

(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2015-535225

(P2015-535225A)

(43) 公表日 平成27年12月10日 (2015. 12. 10)

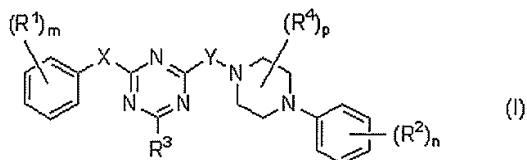
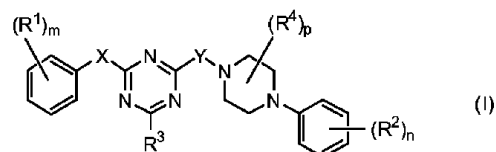
(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 D 251/48 (2006.01)	C 0 7 D 251/48	C S P 4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/53 (2006.01)	A 6 1 K 31/53	
A 6 1 P 5/00 (2006.01)	A 6 1 P 5/00	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 3/00 (2006.01)	A 6 1 P 3/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2015-538418 (P2015-538418)	(71) 出願人	514232649
(86) (22) 出願日	平成25年10月22日 (2013. 10. 22)		グルソックス・バイオテック・アーベール
(85) 翻訳文提出日	平成27年6月19日 (2015. 6. 19)		スウェーデン国 1 1 8 5 7 ストック
(86) 国際出願番号	PCT/EP2013/072098		ホルム, ハランズガタン 2 8, ケア・オブ・ヴィルケ
(87) 国際公開番号	W02014/064118	(74) 代理人	100140109
(87) 国際公開日	平成26年5月1日 (2014. 5. 1)		弁理士 小野 新次郎
(31) 優先権主張番号	12189823.3	(74) 代理人	100075270
(32) 優先日	平成24年10月24日 (2012. 10. 24)		弁理士 小林 泰
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100101373
(31) 優先権主張番号	61/717, 803		弁理士 竹内 茂雄
(32) 優先日	平成24年10月24日 (2012. 10. 24)	(74) 代理人	100118902
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 山本 修
		(74) 代理人	100135415
			弁理士 中濱 明子
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリリン酸オキシダーゼに関連する状態を処置するためのトリアジン誘導体

(57) 【要約】

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリリン酸オキシダーゼに関連する状態または障害の処置に使用するための式 (I) の化合物。



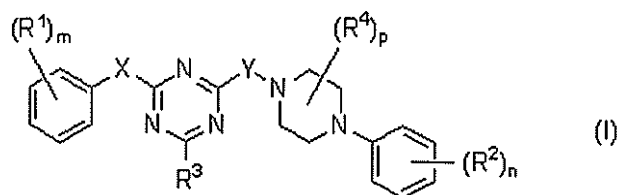
【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) の化合物

【化 1】



10

[式中 :

R^1 、 R^2 および R^3 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O(CH_2)_q$ 、 $R^5 S(CH_2)_q$ 、 $R^6 R^7 N(CH_2)_q$ 、 $CN(CH_2)_q$ 、 $C1 - C6$ アルキル、 $C2 - C6$ アルケニル、 $C2 - C6$ アルキニル、および $C3 - C6$ シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよく；

R^4 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $C1 - C6$ アルキル、 $C2 - C6$ アルケニル、 $C2 - C6$ アルキニル、および $C3 - C6$ シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよく；

20

R^5 はそれぞれ、独立して H、 $C1 - C6$ アルキル、 $C2 - C6$ アルケニル、 $C2 - C6$ アルキニル、および $C3 - C6$ シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよく；

R^6 および R^7 はそれぞれ、独立して H、 $C1 - C6$ アルキル、 $C2 - C6$ アルケニル、 $C2 - C6$ アルキニル、および $C3 - C6$ シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよく；

X は、NH、 CH_2 または $C(O)$ であり；

30

Y は、NH； CH_2 または $C(O)$ であり；

m は、0 から 5 までの整数であり；

n は、0 から 5 までの整数であり；

p は、0 から 4 までの整数であり；そして、

q は、0 から 3 までの整数である]

またはその医薬的に許容できる塩であって、

内分泌障害、心血管障害、呼吸器障害、代謝障害、皮膚障害、骨障害、神経炎症性および / または神経変性性の障害、腎疾患、生殖障害、眼および / または水晶体を冒す疾患、ならびに / あるいは内耳を冒す状態、炎症性障害、肝疾患、痛み、癌、たとえば肺癌、アレルギー性障害、外傷性障害、敗血症性、出血性およびアナフィラキシー性のショック、胃腸系の疾患または障害、血管新生、血管新生依存性状態、肺感染症、急性肺傷害、肺動脈性高血圧症、閉塞性肺障害、ならびに線維性肺疾患から選択される、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸オキシダーゼに関連する状態または障害の処置に使用するための化合物。

40

【請求項 2】

R^1 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $C1 - C6$ アルキル、 $C2 - C6$ アルケニル、 $C2 - C6$ アルキニル、および $C3 - C6$ シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい、請求項 1 に記載の化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 3】

50

R^2 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O (CH_2)_q$ 、および $R^5 S (CH_2)_q$ から選択される、請求項 1 もしくは 2 に記載の化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 4】

R^3 は $R^6 R^7 N (CH_2)_q$ である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 5】

R^6 および R^7 は両方とも H である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の化合物。

【請求項 6】

m は 0 から 2 までの整数である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 7】

n は 0 または 1 である、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 8】

p は 0 である、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 9】

X は NH である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 10】

Y は CH_2 である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 11】

R^1 はそれぞれ、独立してハロゲン、C 1 - C 6 アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよく；

R^2 はそれぞれ、独立してハロゲンおよび $R^5 O$ から選択され；

R^3 は NH_2 であり；

R^5 は C 1 - C 6 アルキルであり；

X は NH であり；

Y は CH_2 であり；

m は 0 から 2 までの整数であり；

n は 0 または 1 であり；

p は 0 である、

請求項 1 に記載の化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 12】

N^2 - (3 , 4 - ジメチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン；

N^2 - (3 - クロロ - 4 - メチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン；

6 - ((4 - フェニルピペラジン - 1 - イル) メチル) - N^2 - (p - トリル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン；

N^2 - フェニル - 6 - ((4 - フェニルピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン；および

6 - ((4 - (4 - フルオロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N^2 - フェニル - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン

から選択される、請求項 1 に記載の化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 13】

障害または状態が、糖尿病、発作および肺線維症から選択される、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 14】

療法に使用するための、

10

20

30

40

50

N^2 - (3 , 4 - ジメチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン ;

N^2 - (3 - クロロ - 4 - メチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン ;

6 - ((4 - フェニルピペラジン - 1 - イル) メチル) - N^2 - (p - トリル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン ;

N^2 - フェニル - 6 - ((4 - フェニルピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン ; および

6 - ((4 - (4 - フルオロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N^2 - フェニル - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン

10

から選択される化合物またはその医薬的に許容できる塩。

【請求項 15】

N^2 - (3 , 4 - ジメチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン ;

N^2 - (3 - クロロ - 4 - メチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン ;

6 - ((4 - フェニルピペラジン - 1 - イル) メチル) - N^2 - (p - トリル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン ;

N^2 - フェニル - 6 - ((4 - フェニルピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン ; および

20

6 - ((4 - (4 - フルオロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N^2 - フェニル - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン

から選択される化合物またはその医薬的に許容できる塩、

および所望により少なくとも 1 種類の医薬的に許容できる賦形剤を含む、医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリソ酸オキシダーゼ (Nox) に関連する状態または障害の処置に使用するためのトリアジン誘導体に関する。より具体的には、本発明は、 Nox 活性の増大により起きるかまたは推進される種々の疾患の処置に使用するための Nox 阻害剤としてのトリアジン誘導体に関する。特に、本発明は、 Nox 4 に対する選択性をもつ化合物に関する。

30

【背景技術】

【0002】

酸化ストレスの定義は、反応性酸素の形成と排出のインビボ平衡異常である。細胞または組織における正常な酸化還元状態が変化すると、細胞機構の DNA、タンパク質および脂質を含めた成分に損傷を与える可能性のある有害なラジカルが生成する可能性がある。細胞成分が遺伝子変化を引き起こす化学変化をすると、これは癌その他の重大な疾患の形成を促進すると一般に考えられてきた。

【0003】

40

酸素ラジカルの供給源 - 潜在的に酸化ストレスを引き起こす可能性のある酸素ラジカル ($O_2^{\cdot -}$ 、 H_2O_2 および OH^{\cdot}) のインビボ発生因子が多数同定されている：ミトコンドリア内の複合体 I および III、ならびに NAD (P) H オキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、シトクロム P 450、金属イオン (コバルト、バナジウム、クロム、銅および鉄)、ならびに酸化還元循環できるある種の有機化合物。

【0004】

一般的な抗酸化性物質 - 内因性の細胞性抗酸化性物質も多数ある：たとえば、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD)、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、ペルオキシレドキシソ類およびスルフィレドキシソ。食物により供給されるビタミン類も生物を有害な酸素ラジカルから保護する重要な部分とみなされ、多くの食物源中に存在する

50

重要な抗酸化性物質の最近の発見により抗酸化性物質の集積が増加した。

【 0 0 0 5 】

療法剤としての抗酸化性物質 - ある種の抗酸化性物質が疾患を予防しかつ健康を増進するのに有益となりうることはきわめて明瞭である。それよりはるかに明瞭でないのは、どのタイプの抗酸化性物質を使用できるかということである。天然食物中に存在する抗酸化性物質の多くが酸化還元活性をもつ。これらのタイプの酸化還元活性物質を単離して補助医薬として供給すれば、これは有益であるより有害な結果をもたらす可能性の方が大きい。酸素ラジカルを広範に捕捉する、抗酸化性物質の非ターゲット適用は、無効であるだけでなく有害な可能性すらあることが臨床試験により示された。これは、健常者および各種疾患を伴う患者を含めた 2 3 2 , 5 5 0 人の参加者について 6 7 のランダム化試験で行なわれた試験で示された(Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Cochrane Database Syst Rev. 2008 Jul 16; (3):CD004183. Epub 2008 Jul 16)。

10

【 0 0 0 6 】

したがって、酸化還元活性をもつ一般的な抗酸化性物質は、有害な酸化還元サイクルを仲介することによって実際には細胞損傷を付加する可能性がある。他の一般的な抗酸化性物質は、身体機能を維持するのに必要である正常な細胞インビボ活性を有害にブロックするであろう。

【 0 0 0 7 】

反応性酸素の供給源および役割 - 次第に明らかになってきたのは、炎症、2型糖尿病、糖尿病合併症、多嚢胞卵巣症候群、発作(stroke)、神経損傷状態および癌など多数の病的状態において反応性酸素の過度の産生および蓄積を引き起こすのは、ミトコンドリア内の複合体 I および I I I など一般的に酸素ラジカルを漏出しているものではなく、むしろ強力な酸素ラジカル産生因子(正常な細胞シグナル伝達系の一部)がアップレギュレートされたものであるということである。したがって、酸化的ストレスの定義は、必ずしも D N A、タンパク質および脂質を不可逆的に変化させる酸素ラジカルではなく、アップレギュレートされると“正常な”細胞シグナル伝達を次第に妨害するようになって細胞レベルで平衡異常を形成し、最終的に他の組織および全身機能を変化させる可能性のある酸素ラジカルである。これの代表例はメタボリックシンドロームであり、これはインスリン抵抗性を開始因子とする血管疾患、2型糖尿病、発作、腎障害、神経障害、心不全、および発作に関係する(Reaven, “Role of insulin resistance in human disease”, Diabetes 37(12), 1988)。インスリン抵抗性自体は、適切な受容臓器にエネルギーを選択的に貯蔵するのを指令するツールとして、正常な身体機能の一部でもある。しかし、栄養過剰、または他の障害、たとえば過度の成長ホルモン産生を伴う肢端肥大症、または o b / o b マウスの場合のような異常機能性レプチンなどの代謝変化が起きると、これはメタボリックシンドロームに関係する臓器不全の原因となる可能性のある無制御インスリン抵抗性を伴う有害な状態を誘発するであろう。無制御インスリン抵抗性の共通点は、局所的および全身的な酸素ラジカル過剰産生である(Houstis et al., Nature 440, 2006; Katakam et al., J cereb blood Flow Metab, 2012 Jan 11)。

20

30

【 0 0 0 8 】

この過剰産生について最も興味深い候補のひとつは、N A D (P) H オキシダーゼ (N o x) と呼ばれる膜貫通タンパク質(酵素)のファミリーである。同定された N o x の 7 つのファミリーメンバーがあり (N o x 1 ~ 5 および D u o x 1 ~ 2)、これらは反応性酸素の主要または鍵となる供給源として認識されることがきわめて多く、また下記を含めた多数の細胞事象において正常な細胞シグナル伝達系の一部として主要な役割も果たす：増殖(Brar et al., Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 282, 2002)、成長(Brar et al., Am J Physiol Cell Physiol, 282, 2002)、線維形成(Grewal et al., Am J Physiol, 276, 1999)、移動(Sundaresan et al., Science, 270, 1995)、アポトーシス(Lundqvist-Gustafsson et al., J Leukoc Biol, 65, 1999)、分化(Steinbeck et al., J Cell Physiol, 176, 1998)、細胞骨格再配列(Wu et al., J Virol, 78, 2004)、および収縮(Rueckelshaus et al., Exp Gerontol, 45, 2010)。

