

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2013 年 8 月 8 日(08.08.2013)



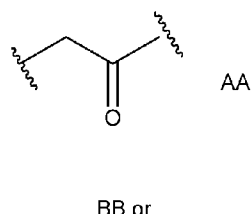
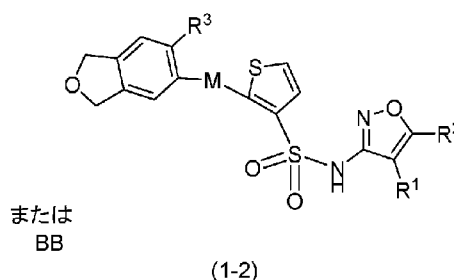
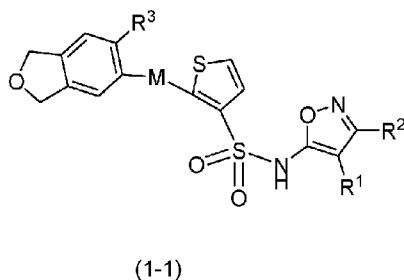
(10) 国際公開番号
WO 2013/115162 A1

- (51) 国際特許分類:
C07D 413/14 (2006.01) *A61P 9/14* (2006.01)
A61K 31/422 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/051857
- (22) 国際出願日: 2013 年 1 月 29 日(29.01.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
61/592923 2012 年 1 月 31 日(31.01.2012) US
- (71) 出願人: エーザイ・アール・アンド・ディー・マネジメント株式会社(EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1128088 東京都文京区小石川四丁目 6 番 1 0 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 田中 圭悟(TANAKA Keigo); 〒3002635 茨城県つくば市東光台 5 丁目 1 番地 3 エーザイ株式会社 筑波研究所内 Ibaraki (JP). 西岡 大貴(NISHIOKA Tomoki); 〒3002635 茨城県つくば市東光台 5 丁目 1 番地 3 エーザイ株式会社 筑波研究所内 Ibaraki (JP).
- (74) 代理人: 長谷川 芳樹, 外(HASEGAWA Yoshiki et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二丁目 1 番 1 号丸の内 MY PLAZA (明治安田生命ビル) 9 階 創英国際特許法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT,

[続葉有]

(54) Title: SITAXSENTAN DERIVATIVE

(54) 発明の名称: シタキセンタン誘導体



(57) Abstract: A compound represented by formula (1-1) or (1-2) or a pharmaceutically acceptable salt thereof retains the main beneficial effects of sitaxsentan while having an improved CYP inhibitory action. [In the formulas, R¹ is a halogen atom, etc., R² is a methyl group, etc., R³ is a C₁₋₆ alkyl group, etc., and M is a group represented by formula AA, etc.]

(57) 要約: 式 (1-1) もしくは (1-2) で表される化合物またはその薬理的に許容される塩は、シタキセンタンが有する主薬効を保持したまま、改善された CYP の阻害作用を有する。 [式中、R¹ は、ハロゲン原子等を意味し、R² は、メチル基等を意味し、R³ は、C₁₋₆ アルキル基等を意味し、M は A A で表される基等を意味する。]

WO 2013/115162 A1

WO 2013/115162 A1



NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI 添付公開書類:

(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, — 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
NE, SN, TD, TG).

明 細 書

発明の名称： シタキセンタン誘導体

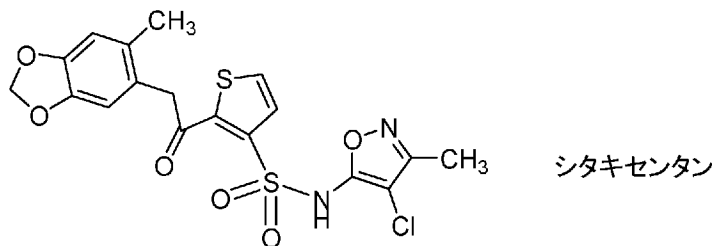
技術分野

[0001] 本発明はフタラン環を有する化合物に関する。より詳細には、N-（4-クロロ-3-メチル-1, 2-オキサゾール-5-イル）-2-〔2-（6-メチル-1, 3-ジヒドロ-2-ベンゾフラン-5-イル）アセチル〕チオフェン-3-スルホナミドおよびその類縁体に関する。

背景技術

[0002] チエニルスルホンアミド化合物は、エンドセリン受容体アンタゴニストとして知られている。例えば、シタキセンタンすなわちN-（4-クロロ-3-メチル-1, 2-オキサゾール-5-イル）-2-〔2-（6-メチル-2H-1, 3-ベンゾジオキサソール-5-イル）アセチル〕チオフェン-3-スルホンアミドは、肺動脈性高血圧症などの適応症で市販に至った化合物である（特許文献1）。

[化1]



[0003] しかしながら、シタキセンタンは、その構造において、ベンゾジオキサソール環を有しているが、かかるベンゾジオキサソール環を有する化合物は、一般的にcytochrome P450 (CYP) で代謝されると化学的に反応性の高い代謝物へと変換され、CYPとの共有結合に基づく不活化作用によりCYPの活性を不可逆的に阻害することが知られている（非特許文献1～3）。シタキセンタンに関してもCYP阻害活性を有することが知られており、臨床で用いられている薬剤との薬物相互作用に関して、これまでいく

つかの報告がなされている。その課題解決のため、シタキセンタンのベンゾジオキソリル基のメチレン炭素上にある水素原子を重水素原子に代えた化合物などが知られているが、現在までに市販に至った化合物は存在せず、十分な効果を奏しているとは言いがたい（特許文献2）。さらに、一般的に重水素を含む化合物は製造コストがより必要であることが知られており、本課題解決に関して、重水素を用いない方法も望まれている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開第96／31492号

特許文献2：国際公開第2008／124803号

非特許文献

[0005] 非特許文献1：Pharmacological reviews 42, 85, 1990. (Selectivity in the inhibition of Mammalian Cytochrome P-450 by Chemical Agents)

非特許文献2：Current Drug Metabolism, 6, 413, 2005.

非特許文献3：Drug Metabolism and Disposition, 31, 289, 2003.

非特許文献4：Burger's Medicinal Chemistry, Drug Discovery and Development, 7th Edition, edited by Abraham and Rotella, August 2010, "STRUCTURAL ALERTS FOR TOXICITY" by Blagg, p301-334

非特許文献5：Exp Opin Ther Patents, 10, 1653-1668, 2000

発明の概要

発明が解決しようとする課題

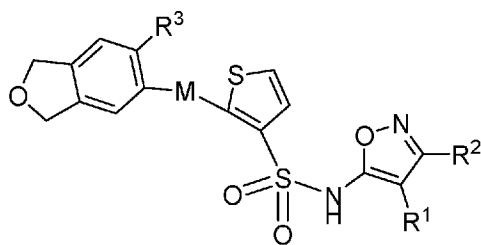
[0006] 本発明が解決する課題は、シタキセンタンが有する主薬効を保持したまま、CYPの阻害作用を改善し、かつ、重水素を含まない構造である化合物を提供することである。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、鋭意努力の結果、本発明を完成した。すなわち、本発明は、以下の[1]～[19]に関する。

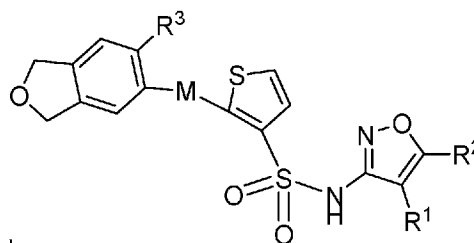
[1] 式(1-1)もしくは(1-2)で表される化合物またはその薬理的に許容される塩。

[化2]



(1-1)

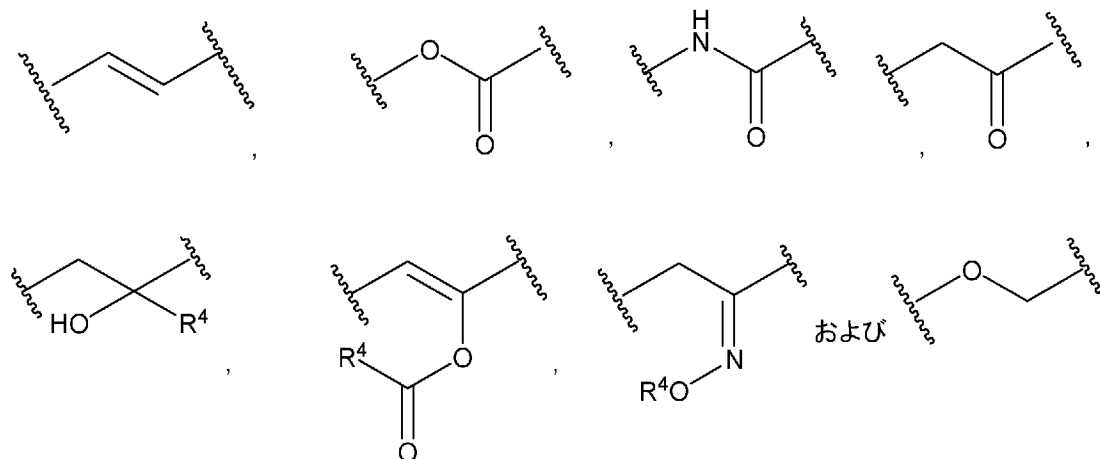
または



(1-2)

[式中、R¹は、ハロゲン原子、メチル基、エチル基、トリフルオロメチル基、ペンタフルオロエチル基、n-プロピル基またはシクロプロピル基を意味し、R²は、水素原子、メチル基、エチル基、トリフルオロメチル基、ペンタフルオロエチル基、n-プロピル基またはシクロプロピル基を意味し、R³は、C₁₋₆アルキル基またはC₁₋₆アルコキシ基を意味し、Mは

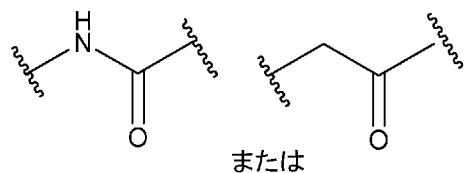
[化3]



