

(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2004-509104

(P2004-509104A)

(43) 公表日 平成16年3月25日(2004.3.25)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C07D 207/16	C O 7 D 207/16	4 C O 6 3
A61K 31/401	A 6 1 K 31/401	4 C O 6 9
A61K 31/404	A 6 1 K 31/404	4 C O 8 6
A61K 31/4439	A 6 1 K 31/4439	
A61K 31/454	A 6 1 K 31/454	
	審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 82 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2002-526828 (P2002-526828)	(71) 出願人	596168317 ジェネンテック・インコーポレーテッド GENENTECH, INC. アメリカ合衆国カリフォルニア・94080-4990・サウス・サン・フランシスコ・ディーエヌイー・ウェイ・1
(86) (22) 出願日	平成13年9月5日 (2001.9.5)	(74) 代理人	100109726 弁理士 園田 吉隆
(85) 翻訳文提出日	平成15年3月11日 (2003.3.11)	(74) 代理人	100101199 弁理士 小林 義教
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/027640	(72) 発明者	バスター, リチャード, エム. アメリカ合衆国 カリフォルニア 94134, サンフランシスコ, ブラッセルズ ストリート 656
(87) 国際公開番号	W02002/022575		
(87) 国際公開日	平成14年3月21日 (2002.3.21)		
(31) 優先権主張番号	60/231, 679		
(32) 優先日	平成12年9月11日 (2000.9.11)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 セリンプロテアーゼのアミジンインヒビター

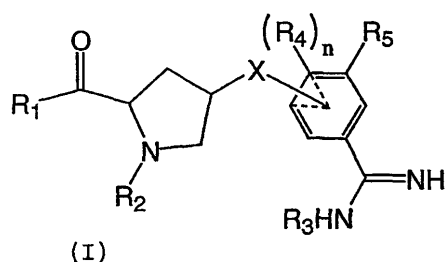
(57) 【要約】

X、R₁、R₂、R₃、R₄ 及び R₅ がここで定義したものである式 (I) を有するセリンプロテアーゼのインヒビターが提供される。特に、該化合物は、第VIIa因子、組織因子/第Xa因子複合体、トロンピン、トリプシン、プラスミン及びカリクレインに結合し、抗凝血活性を有している。該化合物を含有する医薬組成物は静脈及び/又は動脈の血栓の形成をインヒビターで阻害するのに有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の式 (I) :



10

[上式中、

X は、O、C R₆ R₆、N R₆ 又は S であり、ここで R₆ と R₆ は独立して H 又はアルキルであり；

R₁ は、H、-O R₇、アミノ酸又は -N R₇ R₇ であり、ここで R₇ と R₇ は独立して H 又は炭化水素鎖、炭素環、複素環、炭素環置換炭化水素鎖又は複素環置換炭化水素鎖であって、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシ、アリールもしくはカルボキシルで置換されているもよいものであり；あるいは R₇ と R₇ は共同して他の複素環又は炭素環に縮合していてもよい複素環を形成し、ここで該他の複素環及び炭素環はヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシもしくはカルボキシルで置換されていてもよく；

20

R₂ は、H 又は炭化水素鎖、炭素環又は炭素環置換炭化水素鎖であって、ヒドロキシル、オキソ、ハロゲン、シアノ、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシもしくはカルボキシルで置換されているもよいものであり；ここで該炭化水素鎖には N、O、S、S O 又は S O₂ が介在していてもよく；

R₃ は H 又は保護基であり；

R₄ は、H、ヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン及びアシルアミノからなる群から選択され；

30

R₅ は H であるか又は R₄ と R₅ が共同してヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン又はアシルアミノで置換されているもよい 5 員又は 6 員の炭素環又は複素環を形成し；

n は 0 又は 1 である]

の化合物、及びそれらの塩、溶媒和化合物及び水和物。

【請求項 2】

X が O である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

X が C H₂ である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

R₁ がアミノ酸又は -N R₇ R₇ であり、ここで R₇ と R₇ は独立して H 又は炭化水素鎖、炭素環、複素環、炭素環置換炭化水素鎖又は複素環置換炭化水素鎖であって、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシ、アリールもしくはカルボキシルで置換されているもよいものであり；あるいは R₇ と R₇ は共同して他の複素環又は炭素環に縮合していてもよい複素環を形成し、ここで該他の複素環及び炭素環はヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシもしくはカルボキシルで置換されているもよい、請求項 1 に記載の化合物。

40

【請求項 5】

R₁ が N R₇ R₇ であり、R₇ はヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、アミジン、グアニ

50

ジン、シアノ、アルキル、アルコキシ、ハロ置換アルキルで置換されていてもよいアリー
ル又はアラルキルであり； $R_{7'}$ はH又はアルキルである、請求項4に記載の化合物。

【請求項6】

R_1 が $NR_7R_{7'}$ であり、 R_7 はアミジン又はアルコキシで置換されたフェニル又はベ
ンジルであり； $R_{7'}$ はH又はメチルである、請求項4に記載の化合物。

【請求項7】

R_1 が $NR_7R_{7'}$ であり、 R_7 と $R_{7'}$ は共同して他の複素環又は炭素環に縮合してい
てもよい複素環を形成し、ここで該他の複素環及び炭素環はヒドロキシル、ハロゲン、ア
ミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシもしく
はカルボキシルで置換されていてもよい、請求項4に記載の化合物。

10

【請求項8】

R_7 がベンジル、p-アミジニルフェニル、p-メトキシベンジル又はp-メチルベンジ
ルであり、 $R_{7'}$ はHである、請求項4に記載の化合物。

【請求項9】

R_7 と $R_{7'}$ が共同してベンゼン環に縮合したピペリジン環を形成し、該縮合ベンゼン環
はアルコキシで置換されていてもよい、請求項8に記載の化合物。

【請求項10】

上記縮合ベンゼン環の両方の炭素位置がメトキシで置換されている、請求項9に記載の
化合物。

【請求項11】

R_2 がH、アルキル、シクロアルキル、アリール、シクロアルキルアルキル又はアラルキ
ルで、アルキル、アミノ、アミジン、グアニジン又はニトロで置換されていてもよいもの
である、請求項1に記載の化合物。

20

【請求項12】

R_2 がH、アルキル、アリール、アラルキル又はシクロアルキルである、請求項11に記
載の化合物。

【請求項13】

R_2 がプロピル、フェニルエチル、シクロヘキシル、o-ニトロベンジル又はm-メチル
ベンジルである、請求項11に記載の化合物。

【請求項14】

R_3 がHである請求項1に記載の化合物。

30

【請求項15】

nが1であり、 R_4 がH、ヒドロキシル、アミノ又はアルカノイルアミノある、請求項1
に記載の化合物。

【請求項16】

nが1であり、 R_4 と R_5 が共にHである、請求項15に記載の化合物。

【請求項17】

R_4 と R_5 が共同してベンゼン環を形成している、請求項1に記載の化合物。

【請求項18】

タンパク質リガンドに対するセリンプロテアーゼの結合を阻害する方法であって、上記セ
リンプロテアーゼを請求項1に記載の化合物と接触させることを含んでなる方法。

40

【請求項19】

哺乳動物におけるセリンプロテアーゼにより媒介される疾患又は症状を処置する方法にお
いて、有効量の請求項1に記載の化合物を上記哺乳動物に投与することを含んでなる方法
。

【請求項20】

哺乳動物における静脈又は動脈血栓形成を阻害する方法において、有効量の請求項1に記
載の化合物を上記哺乳動物に投与することを含んでなる方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

50

(発明の分野)

本発明は、組織因子(TF)/第VIIa因子、第Xa因子、トロンビン及び/又はカリクレインのようなセリンプロテアーゼのインヒビターである新規化合物、並びにセリンプロテアーゼを抑制しそれによって媒介される疾患を治療するのに有用な、これら化合物を含有する医薬組成物に関する。

【0002】

(発明の背景)

正常な止血は凝固開始、形成及び溶解の過程の複雑なバランスの結果による。血球、特定の血漿タンパク質及び血管表面の間の複雑な相互作用は血液の流動性を維持するが、傷害の場合は血液凝固が体液を封じ込めるのに極めて重要であり、ホスト防御機構の重要な要素である。多くの重要な疾患状態は血管中における異常な血栓形成(血栓症)に関連している。例えば、動脈脈管構造では、形成されたアテローム斑(プラーク)の損傷による異常な血栓形成が急性心筋梗塞及び不安定狭心症の主要な原因である。静脈脈管構造では、特に腹部及び下半身の領域の、手術を受けた多くの患者が、血流を減少させる血栓形成を経験し、肺塞栓症に至るおそれがある。静脈及び動脈系の双方において播種性血管内凝固障害は敗血性ショック、ある種のウイルス感染、及び癌の場合によく起こり、急速で広範な血栓形成と器官不全にしばしば至る。

10

【0003】

凝固(coagulation)及び凝血(clotting)(血栓形成)にはトロンビンの生成に至る過程における多数のチモーゲンの連続的活性化が関与しており、そのトロンビンが原因で、フィブリノーゲンが不透性の架橋したフィブリン血餅へ転換する。トロンビンの生成は、集中的に研究され、広く特徴付けがなされてきた血液凝固カスケードの結果である。例えば、Lawson, J. H.等(1994) J. Biol. Chem. 269:23357を参照のこと。このカスケードの凝固反応は開始、増幅及び伝播段階を含む。また、カスケードは外因系経路と内因系経路に分けられている。内因系経路では第XI、XI、及びIX因子が関与し、第IXa因子のそのコファクター第VIIa因子との複合体が形成されるに至る。この複合体は第X因子を第Xa因子に転換する。第Xa因子は、そのコファクターVa因子と複合体を形成する酵素であり、速やかにプロトロンピンをトロンビンに転換する。そしてトロンビンがフィブリノーゲンをフィブリン単量体に転換し、これが重合して血栓を形成する。外因系経路には第VIIa因子と組織因子が関与し、これらが複合体(TF/第VIIa因子)を形成し、第X因子を第Xa因子に転換する。内因系経路におけるように、第Xa因子がプロトロンピンをトロンビンに転換する。

20

30

【0004】

トロンビン(第IIa因子)は、上でみたように、フィブリノーゲンをフィブリンに転換することによって凝固カスケードにおいて中心的な位置を占めている。従って、N-アリアルスルフィン化フェニルアラニンアミド類のように、その活性を抑制するためにトロンビンに結合する化合物を開発することによりかなりの合成努力が向けられている。合成のトロンビンインヒビターとして調製された更なる化合物はUS5656600; US5656645; US5670479; US5646165; US5658939; US5658930及びWO97/30073に開示されている。多くのトロンビンインヒビターは、医薬用ヒル(Hirudo medicinalis)によりつくられるタンパク質であるヒルジンの構造を模倣して生成されており、ヒルジンはトロンビンに結合して凝固を抑制する。Stubbs及びBode, Current Opinion in Structural Biology 1994, 4:823-832。更なる合成トロンビンインヒビターは、Annual Reports in Medicinal Chemistry, 1995-1997, Academic Press, San Diego, CAに報告されている。

40

【0005】

TF/第VIIa因子は、第X因子及び/又は第IX因子を活性化することによって血液

50

凝固に関与するセリンプロテアーゼ複合体である。第VIIa因子は、肝臓で合成され血液中に分泌されて単鎖グリコペプチドとして循環する第VII因子というその前駆体から製造される。第VII因子のcDNA配列は特徴付けられている(Hagen等, 1986, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 83:2412-2416)。TF/第VIIa因子の様々な天然及び合成のインヒビターが知られており、心筋梗塞を治療するために使用されるUS5589173に開示されているもののような、種々の有効性と選択性を有している。組織因子経路インヒビター(TFPI; Broze, 1995, Thromb. Haemostas., 74:90)及びネマトーダ抗凝固ペプチドc2(NAPc2; Stanssens等, 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 93:2149)はTF/第VIIa因子複合体との第4級抑制複合体の生成前に第Xa因子に結合する。小タンパク質の直接のインヒビター(Dennis等, 1994, J. Biol. Chem., 35:22137)及びTF/第VIIa因子の不活性形態もまた知られている(Kirchhofer等, 1995, Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biol., 15:1098; Jang等, 1995, Circulation, 92:3041)。また、結合親和性を保持しているがコファクター活性を減少させた変異体TFの合成ペプチド及び可溶型が調製されている(Roenning等, 1996, Thromb. Res., 82:73; Kelley等, 1997, Blood, 89:3219)。US5679639はセリンプロテアーゼ活性を抑制するポリペプチドと抗体を記載している。US5580560は改善された半減期を持つ変異体第VIIa因子を記載している。US5504067及びUS5504064は出血の治療のための切断型TFを記載している。クニッツ(Kunitz)型ドメイン-組織因子融合タンパク質がまた二機能性抗凝固剤であることが示されている(Lee等, 1997, Biochemistry, 36:5607-5611)。TF/第VIIa因子複合体は外科手術の際の出血と血管内血栓症の防止の分離に基づくインヒビターの開発のための魅力ある標的であることが示されている(Harker等, 1995, Thromb. Haemostas., 74:464)。

【0006】

第Xa因子はまた内因系及び外因系凝固経路の双方の産物であるので血栓形成に中心的なものである。ビスアミジン化合物(Katakura, S. (1993) Biochem. Biophys. Res. Commun., 197:965)、アルギニンの構造に基づく化合物(WO93/15756; WO94/13693)並びにフェニル及びナフチルスルホンアミド類(WO96/10022; WO96/16940; WO96/40679)のような第Xa因子のインヒビターが合成されている。

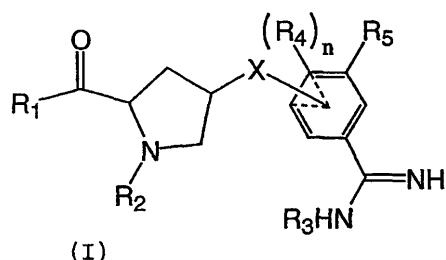
【0007】

経皮経管冠動脈形成術(PTCA)と再疎通術が閉塞した血管を治療するために好まれている処置である。しかし、これらの処置に続く動脈血栓症はなお心不全の主要な原因となっている。最も広く使用されている抗凝血剤であるヘパリンを含む抗凝血剤は急性動脈血栓症又は再血栓形成(rethrombosis)の治療と予防に完全に有効であるか安全であるかは示されていない。従って、凝固カスケードにおける酵素の効果的なインヒビターであってカスケード中の選択された酵素に対して改善された阻害活性及び/又は選択性を示す化合物に対する必要性は残ったままである。

【0008】

(発明の要約)

本発明の一側面では、次の式(I):



[上式中、

X は、O、C R₆ R₆、N R₆ 又は S であり、ここで R₆ と R₆、は独立して H 又はアルキルであり；

R₁ は、H、- O R₇、アミノ酸又は - N R₇ R₇、であり、ここで R₇ と R₇、は独立して H 又は炭化水素鎖、炭素環、複素環、炭素環置換炭化水素鎖又は複素環置換炭化水素鎖であって、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシ、アリアルもしくはカルボキシルで置換されているもよいものであり；あるいは R₇ と R₇、は共同して他の複素環又は炭素環に縮合していてもよい複素環を形成し、ここで該他の複素環及び炭素環はヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシもしくはカルボキシルで置換されているもよく；

R₂ は、H 又は炭化水素鎖、炭素環又は炭素環置換炭化水素鎖であって、ヒドロキシル、オキソ、ハロゲン、シアノ、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシもしくはカルボキシルで置換されているもよいものであり；ここで該炭化水素鎖には N、O、S、S O 又は S O₂ が介在していてもよく；

R₃ は H 又は保護基であり；

R₄ は、H、ヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン及びアシルアミノからなる群から選択され；

R₅ は H であるか又は R₄ と R₅ が共同してヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン又はアシルアミノで置換されているもよい 5 員又は 6 員の炭素環又は複素環を形成し；

n は 0 又は 1 である]

の新規化合物、及びそれらの塩、溶媒和化合物及び水和物が提供される。

【 0 0 0 9 】

本発明の他の側面では、本発明の化合物と医薬的に許容可能な担体含有する医薬組成物が提供される。

また本発明の他の側面では、哺乳動物におけるセリンプロテアーゼにより媒介される疾患又は症状を処置する方法において、有効量の本発明の化合物を上記哺乳動物に投与することを含んでなる方法が提供される。

【 0 0 1 0 】

(本発明の詳細な記載)

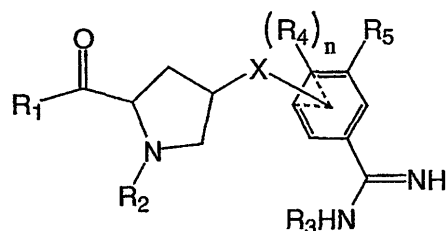
本発明は、次の式 (I) :

10

20

30

40



(I)

10

[上式中、X、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 及び R_5 はここで定義されるものである]
 の新規化合物を提供する。

【0011】

「アミノ酸」という用語は、天然に生じるか天然に生じるものではない - (アルファ)、
 - (ベータ)、D- 及び L- アミノ酸残基を意味する。好適なアミノ酸残基は疎水性
 であり、例えばアラニン、 α -アラニン、フェニルアラニン、バリン、ロイシン及びイソ
 ロイシンである。

「炭化水素鎖」という用語は、飽和、不飽和、直鎖状又は分枝状の炭素鎖、すなわちアル
 キル、アルケニル及びアルキニルを意味する。好適な炭化水素鎖は 1 - 12 の炭素原子、
 より好ましくは 1 - 6、最も好ましくは 1 - 4 の炭素原子を有するもの、すなわち、メチ
 ル、エチル、プロピル、ブチル及びアリルである。

20

「炭素環」という用語は、飽和、不飽和もしくは部分的に不飽和で芳香環系を含む、4 -
 16 員の単環、二環又は三環炭素環又は環系を意味する。好適な炭素環には、シクロペン
 チル、シクロヘキシル、フェニル及びナフチルが含まれる。

【0012】

「複素環」という用語は、少なくとも一の環原子がヘテロ原子 (すなわち N、O 及び S、
 並びに SO 又は SO₂) である 5 - 16 員を有する単環、二環又は三環系を意味する。該
 環系は飽和、不飽和又は部分的に不飽和であり、芳香族でもよい。好適な複素環には、ピ
 ペリジン、ペラジン、ピリジン、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、モルホリン、ピ
 ラン、ピロール、フラン、チオフェン (チエニル)、イミダゾール、ピラゾール、チアゾ
 ール、イソチアゾール、ジチアゾール、オキサゾール、イソキサゾール、ジオキサゾール
 、チアジアゾール、オキサジアゾール、テトラゾール、トリアゾール、チアトリアゾール
 、オキサトリアゾール、チアジアゾール、オキサジアゾール、プリン及びそのベンゾ縮合
 誘導体が含まれる。

30

【0013】

X は、O、 CR_6R_6 、 NR_6 又は S であり、ここで R_6 と R_6 は独立して H 又はアル
 キルである。特定の実施態様では、X は O である。他の特定の実施態様では、X は CR_6R_6
 であり、 R_6 と R_6 が共に H である。

R_1 は、H、 OR_7 、アミノ酸又は NR_7R_7 であり、ここで R_7 と R_7 は独立
 して H 又は炭化水素鎖、炭素環、複素環、炭素環置換炭化水素鎖又は複素環置換炭化水素
 鎖であって、一又は複数のヒドロキシル、ハロゲン (すなわち、F、Cl、Br、I)、
 シアノ、アミノ (すなわち、NH₂ 又は第 2 級又は第 3 級アミン)、ニトロ、アミジン (
 $-C(NH)-NH_2$)、グアニジン ($-NH-C(NH)-NH_2$)、アルキル、ハロ
 置換アルキル、アルコキシ、アリールもしくはカルボキシルで置換されていてもよいもの
 である。「カルボキシル」は、ここでは、フリーの酸 $-COOH$ 並びにそのエステル、例
 えばアルキルエステルを意味する。「アルコキシ」とは、ここでは、飽和基、すなわち O
 $-$ アルキルと、不飽和基、すなわち O-アルケニル及び O-アルキニルを含むことを意味
 する。「アリール」とは、ここでは、芳香族炭素環又は環系、例えばベンゼン/フェニル
 、ナフチル、フェナントレニル等々並びにビフェニルであることを意味する。特定の実施
 態様では、 R_1 は、 OR_7 で、 R_7 が炭化水素鎖、例えばアルケニル、すなわちアリル

40

50

であるものである。他の実施態様では、 R_1 は $-NR_7R_7'$ であり、ここで R_7 は一又は複数のヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、アミジン、グアニジン、シアノ、アルキル、アルコキシ、ハロ置換アルキルで置換されていてもよいアリール又はアラルキルであり； R_7' は H 又はアルキルである。好適な実施態様では、 R_1 は $-NR_7R_7'$ であり、ここで R_7 はアミジン又はアルコキシで置換されたフェニル又はベンジルであり； R_7' は H 又はメチルである。特に好適な実施態様では、 R_7 はベンジル、*p*-アミジニルフェニル、*p*-メトキシベンジル又は *p*-メチルベンジルであり、 R_7' は H である。

【0014】

他の実施態様では、 R_1 は $-NR_7R_7'$ であり、ここで R_7 と R_7' は共同して他の複素環又は炭素環に縮合していてもよい複素環を形成し、ここで該他の複素環及び炭素環は一又は複数のヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシもしくはカルボキシルで置換されていてもよい。特定の実施態様では、 R_7 と R_7' は共同してベンゼン環に縮合したピペリジン環を形成し、該縮合ベンゼン環は一又は複数のアルコキシで置換されていてもよい。好ましくは、縮合ベンゼン環の両方の炭素位置がメトキシで置換されている。

10

【0015】

R_2 は、H 又は炭化水素鎖、炭素環又は炭素環置換炭化水素鎖であって、一又は複数のヒドロキシル、オキソ (=O)、ハロゲン (好ましくは F 又は Cl)、シアノ、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン、アルキル、ハロ置換アルキル、アルコキシ (好ましくはメトキシ) もしくはカルボキシルで置換されていてもよいものであり；ここで該炭化水素鎖には N、O、S、SO 又は SO₂ が介在していてもよい。「介在する」とは、ここでは、炭化水素鎖内の一又は複数の炭素原子が上記ヘテロ原子によって置き換えられることを意味する。炭化水素鎖に二以上のヘテロ原子が介在する場合、好ましくはヘテロ原子は隣接しない。 R_2 において、ヘテロ原子は、炭化水素鎖が垂下する環窒素原子に隣接している。好適な実施態様では、 R_2 は H、アルキル、シクロアルキル、アリール、シクロアルキルアルキル又はアラルキルで、一又は複数のアルキル、アミノ、アミジン、グアニジン又はニトロで置換されていてもよいものである。より好適な実施態様では、 R_2 は H、アルキル、アリール、アラルキル又はシクロアルキルであり、最も好ましくはプロピル、フェニルエチル、シクロヘキシル、*o*-ニトロベンジル又は *m*-メチルベンジルである。

20

R_3 は H 又は保護基である。好ましくは R_3 は H である。

30

【0016】

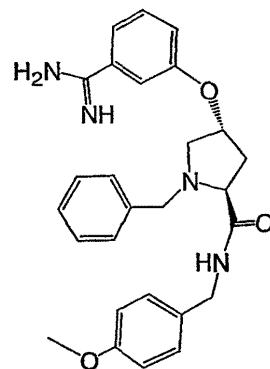
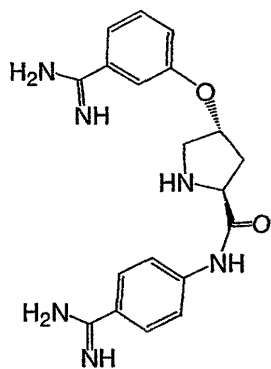
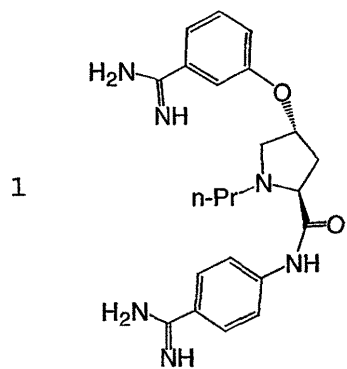
「*n*」がゼロ (0) の場合、 R_4 は存在せず、X がその位置でベンズアミジン環に結合している。*n* が 1 の場合、 R_4 は存在し、H、ヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン及びアシルアミノからなる群から選択される。「アシルアミノ」とは、ここでは、カルボキサミド基 -NHC(O)-炭化水素であることを意味し、ここで炭化水素は先に定義した通りであり、好ましくはアルキルである。好ましくは R_4 は H 又はアミノ、最も好ましくは H である。

R_5 は H であるか又は R_4 と R_5 が共同して一又は複数のヒドロキシル、ハロゲン、アミノ、ニトロ、アミジン、グアニジン又はアシルアミノで置換されていてもよい 5 員又は 6 員の炭素環又は複素環を形成する。他の特定の実施態様では、 R_5 は H である。他の特定の実施態様では、 R_4 と R_5 は、 R_4 と R_5 が垂下するベンズアミジン環に縮合したベンゼン環を形成する。

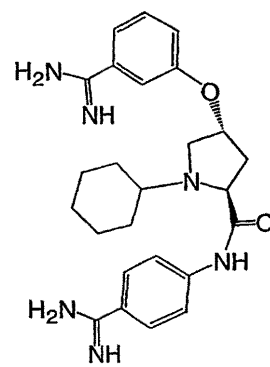
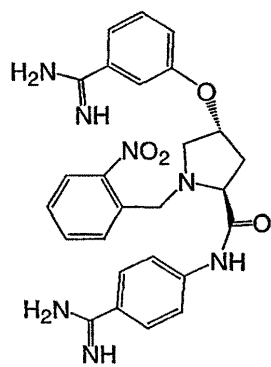
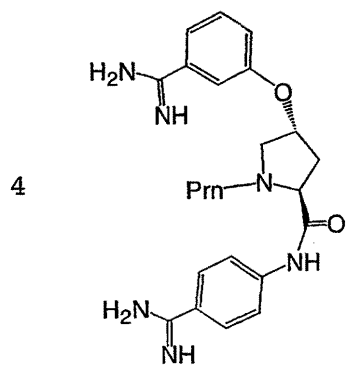
40

