

(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2005-505508

(P2005-505508A)

(43) 公表日 平成17年2月24日(2005.2.24)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C07D 409/14	C O 7 D 409/14	4 C O 6 3
A61K 31/4025	A 6 1 K 31/4025	4 C O 7 1
A61K 31/427	A 6 1 K 31/427	4 C O 8 6
A61K 31/454	A 6 1 K 31/454	
A61K 31/5377	A 6 1 K 31/5377	
	審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 132 頁) 最終頁に続く	

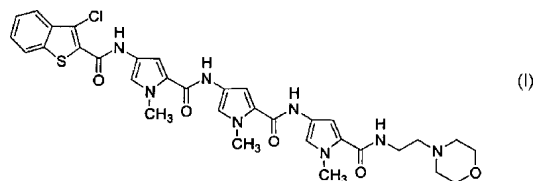
(21) 出願番号	特願2003-503619 (P2003-503619)	(71) 出願人	503459372
(86) (22) 出願日	平成14年6月6日 (2002.6.6)		ジーンソフト ファーマシューティカルズ
(85) 翻訳文提出日	平成15年12月15日 (2003.12.15)		インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/017952		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス
(87) 国際公開番号	W02002/100852		サン フランシスコ ショアライン
(87) 国際公開日	平成14年12月19日 (2002.12.19)		コート 7300
(31) 優先権主張番号	60/298, 206	(74) 代理人	100102978
(32) 優先日	平成13年6月13日 (2001.6.13)		弁理士 清水 初志
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100108774
(31) 優先権主張番号	60/325, 134		弁理士 橋本 一憲
(32) 優先日	平成13年9月24日 (2001.9.24)	(74) 代理人	100128048
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 新見 浩一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗感染活性を有するベンゾチオフェン化合物

(57) 【要約】

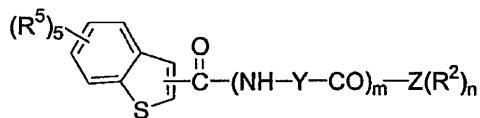
式(1)のようなベンゾチオフェン化合物は、抗細菌活性を示すDNA結合化合物である。



【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の式の化合物またはその薬学的に許容される塩：



(式中、

各 R^5 は独立に、H、F、Cl、Br、I、CN、OH、 NH_2 、置換もしくは非置換(C_1-C_{12})アルキル基、置換もしくは非置換(C_1-C_{12})アルコキシ基、または置換もしくは非置換(C_1-C_{12})ヘテロアルキル基であり；

m は、1から25の整数であり；

各 Y は独立に、分岐もしくは非分岐の置換もしくは非置換(C_1-C_5)アルキレン基、または置換もしくは非置換の芳香族もしくは芳香族複素環系であり、少なくとも1つの Y が、置換もしくは非置換芳香族もしくは芳香族複素環系であるという条件で、その環系は、5員もしくは6員芳香族もしくは芳香族複素環、または融合6,6もしくは6,5芳香族もしくは芳香族複素環を包含し；

Z は、0または N のいずれかであり；

n は、 Z が0である場合には1であり、 Z が N である場合には2であり；および

各 R^2 は独立に、H、置換もしくは非置換(C_1-C_{12})アルキル基、または置換もしくは非置換(C_1-C_{12})ヘテロアルキル基である)。

【請求項2】

12以下の pK_b を有する塩基性基または4価窒素基を有する、請求項1記載の化合物。

【請求項3】

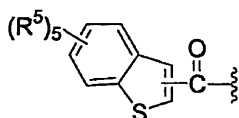
残基 $Z(R^2)_n$ が、12以下の pK_b を有する塩基性基、または4価窒素基を含む、請求項2記載の化合物。

【請求項4】

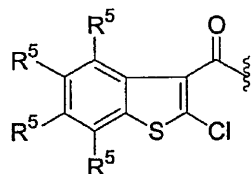
少なくとも1つの Y が、5員または6員芳香族複素環である、請求項1記載の化合物。

【請求項5】

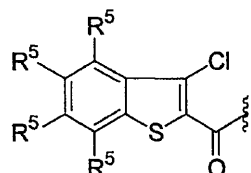
残基



が、



または



10

20

30

40

50

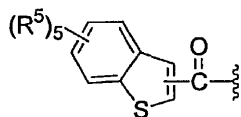
である、請求項1記載の化合物。

【請求項6】

各R⁵が、Hである、請求項5記載の化合物。

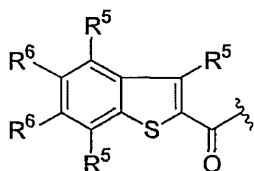
【請求項7】

残基



10

が、



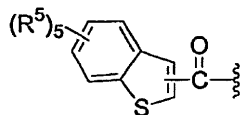
(式中、2つのR⁶は、両方ともOHもしくはOCH₃、または化合して、O-(CH(R⁷))_t-O(ここで、tは、1または2であり、各R⁷は独立に、HまたはC₁-C₆アルキル、アルケニル、アルキニル、もしくはアシル基である)を形成する)

20

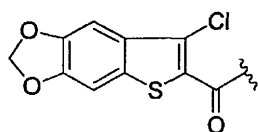
である、請求項1記載の化合物。

【請求項8】

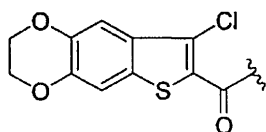
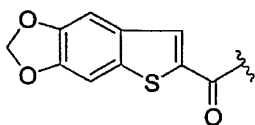
残基



が、

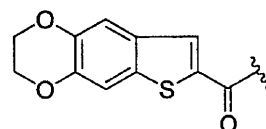


30



40

および

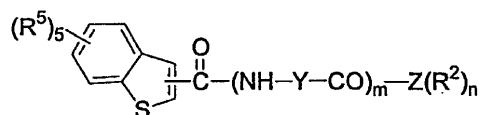


50

からなる群より選択される、請求項1記載の化合物。

【請求項9】

以下の式の化合物、またはその薬学的に許容される塩：

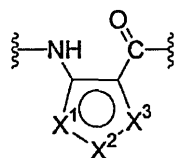


(式中、

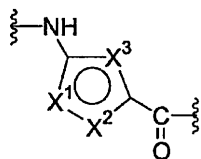
mは、1から25の整数であり；

各部分 $-(NH-Y-CO)_m-$ は独立に、

(a)式



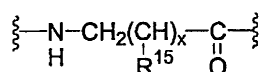
または



(式中、 X^1 、 X^2 、および X^3 の内の一は、 $-O-$ 、 $-S-$ 、および $-NR^2-$ からなる群より選択される環頂点であり、 X^1 、 X^2 、および X^3 の内他の二つは、 $=N-$ および $=CR^1-$ からなる群より選択される環頂点である)

で示される部分 M^1 ；

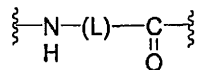
(b)式



(式中、xは0または1であり、各 R^{15} は独立に、H、OH、 NH_2 、またはFである)

で示される部分 M^2 ；

(c)式



(式中、各Lは独立に、3個または4個の原子により $-NH-$ と $-(C=O)-$ を分離する二価部分である)

で示される部分 M^3 ；および

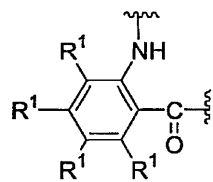
(d)式

10

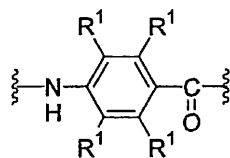
20

30

40



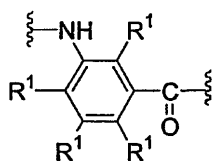
(VIa)



(VIb)

10

または



(VIc)

20

で示される部分 M^4

からなる群より選択され、

ただし、少なくとも1つの部分 $-(NH-Y-CO)-$ が、部分 M^1 または M^4 であり；

Zは、0またはNであり；

nは、Zが0である場合には1であり、ZがNである場合には2であり；

前述の式中、

各 R^1 は独立に、H、F、Cl、Br、I、CN、OH、NO₂、NH₂、置換もしくは非置換(C₁-C₁₂)アルキル基、置換もしくは非置換(C₁-C₁₂)アルコキシ基、または置換もしくは非置換(C₁-C₁₂)ヘテロアルキル基であり；

30

各 R^2 は独立に、H、置換もしくは非置換(C₁-C₁₂)アルキル基、または置換もしくは非置換(C₁-C₁₂)ヘテロアルキル基であり；および

各 R^5 は独立に、H、F、Cl、Br、I、CN、OH、NH₂、置換もしくは非置換(C₁-C₁₂)アルキル基、または置換もしくは非置換(C₁-C₁₂)ヘテロアルキル基である)

であって、該化合物は12以下のpK_bを有する塩基性基、または4価窒素基を有する。

【請求項10】

残基Z(R²)_nが、12以下のpK_bを有する塩基性基または4価窒素基を含む、請求項9記載の化合物。

40

【請求項11】

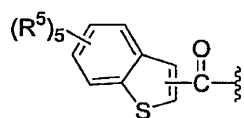
少なくとも1つの部分 $-(NH-Y-CO)-$ が、部分 M^1 である、請求項9記載の化合物。

【請求項12】

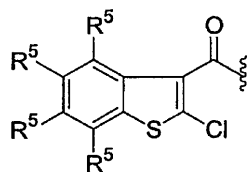
部分 M^1 が、12以下のpK_bを有する塩基性基または4価窒素基を有する、請求項11記載の化合物。

【請求項13】

残基

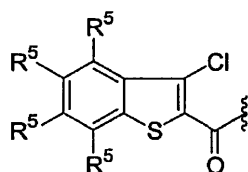


が、



10

または



である、請求項9記載の化合物。

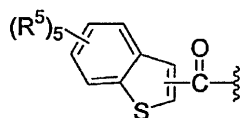
20

【請求項14】

各R⁵がHである、請求項13記載の化合物。

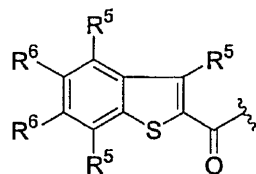
【請求項15】

残基



が、

30



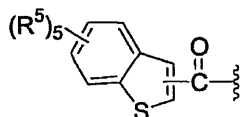
(式中、2つのR⁶は、両方ともOHもしくはOCH₃、または化合して、O-(CH(R⁷))_t-O(ここで、tは1または2であり、各R⁷は独立に、HまたはC₁-C₆アルキル、アルケニル、アルキニル、もしくはアシル基である)を形成する)

である、請求項9記載の化合物。

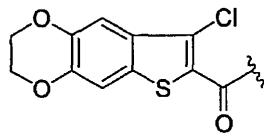
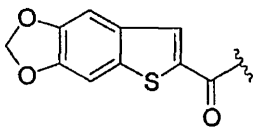
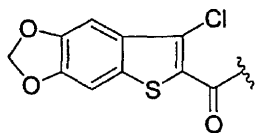
40

【請求項16】

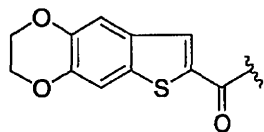
残基



が、



および



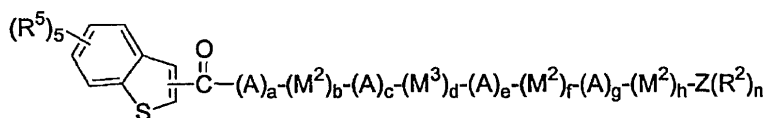
10

20

からなる群より選択される、請求項9記載の化合物。

【請求項17】

式



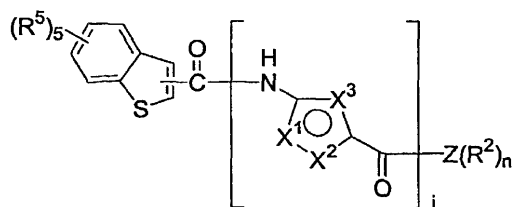
(式中、 M^2 、 M^3 、 R^2 、 R^5 、 Z および n は、請求項5において割り当てられた意味を有し；各 A は独立に、 M^1 または M^4 であり； a 、 c 、 e 、 g および h の各々は、独立に0から5の整数であり； b 、 d 、および f の各々は独立に、0または1であり、 a 、 c 、 e および g の和は、少なくとも2である)

