であり；そして、

R_3 は、必要に応じて、置換アリールであるか、または必要に応じて、置換ヘテロアリール (特に、フェニル、4 - フルオロフェニル、4 - シアノフェニル、4 - メトキシフェニル、4 - メチルフェニル、イソキサゾール - 5 - イル、チオフェン - 2 - イルまたは 5 - メチル - チオフェン - 2 - イル) である。

【 0 0 2 0 】

なお別の局面において、本発明は、薬学的に受容可能な賦形剤を含有する薬学的処方物、および心臓病の処置方法に関し、各々は、治療有効量の式 I によって表される化合物、または 1 つの立体異性体、もしくは立体異性体の混合物、もしくはその薬学的に受容可能な塩を必要とする。式中：

R^1 は、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリールまたは置換ヘテロアリールであり；

R^2 は、アセチル、アセチルアミノ、アセチレン、アルコキシカルボニル、カルボサミド (c a r b o x a m i d o) 、シアノ、ハロ、ヘテロアリール、水素、ニトリル、ニトロまたはトルフルオロメチルであり；そして、

R^3 は、アリール、置換アリール、ヘテロアリールまたは置換ヘテロアリールである。上記の好ましい化合物、異性体および塩は、この局面において好ましい。式中：

・ R^1 は、置換フェニル (特に、4 - フルオロフェニル) であり、 R^2 は、ニトロであり；

・ R^1 は、ヘテロアリール (特に、ピリジン - 3 - イル) であり、 R^2 は、フルオロであり；

・ R^1 は、ヘテロアリール (特に、ピリジン - 3 - イル) であり、 R^2 は、ニトロであり、特に、 R^3 は、フェニル、4 - フルオロフェニル、4 - シアノフェニル、4 - メトキシフェニルまたは 4 - メチルフェニルである。

【 0 0 2 1 】

さらなる局面において、本発明は、ミオシン（特に、ミオシンⅠⅠⅠ、心臓ミオシンまたは心臓ミオシン）に結合する化合物（例えば、本発明の化合物を置換する化合物または本発明の化合物の結合と競合する化合物）についてスクリーニングする方法を提供する。この方法は、本発明の標識された化合物と、ミオシンと、少なくとも１種の候補薬剤とを組み合わせる工程、およびこの候補薬剤のミオシンへの結合を決定する工程を包含する。

【００２２】

さらなる局面において、本発明は、ミオシンの活性化のモジュレーターについてスクリーニングする方法を提供する。この方法は、本発明の化合物と、ミオシンと、少なくとも１種の候補薬剤とを組み合わせる工程、およびミオシンの活性化に対するこの候補薬剤の効果を決定する工程を包含する。

10

【００２３】

他の局面および実施形態は、以下の詳細な説明から、当業者に明らかである。

【００２４】

（詳細な説明）

本明細書中で使用される場合、以下の単語および句は、一般に、それらを使用する文脈が他に示す範囲以外は、以下に記載される意味を有することが意図される。以下の略語および用語は、全体を通して、指定された意味を有する：

A c = アセチル

B o c = t - ブチルオキシカルボニル

20

c - = シクロ

C B Z = カルボベンゾキシ = ベンジルオキシカルボニル

D C M = ジクロロメタン = 塩化メチレン = CH_2Cl_2

D I E A = N , N - ジイソプロピルエチルアミン

D M F = N , N - ジメチルホルムアミド

D M S O = ジメチルスルホキシド

E t = エチル

E Y O A c = 酢酸エチル

E t O H = エタノール

G C = ガスクロマトグラフィー

30

h = 時間

M e = メチル

m i n = 分

m L = ミリリットル

P h = フェニル

P y B r o P = ブロモ - トリス - ピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート

r t = 室温

s - = 第二級

t - = 第三級

T F A = トルフルオロ酢酸

40

T H F = テトラヒドロフラン

T L C = 薄層クロマトグラフィー。

【００２５】

用語「必要に応じた」または「必要に応じて」は、続いて記載される事象および環境が生じても生じなくてもよいことを意味し、その記載が、この事象および環境が生じる例およびこの事象および環境が生じない例を包含することを意味する。例えば、「必要に応じて置換されたアルキル」は、以下に定義されるように、「アルキル」または「置換アルキル」のいずれかを意味する。１種以上の置換基を含む任意の基に関して、このような基が、立体的に非実用的であり、合成に適切ではなく、かつ／または生得的に不安定である、いかなる置換も置換パターン（例えば、置換アルキルは、必要に応じて置換されたシクロ

50

アルキル基を含み、次いで、これは、潜在的に無限に、必要に応じて置換されたアルキル基を含むように定義される)をも導入することを意図しないことが、当業者によって理解される。

【0026】

「アルキル」は、直鎖、分枝鎖、または環状の炭化水素構造およびそれらの組み合わせを包含することが意図される。低級アルキルとは、1～5個の炭素原子のアルキル基をいう。低級アルキル基の例としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、*s*-ブチルおよび*t*-ブチルなどが挙げられる。好ましいアルキル基は、 C_{20} またはそれより小さいアルキル基である。より好ましいアルキル基は、 C_{13} またはそれより小さいアルキル基である。なおより好ましいアルキル基は、 C_6 およびそれより小さいアルキル基である。シクロアルキルは、アルキルのサブセットであり、3～13個の炭素原子の環状炭化水素基を含む。シクロアルキル基の例としては、*c*-プロピル、*c*-ブチル、*c*-ペンチル、ノルボルニル、アダマンチルなどが挙げられる。この適用において、アルキルとは、アルカニル残基、アルケニル残基およびアルキニル残基をいい；これは、シクロヘキシルメチル、ビニル、アリル、イソプレニルなどを含むことが意図される。アルキレンは、アルキルの別のサブセットであり、アルキルと同じ残基であるが、2個の結合点を有する残基をいう。アルキレンの例としては、エチレン($-CH_2CH_2-$)、プロピレン($-CH_2CH_2CH_2-$)、ジメチルプロピレン($-CH_2C(CH_3)_2CH_2-$)およびシクロヘキシルプロピレン($-CH_2CH_2CH(C_6H_{13})-$)が挙げられる。特定数の炭素を有するアルキル残基を命名する場合、その特定数の炭素を有する全ての幾何異性体が包含されることが意図される。従って、例えば、「ブチル」は、*n*-ブチル、*sec*-ブチル、イソブチルおよび*t*-ブチルを含むことが意図され；「プロピル」は、*n*-プロピルおよびイソプロピルを含む

用語「アルコキシ」または「アルコキシル」とは、基-O-アルキルをいい、好ましくは酸素を介してその親構造に結合した、1～8個の、直鎖、分枝鎖、環状構成およびそれらの組み合わせの炭素原子を含む。例としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、シクロプロピルオキシ、シクロヘキシルオキシなどが挙げられる。低級アルコキシとは、1～4個の炭素原子を含む基をいう。

【0027】

用語「置換アルコキシ」とは、基-O-(置換アルキル)を言う。一つの好ましい置換アルコキシ基は、「ポリアルコシキ」または-O-(必要に応じて置換されたアルキレン)-(必要に応じて置換されたアルコシキ)であり、 $-OCH_2CH_2OCH_3$ のような基およびポリエチレングリコールおよび $-O(CH_2CH_2O)_xCH_3$ のようなグリコールエーテル(ここで、*x*は約2～20の整数であり、好ましくは約2～10、そしてより好ましくは約2～5)を含む。別の好ましい置換されたアルコキシ基は、ヒドロキシアルコキシまたは $-OCH_2(CH_2)_yOH$ であり、ここで*y*は約1～10の整数であり、好ましくは約1～4である。

【0028】

「アシル」は、カルボニル官能性により親構造に結合した直鎖構造、分枝構造、環状構造、飽和、不飽和および芳香族ならびにそれらの組み合わせの1～10個の炭素原子の基を言う。アシル残基中の1つ以上の炭素は、親への結合がカルボニルに残っている限り、窒素、酸素または硫黄により置換され得る。例としては、アセチル、ベンゾイル、プロピオニル、イソブチリル、*t*-ブトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニルなどが挙げられる。「低級アシル」とは、1～4個の炭素を含む基を言い、そして「アシルオキシ」とは、O-アシル基を言う。

【0029】

用語「アミノ」とは、 $-NH_2$ 基を言う。用語「置換アミノ」とは、 $-NHR$ 基または $-NRR$ 基を言い、ここで各*R*は、以下の基からそれぞれ選択される：必要に応じて置換されたアルキル、必要に応じて置換されたアルコキシ、必要に応じて置換されたアミノ、必要に応じて置換されたアリール、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて

10

20

30

40

50

置換されたヘテロシクリル、アシル、アルコキシカルボニル、スルファニル、スルフィニルおよびスルフォニル（例えば、ジエチルアミノ、メチルスフォニルアミノ、フラニル - オキシ - スルフォンアミノ）。

【 0 0 3 0 】

「アリアル」および「ヘテロアリアル」は、O、NまたはSから選択される0～4個のヘテロ原子を含む5、6、または7員環芳香族環またはヘテロ芳香族環；O、NまたはSから選択される0～4個（またはそれ以上）のヘテロ原子を含む二環式9または10員環芳香族環系またはヘテロ芳香族環系；あるいはO、NまたはSから選択される0～4個（またはそれ以上）のヘテロ原子を含む三環式12または14員環の芳香族環系またはヘテロ芳香族環系を意味する。芳香族の6～14員環芳香族炭素環式環としては、例えば、フェニル、ナフタレン、インダン（indane）、テトラリン、およびフルオレンが挙げられ、そして5～10員環の芳香族複素環としては、例えば、イミダゾール、オキサゾール、イソキサゾール、オキサジアゾール、ピリジン、インドール、チオフェン、ベンゾピラノン、チアゾール、フラン、ベンズイミダゾール、キノリン、イソキノリン、キノキサリン、ピリミジン、ピラジン、テトラゾールおよびピラゾールが挙げられる。

10

【 0 0 3 1 】

「アラルコキシ」とは、-O-アラルキル基を言う。同時に、「ヘテロアラルコキシ」とは、-O-ヘテロアルキル基を言う；「アリアルオキシ」とは、-O-アリアルを言う；そして「ヘテロアリアルオキシ」は、-O-ヘテロアリアル基を言う。

【 0 0 3 2 】

「アラルキル」とは、アリアル部分がアルキル残基により親構造に結合されている残基を言う。例としては、ベンジル、フェネチル、フェニルビニル、フェニルアリルなどが挙げられる。「ヘテロアラルキル」は、ヘテロアリアル部分が、アルキル残基により親構造に結合されている残基を言う。例としては、フラニルメチル、ピリジニルメチル、ピリミジニルエチルなどが挙げられる。

20

【 0 0 3 3 】

「ATPase」とは、ATPを加水分解する酵素を言う。ATPaseとしては、ミオシンのような分子モーターを含むタンパク質が挙げられる。

【 0 0 3 4 】

「ハロゲン」または「ハロ」とは、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を言う。フッ素、塩素および臭素が好ましい。ジハロアリアル、ジハロアルキル、トリハロアリアルなどは、複数のハロゲンで置換されるが、複数の同じハロゲンを必要としないアリアルおよびアルキルを言い；従って、4-クロロ-3-フルオロフェニルは、ジハロアリアルの範囲内である。

30

【 0 0 3 5 】

「複素環」は、1～4個の炭素がヘテロ原子（例えば、酸素、窒素または硫黄）により置換されたシクロアルキル残基または、アリアル残基を意味する。本発明の範囲内に含まれる複素環の例としては、イミダゾリン、ピロリジン、ピラゾール、ピロロール、インドール、キノリン、イソキノリン、テトラヒドロイソキノリン、ベンゾフラン、ベンゾジオキサン、ベンゾジオキソール（置換基として生じた場合、一般的に、メチレンジオキシフェニルと言われる）、テトラゾール、モルフォリン、チアゾール、ピリジン、ピリダジン、ピリミジン、チオフェン、フラン、オキサゾール、オキサゾリン、イソキサゾール、オキサジアゾール、ジオキサン、テトラヒドロフランなどが挙げられる。「N-ヘテロシクリル」とは、置換基残基としての窒素含有ヘテロシクリルを言う。用語ヘテロシクリルは、ヘテロシクリルのサブセットであるヘテロアリアルを含む。N-ヘテロシクリル残基の例としては、4-モリフォリニル、4-チオモリフォリニル、1-ピペリジニル、1-ピロリジニル、3-チアゾリジニル、ピペラジニルおよび4-(3,4-ジヒドロベンズオキサジニル)が挙げられる。置換ヘテロシクリルの例としては、4-メチル-1-ピペラジニルおよび4-ベンジル-1-ピペリジニルが挙げられる。