からなる群から選択される基を意味し、式中、 R^4 は、水素原子、メチル基、またはエチル基を意味する。]

[2] Mが、下式

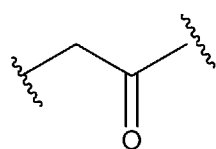
[化4]



で表される基である、[1] 記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩。

[3] Mが、下式

[化5]



で表される基である、[1] 記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩。

[4] R^1 が、ハロゲン原子である、[1] ないし [3] いずれか記載の化合物またはその薬理的に許容される塩。

[5] R^1 が、塩素原子である、[4] 記載の化合物またはその薬理的に許容される塩。

[6] R^2 が、メチル基である、[1] ないし [5] いずれか記載の化合物またはその薬理的に許容される塩。

[7] R^3 が、 C_{1-6} アルキル基である、[1] ないし [6] いずれか記載の化合物またはその薬理的に許容される塩。

[8] R^3 が、メチル基である、[7] 記載の化合物またはその薬理的に許容される塩。

[9] 式(1-1)で表される化合物である、[1] ないし [8] いずれか記載の化合物またはその薬理的に許容される塩。

[10] N-(4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-イル)-2-[2-(6-メチル-1,3-ジヒドロ-2-ベンゾフラン-5-イル)アセチル]チオフェン-3-スルホナミドまたはその薬理的に許容される塩。

[11] [1] ないし [10] いずれか記載の化合物またはその薬理的に許容できる塩を含む医薬組成物。

[12] エンドセリン受容体アンタゴニストである、[11] 記載の医薬組成物。

[13] 肺動脈性高血圧症治療剤である、[11] 記載の医薬組成物。

[14] [1] ないし [10] いずれか記載の化合物またはその薬理的に許容できる塩を患者に投与する、エンドセリン受容体拮抗方法。

[15] [1] ないし [10] いずれか記載の化合物またはその薬理的に許容できる塩を患者に投与する、肺動脈性高血圧症の治療または予防方法。

[16] エンドセリン受容体拮抗に使用される、[1] ないし [10] いずれか記載の化合物またはその薬理的に許容できる塩。

[17] 肺動脈性高血圧症の治療または予防に使用される、[1] ないし [10] いずれか記載の化合物またはその薬理学的に許容できる塩。

[18] エンドセリン受容体アンタゴニストを製造するための、[1] ないし [10] いずれか記載の化合物またはその薬理学的に許容できる塩の使用。

[19] 肺動脈性高血圧症治療・予防剤を製造するための、[1] ないし [10] いずれか記載の化合物またはその薬理学的に許容できる塩の使用。

発明の効果

[0008] 式(1-1)または(1-2)で表される化合物(以下、それぞれ、化合物(1-1)または(1-2)ともいい、両者を併せて化合物(1)ともいう)は、シタキセンタンが有する主薬効を保持したまま、シタキセンタンと比較して改善されたCYPの阻害作用を有する。

図面の簡単な説明

[0009] [図1]リガンド(エンドセリン)による用量依存的なEDNRA/293細胞での活性化(Ca^{2+} 上昇)を示すグラフである。縦軸は活性化(Ca^{2+} 上昇)を示し、横軸はエンドセリン濃度(nM)を示す。

[図2]シタキセンタンによる用量依存的なEDNRA/293細胞での Ca^{2+} 上昇抑制を示すグラフである。縦軸はシタキセンタン非存在下を100%としたときの相対 Ca^{2+} 上昇を示し、横軸はシタキセンタン濃度(nM)を示し、加えたエンドセリン濃度(nM)をグラフ右に示す。

[図3]実施例1化合物による用量依存的なEDNRA/293細胞での Ca^{2+} 上昇抑制を示すグラフである。縦軸は実施例1化合物非存在下を100%としたときの相対 Ca^{2+} 上昇を示し、横軸は実施例1化合物濃度(nM)を示し、加えたエンドセリン濃度(nM)をグラフ右に示す。

発明を実施するための形態

[0010] 以下、本発明の内容について詳細に説明する。

[0011] 本明細書中においては、本発明は、結晶多形が存在することもあるが、特定の結晶形のみ限定されることはなく、いずれかの結晶形の単一物であつ

ても混合物であってもよく、また、本発明には非晶質体も含まれ、そして、本発明に係る化合物には無水物と水和物とが包含される。

[0012] 以下に、本明細書において記載する用語、記号等の意義を説明し、本発明を詳細に説明する。

[0013] 本明細書における「CYP」とは、薬物代謝酵素である、チトクロームP450のことを意味する。

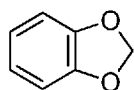
[0014] 本明細書における「CYPの阻害作用を改善」または「改善されたCYPの阻害作用」とは、主なCYPの分子種である5つのCYP分子種（CYP1A2，2C9，2C19，2D6および3A4）のうち、1または2以上に対する阻害作用の程度が、シタキセタンよりも総じて改善されることを意味する。

[0015] 本明細書における「主薬効を保持」とは、臨床でシタキセタンと同様の薬効が期待できる程度の*in vitro*または*in vivo*薬理活性を前臨床試験で示すことを意味する。*in vitro*薬理活性とは、例えばエンドセリン受容体Aに対する抑制活性である。

[0016] 本明細書における「IC₅₀」とは、50%阻害濃度または半数阻害濃度のことを意味する。

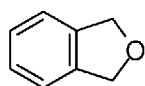
[0017] 本明細書における「ベンゾジオキソール環」とは、下記構造で示される環または官能基を意味する。

[化6]



[0018] 本明細書における「フタラン環」とは、下記構造で示される環または官能基を意味する。

[化7]

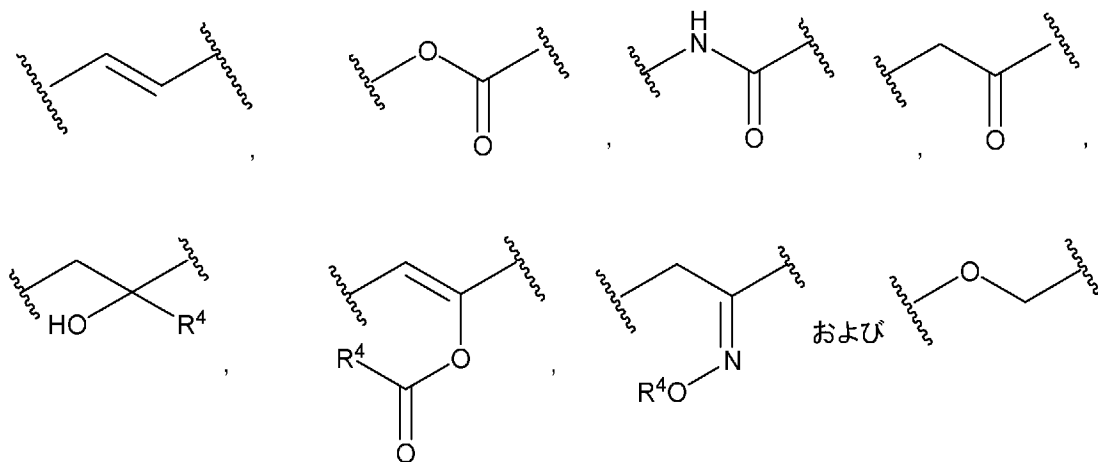


- [0019] 本明細書における「ハロゲン原子」とは、フッ素原子、塩素原子、臭素原子またはヨウ素原子を意味する。
- [0020] 本明細書における「C₁₋₆アルキル基」とは、炭素数1～6個の直鎖状または分枝鎖状のアルキル基を意味し、具体例としては、例えばメチル基、エチル基、1-プロピル基、2-プロピル基、2-メチル-1-プロピル基、2-メチル-2-プロピル基、1-ブチル基、2-ブチル基、1-ペンチル基、2-ペンチル基、3-ペンチル基、1-ヘキシル基、2-ヘキシル基、3-ヘキシル基等が挙げられる。
- [0021] 本明細書における「C₁₋₆アルコキシ基」とは、「C₁₋₆アルコキシ基」とは前記定義の「C₁₋₆アルキル基」の末端に酸素原子が結合した基であることを意味し、具体例としては、例えばメトキシ基、エトキシ基、1-プロピルオキシ基、2-プロピルオキシ基、2-メチル-1-プロピルオキシ基、2-メチル-2-プロピルオキシ基、1-ブチルオキシ基、2-ブチルオキシ基、1-ペンチルオキシ基、2-ペンチルオキシ基、3-ペンチルオキシ基、1-ヘキシルオキシ基、2-ヘキシルオキシ基、3-ヘキシルオキシ基等が挙げられる。
- [0022] 本発明にかかる化合物は、式(1-1)または(1-2)で表される化合物であるが、好ましくは、式(1-1)で表される化合物である。
- [0023] 式(1-1)または(1-2)で表される化合物におけるR¹は、ハロゲン原子、メチル基、エチル基、トリフルオロメチル基、ペンタフルオロエチル基、n-プロピル基またはシクロプロピル基を意味し、好ましくは、ハロゲン原子であり、より好ましくは、塩素原子である。
- [0024] 式(1-1)または(1-2)で表される化合物におけるR²は、水素原子、メチル基、エチル基、トリフルオロメチル基、ペンタフルオロエチル基、n-プロピル基またはシクロプロピル基を意味し、好ましくは、メチル基である。
- [0025] 式(1-1)または(1-2)で表される化合物におけるR³は、C₁₋₆ア

ルキル基または C_{1-6} アルコキシ基を意味し、好ましくは、 C_{1-6} アルキル基であり、より好ましくは、メチル基である。

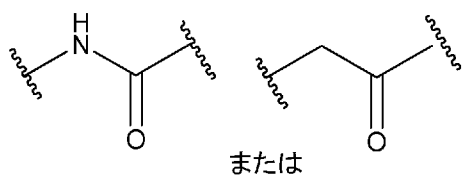
[0026] 式(1-1)または(1-2)で表される化合物におけるMは、

[化8]



