

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4537581号
(P4537581)

(45) 発行日 平成22年9月1日 (2010.9.1)

(24) 登録日 平成22年6月25日 (2010.6.25)

(51) Int. Cl. F I
C O 7 K 5/08 (2006.01)
C O 7 K 5/10 (2006.01)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)
A 6 1 P 7/02 (2006.01)
A 6 1 P 9/10 (2006.01)

F I
 C O 7 K 5/08
 C O 7 K 5/10
 A 6 1 K 37/02
 A 6 1 P 7/02
 A 6 1 P 9/10

請求項の数 7 (全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-570196 (P2000-570196)
 (86) (22) 出願日 平成11年9月2日 (1999.9.2)
 (65) 公表番号 特表2002-524571 (P2002-524571A)
 (43) 公表日 平成14年8月6日 (2002.8.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP1999/006449
 (87) 国際公開番号 W02000/015658
 (87) 国際公開日 平成12年3月23日 (2000.3.23)
 審査請求日 平成18年8月30日 (2006.8.30)
 (31) 優先権主張番号 98117506.0
 (32) 優先日 平成10年9月15日 (1998.9.15)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 397056695
 サノフィーアベンティス・ドイツュラント
 ・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンク
 テル・ハフツング
 ドイツ連邦共和国デー65929フラン
 クフルト・アム・マイン・ブリュニングシ
 ユトラーセ50
 (74) 代理人 100127926
 弁理士 結田 純次
 (74) 代理人 100091731
 弁理士 高木 千嘉
 (74) 代理人 100080355
 弁理士 西村 公佑

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 V I I a 因子阻害剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I

R 1 - A - B - D - E n - R 2 (I)

〔式中、R 1 はアリルオキシカルボニル又はアリルアミノカルボニルであり；

A は (L) - 4 - アミジノフェニルアラニンの残基であり；

B は (L) - グルタミン酸の残基又はその薬学的に許容しうる塩であり；

D は A r g、D a p、D a b、O r n、D a p [- C (= N H) - N H 2]、D a b [- C (= N H) - N H 2]、O r n [- C (= N H) - C H 3]、D a b [- C (= N H) - C H 3]、D a p [- C (= N H) - C H 3]、D a b (A l l o c)、A s n、G l n、M e t、T h r、T h r (B z l)、C y s (M e)、C y s (B z l)、C y s (A c m)、A r g (N O 2)、H i s、T r p、P h g、G l y、A l a、P h e、P h e (4 - N H - C (= N H) - N H 2)、P h e (4 - N O 2)、2 - A b u、A l a (3 - C N)、A l a [3 - C (= N H) - N H 2]、2 - A b u (4 - C N) および 2 - A b u [4 - C (= N H) - N H 2] からなる群より選択される基であり；

E は C h a、C h g 及び P h e [4 - C (- S - C H 2 - C H 2 - S -) - P h] からなる群から選択される残基であり、

n は 0 または 1 であり；

R 2 は、N R 2 1 R 2 2 であり、ここで、

R 2 1 は、水素、(C 1 - C 4) - アルキル又はフェニル (C 1 - C 4) - アルキルで

10

20

あり、

R 2 2 は、水素、またはそれぞれ置換されていない、またはハロゲン、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、ニトロ、シアノ、ジアルキルアミノ、アルキルオキシ、メチレンジオキシ、1, 2-エチレンジオキシ、アルキルスルホニル及びアミノスルホニルからなる群から独立して選ばれる置換基であり、ここで置換基ジアルキルアミノ、アルキルオキシ及びアルキルスルホニルにおけるアルキル基はメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル及びtert-ブチルからなる群から選ばれる、で置換されている、(C 1-C 1 2)-アルキル、1又は2の(C 6-C 1 2)-アリアル基により置換されている(C 1-C 4)-アルキル、ピリジル基により置換されている(C 1-C 4)-アルキル、テトラヒドロフラニル基により置換されている(C 1-C 4)-アルキル、シクロヘキシル-(C 1-C 4)-アルキル、1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-1-ナフチル及びフルオレニルからなる群から選ばれる；]

の化合物、またはその製薬上許容しうる塩。

【請求項 2】

R 2 は NHR 2 2 であり、

R 2 2 は水素、またはそれぞれ未置換または F、Cl、Br、ヒドロキシ、メトキシ、メチレンジオキシ、ニトロ、シアノ、ジアルキルアミノ、アルキルスルホニル、アミノスルホニルおよびトリフルオロメチルからなる群より選択される置換基であり、ここで置換基ジアルキルアミノ及びアルキルスルホニルにおけるアルキル基はメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル及びtert-ブチルからなる群から選ばれる、で置換されるベンジル、ナフチルメチル、ピリジルメチル、フェニルエチル、ナフチルエチル、ピリジルエチル、フェニルプロピル、ナフチルプロピル、ピリジルプロピル、フルオレニル、ジフェニルメチル、ジフェニルエチルおよびジフェニルプロピルからなる群より選択される基である、請求項 1 記載の式 I の化合物、またはその製薬上許容しうる塩。

【請求項 3】

A l l o c - p A p h - G l u - A r g - C h a - N H ₂、
 アリルアミノカルボニル-p A p h - G l u - A r g - C h a - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - A r g - C h g - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - D a p [-C (=NH) - N H ₂] - C h a - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - A l a [3 - C (=NH) - N H ₂] - C h a - N H ₂

、

A l l o c - p A p h - G l u - A s n - C h a - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - D a b - C h a - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - D a p [-C (=NH) - N H ₂] - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - G l y - C h a - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - T h r (B z l) - N H - (C H ₂)₂ - C H (P h)₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - D a b - N H - (C H ₂)₂ - P h、
 A l l o c - p A p h - G l u - A s n - N H - C H ₂ - C h x、
 A l l o c - p A p h - G l u - D a p [-C (=NH) - C H ₃] - C h a - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - D a b [-C (=NH) - N H ₂] - C h a - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - 2 - A b u (4 - C N) - C h a - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - A l a (3 - C N) - C h a - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - A s n - 1 - ナフチルメチルアミド、
 A l l o c - p A p h - G l u - A s n - 1 - (1 - ナフチル) エチルアミド、
 A l l o c - p A p h - G l u - A s n - 2 - ナフチルメチルアミド、
 A l l o c - p A p h - G l u - A s n - 3, 4 - ジクロロベンジルアミド、
 A l l o c - p A p h - G l u - A s n - 2 - (3 - クロロフェニル) エチルアミド、
 A l l o c - p A p h - G l u - A r g (N O ₂) - C h a - N H ₂、
 A l l o c - p A p h - G l u - C y s (B z l) - C h a - N H ₂、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Trp-Cha-NH}_2$ 、
 $\text{Alloc-pAph-Glu-Phg-Cha-NH}_2$ 、
 $\text{Alloc-pAph-Glu-Asn-9-フルオレニルアミド}$ 、
 $\text{Alloc-pAph-Glu-Asn-3,5-ビストリフルオロメチルベンジルアミド}$ 、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Dap} [-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2] - \text{Phe} [4-\text{C}(-\text{S}-(\text{CH}_2)_2-\text{S})-\text{Ph}] - \text{NH}_2$ 、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Cys}(\text{Bzl}) - \text{Cha-NH}_2$ 、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Thr}(\text{Bzl}) - \text{Cha-NH}_2$ 、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Phe}(4-\text{NO}_2) - \text{Cha-NH}_2$ 、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Asn-3,4-メチレンジオキシベンジルアミド}$ 、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(2-ナフチル)エチルアミド}$ 、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(1-ナフチル)エチルアミド}$ 、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(2-ピリジル)エチルアミド}$ 、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Asn-2,2-ジフェニルエチルアミド}$ 、

$\text{Alloc-pAph-Glu-Asn-2,4-ジフルオロベンジルアミド}$ 、または

$\text{Alloc-pAph-Glu-Asn-4-ジメチルアミノベンジルアミド}$

である請求項1又は2記載の式Iの化合物またはその製薬上許容しうる塩。

【請求項4】

請求項1～3の何れかの項記載の化合物またはその製薬上許容しうる塩を有効成分とする医薬。

【請求項5】

有効量の請求項1～3の何れかの項記載の化合物またはその製薬上許容しうる塩および製薬上許容しうる担体を含有する医薬組成物。

【請求項6】

請求項1～3の何れかの項記載の化合物またはその製薬上許容しうる塩を有効成分とするVIIa因子阻害剤。

【請求項7】

請求項1～3の何れかの項記載の化合物またはその製薬上許容しうる塩を有効成分とする血餅形成、血栓塞栓症または血管再狭窄症の阻止または軽減剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は活性化血液凝固VIIa因子(FVIIa)の可逆阻害を通して強力な抗血栓症作用を有する新規化合物、それらの製造、それらの使用、およびそれらを含有する医薬組成物に関する。

【0002】

血栓の形成は通常、血液凝固カスケード反応を開始する組織損傷の結果であり、創傷の治療において血液の流れを遅らせたり、妨げたりする。アテローム性動脈硬化症および炎症のような組織損傷と直接関係のない他の因子もまた血液凝固カスケード反応を開始したり、病的状態をもたらしうる。

【0003】

血液凝固は血漿チモゲンが限定加水分解により連続的に活性化される継続的増幅機構の酵素活性化反応を含む複雑な過程である。機構的に、血液凝固カスケード反応は内因系および外因系の経路に分かれて、X因子の活性化で一点に集まり、その後のトロンビン生成は共通の経路により進行する(スキーム1参照)。

【化1】

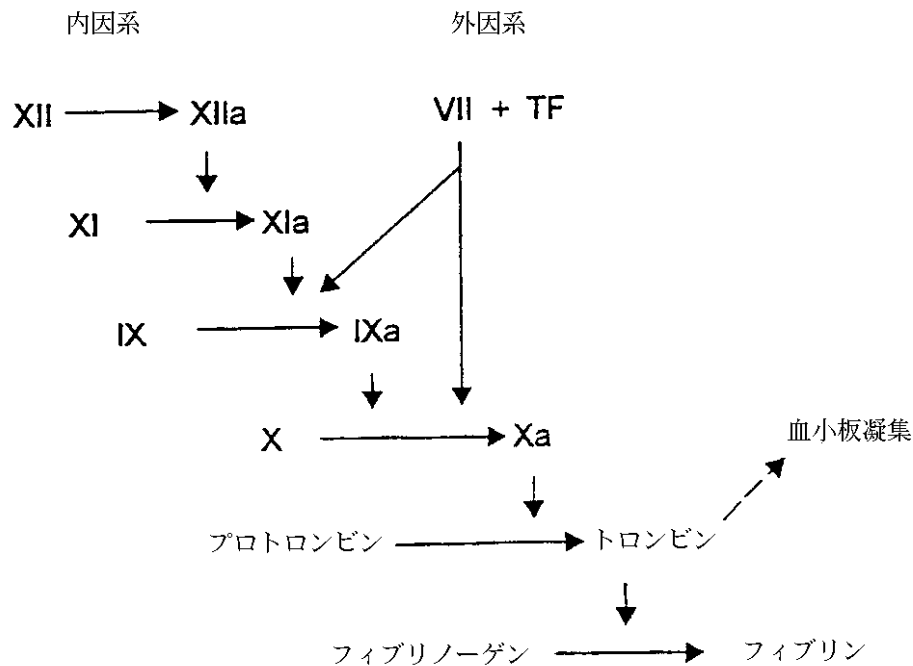
10

20

30

40

スキーム1：血液凝固カスケード反応



【0004】

現存の証拠は内因系の系路がフィブリン生成の維持および成長において重要な役割を果たし、外因系の系路が血液凝固の初期段階で決定的であることを示唆している (H. ColeのAust. J. Med. Sci, 16, 87(1995年); G.J. Brozeの「血液凝固およびフィブリン溶解」、6、補足1、S7～S13 (1995年))。一般に、血液凝固は組織因子 (TF) /VIIa 因子複合体の生成により物理的に開始すると理解されている。いったん生成すると、この複合体はIXおよびX因子を活性化することにより迅速に血液凝固を開始する。新しく生成した活性化X因子、すなわちXa因子は次にVa因子およびリン脂質と1対1複合体を生成して、その前駆体プロトロンビンからのトロンビンの活性化により可溶性フィブリノーゲンを不溶性フィブリンに変換するのに関与するプロトロンビナーゼ複合体を生成する。時間が経つにつれて、VIIa因子/組織因子複合体 (外因系の系路) の活性はKunitz型プロテアーゼ阻害タンパク質TFPIにより抑制され、それはXa因子と複合体を生成するとVIIa因子/組織因子のタンパク質分解活性を直接阻害することができる。抑制された外因系の存在下で凝固過程を維持するために、内因系の系路のトロンビンが関与する活性により追加のXa因子が生成する。このように、トロンビンは2つの自己触媒的役割をはたす、すなわちそれ自体の生成とフィブリノーゲンのフィブリンへの変換に関与する。

【0005】

トロンビン生成の自己触媒作用は抑制されない出血に対する重要な保護手段であり、所定の閾値のプロトロンビナーゼが存在すると確実に血液凝固が行なわれる。血餅を形成する能力は生命の維持に絶対必要である。しかしながら、特定の疾患状態では、循環系での血餅形成そのものが病因である。にも関わらず、このような疾患状態では生命を脅かす出血が後から起こるため、血餅形成系を完全に阻害することは望ましくない。したがって、トロンビンを直接阻害することなくVIIa因子を阻害することにより血液凝固を阻害する薬剤を開発することが最も望ましい。

【0006】

多くの臨床応用において、血管内の血餅形成を予防する、またはある抗凝固処置を行なう必要が大いにある。現在入手できる薬剤は多くの特定の臨床応用において不十分なものである。例えば、全股関節置換術を受けた患者のほぼ50%が深静脈血栓症 (DVT) を発

生する。現在認められている治療法は固定投与量の低分子量ヘパリン（LMWH）および変動投与量のヘパリンである。これらの薬物療法でさえ、10%～20%の患者がDVTを発生し、5%～10%が出血を併発する。

【0007】

より良い抗凝血剤が必要とされる他の臨床状況は経内腔冠状動脈血管形成術を受ける患者および心筋梗塞の恐れのある、または次第に強くなる狭心症にかかっている患者と関係がある。ヘパリンおよびアスピリンを投与することからなる、現在の慣用的に受け入れられている治療法は処置後24時間以内に突然起こる血管閉鎖の割合が6%～8%である。また、ヘパリンを使用する輸血療法が必要な出血を併発する割合は約7%である。さらに、血管閉鎖を遅らせることが有意であっても、処置終了後のヘパリン投与は価値が小さく、そして有害でさえありうる。