【0017】

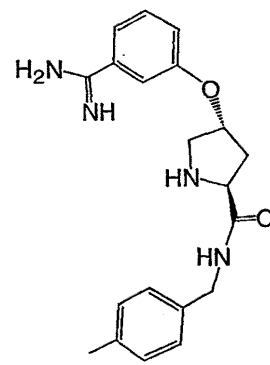
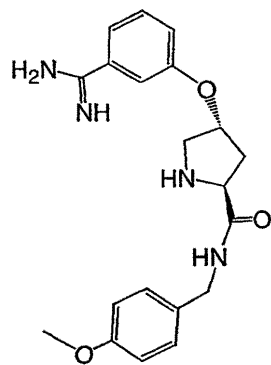
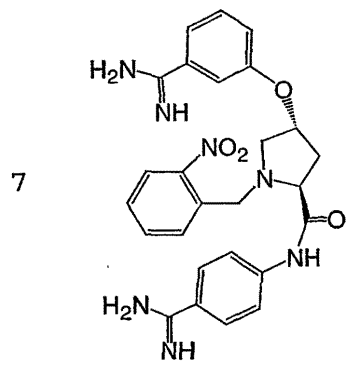
本発明の好ましい化合物には：



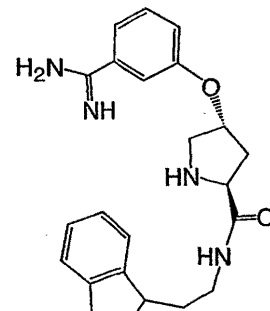
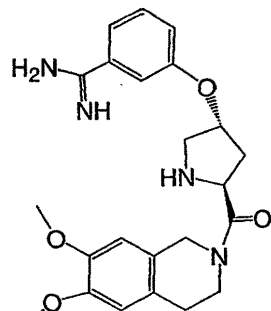
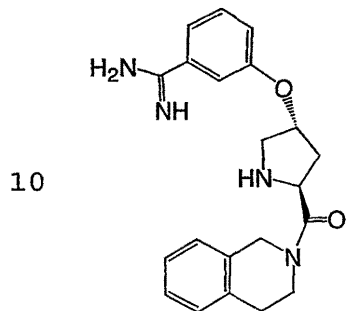
10



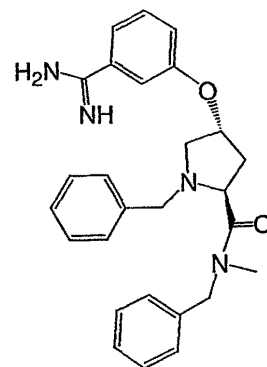
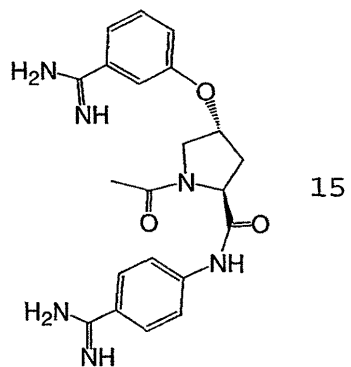
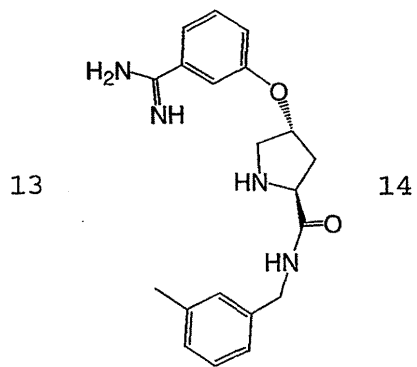
20



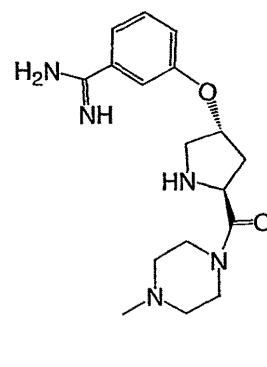
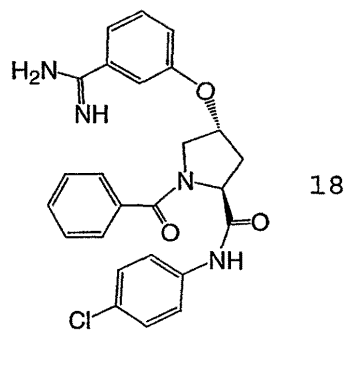
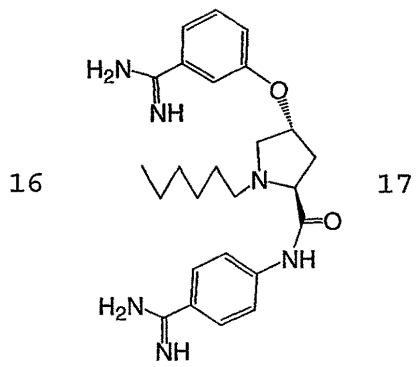
30



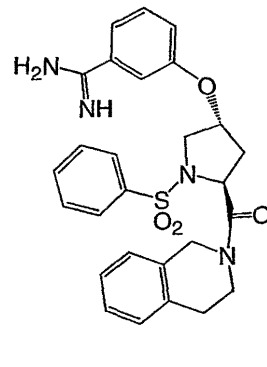
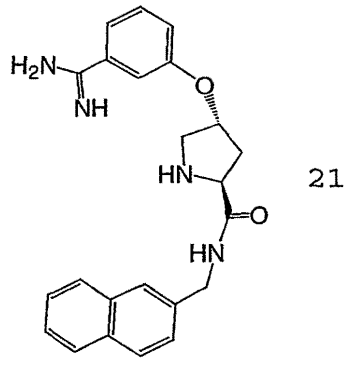
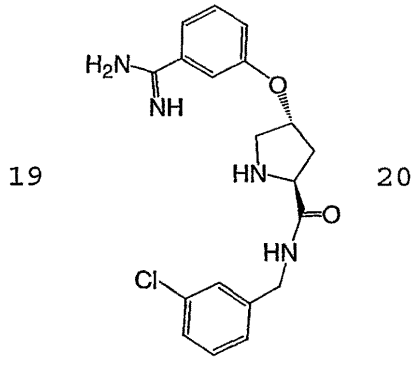
40



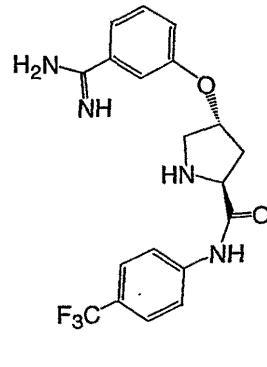
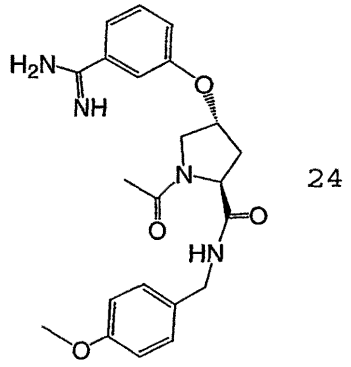
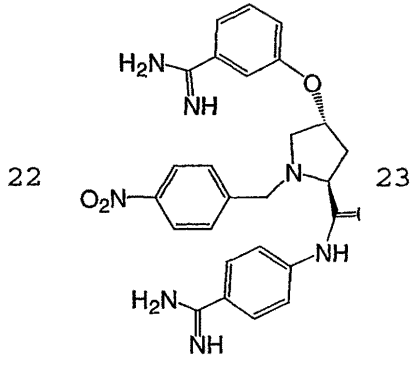
10



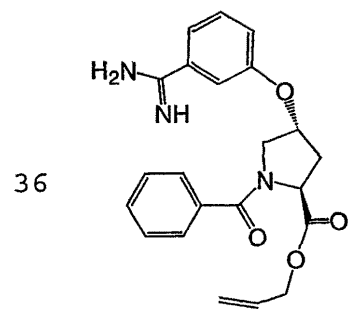
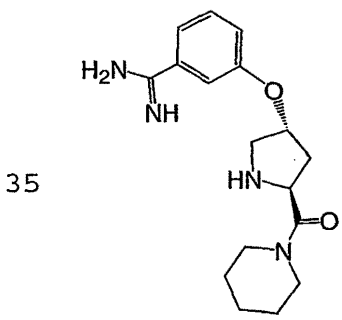
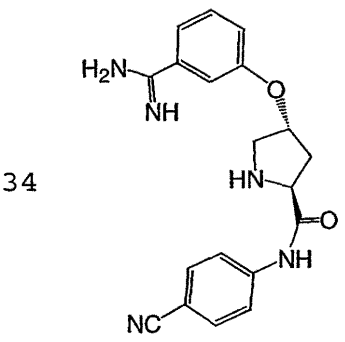
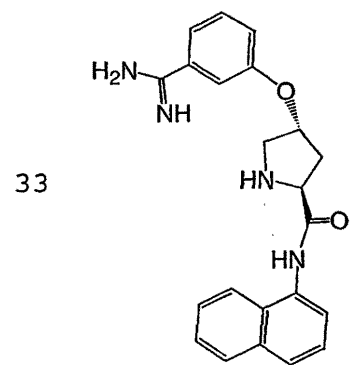
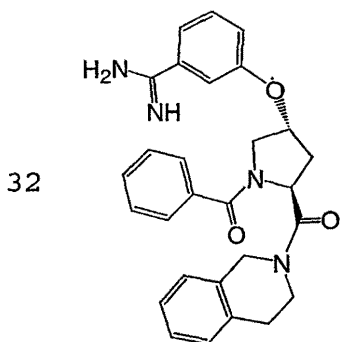
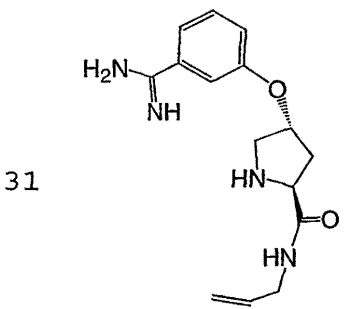
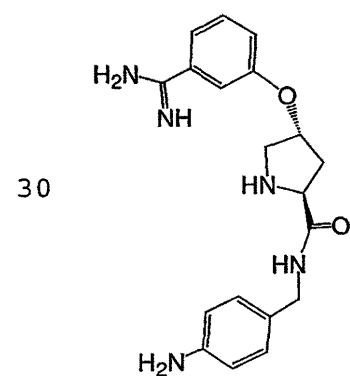
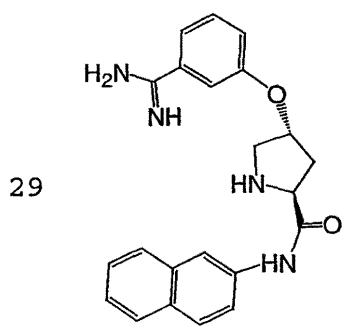
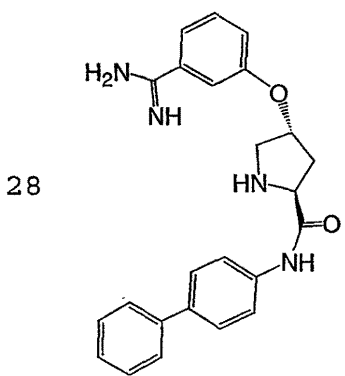
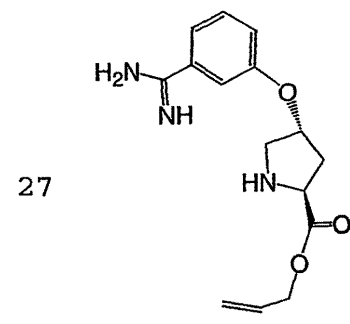
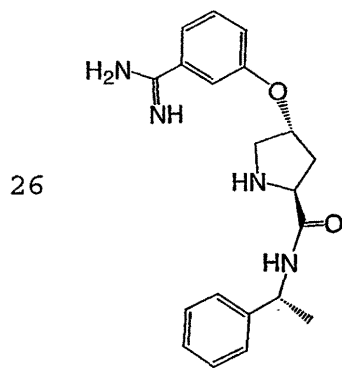
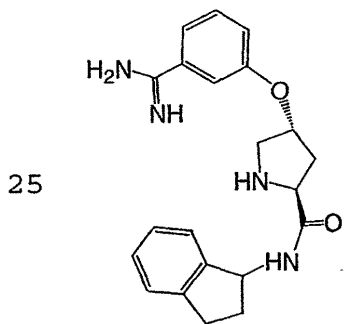
20



30



40

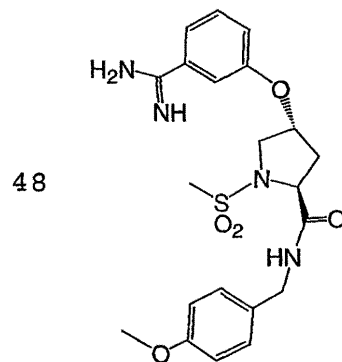
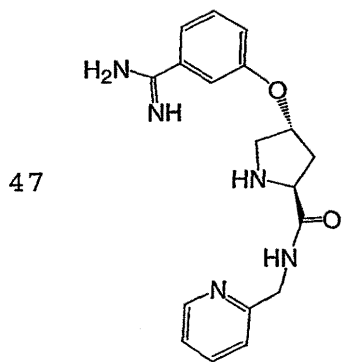
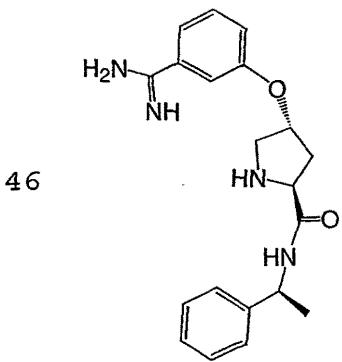
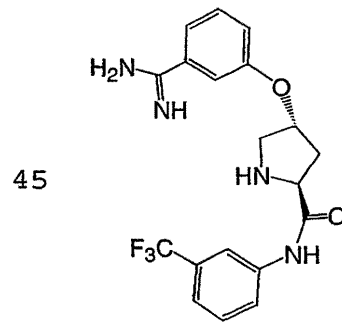
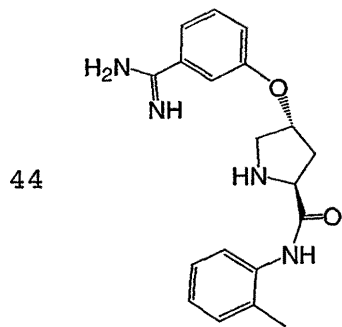
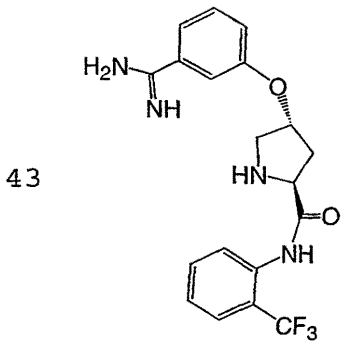
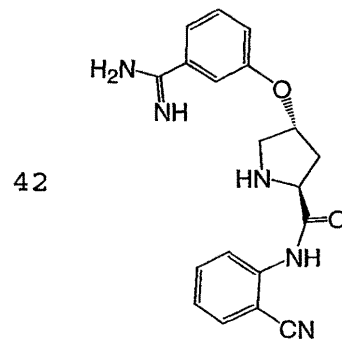
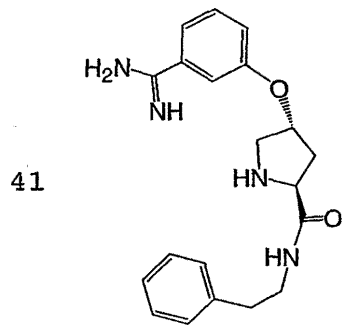
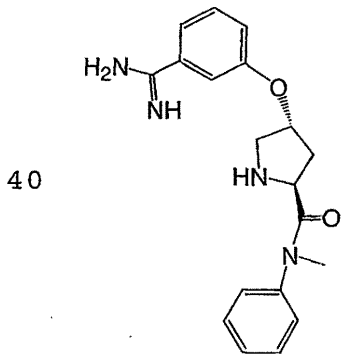
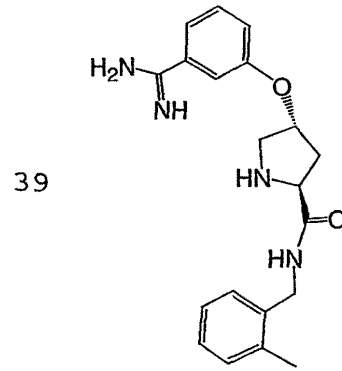
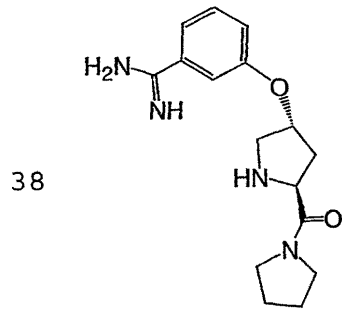
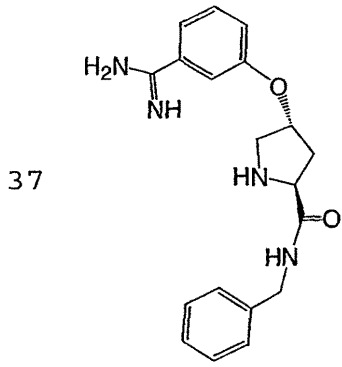


10

20

30

40

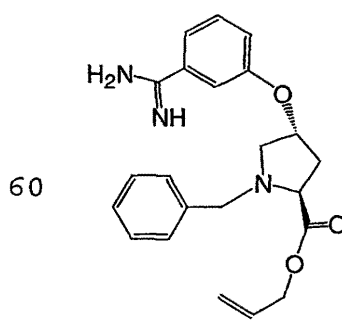
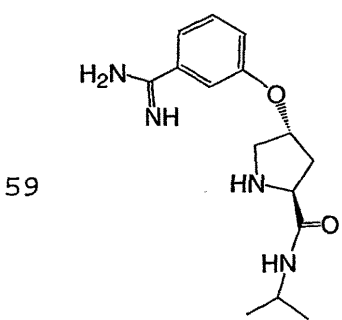
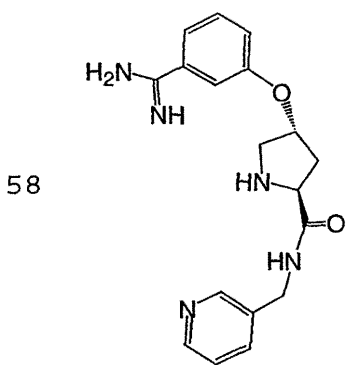
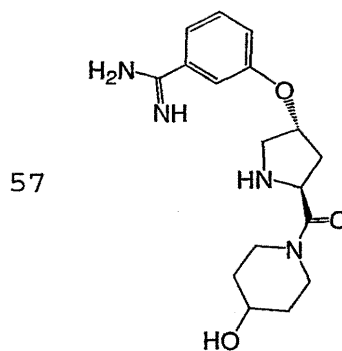
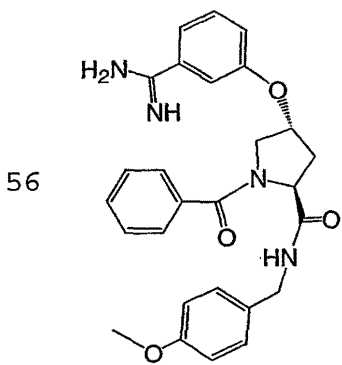
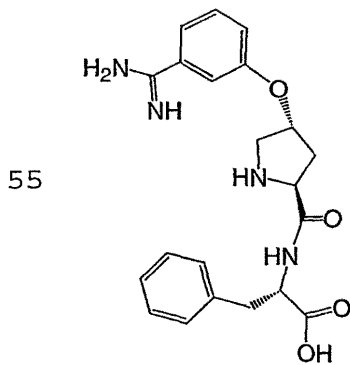
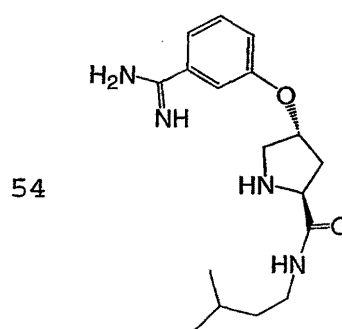
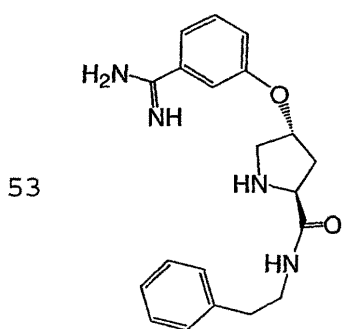
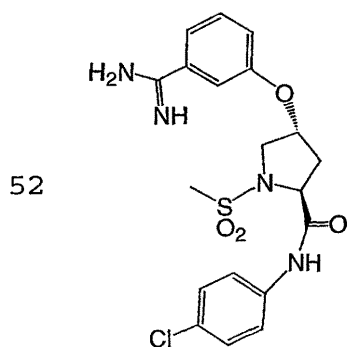
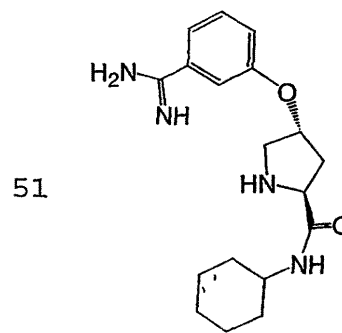
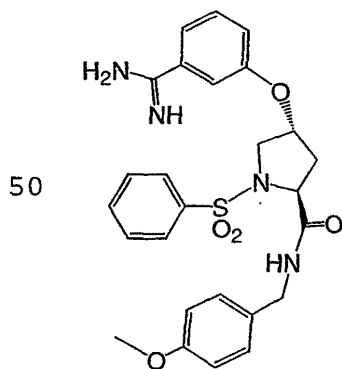
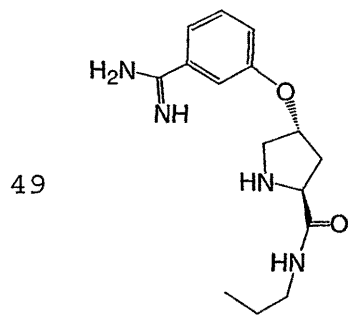


10

20

30

40

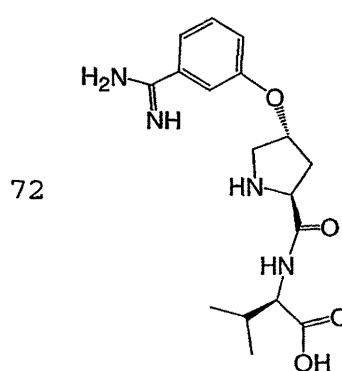
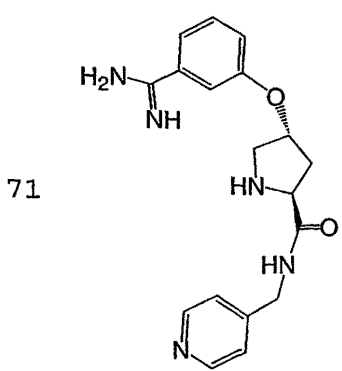
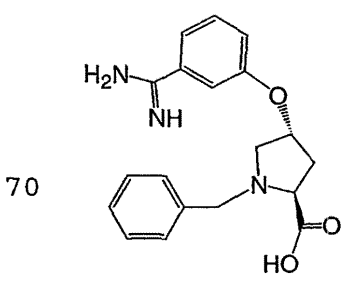
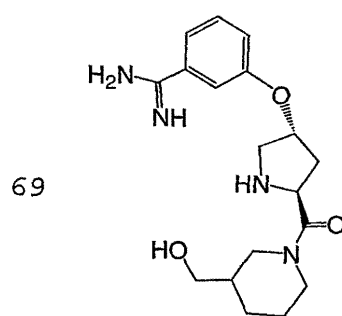
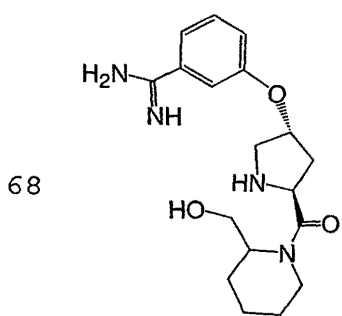
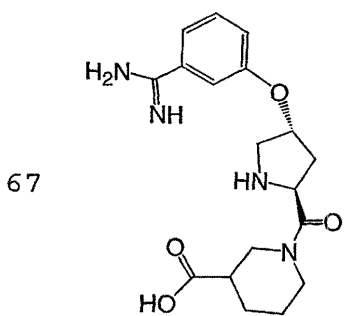
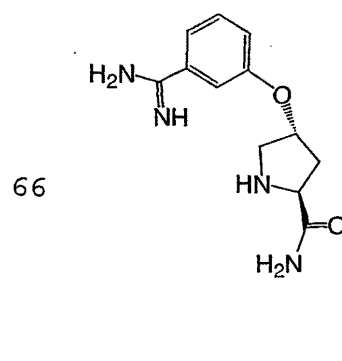
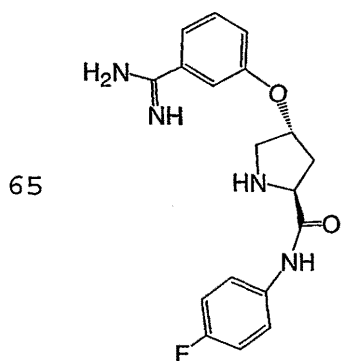
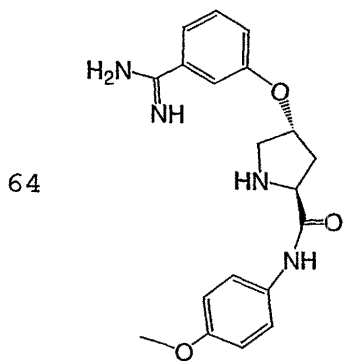
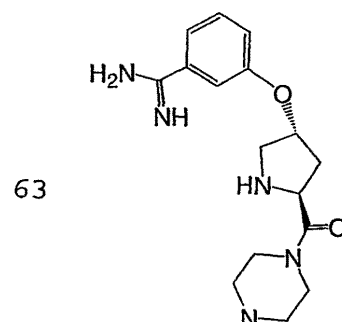
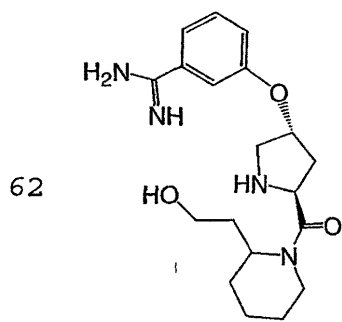
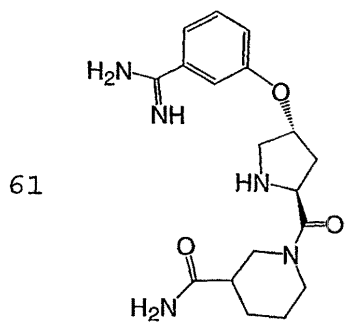