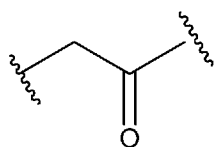
からなる群から選択される基を意味し、式中、 R^4 は、水素原子、メチル基またはエチル基を意味する。上記各基の結合の向きに関して、左側のラジカルはフラタン環に結合しており、右側のラジカルはチオフェン環に結合している。Mは、好ましくは、

[化9]



で表される基であり（カルボニル炭素がチオフェン環に結合している）、より好ましくは、

[化10]



で表される基（カルボニル炭素がチオフェン環に結合している）である、

[0027] 本明細書における「薬理的に許容される塩」とは、式（１－１）または（１－２）で表される化合物と塩を形成し、かつ薬理的に許容されるものであれば特に限定されず、例えば、無機酸塩、有機酸塩、無機塩基塩、有機塩基塩、酸性または塩基性アミノ酸塩等が挙げられる。

[0028] 無機酸塩の好ましい例としては、例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩等が挙げられ、有機酸塩の好ましい例としては、例えば酢酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、ステアリン酸塩、安息香酸塩、マンデル酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩等が挙げられる。

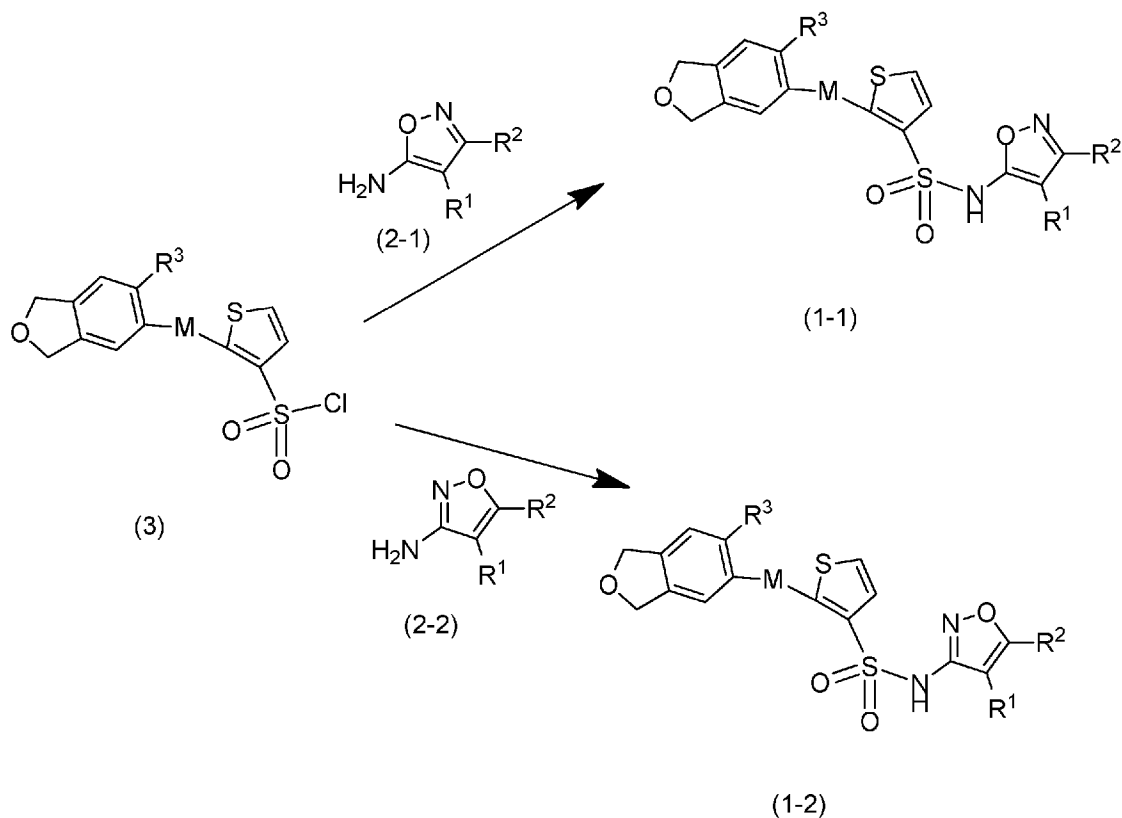
[0029] 無機塩基塩の好ましい例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、アンモニウム塩等が挙げられ、有機塩基塩の好ましい例としては、例えばジエチルアミン塩、ジエタノールアミン塩、メグルミン塩、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン塩等が挙げられる。

[0030] 酸性アミノ酸塩の好ましい例としては、例えばアスパラギン酸塩、グルタミン酸塩等が挙げられ、塩基性アミノ酸塩の好ましい例としては、例えばアルギニン塩、リジン塩、オルニチン塩等が挙げられる。

[0031] 式（１－１）または（１－２）で表される化合物は、以下に記載する方法により製造することができ、また以下に記載の方法を当業者が通常の知識に基づき改良することによっても製造することができる。但し、式（１－１）または（１－２）で表される化合物の製造方法は、これらに限定されるものではない。

[0032] 工程 A

[化11]



[式中、R¹、R²、R³およびMは前記定義と同義である。]

[0033] 本工程は、溶媒存在下または非存在下、塩基の存在下、触媒の存在下または非存在下、スルホニルクロライド化合物（3）とアミノイソキサゾール化合物（2-1）または（2-2）との縮合反応により、化合物（1-1）または（1-2）を得る工程である。

[0034] 使用する溶媒は、出発原料をある程度溶解するものであり、かつ反応を阻害しないものであれば、特に制限はないが、例えばテトラヒドロフランやピリジンなどが挙げられる。

[0035] 使用する塩基は、例えば水素化ナトリウムやピリジンなどが挙げられる。

[0036] 使用する触媒は4-ジメチルアミノピリジンなどを用いることができる。

[0037] 反応温度は、出発原料、溶媒などにより異なるが、通常0℃ないし120℃であり、好適には、15℃ないし100℃である。

[0038] 反応時間は、出発原料、溶媒などにより異なるが、通常10分ないし5日

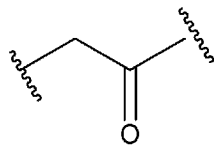
であり、好適には１時間ないし３日である。

[0039] スルホニルクロライド化合物（３）およびアミノイソキサゾール化合物（２－１）または（２－２）は、市販のものを利用してもよく、後述する実施例に記載のものを用いてもよく、あるいは、当業者に知られた方法（例えば、米国特許第４６５９３６９、４８６１３６６、４７５３６７２）により合成してもよい。

[0040] 工程 B

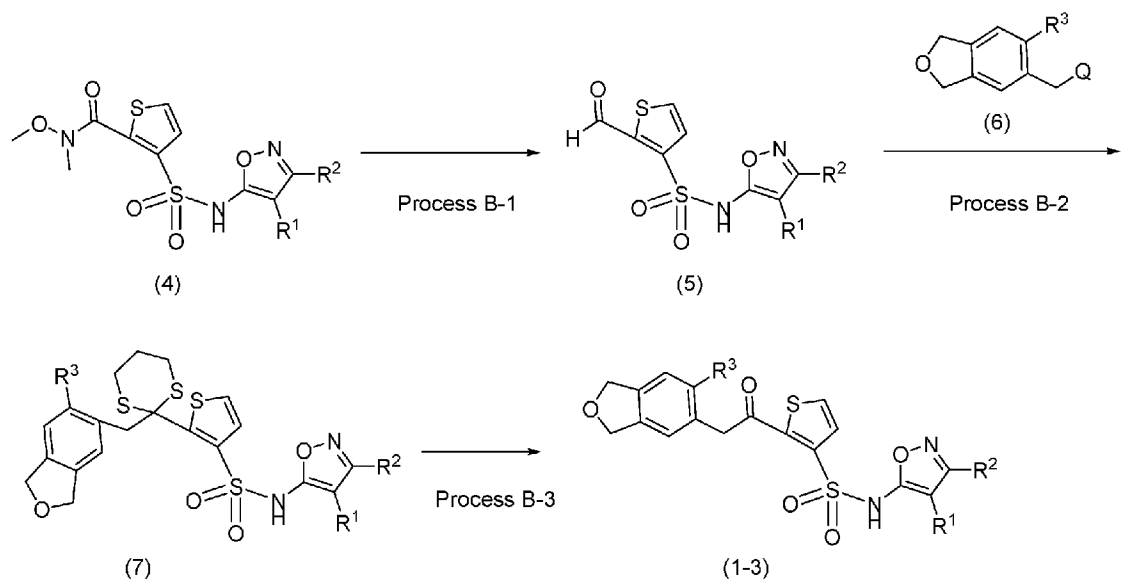
化合物（１－１）または（１－２）の M が

[化12]



で表される基である場合、下記工程 B によって、化合物（１－１）または（１－２）を得ることができる。なお、下記スキームは化合物（１－１）の製造方法で説明しているが、出発物質を変更することで化合物（１－２）が得られる。

[化13]



[式中、 R^1 、 R^2 および R^3 は前記定義と同義である。式中、 Q は臭素原子、塩素原子およびヨウ素原子などのハロゲン原子、メタンスルホニルオキシ基などの C_{1-4} アルカンスルホニルオキシ基ならびにベンゼンスルホニルオキシ基およびp-トルエンスルホニルオキシ基などのスルホニルオキシ基などの脱離基を意味する。]

[0041] 化合物(4)および化合物(6)は、公知の化合物、あるいは公知の化合物から当業者が通常行う方法により製造することができる化合物等を用いることができる。

[0042] 工程B-1

本工程は、溶媒存在下、還元剤を用いて化合物(4)を化合物(5)に変換する工程である。

[0043] 使用する溶媒は、出発原料をある程度溶解するものであり、かつ反応を阻害しないものであれば、特に制限はないが、例えばテトラヒドロフランなどが挙げられる。