40

50

【 0 0 0 9 】

NADPHオキシダーゼと疾患 - NADPHオキシダーゼ活性低下を伴う幾つかの遺伝的状态が同定されている - Nox 2 欠損は、微生物を死滅させてその攻撃を中和するための免疫応答を低下させる (慢性肉芽腫性疾患) - 内耳における Nox 3 欠損は重力知覚を欠損させ、また甲状腺における酵素活性が欠損した二重 NAD (P) Hオキシダーゼ Duo x 2 は甲状腺機能低下を生じる。

【 0 0 1 0 】

しかし、Nox 活性増大は多数の疾患の一部であるかまたは原因ですらあることの強力な証拠を証言するはるかに大きな刊行物リストがあり、それは指数的に増加しているようにも思われる (Lambeth JD, Review Article “Nox enzymes, ROS, and chronic disease: An example of antagonistic pleiotropy”, Free Radical Biology & Medicine 43, 2007; Takac I et al., “The Nox Family of NADPH Oxidases: Friend or Foe of the Vascular System”, Curr Hypertens Rep. 2011 Nov 10; Montezano AC, “Novel Nox homologues in the vasculature: focusing on Nox4 and Nox5”, Clin Sci London 2011; Bedard K et al., “The Nox family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology” Physiol Rev. 2007; Camici M et al., “Obesity-related glomerulopathy and podocyte injury: a mini review”, Front Biosci 2012; Nabeebaccus A et al., “NADPH oxidases and cardiac remodeling” Heart Fail Rev. 2011; Kuroda J et al., “NADPH oxidase and cardiac failure” J Cardiovasc Transl Res. 2010; Kuroda J et al., “NADPH oxidase 4 is a major source of oxidative stress in the failing heart” Proc Natl Acad Sci USA 2010; Maejima Y et al., “Regulation of myocardial growth and death by NADPH oxidase” J Mol Cell Cardiol. 2011; Barnes JL et al., “Myofibroblast differentiation during fibrosis: role of NAD(P)H oxidases” Kidney international, 2011; Alison Cave “Selective targeting of NADPH oxidase for cardiovascular protection” Current Opinion in Pharmacology 2009; Albert van der Vliet “Nox enzymes in allergic airway inflammation” Biochimica et Biophysica Acta 1810, 2011; Pendyala S et al., “Redox regulation of Nox proteins” Respiratory Physiology & Neurobiology 174, 2010; Nair D et al., “Intermittent Hypoxia-Induced Cognitive Deficits Are Mediated by NADPH oxidase Activity in a Murine Model of Sleep Apnea” PLoS ONE, vol. 6, Issue 5, May 2011; Chia-Hung Hsieh et al., “NADPH oxidase Subunit 4-Mediated Reactive Oxygen species Contribute to Cycling Hypoxia-Promoted Tumor Progression in Glioblastoma Multiforme” PLoS ONE, vol 6, issue 9, September 2011; Sedeek M et al., “Molecular mechanisms of hypertension: role of nox family NADPH oxidase” Current Opinion in Nephrology and Hypertension 2009; Augusto C et al., “Novel Nox homologues in the vasculature: focusing on Nox4 and Nox5” Clinical Science 2011; Briones AM et al., “Differential regulation of Nox1, Nox2 and Nox4 in vascular smooth muscle cells from WKY and SHR” Journal of the American Society of Hypertension 5:3, 2011)。

【 0 0 1 1 】

最近、Nox 酵素、特に Nox 4 および NAD (P) H - オキシダーゼは肺線維症に高度に関与することが示された。線維症における酸化ストレスの機能は十分に認識されている (Kinnula VL, Fattman CL, Tan RJ, Oury TD (2005) Oxidative stress in pulmonary fibrosis: a possible role for redox modulatory therapy. Am J Respir Crit Care Med 172:417-422) ; 肺線維症および多臓器系における線維症の病態発生において酸化ストレスが重要な役割を果たすことを示す実質的かつ増加しつつある一連の証拠があるからである (Kuwano K, Nakashima N, Inoshima I, Hagimoto N, Fujita M, Yoshimi M, Maeyama T, Hamada N, Watanabe K, Hara N (2003) Oxidative stress in lung epithelial cells from patients with idiopathic interstitial pneumonias. Eur Respir J 21:232-240)。したがって、Nox 酵素、特に Nox 4 は、肺感染症、急性肺傷害、肺動脈性高血圧症、閉塞性肺障害、線維性肺疾患、および肺癌にも関与すると思われる。

【 0 0 1 2 】

N A D P H オキシダーゼのイソ酵素、類似性、相異および機能 - N A D P H オキシダーゼの7種類すべてのイソ酵素(同定されたもの)は、N A D P H および F A D の結合部位ならびに6つの膜貫通ドメインをもつ様式において、またそれらが2つのヘム複合体を含むという点において、類似する。すべてのN A D P H オキシダーゼ型が同じ基本的機序を使って反応性酸素を発生するが、細胞内局在性および作用様式は著しく異なる。酵素N o x ファミリーが産生する反応性酸素種は、スーパーオキシド O_2^- または過酸化水素 H_2O_2 のいずれかである。

【 0 0 1 3 】

N o x 1 および 2 は p 2 2 p h o x に構成性結合し、この酵素複合体を活性化するために、他の成分、たとえばR a c、p 4 7 p h o x、p 6 7 p h o x が、完全なN o x 1 活性に必要である。N o x 2 は、完全活性化のためにR a c、p 4 0 p h o x、p 4 7 p h o x および p 6 7 p h o x を必要とする。N o x 1 および 2 は、活性化されると O_2^- を発生する。

10

【 0 0 1 4 】

N o x 3 も活性になるためには細胞質ゾルタンパク質をアセンブルする必要がある(Cheng et al., J Biol Chem, 279(33), 2004)。

【 0 0 1 5 】

N o x 4 も p 2 2 p h o x と会合し、この形態で構成性活性である。しかし、N o x 4 活性はアセンブリーまたはリガンド活性化によってではなく発現によって調節され、これによりこのイソ型は他のイソ型と区別される(Serrander et al., Biochem J. 406, 2007)。N o x 4 は、誘導されると一般にN o x 1 および 2 より高いレベルで発現する(Ago et al., Circulation, 109, 2004)。N o x 4 は、他のN o x パリアントのような O_2^- ではなく主に H_2O_2 を発生すると思われる(Takac et al., J. Biol. Chem. 286, 2011)。これがこのイソ型をユニークなものにしている; H_2O_2 は膜を通過し、したがってきわめて短い半減期をもつ O_2^- より遠く離れた場所で作用する能力をもつからである。

20

【 0 0 1 6 】

N o x 5、D o u x 1 および D o u x 2 は Ca^{2+} によって活性化される(De Deken, Wang et al., J. Biol. Chem., 275(30), 2000)。

【 0 0 1 7 】

N o x 4 と疾患 - 他のイソ型と比較したN o x 4 の独自性は、療法ターゲットとしての独自性とも関係がある; それは過剰発現すると多種多様な疾患に関与すると思われるからである。

30

【 0 0 1 8 】

N o x 4 は、誘発されるまではきわめて低いレベルではあるけれども多くの細胞タイプに広範に発現する。しかし、それは主に腎臓、内皮細胞、外膜線維芽細胞、胎盤、平滑筋細胞、破骨細胞にみられ、また腫瘍において発現する主要なN o x である(Chamseddine et al., Am J Physiol Heart Circ Physiol. 285, 2003; Ellmark et al., Cardiovasc Res. 65, 2005; Van Buul et al., Antioxid Redox Signal. 7, 2005; Kawahara et al., BMC Evol Biol. 7, 2007; Krause et al., Jpn J Infect Dis. 57(5), 2004; Griending, Antioxid Redox Signal. 8(9), 2006)。N o x 4 は大部分の乳癌細胞系および原発性乳腺腫に過剰発現することが見出された。既にトランスフォームした乳腺腫細胞におけるN o x 4 の過剰発現は腫瘍形成性の増大を示し、N o x 4 がこの場合はミトコンドリアにおいて同定された。N o x 4 が乳癌を処置するためのターゲットとして示唆された(Graham et al., Cancer Biol Ther 10(3), 2010)。

40

【 0 0 1 9 】

N o x 4 は、脳血管内皮細胞においてT N F - α により引き起こされる酸化的ストレスおよびアポトーシスを仲介する(Basuroy et al., Am J Physiol Cell Physiol vol. 296, 2009)。虚血性発作に伴うその有害作用は、動物モデルおよびヒトの組織で十分に立証されている。N o x 4 のノックダウン実験は、神経損傷の領域を劇的に低減した(Sedwi

50

ck, PLoS Biology, vol.8 issue 9, 2010; Kleinschnitz et al., vol. 8 issue 9, 2010)。

【 0 0 2 0 】

微小血管および臍帯静脈の両方の内皮細胞におけるノックダウン試験および過剰発現試験により、Nox4 活性の増大は内皮細胞の増殖および移動に際して重要な役割を果たすことが立証された(Datla et al., Arterioscler Throm Vasc Biol. 27(11), 2007)。最初は、糖尿病における血管形成欠損にはNox2 が関与すると考えられたが、焦点はNox4 の方へよりシフトした(Zhang et al., PNAS, 107, 2010; Garriodo-Urbani et al., PLoS One 2011; Takac et al., Curr Hypertens Rep, 14, 2012)。Nox4 は、肺線維症の発症に際して上皮細胞死において鍵となる役割を果たす(Camesecchi et al., Antiox Redox Signal. 1:15(3), 2011)。

10

【 0 0 2 1 】

さらに、siRNA 仲介によるNox4 ノックダウンはNADPHオキシダーゼ活性を有意に低下させることが、メサングウム細胞および腎皮質から精製したミトコンドリアにおいて立証された。このノックダウンは、グルコース誘導によるミトコンドリアのスーパーオキシド産生をブロックした。Nox4 は糖尿病においてミトコンドリア機能異常および細胞傷害をもたらす可能性がある酸化ストレスに対する中心的なメディエーターとして作用することが示唆された(Block et al., PNAS vol. 106, no. 34, 2009)。

【 0 0 2 2 】

Nox4 はラットの食事誘発性肥満症で全身的にアップレギュレートされることも立証された(Jiang, redox rep, 16(6), 2011)。

20

【 0 0 2 3 】

Nox4 は不全性心臓の病理に強く関係づけられてきた(Nabeebaccus A et al., "NADPH oxidases and cardiac remodeling" Heart Fail Rev. 2011; Kuroda J et al., "NADPH oxidase and cardiac failure Cardiovasc Transl Res. 2010; Kuroda J et al., "NADPH oxidase 4 is a major source of oxidative stress in the failing heart" Proc Natl Acad Sci USA 2010)。ミトコンドリアNox4 活性の増大と“老化性心臓”の機能障害との関係が示唆された(Tetsuro Ago et al., AGING, December 2010, vol.2 No 12)。

【 0 0 2 4 】

細胞外マトリックス蓄積は慢性腎疾患の病理に関与する。増殖因子IGF-I 活性がこのプロセスに関与する主な因子であり、Nox4 はこのプロセスにおけるメディエーターである(New et al., Am J Physiol Cell Physiol. 302(1), 2012)。慢性的なレニン-アンギオテンシンの活性化と腎損傷システムの進行との関係が、このプロセスにおける協同作用因子としてのNox4 およびアンギオテンシンII について十分に確立されている(Chen et al., Mol Cell Biol. 2012)。

30

【 0 0 2 5 】

したがって、以上のことから、Nox酵素は生体において幾つかの機能をもち、それらは種々の障害にも関与している可能性があると思われる。そのような疾患および障害の例は、心血管障害、呼吸器障害、代謝障害、内分泌障害、皮膚障害、骨障害、神経炎症性および/または神経変性性の障害、腎疾患、生殖障害、眼および/または水晶体を冒す疾患、ならびに/あるいは内耳を冒す状態、炎症性障害、肝疾患、痛み、癌、アレルギー性障害、外傷性障害、たとえば外傷性頭部傷害、敗血症性、出血性およびアナフィラキシー性のショック、胃腸系の疾患または障害、血管新生、血管新生依存性状態である。特にNox4 がそのような障害に関与することが見出されたとも思われる。その結果、Noxを阻害しうる化合物、特にNox4 を選択的に阻害しうる化合物は、Nox酵素、特にNox4 が関与する疾患および障害の処置に使用するものとしてきわめて重要であると考えられる。

40

【 0 0 2 6 】

GenKyoTex SAからの幾つかの特許出願は、Nox阻害剤として使用するた

50

めの種々のピラゾロおよびピラゾリン誘導体に関する。たとえば、PCT出願WO 2010/035217, WO 2010/035219, WO 2010/035220, WO 2010/035221, WO 2011/036651, WO2011/101804 およびWO2011/101805は、N o x に関係する幾つかの状態および障害を記載し、その課題に関する種々の文献源に言及している。それらの出願およびそれらにおいて言及されている文献に含まれる情報を本明細書に援用する。

【0027】

本明細書中で前記に述べたように、N o x 4 は他の疾患のうち特に発作に関与する。発作は世界的に第2位の主要な死因であり、生存者はしばしば社会生活および作業遂行能力に影響する重篤な認知障害を伴う廃疾状態になる。患者および近親者の苦難に加えて、これは社会および保健システムにとっても著しい損失となる。発作患者の新たな効果的処置方法がなければ、今後45年間に発作被害者をケアする経費は米国だけで2兆2千万ドルを超えるであろう。