10

20

30

40

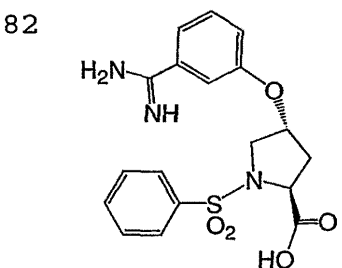
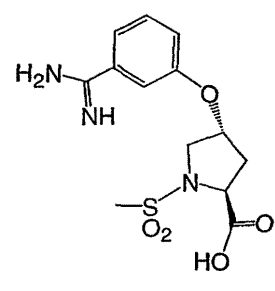
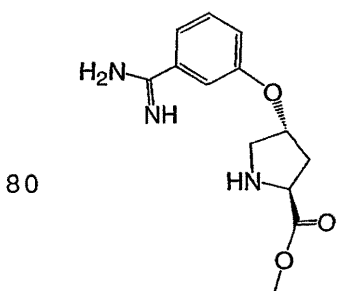
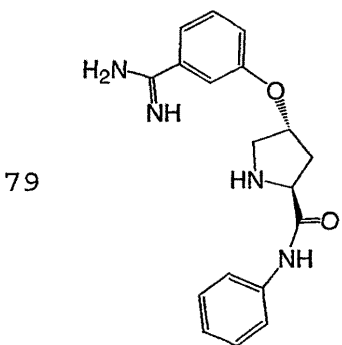
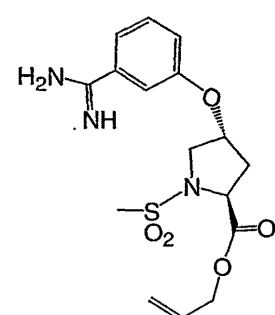
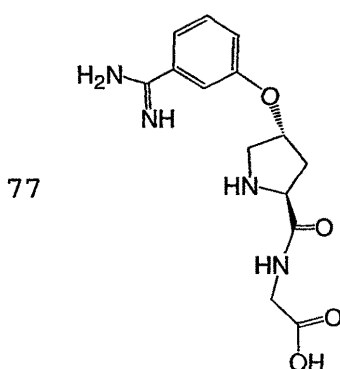
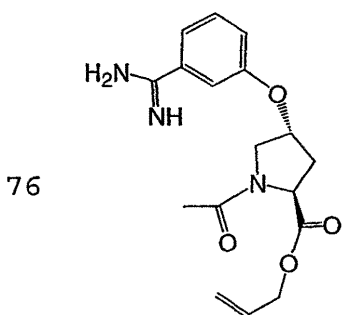
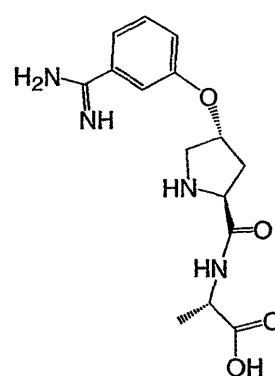
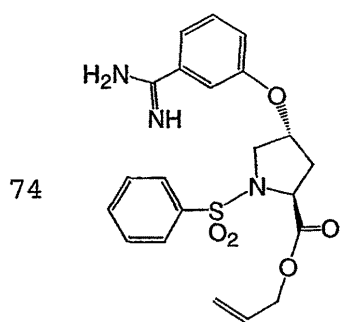
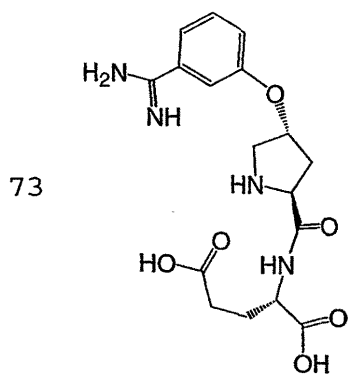


10

20

30

40



10

20

30

40

のもの、及びそれらの塩、溶媒和化合物及び水和物が含まれる。

【0018】

本発明の化合物は不斉中心を有しており、よって幾何及び立体異性体として存在することが理解される。このような異性体の全てが考慮され、純粋な異性体形態であってもこのような異性体の混合物並びにラセミ体であっても、本発明の範囲に入る。立体異性化合物はクロマトグラフィー等の当該分野において確立された技術、すなわちキラルHPLC、又は結晶化法により分離できる。

50

【0019】

「医薬的に許容可能な」塩には、酸及び塩基付加塩の双方が含まれる。医薬的に許容可能な酸付加塩とは、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、炭酸、リン酸等の無機酸、及び脂肪族、脂環式、芳香族、アリール脂肪族、複素環、カルボン酸及びスルホン酸クラスの有機酸、例えばギ酸、酢酸、プロピオン酸、グルコール酸、グルコン酸、乳酸、ピルビン酸、シュウ酸、リンゴ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、アスパラギン酸、アスコルビン酸、グルタミン酸、アントラニル酸、安息香酸、ケイ皮酸、マンデル酸、エンボン酸 (embonic acid)、フェニル酢酸、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、サリチル酸等から選択される有機酸で形成される、フリーの塩基の性質及び生物学的な効能を保持し、生物学的等の点で望ましくないものではない塩を意味する。

10

【0020】

医薬的に許容可能な塩基付加塩には、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、アルミニウムの塩等の無機塩基から誘導されたものが含まれる。特に好ましくは、アンモニウム、カリウム、ナトリウム、カルシウム及びマグネシウムの塩である。医薬的に許容可能な無毒性の有機塩基から誘導される塩には、第1級、第2級及び第3級アミン、天然に生じた置換アミンを含む置換アミン、環状アミン及び塩基性イオン交換樹脂、例えばイソプロピルアミン、トリエチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、エタノールアミン、2-ジエチルアミノエタノール、トリメタミン、ジシクロヘキシルアミン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、カフェイン、プロカイン、ヒドラバミン (hydrabamine)、コリン、ベタイン、エチレンジアミン、グルコサミン、メチルグルカミン、テオプロミン、プリン、ピペラジン、ペペリジン、N-エチルペペリジン、ポリアミン樹脂等の塩が含まれる。特に好ましい無毒性の有機塩基は、イソプロピルアミン、ジエチルアミン、エタノールアミン、トリメタミン、ジシクロヘキシルアミン、コリン及びカフェインである。

20

【0021】

本発明の化合物は、商業的に入手可能な出発物質及び試薬からか、商業的に入手可能な出発物質から調製されうる出発物質から、確立された有機合成法に従い調製することができる。多くの標準的な化学技術及び手順が、March, J., "Advanced Organic Chemistry" McGraw-Hill, New York, 1997; 及び Collman, J., "Principles and Applications of Organotransition Metal Chemistry" University Science, Mill Valley, 1987; 及び Larock, R., "Comprehensive Organic Transformations" Verlag, New York, 1989 に記載されている。化合物上に存在する特定の置換基に応じて、ここに記載した工程に加えて、適切な保護及び脱保護手順が必要となることが理解される。Greene 及び Wuts, "Protective Groups in Organic Chemistry", 第2版, John Wiley and Sons, 1991 には多くの保護基が、詳細な保護及び脱保護手順と併せて、記載されている。例えば、適切なアミノ保護基には、t-ブチルオキシカルボニル (Boc)、フルオレニル-メチルオキシカルボニル (Fmoc)、2-トリメチルシリル-エチオキシカルボニル (Teoc)、1-メチル-1-(4-ピフェニルイリ)エトキシカルボニル (Bpoc)、アリルオキシカルボニル (Alloc)、及びベンジルオキシカルボニル (Cbz) が含まれる。カルボキシル基は、フルオレニルメチル基として、又はアルキルエステル、すなわちメチル又はエチル、あるいはアルケニルエステル、例えばアリルとして、保護されうる。ヒドロキシル基はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチル及びトリメトキシトリチル基で保護されうる。

30

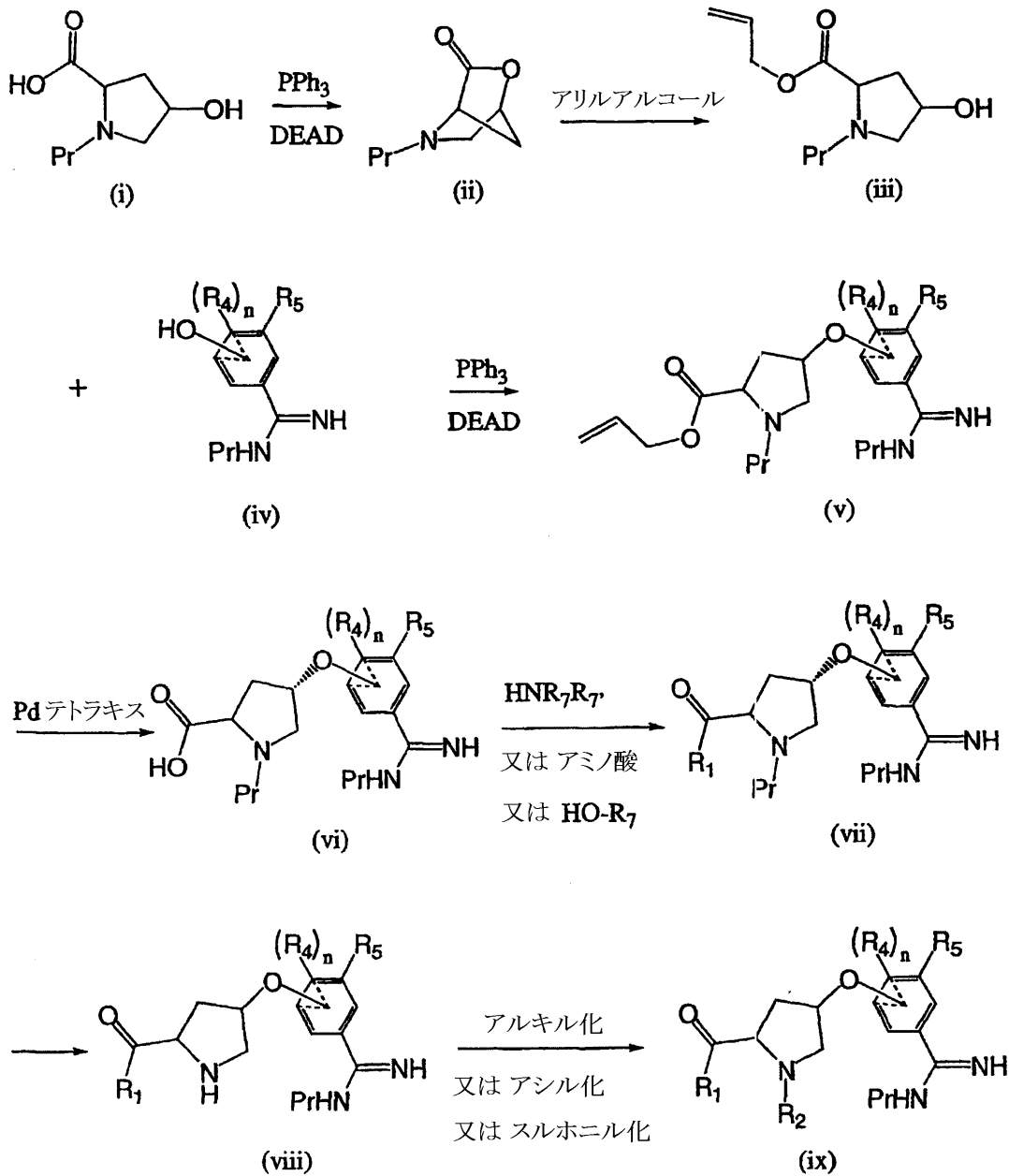
40

【0022】

XがOである特定の実施態様では、本発明の化合物はスキーム1に従い調製されうる。

50

スキーム 1



10

20

30

40

50

スキーム 1 において、市販の N - 保護ヒドロキシプロリン (つまり、Boc 又は Teoc 保護されたもの) (i) が、トリフェニルホスフィン (PPh₃) 及び DEAD と、ついで Ti (IV) イソプロポキシドの存在下でアリルアルコールと反応させられることによって、アリルエステル (iii) に転換される。ついでアリルエステル (iii) は、光延反応によって PPh₃ 及び DEAD の存在下で N - 保護メタ - 又はパラ - ヒドロキシベンズアミジン (つまり、Boc - 保護されたもの) とカップリングされる。クロロホルムの酢酸 (つまり 2 / 5 %) 及び n - メチルモルホリン (つまり 5 %) の溶液中で Pd テトラキス (PPh₃) を用いてアリル基が除去されて、フリーのカルボン酸 (vi) が得られ、これがアミン HNR₇R₇、アミノ酸又はアルコール HO - R₇ と反応させられて (vii) を生じる。アミン HNR₇R₇、及びアミノ酸カップリングのためには、カルボキシル酸 (vi) が標準的なアミド生成法に従って例えば HBTU 及び HOBt で最初に活性化される。本発明の化合物の R₁ が - NR₆ - フェニル (置換されていてもよい) である特定の実施態様では、カルボン酸は NCS 及びトリフェニルホスフィンで活性化され、アニリンが付加される。プロリン部分の N - 保護基をついで (vii) から除去し、得られた化合物 (viii) を場合によってはアルキル化、アシル化又はスルホニル化し

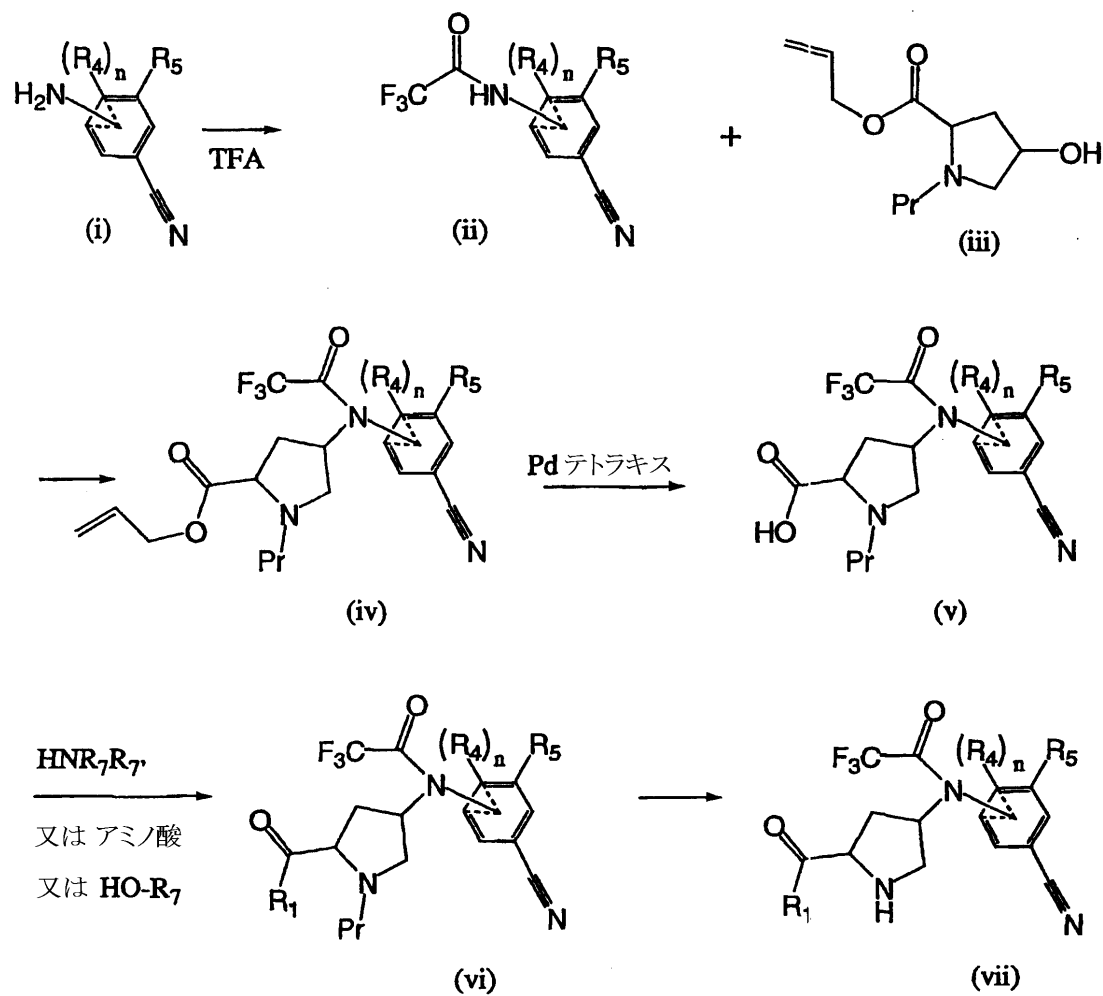
て化合物 (ix) を得る。保護基が T e o c (トリメチルシリルエトキシカルボニル) である場合、脱保護はテトラヒドロフラン (t h f) に入った t b a f (つまり、約 0.24 M) で処理することにより達成される。中間体 (viii) のアルキル化は、様々なアルデヒド類、触媒及び適切な還元剤を使用する標準的な還元的アミノ化によって達成されるか、又はハロゲン化アルキル及び標準的な非求核性塩基で処理することによる S N₂ 型置換によって達成され得る。中間体 (viii) のアシル化は、所望の R₂ カルボン酸を活性化させ (viii) のフリーなアミンと反応させることによる標準的なアミド結合形成法によって達成される。あるいは、(viii) のアミンは R₂ の様々な酸塩化物及びヒューニッヒ (H u n i g) 塩基のような標準的な非求核性塩基で処理することによりアシル化されうる。そのスルホニル化は、中間体 (viii) のフリーなアミンを R₂ の様々な塩化スルホニルとヒューニッヒ塩基のような非求核性塩基と共に反応させることにより達成される。

(ix) のアミジン保護基が続いて除去されて、X が O である本発明の式 (I) の最終化合物が得られる。

【0023】

X が N H である他の特定の実施態様では、本発明の化合物はスキーム 2 に従い調製されうる。

スキーム 2

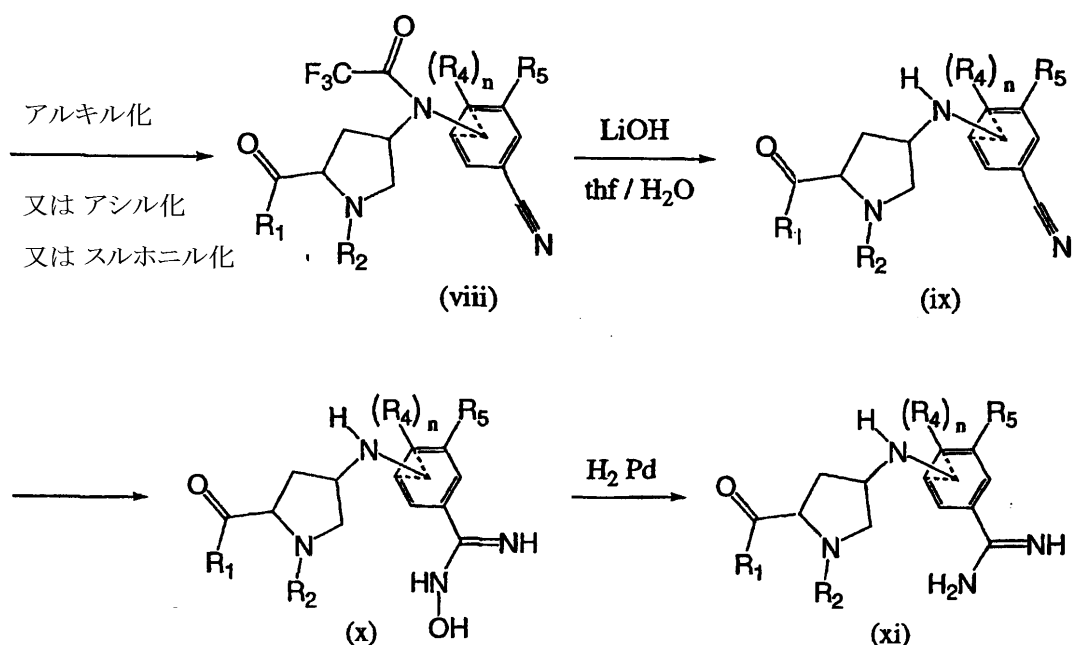


10

20

30

40



10

スキーム 2 において、出発試薬シアノアニリン (i) が、HBTU 及び HOBt で活性化されたトリフルオロ酢酸 (TFA) と反応させられて中間体 (ii) が得られ、これが N - 保護ヒドロキシピロリンのアリルエステル (iii) とカップリングされて中間体 (iv) が得られる。アリル基はフリーのカルボン酸に転換され、ついでアミン $\text{HN}(\text{R}_7)(\text{R}_7)$ 、アミノ酸又はアルコール $\text{HO}-\text{R}_7$ と反応させられ、ピロリン上の N - 保護基が除去され、場合によってはスキーム 1 に対して記載したようにしてアルキル化、アシル化又はスルホニル化される。トリフルオロアセチル基は $\text{thf}/\text{H}_2\text{O}$ 中で水酸化リチウムと (v) を反応させることによって除去され、(vi) が得られる。ニトリル中間体 (vii) はヒドロキシアミン塩酸塩及び TEA と反応させることによってヒドロキシアミン (viii) に転換され、続いて水素及びパラネーニッケル又はパラジウムのような金属水素化触媒で処理することによりアミン (ix) に還元される。

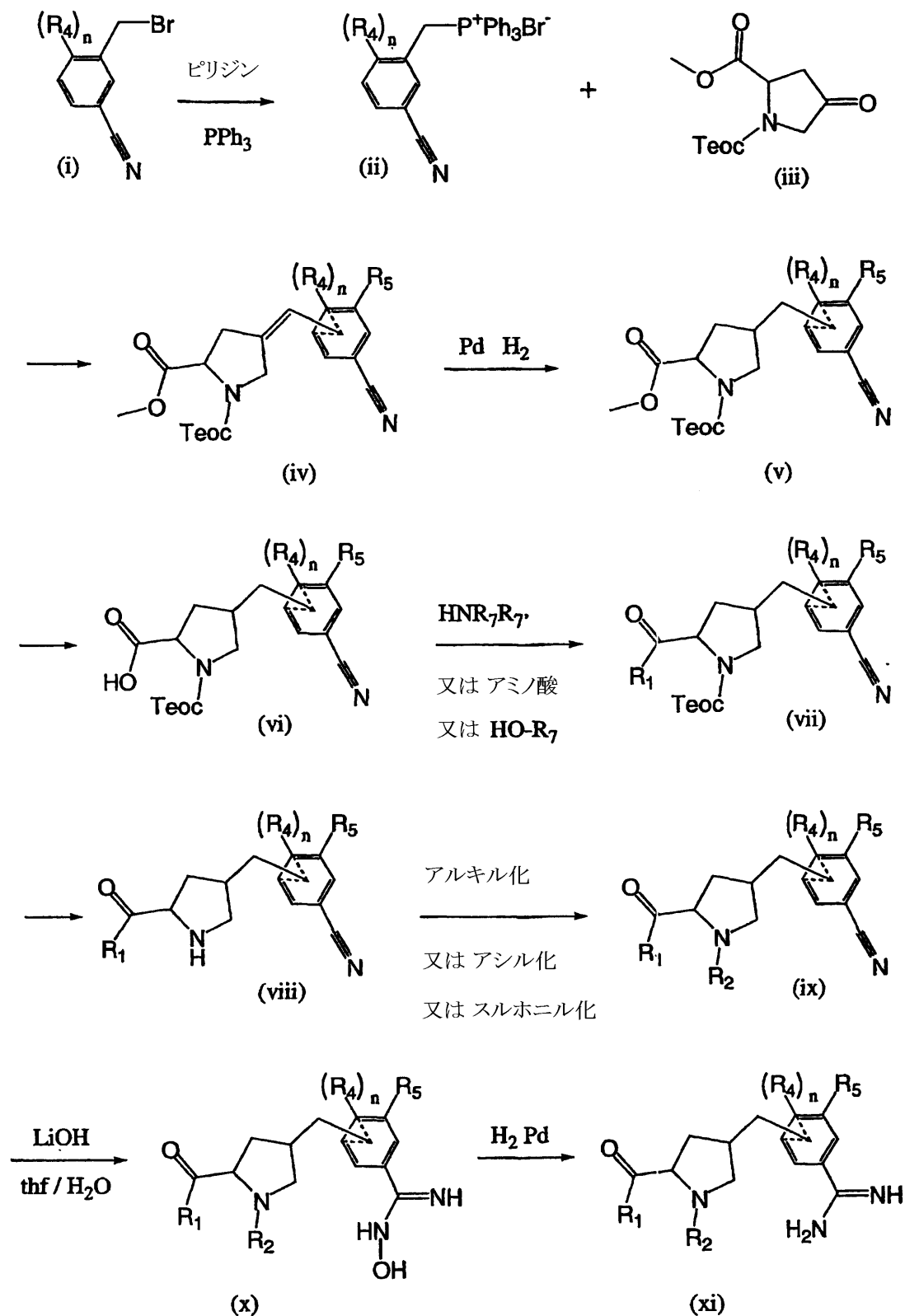
20

【 0 0 2 4 】

30

X が CH_2 である他の特定の実施態様では、本発明の化合物はスキーム 3 に従い調製される。

スキーム 3



10

20

30

40

スキーム 3 において、出発シアノベンジルブロミド化合物 (i) が、ピリジン中で PPh_3 と反応させられてホスホニウム塩 (ii) に転換され、これが次にケト-プロリン中間体 (iii) とヴィッティッヒ (Wittig) オレフィン生成反応を受けて中間体 (iv) が得られる。中間体 (iii) は、オキサロクロライド及びトリエチルアミン (TEA) の存在下でスウェーン (Swern) 酸化を受ける N-保護プロリンエステル、例え

50

ば N - T e o c 保護プロリンメチルエステルから調製される。オレフィン中間体 (i v) は P d 触媒と H₂ で還元されて (v) が得られる。エステル基はフリーのカルボン酸に転換され、ついでアミン H N R₇ R₇、アミノ酸又はアルコール H O - R₇ と反応させられ、プロリン上の N - 保護基が除去され、場合によってはスキーム 1 に対して記載したようにしてアルキル化、アシル化又はスルホニル化される。ニトリル中間体 (i x) はヒドロキシルアミン塩酸塩及び T E A と反応させることによってヒドロキシアミジン (x) に転換され、続いて水素及びラネーニッケル又はパラジウムのような金属水素化触媒で処理することによりアミジン (x i) に還元される。