[0044] 使用する還元剤は、例えばジイソブチルアルミニウムヒドリドなどが挙げられる。

[0045] 反応温度は、出発原料、溶媒などにより異なるが、通常 -78°C ないし 100°C であり、好適には、 -78°C ないし室温である。

[0046] 反応時間は、出発原料、溶媒などにより異なるが、通常10分ないし5日であり、好適には30分ないし1日である。

[0047] 工程B-2

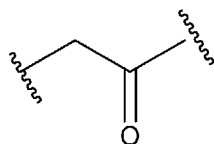
本工程は化合物(5)のホルミル基を1,3-プロパンジチオールでジチアンに変換した後、塩基を用いてジチアンにアニオンを生成させ、次いで化合物(6)と反応させることにより化合物(7)を得る工程である。よい結果を得るためにジチアンへの変換の際にルイス酸を添加してもよい。

[0048] ジチアンへの変換反応で使用する溶媒は、出発原料をある程度溶解するものであり、かつ反応を阻害しないものであれば、特に制限はないが、例えばジクロロメタンなどが挙げられる。

- [0049] ジチアンへの変換反応で使用するルイス酸は、例えばボロン トリフルオリド ジエチル エーテレートなどが挙げられる。
- [0050] ジチアンへの変換反応の反応温度は、出発原料、溶媒などにより異なるが、通常0℃ないし100℃であり、好適には、室温である。
- [0051] ジチアンへの変換反応の反応時間は、出発原料、溶媒などにより異なるが、通常10分ないし5日であり、好適には30分ないし1日である。
- [0052] アニオンの生成と化合物(6)との反応の際に使用する溶媒は、出発原料をある程度溶解するものであり、かつ反応を阻害しないものであれば、特に制限はないが、例えばテトラヒドロフランなどが挙げられる。
- [0053] アニオンの生成と化合物(6)との反応の際に使用する塩基は、例えばn-ブチルリチウムなどが挙げられる。
- [0054] 反応温度は、出発原料、溶媒などにより異なるが、通常-78℃ないし100℃であり、好適には、-78℃ないし室温である。
- [0055] 反応時間は、出発原料、溶媒などにより異なるが、通常10分ないし5日であり、好適には30分ないし1日である。
- [0056] 工程B-3

本工程は化合物(7)のジチアン環をカルボニル基に変換することで、化合物(1-3)すなわちMが

[化14]



で表される基である化合物(1-1)を得る工程である。一般的なジチアン環の脱保護反応、例えば硝酸銀などの酸化剤との反応、により本工程を行うことができる。

- [0057] ジチアン環の脱保護反応で使用する溶媒は、出発原料をある程度溶解するものであり、かつ反応を阻害しないものであれば、特に制限はないが、例え

ばメタノール、水、テトラヒドロフランなどが挙げられる。

[0058] ジチアン環の脱保護反応で使用する酸化剤は硝酸銀などが挙げられる。

[0059] ジチアン環の脱保護反応の反応温度は、出発原料、溶媒などにより異なるが、通常0℃ないし150℃であり、好適には室温ないし100℃である。

[0060] ジチアン環の脱保護反応の反応時間は、出発原料、溶媒などにより異なるが、通常30分ないし5日であり、好適には1日ないし4日である。

[0061] 上記各方法、各工程の反応終了後、各工程の目的化合物は常法に従い、反応混合物から採取することができる。

[0062] 例えば、反応混合物全体が液体の場合、反応混合物を所望により室温に戻すか、氷冷し、適宜、酸、アルカリ、酸化剤または還元剤を中和し、水と、酢酸エチルのような混和せずかつ目的化合物と反応しない有機溶媒とを加え、目的化合物を含む層を分離する。次に、得られた層と混和せず目的化合物と反応しない溶媒を加え、目的化合物を含む層を洗浄し、当該層を分離する。加えて、当該層が有機層であれば、無水硫酸マグネシウムまたは無水硫酸ナトリウム等の乾燥剤を用いて乾燥し、溶媒を留去することなどにより、目的化合物を採取することができる。また、当該層が水層であれば、電氣的に脱塩した後、凍結乾燥することなどにより、目的化合物を採取することができる。

[0063] また、反応混合物全体が液体であって、かつ、可能な場合には、常圧または減圧下、目的化合物以外のもの（例えば、溶媒、試薬等）を留去することのみにより、目的化合物を採取することができる。

[0064] さらに、目的化合物のみが固体として析出している場合、または、上記反応混合物全体が液体の場合であって、採取の過程で目的化合物のみが固体として析出した場合、まず、ろ過法により目的化合物をろ取し、ろ取した目的化合物を適当な有機または無機溶媒で洗浄し、乾燥することで母液を上記反応混合物全体が液体の場合と同様に処理することにより、さらに目的化合物を採取することができる。

[0065] またさらに、試薬または触媒のみが固体として存在するか、または、上記

反応混合物全体が液体の場合であって、採取の過程で試薬または触媒のみが固体として析出した場合であって、かつ、目的化合物が溶液に溶解している場合、まず、ろ過法により試薬または触媒をろ去し、ろ去した試薬または触媒を適当な有機または無機溶媒で洗浄し、得られる洗浄液を母液と合わせ、得られる混合液を上記反応混合物全体が液体の場合と同様に処理することにより、目的化合物を採取することができる。

[0066] 特に、反応混合物に含まれる目的化合物以外のものが次工程の反応を阻害しない場合、特に目的化合物を単離することなく、反応混合物のまま、次の工程に使用することもできる。

[0067] 上記方法で採取した目的化合物の純度を向上させるため、適宜、再結晶法、各種クロマトグラフィー法、蒸留法を実施することができる。

[0068] 採取した目的化合物が固体の場合、通常、再結晶法により目的化合物の純度を向上させることができる。再結晶法においては、目的化合物と反応しない単一溶媒または複数の混合溶媒を用いることができる。具体的には、まず目的化合物を、目的化合物と反応しない単一または複数の溶媒に、室温または加熱下に溶解する。得られる混合液を氷水などで冷却するかまたは室温にて攪拌または放置することにより、その混合液から目的化合物を晶出させることができる。

[0069] 採取した目的化合物は、各種クロマトグラフィー法により目的化合物の純度を向上させることができる。一般的には、メルク社製シリカゲル60（70－230 meshまたは340－400 mesh）、富士シリシア化学株式会社製BW－300（300 mesh）などの弱酸性のシリカゲル類を用いることができる。目的化合物が塩基性を有し、上述のシリカゲル類では吸着が激し過ぎる場合などは、富士シリシア化学株式会社製のプロピルアミンコーティングシリカゲル（200－350 mesh）や山善株式会社製ディスポーザブル中圧分取充填カラム（ハイフラッシュ・アミノ）などのNHシリカゲル類を用いることもできる。また、目的化合物が双極性を有する場合またはメタノールなどの高極性溶媒での溶出が必要な場合などは、ナム研究

所製NAM-200HまたはNAM-300H、あるいはYMC社製YMG GEL ODS-Aを用いることもできる。上記のような充填剤があらかじめ充填されている山善株式会社製、和光純薬工業社製、biotage社製、またはGrace社製のディスポーザブル中圧分取充填カラム（ハイフラッシュ）を用いることもできる。これらのシリカゲルを適宜用いて、目的化合物と反応しない単一または複数の溶媒で目的化合物を溶出させ、溶媒を留去することにより、純度が向上した目的化合物を得ることができる。

[0070] 採取した目的化合物が液体の場合、蒸留法によっても目的化合物の純度を向上させることができる。蒸留法においては、目的化合物を室温または加熱下に減圧することにより、目的化合物を留出させることができる。

[0071] 以上が化合物（1-1）または（1-2）の製造方法の代表例であるが、化合物（1-1）または（1-2）の製造における原料化合物および各種試薬は、塩や水和物のような溶媒和物を形成していてもよく、いずれも出発原料、使用する溶媒等により異なり、また反応を阻害しない限りにおいて特に限定されない。用いる溶媒についても、出発原料、試薬等により異なり、また反応を阻害せず出発物質をある程度溶解するものであれば特に限定されないことは言うまでもない。化合物（1-1）または（1-2）がフリー体として得られる場合、化合物（1-1）または（1-2）が形成していてもよい塩またはそれらの溶媒和物には、常法に従って変換することができる。

[0072] 化合物（1-1）または（1-2）が塩または溶媒和物として得られる場合、化合物（1-1）または（1-2）のフリー体は、常法に従って変換することができる。

[0073] また、化合物（1-1）または（1-2）について得られる種々の異性体（例えば幾何異性体、光学異性体、回轉異性体、立体異性体、互変異性体、等）は、通常分離手段、例えば、再結晶、ジアステレオマー塩法、酵素分割法、種々のクロマトグラフィー（例えば薄層クロマトグラフィー、カラムクロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー等）を用いることにより精製し、単離することができる。

- [0074] 化合物（１－１）または（１－２）またはその薬理学的に許容し得る塩は、常法により製剤化が可能であり、剤形としては、例えば、経口剤（錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、シロップ剤等）、注射剤（静脈内投与用、筋肉内投与用、皮下投与用、腹腔内投与用）、外用剤（経皮吸収製剤（軟膏剤、貼付剤等）、点眼剤、点鼻剤、坐剤等）とすることができる。
- [0075] これらの錠剤、カプセル剤、顆粒剤、粉末等の固形製剤は、通常０．００１～９９．５重量％、好ましくは０．０１～９０重量％等の化合物（１－１）または（１－２）またはその薬学的に許容し得る塩を含むことができる。
- [0076] 経口用固形製剤を製造する場合には、化合物（１－１）または（１－２）またはその薬理学的に許容し得る塩に、必要に応じて、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤などを添加し、常法により錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤にすることができる。また、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等は必要に応じて皮膜コーティングを施しても良い。
- [0077] 賦形剤は、例えば、乳糖、コーンスターチ、結晶セルロース、等などが挙げられ、結合剤としては、例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどが、崩壊剤としては、例えば、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム等を挙げることができる。
- [0078] 滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム等が、着色剤としては、例えば、酸化チタン等を挙げることができる。
- [0079] 皮膜コーティング剤としては、例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース等が挙げられる。
- [0080] 上述したいずれの添加剤についても、もちろんこれらに限定される訳ではない。
- [0081] 注射剤（静脈内投与用、筋肉内投与用、皮下投与用、腹腔内投与用）を製造する場合には、化合物（１－１）または（１－２）またはその薬理学的に許容し得る塩に、必要に応じて、pH調整剤、緩衝剤、懸濁化剤、溶解補助