40

【 0 0 3 6 】

50

「異性体」は、同じ分子式を有する、異なる化合物である。「立体異性体」は、原子が空間に配列された様式のみが異なる異性体である。「エナンチオマー」は、重ね合わせ可能でない互いの鏡像である立体異性体の対である。エナンチオマーの対の1:1混合物は、「ラセミ」混合物である。用語「(±)」は、適切な、ラセミ混合物を示すために使用される。「ジアステレオマー」は、少なくとも2つの非対称の原子を有する立体異性体であるが、これらは互いの鏡像ではない。絶対的立体配置は、Cahn-Ingold-Prelog R-S系に従って特定される。化合物が、純粋なエナンチオマーである場合、各キラル炭素での立体異性体は、RまたはSのいずれかによって特定され得る。絶対的配置が未知である分離された化合物は、方向(右旋性または左旋性)に依存して、(+)または(-)と示され得、ここでこれらはナトリウムのD線の波長で直線偏光を回転する。本明細書中に記載される特定の化合物は、1つ以上の不斉中心を含み、従って、絶対立体配置の用語において、(R)-または(S)-として定義され得るエナンチオマー、ジアステレオマー、および他の立体異性体形態を生じ得る。本発明は、全てのこのような可能性のある異性体(ラセミ混合物、必要に応じて純粋な形態および中間体混合物を含む)を含むことが意味される。必要に応じて、活性(R)-異性体および活性(S)-異性体は、キラルシントムまたはキラル試薬を用いて調製され得るか、または従来技術を用いて分離され得る。本明細書中に記載された化合物がオレフィン二重結合または幾何学的非対称の他の中心を含み、他の方法で特定されない場合、化合物がE幾何学異性体およびZ幾何学異性体の両方を含むことが意図される。同様に、全ての互変異性形態がまた、含まれることが意図される。

10

20

【0037】

用語「薬剂的に受容可能なキャリア」または「薬学的に受容可能な賦形剤」としては、ありとあらゆる溶媒、分散媒体、コーティング剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張性剤および吸収遅延剤などが挙げられる。薬学的に活性な物質に対するこのような媒体および薬剤の使用は、当該分野で周知である。いくつかの従来の媒体または薬剤が、活性成分と不適合である場合を除いて、治療組成物におけるその使用は企図される。補充の活性成分はまた、組成物中に取り込まれ得る。

【0038】

用語「薬学的に受容可能な塩」とは、本発明の化合物の生物学的有効性および特性を保持する塩であって、生物学的にもその他でも有害でない塩をいう。多くの場合、本発明の化合物は、アミノ基および/もしくはカルボキシル基またはそれらに類似の基の存在によって、酸塩および/または塩基塩を形成し得る。薬学的に受容可能な酸付加塩は、無機酸および有機酸を用いて形成され得る。塩を誘導し得る無機酸としては、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などが挙げられる。塩を誘導し得る有機酸としては、例えば、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などが挙げられる。薬学的に受容可能な塩基付加塩は、無機塩基および有機塩基を用いて形成され得る。塩を誘導し得る無機塩基としては、例えば、ナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガン、アルミニウムなどが挙げられ、特に好ましいのは、アンモニウム塩、カリウム塩、ナトリウム塩、カルシウム塩およびマグネシウム塩である。塩を誘導し得る有機塩基としては、例えば、1級アミン、2級アミン、および3級アミン、置換アミン(天然に存在する置換アミンを含む)、環状アミン、塩基性イオン交換樹脂などが挙げられ、具体的には、例えば、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、およびエタノールアミンである。

30

40

【0039】

「置換(された)」アルキル、アリール、ヘテロアリールおよびヘテロシクリルとは、それぞれ、1つ以上(約5まで、好ましくは約3まで)の水素原子が、以下の群から独立して選択される置換基により置き換えられる、アルキル、アリール、ヘテロアリール、お

50

よびヘテロシクリルをいう：必要に応じて置換されたアルキル（例えば、フルオロアルキル）、必要に応じて置換されたアルコキシ、アルキレンジオキシ（例えば、メチレンジオキシ）、必要に応じて置換されたアミノ（例えば、アルキルアミノおよびジアルキルアミノ）、必要に応じて置換されたアミジノ、必要に応じて置換されたアリール（例えば、フェニル）、必要に応じて置換されたアラルキル（例えば、ベンジル）、必要に応じて置換されたアリールオキシ（例えば、フェノキシ）、必要に応じて置換されたアラルコキシ（例えば、ベンジロキシ）、カルボキシ（ $-COOH$ ）、カルボアルコキシ（すなわち、アシルオキシまたは $-OOCR$ ）、カルボキシアルキル（すなわち、エステルまたは $-COOR$ ）、カルボキサミド、アミノカルボニル、ベンジロキシカルボニルアミノ（ CBZ -アミノ）、シアノ、カルボニル、ハロゲン、ヒドロキシ、必要に応じて置換されたヘテロアリール、必要に応じて置換されたヘテロアラルキル、必要に応じて置換されたヘテロアリールオキシ、必要に応じて置換されたヘテロアラルコキシ、ニトロ、スルファニル、スルフィニル、スルホニル、およびチオ。

10

【0040】

用語「スルファニル」とは、以下の基： $-S-$ （必要に応じて置換されたアルキル）、 $-S-$ （必要に応じて置換されたアリール）、 $-S-$ （必要に応じて置換されたヘテロアリール）、および $-S-$ （必要に応じて置換されたヘテロシクリル）をいう。

【0041】

用語「スルフィニル」とは、以下の基： $-S(O)-H$ 、 $-S(O)-$ （必要に応じて置換されたアルキル）、 $-S(O)-$ （必要に応じて置換されたアミノ）、 $-S(O)-$ （必要に応じて置換されたアリール）、 $-S(O)-$ （必要に応じて置換されたヘテロアリール）、および $-S(O)-$ （必要に応じて置換されたヘテロシクリル）をいう。

20

【0042】

用語「スルホニル」とは、以下の基： $-S(O_2)-H$ 、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたアルキル）、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたアミノ）、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたアリール）、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたヘテロアリール）、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたヘテロシクリル）、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたアルコキシ）、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたアリールオキシ）、 $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたヘテロアリールオキシ）、および $-S(O_2)-$ （必要に応じて置換されたヘテロシクリルオキシ）をいう。

30

【0043】

用語「治療有効量」または「有効量」とは、そのような処置を必要とする哺乳動物に投与される場合に、以下に定義されるとおり、処置を行うのに十分である式Ⅰの化合物の量をいう。治療有効量は、処置される被験体および疾患状態、被験体の体重および年齢、疾患状態の重篤度、選択された式Ⅰの特定の化合物、投与のタイミング、投与様式などに従う投薬レジメンに依存して変動し、これらの全ては、当業者により容易に決定され得る。

【0044】

用語「処置」または「処置すること」は、哺乳動物における疾患の任意の処置を意味し、これは、以下を含む：

- a) 疾患を予防すること、すなわち、疾患の臨床的症状を発生させないこと；
- b) 疾患を抑制すること、すなわち、臨床的症状の発生を遅らせるかまたは停止すること；および/または
- c) 疾患を軽減すること、すなわち、臨床的症状の後退を引き起こすこと。

40

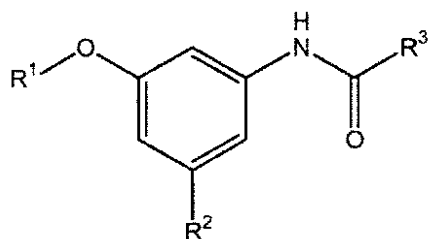
【0045】

（本発明の化合物）

本発明は、以下のような式Ⅰ：

【0046】

【化6】



式 I

10

により表される化合物に関し、この化合物は、（例えば、心臓ミオシンの活性を刺激するか、そうでなければ増強することによる）心筋節の選択的モジュレーターであり、ここで、

R¹ は、アルキル、置換アルキル、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、および置換ヘテロアリールからなる群より選択され；

R² は、以下の基：アセチル、アセチルアミノ、アセチレン、アルコキシカルボニル、カルボキサミド、シアノ、ハロ、ヘテロアリール、水素、ニトリル、ニトロ、およびトリフルオロメチルより選択され；そして

R³ は、アリール、置換アリール、ヘテロアリール、および置換ヘテロアリールからなる群より選択され；

20

この化合物は、その単一の立体異性体、立体異性体の混合物、および薬学的に受容可能な塩を含む。式 I の化合物は、本発明の処置方法の実施において、および本発明の薬学的祖処方物の製造における活性因子として、そしてこのような活性因子の合成における中間体として有用である。

【0047】

前述の属およびその亜属内に入る化合物は、心筋節のモジュレーターとして有用である。これらの化合物のいくつかは、市販の化合物ライブラリーから得られた。特許請求の範囲における但し書きは、物質の組成物として特許可能である主題と、その治療的/薬学的有用性の出願人の認識に基づいて特許請求され得る主題とを区別することを意味する。

30

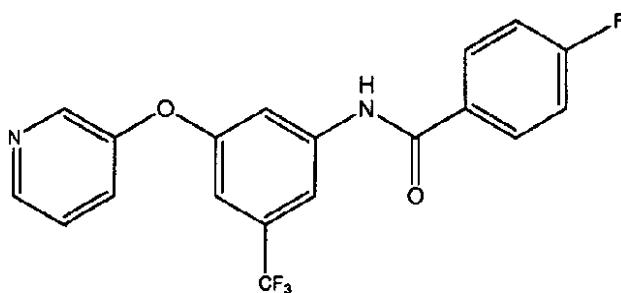
【0048】

（命名法）

式 I の化合物は、以下に記載されるように（例えば、AutoNom version 2.1 を用いて）命名および番号付けされ得る。例えば、以下の式 I A の化合物：

【0049】

【化7】



式 IA

40

すなわち、R¹ がピリジン - 3 - イルであり、R² がトリフルオロメチルであり、そして R³ が 4 - フルオロフェニルである、式 I による化合物は、4 - フルオロ - N - [3 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - 5 - トリフルオロメチル - フェニル] - ベンズアミドと命名され得る。

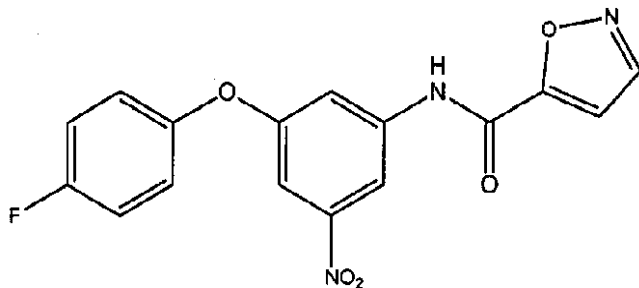
【0050】

50

式 I B の化合物：

【 0 0 5 1 】

【 化 8 】



式 IB

すなわち、 R^1 が 4 - フルオロフェニルであり、 R^2 がニトロであり、そして R^3 がイソキサリル - 5 - イルである、式 I による化合物は、イソオキサゾール - 5 - カルボン酸 [3 - (4 - フルオロ - フェノキシ) - 5 - ニトロ - フェニル - アミドと命名され得る。

【 0 0 5 2 】

(式 I の化合物の合成)

本発明の化合物は、当該分野で周知の技術を利用して合成され得る。例えば、K i s l i t s i n ら (2 0 0 0) J . O r g . C h e m . 6 5 (2 5) , 8 4 3 0 - 8 4 3 8 ; S h k i n y o v a ら (2 0 0 0) T e t r a h e d r o n L e t t e r s 4 1 (2 5) , 4 9 7 3 - 4 9 7 5 ; S h e v e l e v ら (1 9 9 5) M e n d e l e e v C o m m u n . (1 9 9 5) , (4) , 1 5 7 - 8 ; K a m i f u j i ら (1 9 9 3) 日本国公開特許公報 J P 0 5 0 4 3 5 5 6 ; および C u i (2 0 0 1) ドイツ国特許出願第 2 0 0 0 - 1 0 0 1 0 0 0 2 号 (これらの各々は、本明細書中に参考として援用される) を参照のこと。