【0028】

発作は2つの主カテゴリーに分類される。血液供給の妨害を引き起こす虚血性のもの、および血管の破断から生じる出血性のもの。両方とも、血液供給の障害により起きる急速な脳機能損失を誘発する。虚血性発作は明らかに最も一般的な形態であって症例の87%を占め、一方、9%は脳内出血によるものであり、残り4%はクモ膜下出血によるものである。

【0029】

虚血発作の病態生理は複雑であり、患者の回復は神経組織への血液供給が欠乏していた時間の長さに依存する。3時間より長く酸素が欠乏した脳組織は、不可逆的損傷を受けるであろう。病態生理には、興奮毒性機序、炎症経路、酸化的損傷、イオン平衡異常、アポトーシス、血管新生および内因性ニューロン保護が含まれる。さらに、血流の再開によってそれまで低灌流状態であった領域に白血球が再進入すると、それらが小血管を閉塞してさらなる虚血を生じる可能性がある。

【0030】

発作を管理するための種々の方策がある：予防処置のためにリスクグループを同定する；虚血性発作後の転帰を改善するための基本である早期処置を伴う一連のケアによる発作管理の基準を設定するために、エビデンスベースド臨床研修ガイドラインを開発し、教え込み、かつ普及させる。現在承認されている2つのうち1つの治療法は、血栓溶解を誘発する組織プラスミノゲンアクチベーター（t P A）の静脈内投与であり、これにより凝血塊を除去し、脳組織への血流を復旧させることができる。他方の方法は凝血塊を機械的に除去して血液供給を復旧させるものである。他の取組み方法が初期試験中であり、若干は臨床試験中である。着目される新しい有望な療法には、神経保護剤の投与、虚血脳の冷却、および閉塞動脈を再建するためのステントの使用が含まれる。

【0031】

したがって、虚血性発作の処置方法は一般に、たとえば組織プラスミノゲンアクチベーター（t P A）の静脈内投与により血液から機械的に妨害物（凝血塊）を除去することを含む。血液からの機械的な妨害物の除去と、その前または後の神経保護剤投与との組み合わせは、脳の虚血ニューロンがアポトーシスを含めた不可逆的傷害を受けるのを防ぐのに役立つ可能性があると考えられる。しかし、現在まで、発作を効果的に処置するための神経保護剤は提供されていない。したがって、改良された発作処置、特に神経保護剤の投与によって改良された処置、好ましくは虚血脳における凝血塊の除去と組み合わせた処置に対するニーズが、依然としてあると思われる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0032】

【特許文献1】WO 2010/035217

【特許文献2】WO 2010/035219

【特許文献3】WO 2010/035220

10

20

30

40

50

- 【特許文献 4】WO 2010/035221
- 【特許文献 5】WO 2011/036651
- 【特許文献 6】WO2011/101804
- 【特許文献 7】WO2011/101805
- 【非特許文献】
- 【0 0 3 3】
- 【非特許文献 1】Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Cochrane Database Syst Rev. 2008 Jul 16; (3):CD004183. Epub 2008 Jul 16
- 【非特許文献 2】Reaven, "Role of insulin resistance in human disease", Diabetes 37(12), 1988 10
- 【非特許文献 3】Houstis et al., Nature 440, 2006
- 【非特許文献 4】Katakam et al., J cereb blood Flow Metab, 2012 Jan 11
- 【非特許文献 5】Brar et al., Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 282, 2002
- 【非特許文献 6】Brar et al., Am J Physiol Cell Physiol, 282, 2002
- 【非特許文献 7】Grewal et al., Am J Physiol, 276, 1999
- 【非特許文献 8】Sundaresan et al., Science, 270, 1995
- 【非特許文献 9】Lundqvist-Gustafsson et al., J Leukoc Biol, 65, 1999
- 【非特許文献 10】Steinbeck et al., J Cell Physiol, 176, 1998
- 【非特許文献 11】Wu et al., J Virol, 78, 2004
- 【非特許文献 12】Rueckschloss et al., Exp Gerontol, 45, 2010 20
- 【非特許文献 13】Lambeth JD, Review Article "Nox enzymes, ROS, and chronic disease: An example of antagonistic pleiotropy", Free Radical Biology & Medicine 43, 2007
- 【非特許文献 14】Takac I et al., "The Nox Family of NADPH Oxidases: Friend or Foe of the Vascular System", Curr Hypertens Rep. 2011 Nov 10
- 【非特許文献 15】Montezano AC, "Novel Nox homologues in the vasculature: focusing on Nox4 and Nox5", Clin Sci London 2011
- 【非特許文献 16】Bedard K et al., "The Nox family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology" Physiol Rev. 2007
- 【非特許文献 17】Camici M et al., "Obesity-related glomerulopathy and podocyte injury: a mini review", Front Biosci 2012 30
- 【非特許文献 18】Nabeebaccus A et al., "NADPH oxidases and cardiac remodeling" Heart Fail Rev. 2011
- 【非特許文献 19】Kuroda J et al., "NADPH oxidase and cardiac failure" J Cardiovasc Transl Res. 2010
- 【非特許文献 20】Kuroda J et al., "NADPH oxidase 4 is a major source of oxidative stress in the failing heart" Proc Natl Acad Sci USA 2010
- 【非特許文献 21】Maejima Y et al., "Regulation of myocardial growth and death by NADPH oxidase" J Mol Cell Cardiol. 2011
- 【非特許文献 22】Barnes JL et al., "Myofibroblast differentiation during fibrosis: role of NAD(P)H oxidases" Kidney international, 2011 40
- 【非特許文献 23】Alison Cave "Selective targeting of NADPH oxidase for cardiovascular protection" Current Opinion in Pharmacology 2009
- 【非特許文献 24】Albert van der Vliet "Nox enzymes in allergic airway inflammation" Biochimica et Biophysica Acta 1810, 2011
- 【非特許文献 25】Pendyala S et al., "Redox regulation of Nox proteins" Respiratory Physiology & Neurobiology 174, 2010
- 【非特許文献 26】Nair D et al., "Intermittent Hypoxia-Induced Cognitive Deficits Are Mediated by NADPH oxidase Activity in a Murine Model of Sleep Apnea" PLoS ONE, vol. 6, Issue 5, May 2011 50

- 【非特許文献 2 7】Chia-Hung Hsieh et al., “NADPH oxidase Subunit 4-Mediated Reactive Oxygen species Contribute to Cycling Hypoxia-Promoted Tumor Progression in Glioblastoma Multiforme” PloS ONE, vol 6, issue 9, September 2011
- 【非特許文献 2 8】Sedeek M et al., “Molecular mechanisms of hypertension: role of nox family NADPH oxidase” Current Opinion in Nephrology and Hypertension 2009
- 【非特許文献 2 9】Augusto C et al., “Novel Nox homologues in the vasculature: focusing on Nox4 and Nox5” Clinical Science 2011
- 【非特許文献 3 0】Briones AM et al., “Differential regulation of Nox1, Nox2 and Nox4 in vascular smooth muscle cells from WKY and SHR” Journal of the American Society of Hypertension 5:3, 2011 10
- 【非特許文献 3 1】Kinnula VL, Fattman CL, Tan RJ, Oury TD (2005) Oxidative stress in pulmonary fibrosis: a possible role for redox modulatory therapy. Am J Respir Crit Care Med 172:417-422
- 【非特許文献 3 2】Kuwano K, Nakashima N, Inoshima I, Hagimoto N, Fujita M, Yoshimi M, Maeyama T, Hamada N, Watanabe K, Hara N (2003) Oxidative stress in lung epithelial cells from patients with idiopathic interstitial pneumonias. Eur Respir J 21:232-240
- 【非特許文献 3 3】Cheng et al., J Biol Chem, 279(33), 2004
- 【非特許文献 3 4】Serrander et al., Biochem J. 406, 2007 20
- 【非特許文献 3 5】Ago et al., Circulation, 109, 2004
- 【非特許文献 3 6】Takac et al., J. Biol. Chem. 286, 2011
- 【非特許文献 3 7】De Deken, Wang et al., J.Biol Chem., 275(30), 2000
- 【非特許文献 3 8】Chamseddine et al., Am J Physiol Heart Circ Physiol. 285, 2003
- 【非特許文献 3 9】Ellmark et al., Cardiovasc Res. 65, 2005
- 【非特許文献 4 0】Van Buul et al., Antioxid Redox Signal. 7, 2005
- 【非特許文献 4 1】Kawahara et al., BMC Evol Biol. 7, 2007
- 【非特許文献 4 2】Krause et al., Jpn J Infect Dis. 57(5), 2004
- 【非特許文献 4 3】Griendling, Antioxid Redox Signal. 8(9), 2006
- 【非特許文献 4 4】Graham et al., Cancer Biol Ther 10(3), 2010 30
- 【非特許文献 4 5】Basuroy et al., Am J Physiol Cell Physiol vol. 296, 2009
- 【非特許文献 4 6】Sedwick, PLoS Biology, vol.8 issue 9, 2010
- 【非特許文献 4 7】Kleinschnitz et al., vol. 8 issue 9, 2010
- 【非特許文献 4 8】Datta et al., Arterioscler Throm Vasc Biol. 27(11), 2007
- 【非特許文献 4 9】Zhang et al., PNAS, 107, 2010
- 【非特許文献 5 0】Garriodo-Urbani et al., Plos One 2011
- 【非特許文献 5 1】Takac et al., Curr Hypertens Rep, 14, 2012
- 【非特許文献 5 2】Camesecchi et al., Antiox Redox Signal. 1:15(3), 2011
- 【非特許文献 5 3】Block et al., PNAS vol. 106, no. 34, 2009
- 【非特許文献 5 4】Jiang, redox rep, 16(6), 2011 40
- 【非特許文献 5 5】Tetsuro Ago et al., AGING, December 2010, vol.2 No 12
- 【非特許文献 5 6】New et al., Am J Physiol Cell Physiol. 302(1), 2012
- 【非特許文献 5 7】Chen et al., Mol Cell Biol. 2012

【発明の概要】

【0034】

1 観点によれば、療法に使用するための、Nox 阻害剤である化合物が提供される。より具体的には、療法に使用するための、Nox 4 阻害剤である化合物が提供される。他の観点によれば、Nox 活性の増大、より具体的には Nox 4 活性の増大に関連する（たとえば、それに起因するかまたはそれにより推進される）疾患の処置に有効な化合物が提供される。

【 0 0 3 5 】

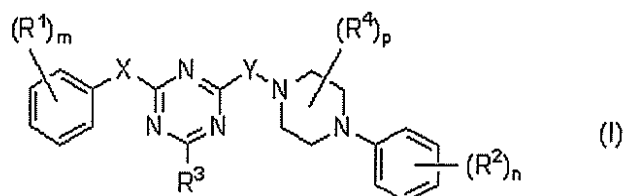
さらなる観点によれば、N o x 活性の増大、より具体的にはN o x 4 活性の増大に関連する障害の処置に使用するための、N o x 阻害剤、より具体的にはN o x 4 阻害剤である化合物が提供される。

【 0 0 3 6 】

したがって、本発明によれば、N o x、好ましくはN o x 4 に関連する状態または障害の処置に使用するための、式 (I) の化合物が提供される：

【 0 0 3 7 】

【 化 1 】



10

【 0 0 3 8 】

[式中：

R¹、R² および R³ はそれぞれ、独立してハロゲン、R⁵ O (C H₂)_q、R⁵ S (C H₂)_q、R⁶ R⁷ N (C H₂)_q、C N (C H₂)_q、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、および C 3 - C 6 シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよく；

20

R⁴ はそれぞれ、独立してハロゲン、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、および C 3 - C 6 シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよく；

R⁵ はそれぞれ、独立して H、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、および C 3 - C 6 シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよく；

30

R⁶ および R⁷ はそれぞれ、独立して H、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、および C 3 - C 6 シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよく；

X は、N H、C H₂ または C (O) であり；

Y は、N H；C H₂ または C (O) であり；

m は、0 から 5 までの整数であり；

n は、0 から 5 までの整数であり；

p は、0 から 4 までの整数であり；

q は、0 から 3 までの整数である]

40

またはその医薬的に許容できる塩。

【 0 0 3 9 】

そのような状態または障害の例は、本明細書中で前記に述べた N o x に関連するかまたはそれにより仲介されるもの、たとえば下記のものから選択される状態または障害である：心血管障害、内分泌障害、呼吸器障害、代謝障害、皮膚障害、骨障害、神経炎症性および / または神経変性性の障害、腎疾患、生殖障害、内分泌障害、眼および / または水晶体を冒す疾患、ならびに / あるいは内耳を冒す状態、炎症性障害、肝疾患、痛み、癌、たとえば肺癌、アレルギー性障害、外傷性障害、敗血症性、出血性およびアナフィラキシー性のショック、胃腸系の疾患または障害、血管新生、血管新生依存性状態、ならびに肺感染

50

症、急性肺傷害、肺動脈性高血圧症、閉塞性肺障害、線維性肺疾患、ならびに肺癌。

【 0 0 4 0 】

1 観点によれば、その必要がある哺乳動物において、その哺乳動物に本明細書中で前記に定める式 (I) の化合物を投与することにより、N o x、特にN o x 4 の活性を阻害する方法が提供される。