10

【0008】

最も広く使用されている血餅形成阻害剤はヘパリン、関連する硫酸化多糖類、LMWHおよびヘパリン硫酸である。これらの分子は血餅形成過程の天然調節物質、抗トロンビンとトロンビンおよびXa因子との結合を促進することにより抗血餅形成作用を発揮する。ヘパリンの阻害活性は主としてトロンビンに向けられており、それはXa因子より約100倍速く失活する。ヒルジンおよびヒルログは臨床試験で現在使用されている他の2種のトロンビン特異的抗凝血剤である。しかしながら、トロンビンを阻害するこれらの抗凝血剤もまた出血を併発する。ヒヒおよびイヌによる前臨床試験は凝固カスケード反応の初期段階で関与する標的酵素、例えばXa因子またはVIIa因子が直接トロンビン阻害剤で観察される副作用の出血をひき起こすことなく血餅形成を予防することを明らかにした（T. Yokoyama, A.B. Kelly, U.M. Marzec, S.R. Hanson, S. Kunitada, L.A. Harkerの「循環」, 92, 485～491（1995年）；L.A. Harker, S.R. Hanson, A.B. KellyのThromb. Hemostas, 74, 464～472（1995年）；C.R. Benedict, J. Ryan, J. Todd, K. Kuwabara, P. Tyburch, Jr., J. Cartwright, D. Sternの「血液」, 81, 2059～2066（1993年））。

20

【0009】

単クローン性抗体（国際特許出願番号WO 92/06711）およびクロロメチルケトン失活FVIIaのようなタンパク質（国際特許出願番号WO 96/12800およびWO 97/47651）を使用するVIIa因子／TF触媒複合体の特異的阻害は急性の動脈損傷によりひき起こされる血栓形成または細菌性敗血症と関係がある血栓症合併症を抑制する極めて有効な手段である。また、VIIa因子／TF活性の阻害がバロン血管形成術後の再発狭窄症を抑制することを示唆している実験的証拠もある（L.A. Harker, S.R. Hanson, J.N. Wilcox, A.B. Kellyの「止血」, 26, S1:76～82（1996年））。出血試験はヒヒで行なわれており、VIIa因子／TF複合体の阻害がトロンビン、血小板およびXa因子阻害を含む試験したどの抗凝血剤アプローチについても治療の有効性および出血の恐れに関して幅広い安全窓を有することを示している（L.A. Harker, S.R. Hanson, A.B. KellyのThromb. Hemostas., 74, 464～472（1995年））。

30

【0010】

特定のVIIa因子阻害剤は医療分野で実質的価値のある応用性を有する。特に、VIIa因子阻害剤は現在選択されている薬剤、すなわちヘパリンおよび関連する硫酸化多糖類が効果のない、または少ししか有効でない状況下で効果的である。したがって、有効であるが、望ましくない副作用をひき起こさない低分子量のVIIa因子特異的血餅形成阻害剤が必要とされる。本発明はVIIa因子活性を阻害する式Iの誘導体、さらに関連する利益を提供することによりこの必要性を満たす。

40

【0011】

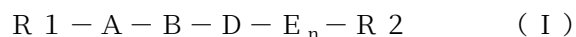
式Iの化合物は血餅形成酵素のVIIa因子の阻害剤である。本発明はまた、式Iの化合物の製造法、VIIa因子活性を阻害する方法、血餅形成を阻害する方法、VIIa因子活性の阻害により治療または予防することができる疾患、例えば血栓症、再発狭窄症、梗塞および狭心症を含む血栓塞栓症性疾患の治療および予防における式Iの化合物の使用、並びにこのような疾患に適用することができる薬剤の製造における式Iの化合物の使用に関する。

50

さらに、本発明は式 I の化合物を不活性担体と混合または会合して含有する組成物、特に式 I の化合物を薬学的に許容しうる担体物質または賦形剤および／または補助物質または添加剤を含有する医薬組成物に関する。

【0012】

本発明は特異的にVII a 因子活性を阻害する化合物を提供する。特に、本発明の対象は式 I



[式中、R1は

R13、

R12C(O)、または

N-末端基がR14C(O)、R15S(O)₂およびアミノ保護基からなる群より選択される置換基で置換されうる1～3個のアミノ酸であり、ここで

R12はそれぞれ置換されうるアルキル、アルケニル、アルキニル、アルキルオキシ、アルキルアミノ、アルケニルアミノ、アルキニルアミノ、アルケニルオキシ、アルキニルオキシ、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、アリールアルキル、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクロアルキルアルキル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニルおよびヘテロアルキニルからなる群より選択され、

R13はアミノ保護基、水素、アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルアルキルからなる群より選択され、

R14およびR15は独立してアルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルアルキルからなる群より選択され；

【0013】

AはA1-A2-A3基であり、ここで

A1はNHであり、

A2はCHR93であり、R93は4-アミジノフェニルメチルであり、

A3はC(O)であり；

BはB1-B2-B3基であり、ここで

B1はNR95であり、R95は水素およびアルキルからなる群より選択され、

B2はCHR97であり、R97は2-位がヒドロシカルボニル、アルキルオキシカルボニルおよびアリールアルキルオキシカルボニルからなる群より選択される置換基により置換されるエチルであり、

B3はC(O)であり；

DはD1-D2-D3基であり、ここで

D1はNHであり、

D2はCR81R82であり、R81およびR82は独立して水素、それぞれ未置換または置換されたアルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルアルキルからなる群より選択され、

D3はC(O)であり；

E_nは(E1-E2-E3)_nであり、ここで

nは0、1、2または3であり、

【0014】

E1はNR70であり、R70は水素、アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルアルキルからなる群より選択され、

E2はCR71R72であり、R71およびR72は独立して水素、それぞれ未置換または置換されたアルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルアルキルからなる群より選

10

20

30

40

50

択され、

E 3はC(O)であり；

R 2はNR 2 1 R 2 2、OR 2 3およびR 2 4からなる群より選択され、ここでR 2 1、R 2 2、R 2 3およびR 2 4は独立して水素、それぞれ未置換または置換されたアルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルアルキルからなる群より選択され；

アルキルおよびヘテロアルキルは1～13個の炭素原子を含有し、ヘテロアルキル基の1個またはそれ以上の炭素原子はN、OおよびSからなる群より選択されるヘテロ原子で置換され；

【0015】

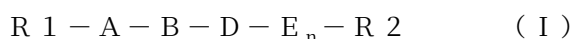
アルケニル、アルキニル、ヘテロアルケニルおよびヘテロアルキニルは2～13個の炭素原子を含有し、ヘテロアルケニルおよびヘテロアルキニル基の1個またはそれ以上の炭素原子はN、OおよびSからなる群より選択されるヘテロ原子で置換され；

アリールおよびヘテロアリールは5～13個の環炭素原子を含有し、ヘテロアリール基の1個またはそれ以上の炭素原子はN、OおよびSからなる群より選択されるヘテロ原子で置換され；

ヘテロシクロアルキルは3～8個の環炭素原子を含有し、そのうち1～3個の炭素原子はN、OおよびSからなる群より選択されるヘテロ原子で置換される)の化合物の何れかの立体異性体形態または任意の比率のその混合物、またはその薬学的に許容しうる塩である。

【0016】

本発明はVII a 因子活性を阻害するが、血液凝固過程に関与する他のプロテアーゼの活性を実質的に阻害しない化合物である式 I



(式中、R 1、R 2、A、B、D、E および n は上記で定義された通りである) のペプチドを提供する。式 I の化合物において、例えば A、B、D または E 基、あるいは R 1 が 1、2 または 3 個のアミノ酸を表わす場合は R 1 基に、アミノ酸またはその誘導体またはアミノ酸類似体または模擬体であり、このようなアミノ酸などのカルボキシ基間で形成されるアミド結合 C(O)-N を介して隣接する基とペプチド様に結合している構造単位が含まれる。ペプチド化学で一般的であるように、式 I に存在するアミノ酸あるいは A、B、D または E のような基の二価基はそれぞれのアミノ酸から形式的に水素原子をアミノ基より、またヒドロキシ基をカルボキシ基より除去して得られる。

【0017】

本明細書で使用される「アミノ酸」なる用語は幅広い意味で使用され、20個の天然に存在するアミノ酸を意味し、それらは遺伝子コードから翻訳され、特に断りがなければ L-アミノ酸および D-アミノ酸、並びにアミノ酸類似体のような化学的に修飾されたアミノ酸、ノルロイシンのような一般にタンパク質に取込まれない天然に存在するアミノ酸、およびアミノ酸の特性を示すことが当該技術分野で知られている化学的に合成された化合物を含むタンパク質の構成単位である。例えば、ペプチド化合物の配座制限について天然の Phe または Pro と同じであるフェニルアラニンまたはプロリンの類似体または模擬体は「アミノ酸」の定義に包含され、当業者に知られている。本明細書において、このような類似体および模擬体はアミノ酸の「機能性等価物」と呼ばれる。他のアミノ酸およびアミノ酸類似体の例は Roberts および Vellaccio によりリストされている (ペプチド：分析、合成、生物学；Gross および Meienhofer 編、第 5 巻、第 341 頁、アカデミックプレス (1983 年)；これは参照により本明細書に加入される)。

【0018】

本明細書で使用されるアミノ酸、アミノ酸の類似体および模擬体の略語、並びに他の略語を表 1 に示す。

【0019】

【表 1】

表1：本明細書で使用される略語

化合物／残基	略語	
酢酸	AcOH	
アセチルアミノメチル	Acm	
アラニン	Ala	
アリルオキシカルボニル	Alloc	
p-アミジノフェニルアラニン	pAph	10
2-アミノ酪酸	2-Abu	
アルギニン	Arg	
アスパラギン	Asn	
アスパラギン酸	Asp	
ベンジル	Bzl	
t-ブチルオキシカルボニル	Boc	20
t-ブチル	tBu	
シクロヘキシルグリシン	Chg	
シクロヘキシル	Chx	
シクロヘキシルアラニン	Cha	
システイン	Cys	
2,4-ジアミノ酪酸	Dab	30
2,3-ジアミノプロピオン酸	Dap	
ジクロロメタン	DCM	
ジイソプロピルカルボジイミド	DIC	
ジイソプロピルエチルアミン	DIEA	
N,N-ジメチルホルムアミド	DMF	
ジメチルスルホキシド	DMSO	
9-フルオレニルメチルオキシカルボニル	Fmoc	40
グルタミン酸	Glu	

【0020】

【表2】

表 1 (続き)

化合物／残基	略語	
グルタミン	Gln	
グリシン	Gly	
ヒスチジン	His	
N-ヒドロキシベンゾトリアゾール	HOBt	
4-ヒドロキシメチルフェノキシ酢酸	HMPA	10
イソロイシン	Ile	
ロイシン	Leu	
リシン	Lys	
メチル	Me	
N-メチルイミダゾール	NMI	
N-メチルモルホリン	NMM	20
2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン -6-スルホニル	Pmc	
オルニチン	Orn	
フェニル	Ph	
フェニルアラニン	Phe	
フェニルグリシン	Phg	
プロリン	Pro	30
セリン	Ser	
テトラヒドロフラン	THF	
テトラメチルフルオロホルムアミジノ ヘキサフルオロホスフェート	TFFH	
トレオニン	Thr	
トリフルオロ酢酸	TFA	
トリチル	Trt	40
トリプトファン	Trp	
バリン	Val	

【0021】

特に断りがなければ、上記で略書したアミノ酸はL-配置を有する。D-配置のアミノ酸は3文字表記を使用して前にDを付けて表示される（例えばD-Ala、D-Cys、D-Asp、D-Trp、D-pAph）。例えばPhe(4-CN)およびPhe[4-C(-S-CH₂-CH₂-S)-Ph]のような略語はフェニル基の4-位がそれぞれシア

ノ置換基または2-フェニル-1,3-ジチオラン-2-イル置換基を有するアミノ酸フェニルアラニンの残基を意味する。例えばDap [$-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$] のような略語は側鎖のアミノ基、すなわち3-位のアミノ基がアミジノ基- $\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$ (カルバムイミドイル基) で置換され、それによりプロピオン酸ユニットの3-位と結合したグアニジノ基- $\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$ が得られるアミノ酸2,3-ジアミノプロピオン酸の残基を意味する。例えばOrn [$-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$] またはCys(Me) のような略語はそれぞれ側鎖のアミノ基がアミジノ基を有するアミノ酸オルニチンの残基、またはメルカプト基がメチル基を有するアミノ酸システインの残基を意味する。TOTU、HATUおよびBOPなる用語はそれぞれO- [シアン (エトキシカルボニル) メチレンアミノ] -1,1,3,3-テトラメチルウロニウムテトラフルオロボレート、O- (7-アザベンゾトリアゾール-1-イル) -1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート、および1-ベンゾトリアゾリルオキシートリス (ジメチルアミノ) -ホスホニウムヘキサフルオロホスフェートを意味する。

10

【0022】

本明細書において、VIIa 因子活性の阻害に関して使用される「特異的」なる用語は式Iの化合物が (同じ濃度の阻害剤を使用して) プラスミンおよびトロンビンなどの他の特定のプロテアーゼの活性を実質的に阻害することなくVIIa 因子活性を阻害することができることを意味する。このようなプロテアーゼは血液凝固およびフィブリン溶解カスケード反応に参与している。

【0023】

本明細書で使用される「置換基」なる用語は本明細書で開示されたペプチド、ペプチド類似体、模擬体または有機化合物のペプチド主鎖または側鎖に置換される様々な化学基の何れかを意味する。置換基は当業者に知られている多種多様の部分を含有することができる (例えばGiannisおよびKolterのAngew. Chem. Int. Ed. Engl. 32, 1244~1267 (1993年) を参照; これは参照により本明細書に加入される)。