剤、抗酸化剤、保存剤（防腐剤）、等張化剤などを添加し、常法により製造することができる。また、凍結乾燥して、用時溶解型の凍結乾燥製剤としても良い。これらの注射剤は静脈内、皮下、筋肉内等に投与することができる。

[0082] pH調整剤や緩衝剤としては、例えば、有機酸又は無機酸及び／又はその塩等を、懸濁化剤としては、例えば、メチルセルロース、ポリソルベート80、カルボキシメチルセルロースナトリウム、などを、溶解補助剤としては、例えば、ポリソルベート80、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートなどを、抗酸化剤としては、例えば、 α -トコフェロール等を、保存剤としては、例えば、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチルなどを、等張化剤としては、ブドウ糖、塩化ナトリウム、マンニトール等を挙げることができるが、もちろんこれらに限定される訳ではない。

[0083] これらの注射液は、通常0.000001～99.5重量%、好ましくは0.00001～90重量%等の化合物（1-1）または（1-2）またはその薬理的に許容し得る塩を含むことができる。

[0084] 外用剤を製造する場合には、化合物（1-1）または（1-2）またはその薬理的に許容し得る塩に、基剤原料を添加し、必要に応じて、上述した乳化剤、保存剤、pH調整剤、着色剤等を加えて、常法により、経皮吸収製剤（軟膏剤、貼付剤等）、点眼剤、点鼻剤、坐剤等などを製造することができる。

[0085] 使用する基剤原料としては、医薬品、医薬部外品、化粧品等に通常使用される各種原料を用いることが可能で、例えば動植物油、鉱物油、エステル油、ワックス類、高級アルコール類、精製水などの原料が挙げられる。

[0086] これらの外用剤は、通常0.000001～99.5重量%、好ましくは0.00001～90重量%等の化合物（1-1）または（1-2）またはその薬理的に許容し得る塩を含むことができる。

[0087] 本発明にかかる医薬の投与量は、通常、症状、年齢、性別、体重等に応じて異なるが、所望の効果を奏するのに十分な量であればよい。例えば、成人

の場合、1日あたり約0.1～5000mg（好ましくは0.5～1000mg、より好ましくは1～600mg）が、1日または複数日の間に1回または1日に2～6回に分けて使用される。

[0088] 化合物（1-1）または（1-2）は生理活性低分子化合物の標的タンパクを捕捉するためのケミカルプローブとすることができる。すなわち、化合物（1-1）または（1-2）は、当該化合物の活性発現に必要な構造部分とは異なる部分に、J. Mass Spectrum, Soc. Jpn. Vol. 51, No. 5 2003, p492-498またはWO2007/139149等に記載の手法で標識基、リンカー等を導入することでアフィニティークロマトグラフィー、フォトアフィニティープローブ等に変換することができる。

[0089] ケミカルプローブに用いる標識基、リンカー等は、例えば以下の（1）ないし（5）からなる群に示される基が挙げられる。

（1）光親和性標識基（例えば、ベンゾイル基、ベンゾフェノン基、アジド基、カルボニルアジド基、ジアジリジン基、エノン基、ジアゾ基およびニトロ基等）および化学親和性基（例えば、アルファー炭素原子がハロゲン原子で置換されたケトン基、カルバモイル基、エステル基、アルキルチオ基、 α 、 β -不飽和ケトン、エステル等のマイケル受容体、およびオキシラン基等）等のタンパク質標識基、

（2）-S-S-、-O-Si-O-、単糖（グルコース基、ガラクトース基等）または二糖（ラクトース等）等の開裂可能なリンカー、および酵素反応で開裂可能なオリゴペプチドリナー、

（3）ビオチン、3-（4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4H-3a,4a-ジアザ-4-ボラー-インダセン-3-イル）プロピオニル基等のフィッシングタグ基、

（4） ^{125}I 、 ^{32}P 、 ^3H 、 ^{14}C などの放射性標識基；フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、ウンベリフェロン、7-ニトロフラザニル、3-（4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4H-3a,4a-ジアザ-4-ボラ

ー s ー インダセン ー 3 ー イル) プロピオニル基等の蛍光標識基 ; ルミフェリン、ルミノール等の化学発光基 ; ランタノイド金属イオン、ラジウムイオン等の重金属イオン等の検出可能なマーカーまたは

(5) ガラスビーズ、ガラスベット、マイクロタイタープレート、アガロースビーズ、アガロースベッド、ポリスチレンビーズ、ポリスチレンベッド、ナイロンビーズ、ナイロンベッド等の固相担体と結合させる基等。

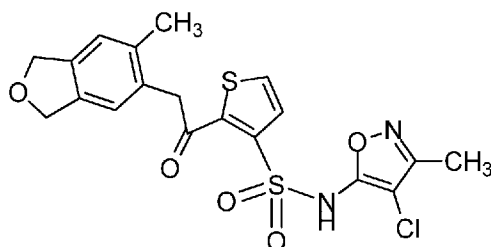
[0090] 上記の (1) ないし (5) からなる群より選択される標識基等を上記文献に記載の方法等に準じて化合物 (1-1) または (1-2) に導入して調製されるプローブは、新たな創薬ターゲットの探索等に有用な標識タンパクの同定のためのケミカルプローブとして用いることができる。

実施例

[0091] 化合物 (1-1) または (1-2) は、例えば、以下の実施例に記載した方法により製造することができ、また、化合物 (1-1) または (1-2) の効果は、以下の試験例に記載した方法により確認することができる。ただし、これらは例示的なものであって、本発明は、如何なる場合も以下の具体例に制限されるものではない。

[0092] [実施例 1] N- (4-クロロ-3-メチル-1, 2-オキサゾール-5-イル) -2- [2- (6-メチル-1, 3-ジヒドロ-2-ベンゾフラン-5-イル) アセチル] チオフェン-3-スルホナミド

[化15]



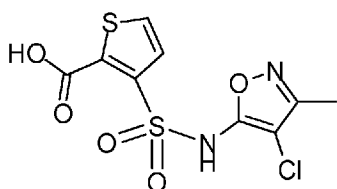
製造例 1-7 に記載の N- (4-クロロ-3-メチル-1, 2-オキサゾール-5-イル) -2- {2- [(6-メチル-1, 3-ジヒドロ-2-ベンゾフラン-5-イル) メチル] -1, 3-ジチアン-2-イル} チオフェ

ン-3-スルホナミド (300 mg、0.55 mmol)、メタノール (20 mL)、水 (2 mL)、および硝酸銀 (940 mg、5.5 mmol) の混合物を 55℃ で 3 日間攪拌した。反応混合物を室温とし、同温でテトラヒドロフラン (40 mL) と飽和食塩水 (1 mL) を加え、セライトを用いてろ過した。ろ液に酢酸エチル (200 mL)、水 (100 mL)、飽和クエン酸水溶液 (1 mL) を加え、抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (メタノール：酢酸エチル = 1 : 9) で精製後、さらにシリカゲル薄層クロマトグラフィー (メタノール：酢酸エチル = 1 : 32) で精製し、標記化合物 (45 mg、18% 収率) を得た。

¹H-NMR Spectrum

(DMSO-d₆) δ (ppm) : 1.99(3H, s), 2.13(3H, s), 4.89(2H, s), 4.92(2H, s), 4.95(2H, s), 7.07(1H, s), 7.09(1H, s), 7.42(1H, d, J=5.1 Hz), 7.77(1H, d, J=5.1 Hz).

[0093] [製造例 1-1] 3-[(4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-イル)スルファモイル]チオフェン-2-カルボキシリック アシド [化16]



水素化ナトリウム (60%、2.1 g、52 mmol) とテトラヒドロフラン (20 mL) の混合物に、0℃ で 4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-アミン (3.0 g、23 mmol) とテトラヒドロフラン (20 mL) の混合物を加え、同温で 30 分間攪拌した。反応混合物に、同温でメチル 3-(クロロスルホニル)チオフェン-2-カルボキシレート (5.3 g、22 mmol) を加え、0℃ で 1 時間攪拌し、次いで、室温で

4時間攪拌した。反応混合物に、室温でヘキサン（100 mL）を加え、析出した固体をろ取した。固体にメタノール（20 mL）を加え、次いで、2 N水酸化ナトリウム水溶液（20 mL）を加え、反応混合物を室温で5時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣に氷水（20 mL）を加え、次いで、2 N塩酸水溶液（20 mL）を加えた。析出した固体をろ取することにより、標記化合物（2.5 g、35%収率）を得た。

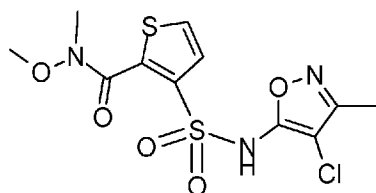
$^1\text{H-NMR}$ Spectrum

(DMSO- d_6) δ (ppm): 2.16

(3H, d, $J=1.8$ Hz), 7.45 (1H, dd, $J=1.3, 5.3$ Hz), 7.95 (1H, dd, $J=0.9, 5.3$ Hz).