【 0 0 4 1 】

1 観点によれば、本発明化合物は、発作、たとえば虚血性発作の処置に際して神経保護剤として使用するためのものである。

【 0 0 4 2 】

1 観点によれば、本明細書中に述べる障害の処置に用いる医薬を製造するための、本明細書中で定める化合物の使用が提供される。

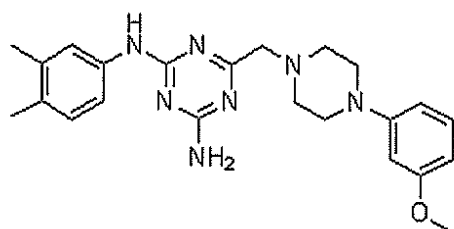
10

【 0 0 4 3 】

1 観点によれば、療法に使用するための、下記のものから選択される化合物が提供される：

【 0 0 4 4 】

【 化 2 】



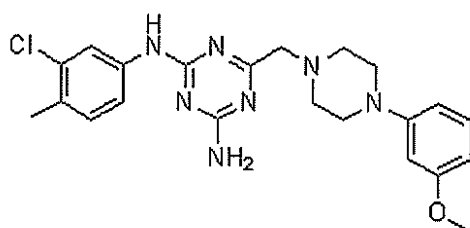
20

【 0 0 4 5 】

N² - (3 , 4 - ジメチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン

【 0 0 4 6 】

【 化 3 】



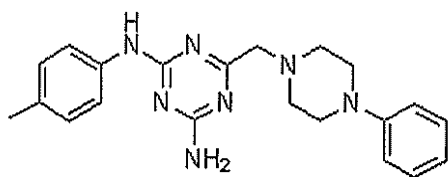
30

【 0 0 4 7 】

N² - (3 - クロロ - 4 - メチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン

【 0 0 4 8 】

【 化 4 】



40

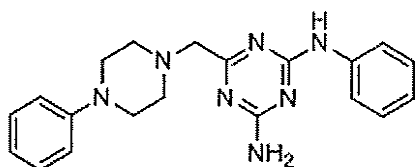
【 0 0 4 9 】

6 - ((4 - フェニルピペラジン - 1 - イル) メチル) - N² - (p - トリル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン

【 0 0 5 0 】

50

【化 5】



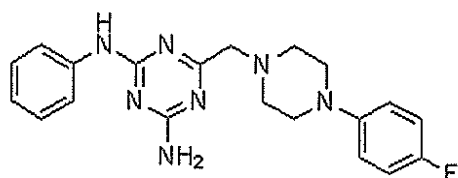
【0051】

N²-フェニル-6-((4-フェニルピペラジン-1-イル)メチル)-1,3,5-
-トリアジン-2,4-ジアミン

10

【0052】

【化 6】



【0053】

6-((4-(4-フルオロフェニル)ピペラジン-1-イル)メチル)-N²-フェ
ニル-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン

20

またはその医薬的に許容できる塩。

【0054】

他の観点において、

N²-(3,4-ジメチルフェニル)-6-((4-(3-メトキシフェニル)ピペラ
ジン-1-イル)メチル)-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン；

N²-(3-クロロ-4-メチルフェニル)-6-((4-(3-メトキシフェニル)
ピペラジン-1-イル)メチル)-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン；

6-((4-フェニルピペラジン-1-イル)メチル)-N²-(p-トリル)-1,
3,5-トリアジン-2,4-ジアミン；

30

N²-フェニル-6-((4-フェニルピペラジン-1-イル)メチル)-1,3,5-
-トリアジン-2,4-ジアミン；もしくは

6-((4-(4-フルオロフェニル)ピペラジン-1-イル)メチル)-N²-フェ
ニル-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン

またはその医薬的に許容できる塩、および所望により少なくとも1種類の医薬的に許容で
きる賦形剤を含む、医薬組成物が提供される。

【図面の簡単な説明】

【0055】

【図 1】図 1 は、4 種類の異なる本発明化合物について、被験化合物の 200 μM 溶液の
1:3 系列希釈により得られた 11 種類の濃度での、Nox4 トランスフェクションした
Trex-293 細胞における用量応答曲線を示す：A) N²-(3,4-ジメチルフェ
ニル)-6-((4-(3-メトキシフェニル)ピペラジン-1-イル)メチル)-1,
3,5-トリアジン-2,4-ジアミン、B) N²-(3-クロロ-4-メチルフェニル)
)-6-((4-(3-メトキシフェニル)ピペラジン-1-イル)メチル)-1,3,
5-トリアジン-2,4-ジアミン、C) 6-((4-フェニルピペラジン-1-イル)
メチル)-N²-(p-トリル)-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン、D) N²-
フェニル-6-((4-フェニルピペラジン-1-イル)メチル)-1,3,5-ト
リアジン-2,4-ジアミン、および E) 6-((4-(4-フルオロフェニル)ピペラ
ジン-1-イル)メチル)-N²-フェニル-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミ
ン。

40

50

【図 2】図 2 は、それぞれ N^2 - (3 , 4 - ジメチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 , 4 - ジアミン (M 4) またはビヒクル (対照) の腹腔内注射により処置した発作誘発マウスからの脳における平均梗塞体積 (mm^3) を示す棒グラフである。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 5 6 】

発明の詳細な説明

一般に、本明細書中で用いる用語はいずれも、本発明が属する技術分野で受け入れられているその普通の意味をもつはずである。しかし、明瞭にするために、以下に若干の定義を示し、そうではないことが明記されない限り、または状況から明らかでない限り、それらを本明細書および特許請求の範囲の全体に適用する。

10

【 0 0 5 7 】

用語“内分泌障害”は、内分泌系の障害を表わし、内分泌腺の分泌減退および分泌過多、または内分泌腺の腫瘍であってもよい。糖尿病および多嚢胞卵巣症候群は内分泌障害の例である。

【 0 0 5 8 】

用語“心血管障害または疾患”は、アテローム性硬化症、特に内皮機能障害に関連する疾患または障害を含み、これには下記のものが含まれるが、それらに限定されない：高血圧症、I 型または II 型糖尿病の心血管合併症、内膜過形成、冠動脈性心疾患、脳、冠動脈または動脈の血管攣縮、内皮機能障害、うっ血性心不全を含む心不全、末梢動脈疾患、再狭窄、ステントにより起きた外傷、発作、虚血性発作、臓器移植後などの血管合併症、心筋梗塞、高血圧症、アテローム硬化斑の形成、血小板凝集、狭心症、動脈瘤、大動脈剥離、虚血性心疾患、心肥大、肺塞栓症、深部静脈血栓症を含む血栓性事象、下記に際して虚血後に血流または酸素送達の復旧により起きた傷害：臓器移植、開心術、血管形成術、出血性ショック、心臓、脳、肝臓、腎臓、網膜および腸を含めた虚血臓器の血管形成術。

20

【 0 0 5 9 】

用語“呼吸器障害または疾患”は、気管支喘息、気管支炎、アレルギー性鼻炎、成人呼吸器症候群、嚢胞性線維症、肺ウイルス感染症（インフルエンザ）、肺高血圧症、特発性肺線維症、および慢性閉塞性肺疾患（COPD）を含む。

【 0 0 6 0 】

30

用語“アレルギー性障害”は、枯草熱および喘息を含む。

【 0 0 6 1 】

用語“外傷性障害(traumatism)”は、多発性外傷性障害(polytraumatism)を含む。

【 0 0 6 2 】

用語“代謝に影響を及ぼす疾患または障害”は、肥満症、メタボリックシンドロームおよび II 型糖尿病を含む。

【 0 0 6 3 】

用語“皮膚疾患または障害”は、乾癬、湿疹、皮膚炎、創傷癒合および瘢痕形成を含む。

【 0 0 6 4 】

40

用語“骨障害”は、骨粗鬆症、オステオポラシス(osteoporosis)、骨硬化症、歯周炎、および副甲状腺機能亢進症を含む。

【 0 0 6 5 】

用語“神経変性性疾患または障害”は、特にニューロンのレベルでの中枢神経系（CNS）の変性または変化を特徴とする疾患または状態、たとえばアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症、てんかん、および筋ジストロフィーを含む。それはさらに神経炎症性および脱髄性の状態または疾患、たとえば白質脳症および白質ジストロフィーを含む。

【 0 0 6 6 】

用語“脱髄性”は、軸索周囲のミエリンの破壊を含む CNS の状態または疾患を表わす

50

。本発明に関して、脱髄性疾患という用語は、細胞を脱髄するプロセスを含む状態、たとえば多発性硬化症、進行性多病巣性白質脳症（PML）、脊髄障害、CNS内の自己反応性白血球が関与するいずれかの神経炎症状態、先天性代謝障害、異常な髄鞘形成を伴う神経障害、薬物誘発性脱髄、放射線照射誘発性脱髄、遺伝性脱髄状態、プリオン誘発性脱髄状態、脳炎誘発性脱髄、または脊髄傷害を含むものとする。好ましくは、この状態は多発性硬化症である。

【0067】

用語“腎疾患または障害”は、糖尿病性腎障害、腎不全、腎炎、アミノグリコシドおよび白金化合物の腎毒性、ならびに過活動膀胱を含む。特定の態様において、本発明によるこの用語は、慢性腎疾患または障害を含む。

10

【0068】

用語“生殖障害または疾患”は、勃起機能障害、受精能障害、前立腺肥大、および良性前立腺肥大を含む。

【0069】

用語“眼および/または水晶体を冒す疾患または障害”は、糖尿病性白内障を含めた白内障、白内障手術後の水晶体の再混濁化、糖尿病性その他の形態の網膜障害を含む。

【0070】

用語“内耳を冒す状態”は、老人性難聴、耳鳴り、メニエール病その他の平衡障害、卵形嚢結石症(utriculolithiasis)、前庭性片頭痛、ならびに騒音誘発性難聴および薬物誘発性難聴（聴器毒性）を含む。

20

【0071】

用語“炎症性障害または疾患”は、下記のことを意味する：炎症性腸疾患、敗血症、敗血症性ショック、成人呼吸窮迫症候群、膵臓炎、外傷により誘発されたショック、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、リウマチ様関節炎、慢性リウマチ様関節炎、動脈硬化症、脳内出血、脳梗塞、心不全、心筋梗塞、乾癬、嚢胞性線維症、発作、急性気管支炎、慢性気管支炎、急性細気管支炎、慢性細気管支炎、骨関節炎、痛風、脊髄炎、強直性脊椎炎、ロイター(Reuter)症候群、乾癬性関節炎、脊椎関節炎、若年性関節炎または若年性強直性脊椎炎、反応性関節炎、感染性関節炎または感染後関節炎、淋菌性関節炎、梅毒性関節炎、ライム病、“血管炎症候群”により誘発された関節炎、多発性結節性動脈炎、アナフィラキシー性血管炎、リューゲネク(Luegenec)肉芽腫症、リウマチ様多発筋痛症、関節細胞リウマチ、カルシウム結晶沈着性関節炎、偽性痛風、非関節性リウマチ、滑液嚢炎、腱滑膜炎、外上顆炎（テニス肘）、手根管圧迫症候群、反復使用（タイピング）による障害、混合型関節炎、神経障害性関節障害、出血性関節炎、血管紫斑病、肥厚性骨関節症、多中心性細網内皮系組織球症、特定の疾患により誘発された関節炎、血液色素沈着、鎌状赤血球病その他のヘモグロビン異常、高リポ蛋白血症、異ガンマグロブリン血症、副甲状腺機能亢進症、肢端肥大症、家族性地中海熱、ベーチェット病、全身性自己免疫疾患、紅斑性狼瘡、多発性硬化症およびクローン病、または再発性多発性軟骨炎などの疾患、慢性炎症性腸疾患（IBD）、あるいはNADPHオキシダーゼを阻害するのに十分な用量で療法有効量の式（I）により表わされる化合物を哺乳動物に投与する必要がある関連疾患。

30

【0072】

用語“肝疾患または障害”は、肝臓の線維症、アルコール誘発性線維症、脂肪症および非アルコール性脂肪肝炎を含む。

40

【0073】

用語“関節炎”は、下記のことを意味する：急性リウマチ性関節炎、慢性リウマチ様関節炎、クラミジア関節炎、慢性吸収性関節炎(absorptive arthritis)、乳糜（び）関節炎(anchylosed arthritis)、腸疾患に起因する関節炎、フィラリア性関節炎、淋菌性関節炎、痛風性関節炎、血友病性関節炎、肥厚性関節炎、若年性慢性関節炎、ライム関節炎、新生子ウマ関節炎(neonatal foal arthritis)、結節性関節炎、アルカプトン尿性関節炎、乾癬性関節炎または化膿性関節炎、あるいはNADPHオキシダーゼを阻害するのに十分な用量で療法有効量の式（I）により表わされる化合物を哺乳動物に投与する必要がある

50

関連疾患。

【0074】

用語“痛み”は、炎症性疼痛に関連する痛覚過敏症を含む。

【0075】

用語“癌”は、下記のことを意味する：癌腫（たとえば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮細胞肉腫、骨膜腫、中皮腫、ユーイング腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、大腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、腎癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、肺腺癌、膀胱癌、または上皮癌）、またはNADPHオキシダーゼを阻害するのに十分な用量で療法有効量の式（I）により表わされる化合物を哺乳動物に投与する必要がある関連疾患。