20

【0024】

本明細書で使用される「アルキル」なる用語は幅広い意味で使用され、約1~13個の炭素原子からなる直鎖状、分枝状または環状の飽和または不飽和炭素鎖を意味し、もちろん不飽和アルキル基は少なくとも2個の炭素原子、また環状アルキル基は少なくとも3個の炭素原子を含有する。不飽和基は1個以上の2重結合および/または3重結合を含有する。したがって、「アルキル」なる用語は例えばメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、t-ブチル、1-メチルブチル、2,2-ジメチルブチル、2-メチルフェニル、2,2-ジメチルプロピル、n-ペンチルおよびn-ヘキシル基、アルキレン基、環状炭素鎖、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルおよびシクロヘプチル基、並びに直鎖状または分枝状炭素鎖および環状炭素鎖の組み合わせ、例えばメチルシクロヘキシル-、シクロヘキシルメチル-、1-シクロヘキシルエチル-、2-シクロヘキシルエチル-、シクロペンチルメチル-、1-シクロペンチルエチル-、2-シクロペンチルエチル-、シクロプロピルメチル-、1-シクロプロピルエチル-、2-シクロプロピルエチルまたはシクロプロピルメチレン基を含む。したがって、アルキルはまた1個以上のアルキル置換基を有する環状アルキル基を含む。他のアルキルの例は下記の特定の不飽和基である。さらに、上記で定義されたようなアルキルは1個以上の同一または異なる置換基、例えば1、2、3または4個の置換基で置換することができ、それらの置換基は所望の適当な位置に存在することは理解されよう。

30

40

【0025】

好ましくは、「アルキル」なる用語は1~6個の炭素原子からなる直鎖状または分枝状の飽和炭素鎖、2~6個の炭素原子からなる直鎖状または分枝状の不飽和炭素鎖、あるいは3~8個の炭素原子、特に3~6個または4~6個の環炭素原子からなる環状アルキル基を意味する。不飽和アルキル炭素鎖に関して、 (C_2-C_6) -アルケニルおよび (C_2-C_6) -アルキニルが好ましい。不飽和アルキル基の例はビニル、プロパー1-エニル、プロパ

50

ー2-エニル (=アリル)、ブター2-エニル、ブテンー3-イル、3-メチルブター2-エニル、エチニル、プロパー2-イニル、ブター2-イニルなどのようなアルケニルおよびアルキニル基である。

【0026】

同様に、「アシル」なる用語は幅広い意味で使用され、カルボニル部分 $\text{C}(\text{O})-$ と結合しており、このカルボニル基を介して結合する約1～13個の炭素原子からなる直鎖状、分枝状または環状の飽和または不飽和炭素鎖、あるいは5～13個の環炭素原子を有するアリール基を意味する。アシル基はそれぞれカルボキシル基 $\text{C}(\text{O})-\text{OH}$ を含有する化合物から形式的にヒドロキシ基を除去することにより誘導されると考えられる。したがって、「アシル」なる用語は例えばホルミル、アセチル、ベンゾイルなどのような基を含む。

10

アシル基の好ましい基には、好ましい数の炭素原子を有し、さらにそれを介して結合するカルボニル基を含有する上記の直鎖状、分枝状または環状の飽和または不飽和炭素鎖が含まれる。

【0027】

「アリール」なる用語は約5～13個の環炭素原子、および共役した π 電子系を有する少なくとも1個の“環”基を含有する芳香族基を意味する。好ましくは、「アリール」なる用語は6～10個の環炭素原子を有する芳香族基を意味する。アリールの例にはフェニル、ナフチル、例えば1-ナフチルおよび2-ナフチル、フルオレニル、ビフェニル基、その類似体および誘導体が含まれ、これらはすべて場合により1個以上、例えば1、2、3または4個の同一または異なる置換基で置換することができ、その置換基は所望の適

20

当な位置に存在する。例えば、一置換フェニル基は2-、3-または4-位で、二置換フェニル基は2,3-、2,4-、2,5-、2,6-、3,4-または3,5-位で置換される。

【0028】

「アリールアルキル」なる用語は1個以上、例えば1または2個の同一または異なるアリール基で置換された、上記で定義されたようなアルキルを意味する。適当なアリールアルキル基にはベンジル、フェニルエチル、例えば1-フェニルエチルおよび2-フェニルエチル、ジフェニルメチル、ジフェニルエチル、例えば1,2-ジフェニルエチルおよび2,2-ジフェニルエチル、フェニルプロピル、例えば1-フェニルプロピル、2-フェニルプロピルおよび3-フェニルプロピル、ジフェニルプロピル、例えば2,3-ジフェニル

30

プロピルおよび3,3-ジフェニルプロピル、ナフチルメチル、ナフチルエチル、例えば1-ナフチルエチルおよび2-ナフチルエチル、ナフチルプロピル、例えば1-ナフチルプロピル、2-ナフチルプロピルおよび3-ナフチルプロピル、1,2,3,4-テトラヒドロ-1-ナフチル、1,2,3,4-テトラヒドロ-2-ナフチルなどが含まれ、これらはすべて場合により置換されうる。

【0029】

本明細書で使用される「ヘテロアルキル」、「ヘテロアルケニル」、「ヘテロアルキニル」、「ヘテロアリールアルキル」および「ヘテロアリール」なる用語はそれぞれ1個以上の炭素原子、例えば1、2または3個の炭素原子がN、OまたはSのような同一または異なるヘテロ原子で置換されたアルキル、アリールアルキルおよびアリール基を意味する。

さらに、「ヘテロシクロアルキル」なる用語は1個以上の環炭素原子がヘテロ原子で置換された環状アルキル基に関して使用される。好ましくは、「ヘテロシクロアルキル」なる用語は3～8個の環炭素原子を有し、そのうち1、2または3個がN、OまたはSのような同一または異なるヘテロ原子で置換された環状アルキル基を意味する。これらの基はすべて所望の適当な位置で結合することができ、例えば窒素ヘテロ環の場合は適当な環窒素原子である。適当なヘテロアリール基、ヘテロアリールアルキル基、ヘテロアルキル基およびヘテロシクロアルキル基には例えば2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、2-チエニル、3-チエニル、インドリル、イミダゾリル、フリル、ピペロニル、2-ピリジルメチル、3-ピリジルメチル、4-ピリジルメチル、1-(2-ピリジル)エチル、1-(3-ピリジル)エチル、1-(4-ピリジル)エチル、2-(2-ピリジル)エチ

40

50

ル、2-(3-ピリジル)エチル、2-(4-ピリジル)エチル、ピコリル、ピロリジニル、ピペリジニル、テトラヒドロフリル、テトラヒドロフラン-2-イルメチル、モルホリニル、4-モルホリニル、2-(4-モルホリニル)エチル、ピペラジニル、2-(4-メチルピペラジニル-1-イル)エチルなどが含まれ、これらはすべて場合により1個以上、例えば1、2、3または4個の同一または異なる置換基で置換することができる。

【0030】

本発明のペプチドはN-末端および／またはC-末端で適当な試薬と反応させることにより、あるいはそれぞれアミノ保護基またはカルボキシ保護基を導入する（または存在させる）ことにより修飾することができる。ペプチドまたはペプチド類似体のN-末端はN-末端のアミノ基が例えばアシル基（例えばアセチル、シクロペンチルカルボニル、イソキノリルカルボニル、フロイル、トシル、ベンゾイル、ピラジニルカルボニルまたは他のこのような基）により；イソシアネート、クロロホルメート、アルキル化剤と反応させることにより；または上記のような置換基により置換されうる他のこのような基を導入することにより置換されるように化学的に修飾することができる。本明細書において、「アミノ基」なる用語は幅広く使用され、ペプチドに存在する遊離アミノ基、例えば第1、第2または第3アミノ基を意味する。比較して、「N-末端」なる用語は慣用的に記載されたペプチドに存在する第1アミノ酸の α -アミノ基を意味する。

【0031】

本発明のペプチドのN-末端はそれにアミノ保護基を結合させることにより保護することができる。本明細書において、「アミノ保護基」なる用語は幅広く使用され、例えば本発明のペプチドのN-末端に存在する α -アミノ基などの遊離アミノ基と反応することができる化学基を意味する。それと反応することにより、アミノ保護基は例えば合成工程中に、または最終化合物のエキソペプチダーゼ活性により起こるような望ましくない反応に対して反応性のアミノ基を保護する。アミノ基の修飾はまた、別の利点、例えば化合物の溶解度または活性の増加をもたらす。様々なアミノ保護基は本明細書で開示されているか、または当該技術分野で知られており、例えばアセチル、*t*-ブチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル基またはベンゾイル基のようなアシル基、さらにそれ自体アミノ保護基により修飾することができるアミノアシル基である。他のアミノ保護基は例えば「ペプチド」、GreeneおよびMeienhofer編、第3巻（アカデミックプレス社、1981年）；GreeneおよびWutsの「有機合成の保護基」、第2版、第309～405頁（John Wiley & Sons, 1991年）に記載されており、それぞれ参照により本明細書に加入される。本発明のペプチドまたはペプチド類似体のN-末端アミノ基のこのような修飾の生成物は「N-末端誘導体」と呼ぶ。

【0032】

同様に、ペプチドのC-末端に存在するカルボキシ基のようなカルボキシ基はカルボキシ保護基を使用して化学的に修飾することができる。「カルボキシ基」および「C-末端」なる用語は上記で定義された「アミノ基」および「N-末端」なる用語と一致して使用される。ペプチドのC-末端に存在する基のようなカルボキシ基はC-末端カルボキシ基のアルコールまたはアルデヒドへの還元により、あるいはオーラル（oral）エステルの生成により、あるいはチアゾリルシクロヘキシルまたは他の基のような置換基でのカルボキシ基の置換により修飾することができる。オーラルエステルは当該技術分野でよく知られており、例えばメトキシメチル、エトキシメチル、イソプロポキシメチルなどのようなアルキルオキシメチル基；メトキシエチル、エトキシエチル、プロポキシエチル、イソプロポキシエチルなどのような1-((C₁-C₄)-アルキルオキシ)エチル基；5-メチル-2-オキソ-1,3-ジオキサソレン-4-イルメチル、5-フェニル-2-オキソ-1,3-ジオキサソレン-4-イルメチルなどのような2-オキソ-1,3-ジオキサソレン-4-イルメチル基；メチルチオメチル、エチルチオメチル、イソプロピルチオメチルなどのような((C₁-C₃)-アルキルチオ)メチル基；ピバロイルオキシメチルアセトキシメチルなどのようなアシルオキシメチル基；エトキシカルボニルメチル基；1-アセトキシエチルのような1-アシルオキシ-1-置換メチル基；3-フタリジルまたは5,6-ジメチル

フタリジル基；1－（エトキシカルボニルオキシ）エチル基のような1－(((C₁－C₄)－アルキルオキシ)カルボニルオキシ)エチル基；および1－（メチルアミノカルボニルオキシ）エチル基のような1－(((C₁－C₄)－アルキルアミノ)カルボニルオキシ)エチル基である。

【0033】

本発明のペプチドはそれにカルボキシ保護基を結合させることにより修飾することができる。カルボキシ保護基は当該技術分野でよく知られており、ペプチドと結合することによりカルボキシ基を望ましくない反応から保護する（例えば上記のGreeneおよびWutsの文献、第224～276頁（1991年）を参照；これは参照により本明細書に加入される）。当業者ならば、ペプチドのN－末端アミノ基またはC－末端カルボキシ基に対して有効である上記のような修飾は例えば本発明のペプチドのアミノ酸またはアミノ酸類似体の側鎖に存在する反応性アミノ基またはカルボキシ基に対しても有効であることは理解されよう。このような修飾を行なうための方法は本明細書で開示されているか、または当該技術分野で知られている。

【0034】

本発明の化合物中のL－またはD－アミノ酸の選択は幾分ペプチドの所望の特性に依存する。例えば、1種以上のD－アミノ酸の組込みは試験管内または生体内での化合物の安定性を高めることができる。1種以上のD－アミノ酸の組込みは化合物の薬理活性を増加または減少することもできる。化合物を短時間だけ活性にすることが望ましい場合もある。このような場合、化合物中への1種以上のL－アミノ酸の組込みは個体の内因性ペプチダーゼによる生体内での化合物の消化を可能にし、それにより活性化合物に対する個体の露出が制限される。当業者は例えば個体の年齢および健康状態を考慮することにより本発明の化合物の必要な望ましい特性を決定することができる。一般に、本発明はすべての立体異性体およびすべての比率の2種以上の立体異性体の混合物、例えば純粋なエナンチオマー、純粋なジアステレオマー、すべての比率の2種のエナンチオマーの混合物、例えばラセミ化合物、ジアステレオマー、シス異性体、トランス異性体、E異性体またはZ異性体の混合物としての式Iの化合物に関する。本発明はまた、すべての互変異性体としての式Iの化合物に関する。さらに、本発明は式Iの化合物のプロドラッグ、例えば上記のようなカルボキシ基から得られるエステル、アミド、アルデヒドまたはアルコールあるいはアミノ基、イミノ基、グアニジノ基およびアミジノ基を含むアシル化可能な基から得られる(C₁－C₆)－アルキルカルボニル、(C₁－C₆)－アルキルオキシカルボニルまたはアリール－(C₁－C₄)－アルキルオキシカルボニル誘導体のようなアシル誘導体に関し、また本発明は式Iの化合物の活性代謝物質に関する。

【0035】

式Iの化合物において、R₁基は好ましくはR₁₂C(O)である。R₁₂を表わす基はアルキル、アルケニル、アルキニル、アルキルオキシ、アルキルアミノ、アルケニルアミノ、アルキニルアミノ、アルケニルオキシ、アルキニルオキシ、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクロアルキルアルキル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニルおよびヘテロアルキニル基であり、これらの基はすべて未置換であるか、または置換されている。好ましくは、R₁₂はアルキル、アルケニル、アルキニル、アルキルオキシ、アルケニルオキシ、アルキニルオキシ、アルキルアミノ、アルケニルアミノ、アルキニルアミノ、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキルまたはヘテロアリールアルキルであり、より好ましくはアルケニルオキシ、アルケニルアミノまたはアリールであり、これらの基はすべて未置換であるか、または置換されている。特に好ましくは、R₁₂はそれぞれ1個の2重結合を含有する(C₂－C₆)－アルケニルオキシまたは(C₂－C₆)－アルケニルアミノのようなアルケニルオキシまたはアルケニルアミノ、例えばアリルオキシまたはアリルアミノである。さらに、好ましくはR₁₂は(C₂－C₆)－アルケニルオキシである。R₁₂を表わす基は未置換であるか、または置換されている。R₁₂基が置換されている場合、それは好ましくはハロゲン、すなわちフッ素、塩素、臭素または沃素、トリフルオロメチル、ヒドロキシ、ニトロ、アミノ、シアノ、カ