【 0 0 5 3 】

式 I の化合物の合成は、反応スキーム 1 を参照して以下に例示される。

【 0 0 5 4 】

(合成反応パラメーター)

そうでないと指定しない限り、本明細書中に記載の反応は、大気圧で、一般に - 1 0 ~ 1 1 0 の温度範囲内で起こる。さらに、実施例中で用いられる場合または他に指定される場合を除いて、反応時間および反応条件は、近似値であり、例えば、ほぼ大気圧にて、約 - 1 0 ~ 約 1 1 0 の温度範囲内で、約 1 時間 ~ 約 2 4 時間にわたって起こることが意図される；反応は、一晚 (平均約 1 6 時間) 行われる。

【 0 0 5 5 】

用語「溶媒」。「有機溶媒」または「不活性溶媒」は各々、それに関連して記載される反応条件下で不活性な溶媒 [例えば、ベンゼン、トルエン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン (「 T H F 」) 、ジメチルホルムアミド (「 D M F 」) 、クロロホルム、塩化メチレン (すなわち、ジクロロメタン) 、ジエチルエーテル、メタノール、ピリジンなどが挙げられる] を意味する。そうでないと指定しない限り、本発明の反応において用いられる溶媒は、不活性な有機溶媒である。

【 0 0 5 6 】

用語「 q . s . 」は、示した機能を達成するに十分な量 (例えば、溶液を所望の容積 (すなわち、1 0 0 %) にする量) を添加することを意味する。

【 0 0 5 7 】

本明細書中に記載される化合物および中間体の単離および精製は、所望の場合、任意の適切な分離手順または精製手順 (例えば、濾過、抽出、結晶化、カラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィーもしくは厚層クロマトグラフィー (t h i c k - l a y e r c h r o m a t o g r a p h y) 、またはこれらの手順の組み合わせ) によってもたらされ得る。適切な分離手順および単離手順の特定の例は、本明細書中以下の実施例を参照

10

20

30

40

50

することによって得られ得る。しかし、他の等価な分離手順または単離手順もまたもちろん用いられ得る。

【 0 0 5 8 】

望ましい場合、(R) 異性体および(S) 異性体は、当業者に公知である方法（例えば、ジアステレオマーの塩または錯体（これらは、例えば、結晶化によって分離され得る）を形成することによって；ジアステレオマー誘導体（これらは、例えば、結晶化、気 - 液クロマトグラフィーまたは液体クロマトグラフィーによって分離され得る）の形成によって；1つのエナンチオマーの、エナンチオマー特異的試薬との選択的反応（例えば、酵素による酸化または還元）、および引き続く修飾エナンチオマーおよび非修飾エナンチオマーの分離；あるいはキラルな環境（例えば、キラルな支持体上（例えば、キラルリガンドが結合したシリカ）またはキラル溶媒の存在下）での気 - 液クロマトグラフィーまたは液体クロマトグラフィー）によって、分解され得る。例えば、式 I の化合物は、低級アルコールに溶解され得、そしてヘキサン中 70 % EtOAc で 60 分間条件付けされた、Chiralpak AD (205 x 20 mm) カラム (Chiral Technologies, Inc.) に配置され得る。所望のエナンチオマーが、上記の分離手順の 1 つによって、別のキラル実体に転換される場合、所望のエナンチオマー形態を放出するために、さらなる工程が必要とされ得ることもまた、理解される。あるいは、特定のエナンチオマーは、光学活性な試薬、基質、触媒または溶媒を使用して、あるいは 1 つのエナンチオマーを、不斉変換によって他方に転換することによって、不斉合成によって合成され得る。

10

20

【 0 0 5 9 】

（反応スキームの簡単な説明）

反応スキーム 1 は、置換ニトロ - ベンゼンから出発する、式 I の化合物の合成を示し、この置換ニトロ - ベンゼンは、R¹ アルコールと縮合され、必要に応じて、R² 置換基を導入するように誘導体化され、対応するアミノ - ベンゼンに還元され、そして酸性化されて、式 I を与える。

【 0 0 6 0 】

反応スキーム 1 を参照して記載される試薬、工程および / または条件の 1 つ以上は、種々の置換基（例えば、R¹ ~ R³ において）に適合するように、調節を必要とし得ることが、当業者によって理解される。

30

【 0 0 6 1 】

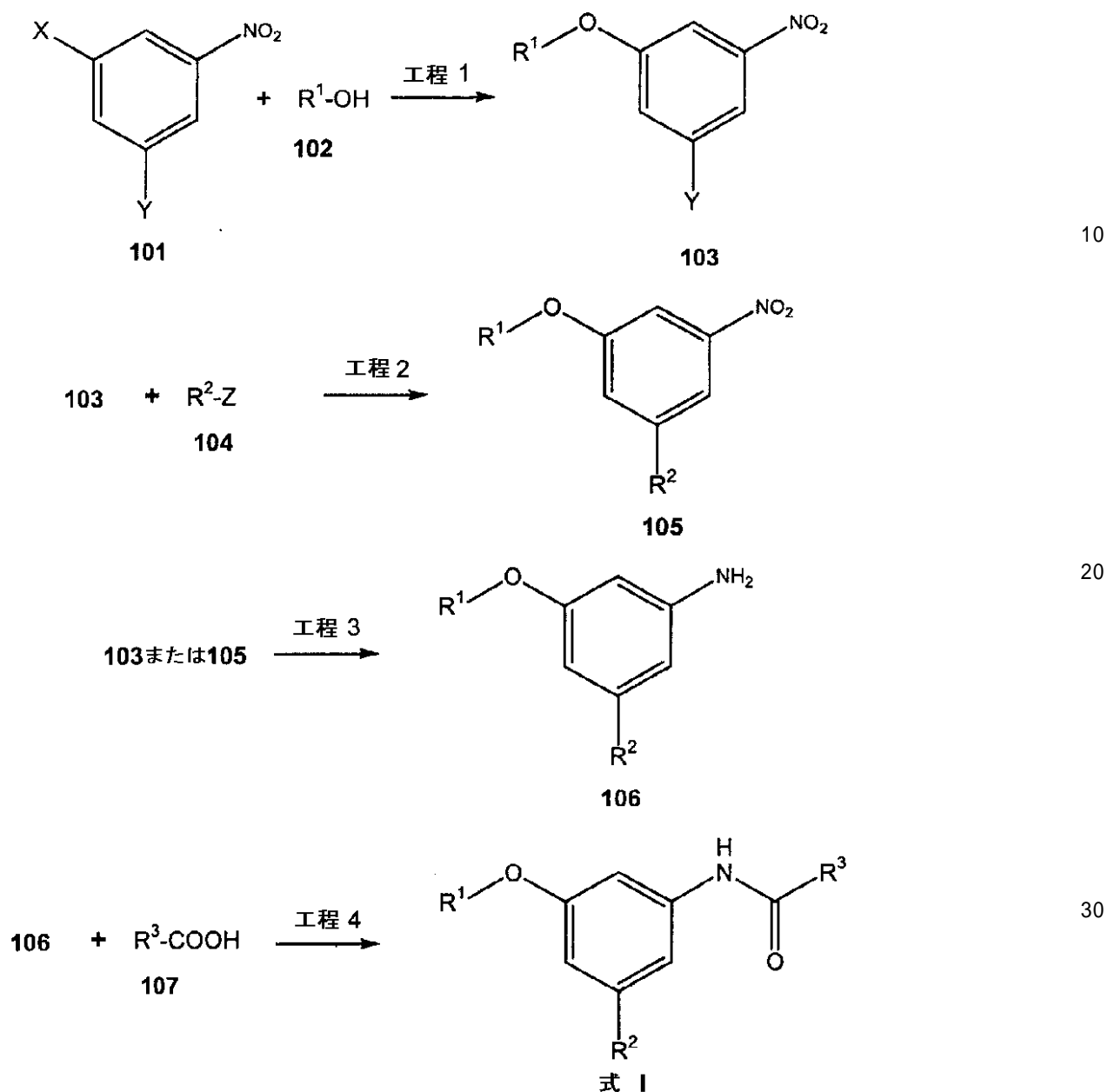
（出発物質）

式 101 のニトロ - ベンゼン（例えば、3 - フルオロ - 5 - ヨード - ニトロ - ベンゼンおよび 3, 5 - ジフルオロ - ニトロ - ベンゼン）、式 102 の R¹ - アルコール（例えば、4 - フルオロ - フェノールおよびピリジン - 3 - オール）などは、例えば、Aldrich Chemical Company, Milwaukee, WI から市販されている。他の反応物は、同様に市販されているか、または当業者によって、通常使用される合成方法論を使用して、容易に調製され得る。

【 0 0 6 2 】

【化 9】

反応スキーム 1



(式 103 の構成) 反応スキーム 1 の工程 1 を参照すると、式 101 のニトロ - ベンゼン (ここで、X は F または NO₂ であり、そして Y は、アセチル、アセチルアミノ、CF₃、C(O)CH₃、C(O)O - アルキル、CN、H、ハロ、NO₂ などである) および式 102 のアルキル - アルコール、アリール - アルコール、またはヘテロアリール - アルコールを、溶媒 (例えば、DMF) 中で、塩基 (例えば、K₂CO₃) の存在下で接触させる。この溶液を、室温 ~ 150 で、1 ~ 96 時間攪拌し、式 103 の対応するアルコキシ - ニトロ - ベンゼン、アリールオキシ - ニトロベンゼンまたはヘテロアリールオキシ - ニトロベンゼンを得、これを、好都合なように単離および精製する。式 103 の化合物は、反応スキーム 1 の工程 2 に持ち越され得るか、または反応スキーム 1 の工程 3 に直接持ち越され得る。

【0063】

(式 105 の調製)

反応スキーム 1、工程 2 を参照して、式 103 のアルコキシ - ニトロ - ベンゼン、アリールオキシ - ニトロ - ベンゼン、ヘテロアリールオキシ - ニトロ - ベンゼンを、式 105

の対応する R^2 置換ニトロベンゼンに変換することは、例えば、以下のように、種々の反応物（式 104 として一般的に示される）および R^2 の特性に依存する条件に伴って生じる：

・ R^2 がアセチレンであるとき、式 103 の化合物（ここで、 Y は I または Br である）を、パラジウム（例えば、 $PdOAc$ ）および銅（例えば、 CuI ）触媒、塩基（例えば、ジエチルアミン）および式 104 のトリメチルシリルアセチレンと接触させ、その後、フッ素供給源（例えば、テトラブチルアンモニウムフロリド「 $TBAF$ 」）を有するトリメチルシリルを除去する。その反応が、室温 $\sim 150^\circ C$ にて 1 \sim 48 時間にわたって生じるか、または、マイクロ波照射を伴って、1 \sim 30 分間に亘って生じ、式 105 の対応するアセチレン置換ニトロベンゼンを生じる。あるいは、この反応は、式 I の化合物において実施され得、ここで、 R^2 が I または Br である（例えば、ここで、式 103 の化合物は、反応スキーム 1 の工程 3 に直接持ちこられる）。

10

・ R^2 がヘテロアリールであり、式 103 の化合物（ここで、 Y は I または Br である）は、パラジウム触媒の存在下で、式 104 のヘテロアリール有機金属（例えば、有機亜鉛、有機ボロン酸、または有機錫）と接触させる。この反応は、室温 $\sim 150^\circ C$ にて 1 \sim 48 時間にわたって生じるか、またはマイクロ波照射を伴って、1 \sim 30 分間にわたって、式 105 の対応するヘテロアリール置換ニトロベンゼンを生じる。あるいは、この反応は、式 I の化合物において実施され、ここで、 R^2 は、 I または Br である（例えば、ここで、式 103 の化合物は、反応スキーム 1、工程 3 に直接もちこられる）。

【0064】

20

式 105 の R^2 置換ニトロベンゼンは、従来法で単離および精製され得るか、または精製なしでもちこされ得る。

【0065】

（式 106 の調製）

反応スキーム 1、工程 3 を参照して、式 105 のニトロベンゼンは、典型的な条件（例えば、 H_2 、 NH_4COOH 、または Zn/HCl または $SnCl_2$ を伴った Pd/C ）下で還元される。この溶液を、室温 $\sim 150^\circ C$ で 1 \sim 48 時間に亘って攪拌し、式 106 の対応するアミノベンゼンを生じ、従来法で、単離および精製される。