30

で示される、請求項9記載の化合物。

【請求項18】

式

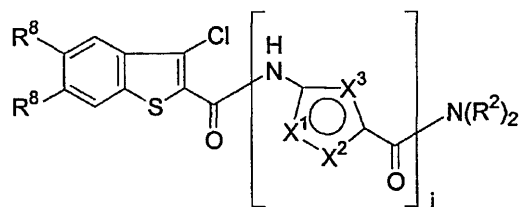


40

(式中、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 R^2 、 R^5 、 Z および n は、請求項5において割り当てられた意味を有し、 i は、2から4の整数である)で示される、請求項9記載の化合物。

【請求項19】

式

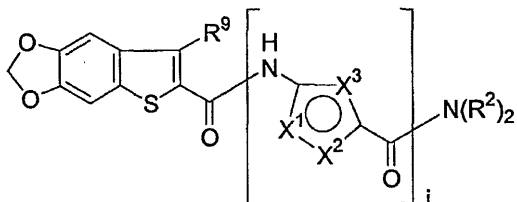


(式中、一方の R^8 はHであり、他方の R^8 はH、F、 CH_3 、 NO_2 、または $N(CH_3)_2$ である)
 で示される、請求項18記載の化合物。

【請求項20】

10

式

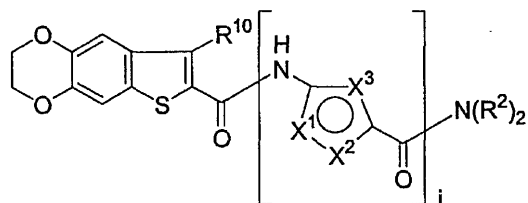


(式中、 R^9 はHまたはClである)
 で示される、請求項18記載の化合物。

20

【請求項21】

式

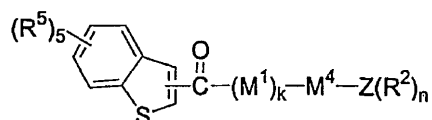


(式中、 R^{10} はClまたはHである)
 で示される、請求項18記載の化合物。

30

【請求項22】

式



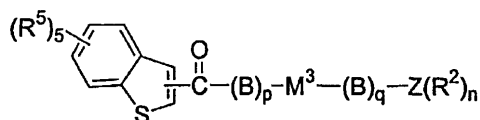
(式中、 M^1 、 M^4 、 R^2 、 R^5 、Zおよびnは、請求項5において割り当てられたとおりであり、k
 は0から2の整数である)

40

で示される、請求項9記載の化合物。

【請求項23】

式



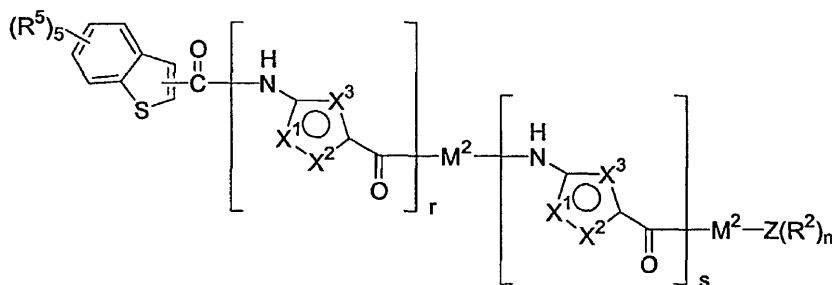
(式中、 M^3 、 R^2 、 R^5 、Zおよびnは、請求項5において割り当てられた意味を有し；各Bは独
 立に M^1 または M^2 であり；pおよびqは独立に1から7の整数である)

50

で示される、請求項9記載の化合物。

【請求項24】

式



10

(式中、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 M^2 、 R^2 、 R^5 、 Z および n は、請求項5において割り当てられた意味を示し、 r および s の各々は独立に1または2である)

で示される、請求項9記載の化合物。

【請求項25】

有効量の請求項1記載の化合物を、そのような治療を必要とする患者に投与する段階を含む、哺乳類における細菌感染を治療する方法。

【請求項26】

細菌感染がグラム陽性菌による感染である、請求項25記載の方法。

20

【請求項27】

細菌感染が薬物耐性菌による感染である、請求項25記載の方法。

【請求項28】

薬物耐性菌が、MRSA、MRSE、PRSP、またはVSEである、請求項27記載の方法。

【請求項29】

有効量の請求項9記載の化合物を、そのような治療を必要とする患者に投与する段階を含む、哺乳類における細菌感染を治療する方法。

【請求項30】

細菌感染がグラム陽性菌による感染である、請求項29記載の方法。

【請求項31】

細菌感染が薬物耐性菌による感染である、請求項29記載の方法。

30

【請求項32】

薬物耐性菌がMRSA、MRSE、PRSP、またはVSEである、請求項29記載の方法。

【請求項33】

哺乳類における細菌感染の治療のための薬剤を調製するための、請求項1記載の化合物の使用。

【請求項34】

哺乳類における細菌感染の治療のための薬剤を調製するための、請求項9記載の化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2001年9月24日に提出された米国特許出願第60/325,134号および2001年6月13日に提出された米国特許出願第60/298,206号の恩典を主張する。それらの開示は、参照として本明細書に組み入れられる。

【0002】

連邦政府により援助を受けた研究または開発における発明に関する記述

本発明は、宇宙・海洋戦闘システム・コマンド (Space and Naval Warfare Systems Command) により付与される、交付番号第N65236-99-1-5427号の下に政府支援で行われた。政

50

府は、本発明に一定の権利を有する。

【0003】

コンパクト・ディスクで提出された「配列表」、表またはコンピューター処理プログラム表補遺との関連利用できるものはない。

【0004】

発明の分野

本発明は、ベンゾチオフェン基を有する化合物、特に核酸に結合し、抗細菌特性を有する化合物、およびそれらの使用方法に関する。

【背景技術】

【0005】

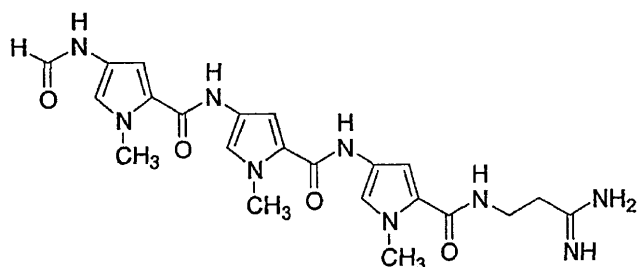
関連技術の記載

多数の天然に存在する、または合成の化合物は、二本鎖核酸、特に二本鎖DNA(「dsDNA」)に結合する。主溝に結合するものもあれば、副溝に結合するものもある。さらに、隣接塩基対の間に介入するものもある。化合物が、1つより多くの核酸部位と結合相互作用を有する、組み合わせ結合様式が知られている。

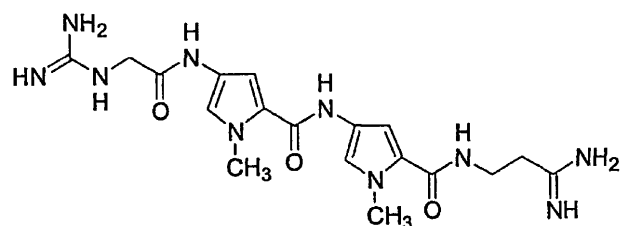
【0006】

天然産物ジスタマイシンおよびネトロブシンは、長年にわたって研究されてきたDNA結合化合物の1つのクラスである：

ジスタマイシン



ネトロブシン



【0007】

構造的に、ジスタマイシンおよびネトロブシンは、それらのコア構造のモチーフとしてN-メチルピロールカルボキサミド残基を有する、芳香族複素環ポリアミドである。それらは副溝に結合し、それらの三日月型分子形状は、溝内での形態適合性を提供する。結合は、A、Tが豊富なdsDNA領域を好んで生じる。

【0008】

生物学的特性を増強または変化させ、dsDNAに対する結合親和性を増大させ、かつ/または塩基対配列認識における特異性を改善する目的で、ジスタマイシン/ネトロブシンモチーフを作り上げる、多数の芳香族複素環ポリアミドが合成されてきた。治療上での合成芳香族複素環ポリアミドの使用は、例えば、Dervanら、米国特許第5,998,140号(1999年); Dervanら、国際公開公報第00/15209号(2000年); Dervan、国際公開公報第00/15773号(2000年); およびGottesfeldら、国際公開公報第98/35702号(1998年)に提案されている。

【0009】

10

20

30

40

50

芳香族複素環における構造変化の効果は、広範な研究の的であった。例えば、Bailllyら、「Bioconjugate Chemistry」、9巻、5号、513-538頁(1998年)およびNeidle、Nat. Prod. Rep. 18巻、291-309頁、2001年による総説を参照。当技術分野において報告される別の芳香族複素環としては、フラン、イミダゾール(特に、N-メチルイミダゾール)、イソキサゾール、オキサゾール、ピラゾール、ピリジン、チオフェン、トリアゾール環、および他のものが挙げられる。DNA結合化合物におけるベンゾチオフェン基の使用に適切でありうる技術としては、Bogerら、J. Am. Chem. Soc.、122巻、6382頁、2000年；Kutyavinら、米国特許第5,801,155号(1998年)；Tidwellら、米国特許第6,172,104号(2001年)；Cozziら、国際公開公報第98/21202号(1998年)；Cozziら、国際公開公報第99/50266号(1999年)；およびTurinら、国際公開公報第01/19792号(2001年)が挙げられる。

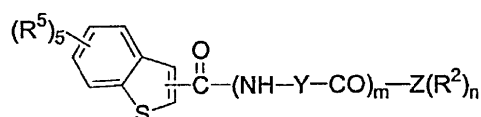
10

【発明の開示】

【0010】

発明の概要

本発明は、式



(I)

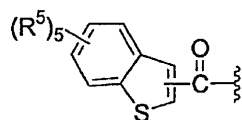
20

に示される、その薬学的に許容される塩を含むベンゾチオフェン化合物を提供する。

【0011】

各 R^5 は独立に、H、F、Cl、Br、I、CN、OH、 NH_2 、置換もしくは非置換(C_1-C_{12})アルキル基、置換もしくは非置換(C_1-C_{12})アルコキシ基、または置換もしくは非置換(C_1-C_{12})ヘテロアルキル基である。各 R^2 は独立に、H、置換もしくは非置換(C_1-C_{12})アルキル基、または置換もしくは非置換(C_1-C_{12})ヘテロアルキル基である。下付き m は、1から25の整数である。Zは0またはNのいずれかであり、 n はZが0である場合には1であり、ZがNである場合には2である。各Yは独立に、分岐もしくは非分岐の置換もしくは非置換(C_1-C_5)アルキレン基、または置換もしくは非置換の芳香族もしくは芳香族複素環系であり、ここで環系は、5員もしくは6員芳香族もしくは芳香族複素環、または融合6,6もしくは6,5芳香族もしくは芳香族複素環を包含しうるが、ただし、少なくとも1つのYが、置換もしくは非置換芳香族もしくは芳香族複素環系である。好ましくは、少なくとも1つのYは、5員または6員芳香族複素環である。さらに好ましくは、部分

30

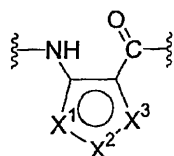


に直接に隣接する部分-(NH-Y-CO)-におけるYは、5員または6員芳香族複素環である。

【0012】

好ましくは、各部分-(NH-Y-CO)-は独立に、

(a)式

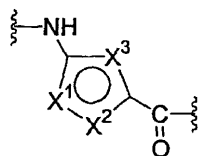


(IIa)