ルボキシ、アミノカルボニル、アルキルスルホニル、アミノスルホニル、アルキルオキシ、アルキルカルボニルアミノおよびモノーまたはジアルキルアミノからなる群より選択される1個以上の同一の置換基で置換される。同様に、R 1 3、R 1 4およびR 1 5を表わす基は未置換であるか、または例えばR 1 2に存在しうる置換基により置換されており、R 1 4およびR 1 5は互いに独立して同一または異なる基である。

【0036】

二価の4-アミジノフェニルアラニン残基 $-\text{NH}-\text{CH}[-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-(4-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2)]-\text{C}(\text{O})-$ である式Iの化合物中のA基は好ましくは(L)-4-アミジノフェニルアラニン残基(=(S)-4-アミジノフェニルアラニン残基)である。二価のグルタミン酸残基 $-\text{NH}-\text{CH}[-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{OH}]-\text{C}(\text{O})-$ またはその薬学的に許容しうる塩またはエステルであるB基は好ましくは(L)-グルタミン酸残基(=(S)-グルタミン酸残基)またはその薬学的に許容しうる塩またはエステルである。R 9 5は好ましくは水素または (C_1-C_4) -アルキル、より好ましくは水素またはメチル、特に好ましくは水素である。

【0037】

置換されたR 8 1およびR 8 2基は独立して、好ましくはそれぞれ保護基で置換されうるアミノ、アミノカルボニル、アミジノ、グアニジノ、アミノアルキル、ヒドロキシ、メルカプト；アセトイミド($-\text{C}(=\text{NH})-\text{CH}_3$)、ニトロおよびシアノからなる群より選択される1個以上、例えば1、2、3または4個の同一または異なる基を有する。ニトロ基に関して、本発明の式Iの化合物では好ましくは2個以下のニトロ基が存在する。列挙した基の適当な保護基は当業者に知られており、GreeneおよびWutsの「有機合成の保護基」、第2版(John Wiley & Sons, 1991年)のような上記文献に記載されている；これは参照により本明細書に加入される。保護基の例は上記のアミノ保護基であり、例えばアミジノ基およびグアニジノ基の保護基でもある t -ブチルオキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニルおよびアリルオキシカルボニル；グアニジノ基を保護するために使用することができるニトロ基；ヒドロキシ、メルカプトなどのような基を保護するために使用することができるベンジル、メチル、トリチルまたはアセチルアミノメチルのような基である。好ましくは、R 8 1およびR 8 2は水素、 (C_1-C_6) -アルキルのようなアルキル、フェニルのようなアリール、フェニル $-(\text{C}_1-\text{C}_2)$ -アルキルのようなアリールアルキル、およびヘテロアリール $-(\text{C}_1-\text{C}_2)$ -アルキルのようなヘテロアリールアルキルからなる群より選択され、これらはすべて未置換であるか、または置換されており、ヘテロアリールは好ましくはN、OまたはSのような1または2個の同一または異なる環ヘテロ原子を含有する単環式または二環式芳香環系の基である。より好ましくは、R 8 1は水素であり、R 8 2は上記で定義されたような未置換または置換された基である。

【0038】

特に好ましくは、D基はArg、Dap、Dab、Orn、Lys、Dap $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2]$ 、Dab $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2]$ 、Lys $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2]$ 、Lys $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{CH}_3]$ 、Orn $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{CH}_3]$ 、Dab $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{CH}_3]$ 、Dap $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{CH}_3]$ 、Dab(Alloc)、Asn、Gln、Met、Ser、Thr、Ser(Bzl)、Thr(Bzl)、Cys(Me)、Cys(Bzl)、Cys(Acm)、Arg(NO₂)、His、Trp、Phg、Gly、Ala、Val、Ile、Leu、Phe、Phe(4-NO₂)、Phe(4-NH $-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$)、2-Abu、Ala(3-CN)、Ala[3- $\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$]、2-Abu(4-CN)および2-Abu[4- $\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$]からなる群より選択される基である。それから特に好ましいD基が選択されるサブグループはArg、Dap、Dab、Orn、Lys、Dap $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2]$ 、Dab $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2]$ 、Lys $[-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2]$ 、Asn、Ser、Thr、Ser(Bzl)、Arg(NO₂)、Trp、Phg、Ala、Val、Ile、Leu、Phe、2-Abu、Ala(3-CN)、Ala[3- $\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$]、2-Abu(4-CN)および2-Abu[4- $\text{C}(=\text{NH})-\text{N}$

10

20

30

40

50

H₂] からなる群より形成される。

【0039】

数字の n は好ましくは 0、1 または 2、より好ましくは 0 または 1 である。n が 0 である場合、R₂ 基は D₃ を表わすカルボニル基と直接結合している。n が 0 でない場合、R₂ 基は末端基 E₃ を表わすカルボニル基と結合している。n が 2 または 3 である場合、E 基はすべて同一または異なる基である。

【0040】

置換された R₇₁ および R₇₂ 基は独立して、好ましくはそれぞれさらに置換されうるアルキル、アルキルオキシ、ハロゲン、トリフルオロメチル、ニトロ、シアノ、アルキルスルホニル、アルキルカルボニル、フェニルカルボニルおよび 2-フェニル-1,3-ジチオラン-2-イルからなる群より選択される 1 個以上、例えば 1、2、3 または 4 個の同一または異なる基を有する。R₇₁ および R₇₂ に存在しうる置換基のサブグループはそれぞれさらに置換されうるアルキル、アルキルオキシ、ハロゲン、トリフルオロメチル、ニトロ、シアノ、アルキルスルホニルおよびアルキルカルボニルからなる群より形成される。好ましくは、R₇₁ は水素であり、R₇₂ は上記で定義されたような未置換または置換された基である。R₇₂ は好ましくはアルキル、特にシクロアルキルアルキル、例えばシクロアルキル-(C₁-C₂)-アルキルのような環状アルキルを含む (C₃-C₈)-アルキル；アリール、特にフェニル；アリールアルキル、特にフェニル-(C₁-C₂)-アルキル；またはヘテロアリールアルキル、特にヘテロアリール-(C₁-C₂)-アルキルであり、これらの基はすべて未置換であるか、または置換されており、ヘテロアリールは好ましくは N、O および S のような 1 または 2 個の同一または異なる環ヘテロ原子を含有する単環式の 5 員または 6 員の芳香環である。E 基（複数可）は特に数字 n が 1 である場合、好ましくは未置換の、またはフェニル基が置換された Ph e、Ch a および Ch g からなる群より選択される。特に好ましくは、E は Ch a、Ch g および Ph e [4-C(-S-C H₂-C H₂-S)-] -Ph からなる群より選択される。E 基に存在する R₇₀ 基は好ましくは水素、アルキル、特に (C₁-C₄)-アルキル、例えばメチル、あるいはアリールアルキル、特にフェニル-(C₁-C₄)-アルキル、例えば未置換のまたはフェニル基が置換されたベンジルおよび 2-フェニルエチルである。特に好ましくは、R₇₀ は水素である。

【0041】

置換された R₂₁、R₂₂、R₂₃ および R₂₄ は独立して、好ましくはそれぞれさらに置換されうるハロゲン、特に F、Cl、Br、ヒドロキシ、トリフルオロメチル、ニトロ、シアノ、ジアルキルアミノ、アルキルオキシ、例えばメチルオキシ、アルキレンジオキシ、アルキルスルホニル、アミノスルホニルおよびオキソ (=O) からなる群より選択される 1 個以上、例えば 1、2、3 または 4 個の同一または異なる基を有する。アルキレンジオキシの例はメチレンジオキシ (O-CH₂-O) または 1,2-エチレンジオキシである。ジアルキルアミノの例はジメチルアミノ、ジエチルアミノまたはジブチルアミノであり、アルキルスルホニルの例はメチルスルホニル、エチルスルホニルまたはブチルスルホニルである。R₂ は好ましくは R₂₁ および R₂₂ が上記で定義された通りである NR₂₁ R₂₂ である。R₂₁ は好ましくは水素、(C₁-C₄)-アルキル、あるいは未置換の、またはフェニル基が置換されたフェニル-(C₁-C₄)-アルキルである。特に好ましくは R₂₁ は水素であり、すなわち特に好ましくは NR₂₁ R₂₂ は NHR₂₂ であり、したがって特に好ましくは R₂ は NHR₂₂ である。R₂₂ は好ましくは水素、アルキル、特にシクロアルキルアルキル、例えばシクロアルキル-(C₁-C₄)-アルキルのような環状アルキルを含む (C₁-C₁₂)-アルキル；アリール、特に (C₆-C₁₃)-アリール；アリールアルキル、特に 1 または 2 個の (C₆-C₁₂)-アリール基で置換された (C₁-C₄)-アルキル；ヘテロアリールアルキル、特に N、O または S のような 1 または 2 個の同一または異なるヘテロ原子を含有する単環式または二環式ヘテロアリール基で置換された (C₁-C₄)-アルキル；およびヘテロシクロアルキルアルキル、特に N、O または S のような 1 または 2 個の同一または異なるヘテロ原子を含有する単環式の 4、5、6 または 7 員の

10

20

30

40

50

ヘテロシクロアルキル基で置換された(C_1-C_4)-アルキルからなる群より選択される基であり、これらの基はすべて未置換であるか、または上記のように置換されている。

【0042】

特に好ましくは、 R_{22} は水素、ベンジル、ナフチルメチル、ピリジルメチル、フェニルエチル、ナフチルエチル、ピリジルエチル、フェニルプロピル、ナフチルプロピル、ピリジルプロピル、フルオレニル、ジフェニルメチル、ジフェニルエチルおよびジフェニルプロピルからなる群より選択される基であり、これらの基は未置換であるか、または好ましくはそれぞれさらに置換されうるF、Cl、Br、ヒドロキシ、メトキシ、メチレンジオキシ、ニトロ、シアノ、ジアルキルアミノ、アルキルスルホニル、アミノスルホニルおよびトリフルオロメチルからなる群より選択される1個以上、例えば1、2、3または4個の同一または異なる置換基で置換されている。一連の特に好ましい式Iの化合物群は同時に数字nが0ではなく、 R_2 が NHR_{22} であり、そして R_{22} が水素ではない化合物により形成され、これらの化合物においてD基の好ましい表示は As_n である。好ましい式Iの化合物は1種以上の基または残基が好ましい表示である化合物であり、すべての好ましい表示の組み合わせは本発明の対象である。

10

【0043】

本発明の好ましい化合物群は、

R_1 は $R_{12}C(O)$ であり、 R_{12} は上記で定義された通りであり、

Aは上記で定義された通りであり、

Bは上記で定義された通りであり、好ましくはBは $NH-CHR_{97}-C(O)$ であり、ここで R_{97} は2一位がヒドロシカルボニルまたはその塩または(C_1-C_4)-アルキルオキシカルボニルのようなアルキルオキシカルボニルにより置換されるエチルであり、

20

Dは $NH-CHR_{82}-C(O)$ であり、 R_{82} は上記で定義された通りであり、

E_n は $(E_1-E_2-E_3)_n$ であり、ここで

nは0、1または2であり、

E_1 はNHであり、

E_2 は CHR_{72} であり、 R_{72} 基は互いに独立して同一または異なって上記で定義された通りであり、

E_3 は $C(O)$ であり、そして

R_2 は上記で定義された通りである、何れかの立体異性体または任意の比率のその混合物としての式Iの化合物、その薬学的に許容しうる塩、アミドおよびエステルにより形成される。

30

【0044】

特に好ましい化合物群は、

R_1 はアリルオキシカルボニルまたはアリルアミノカルボニルであり、

Aは(L)-4-アミジノフェニルアラニンの残基であり、

Bは(L)-グルタミン酸または(L)-グルタミン酸の薬学的に許容しうる塩またはエステルの残基であり、

DはArg、Dap、Dab、Orn、Lys、Dap $[-C(=NH)-NH_2]$ 、Dab $[-C(=NH)-NH_2]$ 、Lys $[-C(=NH)-NH_2]$ 、Lys $[-C(=NH)-CH_3]$ 、Orn $[-C(=NH)-CH_3]$ 、Dab $[-C(=NH)-CH_3]$ 、Dap $[-C(=NH)-CH_3]$ 、Dab(Alloc)、Asn、Gln、Met、Ser、Thr、Ser(Bzl)、Thr(Bzl)、Cys(Me)、Cys(Bzl)、Cys(Acm)、Arg(NO_2)、His、Trp、Phg、Gly、Ala、Val、Ile、Leu、Phe、Phe(4- NO_2)、Phe(4-NH- $C(=NH)-NH_2$)、2-Abu、Ala(3-CN)、Ala[3- $C(=NH)-NH_2]$ 、2-Abu(4-CN)および2-Abu[4- $C(=NH)-NH_2]$ からなる群より選択される基であり、

40

nは0または1であり、

EはCha、ChgおよびPhe[4- $C(-S-CH_2-CH_2-S-)-Ph]$ からな

50

る群より選択される基であり、

R₂はNHR₂であり、

R₂は水素、またはそれぞれ未置換またはF、Cl、Br、ヒドロキシ、メトキシ、メチレンジオキシ、ニトロ、シアノ、ジアルキルアミノ、アルキルスルホニル、アミノスルホニルおよびトリフルオロメチルからなる群より選択される1個またはそれ以上の同一または異なる置換基で置換されるベンジル、ナフチルメチル、ピリジルメチル、フェニルエチル、ナフチルエチル、ピリジルエチル、フェニルプロピル、ナフチルプロピル、ピリジルプロピル、フルオレニル、ジフェニルメチル、ジフェニルエチルおよびジフェニルプロピルからなる群より選択される基である、何れかの立体異性体または任意の比率のその混合物としての式Iの化合物、その薬学的に許容しうる塩、アミドおよびエステルにより形成される。

10

特定の本発明の化合物の例には下記の表2および実施例部分に記載した化合物、それらの薬学的に許容しうる塩、アミドおよびエステルが含まれる。

【0045】

式Iの化合物は例えば固相法に従って、

a1) 式 $Fmoc-E_n-OH$ (式中、nは1、2または3である) の化合物を樹脂、一般には固体支持体と結合した酸感受性リンカーと結合させ、保護基Fmocを除去し、式 $Fmoc-D1-D2-C(O)OH$ の化合物を得られた遊離アミノ基と結合させ、再び保護基Fmocを開裂除去するか、またはnが0である式Iの化合物を製造する場合は式 $Fmoc-D1-D2-C(O)OH$ の化合物を樹脂、一般には固体支持体に結合した酸感受性リンカーと結合させ、保護基Fmocを開裂除去し、