10

【0076】

用語“胃腸系の疾患または障害”は、胃粘膜障害、虚血性腸疾患管理、腸炎／大腸炎、癌化学療法、または好中球減少症を含む。

【0077】

用語“血管新生(angiogenesis)”は、発芽血管新生(sprouting angiogenesis)、嵌入血管新生(intussusceptive angiogenesis)、血管形成(vasculogenesis)、動脈形成、およびリンパ管形成を含む。血管新生は、既存の毛細管または後毛細管細静脈からの新たな血管の形成であり、癌、関節炎および炎症などの病的状態で起きる。血管新生刺激に際して血管が侵入できる皮膚、筋肉、腸、結合組織、関節、骨などの組織を含めた多種多様な組織または組織化された組織からなる臓器が、疾患状態における血管新生を支持することができる。本明細書中で用いる用語“血管新生依存性状態”は、血管新生または血管形成のプロセスが病的状態を持続または補足する状態を意味するものとする。血管形成は、内皮細胞前駆体である血管芽細胞から生じる新たな血管の形成の結果である。両プロセスとも結果的に新たな血管を形成し、血管新生依存性状態という用語の意味に含まれる。同様に、本明細書中で用いる用語“血管新生”は、デノボ血管形成、たとえば血管形成から生じるもの、ならびに既存の血管、毛細管および細静脈の分枝および発芽から生じるものを含むものとする。

20

30

【0078】

用語“血管新生阻害性”は、それが新生血管形成(neovascularization)の程度、量または速度を低下させるのに有効であることを意味する。組織における内皮細胞の増殖または移動の程度、量または速度の低下を生じさせることは、血管新生阻害の具体例である。血管新生阻害活性はいずれの癌の処置にも特に有用である；それは腫瘍増殖プロセスをターゲットとし、腫瘍組織の新生血管形成がなければその腫瘍組織は必要な栄養素が得られず、増殖速度が低下し、それ以上の増殖が停止し、退縮し、最終的に壊死状態になり、結果的に腫瘍が死滅するからである。さらに、血管新生阻害活性は転移形成に対して特に有効であるので、いずれの癌の処置にも特に有用である；転移形成も転移癌細胞が原発性腫瘍から進出できるように原発性腫瘍の血管形成を必要とし、かつ続発部位でのそれらの樹立には転移の増殖を支持するための新生血管形成が必要だからである。

40

【0079】

本明細書中で用いる“処置(treatmentおよびtreating)”などは、一般に、希望する薬理学的および生理学的効果を得ることを意味する。この効果は、疾患、その症状または状態を阻止または部分的に防止するという点で予防的であってもよく、ならびに／あるいは疾患、その疾患に起因する状態、症状、または有害作用を部分的または完全に治癒させるという点で治療的であってもよい。本明細書中で用いる用語“処置”は、哺乳動物、特にヒトにおける疾患の何らかの処置を含み、それには下記のものが含まれる：(a)疾患に対する素因をもつ可能性があるけれどもまだそれを伴うと診断されていない対象において、その疾患が発症するのを防止する；(b)疾患を阻害する、すなわちその進展を阻

50

止する；あるいは疾患を軽減する、すなわち疾患および／またはその症状または状態を退行させる。

【0080】

本明細書中で用いる用語“対象”は、哺乳動物を表わす。たとえば、本発明により考慮される哺乳動物には、ヒト、霊長類、家畜、たとえばウシ、ヒツジ、ブタ、ウマなどが含まれる。

【0081】

“有効量”は、処置された対象に療法効果を与える化合物量を表わす。療法効果は客観的（すなわち、ある検査またはマーカーにより測定可能）または主観的（すなわち、対象が効果を指摘するか、または感じる）であってよい。

10

【0082】

本発明に関して用いる用語“阻害剤”は、Nox、特にNox4の活性を完全もしくは部分的に阻害し、および／または反応性酸素種（ROS）の発生を阻害もしくは低減する分子と定義される。

【0083】

“医薬的に許容できる”は、一般に安全、無毒性であって生物学的にも他の形でも不都合でない医薬組成物の調製に有用であることを意味し、動物用およびヒトの医薬用として有用であることを含む。

【0084】

用語C_n（nは整数である）は、ある基または部分がn個の炭素原子を含むことを明記する。用語C_n-C_m（mおよびnは両方とも整数であり、m>nである）は、n、n+1、n+2、・・・またはm個の炭素原子を含む基または部分を表わす。したがって、用語C₁-C₆アルキルは、1、2、3、4、5または6個の炭素原子を含むことができるアルキル基を表わす。用語C₀アルキルは、共有結合を表わす。

20

【0085】

本発明によるアルキル部分は、分枝状または線状であってもよく、たとえばメチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、i-ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、2-メチルブチル、2,2-ジメチルプロピル、n-ヘキシル、2-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2,2-ジメチルブチル、および2,3-ジメチルブチルから選択される。

30

【0086】

本発明によるC₁-C₆アルキルは、より特別にはC₁-C₅アルキルから、たとえばC₁-C₄アルキルから、C₁-C₃アルキルから、C₁-C₂アルキルから、またはメチルから選択できる。

【0087】

用語“C₂-C₆アルケニル”は、鎖中に2～6個の炭素原子をもつ直鎖または分枝鎖アルケニルを表わし、それはいずれか可能な個数の二重結合をいずれか可能な位置にもつことができる。二重結合の立体配置は（E）または（Z）であってよい。例は、ビニル、アリル、イソプロペニル、1-プロペニル、2-メチル-1-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、2-エチル-1-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、3-ペンテニル、4-ペンテニル、4-メチル-3-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、および5-ヘキセニルである。本発明によるC₂-C₆アルケニルは、より特別にはC₂-C₄アルケニルまたはC₂-C₃アルケニルであってもよい。

40

【0088】

用語“C₂-C₆アルキニル”は、鎖中に2～6個の炭素原子をもつ直鎖または分枝鎖アルキニルを表わし、それはいずれか可能な個数の三重結合をいずれか可能な位置にもつことができる。例は、エチニル、1-プロピニル、2-プロピニル、2-ブチニル、および2-ペンテン-4-イニルである。本発明によるC₂-C₆アルキニルは、より特別にはC₂-C₄アルキニルまたはC₂-C₃アルキニルであってもよい。

50

【 0 0 8 9 】

用語“C 3 - C 6 シクロアルキル”は、3 ~ 6 個の環炭素原子をもつ環状アルキル基、たとえばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルまたはシクロヘキシルを表わす。

【 0 0 9 0 】

“少なくとも1個のハロゲンで置換された”とは、少なくとも1個の水素がハロゲン、たとえばFで置換されていることを意味する。少なくとも1個のハロゲンで置換されたアルキルの例は、トリフルオロメチルである。

【 0 0 9 1 】

別に明記しない限り、本明細書中で用いる用語“ハロゲン”(または“ハロ”)は、フッ素(F)、塩素(Cl)、臭素(Br)またはヨウ素(I)を意味する。本発明によるいずれかのハロゲンは、より特別にはFおよびClから選択できる。

10

【 0 0 9 2 】

本明細書に提示される式(I)の化合物において、 R^1 、 R^2 および R^3 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O(CH_2)_q$ 、 $R^5 S(CH_2)_q$ 、 $R^6 R^7 N(CH_2)_q$ 、 $CN(CH_2)_q$ 、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、およびC 3 - C 6 シクロアルキルから選択され、それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも1個のハロゲンで置換されていてもよい。

20

【 0 0 9 3 】

若干の態様において、 R^1 、 R^2 および R^3 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O(CH_2)_q$ 、 $R^5 S(CH_2)_q$ 、 $R^6 R^7 N(CH_2)_q$ 、およびC 1 - C 6 アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも1個のハロゲンで置換されていてもよい。

【 0 0 9 4 】

若干の他の態様において、 R^1 、 R^2 および R^3 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O(CH_2)_q$ 、 $R^6 R^7 N(CH_2)_q$ 、およびC 1 - C 6 アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも1個のハロゲンで置換されていてもよい。

【 0 0 9 5 】

本明細書中で前記に述べたように、 R^1 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O(CH_2)_q$ 、 $R^5 S(CH_2)_q$ 、 $R^6 R^7 N(CH_2)_q$ 、 $CN(CH_2)_q$ 、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、およびC 3 - C 6 シクロアルキルから選択され、それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも1個のハロゲンで置換されていてもよい。

30

【 0 0 9 6 】

若干の態様において、 R^1 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O(CH_2)_q$ 、 $R^5 S(CH_2)_q$ 、 $CN(CH_2)_q$ 、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、およびC 3 - C 6 シクロアルキルから選択され、それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも1個のハロゲンで置換されていてもよい。

40

【 0 0 9 7 】

若干の他の態様において、 R^1 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O(CH_2)_q$ 、 $R^5 S(CH_2)_q$ 、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、およびC 3 - C 6 シクロアルキルから選択され、それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも1個のハロゲンで置換されていてもよい。

【 0 0 9 8 】

さらに他の態様において、 R^1 はそれぞれ、独立してハロゲン、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、およびC 3 - C 6 シクロアルキルから選択され、それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により

50

少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0099】

若干の特定の態様において、 R^1 はそれぞれ、独立してハロゲンおよび C 1 - C 6 アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0100】

若干の態様において、 R^1 はそれぞれ、独立して C 1 - C 6 アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0101】

若干の態様において、 R^1 はそれぞれ、独立してハロゲンから選択される。

10

【0102】

前記態様のいずれかにおいて、 R^1 がハロゲンである場合、それは F および Cl から選択でき、特に R^1 は Cl であってもよい。

【0103】

本明細書中で前記に述べたように、 R^2 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O (CH_2)_q$ 、 $R^5 S (CH_2)_q$ 、 $R^6 R^7 N (CH_2)_q$ 、 $CN (CH_2)_q$ 、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、および C 3 - C 6 シクロアルキルから選択され、それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0104】

20

若干の態様において、 R^2 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O (CH_2)_q$ 、 $R^5 S (CH_2)_q$ 、 $CN (CH_2)_q$ 、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、および C 3 - C 6 シクロアルキルから選択され、それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0105】

若干の態様において、 R^2 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O (CH_2)_q$ 、 $R^5 S (CH_2)_q$ 、C 1 - C 6 アルキル、C 2 - C 6 アルケニル、C 2 - C 6 アルキニル、および C 3 - C 6 シクロアルキルから選択され、それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

30

【0106】

さらに他の態様において、 R^2 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O (CH_2)_q$ 、 $R^5 S (CH_2)_q$ 、および C 1 - C 6 アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0107】

さらなる態様において、 R^2 はそれぞれ、独立してハロゲン、 $R^5 O (CH_2)_q$ 、および $R^5 S (CH_2)_q$ から選択される。

【0108】

若干の態様において、 R^2 はそれぞれ、独立して $R^5 O (CH_2)_q$ 、および $R^5 S (CH_2)_q$ から選択される。

40

【0109】

若干の他の態様において、 R^2 はそれぞれ、独立してハロゲンおよび $R^5 O (CH_2)_q$ から選択される。

【0110】

若干の態様において、 R^2 はそれぞれ、独立して $R^5 O (CH_2)_q$ から選択される。

【0111】

若干の他の態様において、 R^2 はそれぞれ、独立してハロゲンから選択される。

【0112】

本明細書中で前記に述べたように、 R^3 は、独立してハロゲン、 $R^5 O (CH_2)_q$ 、

50

$R^5 S(CH_2)_q$ 、 $R^6 R^7 N(CH_2)_q$ 、 $CN(CH_2)_q$ 、 $C1 - C6$ アルキル、 $C2 - C6$ アルケニル、 $C2 - C6$ アルキニル、および $C3 - C6$ シクロアルキルから選択され、それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0113】

若干の態様において、 R^3 は、独立してハロゲン、 $R^5 O(CH_2)_q$ 、 $R^5 S(CH_2)_q$ 、 $R^6 R^7 N(CH_2)_q$ 、 $CN(CH_2)_q$ 、 $C1 - C6$ アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0114】

若干の他の態様において、 R^3 は $R^6 R^7 N(CH_2)_q$ である。

10

【0115】

式 (I) の化合物において、 R^4 はそれぞれ、独立してハロゲン、たとえば F、 $C1 - C6$ アルキル、 $C2 - C6$ アルケニル、 $C2 - C6$ アルキニル、および $C3 - C6$ シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0116】

若干の態様において、 R^4 はそれぞれ、独立してハロゲン、たとえば F、および $C1 - C6$ アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

20

【0117】

式 (I) の化合物において、 R^5 が存在する場合、それは独立して H、 $C1 - C6$ アルキル、 $C2 - C6$ アルケニル、 $C2 - C6$ アルキニル、および $C3 - C6$ シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0118】

若干の態様において、 R^5 が存在する場合、それは独立して $C1 - C6$ アルキル、 $C2 - C6$ アルケニル、 $C2 - C6$ アルキニル、および $C3 - C6$ シクロアルキルから選択され、それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

30

【0119】

若干の態様において、 R^5 が存在する場合、それは独立して H および $C1 - C6$ アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0120】

若干の態様において、 R^5 が存在する場合、それは独立して $C1 - C6$ アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0121】

式 (I) の化合物において、 R^6 および R^7 はそれぞれ、独立して H、 $C1 - C6$ アルキル、 $C2 - C6$ アルケニル、 $C2 - C6$ アルキニル、および $C3 - C6$ シクロアルキルから選択され；それらのアルキル、アルケニル、アルキニルおよびシクロアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