40

50

または



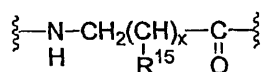
(IIb)

(式中、 X^1 、 X^2 、および X^3 の内の1つは、 $-O-$ 、 $-S-$ 、および $-NR^2-$ からなる群より選択される環頂点 (vertex) であり、 X^1 、 X^2 、および X^3 の内の他の2つは、 $=N-$ および $=CR^1-$ からなる群より選択される環頂点である)

10

で示される部分 M^1 ;

(b)式



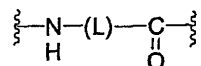
(III)

(式中、 x は、0または1であり、各 R^{15} は独立に、 H 、 OH 、 NH_2 、または F である)

で示される部分 M^2 ;

20

(c)式

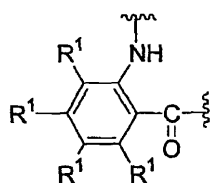


(IV)

(式中、各 L は独立に、3個または4個の原子により $-NH-$ と $-(C=O)-$ を分離する二価部分である)

で示される部分 M^3 ; および

(d)式



(Va)

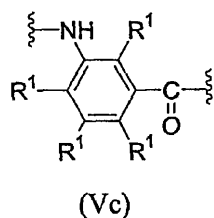
30



(Vb)

40

または



で示される部分M⁴

からなる群より選択され、

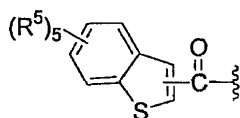
ただし、少なくとも1つの部分-(NH-Y-CO)-は、M¹またはM⁴であり；

かつ化合物は、12以下のpKbを有する塩基性基、または4価（quaternized）窒素基を含む。

10

【0013】

好ましくは、少なくとも1つの部分-(NH-Y-CO)-が、部分M¹である。さらに好ましくは、残基



20

に直接に隣接する部分-(NH-Y-CO)-は、部分M¹である。

【0014】

前述の式で、R¹およびR²は、先に定義されるとおりである。

【0015】

好ましくは、R¹は、水素、ハロゲン(F、Cl、Br、またはI、特にFまたはCl)；メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、s-ブチル、ペンチルなどのような(C₁-C₅)アルキル基；メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシなどのような(C₁-C₅)アルコキシ基；ヒドロキシ、またはシアノである。好ましくは、各R²は、Hまたはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、s-ブチル、ペンチルなどのような(C₁-C₅)アルキル基である。

30

【0016】

発明の詳細な説明

略語および定義

用語「アルキル」は、それ自体によるか、または別の置換の一部として、特に指示されない限り、完全に飽和しているか、モノまたはポリ不飽和であってよく、二価および多価ラジカルを含む可能性があり、指定された数の炭素原子を有する(すなわち、C₁-C₁₀は、1から10個までの炭素を意味する)、直鎖もしくは分岐鎖、または環状炭化水素ラジカル、またはそれらの組み合わせを意味する。飽和炭化水素ラジカルの例としては、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、t-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、シクロヘキシル、(シクロヘキシル)メチル、シクロプロピルメチル、例えば、n-ペンチル、n-ヘキシル、n-ヘプチル、n-オクチルなどの類似体および異性体のような基が挙げられる。不飽和アルキル基は、一つまたは複数の二重結合または三重結合を有するものである。不飽和アルキル基の例としては、ビニル、2-プロペニル、クロチル、2-イソペンテニル、2-(ブタジエニル)、2,4-ペンタジエニル、3-(1,4-ペンタジエニル)、エチニル、1-および3-プロピニル、3-ブチニル、および高度の相同体および異性体が挙げられる。

40

【0017】

用語「アルキレン」は、それ自体によるか、または別の置換基の一部として、-CH₂CH₂CH₂CH₂-により例示されるような、アルカンから誘導される二価ラジカルを意味する。一般に、アルキル(またはアルキレン)基は、1個から24個までの炭素原子を有し、10以下の炭素原子を有する基は、本発明において好ましい。「低級アルキル」または「低級アルキレン

50

」は、一般に6個以下の炭素原子を有する、短鎖アルキルまたはアルキレン基である。

【0018】

用語「アルコキシ」、「アルキルアミノ」および「アルキルチオ」(またはチオアルコキシ)は、それらの従来の意味で使用され、それぞれ、酸素原子、アミノ基、または硫黄原子を介して分子の残りに付着したアルキル基に該当する。

【0019】

用語「ヘテロアルキル」は、それ自体によるか、または別の用語と組み合わせて、特に指示されない限り、指示された数の炭素原子、およびO、N、SiおよびSからなる群より選択される1個から3個の異種原子から構成され、窒素および硫黄原子は、選択的に酸化されていてもよく、窒素異種原子は、選択的に4価にされうる、安定な直鎖もしくは分岐鎖、または環状炭化水素ラジカル、またはその組み合わせを意味する。異種原子O、NおよびSは、ヘテロアルキル基の任意の内側の位置に配置されうる。異種原子Siは、アルキル基が、分子の残りに付着される位置を含めて、ヘテロアルキル基のあらゆる位置に配置されうる。例としては、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OC}$ 、 H_3 、および $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ が挙げられる。2個までの異種原子は、例えば、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{O}-\text{CH}_3$ および $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ のように連続しうる。同様に、用語「ヘテロアルキレン」は、それ自体によるか、または別の置換基の一部として、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ および $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{C}$ 、 $\text{H}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ により例示されるように、ヘテロアルキルから誘導される二価ラジカルを意味する。ヘテロアルキレン基については、異種原子は、鎖末端(例えば、アルキレンオキシ、アルキレンジオキシ、アルキレンアミノ、アルキレンジアミノなど)のいずれか、または両方を持ちうる。さらに、アルキレンおよびヘテロアルキレン連結基については、連結基の起点で含まれるものはない。

10

20

30

40

50

【0020】

用語「シクロアルキル」および「ヘテロシクロアルキル」は、それら自身によるか、または他の用語と合わせて、特に指示されない限り、それぞれ、「アルキル」および「ヘテロアルキル」の環状型を表す。さらに、ヘテロシクロアルキルについては、異種原子は、複素環が分子の残りに付着される位置を占めうる。シクロアルキルの例としては、シクロペンチル、シクロヘキシル、1-シクロヘキセニル、3-シクロヘキセニル、シクロヘプチルなどが挙げられる。ヘテロシクロアルキルの例としては、1-(1,2,5,6-テトラヒドロピリジル)、1-ピペリジニル、2-ピペリジニル、3-ピペリジニル、4-モルホリニル、3-モルホリニル、テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロフラン-3-イル、テトラヒドロチエン-2-イル、テトラヒドロチエン-3-イル、1-ピペラジニル、2-ピペラジニルなどが挙げられる。

【0021】

用語「ハロ」または「ハロゲン」は、それら自身によるか、または別の置換基の一部として、特に指示されない限り、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素原子を意味する。さらに、「ハロアルキル」のような用語は、モノハロアルキルおよびポリハロアルキルを包含することを意味する。例えば、用語「ハロ(C_1-C_4)アルキル」は、トリフルオロメチル、2,2,2-トリフルオロエチル、4-クロロブチル、3-プロモプロピルなどを包含することを意味する。

【0022】

用語「アリール」は、特に指示されない限り、単環または複数環(3環まで)でありうる、共に融合または共有結合で連結される、ポリ不飽和、特に芳香族の炭化水素置換基を意味する。用語「ヘテロアリール」は、窒素および硫黄原子が選択的に酸化され、窒素原子が選択的に4価にされる、N、OおよびSから選択される0から4個までの異種原子を含む、アリール基(または環)に該当する。ヘテロアリール基を、異種原子を通して分子の残りに付着させうる。アリールおよびヘテロアリール基の非制限的な例としては、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチル、4-ピフェニル、1-ピロリル、2-ピロリル、3-ピロリル、3-ピラゾリル、2-イミダゾリル、4-イミダゾリル、ピラジニル、2-オキサゾリル、4-オキサゾリル、2-

フェニル-4-オキサゾリル、5-オキサゾリル、3-イソキサゾリル、4-イソキサゾリル、5-イソキサゾリル、2-チアゾリル、4-チアゾリル、5-チアゾリル、2-フリル、3-フリル、2-チエニル、3-チエニル、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、2-ピリミジル、4-ピリミジル、5-ベンゾチアゾリル、プリニル、2-ベンズイミダゾリル、5-インドリル、1-イソキノリル、5-イソキノリル、2-キノキサリニル、5-キノキサリニル、3-キノリル、および6-キノリルが挙げられる。上記アリアルおよびヘテロアリアル環系の各々についての置換基は、以下に記述される許容される置換基の群より選択される。

【0023】

簡潔には、他の用語と組合わせて使用される場合(例えば、アリアルオキシ、アリアルチオキシ、アリアルアルキル)の用語「アリアル」は、上に定義されるとおりアリアルおよびヘテロアリアル環の両方を包含する。したがって、用語「アリアルアルキル」は、アリアル基が、炭素原子(例えば、メチレン基)が例えば酸素原子(例えば、フェノキシメチル、2-ピリジルオキシメチル、3-(1-ナフチルオキシ)プロピルなど)に置換されているアルキル基を含めてアルキル基(例えば、ベンジル、フェネチル、ピリジルメチルなど)に付着しているラジカルを包含することを意味する。

10

【0024】

上記用語の各々(例えば、「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「アリアル」および「ヘテロアリアル」)は、示したラジカル(置換および非置換型)の両方を包含することを意味する。各型のラジカルについての好ましい置換基を以下に提供する。

【0025】

アルキル、ヘテロアルキル、アリアル、およびヘテロアルキルラジカルについての置換基(アルキレン、アルケニル、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、シクロアルケニル、およびヘテロシクロアルケニルと称されることが多い基を含む)は、0から $(2m'+1)$ (ここで、 m' がこのようなラジカルでの炭素原子の総数である)までの範囲にある数で、 $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-ハロゲン$ 、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR'R''C(O)R'$ 、 $-NR'R''C(O)NR'R''$ 、 $-NR'R''C(O)_2R'$ 、 $-NH-C(NH_2)=NH$ 、 $-NR'R''C(NH_2)=NH$ 、 $-NH-C(NH_2)=NR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-CN$ および $-NO_2$ より選択される様々な基でありうる。 R' 、 R'' および R''' は、各々独立に、水素、非置換(C_1-C_8)アルキルおよびヘテロアルキル、非置換アリアル、1-3ハロゲンで置換されたアリアル、非置換アルキル、アルコキシもしくはチオアルコキシ基、またはアリアル- (C_1-C_4) アルキル基に該当する。 R' および R'' が、同じ窒素原子に付着する場合、それらは窒素原子と化合して、5員、6員、または7員環を形成しうる。例えば、 $-NR'R''$ は、1-ピロリジニルおよび4-モルホリニルを包含することを意味する。置換基の上記検討から、当業者は、用語「アルキル」が、ハロアルキル(例えば、 $-CF_3$ および $-CH_2CF_3$)およびアシル(例えば、 $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ など)のような基を包含することを意味することを理解する。好ましくは、置換アルキルおよびヘテロアルキル基は、1個から4個の置換基、さらに好ましくは1個、2個または3個の置換基を有する。例外は、本発明において好ましく、かつ意図もされるパーハロアルキル基(例えば、ペンタフルオロエチルなど)である。