20

a2) 式 $Fmoc-B1-B2-C(O)OH$ の化合物を工程a1) で得られた遊離アミノ基と結合させ、保護基Fmocを開裂除去し、

a3) 式 $R1-A1-A2-C(O)OH$ の化合物を工程a2) で得られた遊離アミノ基と結合させ、そして

a4) トリフルオロ酢酸を使用して工程a1) ~ a3) に従って得られた化合物を樹脂から分離する

ことからなる方法により製造することができる。

【0046】

本法で使用される樹脂またはリンカーはそれぞれ樹脂またはリンカーと結合させる化合物のカルボキシ基がアミド基 $C(O)-NH_2$ に変換されるようなタイプのもの、例えばクノールリンカーまたはリンクアミド樹脂である。数字nが2または3である化合物の製造もまた、次のようにしてE_n単位を段階的に構成することにより行なうことができる。工程a1)において、最初に式 $Fmoc-E_n-OH$ (式中、nは2または3である) の化合物の代わりに式 $Fmoc-E_n-OH$ (式中、nは1である) の化合物を樹脂に結合した酸感受性リンカーと結合させ、次に保護基Fmocを開裂除去し、第2の式 $Fmoc-E_n-OH$ (式中、nは1である) の化合物を得られた遊離アミノ基と結合させる。nが3である化合物を製造する場合、保護基Fmocを除去し、第3の式 $Fmoc-E_n-OH$ (式中、nは1である) の化合物を得られた遊離アミノ基と結合させる。最後に保護基Fmocを開裂除去し、工程a2) ~ a4) を行なう。

30

40

【0047】

他の式Iの化合物の製造法は、

b1) 式 $Fmoc-B1-CHR_{97}-C(O)OPG$ (式中、R₉₇は2-ヒドロキシカルボニルエチルであり、PGは保護基である) の化合物の側鎖カルボン酸をアミノ官能化樹脂と結合した酸感受性ベンジルアルコール型のリンカーと結合させ、

b2) 保護基PGを除去し、

b3) 式 $H_2N-D2-D3-E_n-R_2$ (式中、nは0、1、2または3である) の化合物を工程b2) で得られた遊離カルボン酸と結合させ、

b4) 保護基Fmocを開裂除去し、

b5) 式 $R1-A1-A2-C(O)OH$ の化合物を工程b4) で得られた遊離アミノ

50

基と結合させ、そして

b 6) トリフルオロ酢酸を使用して工程 b 1) ~ b 5) に従って得られた化合物を樹脂から分離する

ことからなる。

【0048】

上記の最初の工程の修飾と同様にして、本法で構造単位 $H_2N-D_2-D_3-E_n-R_2$ を樹脂上で段階的に構成することができる。本法と似ている別の方法に従って、最初に D 基の D 2 基側鎖に存在する、すなわち R 8 1 および R 8 2 基の一方に存在するカルボン酸基を樹脂に結合したリンカーと結合させることにより式 I の化合物を製造することもできる。式 $Fmoc-B1-CH(R_9)R_7-C(O)OPG$ の上記化合物と同様に、このような化合物は例えば式 $Fmoc-NH-CR_81R_82-C(O)OPG$ (式中 R 8 2 は上記で定義された通りであるが C(O)OH 基を含有し、そして R 8 1 は上記で定義された通りである) を有する。例えば、R 8 1 が水素であり、R 8 2 がヒドロキシカルボニルメチルである場合、式 $Fmoc-NH-CR_81R_82-C(O)OPG$ の化合物は保護アスパラギン酸誘導体である。式 I の D 3 基であるカルボニル基の C(O)OPG 基を脱保護した後、得られた遊離カルボン酸基を $H_2N-E_n-R_2$ または $H-R_2$ のような化合物と結合させる。次に、保護基 Fmoc を脱保護した後、得られたアミノ基を式 $Fmoc-B1-B2-C(O)OH$ の化合物と結合させ、そしてアミノ基を脱保護した後、その生成物を式 $R1-A1-A2-C(O)OH$ と結合させる。また、使用される樹脂またはリンカーは樹脂またはリンカーと結合させる化合物のカルボキシ基がアミド基 $C(O)-NH_2$ に変換されるようなタイプのものである。例えば、アミド樹脂を使用して、樹脂と結合したアスパラギン酸単位を最終化合物のアスパラギン単位に変換することができる。

【0049】

本発明の化合物は例えば自動合成器を使用して化学的に合成することができる(実施例 1 参照)。ペプチドのアミノ酸側鎖に存在する基のような反応性基、あるいは N-末端または C-末端の反応性基の選択的修飾は増加した溶解度または高められた阻害作用のような望ましい特性を本発明の化合物に付与することができる。固相合成法が使用される場合、化合物の化学組成を操作することができ、発生のペプチドを樹脂と結合させて、またはペプチドを樹脂から分離した後、例えば N-末端アシル化、例えばアセチル化合物のような N-末端誘導体を得る。また、C-末端カルボキシ基などの化合物のカルボキシ基に対しても同様の修飾を行なうことができ、例えばアミド化することができる。

【0050】

本化合物はまた、従来の医化学または溶液相有機化学の方法に従って保護アミノ酸を標的分子と結合させ、当該技術分野で知られている標準法により脱保護して製造することができる。一般に、固相法または溶液相法により式 I の化合物を合成するのに適した反応、並びにカルボジイミド、TOTU または HATU のような適当なカップリング剤、または溶媒および反応温度のような実験条件は当業者によく知られており、本明細書で引用した文献などの標準的な文献に記載されている。また、下記で例示する。

【0051】

合成した化合物は逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC; 実施例 1 参照)あるいは例えば化合物の大きさ、電荷または疎水性に基づく他の分離法のようなよく知られている方法を使用して精製することができる。同様に、アミノ酸配列分析法または質量分析法(MS)のようなよく知られている方法を使用して本発明の化合物の構造を決定することができる(実施例 1 参照)。

【0052】

様々な配置の置換基を含有する種々の化合物は VII a 因子に対して様々なレベルの阻害活性を示す。例えば、置換基の選択は化合物の結合親和性に影響を与える。これらの化合物を実施例に記載の手順に従って合成した。ペプチドの阻害活性試験は実施例 22 に記載のアッセイを使用して行なった。このような方法を使用して当業者はその修飾化合物を含む本明細書で開示した化合物を合成することができ、また化合物の VII a 因子阻害活性を測

定することができる。本発明の組成物は均質組成物として、または様々な組み合わせの置換基を含有する化合物の混合物として提供することができる。置換基の選択により可能になった適応性は本発明の化合物および組成物の生物学的および物理化学的特性を大幅にコントロールする。

【0053】

本発明はVII因子活性を特異的に阻害する化合物を提供する。このような化合物はVII a 因子活性に対して好ましくは500nM以下、より好ましくは50nM以下のK_iを有し、（同じ濃度の阻害剤を使用する）VII a 因子の阻害に関して血液凝固およびフィブリン溶解カスケード反応に関与する他のプロテアーゼの活性を実質的に阻害しないこのような他のプロテアーゼの例はX a 因子、トロンビンおよびプラスミンである。

10

次の表2に本発明を例示する式Iの選択化合物のVII a 因子阻害活性を示す（K_iを測定する方法については実施例22を参照）。

【0054】

【表3】

表 2 : 式 I の選択化合物のVII a 因子阻害活性

	Ki(μ M)	
Alloc-pAph-Glu-Arg-Cha-NH ₂	0.046	
アリルアミノカルボニル-pAph-Glu-Arg-Cha-NH ₂	0.042	
Alloc-pAph-Glu-Arg-Chg-NH ₂	0.238	
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	0.012	10
Alloc-pAph-Glu-Ala[3-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	0.03	
Alloc-pAph-Glu-Asn-Cha-NH ₂	0.021	
Alloc-pAph-Glu-Dab-Cha-NH ₂	0.055	
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH ₂]-NH ₂	0.26	
Alloc-pAph-Glu-Gly-Cha-NH ₂	0.12	
Alloc-pAph-Glu-Thr(Bzl)-NH-(CH ₂) ₂ -CH(Ph) ₂	0.17	20
Alloc-pAph-Glu-Dab-NH-(CH ₂) ₂ -Ph	0.38	
Alloc-pAph-Glu-Asn-NH-CH ₂ -Chx	0.15	
Alloc-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-CH ₃]-Cha-NH ₂	0.11	
Alloc-pAph-Glu-Dab[-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	0.012	
Alloc-pAph-Glu-2-Abu(4-CN)-Cha-NH ₂	0.063	
Alloc-pAph-Glu-Ala(3-CN)-Cha-NH ₂	0.12	30
Alloc-pAph-Glu-Asn-1-ナフチルメチルアミド	0.031	
Alloc-pAph-Glu-Asn-1-(1-ナフチル)エチルアミド	0.021	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-ナフチルメチルアミド	0.027	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,4-ジクロロベンジルアミド	0.026	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(3-クロロフェニル)エチルアミド	0.023	
Alloc-pAph-Glu-Arg(NO ₂)-Cha-NH ₂	0.014	40
Alloc-pAph-Glu-Cys(Bzl)-Cha-NH ₂	0.026	

【 0 0 5 5 】

【表 4】

表 2 (続き)

	Ki (μ M)	
Alloc-pAph-Glu-Trp-Cha-NH ₂	0.017	
Alloc-pAph-Glu-Phg-Cha-NH ₂	0.017	
Alloc-pAph-Glu-Asn-9-フルオレニルアミド	0.023	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3,5-ビストリフルオロ メチルベンジルアミド	0.033	10
Alloc-pAph-Glu-Phe(4-グアニジノ)-Cha-NH ₂	0.12	
Alloc-pAph-Glu-D-Phe(4-グアニジノ)-Cha-NH ₂	11.3	
Alloc-pAph-Glu-Orn[-C(=NH)-CH ₃]-Cha-NH ₂	0.13	
Alloc-pAph-Glu-Dab[-C(=NH)-CH ₃]-Cha-NH ₂	0.19	
Alloc-pAph-Glu-Dab[-C(=NH)-NH ₂]-Phe- [4-C(-S-(CH ₂) ₂ -S-)-Ph]-NH ₂	0.015	20
Alloc-pAph-Glu-Gln-NH ₂	1.5	
Alloc-pAph-Glu-Orn-NH ₂	6.2	
Alloc-pAph-Glu-Gly-Cha-NH ₂	0.12	
Alloc-pAph-Glu-Cys(Acm)-Cha-NH ₂	0.12	
Alloc-pAph-Glu-Cys(Me)-Cha-NH ₂	0.20	
Alloc-pAph-Glu-Cys(Bzl)-Cha-NH ₂	0.026	30
Alloc-pAph-Glu-Thr(Bzl)-Cha-NH ₂	0.019	
Alloc-pAph-Glu-Dab(Alloc)-Cha-NH ₂	0.15	
Alloc-pAph-Glu-His-Cha-NH ₂	0.14	
Alloc-pAph-Glu-Met-Cha-NH ₂	0.11	
Alloc-pAph-Glu-Phe(4-NO ₂)-Cha-NH ₂	0.046	
Alloc-pAph-Glu-D-Lys[-C(=NH)-NH ₂]-Cha-NH ₂	22	40
Alloc-pAph-Glu-D-Arg-Cha-NH ₂	12	

【 0 0 5 6 】

【表 5】

表 2 (続き)

	Ki (μ M)	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3, 4-メチレンジオキシベンジルアミド	0.12	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(4-ホルホルニル)エチルアミド	0.41	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(2-ナフチル)エチルアミド	0.052	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(1-ナフチル)エチルアミド	0.022	10
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-テトラヒドロフラニルメチルアミド	0.17	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3-メチルブチルアミド	0.11	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(2-ピリジル)エチルアミド	0.071	
Alloc-pAph-Glu-Asn-1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-1- ナフチルアミド	0.045	
Alloc-pAph-Glu-Asn-N, N-ジベンジルアミド	0.41	
Alloc-pAph-Glu-Asn-N-メチル-N-(1-ナフチルメチル)アミド	1.7	20
Alloc-pAph-Glu-Asn-2, 2-ジフェニルエチルアミド	0.049	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2, 4-ジフルオロベンジルアミド	0.051	
Alloc-pAph-Glu-Asn-2-(4-スルファモイルフェニル) エチルアミド	0.35	
Alloc-pAph-Glu-Asn-4-ジメチルアミノベンジルアミド	0.11	
Alloc-pAph-Glu-Asn-(CH ₃ -)Cha-NH ₂	0.062	30
Alloc-pAph-Glu-Asn-3-フェニルプロピルアミド	0.026	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3, 3-ジフェニルプロピルアミド	0.024	
Alloc-pAph-Glu-Asn-4-メトキシベンジルアミド	0.083	
Alloc-pAph-Glu-Asn-3, 4-ジクロロベンジルアミド	0.026	

【0057】

上記化合物のトロンビン阻害活性はKi値で表わすことができ、それは一般に上記のVII a 因子阻害活性より相当高く、例えばVII a 因子阻害活性の約200または約500または約1000倍高い。また、測定した上記化合物のX a 因子阻害活性もKi値で表わすことができ、それは一般に上記のVII a 因子阻害活性より相当高く、例えばVII a 因子阻害活性の約100倍高い。

これらの結果から、式Iの化合物はVII a 因子阻害剤として有用であり、血液凝固およびフィブリン溶解のプロセスに参与するX a 因子またはセリンプロテアーゼ例えばトロンビンの活性を実質的に阻害しないことがわかる。

【0058】

本発明の化合物は抗凝血剤として有利に使用することができ、血液凝固を防止する血液試料と接触させることができる。例えば、有効量の本発明の化合物を取ったばかりの血液試

40

50

料と接触させて血液試料の凝固を防止することができる。本明細書で本発明の化合物に関して使用される「有効量」なる用語はVII a 因子活性を阻害する化合物の量を意味する。当業者ならば、本明細書で開示した方法（実施例 2 2 参照）または当該技術分野で知られている方法を使用して本発明の化合物の有効量を決定することができることは理解されよう。本発明の化合物の開示した有用性を考慮して、当業者ならばヘパリンのような物質の代わりに本発明の化合物を使用することも理解されよう。本発明の化合物のこのような使用は例えば他の抗凝血剤と比べてコストの節約をもたらす。