40

【0122】

若干の態様において、 R^6 および R^7 はそれぞれ、独立して H および $C1 - C6$ アルキルから選択され、そのアルキルは所望により少なくとも 1 個のハロゲンで置換されていてもよい。

【0123】

若干の態様において、 R^6 は上記に定めたものであり、 R^7 は H である。他の態様において、 R^6 および R^7 は両方とも H である。

【0124】

式 (I) の化合物において、X は、NH、 CH_2 または $C(O)$ である。若干の態様に

50

において、Xは、NHまたはCH₂である。他の態様において、XはNHである。

【0125】

式(I)の化合物において、Yは、NH、CH₂またはC(O)である。若干の態様において、Yは、NHまたはCH₂である。他の態様において、YはCH₂である。

【0126】

式(I)の化合物において部分R¹の個数を表わす整数mは、0から5まで、0から4まで、0から3まで、または0から2までの範囲である。若干の態様において、mは少なくとも1であり、たとえばmは1~5、1~4または1~3である。若干の態様において、mは1または2であり、たとえばmは2である。

【0127】

若干の態様において、mが1以上の整数である場合、1つのR¹はフェニル環にパラ位またはメタ位において結合している。言い換えると、トリアジン環へのX連結がフェニル環の炭素原子番号1に結合していることを前提として、フェニル環はフェニル環の炭素原子番号3、4または5のいずれかにおいて置換されている。

10

【0128】

若干の態様において、mが1以上の整数である場合、1つのR¹はフェニル環にパラ位において結合している。

【0129】

若干の態様において、mが2以上の整数である場合、1つのR¹はフェニル環にパラ位において結合し、1つのR¹はメタ位において結合している。

20

【0130】

式(I)の化合物において部分R²の個数を表わす整数nは、0から5まで、0から4まで、0から3まで、または0から2までの範囲である。若干の態様において、nは少なくとも1であり、たとえばnは1~5、1~4または1~3である。若干の態様において、nは1または2であり、たとえばnは1である。若干の態様において、nは0または1である。

【0131】

若干の態様において、nが1以上の整数である場合、1つのR²はフェニル環にパラ位またはメタ位において結合している。言い換えると、トリアジン環へのY連結がフェニル環の炭素原子番号1に結合していることを前提として、フェニル環はフェニル環の炭素原子番号3、4または5のいずれかにおいて置換されている。

30

【0132】

若干の態様において、nが1以上の整数である場合、たとえばnが1である場合、1つのR²はフェニル環にメタ位において結合しており、たとえばR²はメタ位におけるR⁵O(CH₂)_qである。たとえば、nは1であり、R²はメタ位にあってR⁵O(CH₂)_qである。

【0133】

若干の態様において、nが1以上の整数である場合、たとえばnが1である場合、1つのR²はフェニル環にパラ位において結合しており、たとえばR²はパラ位におけるハロゲン、たとえばFである。

40

【0134】

式(I)の化合物において部分R⁴の個数を表わす整数pは、0から4まで、0から3まで、または0から2までの範囲であり、たとえばpは0または1である。若干の態様において、pは0である。

【0135】

いずれかの部分R⁵O(CH₂)_q、R⁵S(CH₂)_q、R⁶R⁷N(CH₂)_q、およびCN(CH₂)_qにおける整数qは、0、1、2および3から選択される。若干の態様において、qは0、1および2から；あるいは0および1から選択される。若干の態様において、qは0であり、すなわちいずれかの部分R⁵O(CH₂)_q、R⁵S(CH₂)_q、R⁶R⁷N(CH₂)_q、またはCN(CH₂)_qは、R⁵O-、R⁵S-、R

50

⁶R⁷N -、またはCN - である。

【0136】

若干の態様において、XはNHであり、YはCH₂である。若干の他の特定の態様において、XはNHであり、YはCH₂であり、pは0である。さらに他の特定の態様において、XはNHであり、YはCH₂であり、pは0であり、R³はR⁶R⁷Nである。

【0137】

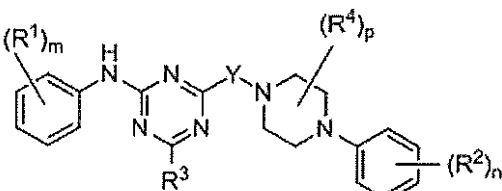
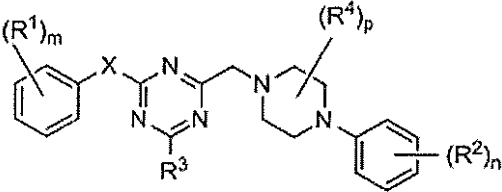
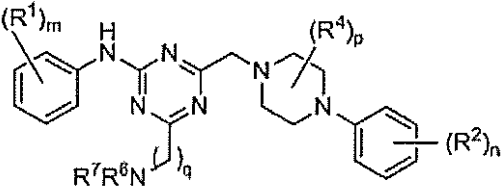
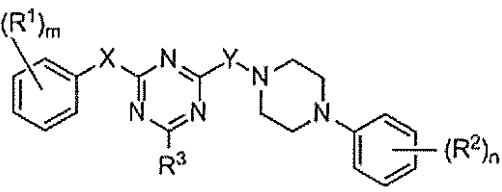
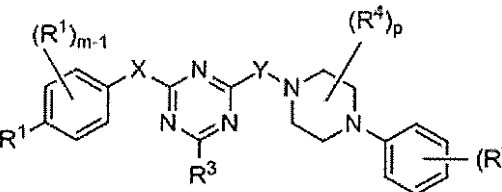
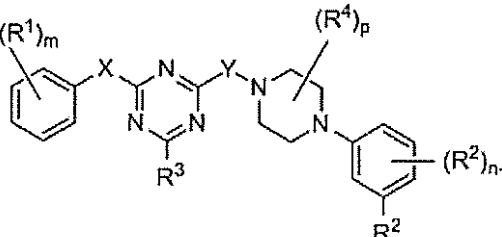
多数のさらなる態様が可能であり、式(I)の範囲に含まれるものとする；それらのうち若干を限定ではなく下記の表1に示す。

【0138】

【表1-1】

10

表1 本発明による式(I)の化合物の代表的態様

態様の特定の特徴	態様の構造式
(a) XはNHである	 <p>(Ia)</p>
(b) YはCH ₂ である	 <p>(Ib)</p>
(c) R ³ は NR ⁶ R ⁷ (CH ₂) _q である	 <p>(Ic)</p>
(d) pは0である	 <p>(Id)</p>
(e) mは少なくとも1 であり、1つのR ¹ は パラ位にある	 <p>(Ie)</p>
(f) nは少なくとも1 であり、1つのR ² は メタ位にある	 <p>(If)</p>

20

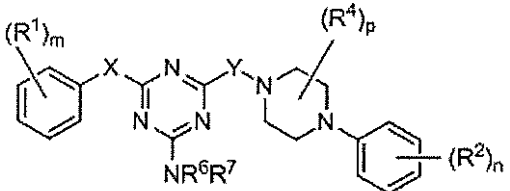
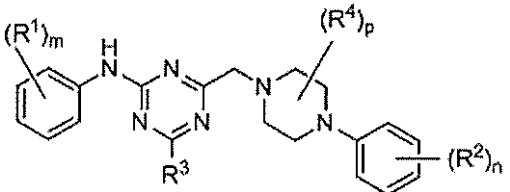
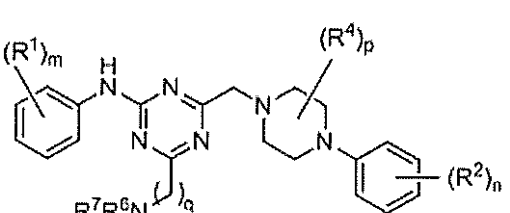
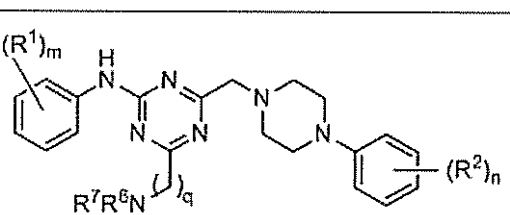
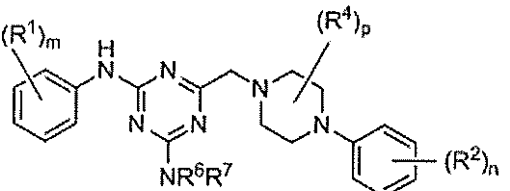
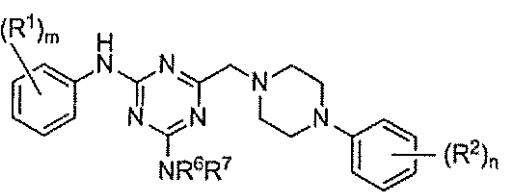
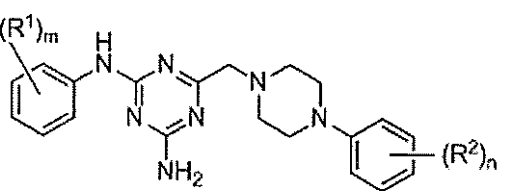
30

40

【0139】

50

【表 1 - 2】

(g) R^3 は $NR^6R^7(CH_2)_q$ であり 、 q は0である	 <p style="text-align: right;">(Ig)</p>
(h) = (a)+(b)	 <p style="text-align: right;">(Ih)</p>
(i) = (h)+(c)	 <p style="text-align: right;">(Ii)</p>
(j) = (i)+(d)	 <p style="text-align: right;">(Ij)</p>
(k) = (h)+(g)	 <p style="text-align: right;">(Ik)</p>
(m) = (k)+(d)	 <p style="text-align: right;">(Im)</p>
(n) = (m) R^6 および R^7 は両方 ともHである	 <p style="text-align: right;">(In)</p>

10

20

30

40

【0140】

表1において、たとえば(a)と(b)を合わせたもの、すなわち(h) = (a) + (b)と記載したものは、それぞれ態様(a)と(b)の特徴、すなわちXをNHと特定したものとYをCH₂と特定したものを含む態様(“態様(h)”)を表わす；他の態様についても同様。

【0141】

状況から明らかであるかまたは本明細書中で特定しない限り、式(I)の化合物という

50

表記はいずれも、表 1 に示した式 (I a) ~ (I n) のいずれか 1 つの化合物にも適用されるものとする。しかし、他の多数の態様も本発明の範囲において可能であることを理解すべきである。

【0142】

若干の態様において、本発明化合物は

N^2 - (3, 4 - ジメチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1, 3, 5 - トリアジン - 2, 4 - ジアミン;

N^2 - (3 - クロロ - 4 - メチルフェニル) - 6 - ((4 - (3 - メトキシフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1, 3, 5 - トリアジン - 2, 4 - ジアミン;

6 - ((4 - フェニルピペラジン - 1 - イル) メチル) - N^2 - (p - トリル) - 1, 3, 5 - トリアジン - 2, 4 - ジアミン;

N^2 - フェニル - 6 - ((4 - フェニルピペラジン - 1 - イル) メチル) - 1, 3, 5 - トリアジン - 2, 4 - ジアミン; および

6 - ((4 - (4 - フルオロフェニル) ピペラジン - 1 - イル) メチル) - N^2 - フェニル - 1, 3, 5 - トリアジン - 2, 4 - ジアミン

またはその医薬的に許容できる塩から選択される。

【0143】

式 (I) の化合物は、周知の方法により、容易に入手できる出発物質から一般的な方法および手順を用いて製造できる。若干の式 (I) の化合物は、たとえば Vitas laboratories, Moscow, 125252, Russia から購入できる。

【0144】

本発明化合物は Nox 阻害剤である。より具体的には、本発明化合物は $Nox4$ 阻害剤である。 Nox イソ型は、 $Nox4$ のように疾患に関与するだけでなく、生体における種々の重要な生物学的機能も備えているという事実からみて、1 種類の特定の Nox イソ型、すなわち $Nox4$ を主に阻害する能力は、本発明化合物の重要な利点であると考えられる。

【0145】

プロセス条件に応じて、式 (I) の目的生成物は中性または塩の形で得られる。遊離塩基および遊離酸ならびにこれらの目的生成物の塩類が共に本発明の範囲に含まれる。本発明化合物の酸付加塩は、それ自体既知の方法で、塩基性作用剤、たとえばアルカリを用いて、またはイオン交換により、遊離塩基に変換できる。得られた遊離塩基は、有機酸または無機酸との塩類を形成することもできる。本発明化合物のアルカリ付加塩は、それ自体既知の方法で、酸性作用剤、たとえば酸を用いて、またはイオン交換により、遊離酸に変換できる。得られた遊離酸は、有機塩基または無機塩基との塩類を形成することもできる。酸付加塩または塩基付加塩の調製に際して、好ましくは医療用として許容できる塩類を適切に形成する酸または塩基を用いる。そのような酸の例は、ハロゲン化水素酸、硫酸、リン酸、硝酸、脂肪族、脂環式、芳香族または複素環式のカルボン酸またはスルホン酸、たとえばギ酸、酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、ビルビン酸、p - ヒドロキシ安息香酸、エンボン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ヒドロキシエタンスルホン酸、ハロゲンベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、またはナフタレンスルホン酸である。塩基付加塩には、無機塩基、たとえばアンモニウムまたはアルカリ金属もしくはアルカリ土類金属の水酸化物、炭酸塩、炭酸水素塩などから、ならびに有機塩基、たとえばアルコキシド、アルキルアミド、アルキルアミンおよびアリールアミンなどから誘導されるものが含まれる。本発明の塩類を調製するのに有用な塩基の例には、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、炭酸カリウムなどが含まれる。