20

30

【0026】

同様に、アリアルおよびヘテロアリアル基についての置換基を変化させ、0から芳香族環系での開放原子価(open valence)の総数までの範囲の数で、ハロゲン、 $-OR'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-R'$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR'R''C(O)R'$ 、 $-NR'R''C(O)_2R'$ 、 $-NR'R''C(O)NR'R''$ 、 $-NH-C(NH_2)=NH$ 、 $-NR'R''C(NH_2)=NH$ 、 $-NH-C(NH_2)=NR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、パーフルオロ(C_1-C_4)アルコキシ、およびパーフルオロ(C_1-C_4)アルキルより選択される。ここで R' 、 R'' および R''' は独立に、水素、(C_1-C_8)アルキルおよびヘテロアルキル、非置換アリアルおよびヘテロアリアル、(非置換アリアル)- (C_1-C_4) アルキル、ならびに(非置換アリアル)オキシ- (C_1-C_4) アルキルより選択される。

40

【0027】

50

アリールまたはヘテロアリール環の隣接原子上の置換基の内の2つを、式-T-C(O)-(CH₂)_q-U-(ここで、TおよびUは、独立に-NH-、-O-、-CH₂-または単結合であり、qは、0から2までの整数である)の置換基に選択的に置換しうる。または、アリールまたはヘテロアリール環の隣接原子上の置換基の内の2つを、式-A-(CH₂)_r-B-(ここで、AおよびBは、独立に-CH₂-、-O-、-NH-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、-S(O)₂NR'-、または単結合であり、rは、1から3までの整数である)の置換基に選択的に置換しうる。そのように形成された新たな環の単結合の内の1つを、二重結合に選択的に置換しうる。または、アリールまたはヘテロアリール環の隣接原子上の置換基の内の2つを、式-(CH₂)_s-X-(CH₂)_t-(ここで、sおよびtは独立に、0から3までの整数であり、Xは、-O-、-NR'-、-S-、-S(O)-、-S(O)₂-、または-S(O)₂NR'-である)の置換基に置換しうる。-NR'-および-S(O)₂NR'-における置換基R'は、水素または非置換(C₁-C₆)アルキルより選択される。

10

【0028】

本明細書に使用される場合、用語「異種原子」は、酸素(O)、窒素(N)、硫黄(S)およびケイ素(Si)を包含することを意味する。

【0029】

用語「薬学的に許容される塩」は、本明細書に記述される化合物で見出される特定の置換基により、比較的毒性のない酸または塩基と共に調製される活性化合物の塩を包含することを意味する。本発明の化合物が、比較的酸性の官能価を含む場合、そのまま、または適切な不活性溶媒中のいずれかで、天然型のこのような化合物を、十分量の所望の塩基と接触させることにより、塩基付加塩を得ることができる。薬学的に許容される塩基付加塩の例としては、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、有機アミノ、もしくはマグネシウム塩、または類似の塩が挙げられる。本発明の化合物が、比較的塩基性の官能性を含む場合、そのまま、または適切な不活性溶媒中のいずれかで、天然型のこのような化合物を、十分量の所望の酸と接触させることにより、酸付加塩を得ることができる。薬学的に許容される酸付加塩の例としては、塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、炭酸一水素、リン酸、リン酸一水素、リン酸二水素、硫酸、硫酸一水素、ヨウ化水素酸、または亜リン酸などのような無機酸から誘導されるもの、並びに、酢酸、アスコルビン酸、プロピオン酸、イソ酪酸、マレイン酸、マロン酸、乳酸、リンゴ酸、グルタミン酸、安息香酸、コハク酸、スベリン酸、フマル酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、プロピルスルホン酸、クエン酸、酒石酸、メタンスルホン酸、ラクトバイオニック(lactobionic)などのような、比較的毒性のない有機酸から誘導される塩が挙げられる。さらに、アルギネート(arginate)などのようなアミノ酸の塩、並びにグルクロン酸またはガラクトン酸などのような有機酸の塩(例えば、Berge, S. M. ら、「Pharmaceutical Salts」、Journal of Pharmaceutical Science、66巻、1-19頁、1977年を参照)も含まれる。本発明のある種の特定の化合物は、化合物を塩基または酸付加塩のいずれかに変換させる塩基性および酸性の官能性の両方を含む。

20

30

【0030】

その塩を、塩基または酸と接触させ、そして従来の方法で親の化合物を単離することによって、中性型の化合物を再生させうる。親の型の化合物は、極性溶媒での溶解性のような特定の物理特性で、種々の塩形態と異なるが、ほかの点では、塩は、本発明の目的のために、親の形態の化合物に等しい。

40

【0031】

塩形態に加えて、本発明は、プロドラッグ形態の化合物を提供する。本明細書に記述される化合物のプロドラッグは、生理学的条件下で化学的变化を容易に受けて、本発明の化合物を提供する化合物である。さらに、エキソピボ環境での化学または生化学的方法により、プロドラッグを、本発明の化合物に変換しうる。例えば、適切な酵素または化学試薬を有する経皮パッチ保存器に入れた場合に、プロドラッグを本発明の化合物へと緩やかに変換しうる。

【0032】

本発明の特定の化合物は、非溶媒和形態、並びに水和形態を含む溶媒和形態で存在しうる

50

。一般に、溶媒和形態は、非溶媒和形態に等しく、本発明の範囲内に包含されることが意図される。本発明の特定の化合物は、多晶質または非晶質形態で存在しうる。一般に、全ての物理的形態は、本発明により意図される用途に対応し、本発明の範囲内にあることが意図される。

【0033】

本発明の特定の化合物は、不斉炭素原子(キラル中心)または二重結合を保有し;ラセミ体、ジアステレオマー、立体異性体、および個々の異性体は、全て本発明の範囲内に含まれることが意図される。

【0034】

本発明の化合物は、このような化合物を構成する一つまたは複数の原子に、天然には存在しない比率の原子同位体も含みうる。例えば、化合物を、トリチウム(^3H)、ヨウ素-125(^{125}I)または炭素-14(^{14}C)のような放射性同位体で放射線標識しうる。放射活性であろうと、またはなかろうと、本発明の化合物の全ての同位体異形は、本発明の範囲内に含まれることが意図される。

【0035】

以下の検討で、核酸としてdsDNAに言及するが、本発明はdsDNAに限定されず、他の核酸、すなわちリボ核酸に利用できると思なすべきである。

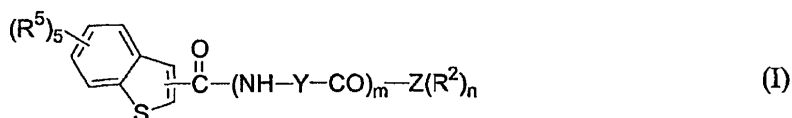
【0036】

化合物

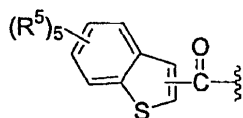
本発明の化合物(1)は、ベンゾチオフェンカルボキサミド単位およびさらに、脂肪族、芳香族、および/または芳香族複素環カルボキサミド単位を有する、ポリアミド(またはオリゴアミド)である。この化合物は、その副溝に対して親和性を有するDNA結合化合物である。様々なポリアミド-dsDNA結合様式が可能である。1:1結合様式としばしば称される最も簡単な様式では、単一ポリアミド分子は、副溝により形成されるチャンネルに適合する。2:1結合様式と称されるものでは、2つのポリアミド分子は、逆平行にしばしば並んで整列し、同じ部位で副溝に適合する(すなわち、一方のポリアミドは、NからCに配列され、他方のポリアミドは、CからNに配列される(ここで、「C」および「N」は、それぞれポリアミドのカルボキシおよびアミノ末端に該当する))。または、2:1様式で結合する場合、化合物は部分的にのみ、いわゆる「滑り込み」結合配置で重なりうる。最後に、「ヘアピン」結合様式と称されるものでは、多かれ少なかれ中央に配置される柔軟な部分を有する単一ポリアミド分子(すなわち、以下でさらに詳細に論述されるとおり、部分 M^3)は、副溝に結合するときに、そのヘアピントーンの一方の側にあるポリペプチドの第一の部分が、ヘアピントーン他方の側にあるポリアミドの第二の部分に隣接するように、自身の周りに畳み込んでヘアピン形状を取る。

【0037】

式(1)



において、ベンゾチオフェン基は、基 R^5 または基 $\text{-C(=O)-(NH-Y-C=O)}_m\text{-Z(R}^2\text{)}_n$ のいずれかの各非架橋先端炭素(non-bridgehead)に結合している。好ましくは、後者の基を、ベンゾチオフェンC2またはC3のいずれかに結合させ、ベンゾチオフェン基は、基 $\text{-C(=O)-(Y)}_m\text{-Z(R}^2\text{)}_n$ の位置決め依存して、位置C3またはC2に塩素を有する。すなわち、残基



10

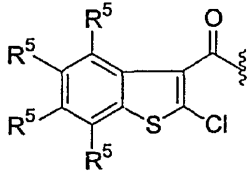
20

30

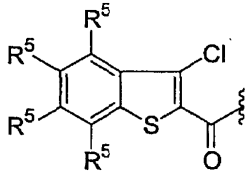
40

50

は好ましくは、



または

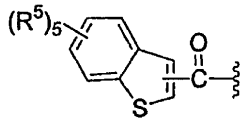


10

(特に、各R⁵はHである)のいずれかである。

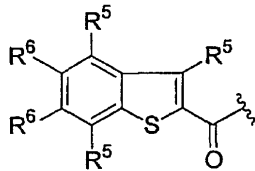
【0038】

別の好ましい態様では、残基



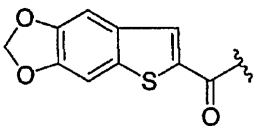
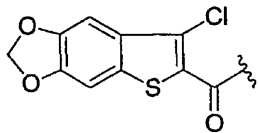
20

は、

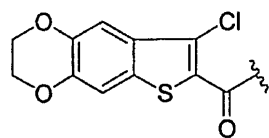


(各R⁵は、先に定義されるとおりであり、2つのR⁶が両方ともOHまたはOCH₃であるか、または 30
 は化合してO-(CH(R⁷))_t-O(ここで、tは1または2であり、R⁷は独立に、HまたはC₁-C₆アル
 キル、アルケニル、アルキニル、またはアシルである)を形成する。)

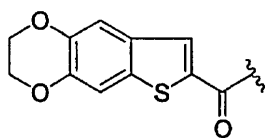
である。特定の例としては、



40



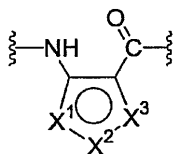
および



が挙げられる。

【0039】

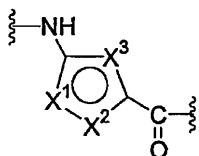
式IIaおよびIIb



(IIa)

10

または



(IIb)

20

によって示される部分M¹は、付加的な芳香族複素環ポリアミド構築ブロックを提供する。部分M¹は、5員環芳香族複素環部分であり、X¹、X²およびX³の選択は、芳香族複素環の型を決定する。例示的な芳香族複素環としては、イミダゾール、ピロール、ピラゾール、フラン、イソチアゾール、オキサゾール、イソキサゾール、チアゾール、フラザン、1,2,3-チアジアゾール、1,2,4-チアジアゾール、1,2,5-チアジアゾール、1,3,4-チアジアゾール、1,2,3-トリアゾール、1,2,4-トリアゾール、1,3,4-オキサジアゾール、1,2,4-オキサジアゾール、およびチオフェンが挙げられる。好ましくは、少なくとも1つの部分(NH-Y-C=O)は、部分M¹である。

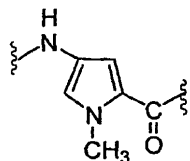
30

【0040】

上記の式IIaおよびIIbの5員環における円は、いくつかの態様では、環内を移動できる2つの二重結合の存在を示すことを意味する。

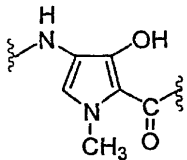
【0041】

好ましい部分M¹は、形式上1-メチル-4-アミノピロール-2-カルボン酸から誘導されるIIc(以降、「Py」)、形式上1-メチル-3-ヒドロキシ-4-アミノピロール-2-カルボン酸から誘導されるII d(以降、「Hp」)、および形式上1-メチル-4-アミノイミダゾール-2-カルボン酸から誘導されるII e(以降、「Im」)である。