【0066】

（式 I の調製）

30

反応スキーム 1、工程 4 を参照して、式 106 のアミノベンゼンを、当業者によって容易に判断され得る標準のアミドカップリング条件下で、一般に使用される合成方法論を使用して、アリール酸またはヘテロアリール酸または式 107 の酸塩化物と接触させ、式 I に一致する化合物を生じ、従来法で単離および精製される。

【0067】

上述の本発明のプロセスによって調製された化合物は、例えば、式 106 または 107 の検出可能な量の存在によって同定され得る。医薬品は、承認および/またはマーケティングの前に薬局方規格に適合しなくてはならず、そして、合成試薬（例えば、4 - フルオロ - 安息香酸）および前駆物質（例えば、式 106）は、薬局方規格によって処方される制限を越えてはならず、本発明のプロセスによって調製される最終化合物は、存在するこのような物質（例えば、1 % を越えない単一の不純物を有さない、95 % 純度の範囲のレベルで）を少量有し得るが、検出されない。これらのレベルは、例えば、発光分光法によって検出され得る。その存在が本発明の合成プロセスの使用を検出するための方法としてさらに開示される、このような物質の存在について医薬化合物の純度をモニタリングすることが重要である。

40

【0068】

（好ましいプロセスおよび最終工程）

式 106 の代替的アミノベンゼン化合物は、アリール酸またはヘテロアリール酸または式 107 の酸塩化物で濃縮され、式 I の対応する化合物を得る。

【0069】

50

式 I の化合物の異性体のラセミ化混合物をクロマトグラフィーカラムにセットし、(R) - エナンチオマーおよび (S) - エナンチオマーに分離する。

【 0 0 7 0 】

式 I の化合物を薬学的に受容可能な酸に接触し、対応する塩付加酸を生成する。

【 0 0 7 1 】

式 I の薬学的に受容可能な塩付加酸を塩基に接触させ、式 I の対応する遊離塩基を生成する。

【 0 0 7 2 】

(好ましい化合物)

好ましい化合物、薬学的処方物、製造方法および本発明の使用は、以下の組み合わせおよび式 I の変更可能な置換基 (それぞれ選好順序で増加する部分群) である :

・ R ¹ は、必要に応じてアリールまたはヘテロアリールで置換される。

【 0 0 7 3 】

・特に、ここで、必要に応じて置換されるアリールがフェニルもしくは置換フェニルであり、そして / またはヘテロアリールがピリジニルである。

【 0 0 7 4 】

・特にピリジン - 2 - イルまたはピリジン - 3 - イル。

【 0 0 7 5 】

・好ましくは、R ¹ はピリジン - 3 - イルであり、R ² はフルオロである。

【 0 0 7 6 】

・特に、フェニルは、必要に応じて低級アリール、ハロまたはヒドロキシで置換される。

【 0 0 7 7 】

・好ましくは、3 - クロロフェニル、4 - フルオロフェニル、4 - ヒドロキシフェニルおよび 3 - メチルフェニルである。

【 0 0 7 8 】

・より好ましくは、4 - フルオロフェニルである。

【 0 0 7 9 】

・なおより好ましくは、R ¹ は 4 - フルオロフェニルであり、R ² はニトロである。

【 0 0 8 0 】

・最も好ましくは、R ¹ はピリジン - 2 - イル、ピリジン - 3 - イルまたは 4 - フルオロフェニルである。

【 0 0 8 1 】

・R ² はアセチル、アセチレン、アルキルエステル、シアノ、ハロであり、必要に応じてヘテロアリール、ヒドロゲン、ニトロ (上記および特許請求の範囲の中に同定される但し書きの対象) またはトリフルオロメチルで置換される。

【 0 0 8 2 】

・特に、ここで、ハロはフルオロであり ; ここでアルキルエステルはエトキシカルボニルであり ; そして / またはここでヘテロアリールはオキサゾール、ピラジニル、ピリジニル、ピリミジニル、テトラゾリルもしくはチアゾリルであり、必要に応じて低級アルコキシまたはオキソで置換される。

【 0 0 8 3 】

・特に、ここで、必要に応じて置換されるヘテロアリールはオキサゾール - 2 - イル、ピラジン - 2 - イル、ピリジン - 1 - イル (特に、3 - メトキシ - 2 - オキソ - 2 H - ピリジン - 1 - イル)、ピリジン - 2 - イル、ピリミジン - 2 - イル、テトラゾール - 2 - イル (特に、1 - メトキシメトキシ - 1 H - テトラゾール - 5 - イル、2 - メトキシメトキシ - 2 H - テトラゾール - 5 - イル) またはチアゾール - 2 - イルである。

【 0 0 8 4 】

10

20

30

40

50

・最も好ましくは、 R^2 はアセチレン、シアノ、エトキシカルボニル、フルオロ、水素、ニトロ、オキサゾール - 2 - イル、ピリジン - 2 - イル、ピリミジン - 2 - イル、チアゾール - 2 - イル、またはトリフルオロメチルである。

・ R^3 は、必要に応じて置換されたアリールまたは必要に応じて置換されたヘテロアリールである。

【0085】

・特に、 R^3 が必要に応じて置換されたアリールである場合、このアリールは、必要に応じて低級アルコキシ、低級アルキル、ハロ（特に、ブromo、クロロまたはフルオロ）、ヒドロキシ、ヒドロキシ - 低級アルキルまたはニトロで置換されたフェニルである。

【0086】

・特に、3 - ブロモフェニル、4 - クロロフェニル、4 - シアノフェニル、3 - フルオロフェニル、4 - フルオロフェニル、3 - ヒドロキシフェニル、4 - ヒドロキシエチルフェニル、4 - ヒドロキシフェニル、3 - メチルフェニル、4 - メトキシフェニル、3, 4, 5 - トリメトキシフェニル、または4 - ニトロフェニルである。

【0087】

・特に、 R^3 が必要に応じて置換されたヘテロアリールである場合、このヘテロアリールは、必要に応じて低級アルキル、低級アルコキシまたはハロで置換された、ベンゾジオキソリル、フラニル、インドリル、イソキサゾリル、ピラゾリル、ピリジニルまたはチオフェニルである。

【0088】

・特に、ベンゾ[1, 3]ジオキソール - 5 - イル、フラン - 2 - イル、5 - フルオロ - 1H - インドール - 2 - イル、5 - メトキシ - 1H - インドール - 2 - イル、6 - メトキシ - 1H - インドール - 2 - イル、イソキサゾール - 5 - イル、1 - メチル - 1H - ピラゾール - 3 - イル、6 - クロロ - ピリジン - 3 - イル、5, 6 - ジクロロ - ピリジン - 3 - イル、6 - メトキシ - ピリジン - 3 - イル、ピリジン - 4 - イル、チオフェン - 2 - イル、5 - クロロチオフェン - 2 - イルまたは5 - メチルチオフェン - 2 - イルである。

【0089】

・特に、 R^3 は、置換されたアリールまたは必要に応じて置換されたヘテロアリールである。

【0090】

・特に、置換されたフェニルまたは必要に応じて置換されたイソキサゾリル、ピリジニルもしくはチオフェニルである。

【0091】

・好ましくは、3 - ヒドロキシフェニル、4 - ヒドロキシフェニル、4 - フルオロフェニル、イソキサゾール - 5 - イル、ピリジン - 3 - イル、ピリジン - 4 - イル、チオフェン - 2 - イルまたは5 - メチル - チオフェン - 2 - イルである。

【0092】

・より好ましくは、4 - フルオロフェニルである。

【0093】

・最も好ましくは、 R^1 はピリジン - 3 - イルである。

【0094】

・特に、 R^1 は、必要に応じて置換されたアリールまたはヘテロアリールである。

【0095】

・好ましくは、必要に応じて置換されたアリールは、フェニルまたは置換されたフェニルであり、そして/またはヘテロアリールはピリジニルである。

【0096】

・より好ましくは、ピリジン - 2 - イルまたはピリジン - 3 - イルである。

【0097】

・より好ましくは、低級アルキル、ハロもしくはヒドロキシで必要に応じて置換

10

20

30

40

50

されたフェニルである。

【0098】

・さらにより好ましくは、3 - クロロフェニル、4 - クロロフェニル、4 - ヒドロキシフェニルおよび3 - メチルフェニルである。

【0099】

・なおより好ましくは、4 - フルオロフェニルである。

【0100】

・最も好ましくは、 R^1 はピリジン - 2 - イル、ピリジン - 3 - イルまたは4 - フルオロフェニルである。

【0101】

・特に、 R^2 は、アセチル、アセチレン、アルキルエステル、シアノ、ハロ、必要に応じて置換されたヘテロアリアル、水素、ニトロまたはトリフルオロメチルである。

【0102】

・好ましくは、ハロはフルオロであり；アルキルエステルはエトキシカルボニルであり；そして/またはヘテロアリアルは、必要に応じて低級アルコキシまたはオキソで置換された、オキサゾリル、ピラジニル、ピリジニル、ピリミジニル、テトラゾリルもしくはチアゾリルである。

【0103】

・より好ましくは、必要に応じて置換されたヘテロアリアルは、オキサゾール - 2 - イル、ピラジン - 2 - イル、ピリジン - 1 - イル（特に、3 - メトキシ - 2 - オキソ - 2 H - ピリジン - 1 - イル）、ピリジン - 2 - イル、ピリミジン - 2 - イル、テトラゾール - 2 - イル（特に、1 - メトキシメトキシ - 1 H - テトラゾール - 5 - イル、2 - メトキシメトキシ - 2 H - テトラゾール - 5 - イル）またはチアゾール - 2 - イルである。

【0104】

・より好ましくは、 R^2 は、アセチレン、シアノ、エトキシカルボニル、フルオロ、ハロゲン、ニトロ、オキサゾール - 2 - イル、ピリジン - 2 - イル、ピリミジン - 2 - イル、チアゾール - 2 - イルまたはトリフルオロメチルである。

【0105】

・特に、 R^1 は、必要に応じて置換されたアリアルまたはヘテロアリアルである。

【0106】

・特に、必要に応じて置換されたアリアルは、フェニルまたは置換されたフェニルであり、そして/またはヘテロアリアルは、ピリジニルである。

【0107】

・好ましくは、ピリジン - 2 - イルまたはピリジン - 3 - イルである。

【0108】

・好ましくは、低級アルキル、ハロまたはヒドロキシで必要に応じて置換されたフェニルである。

【0109】

・より好ましくは、3 - クロロフェニル、4 - フルオロフェニル、4 - ヒドロキシフェニルおよび3 - メチルフェニルである。

【0110】

・さらにより好ましくは、4 - フルオロフェニルである。

【0111】

・最も好ましくは、 R^1 は、ピリジン - 2 - イル、ピリジン - 3 - イルまたは4 - フルオロフェニルである。

【0112】

・特に、 R^2 は、アセチル、アセチレン、アルキルエステル、シアノ、ハロ、必要に応じて置換されたヘテロアリアル、水素、ニトロまたはトリフルオロメチルである。

【0113】

・好ましくは、ハロはフルオロであり；アルキルエステルはエトキシカルボニルで

10

20

30

40

50

あり；そして／またはヘテロアリアルは、必要に応じて低級アルコキシまたはオキシで置換された、オキサゾリル、ピラジニル、ピリジニル、ピリミジニル、テトラゾリルまたはチアゾリルである。

【0114】

・より好ましくは、必要に応じて置換されたヘテロアリアルは、オキサゾール - 2 - イル、ピラジン - 2 - イル、ピリジン - 1 - イル（特に、3 - メトキシ - 2 - オキシ - 2 H - ピリジン - 1 - イル）、ピリジン - 2 - イル、テトラゾール - 2 - イル（特に、1 - メトキシメトキシ - 1 H - テトラゾール - 5 - イル、2 - メトキシメトキシ - 2 H - テトラゾール - 5 - イル）またはチアゾール - 2 - イルである。