【0146】

鏡像異性体およびジアステレオマーを含めて、本発明化合物の幾つかの立体異性体が存在する可能性がある。鏡像異性体はそれらの純粋な形で、または 2 種類の鏡像異性体のラセミ (等量) 混合物もしくは非等量混合物として存在することができる。ジアステレオマ

ーはそれらの純粋な形で、またはジアステレオマーの混合物として存在することができる。ジアステレオマーには幾何異性体も含まれ、それらはそれらの純粋なシスもしくはトランス形で、またはそれらの混合物として存在することができる。

【0147】

医薬配合物は、通常は、有効物質、すなわち本発明化合物またはその医薬的に許容できる塩を、一般的な医薬用賦形剤と混合することにより調製される。配合物はさらに、既知の方法、たとえば造粒、圧縮、マイクロカプセル化、スプレーコーティングなどにより調製できる。配合物は、常法により、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、懸濁液剤、坐剤または注射剤の剤形で調製できる。液体配合物は、有効物質を水その他の適切なビヒクルに溶解または懸濁することにより調製できる。錠剤および顆粒剤を常法によりコーティングしてもよい。

10

【0148】

臨床用には、本発明化合物を経口、直腸、非経口または他の投与様式のための医薬配合物中に配合する。これらの医薬製剤は、本発明のさらなる目的である。

【0149】

通常は、有効化合物の有効量は製剤の0.1~95重量%、好ましくは非経口用製剤中には0.2~20重量%、好ましくは経口投与用製剤中には1~50重量%である。

【0150】

個々の化合物の投与レベルおよび投与頻度は、使用する個々の化合物の力価、その化合物の代謝安定性および作用期間、患者の年齢、体重、全般的な健康状態、性別、食事、投与の様式および時間、排出速度、薬物の組み合わせ、処置すべき状態の重症度、ならびに療法を受けている患者を含めた、多様な要因に応じて異なるであろう。一日量は、たとえば体重キログラムあたり約0.001mgから約100mgまでの範囲であってもよく、単回投与されるか、あるいはたとえばそれぞれ約0.01mgから約25mgまでの量で多数回投与される。普通はそのような投与量を経口により投与するが、非経口投与も選択できる。

20

【0151】

本発明化合物を含有する医薬配合物を経口投与のための単位剤形で調製する際、選択した化合物を、固体、粉末状の成分、たとえば乳糖、サッカロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アミロペクチン、セルロース誘導体、ゼラチン、または他の適切な成分、ならびに崩壊剤および滑沢剤、たと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、ステアリルフマル酸ナトリウムおよびポリエチケングリコールワックスと混合することができる。この混合物を次いで顆粒剤に加工し、あるいは圧縮して錠剤にする。

30

【0152】

ソフトゼラチンカプセル剤は、本発明の有効化合物（単数または複数）、植物油、脂肪、または他の適切なソフトゼラチン用ビヒクルの混合物を収容したカプセルを用いて調製できる。ハードゼラチンカプセル剤は、有効化合物の顆粒を収容することができる。ハードゼラチンカプセル剤は、有効化合物を、固体、粉末状の成分、たとえば乳糖、サッカロース、ソルビトール、マンニトール、パレイショデンプン、トウモロコシデンプン、アミロペクチン、セルロース誘導体またはゼラチンと組み合わせて収容することもできる。

40

【0153】

直腸投与用の投与単位は、(i)有効物質を中性脂肪基剤と混合したものを含む坐剤の形態；(ii)有効物質を、植物油、パラフィン油、もしくはゼラチン直腸カプセル剤用の他の適切なビヒクルとの混合物中に含有するゼラチン直腸カプセルの形態；(iii)調合済みマイクロ浣腸剤の形態；または(iv)投与直前に適切な溶剤中に再構成される乾燥マイクロ浣腸剤配合物の形態で調製できる。

【0154】

経口投与用の液体製剤は、シロップ剤または懸濁液剤の形態、たとえば0.2重量%から20重量%までの有効成分を含有し、残部が糖または糖アルコール、ならびにエタノール、水、グリセロール、プロピレングリコールおよびポリエチレングリコールの混合物からなる、液剤または懸濁液剤の形態で調製できる。所望により、そのような液体製剤は着

50

色剤、矯味矯臭剤、サッカリン、およびカルボキシメチルセルロースまたは他の増粘剤を含有してもよい。経口投与用の液体製剤は、使用前に適切な溶剤で再構成される乾燥粉末の形態で調製することもできる。

【0155】

非経口、たとえば静脈内投与用の液剤は、医薬的に許容できる溶剤中の本発明化合物の溶液として、好ましくは0.1重量%から10重量%までの濃度で調製できる。これらの液剤は、安定化成分および/または緩衝化成分を含有することもでき、アンプル剤またはバイアル剤の形態の単位量に分配される。非経口投与用の液剤は、使用前に必要な応じて適切な溶剤で再構成される乾燥製剤として調製することもできる。

【0156】

本発明化合物は1種類以上の追加の療法有効薬剤と組み合わせて使用または投与することもできる。それらの成分は、同時または逐次に投与するために、同じ配合物中または別個の配合物中であってよい。

【0157】

したがって、本発明のさらなる観点において、下記のものを含む組合わせ製剤が提供される：

(A) 本明細書中で定める本発明化合物；および

(B) 他の療法剤；

その際、(A)および(B)を医薬的に許容できる賦形剤との混合物中に配合する。

【0158】

そのような組合わせ製剤は、本発明化合物を他の療法剤と組合わせた投与を提供し、したがって別個の配合物として供給でき、その際、それらの配合物のうち少なくとも1つは本発明化合物を含み、少なくとも1つは他の療法剤を含む；あるいは、複合製剤として供給（すなわち、配合）できる（すなわち、本発明化合物と他の療法剤を含有する単一配合物として提供される）。

【0159】

したがって、さらに下記のもものが提供される：

(1) 前記に定めた本発明化合物、他の療法剤、および医薬的に許容できる賦形剤、たとえば佐剤、希釈剤またはキャリアーを含有する、医薬配合物；あるいは

(2) 構成要素として下記のものを含むパーツのキット；

(a) 本明細書中で定めた本発明化合物を、医薬的に許容できる賦形剤、たとえば佐剤、希釈剤またはキャリアーと混合したものを含有する、医薬配合物；および

(b) 他の療法剤を、医薬的に許容できる賦形剤、たとえば佐剤、希釈剤またはキャリアーと混合したものを含有する、医薬配合物；

それらの構成要素(a)および(b)はそれぞれ、他方と組み合わせて投与するのに適した形態で提供される。

【0160】

若干の特定の態様において、本発明化合物は抗腫瘍薬との組合わせで悪性過増殖性疾患の処置に用いられる。そのような併用療法は、癌の化学療法において、抗腫瘍薬に対する腫瘍抵抗性をもたらす可能性のあるNox4の抗アポトーシス作用と対抗するために特に有用な可能性がある。

【0161】

したがって、さらに下記のもものが提供される：

(1) 前記に定めた本発明化合物、抗腫瘍薬、および医薬的に許容できる賦形剤、たとえば佐剤、希釈剤またはキャリアーを含有する、医薬配合物；あるいは

(2) 構成要素として下記のものを含むパーツのキット；

(a) 本明細書中で定めた本発明化合物を、医薬的に許容できる賦形剤、たとえば佐剤、希釈剤またはキャリアーと混合したものを含有する、医薬配合物；および

(b) 抗腫瘍薬を、医薬的に許容できる賦形剤、たとえば佐剤、希釈剤またはキャリアーと混合したものを含有する、医薬配合物；

10

20

30

40

50

それらの構成要素 (a) および (b) はそれぞれ、他方と組み合わせて投与するのに適した形態で提供される。

【 0 1 6 2 】

上記キットのいずれかにおける構成要素 (a) および (b) は、同時に、逐次に、または互いに別個に投与できる。

【 0 1 6 3 】

本発明化合物は、癌の処置のための他の処置様式、たとえば放射線照射と組み合わせて使用または投与することもできる。

【 0 1 6 4 】

1 観点によれば、患者に療法有効量の本明細書中で定める式 (I) の化合物を投与することにより、その必要がある患者において、N o x、特にN o x 4の活性を阻害する方法が提供される。患者はいかなる哺乳動物であってもよいが、好ましくはヒトである。

10

【 0 1 6 5 】

処置すべき患者は、N o x、特にN o x 4の活性増大に関連する状態もしくは障害に罹患している患者、またはそのような状態もしくは障害を発症するリスクをもつ患者であってよい。そのような状態および障害の例は下記のものである：心血管障害、呼吸器障害、代謝障害、皮膚障害、骨障害、神経炎症性および/または神経変性性の障害、腎疾患、生殖障害、眼および/または水晶体を冒す疾患、ならびに/あるいは内耳を冒す状態、炎症性障害、肝疾患、痛み、癌、アレルギー性障害、外傷性障害、敗血症性、出血性およびアナフィラキシー性のショック、胃腸系の疾患または障害、血管新生、血管新生依存性状態、肺感染症、急性肺傷害、肺動脈性高血圧症、閉塞性肺障害、線維性肺疾患、ならびに肺癌。

20

【 0 1 6 6 】

1 態様において、本発明化合物は発作の処置に用いるためのものである。特定の1 態様において、発作は虚血性である。本発明化合物は発作の処置に際して神経保護活性をもつと考えられる。したがって、本発明化合物は虚血性発作の処置に際して凝血塊の除去と組み合わせて用いるのが適切である。特定の1 態様において、本発明化合物は虚血性発作の処置に際してt P Aと組み合わせて用いられる。

【 0 1 6 7 】

本発明を以下の限定ではない実施例により説明する。

30

【実施例】

【 0 1 6 8 】

実施例 1

細胞ベースのアッセイおよび分析化学

1 細胞生存性

1 . 1 C e l l t i t e r - B l u e 細胞生存性アッセイ (P r o m e g a)

このアッセイは、生存性の尺度として細胞がレサズリン(resazurin)を還元してレゾルフィン(resorufin)にする能力に基づく。T R E x (商 標) - 2 9 3 N o x 4 細胞をT - 2 2 5 フラスコ内で培養し、トリプシン処理により採集し、細胞培地に再懸濁した。9 0 μ l 中 2 0 , 0 0 0 個の細胞を9 6 ウェルの細胞培養プレート(透明な底を備えた黒色のもの)に播種した。9 0 μ l の細胞培地のみを含むバックグラウンドプレートも1 つ用意した。

40

【 0 1 6 9 】

2 4 時間後、3 7 の細胞培地中に最終濃度の1 0 倍に希釈した化合物1 0 μ l を、細胞プレートおよびバックグラウンドプレートに添加した。化合物を1 0 μ M の最終濃度で二重に試験した。最終濃度1 0 0 μ M のクロルプロマジン陽性対照として添加した。2 4 時間の処理後、2 0 μ l のC e l l T i t e r - B l u e 試薬を添加し、プレートを3 7 で1 2 0 分間インキュベートした。レゾルフィン蛍光をV i c t o r 2 V プレートリーダーで読み取った。すべての実験値をバックグラウンドに対して補正した後、細胞生存性の分析を行なった。

50

【0170】

1.2 Cytotox 96 (登録商標) 非放射性細胞毒性アッセイ (Promega)

このアッセイは、膜の統合性の尺度としての周囲の細胞培地における乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) 活性に基づく。膜の統合性はアポトーシス、ネクローシスまたは化学物質による影響を受ける可能性がある。TREx (商標) - 293 Nox4 細胞を T-225 フラスコ内で培養し、トリプシン処理により採集し、HBSS に再懸濁して細胞 100,000 個/ml にした。90 µl の細胞懸濁液を V 底ポリプロピレン製 96 ウェルプレートの各ウェルに添加した。HBSS のみを含むバックグラウンドプレートを 1 つ用意した。化合物を HBSS 中に最終濃度の 10 倍に希釈し、ウェル当たり 10 µl を添加した。化合物を 10 µM の最終濃度で二重に試験した。

10

【0171】

プレートを 37 °C で 3 時間インキュベートした。インキュベーション時間が終了する 45 分前に、10 µl の細胞溶解用溶液 (Triton X-100) を全対照ウェルに添加して、細胞の総 LDH 含量を推定した。自然な LDH 漏出量を非処理細胞について決定した。

【0172】

細胞プレートを 250 × g で 5 分間遠心し、50 µl の上清を 96 ウェル Spectraplate へ移した。50 µl の再構成した基質ミックスを添加し、プレートを室温で 30 分間インキュベートした。50 µl の停止溶液を添加し、プレートを SpectraMax (登録商標) で 490 nm の波長において読み取った。化合物特異的バックグラウンドを差し引き、細胞毒性 % を下記に従って計算した：

20

$$[(\text{実験量} - \text{自然量}) / (\text{総量} - \text{自然量})] * 100\%$$

上記 2 種類の細胞生存性アッセイで試験した場合、本発明化合物はいずれも有意の細胞毒性を示さなかった。

【0173】

2 用量応答曲線

Amp lex (登録商標) Red ベースのアッセイによる用量応答測定を下記に従って実施した：化合物の系列希釈を、リキッドハンドラー Janus (登録商標) (Perkin Elmer) およびスケジューリングソフトウェア Overlord (Process Analysis and Automation) に基づくシステムを用いて実施した。