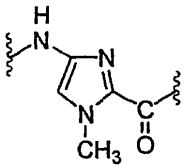


(IIc)

40



(IIId)



(IIe)

10

20

30

40

50

【 0 0 4 2 】

Dervanおよび同僚ら(例えば、Dervan、米国特許第6,143,901号(2000年); Dervanら、国際公開公報第98/37066号(1998年); Whiteら、Nature 391巻、468頁(1998年); Whiteら、Chem. Biol. 4巻、569頁(1997年)を参照)は、部分Py、Im、およびHpが、2:1様式またはヘアピン配置で結合する場合に、特異的dsDNA塩基対を認識し、芳香族複素環部分対およびDNA塩基対を相関させる1組の「対合則」を生じる、ポリアミドを構築するために使用されることを示した。これらの対合則を、以下に要約する。

芳香族複素環対認識されるdsDNA塩基対

Im/Py	G/C
Py/Im	C/G
Py/Py	A/T, T/A (縮重)
Hp/Py	T/A
Py/Hp	A/T

【 0 0 4 3 】

例えば、Whiteら、Chem. Biol. 4巻、459頁(1997年8月)およびWhiteら、Nature 391巻、468頁(1998年); を参照。このような認識能力は、予め決定されたDNA塩基対配列、例えば、遺伝子の特異的プロモーター部位または配列特徴を標的にする化合物(1)の設計を可能にする、配列特異的dsDNA結合を導きうる。

【 0 0 4 4 】

選択的には、化合物(1)は、一つまたは複数の部分M²



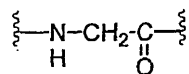
を包含しうる。

【 0 0 4 5 】

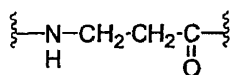
部分M²は、結合部位においてdsDNA塩基対に関連して芳香族複素環部分M¹またはM⁴の位置決めを調整するための「スペーサー」として機能できる。化合物(1)が副溝で結合するとき、最適な結合または配列認識の相互作用に至る、DNA塩基対との芳香族複素環部分M¹およびM⁴のアラインメントは、芳香族複素環部分M¹およびM⁴の数が増大するにつれて変動しうる。または、部分M²の組み込みは、化合物(1)に柔軟性を加え、湾曲を副溝に似せ正確に適合させる。一つまたは複数の柔軟な部分M²の組み込みは、化合物骨格の湾曲を緩和し、より大きな化合物(1)がDNAの長い配列に結合可能にする。いくつかの好ましい態様では、部分M²は、4個から5個の芳香族複素環部分M¹またはM⁴毎に存在し、さらに好ましくは、M¹および/またはM⁴基の長い配列を中断する。

【 0 0 4 6 】

好ましい部分 M^2 は、グリシン(式IIIで $x = 0$ 、以下にIIIaとして記載される)および β -アラニン(式IIIで $n = 1$ および $R^{15} = H$; 以下にIIIbとして記載され、以降「 β 」)に対応するものであり、後者は特に好ましい。



(IIIa)



(IIIb)

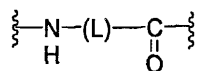
10

【 0 0 4 7 】

$x = 1$ および $R^{15} = OH$ 、 NH_2 、またはFである部分 M^2 は、Florenceら、J. Am. Chem. Soc. 122巻、6342頁、2000年に開示されるとおり、結合親和性および特異性(β -アラニンに関連して)を変えるために使用することができ; その開示は、参照として本明細書に組み入れられる。

【 0 0 4 8 】

化合物(1)に存在する場合、最適な部分 M^3 (式IV)

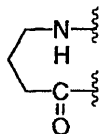


(IV)

20

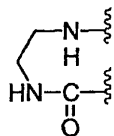
は、

-NHと-C(=O)-の間の3個から4個の原子のスペーサーを提供する基Lを有し、化合物(1)にヘアピントーンを導入するために使用されうる。Mrksichら、J. Am. Chem. Soc. 116巻、7983頁、1994年を参照。例示の部分 M^3 としては、



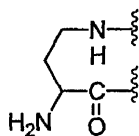
(IVa)

30

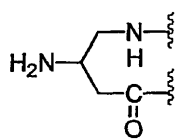


(IVb)

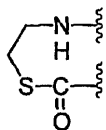
40



(IVc)

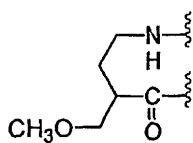


(IVd)

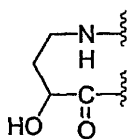


(IVe)

10

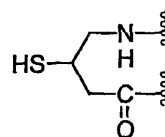


(IVf)



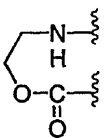
(IVg)

20

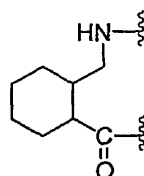


(IVh)

30

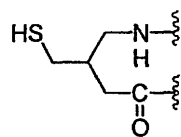


(IVi)

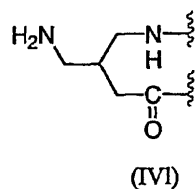


(IVj)

40



(IVk)



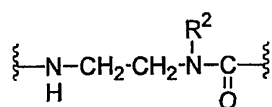
が挙げられる。

【0049】

-アミノ酪酸に対応する部分IVa(以降「 M^3 」)、および2,4-ジアミノ酪酸に対応するIVcが好ましい。例えば、R-2,4-ジアミノ酪酸およびS-2,4-ジアミノ酪酸(それぞれ、R-IVcおよびS-IVcに対応する)に関してはBairdら、国際公開公報第98/45284号(1998年)に開示されたとおり、一方のエナンチオマー、またはキラルである他方の部分 M^3 を選択することで、副溝へのポリアミドの結合の立体化学的制御を可能にする。

【0050】

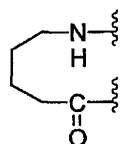
さらに別のクラスの部分 M^3 は、式



(式中、 R^2 は先に定義されたとおりである)によって表される。

【0051】

好ましくは、基Lが、-NH-と-(C=O)-との間の3原子分離を提供する一方で、4原子の分離も、5-アミノ吉草酸残基(すなわち、Lは-(CH₂)₄-に等しい)によって示されたとおり、許容される。

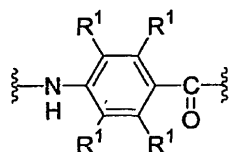


【0052】

Lは、溶解性を増大するために役立つか、または他の基(例えば、IVc、IVd、IVg、IVh、IVk、IVI)についての付着点として機能するペンダント基を有しうる。3個から4個の原子は、立体配置の堅固さを提供するより大きな基の一部(例えば、IVj)でありうる。3個から4個の原子は、炭素原子のみを包含しうるか、または異種原子を包含しうる(例えば、IVb、IVe、IVI)。

【0053】

部分 M^4 は、ベンズアミド単位を化合物(1)に導入するために使用される。好ましくは、ベンズアミド単位は、



にあるようにパラ位に配向される。

【0054】

基Z(R^2)_nは、化合物(1)のC末端に配置され、そこにアミドまたはエステルキャップを形成する末端基と見なされうる。ZがNである場合には、2つの基 R^2 を、互いに連結して、環状構造を形成しうる。基Z(R^2)_nは、塩基性基(本明細書で以下に定義されたとおり)を含みうる。塩基性基を含む適切な基の例としては、

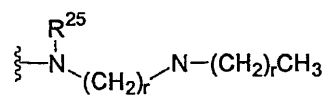
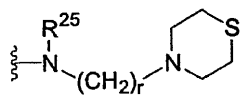
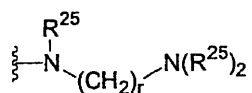
10

20

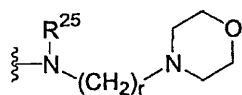
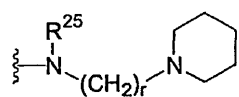
30

40

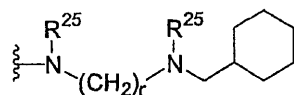
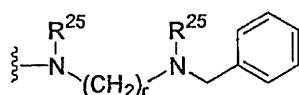
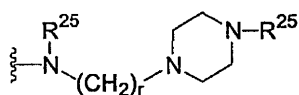
50



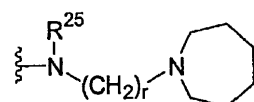
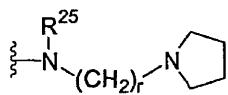
10



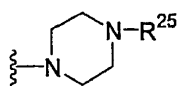
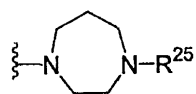
20

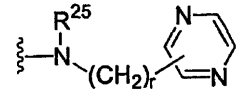
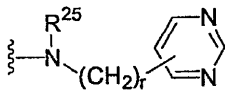
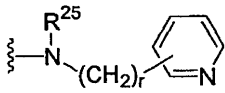


30

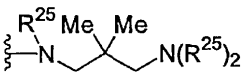
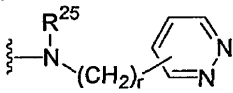


40

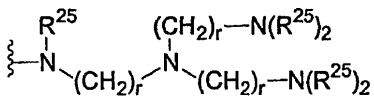




10



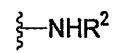
および



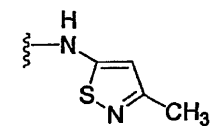
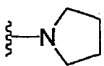
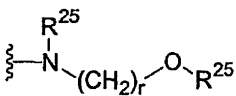
20

が挙げられる。

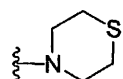
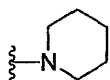
【 0 0 5 5 】

塩基性基を含まない適切な基 $Z(R^2)_n$ の例としては、

30

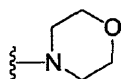


40



および

50



が挙げられる。

【0056】

「非塩基性」 $Z(R^2)_n$ 基としての5-アミノ-2-メチルイソチアゾール基の分類は、その pK_b が限界であり、通常は約12~13(すなわち、 pK_a 1~2)であるため、いくぶん恣意的であり、化合物全体の分子構造によって、それは本明細書に定義されるような塩基性基として、適切であってもなくてもよい。好ましくは、5-アミノ-2-メチルイソチアゾールが存在する場合、化合物は、図5で化合物1b-53および1b-54により例示されるとおり、その分子のどこか他の箇所、例えば、部分 M^1 または M^4 に由来するペンダントにおいて塩基性基を有する。

10

【0057】

前述の式で、 r は、2から8(好ましくは、2から6)の整数であり、各 R^{25} は独立に、H、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ 、または $CH(CH_3)_2$ である。

【0058】

塩基性および非塩基性基 $Z(R^2)_n$ の前述の例示式は、便宜上、 Z はN、 n は2として記載した。当業者は、これらの例示が、 Z が0であり n が1である代替の態様に置換されうることを認識する。 Z が0である場合、好ましくは、隣接部分 Y はPyである。