[0094] [製造例1-2] 3-[(4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-イル)スルファモイル]-N-メトキシ-N-メチルチオフエン-2-カルボキサミド

[化17]



製造例1-1に記載の3-[(4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-イル)スルファモイル]チオフエン-2-カルボキシリックアシド（2.5 g、7.8 mmol）とテトラヒドロフラン（25 mL）の混合物に、室温で1,1'-カルボニルジイミダゾール（2.0 g、12 mmol）を加え、同温で30分間攪拌した。反応混合物に、室温でイミダゾール（1.1 g、16 mmol）とN,O-ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩（1.2 g、12 mmol）を順次加え、同温で5時間攪拌した。反応混合物に1 N塩酸水溶液（50 mL）を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール）で精製した。

ール＝9：1）で精製し、標記化合物（1.5 g、53%収率）を得た。

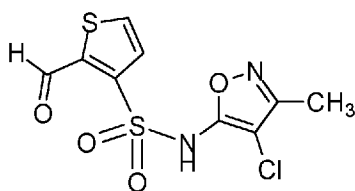
$^1\text{H-NMR}$ Spectrum

(CDCl_3) δ (ppm): 2.23

(3H, s), 3.45 (3H, s), 3.74 (3H, s), 7.47 (1H, d, $J=5.3$ Hz), 7.53 (1H, d, $J=5.3$ Hz).

[0095] [製造例1-3] N-（4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-イル）-2-ホルミルチオフェン-3-スルホナミド

[化18]



製造例1-2に記載の3-〔（4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-イル）スルファモイル〕-N-メトキシ-N-メチルチオフェン-2-カルボキサミド（8.0 g、22 mmol）とテトラヒドロフラン（160 mL）の混合物に、 -78°C でジイソブチルアルミニウムヒドريد（46 mL、48 mmol、1.0 M n-ヘキサン溶液）を滴下し、 0°C で30分間攪拌した。反応混合物に、 0°C で飽和塩化アンモニウム水溶液を滴下し、反応混合物を徐々に室温とし、同温で1時間攪拌した。反応混合物をセライトを用いてろ過し、ろ液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：メタノール＝30：1）で精製し、標記化合物（5.1 g、75%収率）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ Spectrum

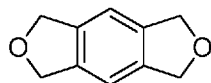
(DMSO-d_6) δ (ppm): 1.97

(3H, s), 7.35 (1H, d, $J=5.1$ Hz), 7.97 (1H, d, $J=5.1$ Hz), 10.52 (1H, d, $J=1.1$ Hz).

Hz).

[0096] [製造例 1-4] 5, 11-ジオキサトリシクロ [7. 3. 0. 0[^]{3, 7}] ドデカー 1, 3 (7), 8-トリエン

[化19]



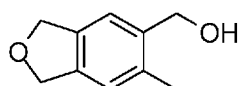
1, 2, 4, 5-テトラキス-(ブロモメチル)-ベンゼン (150 g、0. 33 mol) と 1, 4-ジオキサン (2 L) の混合物に、55%テトラブチルアンモニウム ヒドロキシド水溶液 (640 mL) を室温に加え、90℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、2 N塩酸水溶液 (2 L) を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル：ヘキサン=1：9) で精製し、標記化合物 (35 g、63%収率) を得た。

¹H-NMR Spectrum

(CDCl₃) δ (ppm): 5.10(8H, s), 7.08(2H, s).

[0097] [製造例 1-5] (6-メチル-1, 3-ジヒドロ-2-ベンゾフラン-5-イル) メタノール

[化20]



リチウム パウダー (15 g、2. 1 mol)、4, 4'-ジ-tert-ブチルビフェニル (5. 0 g、0. 021 mol) とテトラヒドロフラン (200 mL) の混合物に、製造例 1-4 に記載の 5, 11-ジオキサトリシクロ [7. 3. 0. 0[^]{3, 7}] ドデカー 1, 3 (7), 8-トリエ

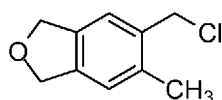
ン（35 g、0.21 mol）とテトラヒドロフラン（100 mL）の混合物を -78°C で加え、同温で4時間攪拌した。反応混合物に同温で水（10 mol）を加え、よく攪拌した。反応混合物を室温とし、2 N 塩酸水溶液（500 mL）を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ヘキサン＝3：7）で精製し、標記化合物（10 g、30%収率）を得た。

^1H -NMR Spectrum

(DMSO- d_6) δ (ppm): 2.24(3H, s), 4.48(2H, d, $J=5.3$ Hz), 4.96(4H, s), 5.10(1H, t, $J=5.3$ Hz), 7.07(1H, s), 7.29(1H, s).

[0098] [製造例1-6] 5-(クロロメチル)-6-メチル-1,3-ジヒドロ-2-ベンゾフラン

[化21]



製造例1-5に記載の（6-メチル-1,3-ジヒドロ-2-ベンゾフラン-5-イル）メタノール（1.0 g、6.1 mmol）およびジクロロメタン（10 mL）の混合物に、氷冷下で、トリエチルアミン（1.7 mL、12 mmol）を加え、ついで同温でメタンスルホニル クロリド（470 μL 、6.1 mmol）を加えた。反応混合物を室温で3時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：ヘプタン＝1：10）で精製し、標記化合物（680 mg、61%収率）を得た。

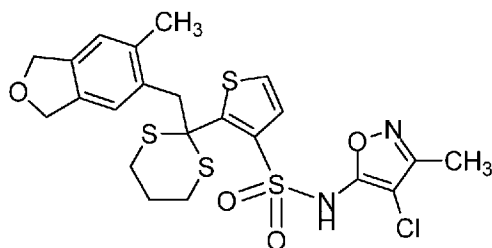
^1H -NMR Spectrum

(CDCl₃) δ (ppm): 2.44

(3H, s), 4.63 (2H, s), 5.08 (4H, s), 7.09 (1H, s), 7.20 (1H, s).

[0099] [製造例 1-7] N-(4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-イル)-2-{2-[(6-メチル-1,3-ジヒドロ-2-ベンゾフラン-5-イル)メチル]-1,3-ジチアン-2-イル}チオフェン-3-スルホナミド

[化22]



製造例 1-3 に記載の N-(4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-イル)-2-ホルミルチオフェン-3-スルホナミド (4.9 g、16 mmol) およびジクロロメタン (100 mL) の混合物に、氷冷下で、ボロン トリフルオリド ジエチル エーテレート (8.1 mL、64 mmol) と 1,3-プロパンジチオール (1.9 mL、19 mmol) を順次加え、室温で 90 分間攪拌した。反応混合物に氷冷下で水を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) で精製し、N-(4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-イル)-2-(1,3-ジチアン-2-イル)チオフェン-3-スルホナミドを粗体として得た。粗体の N-(4-クロロ-3-メチル-1,2-オキサゾール-5-イル)-2-(1,3-ジチアン-2-イル)チオフェン-3-スルホナミドとテトラヒドロフラン (50 mL) の混合物に、-78℃で n-ブチルリチウム (9.7 mL、16 mmol、1.6 M n-ヘキサン溶液) を滴下し、内温 -35℃で 20 分間攪拌した。反応混合物を -78℃に冷却し、同温で、製造例 1-6 に記載の 5-(クロロメチル)-6-メチル-1,3-

ージヒドロ-2-ベンゾフラン (960 mg、5.3 mmol) を加え、0℃で1時間攪拌した。反応混合物を-78℃に冷却し、同温で、酢酸 (0.90 mL、16 mmol) とテトラヒドロフラン (7 mL) の混合物を加えた。反応混合物を徐々に室温とし、同温で、水とクエン酸水溶液を加え、酢酸エチルを用いて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル：ヘプタン=4：1) で精製し、標記化合物 (1.6 g、54%収率) を得た。

¹H-NMR Spectrum

(DMSO-d₆) δ (ppm):

1.68-1.76(1H, m), 2.01-2.05(1H, m), 2.15(3H, s), 2.20(3H, s), 2.80-2.85(4H, m),
3.73(2H, s), 4.79(2H, s), 4.90(2H, s), 6.64(1H, s), 7.02(1H, s), 7.44(1H, d, J=5.5 Hz), 7.54(1H, d, J=5.5 Hz).

[0100] 試験例 1

シタキセンタンおよび実施例 1 化合物のエンドセリン受容体 A (EDNRA) に対する抑制効果

[0101] ヒト由来のEDNRA (遺伝子番号NM_001957.2) のタンパクコード部分をマウス白血病由来レトロウイルスベクターによりHEK-293 (Human Embryonic Kidney, ATCC番号CRL-1573) 細胞に遺伝子導入し、EDNRA安定発現細胞株 (EDNRA/293細胞) を作成した。ここでは培養液としてDMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) に10%のウシ胎児血清とペニシリン・ストレプトマイシンを加えたものを用いた。

[0102] 測定前日にEDNRA/293細胞を5000細胞/ウェルとなるように384ウェルプレートに播種した。測定日にカルシウム測定用蛍光試薬 (Calcium4、Molecular Device社) をHanks平衡緩衝液に溶解し各ウェルに添加し一時間程度放置した。その後一部のウェル

には所定の最終濃度となるように調製したシタキセンタンおよび実施例 1 化合物（以下、検体と呼ぶ）を各ウェルに添加し一時間程度放置して検体を E D N R A / 2 9 3 細胞に作用させた。

[0103] 検体処置していないウェルに E D N R A のリガンド（活性化物質）であるエンドセリンを作用させ引き起こされる活性化（カルシウム上昇）反応を測定機器（F D S S 7 0 0 0, 浜松ホトニクス）で検出したところ、図 1 に示すように用量依存的な活性化反応が得られた。ここで 1 n M 以上の用量では活性化反応がほぼ飽和していた。このことから、以下の抑制反応の検出ではエンドセリンの用量を 0. 0 3, 0. 1 または 0. 3 n M に設定した。

[0104] 検体処置したそれぞれ別のウェルにエンドセリン 0. 0 3, 0. 1 または 0. 3 n M を作用させ引き起こされる活性化（カルシウム上昇）反応を測定機器（F D S S 7 0 0 0, 浜松ホトニクス）で検出したところ、図 2 および図 3 に示すように、シタキセンタンおよび実施例 1 化合物はともにこの活性化反応を抑制した。