30

【0174】

DMSO 中の 10 mM 化合物原液 15 µl を含む化合物プレートから出発して、10 µl の DMSO を化合物プレートの各段に添加した (Flexdrop)。5 µl の化合物溶液を 10 µl の DMSO に添加することにより系列希釈を行なって (1:3)、11 種類の濃度にした。化合物プレートの各ウェルに 90 µl のアッセイ用緩衝液を添加した。混合した後、10 µl を化合物プレートの各ウェルからアッセイプレートのウェルへ移し、続いて 20 µl の検出ミックスおよび 20 µl の TREx (商標) - 293 Nox4 細胞懸濁液を添加した。次いでアッセイプレートを室温で 40 ~ 60 分間インキュベートした。

40

【0175】

特注の計算テンプレートを用いて Activitybase XE (IDBS) でデータを解析した。組込み方程式を用いて生の蛍光データを阻害率 % に換算した：

【0176】

【数 1】

$$\text{阻害率}\% = 100 - \frac{\text{生データ}_{\text{化合物}} - \text{生データ}_{\text{低}}}{\text{生データ}_{\text{高}} - \text{生データ}_{\text{低}}} \times 100$$

【0177】

用量応答曲線に非線形回帰を用いて4パラメーター算定式を当てはめた。図1A～Eに、若干の本発明化合物についての用量応答曲線を示す。これらの化合物は約1 μMから約68 μMまでの範囲のIC50値をもつ。

【0178】

実施例2 インビボ試験：発作動物モデル

マウス(10～12週)、野生型C57BL/6、6匹の動物を用いた；

対照(n=3)発作誘発マウスをビヒクルで2時間および12時間処理した；

試験(n=3)発作誘発マウスを本発明化合物M4(N²-(3,4-ジメチルフェニル)-6-(4-(3-メトキシフェニル)ピペラジン-1-イル)メチル)-1,3,5-トリアジン-2,4-ジアミン)で腹腔内処理した。

【0179】

腹腔内投与のためのM4調製物：3.5 mgのM4をまず1 mlのDMSOに溶解した。この物質がすべて溶解した後、PBS(リン酸緩衝化生理食塩水)中の20% Cremophor ELPを5 ml添加した。その後、さらに4 mlのPBSを添加した。20% Cremophor ELP溶液は、10.5 gのCremophorを50 mlのPBSに溶解することにより調製された。

【0180】

注射液の最終濃度：0.35 mg/ml

M4の注射量：投与量は3.2 mg/kgであり、それぞれの動物につきそれぞれの投与事象(2時間および12時間)で計算した。

【0181】

手順：

1. フィラメントで1時間ブロックすることによる一過性の中大脳動脈閉塞(transient middle cerebral artery occlusion)(tMCAO)；

2. 1時間後にフィラメントを取り除くことにより再灌流；

3. 2時間後にM4の腹腔内注射、および12時間後に再び腹腔内注射；

4. 24時間後に動物をと殺し、トリフェニルテトラゾリウムクロリド(TTC)染色により梗塞サイズを測定する-したがって中大脳動脈閉塞(MCAO)の手順は1時間の閉塞および23時間の再灌流となる；

5. 発作分析を先の記載に従って実施した(Experimental Neurology 200 (2006), pp. 480-485; Circulation May 1, 2007, pp. 2323-2330)。梗塞サイズを測定するために、マウスをtMCAO、pMCAO、または皮質光血栓作成(cortical photothrombosis)の24時間後にと殺した。マウス脳スライスマトリックス(Harvard Apparatus)を用いて脳を2-mm厚さの冠状断面に切断した。切片を2% TTC(Sigma-Aldrich)で染色して梗塞部を視覚化した。病変体積を計算する面積測定(planimetric measurement)(ImageJ software, United States National Institutes of Health)を、先の記載に従って脳浮腫に対して補正した(Ann Neurol 2003;54:330-342)。

【0182】

動物試験

動物試験はRegierung von Unterfranken(ウンターフラン

10

20

30

40

50

ケン行政府)により承認され、最近発表されたメカニズム推進による基礎発作試験(mechanism-driven basic stroke studies)における試験についての推奨に従って実施された。成体雄C57/BL6マウス(20~25g)をCharles River(ドイツ、ズルツフェルト)から購入した。他の箇所に詳述したように、焦点性脳虚血を誘発するためにtMCAOモデルを用いた。簡単に言えば、マウスを70% N₂O/30% O₂混合物中の2%イソフルラン(isoflurane)で麻酔した。外科処置期間全体を通して、サーボ制御式加温ブランケットを用いて体心温度を37℃付近に維持した。正中線頸部切開を行なった後、規格化シリコンゴムコート6.0ナイロンモノフィラメント(60-1720 RE, Doccol, カリフォルニア州レッドランズ)を右総頸動脈に挿入し、内頸動脈を経由して前進させて、MCA基部を閉塞した。1時間後、マウスを再麻酔し、閉塞フィラメントを取り除いて再灌流させた。梗塞の変動性を低減するために、すべての動物を同じ手術者が手術した；動物当たりの手術時間は15分を超えなかった。

10

【0183】

梗塞サイズの測定

マウスをtMCAOの24時間後にと殺した。脳を速やかに摘出し、マウス脳スライスマトリックスを用いて脳を2-mm厚さの冠状断面に切断した。切片をPBS中の2, 3, 5-トリフェニルテトラゾリウムクロリド(TTC; Sigma-Aldrich, ドイツ、ゼールツェ)で染色して梗塞部を視覚化した。面積測定(ImageJ software, National Institutes of Health, メリーランド州ベテスダ)は処置グループを知らされていない試験員により実施され、それを用いて病変体積を計算し、他の箇所の記載に従って脳浮腫に対して補正した。TTC染色前に、この場合も2-mm厚さの冠状脳断面に切断した後(前記を参照)、脳全体について脳内出血(ICH)の発生を肉眼評価した。ICHを示す脳を梗塞体積の評価から除外した。それぞれ、M4で処置した3匹のマウスおよび3匹の対照マウスについての結果を表2に示す。図2は、それぞれ、M4で処置したグループおよび対照グループについての平均梗塞体積を示す棒グラフである。

20

【0184】

【表2】

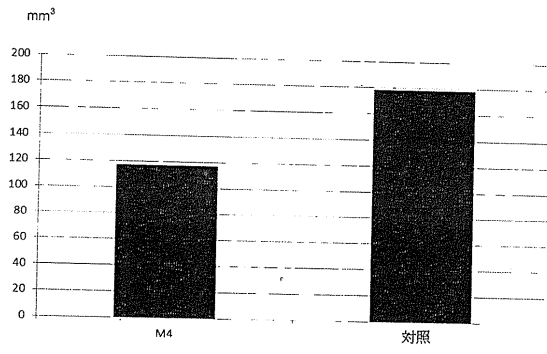
表 2

30

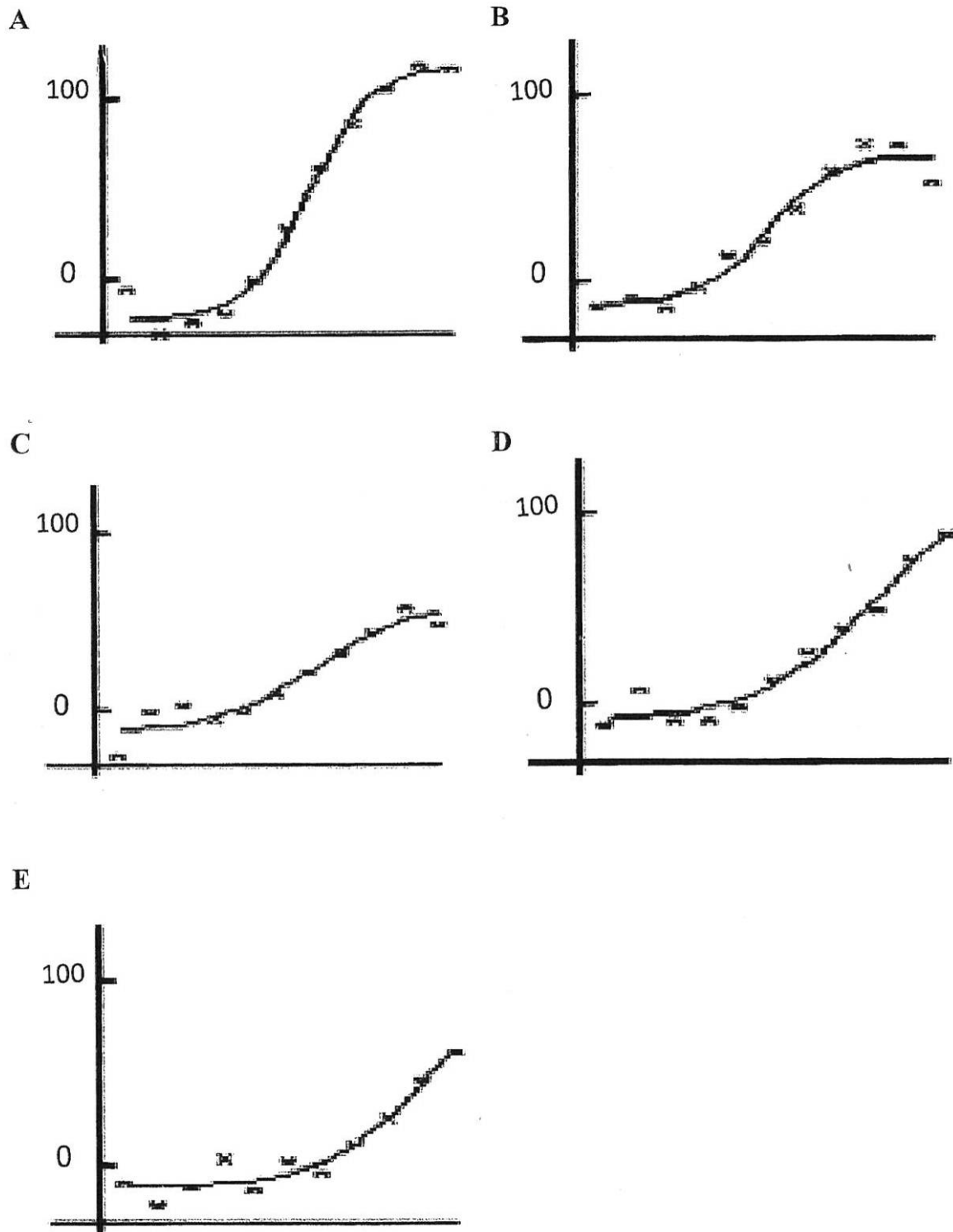
梗塞体積, mm ³	
M4で処理した動物	対照動物
73	107
145	224
134	204

40

【 図 2 】



【図 1】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/072098

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/4196 C07D251/00
ADD.

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)

A61K C07D

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)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE PubChem Compound [Online]</p> <p>10 July 2005 (2005-07-10), "AC1L0516 - Compound Summary", XP002690384, retrieved from NCBI Database accession no. 1214343 (CID) the whole document</p> <p>-----</p>	1-15
A	<p>DATABASE PubChem Compound [Online]</p> <p>10 July 2005 (2005-07-10), "AC1L0519 - Compound Summary", XP002690385, retrieved from NCBI Database accession no. 1214344 (CID) the whole document</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-15

☒ 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

4 December 2013

Date of mailing of the international search report

12/12/2013

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Baurand, Petra

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/072098

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE PubChem Compound [Online]</p> <p>10 July 2005 (2005-07-10), "N-(3,4-dimethylphenyl)-6-[[4-(3-methoxyphenyl)piperazin-1-yl]methyl]-1,3,5-triazine-2,4-diamine - Compound Summary", XP002690386, retrieved from NCBI Database accession no. 1214345 (CID) the whole document -----</p>	1-15
A	<p>DATABASE PubChem Compound [Online]</p> <p>10 July 2005 (2005-07-10), "STK567131 - Compound Summary", XP002690387, retrieved from NCBI Database accession no. 1214348 (CID) the whole document -----</p>	1-15

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 11/00	(2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 17/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 19/00	(2006.01)	A 6 1 P 19/00	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/28	(2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 13/12	(2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 15/00	(2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 27/16	(2006.01)	A 6 1 P 27/16	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 1/16	(2006.01)	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 25/04	(2006.01)	A 6 1 P 25/04	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/08	(2006.01)	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 31/04	(2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 1/04	(2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 11
A 6 1 P 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 ヴァルム, エリク
スウェーデン国 1 1 2 6 0 ストックホルム, ギェオルヴェルスガタン 4 9
(72)発明者 ヴィクストレム, ペル
スウェーデン国 1 7 9 9 7 ファレンチュナ, フラルセガルズヴァーゲン 8
(72)発明者 ヴィルケ, モナ
スウェーデン国 1 1 8 5 7 ストックホルム, ハランズガタン 2 8

F ターム(参考) 4C086 AA01 AA02 AA03 BC64 GA07 GA12 MA01 MA04 NA14 ZA01
ZA08 ZA15 ZA33 ZA34 ZA36 ZA59 ZA66 ZA75 ZA81 ZA89
ZA96 ZB11 ZB13 ZB26 ZB35 ZC03 ZC20 ZC21 ZC35