【 0 0 2 5 】

本発明の一側面では、タンパク質リガンドに対するセリンプロテアーゼ (例えば、第 V I I a 因子、T F / 第 X a 因子複合体、トロンピン、トリプシン、プラスミン及びカリクレイン) の結合を阻害する方法であって、上記セリンプロテアーゼを式 (I) の化合物と接触させることを含んでなる方法が提供される。本方法は溶液ベース又は細胞ベースのアッセイとしてインビボ又はエキソビボで実施することができ、そこで、本発明の化合物はプロテアーゼの推定又は既知のリガンドの存在下で、セリンプロテアーゼに導入される。本発明の化合物は、プロテアーゼへのリガンドの結合又はその低減の検出が容易になるように標識され、例えば同位体を用いて放射標識され、又は F I T C のようなフルオロフォアで標識される。よって本発明の化合物は、診断及びスクリーニングアッセイに有用である。

【 0 0 2 6 】

本発明の化合物は、セリンプロテアーゼ活性によって媒介される疾患又は症状を治療的及び/又は予防的に処置するのに有用である。従って、本発明の一側面では、哺乳動物におけるセリンプロテアーゼにより媒介される疾患又は症状を処置する方法であって、有効量の本発明の化合物を上記哺乳動物に投与することを含んでなる方法が提供される。「有効量」とは、投与することで、セリンプロテアーゼの活性を低減することができる化合物の量；又は投与することで、血液凝固又は血栓形成を防止し、阻害し又は低減するのに必要とされる化合物の量；又はセリンプロテアーゼにより媒介される疾患又は病状に関連した徴候の重症度を緩和又は低減することができる量を意味する。本発明の化合物はまた凝血を防止するために血液サンプル又は保存物に対する添加剤として使用することもできる。従って、哺乳動物の血液 (つまり、ヒトの血液) の凝固を阻害する方法において、本発明の化合物を上記血液に導入することを含んでなる方法もまた提供される。

【 0 0 2 7 】

投与される化合物の実際の量と投与経路は、特定の疾患又は病状並びに他の要因、例えば大きさ、年齢、性別及び処置される個人の種族的出身に依存し、常套的な分析により決定される。一般に、静脈内投与量は一日当たり約 0 . 0 1 - 1 0 0 0 m g / k g (患者の体重)、好ましくは 0 . 1 から 2 0 m g / k g 及び 0 . 3 から 1 5 m g / k g の範囲となる。投与は、数日、数週又は数年の間、一日当たり 1 回又は複数回としうるか、あるいは数週間又は数年の間、毎週数回としうる。他の経路で投与される化合物の量は、投与される特定の化合物の血漿バイオアベイラビリティを考慮して、記載した静脈内投与量と比較して、血漿中に同様の量の化合物をもたらす量である。

【 0 0 2 8 】

本発明の方法において、本化合物は、経口的 (口腔内、舌下、吸入を含む)、経鼻的、経腸的、経膈的、静脈内 (動脈内を含む)、真皮下、皮下、筋肉内及び局所的に投与される。化合物は、製剤化技術において常套的なように、例えば適切な担体、希釈剤、増粘剤、アジュバント等々と共に、投与に適切な組成物に製剤化される。従って、本発明の他の側面は、式 (I) の化合物と医薬的に許容可能な担体、賦形剤又はアジュバントを含有する医薬組成物を提供する。

【 0 0 2 9 】

また本発明の組成物は、更なる活性成分、特に更なる抗凝血剤 (例えばアスピリン、ワルファリン、ヘパリン) 及び/又は血栓溶解剤 (例えばストレプトキナーゼ、t P A、T N

K a s e ^{T M}) をまた含有してもよい。投与形態には、溶液、パウダー、錠剤、カプセル、ゲルカプセル、座薬、局所用軟膏及びクリーム、及び吸入用エアゾールが含まれる。非腸管外投与用の製剤には、バッファー、希釈剤、及び他の適切な添加剤を含みうる滅菌水溶液が含まれる。本発明の化合物と有害な反応をしない非腸管外投与に適した医薬的に許容可能な有機又は無機の担体物質を使用することができる。適切な医薬的に許容可能な担体には、限定されるものではないが、水、食塩水、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン等が含まれる。製剤は、滅菌され、所望されるならば、本発明の化合物と有害な反応をしない助剤、例えば滑沢剤、保存料、安定剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧に影響を及ぼす塩、バッファー、着色用フレーバー及び/又は芳香物質等と混合することもできる。水性懸濁液は、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール及び/又はデキストランを含む、懸濁液の濃度を増加させる物質を含んでもよい。場合によっては、懸濁液は更に安定剤を含有してもよい。

10

【0030】

好ましい実施態様では、本発明の化合物は経口送達によって投与される。経口投与用組成物には、パウダー又は顆粒、水性又は非水性媒体の溶液又は懸濁液、カプセル、袋(サシエ)、トローチ、錠剤又はSEC (soft elastic capsules (柔軟な弾性カプセル)又はキャプレット)が含まれる。増粘剤、香料添加剤、希釈剤、乳化剤、分散補助剤、担体物質又はバインダーを、このような製剤に望ましくは添加してもよい。このような製剤は、その粘膜に暴露するための消化管に化合物を送達させるために使用されうる。従って、製剤は、胃の極度のpHから化合物を保護し、又は経時的に化合物を放出し、特定の粘膜部位へのその送達を最適化するのに有効な物質からなり得る。耐酸性の錠剤、カプセル及びキャプレットのための腸溶コーティングは当該分野において知られており、典型的にはアセテート、フタレート、プロピレングリコール及びソルビタンモノレアートが含まれる。

20

【0031】

食餌性送達のための製剤を生産する様々な方法が当該分野においてよく知られている。一般的には、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18版, Gennaro編, Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990を参照のこと。本発明の製剤は、公知の方法で、不活性で無毒性の医薬的に適切な賦形剤又は溶媒を使用し、常套的な製剤、例えば錠剤、コーティング錠剤、丸薬、顆粒、エアゾール、シロップ、エマルション、懸濁液及び溶液に転換することができる。治療的に活性な化合物は、それぞれの場合、全混合物の重量に対して約0.5から約99重量%の濃度、すなわち所望する用量範囲を達成するのに十分な量で存在すべきである。製剤は、適切ならば乳化剤及び/又は分散剤を使用して、例えば溶媒及び/又は賦形剤で活性化合物を薄めることにより調製され、例えば水が希釈剤として使用される場合では、適切ならば有機溶媒を補助溶媒として使用することができる。

30

【0032】

また組成物は、結合剤(例えば、アルファ化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン又はヒドロキシプロピルメチルセルロース); フィラー(例えば、ラクトース、マイクロクリスタリンセルロース又はリン酸水素カルシウム); 滑沢剤(例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク又はシリカ); 分解剤(例えば、デンプン又はグリコール酸デンプンナトリウム); 又は湿潤剤(例えば、ラウリル硫酸ナトリウム)を用いて製剤化されてもよい。錠剤は当該分野においてよく知られている方法によりコーティングしてもよい。また製剤は、適切な香料添加剤、着色剤及び/又は甘味料を更に含有していてもよい。

40

【0033】

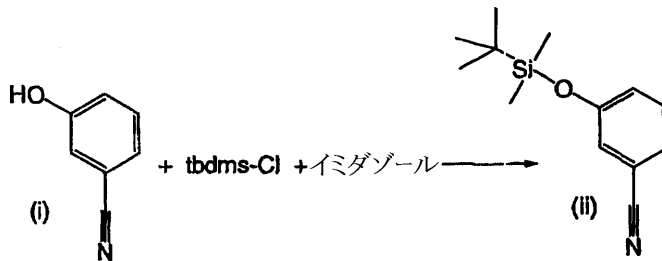
経口投与に適切な本発明の製剤は、それぞれ予め決定された量の活性成分を含有する個別単位として、例えばカプセル、カシエ剤(cachet)又は錠剤; パウダー又は顆粒; 水性液体又は非水性液体の溶液又は懸濁液; 又は水中油型エマルション又は油中水型エマ

50

ルシオンとして提供されてもよい。錠剤は、場合によっては一又は複数の副成分と共に、圧密化又は成型により作製され得る。圧密化錠剤は、適切な機械において、流動性形態の活性成分、例えばパウダー又は顆粒を圧密化し、場合によってはバインダー、滑沢剤、不活性希釈剤、保存料、界面活性剤又は分散剤と混合して、調製される。成型錠剤は、適切な機械において、不活性希釈剤で湿らされたパウダー化合物の混合物を成型することにより作製される。錠剤は、コーティングされても割線を入れてもよく、中の活性成分がゆっくりと又は制御されて放出されるように製剤され得る。

【0034】

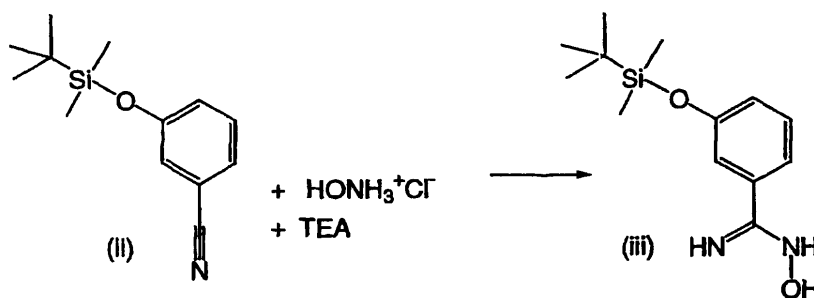
実施例1 ベンズアミジン化合物の合成
工程1



10 g (84 mmol) の 3 - ヒドロキシベンゾニトリルと 17.2 g (252 mmol) のイミダゾールを 300 ml の dmf に溶解させた。この溶液に、38.0 g (252 mmol) の t - ブチルジメチルシリルクロリド (t b d m s - C l) を加え、反応物を室温で 12 時間、撹拌した。ジメチルホルムアミドを真空濃縮により除去し、多量の酢酸エチルに再溶解した。ついで、有機層を水で 2 回洗浄し、塩水で 2 回洗浄した。ついで有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させ真空濃縮した。ついで粗混合物をエーテル溶剤系を用いてフラッシュクロマトグラフィーによって精製し、18.6 g (95% の収率) の (i i) を生じた。

【0035】

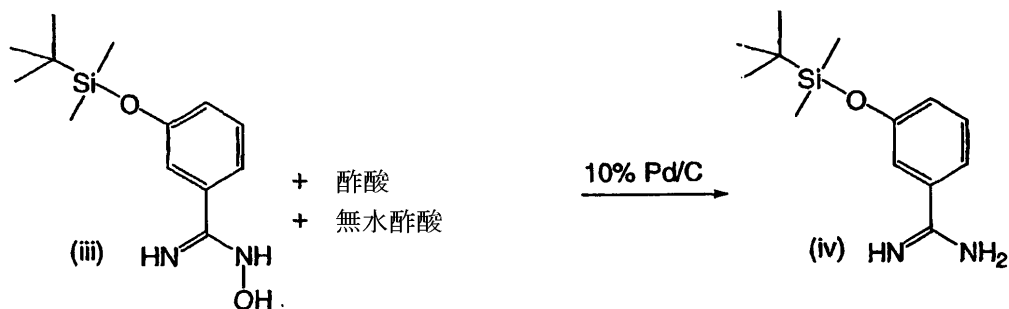
工程2



12 g (51.2 mmol) の (i i) を 150 ml のエタノールに溶解させた。この溶液に、18.0 g (255 mmol) のヒドロキシルアミン塩酸塩と 45.0 ml (255 mmol) のトリエチルアミンを添加し、反応物を一晩 60 °C で撹拌した。反応物を真空濃縮し、酢酸エチルに再溶解させ、水と塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させ真空濃縮して、12.0 g (88% の収率) の粗物質を得た。

【0036】

工程3

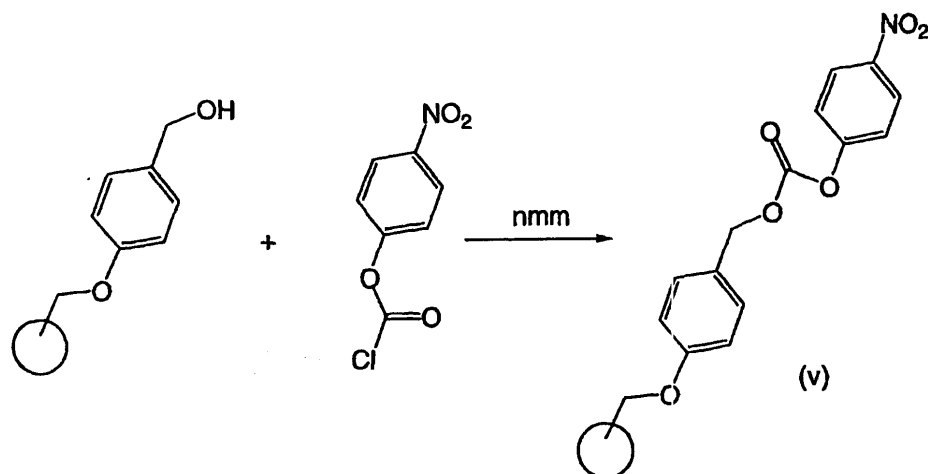


12.0 g (42 mmol) の粗物質 (iii) を 200 ml のエタノールに溶解させた。この溶液に、3.6 ml (60 mmol) の酢酸と 6.0 ml の無水酢酸を添加した。ついで 2.0 g の 10% パラジウムカーボン を反応物に添加した。次に、反応物を水素下に配し、室温で一晩撹拌した。反応物をセライトによって濾過し、真空濃縮し、ベンゼンで 2 回共沸させて、11.7 g (90% の収率) の (iv) を得た。

10

【0037】

工程 4



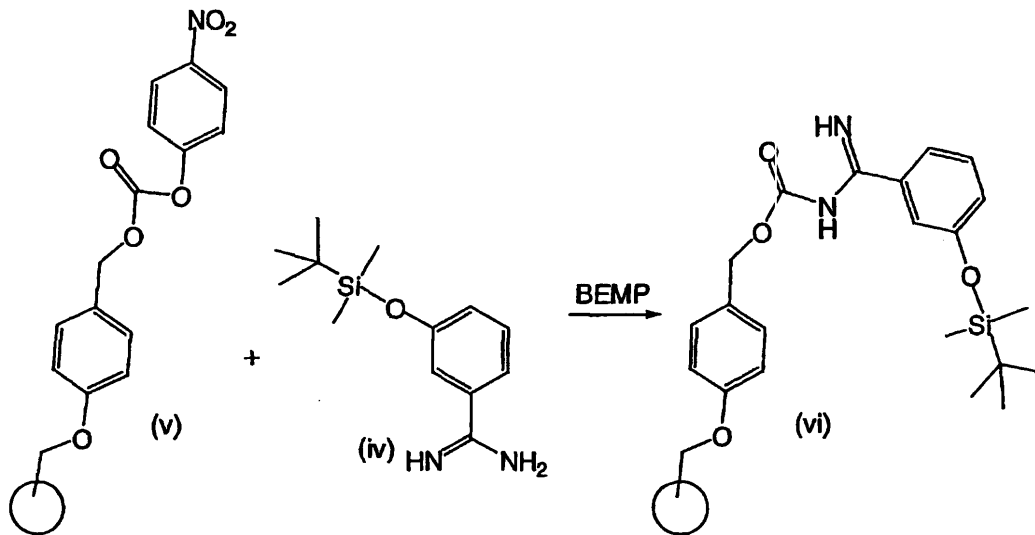
20

10.0 g (3.7 mmol) のアルゴゲル (ArgoGel) ワング (Wang) 樹脂を 80 ml のジクロロメタン中に懸濁させた。4.0 g (20 mmol) のクロロギ酸ニトロフェニルを樹脂に添加した後、2.2 ml (20 mmol) の *n*-メチルモルホリンを添加した。樹脂懸濁液を室温で 30 分間撹拌し、続いて濾過し、ジクロロメタンで 3 回洗浄して樹脂 (v) を得た。

30

【0038】

工程 5

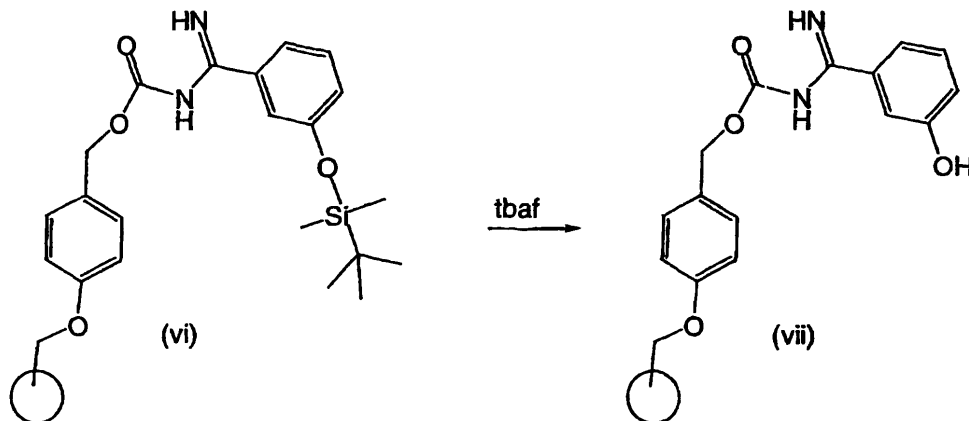


ついで樹脂 (v) を 80 ml のアセトニトリルに懸濁させ、3.10 g (10 mmol) の (iv) を添加した後、5.8 ml (20 mmol) の 2-tert-ブチルイミノ-2-ジエチルアミノ-1,3-ジエチル-ペルヒドロ-1,3,2-ジアザホスホリンを加えた。樹脂を室温で1時間攪拌した。懸濁液を濾過し、樹脂をアセトニトリルで2回、メタノールで2回、ジクロロメタンに入れた20%酢酸で2回、ジクロロメタンで2回、メタノールで2回洗浄して、樹脂 (vi) を得た。

20

【0039】

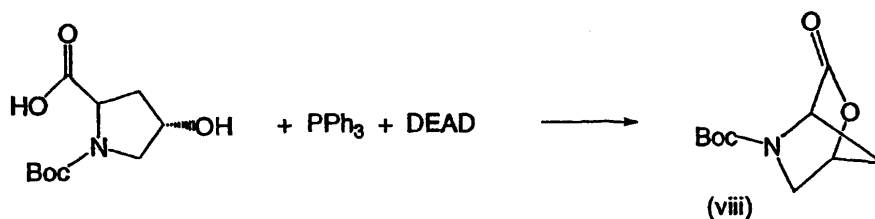
工程 6



樹脂 (vi) を thf に入れた 0.25 M の tbafl 溶液 80 ml 中に 30 分間懸濁させた。ついで、懸濁液を濾過し、テトラヒドロフランで3回、ジクロロメタンに入れた20%酢酸で2回、メタノールで2回、ジクロロメタンで2回洗浄して、樹脂 (vii) を得た。

【0040】

工程 7



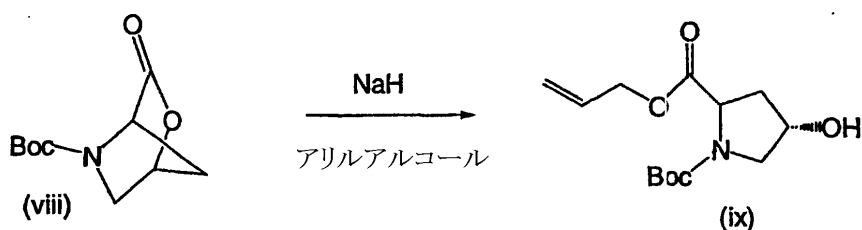
10.0 g (43.2 mmol) の N-Boc-trans-L-ヒドロキシピロリジン を 400 ml のテトラヒドロフランに溶解させた。14.7 g (56.2 mmol) のトリ

50

フェニルホスフィンを添加し、反応物を 0 まで冷却し、8.9 ml (56.2 mmol) の DEAD を添加漏斗を使用して 5 分かけて滴下して加えた。0 まで 30 分間放置し、ついで真空濃縮により *thf* を除去した。エーテルに再希釈し、4 で一晩保存し、トリフェニルホスフィン酸化物を副産物として再結晶させて除去した。再結晶物を濾過し結晶をエーテルで 2 回洗浄した。濾液が曇るようになるまでヘキサンを加え、4 で一晩保存して生成物を再結晶させた。濾過によって結晶を収集し、冷ヘキサンを用いて結晶を 2 回洗浄した。これにより 6.4 g (70% の収率) の (viii) が得られた。

【0041】

工程 8



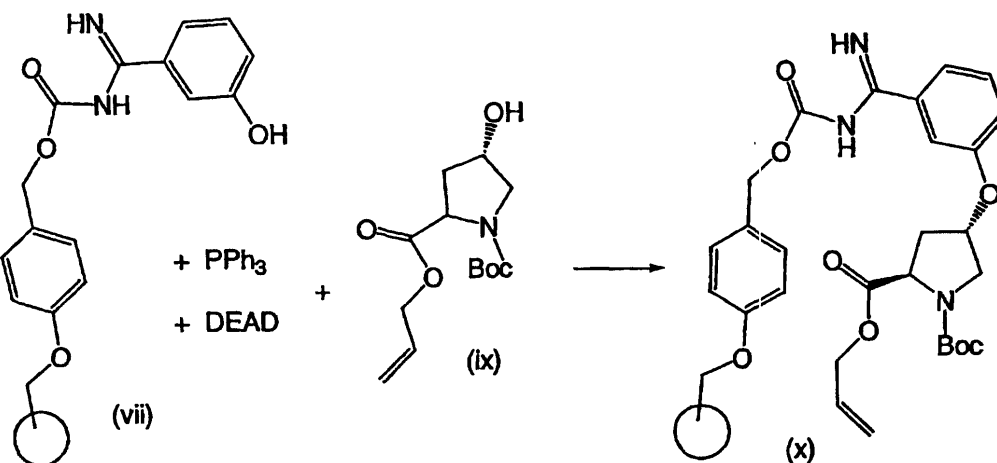
10

6.4 g (30 mmol) の (viii) を 100 ml のアリルアルコールに溶解させ、反応物を 0 まで冷却した。144 mg (6.0 mmol) の水素化ナトリウムを添加し、氷浴を取り除いて反応物を室温まで温めた。室温に達したところで、3.6 ml (60 mmol) の酢酸を添加することによって反応物を急冷した。ついで、反応物を 900 ml の酢酸エチルで希釈し、水で 2 回、塩水で 2 回、洗浄した。ついで有機物を硫酸マグネシウムで乾燥させ、真空濃縮した。ついで粗混合物を、1 : 1 エーテル / 酢酸エチルを使用するシリカプラグによって精製して、6.5 g (24 mmol、80% の収率) の (ix) を油として得た。

20

【0042】

工程 9



30

40

4.0 g (15.3 mmol) の (ix) を 80 ml の *thf* と *dcm* の 1 : 1 混合物に溶解させた。この溶液に、10.0 g (3.5 mmol) の樹脂 (vi) を添加し、反応物を氷浴で 0 まで冷却した。4.0 g (15.3 mmol) のトリフェニルホスフィンを添加した後、2.4 ml (15.3 mmol) のジエチルアジドジカルボキシラートを滴下して加えた。ついで反応物を室温まで温め、一晩攪拌した。この後に濾過を行った。ついで、樹脂をテトラヒドロフランで 2 回、ジクロロメタン中に入れた 20% 酢酸で 2 回、メタノールで 2 回、ジクロロメタンで 2 回、洗浄して、樹脂 (x) を得た。

【0043】

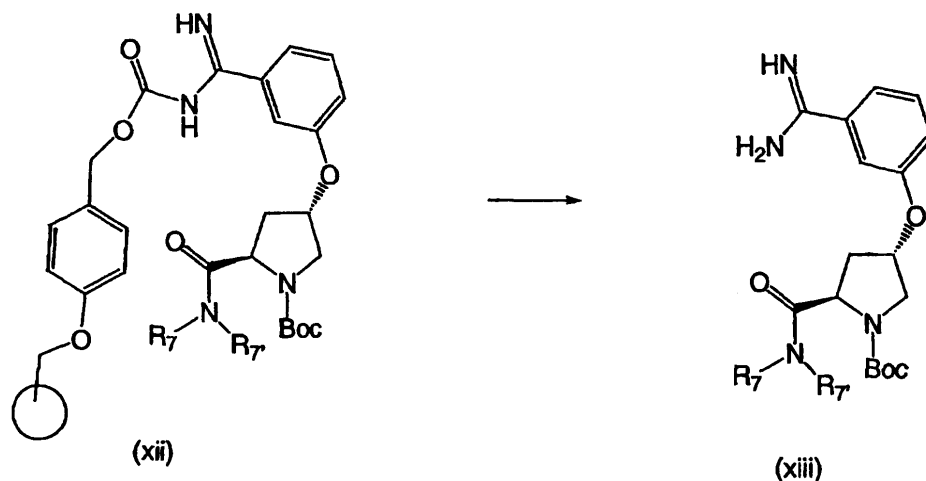
工程 10

50

で3回、d c m中の20%酢酸で2回、メタノールで2回、d c mで2回、洗浄した。

【0046】

工程13



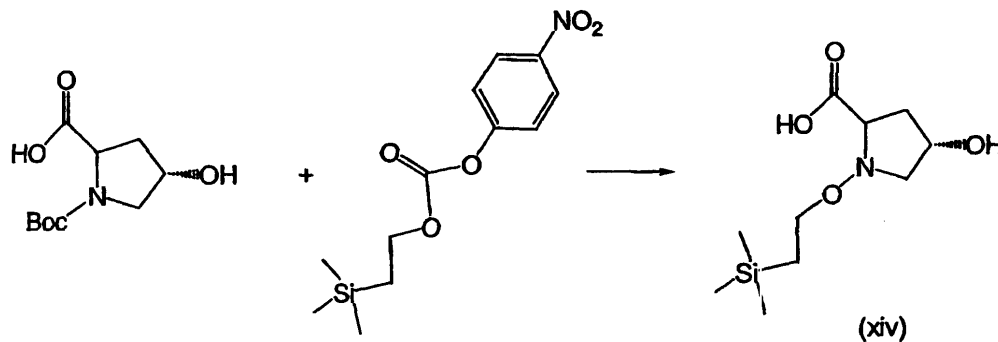
10

(xii)タイプの樹脂の化合物の開裂及びN-Boc開裂を、3.0mlの線形のトリフルオロ酢酸中で樹脂をインキュベーションすることにより実施した。tfaをシンチレーションバイアル中に水切りし、3.0mlのトリフルオロ酢酸で1回洗浄した。ついでサンプルを濃縮し、逆相HPLCによって精製して、(xiii)クラスの化合物を得た。典型的な精製収率は3.0から5.0mgの範囲であった。