【0059】

さらに、本発明の化合物は様々な臨床状態を治療するために、例えば心臓血管疾患、あるいは例えば感染または手術による合併症を治療するために個体に投与することができる。心臓血管疾患の例は血管形成術後の再発狭窄症、成人呼吸障害症候群、多臓器不全、卒中および散在性血管内血餅形成疾患である。手術に伴う関連する合併症の例は手術後に起こりうる深静脈および近静脈血栓症である。したがって、本発明の化合物は個体の望ましくない血液凝固を軽減または阻害するための医薬として有用である。

【0060】

本発明の化合物はVII a 因子活性を阻害するため、このような化合物は一般に個体の血餅形成を軽減または阻害するのに有用である。本明細書で使用される「個体」なる用語はVII a 因子が血餅形成カスケード反応に関与するヒトのような哺乳動物を含む脊椎動物を意味する。

【0061】

個体の血餅形成は治療的に有効な量の本発明の化合物を個体に投与することにより軽減または阻害することができる。本明細書で使用される「治療的に有効な量」なる用語は個体のVII a 因子活性を阻害するため個体に投与する必要のある化合物の量を意味する。さらに詳しくは、治療的に有効な量の本発明の化合物はプロトロンビナーゼ複合体中で、または可溶性サブユニットとして直接的に、あるいはプロトロンビナーゼ複合体へのVII a 因子の組込みを阻害することにより間接的にVII a 因子触媒活性を阻害する。好ましい化合物は500nM以下の K_i で、より好ましい化合物は50nM以下の K_i でVII a 因子活性を阻害する。治療的に有効な量は例えば実施例 2 2 に記載の、または当該技術分野で知られている方法を使用して決定することができる。

【0062】

本発明の治療法の実施において、治療的に有効な量の医薬組成物を個体に投与するための用量は例えば疾患の性質または程度、投与スケジュール、個体の年齢および身体的特徴を含む様々な要因に応じて変動する。適当な投与量は医療分野でよく知られている臨床アプローチを使用して確定することができる。したがって、本発明はVII a 因子を式 $R_1 - A - B - D - E_n - R_2$ の化合物と接触させることによりVII a 因子活性を特異的に阻害する方法を提供する。さらに、本発明は治療的に有効な量の本発明の化合物を投与することにより個体の血餅形成を軽減または阻害する方法を提供する。

【0063】

本発明の化合物は一般に1種またはそれ以上の式 I の化合物および薬学的に許容しうる担体を含有する組成物として個体に投与される。「薬学的に許容しうる担体」なる用語は個体にとって非毒性である、または適当な取り締まり機関により決定されたような許容毒性を有する媒質または組成物を意味する。本明細書で使用される「薬学的に許容しうる担体」なる用語はコーンスターチ、ラクトース、脂肪、ロウなどのような固体担体物質；例えばリン酸塩緩衝剤で処理した生理的食塩水；水のような液体；油／水型または水／油型乳濁液のような乳濁液；および／または通常の添加剤、例えば種々の湿潤剤からなる標準的な薬用担体を含む。適当な薬用担体およびそれらの配合はMartinの「レミントンの医薬サイエンス」、第15版（Mack出版社、1975年）に記載されており、これは参照により本明細書に加入される。このような組成物は一般に治療的に有効な量の本発明の化合物を個体に投与するための最適投与量となるような適当量の担体と一緒に含有する。したがって、特許請求した化合物はVII a 因子活性および個体の血餅形成を阻害するための医薬と

して有用である。

【0064】

本発明の医薬組成物または薬剤は例えば丸剤、錠剤、ラッカー仕上げ錠剤、コーティング錠、顆粒剤、硬質および軟質ゼラチンカプセル剤、液剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤またはエアゾル剤の形態で経口的に投与することができる。しかしながら、投与は例えば座剤の形態で経腸的に；あるいは例えば注射剤、注入剤、マイクロカプセル剤、移植錠またはロッド剤の形態で非経口的に、例えば静脈内的に、筋肉内的に、または皮下的に；あるいは例えば軟膏剤、液剤またはチンキ剤の形態で経皮的に；あるいは他の方法により、例えばエアゾル剤または鼻内噴霧剤の形態で行なうこともできる。医薬組成物の投与単位における式 I の活性成分またはその薬学的に許容しうる塩または誘導体の量は通常約 0.5 mg～約 1000 mg、好ましくは約 1 mg～約 500 mg であるが、医薬組成物の種類に応じてその量は高めになる。投与する式 I の化合物の 1 日量は 1 回で、あるいは数回、例えば 2、3 または 4 回に分けて投与することができる。

10

【0065】

薬学的に許容しうる担体はまた、例えばその薬理的作用を高める式 I の VII a 因子阻害剤の他の媒質、化合物または修飾化合物を含む。薬学的に許容しうる媒質は例えば薬学的に許容しうる塩である。式 I の化合物の酸付加塩は例えば塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸または過塩素酸のような無機酸、あるいは酢酸、シュウ酸、マレイン酸、リンゴ酸、ギ酸、乳酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸またはマロン酸のような有機カルボン酸、あるいはメタンスルホン酸または p-トルエンスルホン酸のような有機スルホン酸を用いて製造することができる。式 I の化合物の酸基、例えばカルボン酸基はそのカチオンがナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウムまたはマグネシウムのようなアルカリおよびアルカリ土類金属に基づく金属塩として、あるいは第 4 アンモニウム塩およびアミンとの酸付加塩を含む非毒性アンモニウム塩、例えばアンモニウム、メチルアンモニウム、ジメチルアンモニウム、トリメチルアンモニウム、テトラメチルアンモニウム、エチルアンモニウム、トリエチルアンモニウムまたはテトラメチルアンモニウム塩として存在することができる。

20

【0066】

化合物の薬理的作用を高める修飾の例はアルキル基が直鎖または分枝鎖である (C_1-C_6)-アルキルエステル、好ましくは (C_1-C_4)-アルキルエステルの生成のようなエステル化である。他の許容しうるエステルには、例えば (C_5-C_7)-シクロアルキルエステル、およびベンジルエステルのようなアリールアルキルエステルが含まれる。このようなエステルはペプチド化学分野でよく知られている慣用の方法を使用して本明細書で開示した化合物から製造することができる。

30

【0067】

薬学的に許容しうる修飾はまた、例えばペプチドアミドの生成を含む。本発明の化合物について行なうことができるこのようなアミド修飾は例えば第 1 (C_1-C_6)-アルキルアミンおよび第 2 ジー (C_1-C_6)-アルキルアミン（ここでアルキル基は直鎖または分枝鎖であり、またアリールアミンは様々な置換基を有する）から誘導されるものを含む。第 2 アミンの場合、そのアミンはアミド窒素原子の他に未置換のまたは置換された窒素原子、酸素原子または硫黄原子を含有することができる 5 または 6 員の複素環の形態であってもよい。このようなアミドを製造するための方法は当該技術分野でよく知られている。

40

【0068】

本発明の他の態様において、本発明の化合物はアッセイで VII a 因子の存在を確認するために、または VII a 因子を実質的に純粋な形態で単離するために使用することができる。好ましくは、本発明の化合物は例えば放射性同位体で標識され、その標識化合物は特定の標識を検出するのに有用な常法を使用して検出される。さらに、本発明の化合物は生体内、試験管内または生体外で VII a 因子活性の位置または量を検出するプローブとして有利に使用することができる。

50

【0069】

本発明の様々な態様の活性に実質的に影響を及ぼさない修飾が本発明の範囲内に含まれることは理解されよう。したがって、次の実施例は本発明を詳しく説明するものであって、制限するものではない。

【0070】

【実施例】

実施例 1

ペプチド合成法および一般合成法

合成に使用される出発物質はAldrich、Sigma、Fluka、Nova BiochemおよびAdvanced Chem techのような化学薬品製造会社から入手した。合成中、使用したアミノ酸誘導体の官能基をブロッキング基により保護して結合工程の間の副反応を防止した。適当な保護基の例およびそれらの使用は上記の「ペプチド」(1981年)並びに同第9巻、UdenfriendおよびMeienhofer編(1987年)に記載されている(これは参照により本明細書に加入される)。

10

【0071】

一般固相ペプチド合成法を使用して本発明の化合物を製造した。このような方法は例えばStewardおよびYoungの「固相ペプチド合成」(Freeman & Co., サンフランシスコ(1969年))に記載されている(これは参照により本明細書に加入される)。

【0072】

特に断りがなければ、ペプチドはTentaGel S NH₂樹脂(Rapp Polymere, ドイツ)で合成した。酸感受性リンカー $p-[(R, S)-\alpha-[1-(9H-フルオレン-9-イル)メトキシホルムアミド]-2,4-ジメトキシベンジル]$ フェノキシ酢酸(クノールリンカー)を固体支持体に結合させた(BernatowiczらのTetr. Lett. 30, 4645(1989年); これは参照により本明細書に加入される)。別法として、ペプチドを酸感受性リンカーで修飾された1%ジビニルベンゼンと架橋したポリスチレン樹脂(リンク樹脂)で合成した(リンク、Tetr. Lett. 28, 3787(1987年); Sieber, Tetr. Lett. 28, 2107(1987年); それぞれ参照により本明細書に加入する)。最初に式 $Fmoc-B1-CH(R)CH_2-C(O)OPG$ の化合物の側鎖カルボン酸を樹脂と結合させることによりペプチドを合成する場合、HMPAリンカーの結合により修飾されたTentaGel S NH₂樹脂を使用した。結合は1当量のHOBtの存在下でN,N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)を使用して行なった(但し、Alloc-pAph-OHの場合は2当量のHOBtを使用した)。すべての結合を室温(RT)においてN,N-ジメチルホルムアミド(DMF)またはDMF/DMSO(1/1混合物)中に行なった。結合の終了をニンヒドリン試験により監視した。最初の結合が不完全な場合は再び(2回目)結合を行なった。

20

30

【0073】

Fmoc基の脱保護はDMF中で50%ピペリジンを使用して2+10分間行なった。分離したFmocの量を脱保護後の溶液の300nmにおける吸光度、洗浄液の容量および合成に使用した樹脂の重量から測定した。

【0074】

各結合の作業サイクルは次の通りである：

【表6】

40

工程	処理／試薬	溶媒
1.	0.5 gの官能化ペプチド樹脂	
2.	3倍過剰のアミノ酸誘導体／HOBt／DIC	4 mlのDMF
3.	結合（最低1時間）	
4.	洗浄（3×5 ml）	DMF
5.	ニンヒドリン試験	
6.	脱保護（2+10分） ピペリジン／DMF	5 ml, 50%
7.	洗浄（6×5 ml）	DMF
8.	工程2から繰り返し開始する	

10

【0075】

樹脂上でペプチド合成を終了した後、必要に応じて最終のFmoc脱保護を行なった。特に断りがなければ、次にペプチド樹脂をDMFおよびDCMで連続して洗浄し、ペプチドをTFA／チオアニソール（95／5）混合物により1.5時間分離および脱保護した。樹脂をDCMで洗浄し、DCM洗浄液をTFA分離物と合一した。溶液を蒸発させ、無水ジエチルエーテルにより沈殿した生成物および固体沈殿物をろ過または遠心分離により分離し、KOH固体のペレット上で真空乾燥した。固体を水およびアセトニトリルの混合物に再溶解し、凍結乾燥した。

20

【0076】

乾燥ペプチドを適当なグラジエントの0.1% TFA水溶液およびアセトニトリル（ACN）を使用するHPLC精製に付した。目的の合成生成物を含有するピークフラクションを集めた後、ペプチド溶液を凍結乾燥し、ペプチドをエレクトロスプレー質量スペクトル（MS）および／またはNMRおよび／またはアミノ酸分析を含む確認工程に付して目的化合物が合成されたことを確認した。

30

【0077】

HPLC分析の場合、生成物の試料を230 nmおよび1 ml／分の流量でBeckman HPLCシステム（Gold Nouveauソフトウェアを用いたデータステーションにより制御された126溶媒供給システム、166プログラム可能な検出モジュール507eオートサンプラーからなる）およびYMC ODS-AM 4.6×250 mmカラムを使用して分析した。

【0078】

生成物精製の場合、凍結乾燥した粗製ペプチドの試料を10%～50% ACNを含有する0.1% TFA水溶液の混合物に溶解した。ペプチド溶液は通常、0.45 μm “ACRODISC” 13 CR PTFE（Gelman Sciences；Ann Arbor MI）ろ過器に接続したシリンジを通してろ過した。適当な量のろ過ペプチド溶液を半分取用C18カラム（Vydac プロテインおよびペプチドC18，218TP1022（22×250 mm）；分離グループ；Hesperia CA，またはYMC ODS-Aカラム（20×250 mm），YMC，ウィルミントン，NC）に注入した。Beckman “システムゴールド” HPLC（“システムゴールド”ソフトウェアにより制御されたBeckman，システムゴールド，プログラム可能な溶媒モジュール126およびプログラム可能な検出モジュール166）を使用し、溶離剤としての0.1% TFA緩衝液およびACN（HPLCグレード）のグラジエントまたはイソクラチック混合物の流量を維持した。ペプチドの溶離を230 nmでのUV検出により監視した。MSを使用して合成する化合物に相当するピークを確認した後、化合物を集め、凍結乾燥し、生物学的に試験した。ES+モードでVGプラットフォーム（Fisons Instrument）測定器を使用してMSを測定した。NMRでは、典型的に試料をBruker Avance D

40

50

PX 300測定器を使用してDMSO-d₆ (Aldrich) 中で測定した。

【0079】

実施例2

Alloc-pAph-OHの合成

同じ手順をAlloc-D-pAph-OHに適用することができる。

Alloc-Phe(4-CN)-OH

5.7 g (30ミリモル)のH-Phe(4-CN)-OHを100mlの1M NaOHに溶解し、氷冷しながら2M NaOHを加えてpH=10にした。激しく攪拌しながらアリルクロロホルメート(7.5ml)をゆっくりと加えた(2M NaOHによりpHを10に維持した)。反応混合物を0℃で15分間、室温で30分間攪拌し、HClで酸性にしてpH=2にし、酢酸エチルで抽出(3回)し、MgSO₄で乾燥し、蒸発させた。残留物を酢酸エチル/ヘキサンから再結晶して白色の固体を得た。収量: 7.0 g (85%)。