[0105] 試験例 2

C Y P 阻害作用

シタキセンタンおよび実施例 1 化合物の C Y P 阻害作用は、以下の 2 通りの方法で試験した。

[0106] シタキセンタンの C Y P 不活化作用に基づく阻害作用は、C Y P を含むヒト肝ミクロゾーム画分と補酵素を含む溶液とのプレインキュベーションにより時間依存的な阻害作用の増強を試験することで評価できるため、実施例 1 化合物についても時間依存的阻害試験を方法 1 として実施した。また、未変化体の競合阻害に基づく C Y P 阻害作用を方法 2 として実施した。

[0107] 方法 1

シタキセンタンおよび実施例 1 化合物について、5 つの C Y P 分子種（C Y P 1 A 2, 2 C 9, 2 C 1 9, 2 D 6 および 3 A 4）に対する時間依存的阻害能を評価した。

[0108] 酵素液（ヒト肝ミクロゾーム（0. 2 m g / m L）、1 0 0 m M K p i

、0.1 mM EDTAを含む)に被験物質を添加し、補酵素の存在下又は非存在下において30分間37℃でプレインキュベーションした。被験物質の最終濃度は、0.1、0.2、0.4、0.5、1、2、10または50 μ Mとした。また、補酵素はNADPH生成系(3.6 mM β -NADP⁺、90 mM グルコース 6-リン酸、1 Unit/mL グルコース 6-リン酸脱水素酵素を含む60 mM MgCl₂溶液を5分間インキュベーションすることによりNADPHを生成させた溶液)を用いた。プレインキュベーション後、反応液を一部採取し、モデル基質溶液とNADPH生成系との混合により10倍に希釈した後、10分間37℃でインキュベーションした。アセトニトリルとメタノールの混合溶液(1:1, 内標準として0.05 μ M Dextrophanまたは0.05 μ M Propranololを含む)を等量添加することにより反応を終了させ、反応液中のモデル基質代謝物をLC-MS/MSで測定した。各CYP分子種のモデル基質およびモデル基質代謝物について表1に示す。対象実験として被験物質非添加時においても同様の実験を行った。対象実験におけるモデル基質代謝物の量に対する比を残存活性とした。NADPH非存在下における残存活性に対するNADPH存在下の残存活性の比を評価し、80%以下であれば“+”、80%より大きければ“-”と定義した。結果を表2に示す。

[0109] シタキセentanおよび実施例1化合物の比較結果から、ベンゾジオキソール環をフタラン環に変換することで、時間依存的阻害が減弱することが明らかとなった。

[0110]

[表1]

各 C Y P 分子種に対するモデル基質およびモデル基質代謝物

CYP 分子種	モデル基質	基質濃度 (μ M)	モデル基質代謝物
CYP1A2	Phenacetin	50	Acetaminophen
CYP2C9	Tolbutamide	500	4-Hydroxytolbutamide
CYP2C19	S-Mephenytoin	200	4'-Hydroxymephenytoin
CYP2D6	Bufuralol	50	1'-Hydroxybufuralol
CYP3A4	Midazolam	30	1'-Hydroxymidazolam

[0111] [表2]

ヒト肝ミクロソームと被験物質をプレインキュベーションしたときの
各 C Y P 活性に及ぼす影響 (平均値、n = 2)

被験物質	濃度 (uM)	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
Sitaxentan	10	—	+	+	—	+
	50	+	+	+	+	+
Example 1	10	—	—	—	—	—
	50	—	—	—	—	+

ヒト肝ミクロソームと被験物質をプレインキュベーションしたときの各 C Y P 活性に及ぼす影響 (平均値、n = 2)

[0112] 方法 2

シタキセentanおよび実施例 1 化合物について、5つの C Y P 分子種 (C Y P 1 A 2、2 C 9、2 C 1 9、2 D 6および3 A 4) に対する競合阻害に基づく阻害能を調べた。

[0113] モデル基質溶液を含む酵素液 (ヒト肝ミクロソーム (0. 2 m g / m L)、1 0 0 m M K p i、0. 1 m M E D T Aを含む) に被験物質を最終濃度が 1 または 1 0 μ M となるように添加し、N A D P H 生成系の存在下において 1 0 分間 3 7 °C でインキュベーションした。アセトニトリルとメタノー

ルの混合溶液（１：１，内標準として $0.05\ \mu\text{M}$ Dextrophan または $0.05\ \mu\text{M}$ Propranololを含む）を等量添加することにより反応を終了させ、反応液中のモデル基質代謝物をLC-MS/MSで測定した。各CYP分子種のモデル基質およびモデル基質代謝物について表３に示す。対象実験として被験物質非添加時においても同様の実験を行った。被験物質添加時および非添加時のモデル基質代謝物の量から、各被験物質濃度に対して阻害率を求め、阻害率から IC_{50} 値を算出した（算出方法はXenobiotica, 1999, 29(1), 53-75. に準ずる）。 IC_{50} 値が $1\ \mu\text{M}$ 以下であれば“++”、１から $10\ \mu\text{M}$ の範囲であれば“+”、 $10\ \mu\text{M}$ より大きければ“-”と定義した。結果を表４に示す。

[0114] シタキセンタンおよび実施例１化合物の比較結果から、ベンゾジオキソール環をフタラン環に変換することで、阻害能が減弱することが明らかとなった。

[0115] [表3]

各CYP分子種に対するモデル基質およびモデル基質代謝物

CYP分子種	モデル基質	基質濃度 (uM)	モデル基質代謝物
CYP1A2	Phenacetin	10	Acetaminophen
CYP2C9	Tolbutamide	100	4-Hydroxytolbutamide
CYP2C19	S-Mephenytoin	40	4'-Hydroxymephenytoin
CYP2D6	Bufuralol	10	1'-Hydroxybufuralol
CYP3A4	Midazolam	3	1'-Hydroxymidazolam

各CYP分子種に対するモデル基質およびモデル基質代謝物

[0116] [表4]

各CYP分子種に対する被験物質の影響（ $n = 2$ ）

被験物質	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
Sitaxentan	—	++	+	—	+
Example 1	—	++	—	—	—

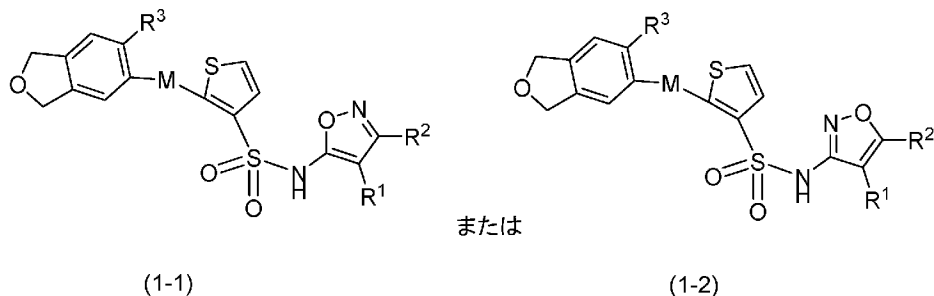
CYP2C9 inhibition% at $1\ \mu\text{M}$: sitaxentan 85%, SITA-002 71%

各CYP分子種に対する被験物質の影響（ $n = 2$ ）

請求の範囲

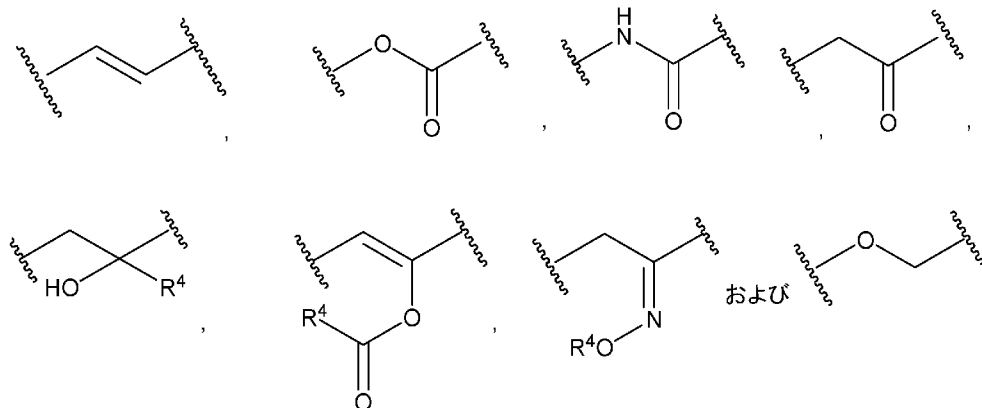
[請求項1] 式(1-1)もしくは(1-2)で表される化合物またはその薬理的に許容される塩。

[化1]



[式中、 R^1 は、ハロゲン原子、メチル基、エチル基、トリフルオロメチル基、ペンタフルオロエチル基、 n -プロピル基またはシクロプロピル基を意味し、 R^2 は、水素原子、メチル基、エチル基、トリフルオロメチル基、ペンタフルオロエチル基、 n -プロピル基またはシクロプロピル基を意味し、 R^3 は、 C_{1-6} アルキル基または C_{1-6} アルコキシ基を意味し、 M は

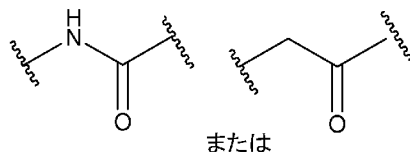
[化2]



からなる群から選択される基を意味し、式中、 R^4 は、水素原子、メチル基、またはエチル基を意味する。]

[請求項2] M が、下式

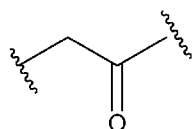
[化3]



で表される基である、請求項 1 記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩。

[請求項3] Mが、下式

[化4]



で表される基である、請求項 1 記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩。

[請求項4] R^1 が、ハロゲン原子である、請求項 1 ないし 3 いずれか 1 項記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩。

[請求項5] R^1 が、塩素原子である、請求項 4 記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩。

[請求項6] R^2 が、メチル基である、請求項 1 ないし 5 いずれか 1 項記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩。