20

【0047】

工程14



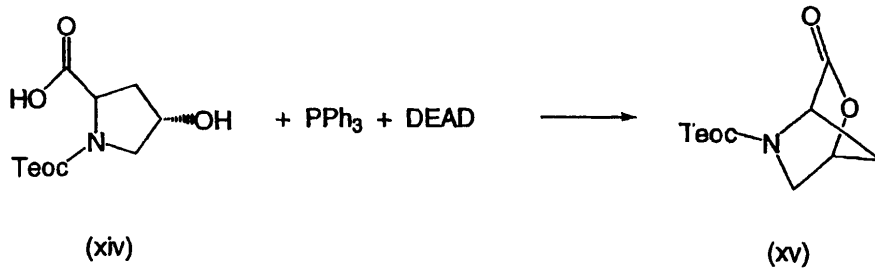
30

15.4g (117.4mmol)のtrans-L-ヒドロキシプロリンと16.21g (153mmol)の炭酸ナトリウムを250mlの水に溶解させた。43.3g (153mmol)のp-ニトロフェニル炭酸2-(トリメチルシリル)エチルを、10分かけて上述の水溶液中に滴下させた。反応物を一晩室温で撹拌した。ついで、反応物を真空濃縮し、多量の酢酸エチル及び1.0Mクエン酸で再希釈した。有機物を収集し、水性物を酢酸エチルで2回抽出した。有機物を組み合わせ、水で2回、塩水で2回洗浄した。ついで有機物を硫酸マグネシウムで乾燥させ、真空濃縮した。ついで、粗混合物をフラッシュクロマトグラフィーで精製して、32.3g (60%収率)の(xiv)を得た。

40

【0048】

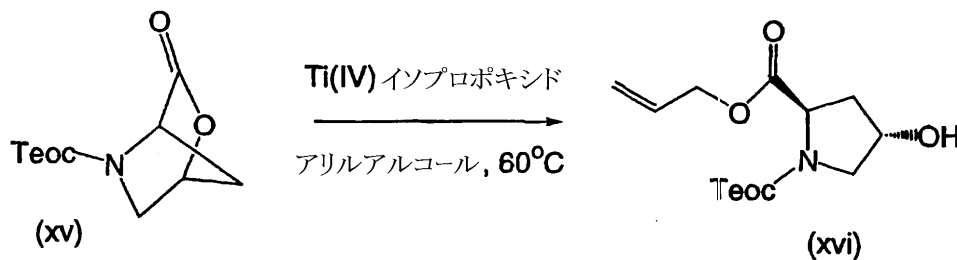
工程15



9.0 g (32.8 mmol) の (xiv) を 340 ml のテトラヒドロフランに溶解させ、0℃まで冷却した。ついで、11.2 g (42.6 mmol) のトリフェニルホスフィンを添加した後、5分かけて6.7 ml (42.6 mmol) のDEADを滴下して加えた。反応物を0℃で30分間攪拌した後、真空濃縮した。反応物をエーテルで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウムで2回、水で2回、塩水で2回、洗浄した。有機物を硫酸マグネシウムで乾燥させ、1:1エーテル/ヘキサンを使用するフラッシュクロマトグラフィーで精製して、6.7 g (80%収率) の (xv) を得た。

【0049】

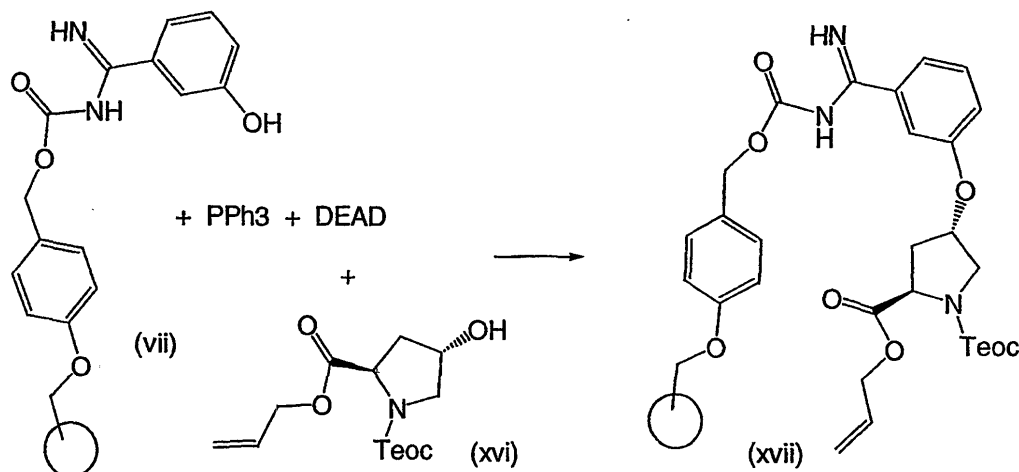
工程16



6.0 g (22.6 mmol) の (xv) を 100 ml のアリルアルコールに溶解させ、この溶液に3.0 ml (10 mmol) のチタンイソプロポキシドを添加した。反応物を60℃まで加熱し一晩攪拌した。反応物を900 ml の酢酸エチルで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウムで2回、水で2回、塩水で2回、洗浄した。ついで有機物を硫酸マグネシウムで乾燥させ真空濃縮した。ついで粗生成物をフラッシュクロマトグラフィーで精製して、6.0 g (85%収率) の (xvi) を得た。

【0050】

工程17

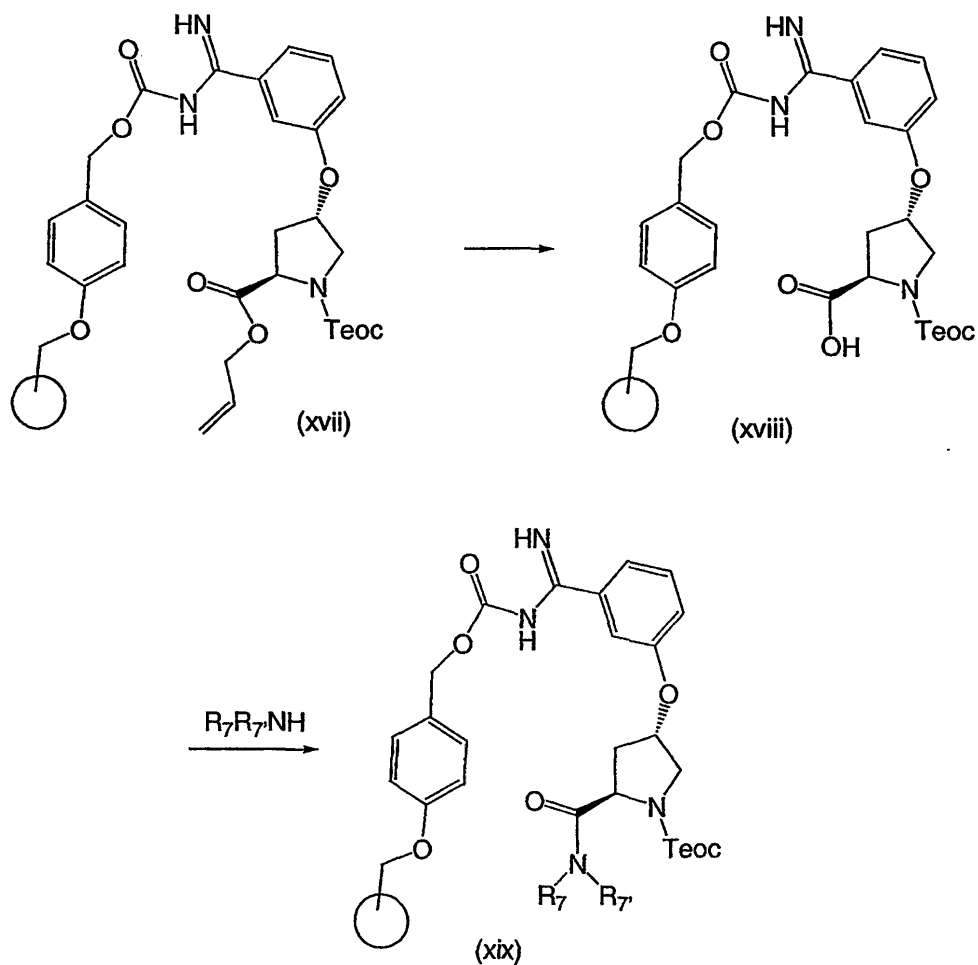


4.6 g (14.6 mmol) の (xvi) を 45 ml の 1:1 thf / dcm に溶解させ、この溶液に 6.0 g (2.2 mmol) の樹脂 (vii) を添加した。ついで懸濁液を

0 まで冷却した。2.4 ml (15.0 mmol) の DEAD を 0 にて懸濁液に加えた後、4.0 g (14.6 mmol) のトリフェニルホスフィンを添加した。ついで反応物を放置して室温まで温め一晩搅拌した。樹脂の水を切り、t h f で 2 回、d c m 中の 20% 酢酸で 2 回、メタノールで 2 回、d c m で 2 回、洗浄して、樹脂 (x v i i) を得た。

【 0 0 5 1 】

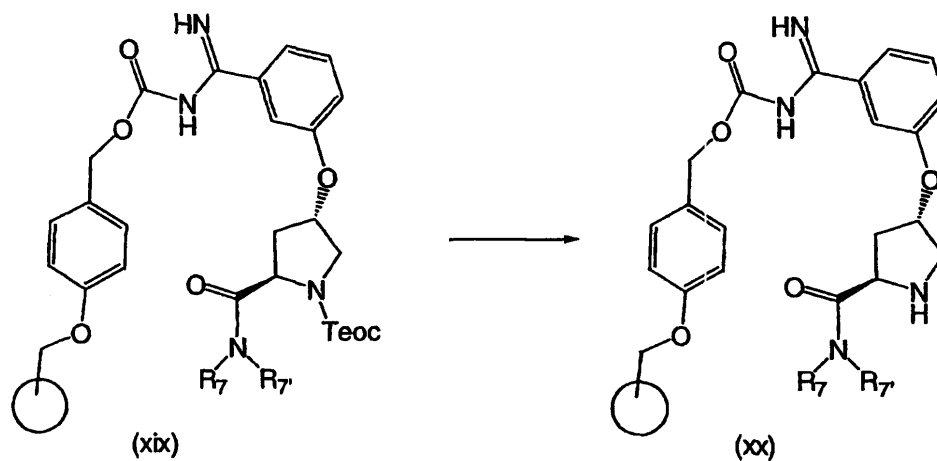
工程 1 8 及び 1 9



アリル脱保護及び引き続いてのカルボン酸部分へのアミン及びアニリンの付加は、樹脂タイプ (x i x) を生成するための工程 1 0 - 1 2 に記載した手順を用いて実施した。

【 0 0 5 2 】

工程 2 0



10

20

30

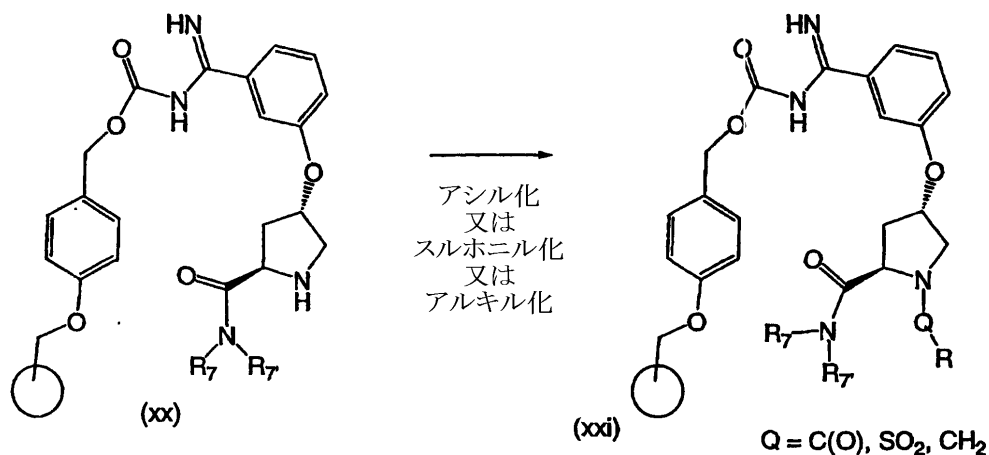
40

50

ついで100mgの(xix)タイプの樹脂を2.0mlのthfに懸濁させ、この懸濁液に、thf中1.0Mのtbaafを1.0ml添加した。反応物を1時間攪拌した後、水切りを行った。ついで樹脂をthfで3回、dcm中の20%酢酸で3回、メタノールで3回、dcmで3回、洗浄して、(xx)タイプの樹脂を生成した。

【0053】

工程21



10

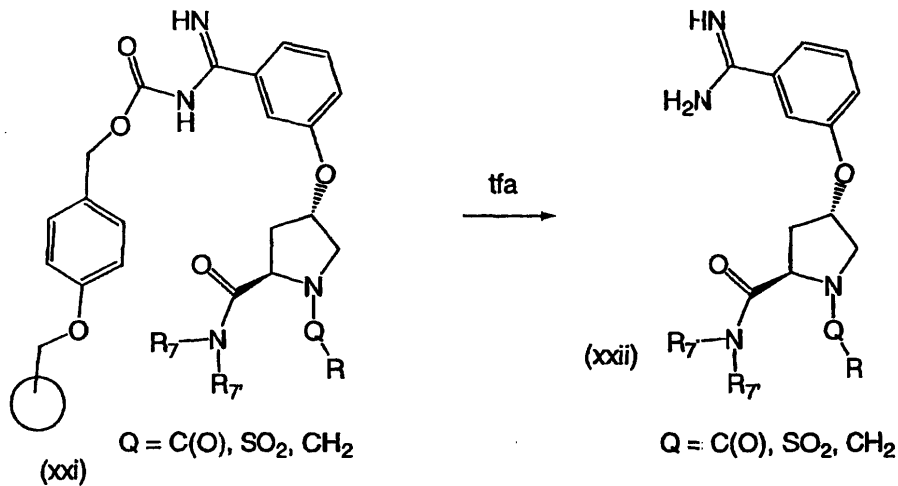
ついで(xix)タイプの樹脂を次の手順に従ってアシル化、スルホニル化、アルキル化した：1)アシル化：別個の20mlのシンチレーションバイアル中に、ジメチルアセトアミドに入れた選択されたカルボン酸、HBTU、HOBT、dipeaの3.0M溶液3.0mlを調製し、振盪器で10分攪拌した。ついで、これらの反応混液を、Quest RVに充填した樹脂(B)タイプ100mgに直接加えた。ついで反応物を30分攪拌し、水切りをし、dma、メタノール及びジクロロメタンで3回洗浄した。2)スルホニル化：100mgの(B)タイプの樹脂をQuest RVに充填し、樹脂を3.0mlのthfに懸濁させた。懸濁液に1.0mmolの選択された塩化スルホニルと1.0mmolのdipeaを添加した。反応物を30分攪拌し、水切りし、dmaで3回、メタノールで3回、dcmで3回洗浄した。3)アルキル化：Quest RVに充填した(B)タイプの樹脂100mgに、dmf中1%酢酸の3.0mlに入れた1.0mmolの選択されたアルデヒドを添加した。反応物を30分攪拌した後、シアノボロ水素化ナトリウム1.3mmolを粉末として添加した。反応物を更に2時間攪拌した後、水切りを行った。ついで、樹脂をメタノールで3回、dcm中20%酢酸で2回、メタノールで2回、dcmで2回洗浄して、(xxi)クラスの樹脂を得た。

20

30

【0054】

工程22



10

ついで (xxi) タイプの樹脂を、3.0 ml の線形 tfa で処理することによって開裂させた。tfa 開裂混液をシンチレーションバイアル中に収集し、樹脂を 3.0 ml 部の tfa ですすいだ。ついでサンプルを真空濃縮し、逆相 HPLC 精製に供した。

【0055】

実施例 2 組織因子 / 第 VII a 因子アンタゴニストアッセイ

この手順は本発明のサンプル化合物に対する阻害定数 (K_i) を決定するために使用される。

材料

アッセイバッファー：100 mM HEPES pH 7.8、140 mM NaCl、0.1% PEG-8000、0.02% Tween-80、5 mM の $CaCl_2$

血液凝固因子：組換えヒト第 VII a 因子 (NB # 25942-16)

コファクター：可溶性組織因子 (1-219)

基質：Chromozym-tPA (ベーリンガー・マンハイム、カタログ # 1093037)。H₂O 中 20 mM で再構成。使用前に $CaCl_2$ を有するアッセイバッファーで 4 mM に希釈。

サンプル：($CaCl_2$ を欠く) アッセイバッファーで 3% DMSO にサンプルを希釈。

【0056】

手順

1. $CaCl_2$ を有するアッセイバッファー中、2 μ g/ml (90 nM) の組織因子と 1.5 μ g/ml (30 nM) の第 VII a 因子の溶液を調製。

2. 室温で 15 分間インキュベート。

3. 各ウェルに 50 μ L のサンプルを添加。

4. 各ウェルに 50 μ L の組織因子 / 第 VII a 因子溶液を添加。

5. 穏やかに攪拌して室温で 15 分間インキュベート。

6. 各ウェルに 50 μ L の基質を添加。

7. 20 - 25 秒、プレートを攪拌。

8. 室温で全体で 5 分間 10 秒ごとに 405 nM の吸光度をモニター。

9. 10 ポイントにわたって V_{max} を算定。

【0057】

実施例 3 第 X a 因子、トロンビン、及び血漿カリクレインのアッセイ

これらの手順は本発明のサンプル化合物に対する阻害定数 (K_i) を決定するために使用される。

材料

アッセイバッファー：100 mM HEPES pH 7.8、140 mM NaCl、0.1% PEG-8000、0.02% Tween-80

血液凝固因子：ヒト第 X a 因子、トロンビン、又は血漿カリクレイン (Hematolo

40

g i c T e c h n o l o g i e s) 。 ア ッ セ イ バ ッ フ ァ ー で 0 . 4 5 μ g / m L (9 . 8 n M) ま で 希 釈 。

基 質 : S - 2 2 2 2 、 S 2 3 6 6 又 は S 2 3 0 2 - (以 下 を 参 照 - C h r o m o g e n i x I n c ,) 。 H ₂ O 中 5 m M で 再 構 成 。 使 用 前 に ア ッ セ イ バ ッ フ ァ ー で 1 . 5 m M に 希 釈 。

サ ン プ ル : ア ッ セ イ バ ッ フ ァ ー で 3 % D M S O に サ ン プ ル を 希 釈 。

【 0 0 5 8 】

手 順

- 1 . 各 ウ ェ ル に 5 0 μ L の サ ン プ ル を 添 加 。
- 2 . 各 ウ ェ ル に 5 0 μ L の 適 切 に 希 釈 し た 血 液 凝 固 因 子 を 添 加 。
- 3 . 穏 や か に 攪 拌 し て 室 温 で 5 分 間 イ ン キ ュ ベ ー ト 。
- 4 . 各 ウ ェ ル に 5 0 μ L の 適 切 に 希 釈 し た 基 質 を 添 加 。
- 5 . 2 0 - 2 5 秒 、 プ レ ー ト を 攪 拌 。
- 6 . 室 温 で 全 体 で 5 分 間 1 0 秒 ご と に 4 0 5 n M の 吸 光 度 を モ ニ タ ー 。
- 7 . 1 0 ポ イ ン ト に わ た っ て V m a x を 算 定 。

10

【 0 0 5 9 】

表1 酵素、基質及び最終濃度

アッセイ	TF/VIIa	Xa	トロンピン	血漿カリクレイン
血液凝固因子最終濃度	10 nM VIIa 30 nM TF	3.3 nM	8.2 nM	1.5 nM
基質	Chromozyme tPA	S-2222	S-2366	S-2302
基質の最終濃度	1.33 mM	0.5 mM	0.3 mM	0.3 mM

20

30

【 0 0 6 0 】

表2 セリンプロテアーゼに対する結合親和性

化合物	VIIa (μm)	Xa (μm)	トロンビン (μm)	トリプシン (μm)	プラスミン (μm)	カリクレイン (μm)
1	7.8	0.297	4.744	0.866	7.36	6.559
2	64	1.15				
3	234	1.294	4.221	1.127	10.881	14.219
4	>39	1.455	14.5	2.81	3.5	14
5	>39	2.134	14.5	2.136	7	16
6	>39	2.414	36	5.146	15	3.4
7	>39	2.491	25	2.22	7	20
8	390	3.32				
9	390	5.13				
10	98.5	5.35				
11	39	5.845	0.875	0.607	7.358	0.979
12	156	6.02				
13	390	6.12				
14	>39	6.613	>36.2	10.145	>24.5	33.8
15	156	6.796	11.025	2.259	15.369	34.214
16	>39	6.81	29	6.066	12	17
17	>39	7.879	36.2	3.597	24.5	>33.8
18	273	8.87				
19	312	9				
20	234	9.07				
21	>39	10.5	14.5	20.2	24.5	33.8
22	>39	10.5	>36	7.762	15	3.4
23	>195	11.964				
24	312	12.92				
25	156	13.29				
26	142.18	113.69				
27	15.6	14.026	36.17	14.134	>24.58	
28	390	14.1				
29	117	14.24				
30	312	15.19				
31	390	15.2				
32	>399	15.26	36.2	7.84	24.5	33.8
33	30.5	15.53				
34	156	16.785				
35	93.95	19.73				
36	>195 >39	19.854 14	21.7	4.256	24.5	>33.8

10

20

30

40

表2 (続き)

化合物	VIIa (μm)	Xa (μm)	トロンビン (μm)	トリプシン (μm)	プラスミン (μm)	カリクレイン (μm)
37	312	21.68				
38	129	21.69				
39	390	22.8				
40	156	22.97				
41	187	24.26				
42	89	24.37				
43	156	24.53				
44	117	25.9452				
45	150	26.31				
46	156	27.03				
47	390	31.43				
48	>195	33.596				
49	390	33.82				
50	>195	34.122				
51	234	35.1				
52	>39	35.1	>36.2	40.5	>24.5	27.02
53	133	37.13				
54	390	38				
55	273	44.91				
56	>195	47.268				
57	312	49.3				
58	390	50.7				
59	390	59.82				
60	>195 >39	61.223 21	36.2	4.989	24.5	33.8
61	195	61.99				
62	>390	64.58				
63	390	70				
64	273	70.1				
65	30.71	70.1				
66	78	70.1				
67	390	87.7				
68	390	89.62				
69	117	90.22				
70	156	105				
71	390	105				

10

20

30

40

表2 (続き)

化合物	VIIa (μm)	Xa (μm)	トロンピン (μm)	トリプシン (μm)	プラスミン (μm)	カリクレイン (μm)
72	390	132				
73	390	140				
74	>195	140				
75	390	140				
76	>195 >39	175 35.1	>36.2	30.272	>24.5	>33.8
77	>390	175				
78	>195	175				
79	19	>35	>36	20	24	
80	>39	>35.1	>36.17	28.3	>24.58	54.96
81	>195	>175				
82	>195	>175				

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
21 March 2002 (21.03.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/22575 A1

(51) International Patent Classification: C07D 207/16, 401/06, 403/12, 207/48, 401/12, A61K 31/40, 31/401, 31/4025, A61P 7/02

(21) International Application Number: PCT/US01/27640

(22) International Filing Date:
5 September 2001 (05.09.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/231,679 11 September 2000 (11.09.2000) US

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): GENENTECH, INC. [US/US], 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080 (US).

Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments(72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants (for US only): PASTOR, Richard, M. [US], 656 Brunsells St., San Francisco, CA 94134 (US); ARTIS, Dean, R. [US], 50 Arlmont Drive, Kensington, CA 94707 (US); OLIVERA, Alan, G. [US], 680 Highland Avenue, Half Moon Bay, CA 94019 (US).

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(74) Agent: EVANS, David, W.; c/o Genentech, Inc., MS 49, 1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080-4990 (US).



WO 02/22575 A1

(54) Title: AMIDINE INHIBITORS OF SERINE PROTEASES

(57) Abstract: Inhibitors of serine proteases are provided having formula (I) wherein X, R₁, R₂, R₃, and R₄ are as defined herein. In particular, the compounds bind to factor VIIa, tissue factor/factor Xa complex, thrombin, trypsin, plasmin and kallikrein and have anticoagulant activity. Pharmaceutical compositions comprising the compounds are useful for inhibiting the formation of venous and/or arterial thrombi in vivo.

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5

AMIDINE INHIBITORS OF SERINE PROTEASES

10 FIELD OF THE INVENTION

The invention relates to novel compounds which are inhibitors of serine proteases such as tissue factor (TF)/factor VIIa, factor Xa, thrombin and/or kallikrein, as well as pharmaceutical compositions containing these compounds which are useful for inhibiting serine proteases and for treating disorders mediated thereby.

BACKGROUND OF THE INVENTION

20 Normal haemostasis is the result of a complex balance between the processes of clot initiation, formation and dissolution. The complex interactions between blood cells, specific plasma proteins and the vascular surface, maintain the fluidity of blood, however in the case of injury, blood coagulation is vital for the containment of bodily fluids and is an important component of host defense mechanisms. Many significant disease states are related to abnormal clot formation (thrombosis) in blood vessels. For example, in arterial vasculature abnormal thrombus formation due to deterioration of an established atherosclerotic plaque is a major cause of acute myocardial infarction and unstable angina. In venous vasculature, many patients undergoing surgery, particularly in the abdominal and lower body regions, experience thrombus formation which reduces blood flow and can lead to a pulmonary embolism. Disseminated intravascular coagulopathy in both the venous and arterial systems occurs commonly during septic shock, some viral infections and cancer which often leads to rapid and widespread thrombus formation and organ failure.