【0080】

Alloc-Phe[4-C(=S)-NH₂]-OH

2.74 gのAlloc-Phe(4-CN)-OHをピリジン(50ml)およびトリエチルアミン(20ml)の混合物に溶解し、H₂Sを30分間通した。反応混合物を室温で一晩保持した。高真空下で乾燥して3.21 gの泡状固体の粗製チオアミドを得、それを直接メチルチオイミデートに変換した。

Alloc-Phe[4-C(=NH)-SCH₃]-OH·HI

1 gのAlloc-Phe[4-C(=S)-NH₂]-OHをアセトン(50ml)に溶解し、沃化メチル(5ml)を加えた。反応混合物を室温で一晩保持し、揮発性溶媒を蒸発(速い、最高35℃)させ、残留物をジエチルエーテルで処理した。0℃で1時間後、エーテルをデカントし、生成物をジエチルエーテルで洗浄し、真空下で乾燥した。黄色の泡状固体を得、それを直接アミジンに変換した。

Alloc-pAph-OH

すべての上記Alloc-Phe(4-C(=NH)-SCH₃)-OH·HIを300μlの酢酸と一緒に50mlのメタノールに溶解し、0.5 gの酢酸アンモニウムを加えた。混合物を55℃で3時間加熱し、蒸発させ、10mlのアセトンを加えた。0℃で2時間後、固体生成物をろ過し、少量の冷アセトン、少量の冷メタノールおよびジエチルエーテルで洗浄し、真空下で乾燥して黄色がかった固体を得た。収量: 0.53 g。

【0081】

実施例3

Alloc-pAph-Glu-Arg-Cha-NH₂の合成

1 gのTentaGel S NH₂樹脂(置換度0.26ミリモル/g)に、クノールアミドリンカーを結合させた。実施例1に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた: Fmoc-Cha-OH、Fmoc-Arg(Pmc)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OHおよびAlloc-pAph。ペプチドを分離し、TFA/チオアニソール(95/5)により3時間脱保護し、実施例1に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例1に記載のようにHPLCを使用して精製し、MSにより特性決定した。(M+H)⁺: 実測値729.1、計算値729.4。

【0082】

実施例4

アリル-NH-C(O)-pAph-Glu-Arg-Cha-NH₂の合成

0.5 gのTentaGel S NH₂樹脂(置換度0.26ミリモル/g)に、クノールアミドリンカーを結合させた。実施例1に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた: Fmoc-Cha-OH、Fmoc-Arg(Pmc)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OHおよびFmoc-Phe(4-CN)。N-末端Fmocの脱保護後、樹脂を3mlのDMF中における1ミリモルのアリルイソシアネートの溶液で2時間処理した。次に、樹脂をDMFおよびトリエチルアミン/ピリジン(1/2)で洗浄し、ピリジン/トリエチルアミン中の飽和H₂S溶液で一晩処理した。樹脂をアセトンで洗浄し、チオア

ミド樹脂を沃化メチル（アセトン中の10%沃化メチル溶液；3ml）と6時間反応させた。メチルチオイミデート樹脂をアセトン、メタノールで洗浄し、55℃において3mlのメタノール中における0.2gの酢酸アンモニウムおよび100μlの酢酸の溶液で3時間処理した。樹脂をメタノール、DMFおよびDCMで洗浄し、ペプチドを分離し、TFA／チオアニソール（95／5）により3時間脱保護し、実施例1に記載のようにして処理した。粗製物質を実施例1に記載のようHPLCを使用して精製し、MSにより特性決定した。 $(M+H)^+$ ：実測値728.3、計算値728.4。

【0083】

実施例5

AlloC-pAph-Glu-Arg-Chg-NH₂の合成

10

1gのTentaGel S NH₂樹脂（置換度0.26ミリモル/g）に、クノールアミドリナーを結合させた。実施例1に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた：Fmoc-Chg-OH、Fmoc-Arg(Pmc)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OHおよびAlloC-pAph。ペプチドを分離し、TFA／チオアニソール（95／5）により3時間脱保護し、実施例1に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例1に記載のようHPLCを使用して精製し、MSにより特性決定した。 $(M+H)^+$ ：実測値715.8、計算値715.4。

【0084】

実施例6

AlloC-D-pAph-Glu-Arg-Cha-NH₂の合成

20

1gのTentaGel S NH₂樹脂（置換度0.26ミリモル/g）に、クノールアミドリナーを結合させた。実施例1に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた：Fmoc-Cha-OH、Fmoc-Arg(Pmc)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OHおよびAlloC-D-pAph-OH（実施例2のAlloC-pAph-OHと同じ手順に従って合成した）。ペプチドを分離し、TFA／チオアニソール（95／5）により3時間脱保護し、実施例1に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例1に記載のようHPLCを使用して精製し、MSにより特性決定した。 $(M+H)^+$ ：実測値729.2、計算値729.4。

【0085】

実施例7

30

AlloC-pAph-Glu-Phe(4-グアニジノ)-Cha-NH₂の合成

0.25gのTentaGel S NH₂樹脂（置換度0.23ミリモル/g）に、クノールアミドリナーを結合させた。実施例1に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた：Fmoc-Cha-OH、Fmoc-Phe(4-NH-C(=NBoc)-NH-Boc)-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OHおよびAlloC-pAph-OH。ペプチドを分離し、TFA／チオアニソール（95／5）により1時間脱保護し、実施例1に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例1に記載のようHPLCを使用して精製し、MSにより特性決定した。 $(M+H)^+$ ：実測値777.1、計算値777.4。

【0086】

実施例8

40

AlloC-pAph-Glu-Dap[-C(=NH)-NH₂]-Cha-NH₂の合成

0.25gのTentaGel S NH₂樹脂（置換度0.23ミリモル/g）に、クノールアミドリナーを結合させた。実施例1に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた：Fmoc-Cha-OH、Fmoc-Dap[-C(=N-Boc)-NH-Boc]-OH、Fmoc-Glu(OtBu)-OHおよびAlloC-pAph-OH。ペプチドを分離し、TFA／チオアニソール（95／5）により1時間脱保護し、実施例1に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例1に記載のようHPLCを使用して精製し、MSにより特性決定した。 $(M+H)^+$ ：実測値729.1、計算値729.4。

【0087】

50

実施例 9

Al l o c - p A p h - G l u - D a p [- C (= N H) - C H ₃] - C h a - N H ₂ の合成

0.25 g の TentaGel S N H ₂ 樹脂 (置換度 0.26 ミリモル / g) に、クノールアミドリリンカーを結合させた。実施例 1 に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた : F m o c - C h a - O H 、 F m o c - D a p (A l l o c) - O H および F m o c - G l u (O t B u) - O H 。 N - 末端 F m o c - 保護基を結合させ、樹脂を D M F / N M M / A c O H (5 / 0.5 / 1) 混合物で洗浄し、そしてアルゴン流下で絶えず混合しながら 100 mg の P d (P (P h) ₃) ₄ を 3 時間にわたって加えることにより A l l o c 基を脱保護した。樹脂を D M F で洗浄し、4 ml のエタノール / D M S O (3 / 1) 中における 150 mg の 2 - メチルナフチルアセトチオイミデートの溶液で 1 時間処理した。D M F で洗浄した後、F m o c 基を脱保護 (1 + 5 分) し、N - 末端の A l l o c - p A p h - O H を結合させた。ペプチドを分離し、T F A / チオアニソール (95 / 5) により 1 時間脱保護し、実施例 1 に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例 1 に記載のよう に H P L C を使用して精製し、M S により特性決定した。(M + H) ⁺ : 実測値 700.1、計算値 700.4。

【0088】

実施例 10

Al l o c - p A p h - G l u - A l a [3 - C (= N H) - N H ₂] - C h a - N H ₂ の合成

0.25 g の TentaGel S N H ₂ 樹脂 (置換度 0.26 ミリモル / g) に、クノールアミドリリンカーを結合させた。実施例 1 に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた : F m o c - C h a - O H 、 F m o c - A l a (3 - C N) - O H 、 F m o c - G l u (O t B u) - O H および A l l o c - P h e (4 - C N) - O H 。ピリジンおよびトリエチルアミンの混合物 (2 / 1) を H ₂ S (室温、15 ~ 30 分) で飽和させ、この溶液をピリジン / トリエチルアミン (2 / 1) で予め洗浄した樹脂に加えた。一晩放置した後、樹脂をアセトンで洗浄し、アセトン中の 20 % 沃化メチル溶液で一晩処理した。次に、樹脂をアセトンおよびメタノールで洗浄した。5 % 酢酸を含有するメタノール中における 10 当量の酢酸アンモニウムの溶液と一緒に樹脂を加熱 (水浴、55 °C、3 時間) することにより、樹脂と結合したメチルチオイミデートをアミジンに変換した。この最終変換後、樹脂をメタノール、D M F 、D C M で洗浄した。ペプチドを分離し、T F A / チオアニソール (95 / 5) により 1 時間脱保護し、実施例 1 に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例 1 に記載のよう に H P L C を使用して精製し、M S により特性決定した。(M + H) ⁺ : 実測値 685.9、計算値 686.4。

【0089】

実施例 11

Al l o c - p A p h - G l u - A s n - C h a - N H ₂ の合成

0.125 g のリンク樹脂 (置換度 0.78 ミリモル / g) に、F m o c - 脱保護後、実施例 1 に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた : F m o c - C h a - O H 、 F m o c - A s n - O H 、 F m o c - G l u (O t B u) - O H および A l l o c - p A p h - O H 。ペプチドを分離し、T F A / チオアニソール (95 / 5) により 1 時間脱保護し、実施例 1 に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例 1 に記載のよう に H P L C を使用して精製し、M S により特性決定した。(M + H) ⁺ : 実測値 686.9、計算値 687.3。

【0090】

実施例 12

Al l o c - p A p h - G l u - D a b - C h a - N H ₂ の合成

0.25 g の TentaGel S N H ₂ 樹脂 (置換度 0.26 ミリモル / g) に、クノールアミドリリンカーを結合させた。実施例 1 に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた : F m o c - C h a - O H 、 F m o c - D a b (B o c) - O H 、 F m o c - G l u (O

t Bu) - OHおよびAl loc - p Aph。ペプチドを分離し、TFA / チオアニソール (95 / 5) により1時間脱保護し、実施例1に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例1に記載のようにHPLCを使用して精製し、MSにより特性決定した。(M + H)⁺: 実測値673.2、計算値673.4。

【0091】

実施例13

Al loc - p Aph - Glu - Ala [3 - C (=NH) - NH₂] - NH₂の合成
0.25 gのTentaGel S NH₂樹脂 (置換度0.26ミリモル / g) に、クノールアミドリンカーを結合させた。実施例1に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた: Fmoc - Ala (3 - CN) - OH、Fmoc - Glu (Ot Bu) - OHおよびAl loc - Phe (4 - CN) - OH。ピリジンおよびトリエチルアミンの混合物 (2 / 1) をH₂S (室温、15 ~ 30分) で飽和させ、この溶液をピリジン / トリエチルアミン (2 / 1) で予め洗浄した樹脂に加えた。一晚放置した後、樹脂をアセトンで洗浄し、アセトン中の20% 沃化メチル溶液で一晚処理した。次に、樹脂をアセトンおよびメタノールで洗浄した。5% 酢酸を含有するメタノール中における10当量の酢酸アンモニウムの溶液と一緒に樹脂を加熱 (水浴、55℃、3時間) することにより、樹脂と結合したメチルチオイミデートをアミジンに変換した。この最終変換後、樹脂をメタノール、DMF、DCMで洗浄した。ペプチドを分離し、TFA / チオアニソール (95 / 5) により1時間脱保護し、実施例1に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例1に記載のようにHPLCを使用して精製し、MSにより特性決定した。(M + H)⁺: 実測値533.3、計算値533.2。

【0092】

実施例14

Al loc - p Aph - Glu - Gly - Cha - NH₂の合成
0.150 gのリンク樹脂 (置換度0.78ミリモル / g) に、Fmoc - 脱保護後、実施例1に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた: Fmoc - Cha - OH、Fmoc - Gly - OH、Fmoc - Glu (Ot Bu) - OHおよびAl loc - p Aph - OH。ペプチドを分離し、TFA / チオアニソール (95 / 5) により1時間脱保護し、実施例1に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例1に記載のようにHPLCを使用して精製し、MSにより特性決定した。(M + H)⁺: 実測値630.1、計算値630.3。

【0093】

実施例15

Al loc - p Aph - Glu - Asn - (Ph - CH₂ - CH₂ -) Gly - NH₂の合成
N - 置換グリシンの場合、Zuckermannらの方法 (J. Am. Chem. Soc. 114, 10646 (1992年)) ; これは参照により本明細書に加入される) を使用した。0.1 gのリンク樹脂 (置換度0.78ミリモル / g) に、Fmoc - 脱保護後、ブromo酢酸をDCM / DMF中の対称無水物によって結合させた。10分後、樹脂をDCMで洗浄し、結合をもう1回行なった。DCMおよびDMFで洗浄した後、樹脂をDMSO中における2 - フェニルエチルアミンの1M溶液で一晚処理した。DMFで洗浄した後、リンカーと結合した (Ph - CH₂ - CH₂ -) NH - CH₂ - C (O) 基を有する樹脂をDCM / DMF中のFmoc - Asn (Trt) - OHの対称無水物と反応させた。Fmoc - 脱保護後、実施例1に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた: Fmoc - Glu (Ot Bu) - OHおよびAl loc - p Aph - OH。ペプチドを分離し、TFA / チオアニソール (95 / 5) により1時間脱保護し、実施例1に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例1に記載のようにHPLCを使用して精製し、MSにより特性決定した。(M + H)⁺: 実測値694.9、計算値695.3。

【0094】

実施例16

10

20

30

40

50

$\text{Alloc-pAph-Glu-Thr (Bzl) -NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(Ph)}_2$
の合成

$\text{H-Thr (Bzl) -NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(Ph)}_2 \cdot \text{HCl}$