[請求項7] R^3 が、 C_{1-6} アルキル基である、請求項 1 ないし 6 いずれか 1 項記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩。

[請求項8] R^3 が、メチル基である、請求項 7 記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩。

[請求項9] 式 (1-1) で表される化合物である、請求項 1 ないし 8 いずれか 1 項記載の化合物またはその薬理学的に許容される塩。

[請求項10] N-(4-クロロ-3-メチル-1, 2-オキサゾール-5-イル)-2-[2-(6-メチル-1, 3-ジヒドロ-2-ベンゾフラン

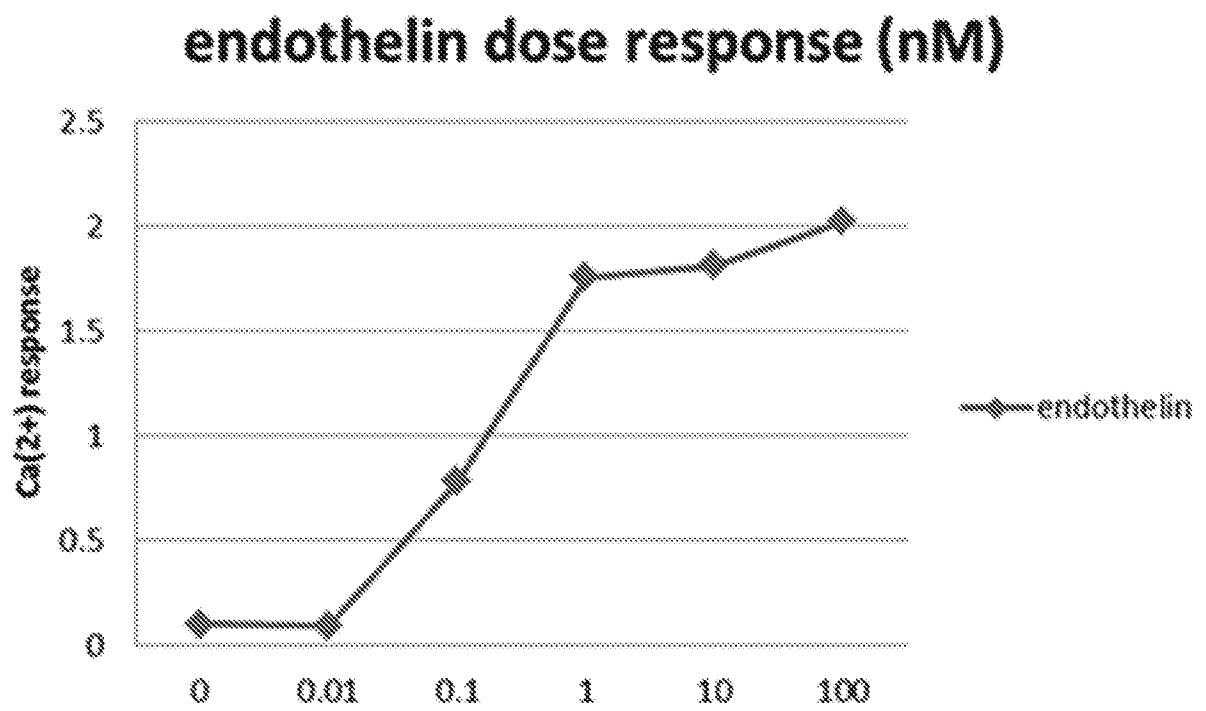
ー５－イル) アセチル] チオフェン－３－スルホナミドまたはその薬理学的に許容される塩。

[請求項11] 請求項１ないし１０いずれか１項記載の化合物またはその薬理学的に許容できる塩を含む医薬組成物。

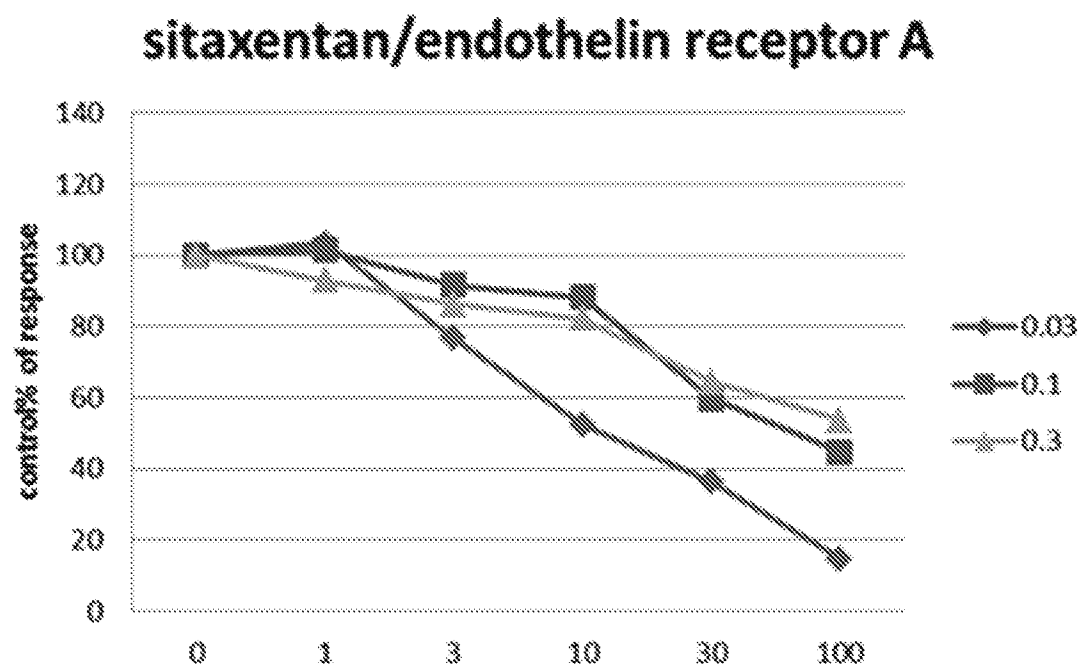
[請求項12] エンドセリン受容体アンタゴニストである、請求項１１記載の医薬組成物。

[請求項13] 肺動脈性高血圧症治療・予防剤である、請求項１１記載の医薬組成物。

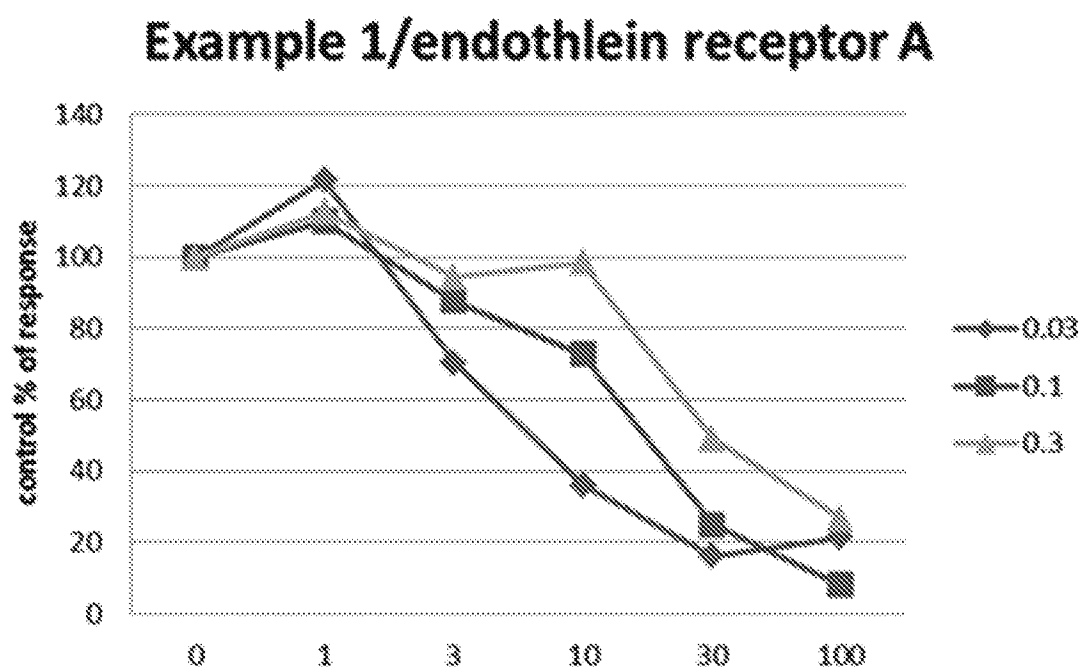
[図1]



[図2]



[図3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/051857

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D413/14(2006.01)i, A61K31/422(2006.01)i, A61P9/14(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

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)

C07D413/14, A61K31/422, A61P9/14, A61P43/00

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 practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 96/31492 A1 (TEXAS BIOTECHNOLOGY CORP.), 10 October 1996 (10.10.1996), entire text & JP 11-507015 A & US 5594021 A	1-13
A	WO 2008/124803 A1 (AUSPEX PHARMACEUTICALS, INC), 16 October 2008 (16.10.2008), entire text & JP 2010-523694 A & US 2008/0255036 A1	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
17 April, 2013 (17.04.13)

Date of mailing of the international search report
07 May, 2013 (07.05.13)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. C07D413/14(2006.01)i, A61K31/422(2006.01)i, A61P9/14(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. C07D413/14, A61K31/422, A61P9/14, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus(STN), REGISTRY(STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 96/31492 A1 (TEXAS BIOTECHNOLOGY CORPORATION) 1996.10.10, 全文 & JP 11-507015 A & US 5594021 A	1 - 1 3
A	WO 2008/124803 A1 (AUSPEX PHARMACEUTICALS, INC) 2008.10.16, 全文 & JP 2010-523694 A & US 2008/0255036 A1	1 - 1 3

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 7 . 0 4 . 2 0 1 3

国際調査報告の発送日

0 7 . 0 5 . 2 0 1 3

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

磯部 洋一郎

4 P

4 4 3 2

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 9 2