Coagulation and clotting (thrombus formation) involves the sequential activation of multiple zymogens in a process leading to thrombin generation which in turn is responsible for the conversion of fibrinogen to an impermeable cross-linked fibrin clot. Thrombin production is the result of a blood coagulation cascade which has been intensively studied and increasingly characterized. See for example, Lawson, J. H., et al. (1994) *J. Biol. Chem.* 269:23357. The coagulation reactions of this cascade involve initiation, amplification and propagation phases. Additionally, the cascade has been divided into extrinsic and intrinsic

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 pathways. The intrinsic pathway involves factors XII, XI, and IX and leads to the formation of a complex of factor IXa with its cofactor, factor VIIIa. This complex converts factor X to Xa. Factor Xa is an enzyme which forms a complex with its cofactor, factor Va, and rapidly converts prothrombin to thrombin. Thrombin in turn converts fibrinogen to fibrin monomers which polymerize to form a clot. The extrinsic pathway involves factor VIIa and tissue factor, which form a complex (TF/factor VIIa), and convert factor X to Xa. As in the intrinsic pathway, factor Xa converts prothrombin to thrombin.

10

15 Thrombin (factor IIa), as noted above, occupies a central position in the coagulation cascade by converting fibrinogen to fibrin. Consequently, substantial synthetic efforts have been directed to the development of compounds that bind to thrombin in order to inhibit its activity such as N-arylsulfonated phenylalanine amides. Additional compounds which have been prepared as synthetic thrombin inhibitors are disclosed in US 5,656,600; US 5,656,645; US 5,670,479; US 5,646,165; US 5,658,939; US 5,658,930 and WO 97/30073. Many thrombin inhibitors have been designed to mimic the structure of hirudin, a protein produced by medicinal leeches (*Hirudo medicinalis*), which binds to thrombin thereby inhibiting coagulation. Stubbs and Bode, *Current Opinion in Structural Biology* 1994, 4:823-832. Further synthetic thrombin inhibitors are reported in *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 1995-1997, Academic Press, San Diego, CA.

20

25

30 TF/factor VIIa is a serine protease complex that participates in blood coagulation by activating factor X and/or factor IX. Factor VIIa is produced from its precursor, factor VII, which is synthesized in the liver and secreted into the blood where it circulates as a single chain glycopeptide. The cDNA sequence for factor VII has been characterized (Hagen et al., 1986, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 83:2412-2416). A variety of natural and synthetic inhibitors of TF/factor VIIa are known and have varying potency and selectivity such as those disclosed in US 5,589,173 used to treat myocardial infarction. Tissue factor pathway inhibitor (TFPI; Broze, 1995, *Thromb. Haemostas.*, 74:90) and nematode anticoagulant peptide c2 (NAPc2; Stanssens et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 93:2149) bind factor Xa prior to the formation of a quaternary inhibitory complex with the TF/factor VIIa complex. Small protein direct inhibitors (Dennis et al, 1994, *J. Biol. Chem.*, 35:22137) and inactive forms of TF/factor VIIa are also known (Kirchhofer et al, 1995, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biol.*, 15:1096; Jang et al, 1995, *Circulation*, 92:3041). Additionally, synthetic peptides and

35

40

45

WO 02/22575

PCT/US01/27640

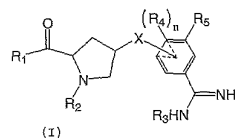
5 soluble forms of mutant TF which retain binding affinity but have reduced
 cofactor activity have been prepared (Roening et al, 1996, Thromb. Res.,
 82:73; Kelley et al, 1997, Blood, 89:3219). US 5,679,639 describes
 polypeptides and antibodies which inhibit serine protease activity. US
 5,580,560 describes a mutant factor VIIa which has an improved half-life.
 10 US 5,504,067 and US 5,504,064 describe a truncated TF for the treatment
 of bleeding. Kunitz domain-tissue factor fusion proteins have also been
 shown to be bifunctional anticoagulants (Lee et al, 1997, Biochemistry,
 36:5607-5611). The TF/factor VIIa complex has been indicated as an
 attractive target for the development of inhibitors based on a
 15 dissociation between surgical bleeding and prevention of intravascular
 thrombosis (Harker et al, 1995, Thromb. Haemostas., 74:464).

Factor Xa is also central to thrombosis since it is a product of both the
 intrinsic and extrinsic coagulation pathways. Inhibitors of factor Xa
 20 have been synthesized such as bisamidine compounds (Katakura, S. (1993)
 Biochem. Biophys. Res. Commun., 197:965), compounds based on the
 structure of arginine (WO 93/15756; WO 94/13693) and phenyl and
 naphthylsulfonamides (WO 96/10022; WO 96/16940; WO 96/40679).

25 Percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA) and recanalization
 are favored procedures for treating occluded vessels. However, arterial
 thrombosis following these procedures remains a leading cause of failure.
 Anticoagulants including heparin, the most widely used anticoagulant,
 have not been shown to be entirely effective or safe in the treatment and
 30 prevention of acute arterial thrombosis or rethrombosis. Accordingly,
 there remains a need for compounds which are effective inhibitors of
 enzymes in the coagulation cascade and which exhibit improved inhibitory
 activity and /or selectivity towards selected enzymes in the cascade.

35 SUMMARY OF THE INVENTION

In an aspect of the present invention, there is provided novel compounds
 of formula (I)



40

wherein

WO 02/22575

PCT/US01/27640

- 5 X is O, CR₆R₆, NR₆, S, wherein R₆ and R₆ are independently H or alkyl;
R₁ is H, -OR₇, an amino acid or -NR₇R₇, wherein R₇ and R₇ are
independently H or a hydrocarbon chain, a carbocycle, a heterocycle, a
carbocycle-substituted hydrocarbon chain or a heterocycle-substituted
10 hydrocarbon chain optionally substituted with hydroxyl, halogen,
cyano, amino, nitro, amidine, guanidine alkyl, halo-substituted alkyl,
alkoxy, aryl or carboxyl; or R₇ and R₇ together form a heterocycle
optionally fused to another heterocycle or carbocycle wherein said
heterocycle and carbocycle are optionally substituted with hydroxyl,
15 halogen, amino, nitro, amidine, guanidine, alkyl, halo-substituted
alkyl, alkoxy or carboxyl;
R₂ is H or a hydrocarbon chain, a carbocycle or a carbocycle-substituted
hydrocarbon chain optionally substituted with hydroxyl, oxo, halogen,
cyano, amino, nitro, amidine, guanidine, alkyl, halo-substituted
alkyl, alkoxy or carboxyl; and wherein said hydrocarbon chain is
20 optionally interrupted with N, O, S, SO or SO₂;
R₃ is H or a protecting group;
R₄ is selected from the group consisting of H, hydroxyl, halogen, amino,
nitro, amidine, guanidine and acylamino;
R₅ is H or R₄ and R₅ together form a 5 or 6 member carbocycle or
25 heterocycle ring optionally substituted with hydroxyl, halogen, amino,
nitro, amidine, guanidine or acylamino;
n is 0 or 1; and salts, solvates and hydrates thereof.

30 In another aspect of the invention, there is provided pharmaceutical
compositions comprising a compound of the invention and a
pharmaceutically acceptable carrier.

35 In another aspect of the invention, there is provided a method of
treating a disease or condition mediated by a serine protease in a mammal
comprising administering to said mammal an effective amount of a compound
of the invention.

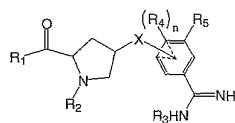
40 DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The invention provides novel compounds of formula (I)

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5



(I)

10

wherein X, R₁, R₂, R₃, R₄ and R₅ are as defined herein.

The term "amino acid" refers to naturally and non-naturally occurring α- (alpha), β- (beta), D- and L-amino acid residues. Preferred amino acid
15 residues are hydrophobic such as alanine, β-alanine, phenylalanine, valine, leucine and isoleucine.

The term "hydrocarbon chain" refers to saturated, unsaturated, linear or branched carbon chains i.e. alkyl, alkenyl and alkynyl. Preferred
20 hydrocarbon chains incorporate 1-12 carbon atoms, more preferably 1-6 and most preferably 1-4 carbon atoms i.e. methyl, ethyl, propyl, butyl and allyl.

The term "carbocycle" refers to a mono-, bi- or tri-cyclic carbon ring or ring system having 4-16 members which is saturated, unsaturated or
25 partially unsaturated including aromatic ring systems. Preferred carbocyclic rings include cyclopentyl, cyclohexyl, phenyl and naphthyl.

The term "heterocycle" refers to a mono-, bi- or tri-cyclic ring system having 5-16 members wherein at least one ring atom is a heteroatom (i.e.
30 N, O and S as well as SO, or SO₂). The ring system is saturated, unsaturated or partially unsaturated and may be aromatic. Preferred heterocycles include piperidine, piperazine, pyridine, pyrazine, pyrimidine, pyridazine, morpholine, pyran, pyrrole, furan, thiophene
35 (thienyl), imidazole, pyrazole, thiazole, isothiazole, dithiazole, oxazole, isoxazole, dioxazole, thiadiazole, oxadiazole, tetrazole, triazole, thiazotriazole, oxatriazole, thiadiazole, oxadiazole, purine, and benzofused derivatives thereof.

5

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 X is O, CR₆R₆, NR₆ or S, wherein R₆ and R₆' are independently H or alkyl.
In a particular embodiment X is O. In another particular embodiment, X
is CR₆R₆, wherein R₆ and R₆' are both H.

R₁ is H, -OR₇, an amino acid or -NR₇R₇', wherein R₇ and R₇' are
10 independently H or a hydrocarbon chain, a carbocycle, a heterocycle, a
carbocycle-substituted hydrocarbon chain or a heterocycle-substituted
hydrocarbon chain optionally substituted with one or more hydroxyl,
halogen (i.e. F, Cl, Br, I), cyano, amino (i.e. NH₂ or a secondary or
15 tertiary amine), nitro, amidine (-C(NH)-NH₂), guanidine (-NH-C(NH)-NH₂),
alkyl, halo-substituted alkyl, alkoxy, aryl or carboxyl. By "carboxyl"
is meant herein as the free acid -COOH as well as esters thereof such as
alkyl esters. By "alkoxy" is meant herein to include saturated, i.e. O-
alkyl, and unsaturated, i.e. O-alkenyl and O-alkynyl, group. By "aryl"
20 in meant herein to be an aromatic carbon ring or ring system such as
benzene/phenyl, naphthyl, phenanthrenyl etc. as well as biphenyl. In a
particular embodiment, R₁ is -OR₇ wherein R₇ is a hydrocarbon chain such
as alkenyl i.e. allyl. In another embodiment R₁ is -NR₇R₇', wherein R₇ is
aryl or aralkyl optionally substituted with one or more hydroxyl,
halogen, amino, amidine, guanidine, cyano, alkyl, alkoxy, halo-
25 substituted alkyl; and R₇' is H or alkyl. In a preferred embodiment, R₁
is -NR₇R₇', wherein R₇ is phenyl or benzyl substitute with amidine or
alkoxy and R₇' is H or methyl. In a particularly preferred embodiment R₇
is benzyl, p-amidinylphenyl, p-methoxybenzyl or p-methylbenzyl and R₇' is
H.

30 In another embodiment, R₁ is -NR₇R₇', wherein R₇ and R₇' together form a
heterocycle optionally fused to another heterocycle or carbocycle wherein
said heterocycle and carbocycle are optionally substituted with one or
more hydroxyl, halogen, amino, nitro, amidine, guanidine, alkyl, halo-
35 substituted alkyl, alkoxy or carboxyl. In a particular embodiment, R₇
and R₇' together form a piperidine ring fused to a benzene ring wherein
said fused benzene ring is optionally substituted with one or more
alkoxy. Preferably, the fused benzene ring is substituted at both beta
carbon positions with methoxy.

40 R₂ is H or a hydrocarbon chain, a carbocycle or a carbocycle-substituted
hydrocarbon chain optionally substituted with one or more hydroxyl, oxo
(=O), halogen (preferably F or Cl), cyano, amino, nitro, amidine,

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 guanidine, alkyl, halo-substituted alkyl, alkoxy (preferably methoxy) or
carboxyl; and wherein said hydrocarbon chain is optionally interrupted
with N, O, S, SO or SO₂. By "interrupted" is meant herein that one or
more carbon atoms within a hydrocarbon chain is replaced with said
heteroatom. When a hydrocarbon chain is interrupted with two or more
10 heteroatoms, preferably the heteroatoms are non-adjacent. In the context
of R₂, the heteroatom is adjacent to the ring nitrogen atom from which
the hydrocarbon chain depends. In a preferred embodiment, R₂ is H,
alkyl, cycloalkyl, aryl, cycloalkylalkyl or aralkyl optionally
substituted with one or more alkyl, amino, amidine, guanidine or nitro.
15 In a more preferred embodiment R₂ is H, alkyl, aryl, aralkyl or
cycloalkyl and most preferably propyl, phenylethyl, cyclohexyl, o-
nitrobenzyl or m-methylbenzyl.

R₃ is H or a protecting group. Preferably R₃ is H.

20

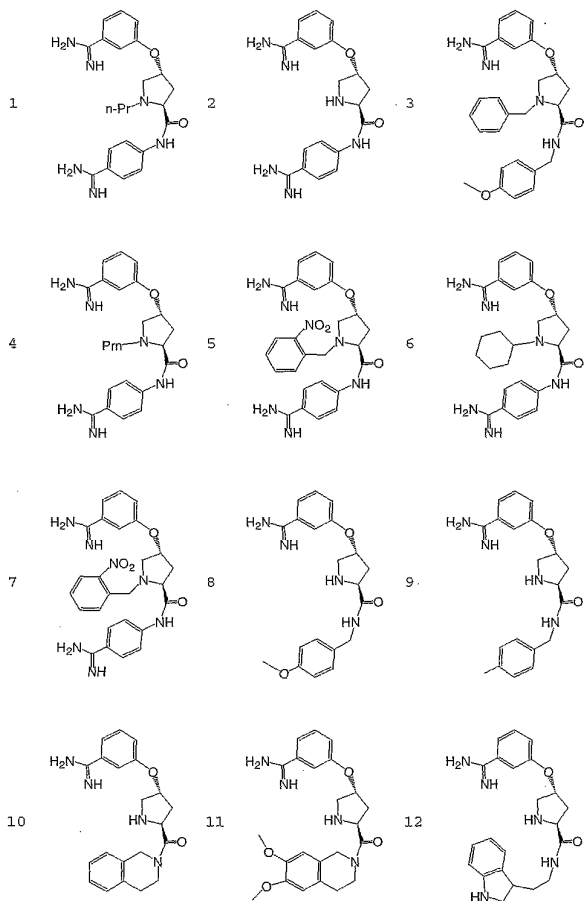
When 'n' is zero (0), R₄ is not present and X is attached to the
benzamidine ring at that position. When n is the integer 1, R₄ is
present and is selected from the group consisting of H, hydroxyl,
halogen, amino, nitro, amidine, guanidine and acylamino. By "acylamino"
25 is meant herein to be a carboxamide group -NHC(O)-hydrocarbon wherein the
hydrocarbon is as previously defined and is preferably alkyl.
Preferably, R₄ is H or amino and most preferably H.

R₅ is H or R₄ and R₃ together form a 5 or 6 member carbocycle or
30 heterocycle ring optionally substituted with one or more hydroxyl,
halogen, amino, nitro, amidine, guanidine or acylamino. In a particular
embodiment, R₅ is H. In another particular embodiment, R₄ and R₅ form a
benzene ring fused to the benzamidine ring from which R₄ and R₅ depend.

35 Preferred compounds of the invention include:

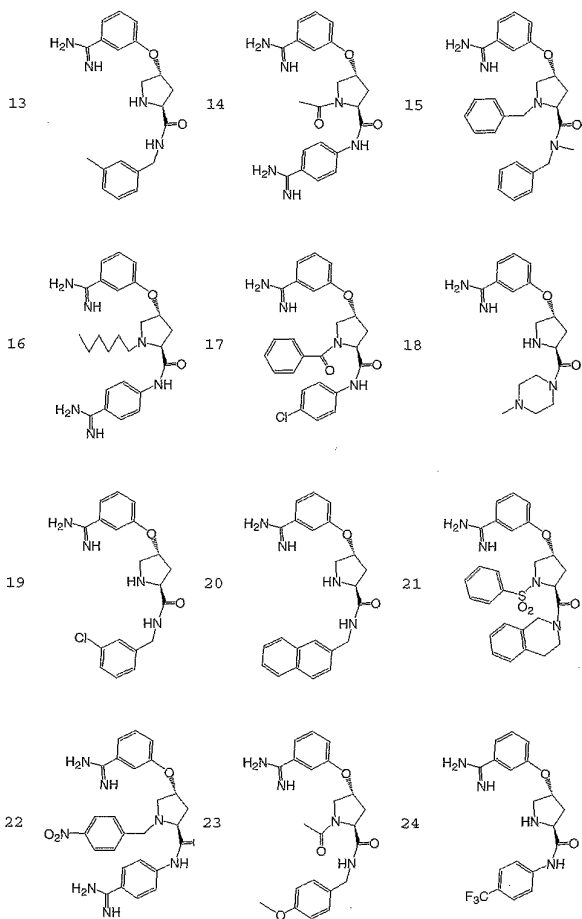
WO 02/22575

PCT/US01/27640



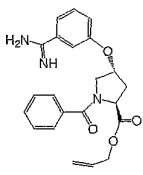
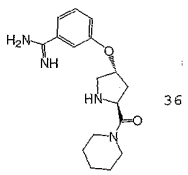
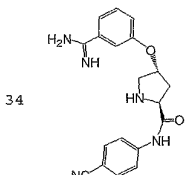
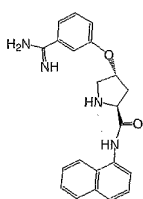
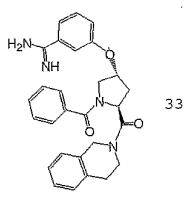
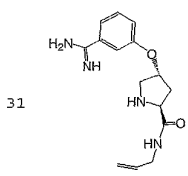
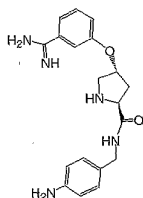
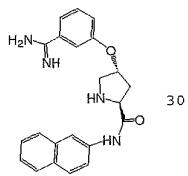
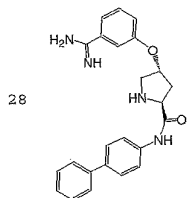
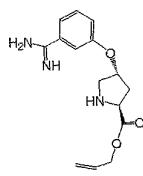
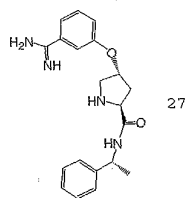
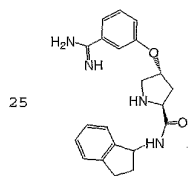
WO 02/22575

PCT/US01/27640



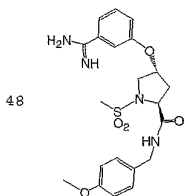
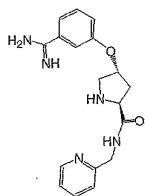
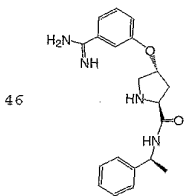
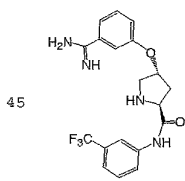
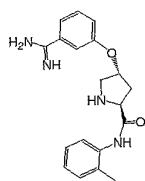
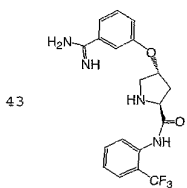
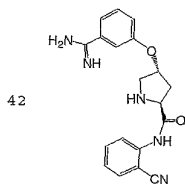
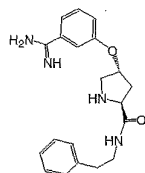
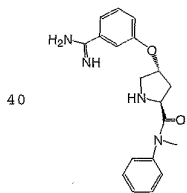
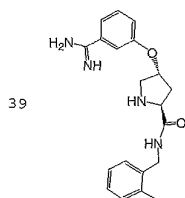
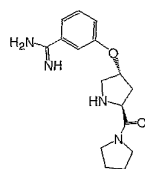
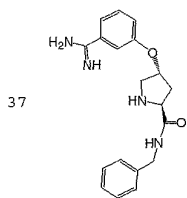
WO 02/22575

PCT/US01/27640



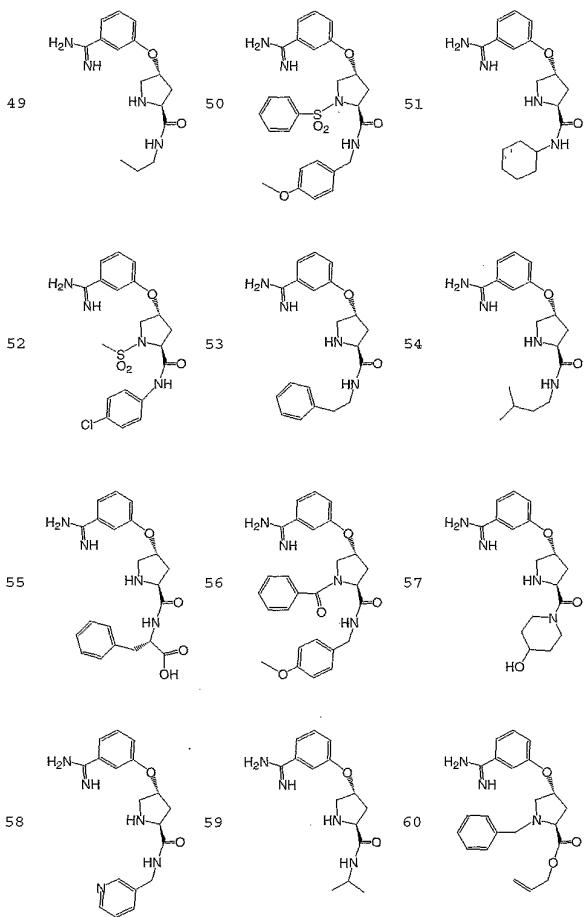
WO 02/22575

PCT/US01/27640



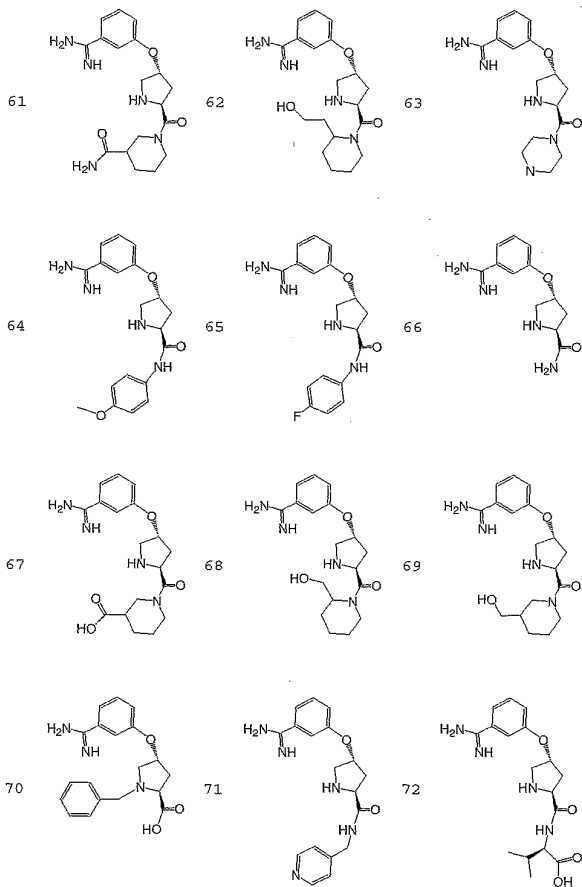
WO 02/22575

PCT/US01/27640



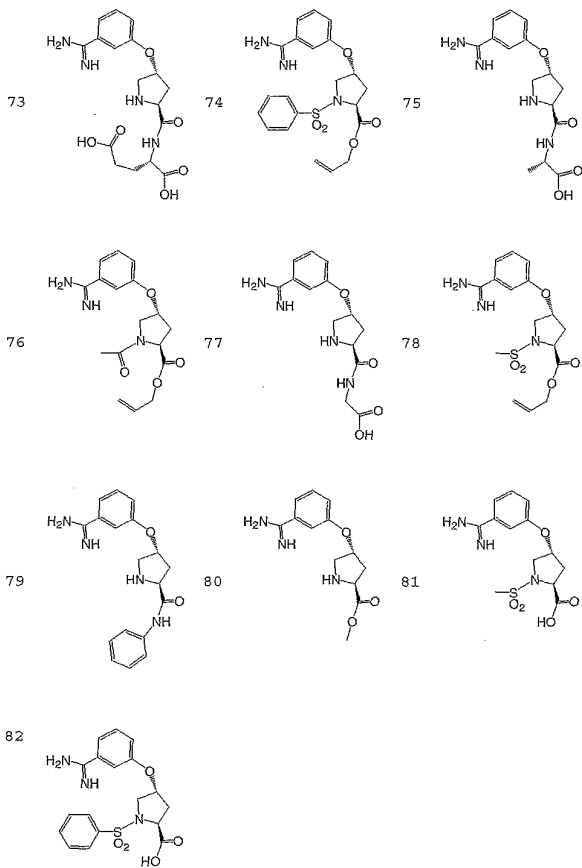
WO 02/22575

PCT/US01/27640



WO 02/22575

PCT/US01/27640



5 and salts, solvates and hydrates thereof.

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 It will be appreciated that compounds of the invention may incorporate
chiral centers and therefore exist as geometric and stereoisomers. All
such isomers are contemplated and are within the scope of the invention
whether in pure isomeric form or in mixtures of such isomers as well as
racemates. Stereoisomeric compounds may be separated by established
10 techniques in the art such as chromatography, i.e. chiral HPLC, or
crystallization methods.

"Pharmaceutically acceptable" salts include both acid and base addition
salts. Pharmaceutically acceptable acid addition salt refers to those
15 salts which retain the biological effectiveness and properties of the
free bases and which are not biologically or otherwise undesirable,
formed with inorganic acids such as hydrochloric acid, hydrobromic acid,
sulfuric acid, nitric acid, carbonic acid, phosphoric acid and the like,
and organic acids may be selected from aliphatic, cycloaliphatic,
20 aromatic, arylaliphatic, heterocyclic, carboxylic, and sulfonic classes
of organic acids such as formic acid, acetic acid, propionic acid,
glycolic acid, gluconic acid, lactic acid, pyruvic acid, oxalic acid,
malic acid, maleic acid, malonic acid, succinic acid, fumaric acid,
tartaric acid, citric acid, aspartic acid, ascorbic acid, glutamic acid,
25 anthranilic acid, benzoic acid, cinnamic acid, mandelic acid, embonic
acid, phenylacetic acid, methanesulfonic acid, ethanesulfonic acid, p-
toluenesulfonic acid, salicylic acid and the like.