0.62 g (2ミリモル) の Boc-Thr (Bzl) -OH を 10 ml の DCM に溶解し、2ミリモルのトリエチルアミンを加え、溶液を 0℃ まで冷却した。攪拌しながら、2ミリモルのイソブチルクロロホルメートをゆっくりと加えた。冷却浴を取り外し、溶液を 15 分間攪拌し、2 ml の DMF 中の 2.5 ミリモルの 3,3-ジフェニルプロピルアミンを加え、室温で 1 時間攪拌した。溶液を蒸発させ、酢酸エチルに溶解し、そして 0.5 M KHSO_4 溶液、飽和 NaHCO_3 溶液およびブラインで抽出し、 MgSO_4 で乾燥し、蒸発させた。油状生成物を 10 ml の DCM に溶解し、ジオキサン中の 4 M 塩酸溶液 (10 ml) を加えた。10 分後、溶媒を蒸発させ、生成物の塩酸塩をジエチルエーテルで沈殿させ、ろ過し、ジエチルエーテルで洗浄し、真空下で乾燥して白色の固体を得た。MS 分析: $(\text{M} + \text{H})^+$: 実測値 403.1、計算値 403.2。

10

【0095】

$\text{Alloc-pAph-Glu-Thr (Bzl) -NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(Ph)}_2$
0.5 g の TentaGel S NH_2 樹脂 (置換度 0.26 ミリモル/g) に、4-ヒドロキシメチルフェノキシ酢酸を結合させた (3 当量、DIC/HOBt で 1.5 時間活性化した)。DMF 中の DIC/HOBt/NMI を一晩使用して、 $\text{Fmoc-Glu (OH) -O-Ar}$ を側鎖を通して樹脂に結合させた。アルゴン下で樹脂を DMF/AcOH/NMM (10/2/1) 中の $\text{Pd(PPh}_3)_4$ と一緒に 4 時間振騰することによりアシル保護基を除去した。脱保護したカルボキシ基を 1.5 ml の DMF 中における 0.5 ミリモルの BOP、0.5 ミリモルの HOBt、1.5 ミリモルの DIEA および 0.5 ミリモルの $\text{H-Thr (Bzl) -NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(Ph)}_2 \cdot \text{HCl}$ の溶液で 2 時間活性化した。Fmoc 脱保護後、 Alloc-pAph-OH を実施例 1 に記載の一般手順に従って結合させた。ペプチドを分離し、TFA/チオアニソール (95/5) により 1.5 時間脱保護し、実施例 1 に記載のようにして処理した。粗製化合物を実施例 1 に記載のよう HPLC を使用して精製し、MS により特性決定した。 $(\text{M} + \text{H})^+$: 実測値 805.0、計算値 805.4。

20

【0096】

実施例 17

30

$\text{Alloc-pAph-Glu-Dab-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-Ph}$ の合成

0.2 g の TentaGel S NH_2 樹脂 (置換度 0.26 ミリモル/g) に、4-ヒドロキシメチルフェノキシ酢酸を結合させた (2.5 当量、DIC/HOBt で 4 時間活性化した)。DCM 中の CBr_4 (5 当量)/ PPh_3 (5 当量) で樹脂を 4 時間処理することによりヒドロキシ基を臭素で置換した。臭素誘導体樹脂を DCM 中の 2 M フェニルエチルアミン溶液で一晩処理した。TFFH/DIEA (現場で生成したフッ化アシル) を使用して $\text{Fmoc-Dab (Boc) -OH}$ を樹脂と結合させた。実施例 1 に記載の一般手順に従って、次の保護アミノ酸を結合させた: $\text{Fmoc-Glu (OtBu) -OH}$ および Alloc-pAph-OH 。ペプチドを分離し、TFA/トリイソプロピルシラン (99/1) で 2 時間脱保護した。TFA を蒸発させ、ペプチドを $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ に溶解し、凍結乾燥した。粗製化合物を実施例 1 に記載のよう HPLC を使用して精製し、MS により特性決定した。 $(\text{M} + \text{H})^+$: 実測値 624.2、計算値 624.3。

40

【0097】

実施例 18

$\text{Alloc-pAph-Glu-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CN}$ の合成

0.2 g の TentaGel S NH_2 樹脂 (置換度 0.26 ミリモル/g) に、4-ヒドロキシメチルフェノキシ酢酸を結合させた (3 当量、DIC/HOBt で 1.5 時間活性化した)。DMF 中の DIC/HOBt/NMI を一晩使用して、 $\text{Fmoc-Glu (OH) -O-Ar}$ を側鎖を通して樹脂に結合させた。アルゴン下で樹脂を DMF/AcOH/NMM (10/2/1) 中の $\text{Pd(PPh}_3)_4$ と一緒に 4 時間振騰することによりアシル保護基を除去

50

去した。脱保護したカルボキシ基をD I C（3当量）／H O B t（3当量）で10分間活性化し、DMF中の2-シアノエチルアミン（3当量）を樹脂に3時間加えた。F m o c脱保護後、A l l o c - p A p h - O Hを実施例1に記載の一般手順に従って結合させた。ペプチドを分離し、T F A／トリイソプロピルシラン（99／1）で2時間脱保護した。T F Aを蒸発させ、ペプチドをH₂O／A C Nに溶解し、凍結乾燥した。粗製物質を実施例1に記載のようにH P L Cを使用して精製し、M Sにより特性決定した。(M+H)⁺：実測値473.1、計算値473.2。

【0098】

実施例19

A l l o c - p A p h - G l u - A s n - N H - C H₂ - C h xの合成

0.1gのTentaGel S NH₂樹脂（置換度0.26ミリモル／g）に、クノールアミドリンカーを結合させた。F m o c - A s p（OH）-O-アリルを側鎖を通してリンカーに結合させ、アリル保護基を実施例18に記載のようにして除去した。脱保護したカルボキシ基をD I C（5当量）／H O B t（5当量）で活性化し、DMF中のシクロヘキシルメチルアミン（5当量）を2.5時間加えた。F m o c脱保護後、F m o c - G l u（O t B u）-OHおよびA l l o c - p A p h - O Hを実施例1に記載の一般手順に従って結合させた。ペプチドを分離し、T F A／トリイソプロピルシラン（99／1）で2時間脱保護した。T F Aを蒸発させ、ペプチドをH₂O／A C Nに溶解し、凍結乾燥した。粗製物質を実施例1に記載のようにH P L Cを使用して精製し、M Sにより特性決定した。(M+H)⁺：実測値629.9、計算値630.3。

【0099】

実施例20

A l l o c - p A p h - G l u - A s n - N H - C H₂ - C H₂ - P hの合成

2-(S)-[2-(S)-アリルオキシカルボニルアミノ-3-(4-カルバイミドイル-フェニル)-プロピオニルアミノ]-ペンタン二酸5-*t*-ブチルエステル1-メチルエステル塩酸塩

20mlのDMF中の2-(S)-アリルオキシカルボニルアミノ-3-(4-カルバイミドイル-フェニル)-プロピオン酸塩酸塩（3.48g、10.6ミリモル）および2-(S)-アミノ-ペンタン二酸5-*t*-ブチルエステル1-メチルエステル塩酸塩（2.7g、10.6ミリモル）に-15℃でT O T U（3.83g、11.67ミリモル）およびN-エチルモルホリン（2.7ml、21.2ミリモル）を加えた。混合物を1時間攪拌し、次に室温まで加温した。蒸発させた後、酢酸エチルを残留物に加え、有機層を炭酸水素ナトリウム水溶液、硫酸水素カリウム水溶液および水で抽出した。有機層を蒸発させた。収量：2.8g（50%）。M S：m/z=491.3(M+H)⁺。

【0100】

2-(S)-[2-(S)-アリルオキシカルボニルアミノ-3-(4-カルバイミドイル-フェニル)-プロピオニルアミノ]-ペンタン二酸5-*t*-ブチルエステル

100mlの水および30mlのT H F中の2-(S)-[2-(S)-アリルオキシカルボニルアミノ-3-(4-カルバイミドイル-フェニル)-プロピオニルアミノ]-ペンタン二酸5-*t*-ブチルエステル1-メチルエステル塩酸塩（3.06g、5.8ミリモル）に水酸化リチウム水和物（0.49g、11.6ミリモル）を加えた。溶液を室温で12時間攪拌し、蒸発させ、凍結乾燥した。残留物を溶離剤として*n*-ブタノール／氷酢酸／水（17／1／2）を使用するセファデックスL H 20上のクロマトグラフィーにより精製した。純粋なフラクションを合一した。溶媒を蒸発させ、残留物を水に取り、水溶液を凍結乾燥した。収量：2.7g（97%）。M S：m/z=477.4(M+H)⁺。

【0101】

4-(S)-[2-(S)-アリルオキシカルボニルアミノ-3-(4-カルバイミドイル-フェニル)-プロピオニルアミノ]-4-(2-カルバモイル-1-(S)-(2-フェニルエチルカルバモイル)-エチルカルバモイル)-酪酸塩酸塩（A l l o c - p A p h - G l u - A s n - N H - C H₂ - C H₂ - P h）

5mlのDMF中の2-(S)-[2-(S)-アリルオキシカルボニルアミノ-3-(4-カルバイミドイル-フェニル)-プロピオニルアミノ]-ペンタン二酸5-*t*-ブチルエステル(48mg、0.1ミリモル)および2-(S)-アミノ-N1-フェニルエチル-スクシンアミド塩酸塩(27mg、0.1ミリモル)に0℃でHATU(39mg、0.1ミリモル)およびコリジン(24.2mg、0.2ミリモル)を加えた。混合物を1時間攪拌し、次に室温まで加温した。蒸発させた後、残留物を溶離剤として*n*-ブタノール/氷酢酸/水(17/1/2)を使用するセファデックスLH20上のクロマトグラフィーにより精製した。純粋なフラクションを合一した。溶媒を蒸発させ、残留物を水に取り、水溶液を凍結乾燥した。収量: 45mg(66%)。MS: $m/z = 638.4(M+H)^+$ 。

【0102】

10

実施例21

All o c - p A p h - G l u - A s n - N H - (3-クロロベンジル)の合成

5mlのDMF中の2-(S)-[2-(S)-アリルオキシカルボニルアミノ-3-(4-カルバイミドイル-フェニル)-プロピオニルアミノ]-ペンタン二酸5-*t*-ブチルエステル(50mg、0.105ミリモル)および2-(S)-アミノ-N1-(3-クロロベンジル)スクシンアミドトリフルオロ酢酸塩(61mg、0.16ミリモル)に0℃でTOTU(36mg、0.11ミリモル)および*N*-エチルモルホリン(57μl、0.4ミリモル)を加えた。混合物を1時間攪拌し、次に室温まで加温した。蒸発させた後、残留物を溶離剤として*n*-ブタノール/氷酢酸/水(17/1/2)を使用するセファデックスLH20上のクロマトグラフィーにより精製した。純粋なフラクションを合一した。溶媒を蒸発させ、残留物を水に取り、水溶液を凍結乾燥した。4-(S)-[2-(S)-アリルオキシカルボニルアミノ-3-(4-カルバイミドイル-フェニル)-プロピオニルアミノ]-4-(2-カルバモイル-1-(S)-(3-クロロベンジルカルバモイル)-エチルカルバモイル)-酪酸(All o c - p A p h - G l u - A s n - N H - (3-クロロベンジル)またはAll o c - p A p h - G l u - A s n - 3-クロロベンジルアミド)の収量: 28mg(41%)。MS: $m/z = 658.3(M+H)^+$ 。

20

上記実施例と同様にして製造した別の実施例化合物を上記表2に記載した。

【0103】

実施例22

FVIIa阻害に関するKiの測定

30

本質的に前記のようにして色素形成試験を使用してVIIa因子/組織因子活性に対する各化合物の阻害活性(Ki)を測定した(J.A. Ostrem, F. Al-Obeidi, P. Safar, A. Safarova, S.K. Stringer, M. Patek, M.T. Cross, J. Spoonamore, J.C. LoCascio, P. Kasireddy, D.S. Thorpe, N. Sepetov, M. Lebl, P. Wildgoose, P. Stropの「組合わせ化学による強力の特異的な新規Xa因子阻害剤の発見」、生化学37、1053-1059(1998年))。反応速度試験を25℃において反応プレート読取り器(分子装置スペクトラマックス250)を使用して半領域マイクロタイタープレート(Costar社製)で行なった。典型的な試験液は25μlのヒトVIIa因子およびTF(それぞれの最終濃度5nMおよび10nM)を10% DMSO/TBS-PEG緩衝液(50mMのトリス、15mMのNaCl、5mMのCaCl₂; 0.05% PEG 8k、pH8.15)中における40μlの阻害剤希釈液と化合させたものである。予め15分間インキュベートした後、35μlの色素形成基質S-2288(D-11e-Pro-Arg-pNA、Pharmacia Hepar社製、最終濃度500μM)を加えて試験を開始した。見掛けの阻害定数を所定時間の直線部分、典型的には基質を試験液に加えた後1~5分間の反応曲線の傾きから計算した。次に、各化合物についての真のKiを式 $Ki = \text{見掛けの} Ki / (1 + (S)/Km)$ を使用して基質濃度(S)およびKmを補正することにより求めた(I.H. Segalの「酵素速度論」、第100-125頁(John Wiley & Sons, 1975年))。

40

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 1 1

- (72)発明者 パーヴェル・サファー
アメリカ合衆国アリゾナ州 8 5 7 3 7. トゥーソン. エヌ・フォレストレイクウェイ 1 2 4 3 1
- (72)発明者 アーレナ・サファーローヴァ
アメリカ合衆国アリゾナ州 8 5 7 3 7. トゥーソン. エヌ・フォレストレイクウェイ 1 2 4 3 1
- (72)発明者 ペーター・ヴィルトグーゼ
ドイツ連邦共和国デー 6 1 4 4 0 オーバーウーアゼル. ヒンターガセ 1 8

審査官 清水 晋治

- (56)参考文献 国際公開第 8 9 / 0 0 9 6 1 2 (WO, A 1)
国際公開第 9 0 / 0 0 3 3 9 0 (WO, A 1)
国際公開第 9 1 / 0 0 7 4 3 2 (WO, A 1)
国際公開第 9 5 / 0 0 0 5 4 1 (WO, A 1)
国際公開第 9 6 / 0 4 0 7 7 9 (WO, A 1)
米国特許第 0 5 6 6 3 2 9 7 (US, A)
国際公開第 9 5 / 0 2 9 1 8 9 (WO, A 1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07K 1/00-19/00
PubMed
CA/Caplus/REGISTRY(STN)