【0115】

・最も好ましくは、 R^2 は、アセチレン、シアノ、エトキシカルボニル、フルオロ、水素、ニトロ、オキサゾール - 2 - イル、ピリジン - 2 - イル、ピリミジン - 2 - イル、チアゾール - 2 - イルまたはトリフルオロメチルである。

【0116】

・特に、 R^2 は、アセチル、アセチレン、アルキルエステル、シアノ、ハロ、必要に応じて置換されたヘテロアリアル、水素、ニトロまたはトリフルオロメチルである。

【0117】

・特に、ハロはフルオロであり；アルキルエステルはエトキシカルボニルであり；そして／またはヘテロアリアルは、必要に応じて低級アルコキシまたはオキシで置換された、オキサゾリル、ピラジニル、ピリジニル、ピリミジニル、テトラゾリルまたはチアゾリルである。

【0118】

・好ましくは、必要に応じて置換されたヘテロアリアルは、オキサゾール - 2 - イル、ピラジン - 2 - イル、ピリジン - 1 - イル（特に、3 - メトキシ - 2 - オキシ - 2 H - ピリジン - 1 - イル）、ピリジン - 2 - イル、ピリミジン - 2 - イル、テトラゾール - 2 - イル（特に、1 - メトキシメトキシ - 1 H - テトラゾール - 5 - イル、2 - メトキシメトキシ - 2 H - テトラゾール - 5 - イル）またはチアゾール - 2 - イルである。

【0119】

・より好ましくは、 R^2 は、アセチレン、シアノ、エトキシカルボニル、フルオロ、水素、ニトロ、オキサゾール - 2 - イル、ピリジン - 2 - イル、ピリミジン - 2 - イル、チアゾール - 2 - イルまたはトリフルオロメチルである。

・ R^1 はヘテロアリアルであり、そして R^3 は、置換されたフェニルである。

【0120】

・特に、 R^1 は、ピリジン - 3 - イルである。

【0121】

・特に、 R^2 は、アセチレン、シアノ、エトキシカルボニル、フルオロ、水素、ニトロ、オキサゾール - 2 - イル、ピリジン - 2 - イル、ピリミジン - 2 - イル、チアゾール - 2 - イルまたはトリフルオロメチルである。

【0122】

・好ましくは、 R^2 は、ニトロまたはフルオロである。

【0123】

・好ましくは、 R^3 は、4 - フルオロフェニルである。

【0124】

・特に、問題の新規組成物の場合、 R^2 は、シアノ、エトキシカルボニル、水素、フルオロ、水素、ピリジン - 2 - イル、ピラジン - 2 - イルまたはトリフルオロメチルである。

【0125】

・特に、 R^3 は、4 - フルオロフェニルである。

【0126】

・好ましくは、 R^1 は、ピリジン - 3 - イルである。

・ R¹ は置換されたフェニルであり、そして R² はニトロである。

【 0 1 2 7 】

- ・ 特に、R¹ は、4 - フルオロフェニルである。
- ・ R¹ はヘテロアリールであり、そして R² はフルオロである。

【 0 1 2 8 】

- ・ 特に、R¹ は、ピリジン - 3 - イルである。
- ・ R¹ はヘテロアリールであり、そして R² はニトロである。

【 0 1 2 9 】

- ・ 特に、R¹ は、ピリジン - 3 - イルである。

【 0 1 3 0 】

- ・ 特に、R³ は、置換されたアリールである。

【 0 1 3 1 】

- ・ 特に、R³ は、フェニル、4 - フルオロフェニル、4 - シアノフェニル、4 - メトキシフェニルまたは 4 - メチルフェニルである。

【 0 1 3 2 】

好ましい化合物の群に関して例示される場合、R³ は、必要に応じて置換されたアリール、必要に応じて置換されたヘテロアリールまたは必要に応じて置換されたヘテロアリールアミノであり、上記の基および下位基 (s u b - g r o u p) は、個々に言及され、そして本発明のさらに好ましい局面を記載するために組み合わせられ得る。

【 0 1 3 3 】

本発明の薬学的処方物、製造方法および使用方法のために (個々にまたは集合的に) 特に好ましいものは、以下である :

- ・ 4 - フルオロ - N - [ニトロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド ;

- ・ N - [3 - (4 - フルオロ - フェノキシ) - (5 - ニトロ - フェニル) - イソニコチンアミド ;

- ・ 4 - フルオロ - N - [3 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド ;

- ・ チオフェン - 2 - カルボン酸 [3 - (4 - フルオロ - フェノキシ) - 5 - ニトロ - フェニル - アミド ;

- ・ イソキサゾール - 5 - カルボン酸 [3 - (4 - フルオロ - フェノキシ) - 5 - ニトロ - フェニル - アミド ;

- ・ N - [3 - シアノ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 4 - フルオロ - ベンズアミド ;

- ・ 4 - フルオロ - N - [3 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - 5 - トリフルオロメチル - フェニル] - ベンズアミド ;

- ・ 3 - (4 - フルオロ - ベンジルアミノ) - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - 安息香酸エチルエステル ;

- ・ 5 - メチル - チオフェン - 2 - カルボン酸 [3 - ニトロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) フェニル] - アミド ;

- ・ 4 - フルオロ - N - [3 - ピリジン - 2 - イル - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド ;

- ・ 4 - フルオロ - N - [3 - ピラジン - 2 - イル - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド ;

- ・ 4 - フルオロ - N - [3 - ニトロ - 5 - (ピリジン - 2 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド ;

- ・ N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 3 - ヒドロキシ - ベンズアミド ;

- ・ N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 4 - ヒドロキシ - ベンズアミド ;

10

20

30

40

50

・ N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ニコチンアミド ; および

・ イソキサゾール - 5 - カルボン酸 [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - アミド。

【 0 1 3 4 】

本発明の新規の化合物 (それらの処方物、製造方法および使用方法を含む) として (個々におよび集合的に) より好ましいものとしては、以下が挙げられる :

・ 4 - フルオロ - N - [3 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド ;

・ チオフェン - 2 - カルボン酸 [3 - (4 - フルオロ - フェノキシ) - 5 - ニトロ - フェニル - アミド ;

・ イソキサゾール - 5 - カルボン酸 [3 - (4 - フルオロ - フェノキシ) - 5 - ニトロ - フェニル - アミド ;

・ N - [3 - シアノ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 4 - フルオロ - ベンズアミド ;

・ 4 - フルオロ - N - [3 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - 5 - トリフルオロメチル - フェニル] - ベンズアミド ;

・ 3 - (4 - フルオロ - ベンゾイルアミノ) - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - 安息香酸エチルエステル ;

・ 5 - メチル - チオフェン - 2 - カルボン酸 [3 - ニトロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) フェニル] - アミド ;

・ 4 - フルオロ - N - [3 - ピリジン - 2 - イル - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド ;

・ 4 - フルオロ - N - [3 - ピラジン - 2 - イル - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド ;

・ 4 - フルオロ - N - [3 - ニトロ - 5 - (ピリジン - 2 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド ;

・ N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 3 - ヒドロキシ - ベンズアミド ;

・ N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 4 - ヒドロキシ - ベンズアミド ;

・ N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ニコチンアミド ; および

・ イソキサゾール - 5 - カルボン酸 [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - アミド。

【 0 1 3 5 】

(有用性、試験および投与)

(有用性)

本発明の化合物は、心臓筋節に対して選択的でありかつ心臓筋節を調節し、そして心臓ミオシンに結合し、および / または心臓ミオシンの活性を増強するのに有用であり、ミオシンが A T P を加水分解する速度を増加する。この文脈で使用する場合、「調節する」は、ミオシン活性を増加するかまたは減少するかのいずれかを意味し、一方「増強する」とは、活性を増加することを意味する。本発明の化合物の投与が心臓筋繊維の収縮力もまた増加し得ることも、本発明の代表的な化合物を試験して決定されている。

【 0 1 3 6 】

本発明の化合物、薬学的処方物および方法は、心臓疾患を処置するために使用され、この心臓疾患としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない : 急性 (または代償不全) うっ血性心不全、および慢性うっ血性心不全 ; 収縮期心臓機能不全に関連する特定の疾患。さらなる治療有用性としては、心臓移植を待っている患者において心臓機能を安定化するため、およびバイパスポンプの使用後に、停止または遅くなった心臓が、正常な機

10

20

30

40

50

能を再開するのを助けるための投与が挙げられる。

【0137】

(試験)

A T P加水分解は、筋節中のミオシンによって使用され、力を生じる。従って、A T P加水分解の増加は、筋収縮の、力または速度の増加に対応する。アクチンの存在下で、ミオシンA T P a s e活性は、100倍よりも大きく刺激される。従って、A T P加水分解は、ミオシン酵素活性を測定するだけではなく、アクチンフィラメントとのその相互作用も測定する。心臓筋節を調節する化合物は、ミオシンによるA T P加水分解の速度を増加または減少によって同定され得、好ましくは、10 μ M未満(より好ましくは、1 μ M未満)の濃度で、1.4倍の増加を示す。このような活性についての好ましいアッセイは、

10

【0138】

あるいは、生化学的に機能的な筋節調製物を使用して、例えば、2000年3月29日に出願された米国出願番号09/539,164に記載されるように、インビトロのA T P a s e活性を決定し得る。この筋節の機能的生化学的ふるまい(A T P a s e加水分解のカルシウム感受性を含む)は、精製された個々の成分(特に、その調節成分およびミオシンを含む)を合わせることによって再構築され得る。別の機能的調製は、インビトロの運動アッセイである。これは、試験化合物をミオシン結合スライドに添加し、そしてミオシンで覆われたガラス表面上をスライドするアクチンフィラメントの速度を観察すること

20

【0139】

A T P加水分解のインビトロの速度は、ミオシン増強活性と相関し、これは、例えば、1999年5月18日に出願された出願番号09/314,464に記載されるように、A D Pまたはホスフェートのいずれかの産生をモニターすることによって決定され得る。A D P産生はまた、(酵素ピルビン酸キナーゼおよび乳酸デヒドロゲナーゼを使用して)N A D H酸化物にA D P産物をカップリングし、そして吸光度または蛍光のいずれかによってN A D Hレベルをモニタリングすることによってモニターされ得る(G r e e n g a r d , P . , N a t u r e 178(4534部):632-634(1956); M o l P h a r m a c o l 1970 J a n ; 6(1):31-40)。ホスフェート産生は、ホスフェート産物をプリンアナログの開裂にカップリングするための、プリンヌクレオシドホスホリラーゼを使用してモニターされ得、これは、吸光度(P r o c N a t l A c a d S c i U S A 1992 J u n 1;89(11):4884-7)または蛍光(B i o c h e m J 1990 M a r 1;266(2):611-4)のいずれかの変化を生じる。単一の測定値が使用され得るが、タンパク質活性の絶対速度を決定するために、異なる時間で同じサンプルの複数の測定値をとることが好ましい;このような測定値は、特に、酵素の読み出しと類似の吸光特性または蛍光特性を有する試験化合物の存在下でより高い特異性を有する。

30

【0140】

試験化合物は、ウエル中で個々にいずれかの化合物を配置することによってか、または混合物中でこれらの試験化合物の、マルチウエルプレートを使用して高度に平行な様式でアッセイされ得る。次いで、標的タンパク質複合体、カップリング酵素および基質ならびに、A T Pを含むアッセイ成分を、そのウエルに加え得、そしてそのプレートの各ウエルの吸光度または蛍光をプレートリーダーを用いて測定し得る。

40

【0141】

好ましい方法は、384ウエルプレート形式および25 μ Lの反応容量を使用する。ピルビン酸キナーゼ/乳酸デヒドロゲナーゼを組み合わせた酵素系(H u a n g T G a n d H a c k n e y D D . (1994) J B i o l C h e m 269(23):16493-16501)を使用して、各ウエル中のA T P加水分解速度を測定する。

50

当業者によって理解されるように、これらのアッセイ成分は、緩衝液および試薬中に加えられる。本明細書中に概説されるこの方法は、動力学測定を可能にするので、インキュベーション時間は、バックグラウンドを上回る適切な検出シグナルを得るために最適化される。このアッセイはリアルタイムで行なわれて、A T P加水分解の動力学を与え、これは、アッセイのノイズに対するシグナルの比を増加する。