Pharmaceutically acceptable base addition salts include those derived
30 from inorganic bases such as sodium, potassium, lithium, ammonium,
calcium, magnesium, iron, zinc, copper, manganese, aluminum salts and
the like. Particularly preferred are the ammonium, potassium, sodium,
calcium and magnesium salts. Salts derived from pharmaceutically
acceptable organic nontoxic bases includes salts of primary, secondary,
35 and tertiary amines, substituted amines including naturally occurring
substituted amines, cyclic amines and basic ion exchange resins, such as
isopropylamine, trimethylamine, diethylamine, triethylamine,
tripropylamine, ethanolamine, 2-diethylaminoethanol, trimethylamine,
dicyclohexylamine, lysine, arginine, histidine, caffeine, procaine,
40 hydrabamine, choline, betaine, ethylenediamine, glucosamine,
methylglucamines, theobromine, purines, piperazine, piperidine, N-
ethylpiperidine, polyamine resins and the like. Particularly preferred
organic non-toxic bases are isopropylamine, diethylamine, ethanolamine,
trimethylamine, dicyclohexylamine, choline, and caffeine.

45

WO 02/22575

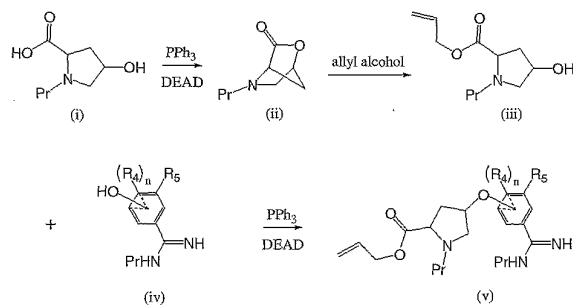
PCT/US01/27640

5 Compounds of the invention may be prepared according to established organic synthesis techniques from starting materials and reagents that are commercially available or from starting materials that may be prepared from commercially available starting materials. Many standard chemical techniques and procedures are described in March, J., "Advanced Organic Chemistry" McGraw-Hill, New York, 1977; and Collman, J., "Principles and Applications of Organotransition Metal Chemistry" University Science, Mill Valley, 1987; and Larock, R., "Comprehensive Organic Transformations" Verlag, New York, 1989. It will be appreciated that depending on the particular substituents present on the compounds, 10 suitable protection and deprotection procedures will be required in addition to those steps described herein. Numerous protecting groups are described in Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Chemistry, 2d edition, John Wiley and Sons, 1991, as well as detailed protection and deprotection procedures. For example, suitable amino protecting groups 20 include t-butyloxycarbonyl (Boc), fluorenyl-methyloxycarbonyl (Fmoc), 2-trimethylsilyl-ethyloxycarbonyl (Teoc), 1-methyl-1-(4-biphenyl)ethoxycarbonyl (Bpoc), allyloxycarbonyl (Alloc), and benzyloxycarbonyl (Cbz). Carboxyl groups can be protected as fluorenyl-methyl groups, or alkyl esters i.e. methyl or ethyl, or alkenyl esters such as allyl. Hydroxyl groups may be protected with trityl, 25 monomethoxytrityl, dimethoxytrityl, and trimethoxytrityl groups.

In a particular embodiment wherein X is O, compounds of the invention may be prepared according to schemes 1.

30

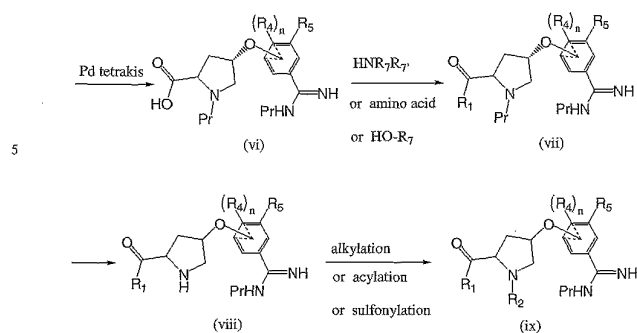
Scheme 1



35

WO 02/22575

PCT/US01/27640



10 Referring to scheme 1, commercially available *N*-protected hydroxyproline (i.e. Boc or Teoc-protected) (i) is converted to allyl ester (iii) by reacting with triphenyl phosphine (PPh₃) and DEAD and then with allyl alcohol in the presence of Ti(IV)isopropoxide. The allyl ester (iii) is then coupled in a Mitsunobu reaction with *N*-protected meta- or para-
 15 hydroxybenzamidine (i.e. Boc-protected) in the presence of PPh₃ and DEAD to give intermediate (v). The allyl group is removed with Pd tetrakis (PPh₃) in an *n*-methyl morpholine (i.e. 5%), acetic acid (i.e. 2/5%) solution of chloroform to give free carboxylic acid (vi) which is reacted with amine HNR₇R₇, an amino acid or alcohol HO-R₇ to give (vii). For
 20 amine HNR₇R₇ and amino acid coupling, the carboxyl acid (vi) is first activated for example with HBTU and HOBT according to standard amide formation procedures. In a particular embodiment wherein R₁ of compounds of the invention is -NR₆-phenyl (optionally substituted), the carboxylic acid is activated with NCS and triphenyl phosphine followed by addition of anilines. The *N*-protecting group on the proline moiety is then
 25 removed from (vii) and the resulting compound (viii) is optionally alkylated acylated or sulfonylated to give compound (ix). When the protecting group is Teoc (trimethylsilylethoxycarbonyl), deprotection is achieved by treatment with tbaif (i.e. about 0.24M) in tetrahydrofuran (thf). Alkylation of intermediate (viii) is achieved via standard
 30 reductive amination using various aldehydes, a catalyst and an appropriate reducing agent, or can be achieved by S_N2 type displacements by treating with an alkyl halide and standard non-nucleophilic base. Acylation of intermediate (viii) is achieved by standard amide bond

WO 02/22575

PCT/US01/27640

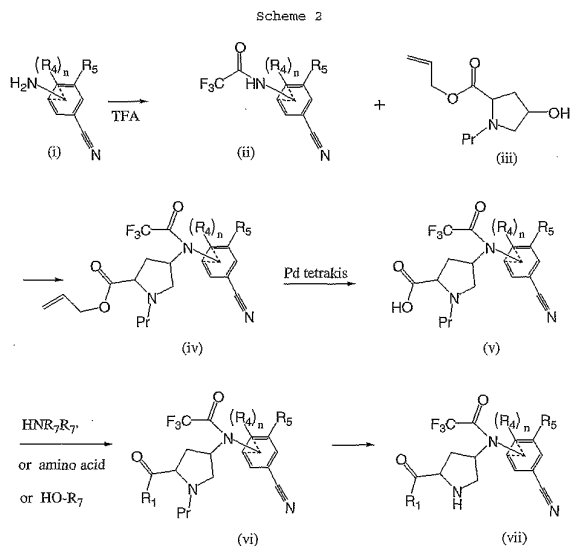
5 formation chemistry by activating the desired R_2 carboxylic acid and reacting with the free amine of (viii). Alternatively the amine of (viii) may be acylated by treating with various acid chlorides of R_2 and standard non-nucleophilic base such as Hunig's base. Sulfonylation of is
 10 sulfonyl chlorides of R_2 with a non-nucleophilic base such as a Hunig's base.

The amidine protecting group of (ix) is subsequently removed to give final compound of formula (I) of the invention wherein X is O.

15

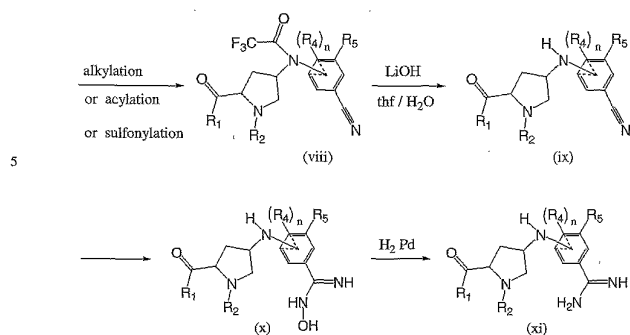
In another particular embodiment wherein X is NH, compounds of the invention may be prepared according to scheme 2.

20



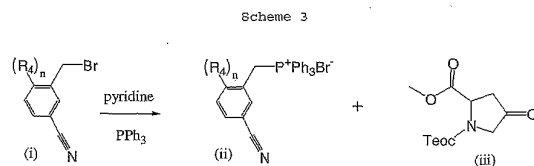
WO 02/22575

PCT/US01/27640



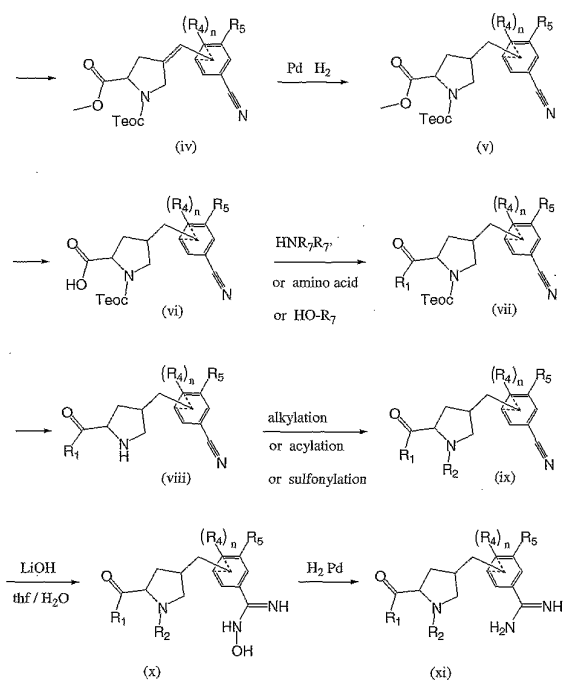
10 Referring to scheme 2, starting reagent cyanoaniline (i) is reacted with
trifluoroacetic acid (TFA) activated with HBTU and HOBT to give
intermediate (ii) which is coupled with allyl ester of *N*-protected
hydroxyproline (iii) to give intermediate (iv). The allyl group is
15 converted to the free carboxylic acid and then reacted with amine
ENR₂R₇, amino acid, or alcohol HO-R₇ and the *N*-protecting group on the
proline is removed and optionally alkylated, acylated or sulfonylated as
described with respect to scheme 1. The trifluoroacetyl group is removed
by reacting (viii) with lithiumhydroxide in thf/H₂O to give (ix).
Nitrile intermediate (ix) is converted to a hydroxyamidine (x) by
20 reacting with hydroxylamine hydrochloride and TEA and is subsequently
reduced to amidine (xi) by treating with hydrogen and a metal
hydrogenation catalysts such as Raney nickel or palladium.

In another particular embodiment wherein X is CH₂, compounds of the
25 invention may be prepared according to scheme 3.



WO 02/22575

PCT/US01/27640



Referring to scheme 3, starting cyanobenzylbromide compound (i) is converted to a phosphonium salt (ii) by reacting with PPh_3 in pyridine which then undergoes a Wittig olefin forming reaction with keto-proline intermediate (iii) to give intermediate (iv). Intermediate (iii) is prepared from an N-protected proline ester for example N-Teoc protected proline methyl ester which undergoes a Swern oxidation in the presence of oxalochloride and triethylamine (TEA). Olefin intermediate (iv) is reduced with Pd catalyst and H_2 to give (v). The ester group is converted to the free carboxylic acid and then reacted with amine HNR_7R_7 , amino acid, or alcohol HO-R_7 and the N-protecting group on the proline is removed and optionally alkylated, acylated or sulfonylated as

WO 02/22575

PCT/US01/27640

described with respect to scheme 1. Nitrile intermediate (ix) is converted to a hydroxyamidine (x) by reacting with hydroxylamine hydrochloride and TEA and is subsequently reduced to amidine (xi) by treating with hydrogen and a metal hydrogenation catalysts such as Raney nickel or palladium.

In an aspect of the invention, there is provided a method of inhibiting the binding of a serine protease (such as factor VIIa, TF/factor Xa complex, thrombin, trypsin, plasmin and kallikrein) to a protein ligand, the method comprising contacting said serine protease with a compound of formula (I). The method may be carried out in vivo or ex vivo as a solution based or cell based assay wherein the compound of the invention is introduced to the serine protease in the presence of a putative or known ligand of the protease. The compound of the invention may be labeled, for example isotopically radiolabeled, or labeled with a fluorophore such as FITC, to facilitate detection of ligand binding or reduction thereof to the protease. Thus compounds of the invention are useful for diagnostic and screening assays.

5

Compounds of the invention are therapeutically and/or prophylactically useful for treating diseases or conditions mediated by serine protease activity. Accordingly in an aspect of the invention, there is provided a method of treating a disease or condition mediated by serine proteases in a mammal, i.e. a human, comprising administering to said mammal an effective amount of a compound of the invention. By "effective amount" is meant an amount of compound which upon administration is capable of reducing the activity of the serine protease; or the amount of compound required to prevent, inhibit or reduce blood coagulation or thrombus formation upon administration; or is capable of alleviating or reducing the severity of symptoms associated with the disease or condition mediated by serine proteases. Compounds of the invention may also be used as an additive to blood samples or reserves in order to prevent coagulation. Accordingly there is also provided a method of inhibiting coagulation of mammalian blood (i.e. human blood), comprising introducing a compound of the invention to said blood.

The actual amount of compound administered and the route of administration will depend upon the particular disease or condition as well as other factors such as the size, age, sex and ethnic origin of the individual being treated and is determined by routine analysis. In general, intravenous doses will be in the range from about 0.01-1000 mg/kg of patient body weight per day, preferably 0.1 to 20 mg/kg and 0.3

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 to 15 mg/kg. Administration may be once or multiple times per day for several days, weeks or years or may be a few times per week for several weeks or years. The amount of compound administered by other routes will be that which provides a similar amount of compound in plasma compared to the intravenous amounts described which will take into consideration the
10 plasma bioavailability of the particular compound administered.

In methods of the invention, the compound may be administered orally (including buccal, sublingual, inhalation), nasally, rectally, vaginally, intravenously (including intrarterially), intradermally, subcutaneously, intramuscularly and topically. Compounds will be
15 formulated into compositions suitable for administration for example with suitable carriers, diluents, thickeners, adjuvants etc. as are routine in the formulation art. Accordingly, another aspect of the invention provides pharmaceutical compositions comprising a compound of formula (I) and a pharmaceutically acceptable carrier, excipient or adjuvant.

20 Compositions of the invention may also include additional active ingredients in particular additional anticoagulants (eg. aspirin, warfarin, heparin) and/or thrombolytic agents (eg. streptokinase, tPA, TNKase™). Dosage forms include solutions, powders, tablets, capsules, gel capsules, suppositories, topical ointments and creams and aerosols
25 for inhalation. Formulations for non-parenteral administration may include sterile aqueous solutions which may also contain buffers, diluents and other suitable additives. Pharmaceutically acceptable organic or inorganic carrier substances suitable for non-parenteral administration which do not deleteriously react with compounds of the
30 invention can be used. Suitable pharmaceutically acceptable carriers include, but are not limited to, water, salt solutions, alcohol, polyethylene glycols, gelatin, lactose, amylose, magnesium stearate, talc, silicic acid, viscous paraffin, hydroxymethylcellulose, polyvinylpyrrolidone and the like. The formulations can be sterilized
35 and, if desired, mixed with auxiliary agents, e.g., lubricants, preservatives, stabilizers, wetting agents, emulsifiers, salts for influencing osmotic pressure, buffers, colorings flavorings and/or aromatic substances and the like which do not deleteriously react with compounds of the invention. Aqueous suspensions may contain substances
40 which increase the viscosity of the suspension including, for example, sodium carboxymethylcellulose, sorbitol and/or dextran. Optionally, the suspension may also contain stabilizers.

In a preferred embodiment, compounds of the invention are administered
45 via oral delivery. Compositions for oral administration include powders or granules, suspensions or solutions in water or non-aqueous media,

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 capsules, sachets, troches, tablets or SECs (soft elastic capsules or caplets). Thickeners, flavoring agents, diluents, emulsifiers, dispersing aids, carrier substances or binders may be desirably added to such formulations. Such formulations may be used to effect delivering the compounds to the alimentary canal for exposure to the mucosa thereof.

10 Accordingly, the formulation can consist of material effective in protecting the compound from pH extremes of the stomach, or in releasing the compound over time, to optimize the delivery thereof to a particular mucosal site. Enteric coatings for acid-resistant tablets, capsules and caplets are known in the art and typically include acetate phthalate, propylene glycol and sorbitan monooleate.

15

Various methods for producing formulations for alimentary delivery are well known in the art. See, generally *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Ed., Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990.

20 The formulations of the invention can be converted in a known manner into the customary formulations, such as tablets, coated tablets, pills, granules, aerosols, syrups, emulsions, suspensions and solutions, using inert, non-toxic, pharmaceutically suitable excipients or solvents. The therapeutically active compound should in each case be present in a concentration of about 0.5% to about 99% by weight of the total mixture, that is to say in amounts which are sufficient to achieve the desired dosage range. The formulations are prepared, for example, by extending the active compounds with solvents and/or excipients, if appropriate

25 using emulsifying agents and/or dispersing agents, and, for example, in the case where water is used as the diluent, organic solvents can be used as auxiliary solvents if appropriate.

30

Compositions may also be formulated with binding agents (*e.g.*, pregelatinised maize starch, polyvinylpyrrolidone or hydroxypropyl methylcellulose); fillers (*e.g.*, lactose, microcrystalline cellulose or calcium hydrogen phosphate); lubricants (*e.g.*, magnesium stearate, talc or silica); disintegrates (*e.g.*, starch or sodium starch glycolate); or wetting agents (*e.g.*, sodium lauryl sulfate). Tablets may be coated by methods well known in the art. The preparations may also contain

35 flavoring, coloring and/or sweetening agents as appropriate.

40

Formulations of the present invention suitable for oral administration may be presented as discrete units such as capsules, cachets or tablets each containing predetermined amounts of the active ingredients; as

45 powders or granules; as solutions or suspensions in an aqueous liquid or a non-aqueous liquid; or as oil-in-water emulsions or water-in-oil liquid

WO 02/22575

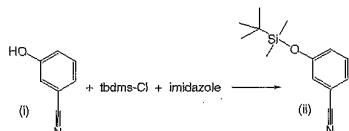
PCT/US01/27640

5 emulsions. A tablet may be made by compression or molding, optionally with one or more accessory ingredients. Compressed tablets may be prepared by compressing in a suitable machine, the active ingredients in a free-flowing form such as a powder or granules, optionally mixed with a binder, lubricant, inert diluent, preservative, surface active or dispersing agent. Molded tablets may be made by molding in a suitable machine a mixture of the powdered compound moistened with an inert liquid diluent. The tablets may optionally be coated or scored and may be formulated so as to provide slow or controlled release of the active ingredients therein.

15

EXAMPLE 1 Synthesis of benzamidine compounds

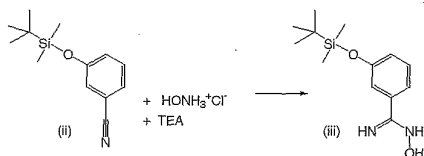
Step 1



20 10 g (64 mmol) of 3-hydroxy benzonitrile and 17.2 g (252 mmol) of imidazole were dissolved in 300 ml of dmf. To this solution, 38.0 g (252 mmol) of t-butyldimethylsilylchloride (tbdms-Cl) was added and the reaction was agitated at room temperature for 12 h. The dimethylformamide was removed by concentration in vacuo and redissolved in a copious amount of ethyl acetate. The organic layer was then washed with water twice, and with brine twice. The organic layer was then dried over magnesium sulfate and concentrated in vacuo. The crude mixture was then purified by flash chromatography using an ether solvent system to afford 18.6 g (95% yields) of (ii).

30

Step 2

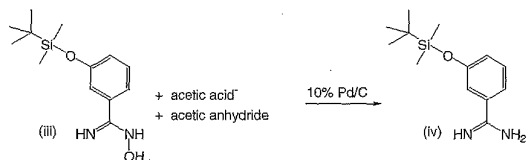


WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 12g (51.2 mmol) of (ii) was dissolved in 150 ml of ethanol. To this solution, 18.0 g (255 mmol) of hydroxylamine hydrochloride and 45 .0 ml (255 mmol) of triethylamine were added and the reaction was stirred at 60°C overnight. The reaction was concentrated in vacuo, redissolved in ethyl acetate and washed with water and brine. The organic layer was
 10 dried over magnesium sulfate and concentrated in vacuo to yield 12.0 g (88% yield) of crude material.

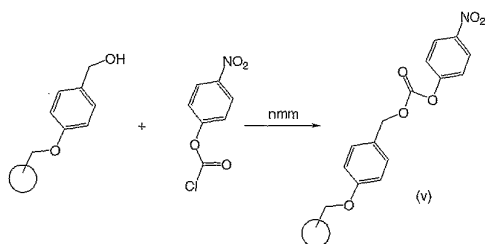
Step 3



15

12.0 g (42 mmol) of crude (iii) was dissolved in 200 ml of ethanol. To this solution was added 3.6 ml (60 mmol) of acetic acid and 6.0 ml of acetic anhydride. 2.0 g of 10% palladium on carbon was then added to the reaction. Subsequently, the reaction was placed under hydrogen and
 20 stirred at room temperature overnight. The reaction was filtered through celite, concentrated in vacuo, and azeotroped with benzene twice to afford 11.7g (90% yield) of (iv).

Step 4



25

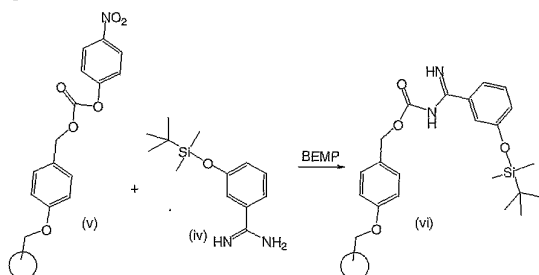
10.0 g (3.7 mmol) of ArgoGel Wang resin was suspended in 80 ml of dichloromethane. 4.0 g (20 mmol) of nitrophenylchloroformate was added to the resin, followed by an addition of 2.2 ml (20 mmol) of n-

WO 02/22575

PCT/US01/27640

- 5 methylmorpholine. The resin suspension was agitated at room temperature for 30 minutes, followed by a filtration and three washes with dichloromethane to afford resin (v).

Step 5

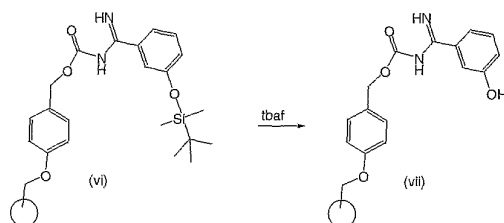


10

The resin (v) was then suspended in 80 ml of acetonitrile and 3.10 g (10 mmol) of (iv) was added, followed by an addition of 5.8 ml (20 mmol) of 2-tert-butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethyl-perhydro-1,3,2-

- 15 diazaphosphorine. The resin was agitated at room temperature for 1 hour. The suspension was filtered and the resin was washed twice with acetonitrile, twice with methanol, twice with 20% acetic acid in dichloromethane, twice with dichloromethane, and twice with methanol to afford resin (vi).

20 Step 6



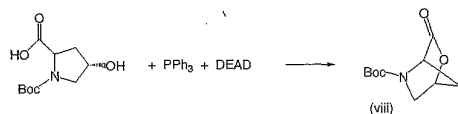
- 25 Resin (vi) was suspended in 60 ml of a 0.25 M tbaF solution in thf for 30 minutes. The suspension was then filtered, washed three times with

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 tetrahydrofuran, two times with 20 % acetic acid in dichloromethane, two times with methanol, and two times with dichloromethane to afford (vii).

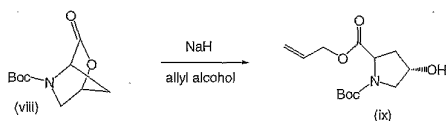
Step 7



15 Dissolved 10.0 g (43.2 mmol) of N-Boc-trans-L-hydroxyproline in 400 ml of tetrahydrofuran. Added 14.7 g (56.2 mmol) of triphenylphosphine and cooled the reaction to 0°C and added 8.9 ml (56.2mmol) of DEAD dropwise over 5 minutes using an addition funnel. Let go for 30 minutes at 0°C, followed by a removal of thf by concentration under vacuum. Rediluted in ether and stored at 4°C overnight to recrystallize out the triphenylphosphine oxide by-product. Filtered the recrystallization and washed the crystals two times with ether. Added hexane until filtrate turned cloudy and stored at 4°C overnight to recrystallize out product. Collected the crystals by filtration and washed the crystals twice with cold hexanes. This afforded 6.4 g (70% yield) of (viii).

20

Step 8



30 6.4 g (30 mmol) of (viii) was dissolved in 100 ml of allyl alcohol and the reaction was cooled to 0°C. 144 mg (6.0 mmol) of Sodium Hydride was added and the reaction was warmed to room temperature by removal of the ice bath. Upon reaching room temperature, the reaction was quenched with an addition of 3.6 ml (60 mmol) of acetic acid. The reaction was then diluted with 900 ml of ethyl acetate and washed two times with water and twice with brine. The organic was then dried over magnesium sulfate and concentrated in vacuo. The crude mixture was then purified through a silica plug using a 1:1 ether/ethyl acetate to afford 6.5 g (24 mmol, 80% yield) of (ix) as an oil.

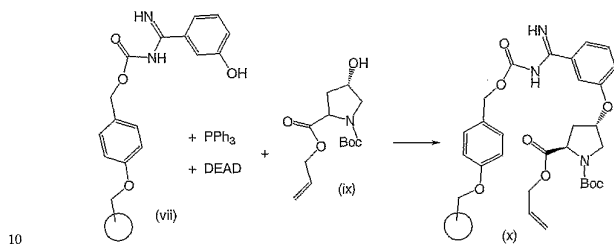
35

WO 02/22575

PCT/US01/27640

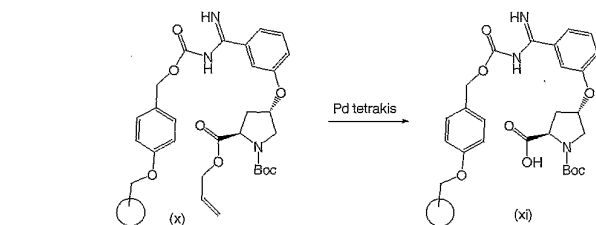
5

Step 9



4.0 g (15.3 mmol) of (ix) was dissolved in 80 ml of a 1:1 mixture of thf and dcm. To this solution, 10.0 g (3.5 mmol) of resin (vi) was added and the reaction was cooled to 0°C with an ice bath. 4.0 g (15.3 mmol) of triphenylphosphine was added, followed by a dropwise addition of 2.4 ml (15.3 mmol) of diethylazidodicarboxylate. The reaction was then allowed to warm to room temperature and stirred overnight. This was followed by a filtration. The resin was then washed twice with tetrahydrofuran, twice with 20 % acetic acid in dichloromethane, twice with methanol, and

Step 10



11.0 g (3.5 mmol) of resin (x) was suspended in 80 ml of 5% acetic acid and 2.5% n-methylaniline in dichloromethane. 3.2 g (2.8 mmol) of

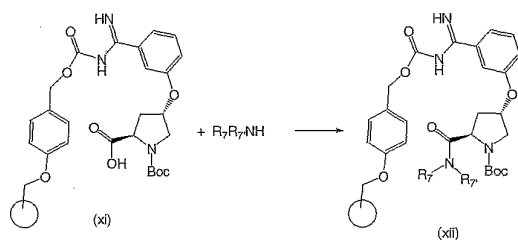
WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) was then added and the reaction suspension was agitated for 30 minutes. Following filtration, the resin was washed twice with 20% diisopropylethylamine(diepa) in dichloromethane, twice with dcm, twice with 20% acetic acid in dcm, twice with methanol, and twice with dcm to afford resin (xi).