20

【0059】

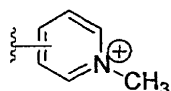
基 R^1 および R^2 に関連して本明細書に使用される場合、「置換もしくは非置換(C_1 - C_{12})アルキル基、または置換もしくは非置換(C_1 - C_{12})ヘテロアルキル基」は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、*s*-ブチル、イソブチル、*t*-ブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、およびペンチルのような従来のアルキルまたはシクロアルキル基のみならず、例えば、芳香族、アルケニル、またはアルキニル基(例えば、フェニル、ベンジル、ビニル、シクロヘキセニルなど)を有する不飽和 C_1 から C_{12} までの基も包含する。一つまたは複数の骨格炭素を、異種原子に置換しうる。ヒドロキシ；オキソ(=O)；一級、二級または三級アミン(例えば、 $-NH_2$ 、 $-NH(CH_3)$ 、 $-N(CH_3)_2$)；四級アンモニウム(例えば、 $-N(CH_3)_3^+$)；アルコキシ(例えば、メトキシ、エトキシ)；アシル(例えば、 $-C(=O)CH_3$)；アミド(例えば、 $-NHC(=O)CH_3$)；チオール；チオエーテル(例えば、 $-SCH_3$)；スルホキシド；スルホナミド(例えば、 $-SO_2NHCH_3$)；ハロゲン(例えば、F、Cl)；ニトロなどのような本発明の官能性が存在しうる。例示的な特定の R^1 、 R^2 、および R^5 基としては、メチル、トリフルオロメチル、エチル、アセチル、メトキシ、メトキシエチル、エトキシエチル、アミノエチル、ヒドロキシエチル、プロピル、ヒドロキシプロピル、シクロプロピル、イソプロピル、3-(ジメチルアミノ)プロピル、ブチル、*s*-ブチル、イソブチル、*t*-ブチル、ペンチル、シクロペンチル、ビニル、アリル、エチニル、プロピニルなどが挙げられる。

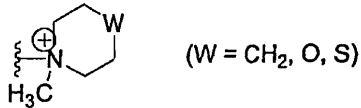
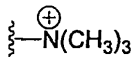
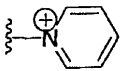
30

【0060】

化合物(1)は、好ましくは、12以下の pK_b を有する塩基性基または4価窒素基を有する。(または、逆に言えば、塩基性基の接合酸は、2より大きな pK_a を有する($pK_a = 14 - pK_b$)。)好ましくは、 pK_b は10未満であり、さらに好ましくは、5未満である。12未満の pK_b は、確実に核酸と相互作用する条件下で、化合物(1)をプロトン化する(protonated)。好ましくは、塩基性基は、窒素含有基、例えば、アミン、アミジン、グアニジン、ピリジン、ピリダジン、ピラジン、ピリミジン、イミダゾール、またはアニリンである。第一、第二または第三脂肪族アミンが好ましい。例示的な第四窒素基としては、

40





10

のような、アルキルピリジニウムおよびテトラアルキルアンモニウム基が挙げられる。

【0061】

理論に縛られないが、塩基性基は、細胞輸送特性を増強し、本発明の化合物を細胞および核膜を越えて輸送させ、核内でdsDNAに到達させることができると思われる。グアニジンまたはアミジノ側鎖部分が、生体膜を越える輸送を増強することを開示する、Rothbardら、国際公開公報第98/52614号(1998年)を参照。別の有望な利益は、おそらく骨格リン酸基とのイオン性相互作用を介する、核酸に対する結合親和性の増強である。BairdおよびDer van、国際公開公報第98/37087号(1998年)およびBruiceら、米国特許第5,698,674号(1997

20

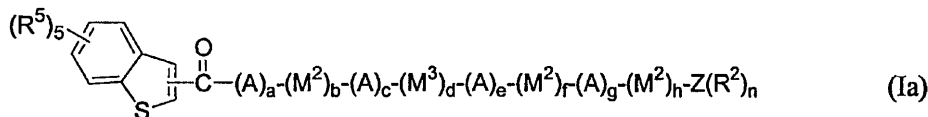
年)を参照。最後に、プロトン化塩基性基は、化合物(1)の溶解性を増強する。

【0062】

好ましくは、塩基性基は、C末端基Z(R²)_n内に存在するが、しかしそれは、分子中の別の場所に、例えば、M¹またはM⁴内の基R¹またはR²の部分として存在しうる。または、複数の塩基性基が、化合物(1)の異なる部分に存在しうる。

【0063】

好ましい態様では、化合物(1)は、式(1a)：



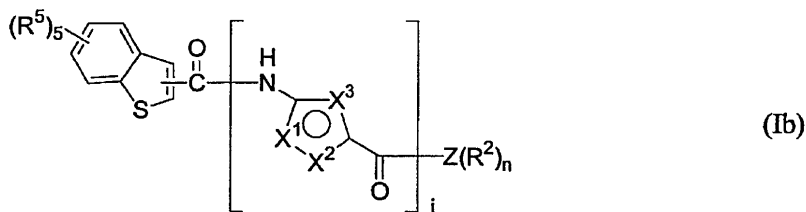
30

(式中、M²、M³、R²、R⁵、Zおよびnは、先に割当られたのと同じ意味を示す。各Aは独立に、M¹またはM⁴である。a、c、e、gおよびhの各々は、独立に0から5の整数である。b、dおよびfの各々は、独立に0または1である。)

による。a、c、eおよびgの総計は、少なくとも2、好ましくは少なくとも3である。1つの好ましい態様では、各AはM¹である。さらに好ましくは、下付きaと結合した部分Aは、部分M¹である。

【0064】

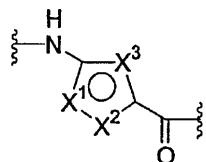
別の好ましい態様では、化合物(1)は、式(1b)：



40

(式中、X¹、X²、X³、R²、R⁵、Zおよびnは、先に割り当てられた意味を示し、iは1から4の整数である。)

による。式(1b)による化合物の1つの部分集合では、部分



の各々はPyであり、表1は、例示のこのような化合物(Ib)を列挙する。

【0065】

(表1) 例示化合物(Ib)

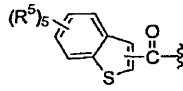
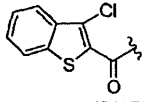
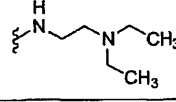
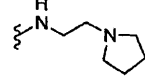
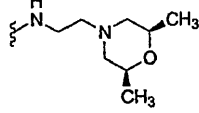
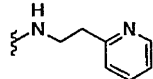
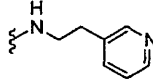
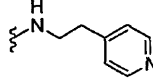
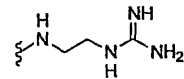
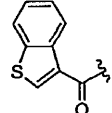
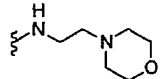
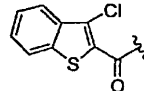
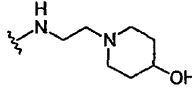
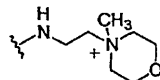
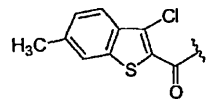
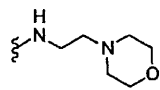
化合物 整理番号		i	
Ib-1		3	
Ib-2	同じ	3	
Ib-3		2	
Ib-4		2	同じ
Ib-5	同じ	3	
Ib-6	同じ	3	
Ib-7	同じ	3	
Ib-8	同じ	2	同じ
Ib-9	同じ	2	
Ib-10		3	
Ib-11		2	同じ
Ib-12	同じ	3	

10

20

30

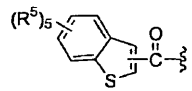
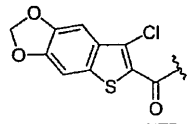
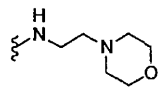
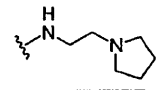
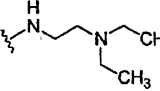
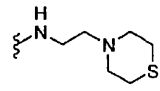
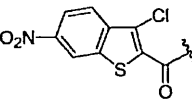
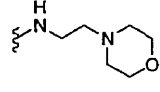
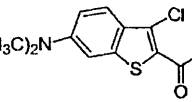
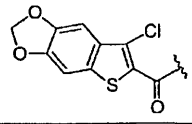
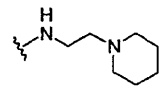
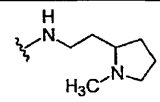
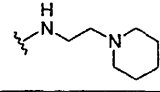
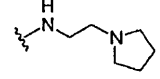
40

化合物 整理番号		i	$\text{---Z(R}^2\text{)}_n$
Ib-13		3	
Ib-14	同じ	3	
Ib-15	同じ	3	
Ib-16	同じ	3	
Ib-17	同じ	3	
Ib-18	同じ	3	
Ib-19	同じ	2	
Ib-20		3	
Ib-20a		2	
Ib-20b	同じ	3	
Ib-20c		3	

10

20

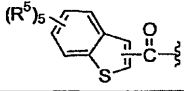
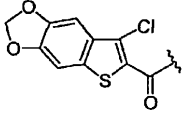
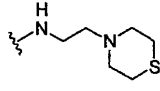
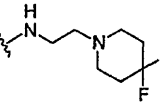
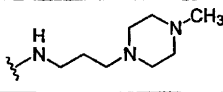
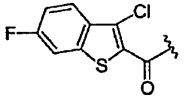
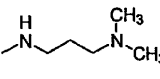
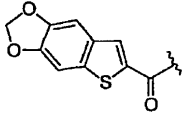
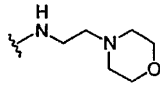
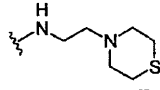
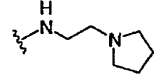
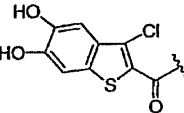
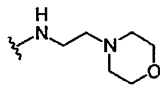
30

化合物 整理番号		i	$\text{Z}(\text{R}^2)_n$
Ib-20d		3	
Ib-20e	同じ	2	同じ
Ib-20f	同じ	1	同じ
Ib-20g	同じ	3	
Ib-20h	同じ	3	
Ib-20i	同じ	3	
Ib-20j		3	
Ib-20k		3	同じ
Ib-20l		3	
Ib-20m	同じ	3	
Ib-20n	同じ	1	
Ib-20o	同じ	1	

10

20

30

化合物整理番号		i	$Z(R^2)_n$
Ib-20p		1	
Ib-20q	同じ	1	
Ib-20r	同じ	1	
Ib-20s		2	
Ib-20t		1	
Ib-20u	同じ	2	同じ
Ib-20v	同じ	3	同じ
Ib-20w	同じ	1	
Ib-20x	同じ	1	
Ib-20y		1	

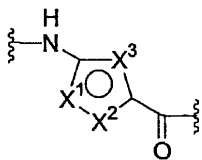
10

20

30

【0066】

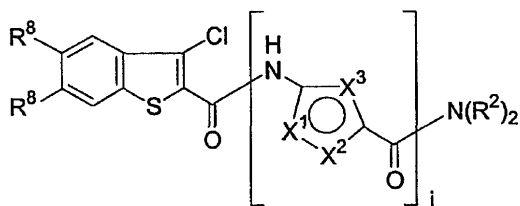
しかし、式Ibでは、部分



は、全てがPyである必要はない。それらは、図1~7で示される化合物により示されるとおり、他の5員環複素環を包含する。

【0067】

式(Ib)による好ましい下位態様は、



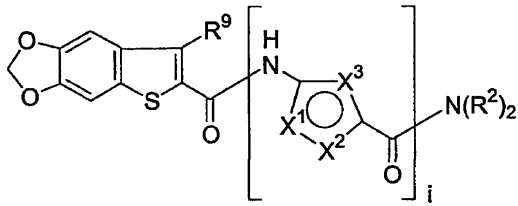
(一方の R^8 はHであり、他方の R^8 はH、F、 CH_3 、 NO_2 、または $N(CH_3)_2$ であり、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 i 、および R^2 は、先に定義されるとおりである。)

50

である。

【0068】

第二の好ましい下位態様は、

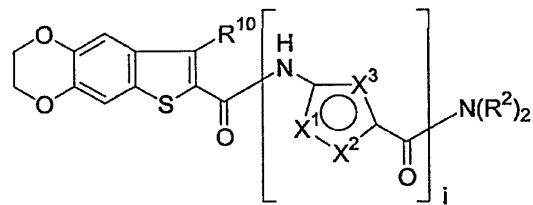


(式中、 R^9 はClまたはHであり、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 i 、および R^2 は、先に定義されるとおりである。)

である。

【0069】

第三の好ましい下位態様は、



(式中、 R^{10} はClまたはHであり、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 i 、および R^2 は、先に定義されるとおりである。)