【0142】

心臓筋繊維の収縮力の調節は、例えば、Haikala Hら(1995) J Cardiovasc Pharmacol 25(5):794-801に記載されるように、界面活性剤で透過処理された心臓繊維(徐膜した心臓繊維ともよばれる)を使用して測定され得る。除膜した心臓繊維は、それらの固有の筋節編成を保持するが、細胞カルシウム循環の全ての局面は保持せず、このモデルは、2つの利点を付与する:第1に、細胞膜は、化合物浸透に対するバリアではない。第2に、カルシウム濃度は、制御される。従って、収縮力の任意の増加は、筋節タンパク質に対する試験化合物の影響の直接的な測定値である。張力測定値は、固定ポストに筋繊維の1つの末端を取りつけ、そして力を測定し得るトランスデューサーにタンパク質の他方の末端を取りつけることによってなされる。たるみを除くために繊維を伸ばした後、このカトランスデューサーは、繊維が収縮し始めるにつれて増加した張力を記録する。この測定値は、等張力と呼ばれる。なぜなら、この繊維は、短くされないからである。透過処理された筋繊維の活性化は、緩衝化されたカルシウム溶液中に筋繊維を配置し、その後試験化合物またはコントロールを加えることによって達成される。この様式で試験される場合、本発明の化合物は、生理学的収縮活性と関連するカルシウム濃度にて力の増加を引き起こすが、低いカルシウム濃度またはカルシウムの非存在下(EGTAデータポイント)の弛緩緩衝液中では、非常にわずかな力の増大しか引き起こさなかった。

【0143】

心臓筋節および心臓ミオシンに対する選択性は、上記のアッセイの1つ以上において非心臓筋節成分およびミオシンを置換すること、および心臓等価物を使用して得られる結果に対して、得られた結果を比較することによって決定され得る。

【0144】

インビボ活性の最初の評価は、筋細胞収縮性の細胞モデル中で決定され得る(例えば、Popping Sら((1996) Am. J. Physiol. 271:H357-H364)およびWolska B Mら((1996) Am. J. Physiol. 39:H24-H32)によって記載される)。この筋細胞モデルの1つの利点は、単離され得る収縮性および決定された主要な作用部位の変化を生じる成分系である。次いで、細胞活性(例えば、以下のプロファイルを有する化合物の選択:2 μ Mの基底に対する画分の短縮における120%を超える増加、弛緩期の長さにおける変化(5%未満の変化)、および収縮速度または弛緩速度における有意な減少がないこと)は、インビボで心エコー検査または侵襲性血流力学測定を使用して、およびラットの左冠状動脈閉塞モデルのような動物ベースの心不全モデルにおいて、心臓機能の単離された心臓(Langendorff)モデルのような全器官モデルで評価され得る。最終的には、心臓疾患を処置するための活性は、プラシーボコントロールされた盲検ヒト臨床試験において実証される。

【0145】

(投与)

式Iの化合物は、治療有効用量(例えば、前述の疾患状態に対する処置を提供するのに十分な用量)で投与される。ヒトの用量レベルは、本発明の化合物に対してまだ最適化されていないが、一般的に、日常用量は、体重1 kgあたり約0.05~100 mg、好ましくは体重1 kgあたり約0.10~10.0 mg、そして最も好ましくは、体重1 kgあたり0.15~1.0 mgである。従って、70 kgの人間への投与に関して、用量範囲は、1日あたり約3.5~7000 mg、好ましくは1日あたり7.0~700.0 mg、最も好ましくは、1日あたり約10.0~100.0 mgである。投与される活性化合物の量は、もちろん、処置される被験体および疾患症状、苦痛の重篤度、投与の様式お

よび計画、ならびに処方する医師の判断に依存し、例えば、経口投与について適当な用量範囲は、1日あたり約70～700mgであるが、静脈内投与について適当な用量範囲は、1日あたり約700～7000mgであり、それぞれ、より長い血漿半減期またはより短い血漿半減期について、活性薬剤が選択される。

【0146】

本発明の化合物またはその薬学的に受容可能な塩の投与は、同じ有用性を供する薬剤に対して受容可能な投与様式のいずれかを介してであり得、この投与様式としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：経口投与、皮下投与、静脈内投与、経鼻投与、局所投与、経皮投与、腹腔内投与、筋肉内投与、肺内投与、膣投与、直腸投与、または眼内投与。経口投与および非経口投与は、本発明の被験体である適応症の治療において慣習的である。

10

【0147】

薬学的に受容可能な組成物としては、固形投薬形態、半固形投薬形態、液体投薬形態およびエアロゾル投薬形態（例えば、錠剤、カプセル、散剤、液剤、懸濁剤、座剤、エアロゾルなど）が挙げられる。化合物はまた、所定の速度での、延長および/または時限のパルス化投与のために、持続性投薬形態または徐放性投薬形態（蓄積注射、浸透圧ポンプ、丸剤、経皮（電気輸送を含む）パッチなどを含む）で投与され得る。好ましくは、この組成物は、正確な用量の単回投与に適した単一投薬形態で提供される。

【0148】

この化合物は、単独でかまたはより代表的には従来の薬学的キャリア、賦形剤など（例えば、マンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、滑石粉、セルロース、クロスカルメロース（crosscarmellose）ナトリウム、グルコース、ゼラチン、ショ糖、炭酸マグネシウムなど）と組み合わせてかのいずれかで投与され得る。所望される場合、薬学的組成物はまた、少量の非毒性補助物質（例えば、湿潤剤、乳化剤、可溶化剤、pH緩衝剤など（例えば、酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、シクロデキストリン誘導体、ソルビタンモノラウレート、酢酸トリエタノールアミン、オレイン酸トリエタノールアミンなど））を含み得る。一般的に、企図される投与様式に依存して、薬学的処方物は、約0.005重量%～95重量%、好ましくは約0.5重量%～50重量%の本発明の化合物を含む。このような投薬形態を調製するための実際の方法は、当業者に公知であるか、または明らかである；例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvaniaを参照のこと。

20

30

【0149】

さらに、本発明の化合物は、他の医薬因子、薬学的因子、アジュバントなどと同時投与され得、そして薬学的組成物は他の医薬因子、薬学的因子、アジュバントなどを含み得る。適切な付加活性薬剤としては、例えば：心臓の神経ホルモン刺激をダウンレギュレートすることによって心臓疾患の進行を遅延し、そして心臓再形成を妨げることを企図する治療物質（例えば、ACEインヒビターまたはブロッカー）；心臓の収縮性を刺激することによって心臓機能を改善する治療物質（例えば、アドレナリン性アゴニストである

40

【0150】

1つの好ましい実施形態において、組成物は、丸剤または錠剤の形態を取り、従って、この組成物は、活性成分とともに、希釈剤（例えば、ラクトース、ショ糖、リン酸二カルシウムなど）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウムなど）；および結合剤（例えば、デンプン、アカシアガム、ポリビニルピロリジン、ゼラチン、セルロース、セルロース誘導体など）を含む。別の固体投薬形態において、散剤、マルメ（marume）、液剤または懸濁剤（例えば、プロピレンカーボネート、植物性油またはトリグリセリド）は

50

ゼラチンカプセル中にカプセル化される。

【0151】

液体の薬学的に投与可能な組成物は、上で定義されるような活性化合物および必要に応じて薬学的アジュバントを、キャリア（例えば、水、生理食塩水、水性デキストロース、グリセロール、グリコール、エタノールなど）内に、例えば、溶解、分散などを行い、溶剤または懸濁剤を生成することによって調製され得る。注射剤は、液体溶剤または懸濁剤としてかもしくはエマルジョンとしてのいずれかの従来の形態でか、または注入前に液体中に分散もしくは懸濁するのに適した固体形態で、調製され得る。このような非経口組成物中に含まれる活性化合物の割合は、その特異的な性質ならびに化合物の活性および被験体の必要性に高度に依存する。しかし、溶液中の0.01%～10%の活性成分の割合は、使用され得、そして、この組成物が実質的に上記の割合で希釈される固体である場合、より高い。好ましくは、この組成物は、溶液中に0.2～2%の活性薬剤を含む。

10

【0152】

活性化合物または塩の処方物はまた、エアロゾルもしくは噴霧器用の溶液としてか、または、ガス注入のための微細粉剤として、単独でかまたはラクトースのような不活性のキャリアと組み合わせて、気道に投与され得る。このような場合、処方物の粒子は、50ミクロン未満、好ましくは10ミクロン未満の直径を有する。

【0153】

（スクリーニングにおける使用）

一般的に、ミオシン結合に関するスクリーニングの方法における本発明の化合物の使用のために、ミオシンを支持体に結合し、本発明の化合物をアッセイに添加する。あるいは、本発明の化合物が支持体に結合され、そしてミオシンが添加され得る。新規の結合剤が探索され得る化合物の分類としては、特異的な抗体、化学ライブラリのスクリーニングにおいて同定される非天然の結合剤、ペプチドアナログなどが挙げられる。特に目的とされるのは、ヒト細胞に対して低毒性を有する候補薬剤に関するスクリーニングアッセイである。広範な種々のアッセイがこの目的のために使用され得、これらのアッセイとしては、標識化インビトロタンパク質-タンパク質結合アッセイ、電気泳動移動度シフトアッセイ、タンパク質結合についての免疫アッセイ、機能アッセイ（リン酸化アッセイなど）などが挙げられる。例えば、米国特許第6,495,337号（本明細書中に参考として援用される）を参照のこと。

20

30

【実施例】

【0154】

以下の実施例は、上述の発明の使用様式をより完全に説明するため、および、本発明の種々の局面を実施するために企図される最良の様式を示すために役立つ。これらの実施例は、決して本発明の真の範囲を限定することなく、むしろ例示的目的のために提示されることが理解される。本明細書中に引用される全ての参考文献は、その全体が参考として援用される。

【0155】

（実施例1：N-[3-シアノ-5-(ピリジン-3-イルオキシ)-フェニル]-4-フルオロ-ベンズアミド）

40

（1A・R¹がピリジン-3-イルであり、YがCNである式103）

1.75M DMF（75mL）中の1当量（当量25.42g、131.6mmol）の1,3ジニトロ-5-シアノベンゼンの溶液、1当量の3-ヒドロキシピリジン（12.52g、131.6mmol）および2当量の炭酸カリウム（36.38g、263mmol）を60℃に一晩加熱した。反応混合物を、さらに48時間95℃に加温した。この反応混合物をEtOAcで希釈し、H₂O、飽和NaHCO₃およびブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し、真空下で濃縮した。溶離液として25% EtOAc/ヘキサンを使用するシリカでのクロマトグラフィーによる精製によって、10.04gの式103の所望の化合物である3-(ピリジン-3-イルオキシ)-5-シアノ-1-ニトロベンゼンを、固体として得た（32% 収率）。

50

【0156】

(1B, R¹ がピリジン-3-イルであり、R² がCNである式106)

EtOH (100 mL) 中の1当量 (5.5 g, 22.8 mmol) の3-(ピリジン-3-イルオキシ)-5-シアノ-1-ニトロベンゼン0.23 Mの溶液に、3当量の塩化スズ(II) (15.5 g, 68 mmol) を添加し、得られた混合物を、室温で一晩、窒素雰囲気下で攪拌した。この反応混合物を、水 (100 mL) で希釈し、そのpHを、飽和Na₂CO₃を添加することによって、9に調節した。この混合物を、EtOAc (3回) で抽出し、合わせた有機層を、乾燥し (Na₂SO₄)、真空下で濃縮した。溶離液として2% MeOH / CH₂Cl₂を使用するシリカでのクロマトグラフィーによる精製によって、1.09 gの式103の所望の化合物である3-(ピリジン-3-イルオキシ)-5-シアノ-アニリンを固体として得た (23% 収率)。

10

【0157】

(1C, R¹ がピリジン-3-イルであり、R² がCNであり、R³ が4-フルオロフェニルである式I)

CH₂Cl₂ (1 mL) 中の1当量 (0.1 g, 0.473 mmol) の3-(ピリジン-3-イルオキシ)-5-シアノ-アニリン0.47 Mの溶液および1.6当量のピリジン (0.56 g, 0.71 mmol) に、3当量の4-フルオロベンゾイルクロリド (0.225 g, 1.42 mmol) を添加し、得られた混合物を、室温で一晩攪拌した。この反応混合物を、CH₂Cl₂で希釈し、飽和NaHCO₃で洗浄し、乾燥し (Na₂SO₄)、真空下で濃縮した。その得られた残渣を、トルエンで希釈し、真空下で濃縮した (5回)。溶離液として5% MeOH / CH₂Cl₂を使用するシリカでのクロマトグラフィーによる精製により、134 mgの式Iの所望の標的化合物であるN-[3-シアノ-5-(ピリジン-3-イルオキシ)-フェニル]-4-フルオロ-ベンズアミドを、固体として得た (85% 収率)。Mp t 169-172。MS (M-1) 332.3。