10

Steps 11 and 12



15 Standard parallel amine addition to resin (11) was as follows; 100 mg (0.035 mmol) of resin (11) was loaded into a Quest RV equipped with a magnetic stir bar. 2.0 ml of a stock 0.6 M solution of HBTU and HOBT in dimethylacetamide(dma) was added to the resin and the suspension was agitated for 10 min. This was followed by an addition of 2.0 ml of a

20 0.6 M stock solution of diepa in dma. 5 minutes after the diepa addition, 1.2 mmol of the selected amine was added and the reaction was agitated for 30 minutes. The resin was then drained and washed twice with dma, twice with methanol, and twice with dichloromethane.

25 Standard parallel aniline addition to resin (xi) is as follows: Loaded 100 mg of resin (xii) into Quest RV: Added 2.0 ml of a 0.6 M stock solution of triphenylphosphine in dcm and cooled the reaction to 0° C using Quest chiller. This was followed by an addition of 2.0 ml of a 0.6 M stock solution of N-chlorosuccinimide in acetonitrile and the reaction

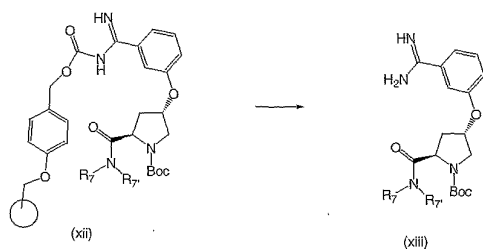
30 was agitated at 0° C for 15 minutes. The reaction was then drained and washed three times with dichloromethane while cooling was maintained. 3.0 ml of 0.3 M solution of selected aniline in acetonitrile was then added and the reaction was then allowed to warm to RT by disengaging of Quest chiller. The reaction was then agitated at RT for 1 hour. After

35 draining, the resin was washed three times with methanol, twice with 20% acetic acid in dcm, twice with methanol, and twice with dcm.

WO 02/22575

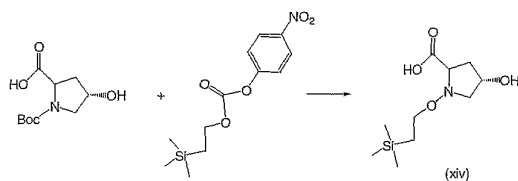
PCT/US01/27640

5 Step 13



Compound cleavage and N-Boc cleavage of resins of type (xii) was carried out by incubation of the resin in 3.0 ml of straight trifluoroacetic acid. The tfa was drained into scintillation vials and washed one time with 3.0 ml of trifluoroacetic acid. The samples were then concentrated and purified by reverse phase HPLC to afford compounds of class (xiii). Typical purified yields ranged from 3.0 to 5.0 mg.

15 Step 14



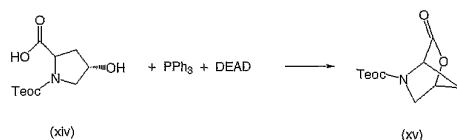
15.4 g (117.4 mmol) trans-L-hydroxyproline and 16.21 g (153 mmol) of Sodium Carbonate was dissolved in 250 ml of water. 43.3 g (153 mmol) of 2-(trimethylsilyl)ethyl p-nitrophenyl carbonate was dissolved in 250 ml of dioxane and this solution was dripped into the aforementioned aqueous solution over 10 min. The reaction was stirred at room temperature overnight. The reaction was then concentrated in vacuo and rediluted in a copious amount of ethyl acetate and 1.0 M citric acid. The organic was collected and the aqueous was extracted two times with ethyl acetate. The organics were combined, washed twice with water and twice with brine. The organic was then dried over magnesium sulfate and concentrated in vacuo. The crude mixture was then purified by flash chromatography to yield 32.3 g (60% yield) of (xiv).

30

WO 02/22575

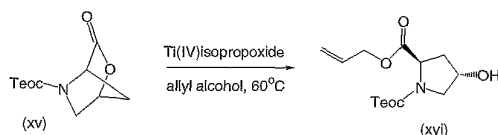
PCT/US01/27640

5 Step 15



9.0 g (32.8 mmol) of (xiv) was dissolved in 340 ml of tetrahydrofuran and cooled to 0° C. 11.2 g (42.6 mmol) of triphenylphosphine was then added, followed by a dropwise addition of 6.7 ml (42.6 mmol) of DEAD over 5 minutes. The reaction was stirred at 0° C for 30 minutes, followed by a vacuum concentration. The reaction was diluted with ether and washed twice with sat. sodium bicarbonate, twice with water, and twice with brine. The organic was dried over magnesium sulfate and purified by flash chromatography using 1:1 ether/hexane to afford 6.7 g (80 % yield) of (xv).

Step 16



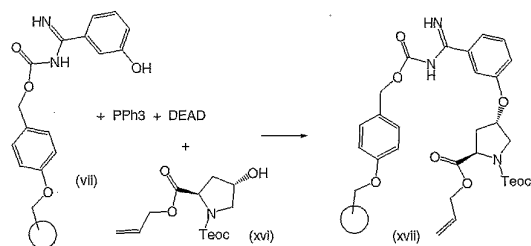
6.0 g (22.6 mmol) of (xv) was dissolved in 100 ml of allyl alcohol and to this solution was added 3.0 ml (10 mmol) of titanium isopropoxide. The reaction was heated to 60° C and stirred overnight. The reaction was diluted with 900 ml of ethyl acetate and washed twice with saturated sodium bicarbonate, twice with water, and twice with brine. The organic was then dried over magnesium sulfate and concentrated in vacuo. The crude was then purified by flash chromatography to yield 6.0 g (85 % yield) of (xvi).

35

WO 02/22575

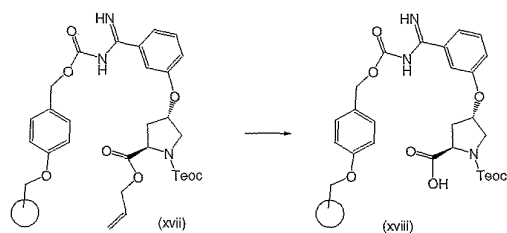
PCT/US01/27640

5 Step 17



4.6 g (14.6 mmol) of (xvi) was dissolved in 45 ml of 1:1 thf/dcm and 6.0 g (2.2 mmol) of resin (vi) was added to the solution. The suspension was then cooled to 0° C. 2.4 ml (15.0 mmol) of DEAD was added to the suspension at 0° C, followed by an addition of 4.0 g (14.6 mmol) of triphenylphosphine. The reaction was then allowed to warm to room temperature and stirred overnight. The resin was drained and washed twice with thf, twice with 20 % acetic acid in dcm, twice with methanol, and twice with dcm to afford resin (xvii).

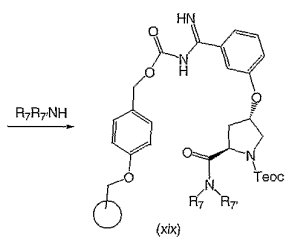
15 Steps 18 and 19



20

WO 02/22575

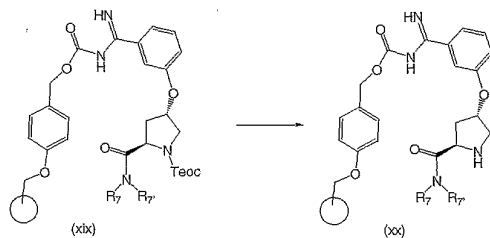
PCT/US01/27640



Allyl deprotection and subsequent amine and aniline addition to the carboxylic acid moiety was performed using the procedures described in steps 10-12 to generate resin type (xix).

10

Step 20



15 100 mg of resins of type (xix) were then suspended in 2.0 ml of thf and to this suspension was added 1.0 ml of 1.0 M tbaif in thf. The reactions were agitated for 1 hour, following by a draining. The resins were then washed three times with thf, three times with 20% acetic acid in dcm, three times with methanol, and three times with dcm to generate resins of

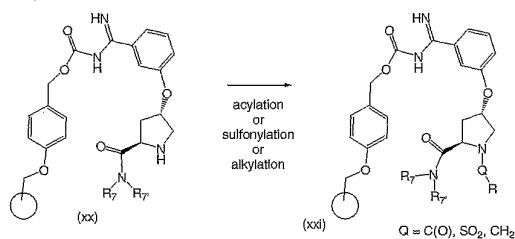
20 type (xx).

25

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 Step 21

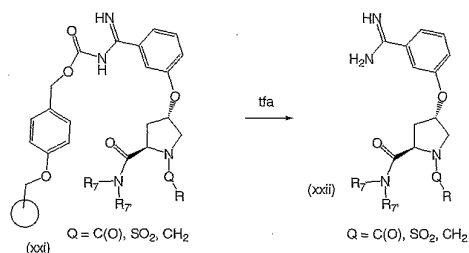


Resins of type (xx) were then acylated, sulfonylated, and alkylated according to the following procedures: 1) Acylation: In a separate 20 ml scintillation vial, 3.0 ml of 0.3 M solutions of selected carboxylic acid, HBTU, HOBT, and dipea in dimethylacetamide were prepared and agitated on a shaker for 10 min. These cocktails were then added directly to 100 mg of type (B) resins loaded into Quest RV's. The reactions were then agitated for 30 min, drained, and washed three times with dma, methanol, and dichloromethane. 2) Sulfonylation: 100 mg of type (B) resin was loaded into Quest RV's and resins were suspended in 3.0 ml of thf. To the suspensions were added 1.0 mmol of the selected sulfonyl chloride and 1.0 mmol of dipea. The reactions were agitated for 30 min. and drained, washed three times with dma, three times with methanol, and three times with dcm. 3) Alkylation: To 100 mg of type (B) resin loaded into Quest RV's was added 1.0 mmol of the selected aldehyde in 3.0ml of 1% acetic acid in dmf. The reaction was agitated for 30 min., followed by an addition of 1.3 mmol of Sodium cyanoborohydride as a powder. The reactions were agitated for an additional two hours, followed by a draining. The resins were then washed three times with methanol, twice with 20% acetic acid in dcm, twice with methanol, and twice with dcm to afford resins of class (xxi).

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 Step 22



10 Type (xxi) resins were then cleaved by treatment with 3.0 ml of straight tfa. The tfa cleavage cocktails were collected into scintillation vials and the resins were rinsed with one 3.0 ml portion of tfa. The samples were then concentrated by vacuum and submitted for reverse phase HPLC purification.

15 **EXAMPLE 2** Tissue Factor/Factor VIIa Antagonist Assay

This procedure is used to determine the constant of inhibition (K_i) for a sample compound of the invention.

20 **Materials**

Assay Buffer: 100 mM HEPES pH 7.8, 140 mM NaCl, 0.1 % PEG-8000, 0.02 % Tween-80, 5 mM $CaCl_2$

Coagulation Factor: recombinant human factor VIIa (NB #25942-16)

Cofactor: soluble Tissue Factor (1-219)

25 **Substrate:** Chromozym-tEA (Boehringer Mannheim, Cat. #1093 037)
Reconstitute at 20 mM in H_2O . Dilute to 4 mM in assay buffer with $CaCl_2$ prior to use.

Samples: Dilute samples to 3 % DMSO in assay buffer (lacking $CaCl_2$).

30 **Procedure**

1. Prepare a solution of 2 $\mu g/mL$ (90 nM) tissue factor and 1.5 $\mu g/mL$ (30 nM) factor VIIa in assay buffer with $CaCl_2$.
2. Incubate for 15 minutes at room temperature.
3. Add 50 μL sample to each well.
- 35 4. Add 50 μL tissue factor/factor VIIa solution to each well.

WO 02/22575

PCT/US01/27640

- 5 5. Incubate for 15 minutes at room temperature with gentle agitation.
 6. Add 50 μ L substrate to each well.
 7. Agitate plate for 20-25 sec.
 8. Monitor absorbance at 405 nm every 10 sec for a total of 5 minutes
 at room temperature.
 10 9. Calculate V_{max} over 10 points.

EXAMPLE 3 Factor Xa, Thrombin, and Plasma Kallikrein Assays

These procedures are used to determine the constant of inhibition (K_i)
 15 for a sample compound of the invention.

Materials

- Assay Buffer: 100 mM Hepes pH 7.8, 140 mM NaCl, 0.1 % PEG-8000, 0.02 %
 Tween-80
 Coagulation Factor: human Factor Xa, Thrombin, or Plasma Kallikrein
 20 (Hematologic Technologies)
 Dilute to 0.45 μ g/mL (9.8 nM) in assay buffer.
 Substrate: S-2222, S2366 or S2302 (See below - Chromogenix Inc.)
 Reconstitute at 5 mM in H₂O. Dilute to 1.5 mM in assay
 buffer prior to use.
 25 Samples: Dilute samples to 3 % DMSO in assay buffer.

Procedure

1. Add 50 μ L sample to each well.
 2. Add 50 μ L appropriately diluted coagulation factor to each well.
 3. Incubate for 5 minutes at room temperature with gentle agitation.
 30 4. Add 50 μ L appropriately diluted substrate to each well.
 5. Agitate plate for 20-25 sec.
 6. Monitor absorbance at 405 nm every 10 sec for a total of 5 minutes
 at room temperature.
 7. Calculate V_{max} over 10 points.

35

table 1 enzyme, substrate and final concentrations

Assay	TF/VIIa	Xa	thrombin	plasma kallikrein
coag factor final concentration	10 nM VIIa 30 nM TF	3.3 nM	8.2 nM	1.5 nM
substrate	Chromozyme TFA	S-2222	S-2366	S-2302
final conc. of substrate	1.33 mM	0.5 mM	0.3 mM	0.3 mM

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 table 2 binding affinity to serine proteases

compd	VIa (μM)	Xa (μM)	thrombin (μM)	trypsin (μM)	plasmin (μM)	kallikrein (μM)
1	7.8	0.297	4.744	0.866	7.36	6.559
2	64	1.15				
3	234	1.294	4.221	1.127	10.881	14.219
4	>39	1.455	14.5	2.81	3.5	14
5	>39	2.134	14.5	2.136	7	16
6	>39	2.414	36	5.146	15	3.4
7	>39	2.491	25	2.22	7	20
8	390	3.32				
9	390	5.13				
10	98.5	5.35				
11	39	5.845	0.875	0.607	7.358	0.979
12	156	6.02				
13	390	6.12				
14	>39	6.613	>36.2	10.145	>24.5	33.8
15	156	6.796	11.025	2.259	15.369	34.214
16	>39	6.81	29	6.066	12	17
17	>39	7.879	36.2	3.597	24.5	>33.8
18	273	8.87				
19	312	9				
20	234	9.07				
21	>39	10.5	14.5	20.2	24.5	33.8
22	>39	10.5	>36	7.762	15	3.4
23	>195	11.964				
24	312	12.92				
25	156	13.29				
26	142.18	113.69				
27	15.6	14.026	36.17	14.134	>24.58	
28	390	14.1				
29	117	14.24				
30	312	15.19				
31	390	15.2				
32	>399	15.26	36.2	7.84	24.5	33.8
33	30.5	15.53				
34	156	16.785				
35	93.95	19.73				
36	>195 >39	19.854 14	21.7	4.256	24.5	>33.8

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5

table 2 (continued)

compd	VIra (μm)	Xa (μm)	thrombin (μm)	trypsin (μm)	plasmin (μm)	kallikrein (μm)
37	312	21.68				
38	129	21.69				
39	390	22.8				
40	156	22.97				
41	187	24.26				
42	89	24.37				
43	156	24.53				
44	117	25.9452				
45	150	26.31				
46	156	27.03				
47	390	31.43				
48	>195	33.596				
49	390	33.82				
50	>195	34.122				
51	234	35.1				
52	>39	35.1	>36.2	40.5	>24.5	27.02
53	133	37.13				
54	390	38				
55	273	44.91				
56	>195	47.268				
57	312	49.3				
58	390	50.7				
59	390	59.82				
60	>195 >39	61.223 21	36.2	4.989	24.5	33.8
61	195	61.99				
62	>390	64.58				
63	390	70				
64	273	70.1				
65	30.71	70.1				
66	78	70.1				
67	390	87.7				
68	390	89.62				
69	117	90.22				
70	156	105				
71	390	105				

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 table 2 (continued)

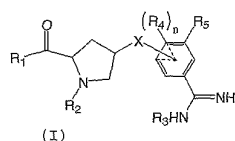
compd	VIIa (μm)	Xa (μm)	thrombin (μm)	trypsin (μm)	plasmin (μm)	kallikrein (μm)
72	390	132				
73	390	140				
74	>195	140				
75	390	140				
76	>195 >39	175 35.1	>36.2	30.272	>24.5	>33.8
77	>390	175				
78	>195	175				
79	19	>35	>36	20	24	
80	>39	>35.1	>36.17	28.3	>24.58	54.96
81	>195	>175				
82	>195	>175				

WO 02/22575

PCT/US01/27640

5 WE CLAIM:

1. A compound of formula (I)



10 wherein

X is O, CR₆R₆, NR₆ or S, wherein R₆ and R₆ are independently H or alkyl;

15 R₁ is H, -OR₇, an amino acid or -NR₇R₇, wherein R₇ and R₇ are independently H or a hydrocarbon chain, a carbocycle, a heterocycle, a carbocycle-substituted hydrocarbon chain or a heterocycle-substituted hydrocarbon chain optionally substituted with hydroxyl, halogen, cyano, amino, nitro, amidine, guanidine alkyl, halo-substituted alkyl, alkoxy, aryl or carboxyl; or R₇ and R₇, together form a heterocycle optionally fused to another heterocycle or carbocycle wherein said heterocycle and carbocycle are optionally substituted with hydroxyl, halogen, amino, nitro, amidine, guanidine, alkyl, halo-substituted alkyl, alkoxy or carboxyl;

25 R₂ is H or a hydrocarbon chain, a carbocycle or a carbocycle-substituted hydrocarbon chain optionally substituted with hydroxyl, oxo, halogen, cyano, amino, nitro, amidine, guanidine, alkyl, halo-substituted alkyl, alkoxy or carboxyl; and wherein said hydrocarbon chain is optionally interrupted with N, O, S, SO or SO₂;

30 R₃ is H or a protecting group;

R₄ is selected from the group consisting of H, hydroxyl, halogen, amino, nitro, amidine, guanidine and acylamino;

35 R₅ is H or R₄ and R₅ together form a 5 or 6 member carbocycle or heterocycle ring optionally substituted with hydroxyl, halogen, amino, nitro, amidine, guanidine or acylamino;

n is 0 or 1; and

salts, solvates and hydrates thereof.

WO 02/22575

PCT/US01/27640

- 5 2. A compound according to claim 1, wherein X is O.
3. A compound according to claim 1, wherein X is CH₂.
- 10 4. A compound according to claim 1, wherein R₁ is an amino acid or
-NR₇R₇, wherein R₇ and R₇ are independently H or a hydrocarbon
chain, a carbocycle, a heterocycle, a carbocycle-substituted
hydrocarbon chain or a heterocycle-substituted hydrocarbon chain
optionally substituted with hydroxyl, halogen, cyano, amino, nitro,
15 amidine, guanidine alkyl, halo-substituted alkyl, alkoxy, aryl or
carboxyl; or R₇ and R₇, together form a heterocycle optionally fused
to another heterocycle or carbocycle wherein said heterocycle and
carbocycle are optionally substituted with hydroxyl, halogen,
amino, nitro, amidine, guanidine, alkyl, halo-substituted alkyl,
20 alkoxy or carboxyl.
5. A compound according to claim 4, wherein R₁ is NR₇R₇, and R₇ is a
aryl or aralkyl optionally substituted with hydroxyl, halogen,
amino, amidine, guanidine, cyano, alkyl, alkoxy, halo-substituted
25 alkyl, and R₇ is H or alkyl.
6. A compound according to claim 4, wherein R₁ is NR₇R₇, and R₇ is
phenyl or benzyl substituted with amidine or alkoxy; and R₇ is H
or methyl.
- 30 7. A compound according to claim 4, wherein R₁ is NR₇R₇, and R₇ and R₇,
together form a heterocycle optionally fused to another heterocycle
or carbocycle wherein said heterocycle and carbocycle are
optionally substituted with hydroxyl, halogen, amino, nitro,
35 amidine, guanidine, alkyl, halo-substituted alkyl, alkoxy or
carboxyl.
8. A compound according to claim 4, wherein R₇ is benzyl, p-
amidinylphenyl, p-methoxybenzyl or p-methylbenzyl and R₇ is H.
- 40 9. A compound according to claim 8, wherein R₇ and R₇, together form a
piperidine ring fused to a benzene ring wherein said fused benzene
ring is optionally substituted with alkoxy.

WO 02/22575

PCT/US01/27640

- 5 10. A compound according to claim 9, wherein said fused benzene ring is substituted at both beta carbon positions with methoxy.
11. A compound according to claim 1, wherein R₂ is H, alkyl, cycloalkyl, aryl, cycloalkylalkyl or aralkyl optionally substituted
10 with alkyl, amino, amidine, guanidine or nitro.
12. A compound according to claim 11, wherein R₂ is H, alkyl, aryl, aralkyl or cycloalkyl.
- 15 13. A compound according to claim 11, wherein R₂ is propyl, phenylethyl, cyclohexyl, o-nitrobenzyl or m-methylbenzyl.
14. A compound according to claim 1, wherein R₃ is H.
- 20 15. A compound according to claim 1, wherein n is 1 and R₄ is H, hydroxyl, amino or alkanoylamino.
16. A compound according to claim 15, wherein n is 1 and R₄ and R₅ are both H.
- 25 17. A compound according to claim 1, wherein R₄ and R₅ together form a benzene ring.
18. A method of inhibiting binding of a serine protease to a protein
30 ligand comprising contacting said serine protease with a compound of claim 1.
19. A method of treating a disease or condition mediated by a serine protease in a mammal comprising administering to said mammal an effective amount of a compound according to claim 1.
20. A method of inhibiting venous or arterial thrombus formation in a mammal comprising administering to said mammal an effective amount
35 of a compound according to claim 1.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No. PCT/US 01/27640
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C07D207/16 A61K31/40	C07D401/06 A61K31/401 C07D403/12 A61K31/4025 C07D207/48 A61P7/02 C07D401/12
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 7 C07D A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 726 159 A (SCHACHT AARON L ET AL) 10 March 1998 (1998-03-10) examples 15,22 claim 27	1,18
A	WO 99 64392 A (NAKAGAWA TADAKIYO ; FUKUDA YUMIKO (JP); SAGI KAZUYUKI (JP); YOSHIDA) 16 December 1999 (1999-12-16) abstract -& EP 1 086 946 A (AJINOMOTO KK) 28 March 2001 (2001-03-28) examples 26,27 claims 25-27	1,18
A	US 6 057 342 A (PINTO DONALD JOSEPH PHILLIP ET AL) 2 May 2000 (2000-05-02) example 1; table 1A claims 17-19	1,18
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 4 February 2002		Date of mailing of the international search report 12/02/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5816 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fac. (+31-70) 340-3010		Authorized officer Seitner, I

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.
PCT/US 01/27640

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5726159	A	10-03-1998	AU 684918 B2 08-01-1998
			AU 1975295 A 18-09-1995
			BR 9506979 A 18-11-1997
			CA 2183464 A1 09-08-1995
			CN 1147205 A 09-04-1997
			CZ 9602584 A3 11-06-1997
			EP 0672658 A1 20-09-1995
			FI 963451 A 03-09-1996
			HU 76330 A2 28-08-1997
			IL 112795 A 28-01-2001
			JP 9509937 T 07-10-1997
			NO 963684 A 28-10-1996
			NZ 282588 A 19-12-1997
			PL 320637 A1 13-10-1997
			RU 2148585 C1 10-05-2000
			TW 401403 B 11-08-2000
			WO 9523609 A1 08-09-1995
			US 5705487 A 06-01-1998
US 5707966 A 13-01-1998			
US 5914319 A 22-06-1999			
US 5710130 A 20-01-1998			
WO 9964392	A	16-12-1999	AU 4060499 A 30-12-1999
			CN 1311771 T 05-09-2001
			EP 1086946 A1 28-03-2001
			WO 9964392 A1 16-12-1999
US 6057342	A	02-05-2000	AU 4064597 A 06-03-1998
			EP 0934265 A1 11-08-1999
			JP 2000516234 T 05-12-2000
			WO 9806694 A1 19-02-1998

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/4725	A 6 1 K 31/4725	
A 6 1 K 31/496	A 6 1 K 31/496	
A 6 1 P 7/02	A 6 1 P 7/02	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 D 207/48	C 0 7 D 207/48	
C 0 7 D 401/06	C 0 7 D 401/06	
C 0 7 D 401/12	C 0 7 D 401/12	
C 0 7 D 403/12	C 0 7 D 403/12	

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

(72) 発明者 アーティス, ディーン, アール.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 7 0 7, ケンジントン, アールモント ドライブ 5 0

(72) 発明者 オリベロ, アラン, ジー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 1 9, ハーフ ムーン ベイ, ハイランド アベニュー
6 8 0

F ターム(参考) 4C063 AA01 BB04 BB09 CC06 CC10 CC12 CC15 DD03 EE01
4C069 AA16 AA20 AA23 BA01 BC05 BC18 BD06
4C086 AA01 AA02 AA03 BC07 BC13 BC17 BC21 BC30 BC50 GA07
GA08 GA12 MA01 MA04 NA14 ZA54 ZC20