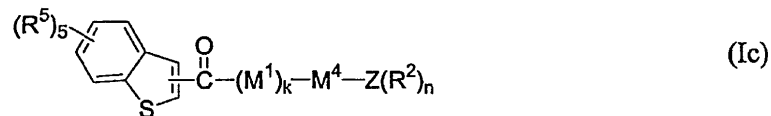
である。

【0070】

式(1b)による前述の下位態様の例は、表1および図1~7に見られる。

【0071】

別の好ましい態様では、化合物(1)は、式(1c)：

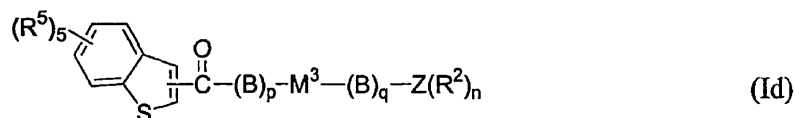


(式中、 M^1 、 M^4 、 R^2 、 R^5 、 Z および n は、先に定義されたとおりであり、 k は、0から2まで(好ましくは、0または1、さらに好ましくは1)の整数である。)

による。

【0072】

別の好ましい態様では、化合物(1)は、式(1d)：



(式中、 M^3 、 R^2 、 R^5 、 Z および n は、先に定義されたとおりであり；各 B は独立に、 M^1 または M^2 であり； p および q は独立に、1から7まで(さらに好ましくは、2から4まで)の整数である。)

による。例示の化合物(1d)としては、化合物1d-1~1d-5が挙げられ、その構造は、図8および図9に記載される。

【0073】

10

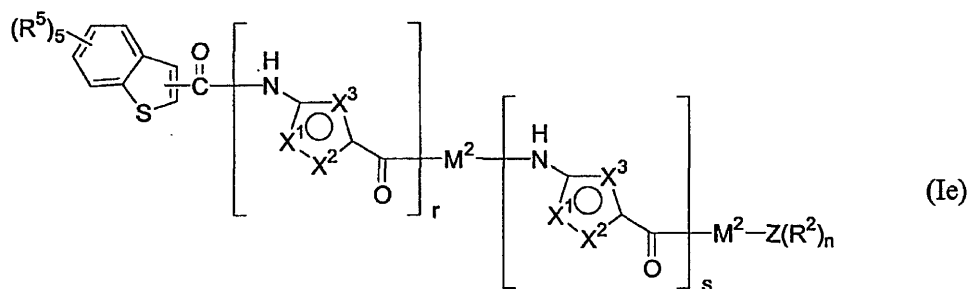
20

30

40

50

別の好ましい態様では、化合物(1)は、式(1e)：



(式中、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 M^2 、 R^2 、 R^5 、 Z および n は、先に定義されたとおりであり、 r および s の各々は独立に、1または2である。)

による。例示の化合物(1e)としては、化合物1e-1~1e-4が挙げられ、その構造は、図10に記載されている。

【0074】

化合物(1)を、別の核酸結合化合物に接合または連結させる。接合核酸結合化合物は、2つの同一もしくは異なる化合物(1)、または1つの化合物(1)および異なるクラスの核酸結合剤、例えば、インターカレーター(intercalator)、三重らせん形成剤、リン酸骨格に対する結合剤、主溝結合剤、別の型の副溝結合剤などでありうる。接合連結を形成するための好ましい部位は、部分 M^2 における基L中のアミノ、ヒドロキシ、またはチオ官能価であり、アシル化またはアルキル化される。この意味で、タンデム連結核酸結合ポリアミドの調製は、Bairdら、国際公開公報第98/45284号(1998年)に開示されており、その開示は、参照として本明細書に組み入れられる。

【0075】

化合物(1)を、ペプチド、タンパク質、輸送剤、蛍光体または他のレポーター基のような他の部分などに接合させることもできる。

【0076】

好ましくは、化合物(1)は、高親和性(10^{-3} M以下、さらに好ましくは 10^{-6} M以下、最も好ましくは 10^{-9} M以下の平衡解離定数)を示すdsDNAに結合する。定量DNA分解酵素Iフットプリント法による結合親和性の測定は、Dervan、国際公開公報第98/50582号(1998年)、およびTraugerら、Nature 382巻、559頁(1996年8月8日)に開示されている；その開示は、参照として本明細書に組み入れられ、本明細書で以下の実施例にも記述される。

【0077】

本発明の化合物は、特定の塩基対配列を含むdsDNA鎖を認識および/または単離する目的のために、例えば、分析または診断の目的のために、dsDNAと複合体を形成するために使用される。したがって、本発明の別の局面では、本発明のdsDNAと化合物との複合体が提供される。細胞の系で、または生きている生物で、化合物は、遺伝子またはプロモーターまたはリプレッサー領域に結合することによって、遺伝子の発現を調節しうる。このような調節は、治療または研究目的にとって有用でありうる。

【0078】

さらに、本発明の化合物は、抗細菌性および/または特性を示し、したがって、真核細胞生物、特に哺乳類での感染と戦う(すなわち、防止および/または治療する)のに有用でありうるということが分かった。本発明の化合物が有用でありうる他の病原体としては、真菌、原生動物、およびウイルスが挙げられる。ヒトの抗感染性用途のために、薬学的に許容される担体と選択的に組み合わせて、本発明の化合物の有効量を使用する。組成物は乾燥していてもよく、または溶液であってもよい。治療は、既存の感染と戦うために反応性であってもよく、または感染に罹りやすい生物における感染を防止するために予防性でありうる。好ましくは、本発明の化合物は、グラム陽性菌、特にその薬物耐性株、例えば、MRSA(メチシリン耐性S. アウレウス(S. aureus))、MRSE(メチシリン耐性S. エピデルミディス(S. epidermidis))、PRSP(ペニシリン耐性S. ニューモニエ(S. pneumoniae))またはVRE(バン

10

20

30

40

50

コマイシン耐性エンテロコッカ(Enterococci)による感染を治療するために使用される。「薬物耐性」によって、細菌が、従来の抗生物質での治療に耐性があることを意味する。

【0079】

治療されうる宿主生物としては、真核細胞生物、特に植物および動物が挙げられる。植物は、小麦、米、トウモロコシ、大豆、モロコシ、およびアルファルファのような農業上重要な作物でありうる。目的の動物としては、ウシ、イヌ、ウマ、ネコ、ヒツジ、ブタ、および霊長類(ヒトを含む)が挙げられる。したがって、本発明の別の局面では、有効量の化合物(1)をこのような治療を必要とする患者に投与することを含む、細菌感染、特にグラム陽性菌による感染を治療する方法が提供される。本発明の化合物は、哺乳類における細菌感染の治療のための薬剤の調製にも使用されうる。化合物を、経口で、局所に、または非経口で(例えば、静脈内に、皮下に、腔内に、経皮で)投与しうる。

10

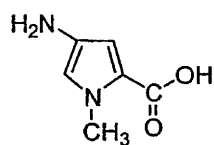
【0080】

なんら特定の理論に縛られることは望まないが、本発明の化合物が、dsDNA、特に病原体生存のために不可欠であり、このような必須の遺伝子の発現を干渉する遺伝子のプロモーター領域に結合する能力から、それらの生物活性を誘導すると考えられる。

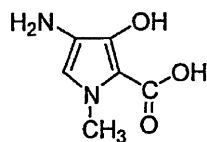
【0081】

化合物Iは、対応するアミノ酸またはそれらの誘導體、例えば、それぞれ、Py、Hp、およびIm結合ブロックの合成についてIIc'、II d'、およびII e'から固相技術により合成される。

20

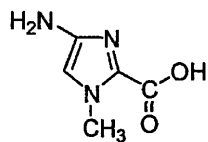


(IIc')



(II d')

30



(II e')

40

【0082】

固相合成では、ポリアミドは、Boc-グリシン-PAM-樹脂またはBoc- -アラニン-PAM-樹脂のような樹脂上で合成され、Dervanら、米国特許第6,090,947号(2000年); Bairdら、国際公開公報第98/37066号(1998年); Bairdら、国際公開公報第98/37067号(1998年); およびDervanら、国際公開公報第98/49142号(1998年)で教示されるとおり、部分Yは、アミノ保護およびカルボキシ活性化モノマーを含む一連の工程で加えられ; その開示は、参照として本明細書に組み入れられる。また、コンビナトリアル合成技術を使用しうる。例えば、Boogerら、J. Am. Chem. Soc. 122巻、6382-6394頁(2000年)を参照し、さらに参照として本明細書に組み入れられる。

【0083】

50

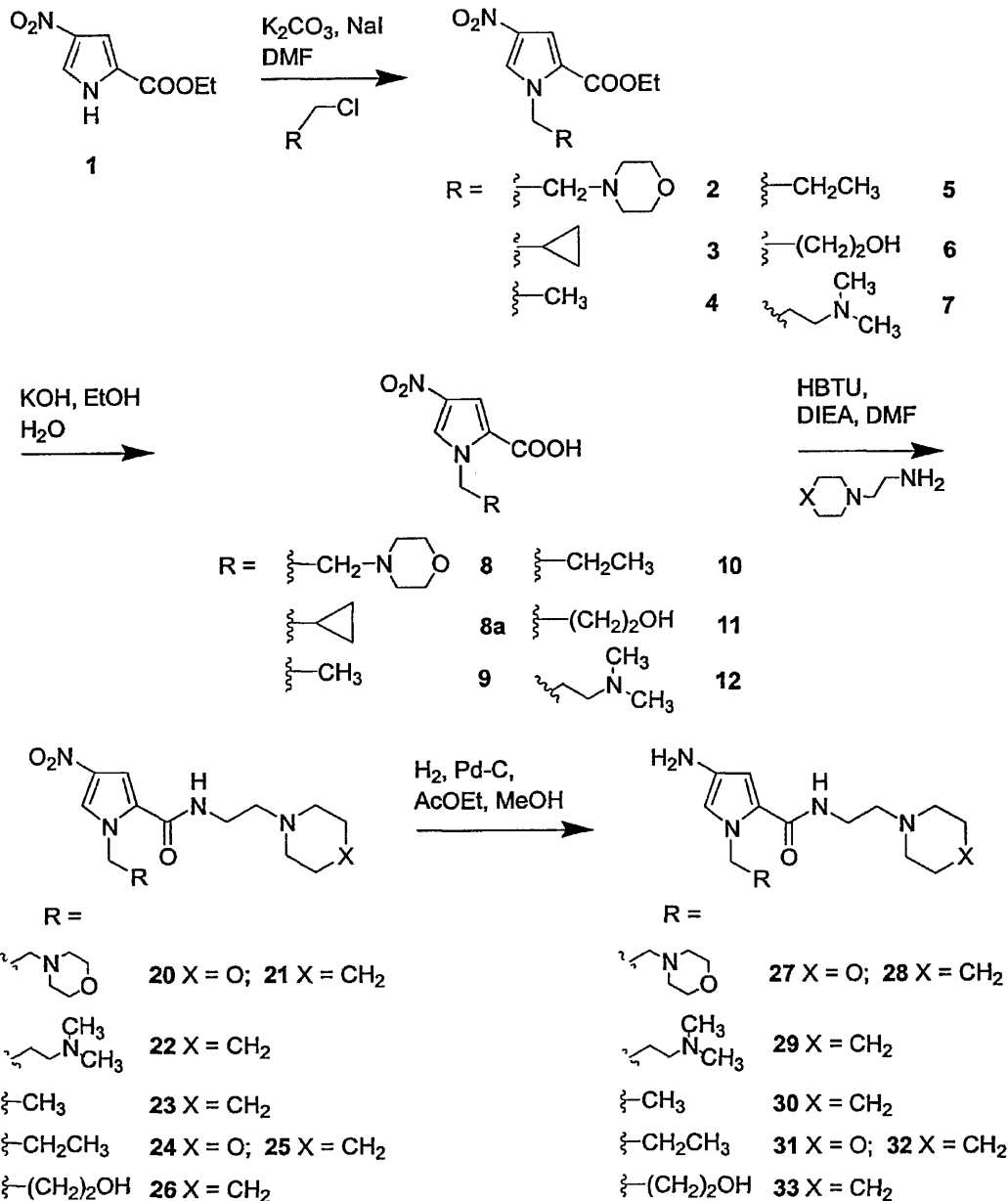
本発明の実施は、以下の実施例に対する参照によりさらに理解でき、そしてそれは例示のために提供されるものであって、限定のためのものでない。