20

【0158】

(実施例2: 4-フルオロ-N-[3-ピリジン-2-イル-5-(ピリジン-3-イルオキシ)-フェニル]-ベンズアミド)

(2A, R¹ がピリジン-3-イルであり、R² がピリジン-2-イルであり、R³ が4-フルオロフェニルAである式I)

30

2 mLのTHF中の1当量 (175 mg, 0.402 mmol) の4-フルオロ-N-[3-ヨード-5-(ピリジン-3-イルオキシ)-フェニル]-ベンズアミド、1.15当量 (170 mg, 0.463 mmol) の2-トリブチルスズピリジン、および0.04当量 (11 mg, 0.10 mmol) のビス-(トリフェニルホスフィン)ジクロロパラジウムの混合物に、170 で10分間、マイクロ波を照射した。この反応混合物を濾過し、真空下で濃縮した。勾配溶離液として50% EtOAc / ヘキサンから75%

EtOAc / ヘキサンを使用するシリカでのクロマトグラフィーによる精製により、30 mgの固体 (4-フルオロ-N-[3-ピリジン-2-イル-5-(ピリジン-3-イルオキシ)-フェニル]-ベンズアミド) を得た (19% 収率)。Mp t 160-162。MS (M+1) 386.1。

40

【0159】

(実施例3: 式Iの他の化合物)

同様に、実施例1および/または2の手順に従い、例えば、1,3ジニトロ-5-シアノベンゼン、3-ヒドロキシピリジン、4-フルオロベンゾイルクロリドおよび/または2-トリブチルスズピリジンを、反応スキーム1と関連して記載されるように置換することによって、得た:

- ・4-フルオロ-N-[ニトロ-5-(ピリジン-3-イルオキシ)-フェニル]-ベンズアミド、MS (M+1) 354.2;
- ・N-[3-(4-フルオロ-フェノキシ)-(5-ニトロ-フェニル)]-イソニコチンアミド、MS (M-1) 352.3;

50

- ・ 4 - フルオロ - N - [3 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド、MS (M + 1) 3 0 9 . 4 ;
- ・ チオフェン - 2 - カルボン酸 [3 - (4 - フルオロ - フェノキシ) - 5 - ニトロ - フェニル - アミド、MS (M - 1) 3 5 6 . 6 ;
- ・ イソキサゾール - 5 - カルボン酸 [3 - (4 - フルオロ - フェノキシ) - 5 - ニトロ - フェニル - アミド、MS (M - 1) 3 4 1 . 6 ;
- ・ 4 - フルオロ - N - [3 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - 5 - トリフルオロメチル - フェニル] - ベンズアミド、MS (M + 1) 3 7 7 . 2 ;
- ・ 3 - (4 - フルオロ - ベンゾイルアミノ) - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - 安息香酸エチルエステル、MS (M + 1) 3 8 1 . 2 ;
- ・ 5 - メチル - チオフェン - 2 - カルボン酸 [3 - ニトロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) フェニル] - アミド、MS (M - 1) 3 5 3 . 9 ;
- ・ 4 - フルオロ - N - [3 - ピラジン - 2 - イル - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド、MS (M - 1) 3 8 5 . 4 ;
- ・ 4 - フルオロ - N - [3 - ニトロ - 5 - (ピリジン - 2 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド、MS (M + 1) 3 5 4 . 2 ;
- ・ N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 3 - ヒドロキシ - ベンズアミド、MS (M + 1) 3 2 5 . 1 ;
- ・ N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 4 - ヒドロキシ - ベンズアミド、MS (M + 1) 3 2 5 . 2 ;
- ・ N - [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ニコチンアミド、MS (M + 1) 3 1 0 . 1 ;
- ・ イソキサゾール - 5 - カルボン酸 [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - アミド、MS (M + 1) 3 0 0 . 1 ;
- ・ 5 , 6 - ジクロロ - N - [3 - ニトロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ニコチンアミド、MS (M - 1) 4 0 2 . 3 ;
- ・ 4 - フルオロ - N - [3 - [1 - (2 - メトキシ - エトキシメチル) - 1 H - テトラゾール - 5 - イル] - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - ベンズアミド、MS (M + 1) 4 6 5 . 3 ;
- ・ 3 - (4 - フルオロ - ベンゾイルアミノ) - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - ベンゼンスルホン酸ピリジン - 3 - イルエステル、MS (M + 1) 4 6 6 . 1 ;
- ・ 6 - メトキシ - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 [3 - フルオロ - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - アミド、MS (M + 1) 3 7 8 . 1 ; および
- ・ 1 - [3 - (3 - メトキシ - 2 - オキソ - 2 H - ピリジン - 1 - イル) - 5 - (ピリジン - 3 - イルオキシ) - フェニル] - 3 - (6 - メトキシ - ピリジン - 3 - イル) - 尿素、MS (M + 1) 4 5 9 . 2 。

【 0 1 6 0 】

(実施例 4 : 用量依存性心臓ミオシン ATPase 調節のインビトロモデル)

用量応答を、以下の試薬 (示される濃度は、最終アッセイ濃度である) を含むカルシウム緩衝化ビルビン酸キナーゼおよび乳酸デヒドロゲナーゼ共役 ATPase アッセイを使用して測定する : カリウム PIPES (12 mM)、MgCl₂ (2 mM)、ATP (1 mM)、DTT (1 mM)、BSA (0 . 1 mg / ml)、NADH (0 . 5 mM)、PEP (1 . 5 mM)、ビルビン酸キナーゼ (4 U / ml)、乳酸デヒドロゲナーゼ (8 U / ml)、および消泡剤 (90 ppm)。その pH を、水酸化カリウムを添加することによって、2.2 で 6 . 80 に調節する。カルシウムレベルを、0 . 6 mM EGTA を含む緩衝化システムおよび種々の濃度のカルシウムにより制御して、 $1 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-8} \text{ M}$ の遊離カルシウム濃度を達成する。

【 0 1 6 1 】

このアッセイに特異的なタンパク質成分は、ウシ心臓ミオシンサブフラグメント - 1 (代表的には、0 . 5 μM)、ウシ心臓アクチン (14 μM)、ウシ心臓トロポミオシン (

10

20

30

40

50

代表的には $3 \mu\text{M}$ ）、およびウシ心臓トロポニン（代表的には、 $3 \sim 8 \mu\text{M}$ ）である。トロポミオシンおよびトロポニンの正確な濃度は、ATPase 活性の最大の差異を達成するために、 0.2 mM CaCl_2 の存在下で測定される活性に対して、 1 mM EGTA の存在下で測定される場合、力価測定することによって経験的に決定される。アッセイにおけるミオシンの正確な濃度はまた、ATP加水分解の所望の速度を達成するために、力価測定によって経験的に決定される。このことは、各調製物中の活性な分子の画分の変動に起因して、タンパク質調製物間で変動する。

【0162】

化合物用量応答は、代表的には、最大ATPase 活性 ($p\text{Ca}_{50}$) の50%に対応するカルシウム濃度で測定されるので、 $1 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-8} \text{ M}$ の範囲で、ATPase 活性の遊離カルシウム濃度に対する応答を試験する予備実験を行った。その後、このアッセイ混合物を、 $p\text{Ca}_{50}$ （代表的には、 $3 \times 10^{-7} \text{ M}$ ）に調節する。アッセイを、まず、試験化合物の希釈系列を調製することにより行う（各アッセイ混合物は、カリウムPipes、 MgCl_2 、BSA、DTT、ピルビン酸キナーゼ、乳酸デヒドロゲナーゼ、ミオシンサブフラグメント-1、消泡剤、EGTA、 CaCl_2 、および水を含む）。カリウムPipes、 MgCl_2 、BSA、DTT、ATP、NADH、PEP、アクチン、トロポミオシン、トロポニン、消泡剤、および水を含む溶液を等量添加することにより、このアッセイを開始する。ATP加水分解を、 340 nm の吸光度によりモニターする。得られる用量応答曲線を、4パラメーターの式 $y = \text{底部} + ((\text{上部} - \text{底部}) / (1 + ((\text{EC}_{50} / X)^{\text{Hill}})))$ によりフィットさせる。AC1.4を、ATPase 活性が、用量曲線の底より1.4倍大きい濃度として規定する。

【0163】

本発明の好ましい化合物は、 $10 \mu\text{M}$ 未満のAC1.4を有し；そしてより好ましくは、 $1 \mu\text{M}$ 未満である。

【0164】

上記のように試験した場合、式Iの化合物は、心臓ミオシンの増強剤としての活性を示す。

【0165】

（実施例5）

（筋細胞カルシウム収縮アッセイ）

（5A．成体ラット心室筋細胞の調製）

成体雄性Sprague-Dawleyラットを、イソフルランガスおよび酸素の混合物を用いて麻酔する。心臓を素早く切り出し、リンスし、そして上行大動脈にカニキュレを挿入する。連続的な逆向性の灌流は、 $60 \text{ cm H}_2\text{O}$ の灌流圧力で心臓において開始される。心臓を最初に、以下の組成の名目上 Ca^{2+} を含まない改変Krebs溶液を用いて灌流する： 110 mM NaCl 、 2.6 mM KCl 、 $1.2 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$ 、 $7 \text{ H}_2\text{O}$ 、 1.2 mM MgSO_4 、 2.1 mM NaHCO_3 、 11 mM グルコースおよび 4 mM Hepes （全てSigma）。この培地は、再循環されず、そして連続的に O_2 を供給される。約3分後、心臓を、改変Krebs緩衝液（3.3%コラーゲナーゼ（ $169 \mu\text{g}/\text{mg}$ 活性、クラスII、Worthington Biochemical Corp., Freehold, NJ）および $25 \mu\text{M}$ 最終カルシウム濃度を補充される）を用いて、心臓が十分に白くなり、軟化するまで灌流する。心臓がカニキュレから外され、心房および血管が、捨てられ、そして心室を小さな片に切断する。筋細胞を、 50 cc のチューブ中に $200 \mu\text{m}$ ナイロンメッシュを通して穏やかに押す前に、Krebsを含む新鮮なコラーゲナーゼ中で心室組織の穏やかな攪拌によって分散させる。得られた筋細胞を、 $25 \mu\text{M}$ カルシウムを含む改変Krebs溶液中に再懸濁する。筋細胞を、 $100 \mu\text{M}$ カルシウムが達成されるまで、10分間隔で、カルシウム溶液（ 100 mM ストック）の添加によって、カルシウム耐性にする。30分後、上清を捨て、 $30 \sim 50 \text{ ml}$ のTyrode緩衝液（ 137 mM NaCl 、 3.7 mM KCl 、 0.5 mM MgCl_2 、 11 mM グルコース、 4 mM Hepes 、および 1.2 mM CaCl_2 、 p

H 7 . 4) を細胞に添加する。細胞を、実験を開始する前に、6 0 分間、3 7 で維持し、単離の5時間以内で使用する。

【 0 1 6 6 】

(5 B . 成体心室筋細胞収縮実験)

筋細胞を含む Tyrode 緩衝液のアリコート、加熱プラットフォームを備えた灌流チャンバ (シリーズ 2 0 RC - 2 7 NE ; Warner Instruments) に配置した。筋細胞を接触させ、チャンバを 3 7 に加熱し、次いで、細胞を 3 7 の Tyrode 緩衝液で灌流する。筋細胞を白金電極を用いて 1 Hz で電場刺激する (2 0 % 上の閾値) 。きれいな線条を有し、ペーシングの前に静止状態である細胞のみを収縮実験に使用する。基底収縮性 (basal contractility) を決定するために、筋細胞を、4 0 倍の対物レンズを通して、可変フレーム速度 (6 0 ~ 2 4 0 Hz) 電荷結合デバイスカメラを使用して画像化し、この画像をデジタル化し、そして 2 4 0 Hz のサンプリング速度で、コンピュータスクリーン上に表示する。[フレームグラバー、ミオペーサー (myopacer) 、取得、細胞収縮性についての分析ソフトウェアは、IonOptix (Milton , MA) から入手可能である] 。最小 5 分の基底収縮性期間の後に、試験化合物 (0 . 0 1 ~ 1 5 μ M) を 5 分間筋細胞上に灌流する。この時間の後に、新鮮な Tyrode 緩衝液を灌流して、化合物洗い出し特性を決定する。縁部検出戦略を使用して、筋細胞の収縮性ならびに収縮および緩和の速度を連続的に記録する。

【 0 1 6 7 】

(5 C . 収縮性分析) 2 つ以上の異なる筋細胞調製物を使用して、化合物当たり、3 つ以上の個々の筋細胞を試験する。各細胞について、基底 (化合物の注入の 1 分前として規定される) において 1 0 以上の収縮性トランジエントおよび化合物の添加の 5 分後の 1 0 以上の収縮性トランジエントを平均化し、そして比較する。これらの平均トランジエントを分析して、弛緩の長さにおける変化を決定し、そして Ionwizard 分析プログラム (IonOptix) を使用して、左室径短縮率 (fractional shortening) (弛緩長さの減少の %) 、および最大収縮および弛緩の速度 (μ m / 秒) を決定する。個々の細胞の分析を組み合わせる。基底を超える左室径短縮率における増加は、筋細胞収縮の強化を示す。

【 0 1 6 8 】

(5 D . 結果) 本発明の化合物は、この方法によって試験される場合、活性を示す。

【 0 1 6 9 】

(実施例 6)

(インビボ左室径短縮率アッセイ)

(6 A . 動物) Charles River Laboratories からの雄性 Sprague Dawley ラット (2 7 5 ~ 3 5 0 g) を、ボーラス効力および注入研究について使用する。心不全動物を以下に記載する。これらを、ケージ当たり 2 匹で収容し、自由に食物および水にアクセスさせた。実験の前に、最小で 3 日の順応期間がある。

【 0 1 7 0 】

(6 B . 心エコー検査法) 動物をイソフルランで麻酔し、そしてこの手順を通して、外科平面台 (plane) 内に維持する。身体中心温度を、加熱パッドを使用することによって、3 7 で維持する。一旦麻酔すると、動物を剃毛し、そして毛髪除去剤を塗布して、胸部領域から全ての微量の被毛を除去する。胸部領域を、7 0 % ETOH を用いてさらに調製し、そして超音波ゲルを塗布する。GE System Vingmed 超音波システム (General Electric Medical Systems) を使用して、1 0 MHz プローブを、胸壁に配置し、画像を乳頭筋のレベルでの短軸視野で取得する。左心室の 2 - D M - モード画像を、化合物ボーラス注射または注入の前および後に撮る。インビボ左室径短縮率 ((端部弛緩直径 - 端部収縮直径) / 端部弛緩直径 × 1 0 0) を、GE EchoPak ソフトウェアプログラムを使用して、M - モードの分析によって決定する。

【 0 1 7 1 】

(6 C . ボーラスおよび注入効率) ボーラス注射のために、ラットを上記のように処置する。5 個のプレ用量 M - モード画像を、化合物のボーラス注射または注入の前に 30 秒間隔でとった。注射後、M - モード画像を、10 分まで、30 秒間隔でとり、その後、各 1 分または 4 分間隔でとった。ボーラス注射または注入は、尾静脈を介する。注入パラメーターを、特定の化合物の薬物動態学的なプロフィールから決定する。

【 0 1 7 2 】

(6 D . 結果) 本発明の化合物は、この方法によって試験される場合、活性を示す。

【 0 1 7 3 】

(実施例 7)

(うっ血性心不全の左冠状動脈閉塞モデル)

10

(7 A . 動物)

雄 Sprague - Dawley CD (220 - 225 g ; Charles River) ラットを、この実験において使用する。動物を、標準的な実験室条件下で、水および市販の齧歯類飼料に自由に接近させる。室温を、20 ~ 23 で維持し、部屋の照明は、12 / 12 時間の明 / 暗サイクルにある。動物を、実験室環境に 5 ~ 7 日順応させ、その後、研究した。動物を、一晩断食させ、その後、手術した。

【 0 1 7 4 】

(7 B . 閉塞手順)

動物を、ケタミン / キシラジン (95 mg / kg および 5 mg / kg) で麻酔し、そして 14 - 16 ゲージの改変静脈カテーテルを挿管する。麻酔レベルを足指をつまむことによって、チェックする。身体中心の温度を、加熱ブランケットを使用することによって、37 で維持する。外科手術領域を、クリップで留め、そして洗浄する。動物を、右横臥位に配置し、最初に、10 ~ 15 cm H₂O のピーク吸気圧および 60 ~ 110 呼吸 / 分の呼吸濃度を用いて人工呼吸器に配置する。100 % O₂ を、人工呼吸器によって動物に送達する。外科部位を、外科用スクラブおよびアルコールで洗浄する。切開を、第 4 - 第 5 肋間隙で胸郭を横断してなされる。下にある筋肉を、注意して切開し、外側胸静脈を避け、肋間筋肉を曝す。胸腔を、第 4 - 第 5 肋間隙を通して入り、切開は、心臓の明視化を可能にするように拡張した。心膜を開放し、心臓を曝す。テーパー針を用いる 6 - 0 絹縫合糸は、その起点の近くの左冠状動脈の周りを通過され、これは、左心耳の挿入物から約 1 mm に肺動脈円錐の左縁部と接触して位置する。左冠状動脈を、動脈の周りに縫合糸を縛り付けることによって閉塞する (LCO)。みせかけの動物を、縫合糸を縛り付けないことを除いて、同様に処理する。切開を 3 層に閉じた。ラットを、それ自身が換気し得るまで通気する。ラットから管を除き、加熱パッド上に戻させる。動物は、手術の痛覚脱失後にブプレノルフィン (0.01 ~ 0.05 mg / kg SQ) を受容する。一旦目覚めると、これらを、これらの籠に戻す。動物を、感染または窮迫の徴候について、毎日モニターする。感染動物または瀕死の動物を、安楽死させる。動物を、一週間ごとに計量する。

20

30

【 0 1 7 5 】

(7 C . 効力分析)

外科手術 6 週間後、ラットを、上記されるように超音波を使用して、心筋梗塞の徴候についてスキャンする。みせかけのラットに比べて減少した左室径短縮率 (fractional shortening) を有するこれらの動物のみを、効力実験において使用する。全ての実験において、4 つの群が存在する：みせかけ + ビヒクル、みせかけ + 化合物、LCO + ビヒクル、および LCO + 化合物。LCO の 7 ~ 12 週後に、ラットは、ボーラス注射を受けるか、または試験化合物を注射される。実施例 6 において、5 匹の投薬前 M - モード画像を、30 秒の間隔でとり、その後、化合物のボーラス注射または灌流を行う。注射後、M - モード画像を、30 秒の間隔で 10 分間とり、その後、毎分または 5 分の間隔でとる。左室径短縮率を、M - モード画像から決定する。投薬前左室径短縮率と化合物処理後との間の比較を、ANOVA および hoc 後の StatView 統計プログラム (SAS Institute) を使用する Student - Newman - Keul

40

50

s によって実施する。0.05未満の1つのp値を、有意とみなす。

【0176】

(7D. 結果)

本発明の化合物は、本方法によって試験された場合、活性を示す。

【0177】

本発明が、その特定の実施形態を参照して記載され、その一方で、種々の変更がなされ、そして等価物が、本発明の意図および範囲を逸脱することなく取り替えられ得ることが、当業者によって理解されるべきである。さらに、多くの改変が、本発明の目的、意図および範囲に対して、特定の状況、材料、物質の組成物、プロセス、プロセス工程に適合するようになされる。全てのこのような改変は、添付の特許請求の範囲の範囲内であることが意図される。上記に引用される全ての特許および刊行物は、本明細書中に参考として援用される。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

C 0 7 D 413/12 (2006.01)

C 0 7 D 413/12

A 6 1 K 31/4402 (2006.01)

A 6 1 K 31/4402

A 6 1 K 31/4406 (2006.01)

A 6 1 K 31/4406

A 6 1 K 31/4409 (2006.01)

A 6 1 K 31/4409

A 6 1 K 31/497 (2006.01)

A 6 1 K 31/497

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 9/00

(72)発明者 マリック, ファディー

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 1 0, バーリンゲーム, ヒルサイド ドライブ 2
8 8 4

(72)発明者 トマシ, アダム ルイス

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 0 9, サンフランシスコ, フィルバート ストリート
1 3 3 5 ナンバー 3 0 5

(72)発明者 フェン, バイニアン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, アパロン アベニュー
1 0 1 8

(72)発明者 クレイナック, エリカ アンネ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 0 8, ベルモント, リッジウッド コート 2

(72)発明者 エリアス, キャスリーン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 1 3 1, サン フランシスコ, 29 ティーエイチ ス
トリート 6 4 1

(72)発明者 ル, プ - ビン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, ポリネシア ドライブ
1 1 1 0 ナンバー 1 0 8

(72)発明者 スミス, ウィットニー ウォルター

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 3 0, エル サーリト, リッチモンド ストリート
1 1 2 2

(72)発明者 チャン, シャンピン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, ビーチ パーク ブー
ルバード 1 4 5 1 ナンバー 2 1 5

(72)発明者 モーガンズ, デービッド ジェイ. ジュニア

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 4, ロス アルトス, ビスタ グランド アベニ
ュー 7 8 1

審査官 井上 明子

(56)参考文献 特開 2 0 0 5 - 0 6 8 1 6 0 (J P , A)

特表平 0 9 - 5 1 2 5 2 8 (J P , A)

特開昭 4 9 - 0 7 3 4 9 2 (J P , A)

特開昭 5 8 - 0 7 4 6 6 5 (J P , A)

特開昭 4 8 - 0 3 5 1 1 7 (J P , A)

特表平 1 1 - 5 1 1 4 4 2 (J P , A)

米国特許第 0 3 5 7 7 5 5 0 (U S , A)

米国特許第 0 3 6 7 4 8 5 0 (U S , A)

国際公開第 0 1 / 0 0 5 7 6 9 (W O , A 1)

国際公開第 0 0 / 0 2 6 1 9 1 (W O , A 1)

Kempter, Gerhard; Beerbalk, H. D., Synthesis of potential plant protective agents and

pesticides from substituted anilines , *Wissenschaftliche Zeitschrift der Paedagogischen Hochschule Karl Liebknecht Potsdam* , 1983年, 27(1) , 101-20

Tomita, Masao; Ikawa, Kenji , *Syntheses of acid hydrazide derivatives containing the diphenyl ether nucleus. V. Cleavage of diphenyl ether derivatives by hydrazine hydrate.* 3 , *Yakugaku Zasshi* , 1955年 , 75 , 457-60

Ivanov, A. V.; Kaminskii, A. Ya.; Gitis, S. S.; Kozina, Z. A. , *Kinetics of the alkaline hydrolysis of meta- and ortho- substituted aryl ethers of 2,4-dinitrophenol* , *Reaktsionnaya Sposobnost Organicheskikh Soedinenii* , 1967年, 4(2) , 290-301

White, G. A.; Thorn, G. D. , *Thiophene carboxamide fungicides: structure-activity relationships with the succinate dehydrogenase complex from wild-type and carboxin-resistant mutant strains of Ustilago maydis* , *Pesticide Biochemistry and Physiology* , 1986年, 25(2) , 188-204

Parlow, John J.; Mischke, Deborah A.; Woodard, Scott S. , *Utility of Complementary Molecular Reactivity and Molecular Recognition (CMR/R) Technology and Polymer-Supported Reagents in the Solution-Phase Synthesis of Heterocyclic Carboxamides* , *Journal of Organic Chemistry* , 1997年, 62(17) , 5908-5919

Krogh, R.; Yunes, R. A.; Andricopulo, A. D. , *Structure-activity relationships for the analgesic activity of gallic acid derivatives* , *Farmaco* , 2000年, 55(11-12) , 730-735

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07D 213/64
C07D 213/65
C07D 213/80
C07D 401/12
C07D 409/12
C07D 413/12
A61K 31/4402
A61K 31/4406
A61K 31/4409
A61K 31/497
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)