【0084】

実施例A

本実施例には、化合物1b-29、1b-31~1b-34、1b-36~1b-46、1b-50~1b-51の例にあるように、ピロール窒素をメチル以外の置換基で置換するピロールカルボキサミド単位を有する、本発明の化合物の調製のための中間体の合成が記述されている。上述の中間体の調製のための一般法は、略図1に示される。

略図1



10

20

30

40

【0085】

化合物2-7の合成

化合物2-7の合成は、特に化合物2に関して示され、他の化合物は、類似に合成しうる。DMF (200mL) 中のエチル 4-ニトロピロール-2-カルボキシレート1 (20.00g, 1.0当量)、4-(2-クロロエチル)-モルホリン塩酸塩 (28.28g, 1.4当量)、NaI (16.28g, 1.0当量) および K_2CO_3 (28.78g, 1.92当量) の混合物を、10.5時間、60 °C で攪拌し、 H_2O および飽和水性 K_2CO_3 (550/50mL) の混合物に注いだ。生じた溶液を、AcOEt (4 x, 各200mL) で抽出した。合わせた有機層を乾燥 ($MgSO_4$) させ、蒸発させて、淡い黄色結晶として化合物2を得た (31.4g, 97%)。¹

50

H-NMRスペクトルは、化合物2の構造と一致した。

【0086】

化合物8～12の合成

化合物8～12の合成は、特に化合物8に関して示され、他の化合物は、類似に合成しうる。EtOH(100mL)およびH₂O(100mL)中のエステル2(31.4g、1.0当量)およびKOH(8.13g、2当量)の懸濁液を、16時間、室温(RT)で攪拌した(1時間後に完全に溶解した)。混合物を、1M水性HClでpH=3.0に酸性化し、生じた沈殿物を濾過により回収し、真空で乾燥させて、化合物8を白色固形物として得た(23.0g、81%)。¹H-NMRスペクトルは、化合物8の構造と一致した。

【0087】

化合物20～26および27～33の合成

化合物20～26および27～33の合成は、特に化合物20および27に関して示され、他の化合物は類似に合成しうる。DMF(8mL)およびDIEA(ジイソプロピル-エチルアミン)(2mL)中の酸8(1.5g、1.0当量)およびHBTU(2-(1H-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)(1.8g、1当量)の混合物を、1時間、室温で攪拌し、4-(2-アミノエチル)モルホリン(0.70mL、1.1当量)で処理し、15時間、室温で攪拌した。その溶液を、氷水(150mL)に滴下で添加し、AcOEt(5×)で抽出した。合わせた有機層を乾燥(MgSO₄)させ、蒸発させて、茶色固形物として化合物20を得た(1.6g、¹H-NMRスペクトルは、化合物20の構造と一致した)。粗生成物を、AcOEt(50mL)およびMeOH(5mL)に溶解し、10% Pd-C(約100mg)で処理し、48時間H₂(1気圧)下で室温で攪拌した。混合物を、セライトに通して濾過し、固形物をMeOHで洗浄した。濾液を真空で濃縮し、Et₂O(250mL)およびAcOEt(50mL)で希釈し、1分間HCl(g)で処理した。溶媒の蒸発により、オレンジ色固形物として化合物27を得(1.7g)、続いて1b-33または1b-34のような最終化合物の調製のためにさらに精製することなく使用した。

【0088】

実施例B

本実施例には、特に3-クロロベンゾチオフェン部分に関して略図2に示されるとおり、実施例Aで調製される中間体と結合させるための、ベンゾチオフェン部分を含む中間体の合成が記述されている。

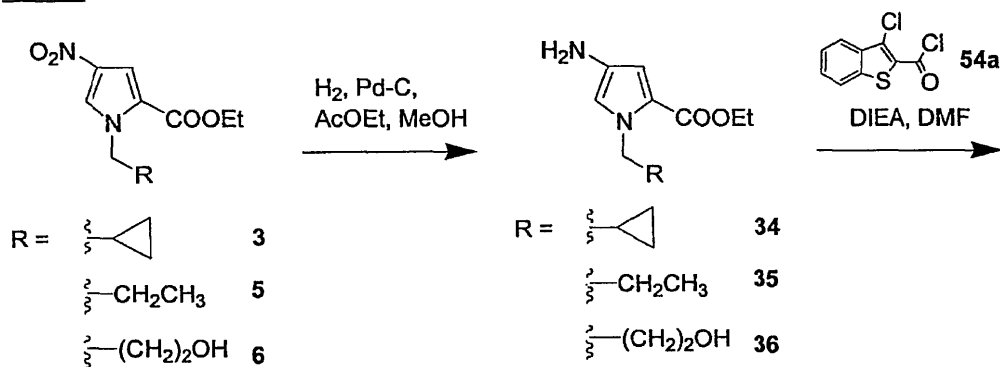
略図2

10

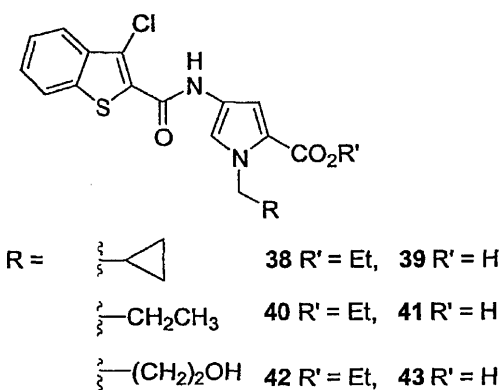
20

30

変法 a

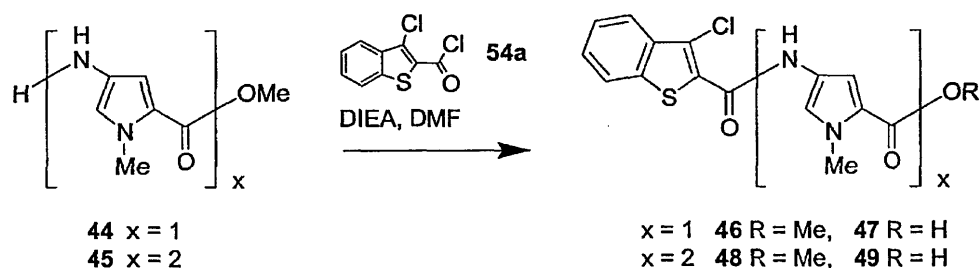


10



20

変法 b



30

【0089】

変法 a: 化合物 38 および 43 の合成

変法 a は、ピロール窒素をメチル以外の置換基と置換し、特に化合物 40 および 41 に関して示されるものである、ピロールカルボキサミド部分へのベンゾチオフェン部分の結合に関連し、化合物 38 ~ 39 および 42 ~ 43 が、類似に合成されうる。NMP (4 mL) および DIEA (1 mL) 中のアミノエステル 35 (500 mg、1.0 当量) および酸塩化物 54a (546 mg、1.1 当量) の混合物を、16 時間、40 で混合し、氷水 (100 mL) および飽和水性 K_2CO_3 (5 mL) の混合物に注いだ。生じた固形物を、濾過により回収し、EtOH (約 50 mL)、 H_2O (40 mL) および 2 M 水性 KOH (10 mL) に溶解させた。混合物を、24 時間、60 で攪拌し、 Et_2O (1 ×) で洗浄した。水層を 1 M 水性 HCl を使用して pH = 1.9 に酸性化し、生じた沈殿物を濾過により回収し、真空で乾燥させて、白色固形物として化合物 41 を得た。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは、化合物 41 の構造と一致した。

40

【0090】

変法 b: 化合物 46 および 49 の合成

変法 b は、ピロール窒素を、実施例として化合物 48 および 49 を使用して、メチル基と置換する、1 つまたは複数のピロールカルボキサミド部分へのベンゾチオフェン部分の結合に関連し、化合物 46 および 47 が類似に合成されうる。DMF (75 mL) および DIEA (15 mL) 中の酸塩化物 54a (8.23 g、1.1 当量) およびアミン 45 (10.00 g、1.0 当量、Baillly ら、J. Pharm. Chem.

50

78(11)巻、910-917頁(1989年11月)の混合物を、23時間、室温(発熱性)で攪拌し、氷水(1000mL)および飽和水性 K_2CO_3 (50mL)の混合物に添加した。生じた沈殿物を、濾過により回収し、洗浄(H_2O)した。少量の試料を、真空で乾燥させた：この試料の 1H -NMRスペクトルは、化合物48の構造と一致した。

【0091】

粗生成物を、EtOH(150mL)および H_2O (150mL)に懸濁させ、KOH(10g)で処理し、7時間、60で攪拌した。混合物を、 H_2O (約700mLの容量まで)で希釈し、AcOEt(1×)で洗浄し、6M水性HClを使用してpH=2.4まで酸性化した。固形物を濾過により回収し、真空で乾燥させて、酸49を得た(12.4g、85%、2工程)。 1H -NMRスペクトルは、化合物49の構造と一致した。

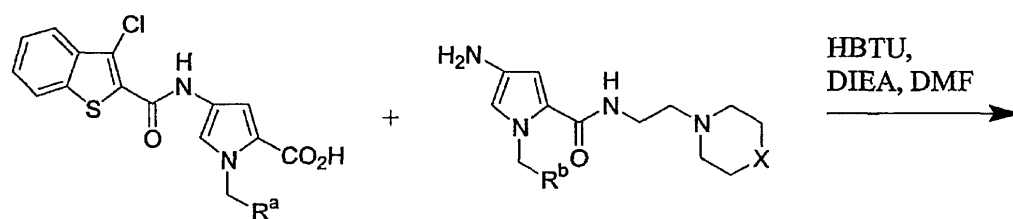
【0092】

10

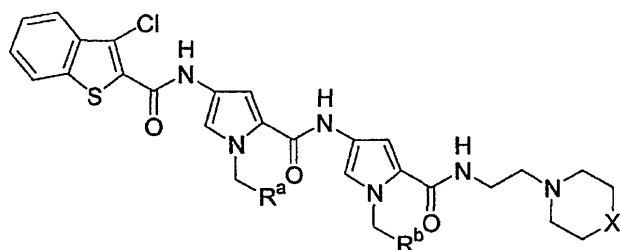
実施例C

この実施例で、実施例AおよびB(変法a)について合成された中間体を結合させて、本発明の化合物を提供した。合成略図は、略図3に要約され、詳述された代表的な手段は、特に化合物1b-39に関して提供される。

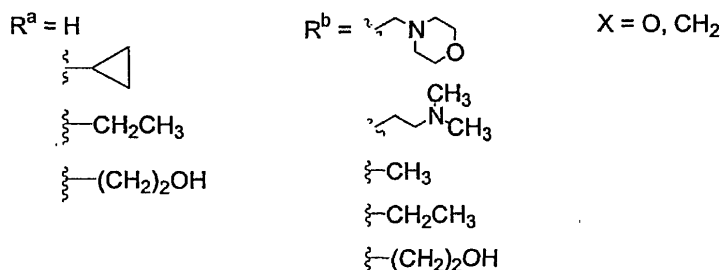
略図3



20



30



【0093】

化合物1b-39の合成($R^1 = CH_2CH_3$ 、 $R_2 = CH_2CH_2OH$ 、 $X = CH_2$)
 NMP(1mL)およびDIEA(0.2mL)中の実施例Bで調製されたカルボン酸($R^1 = CH_2CH_3$ 、60mg、1.1当量)およびHBTU(60mg)の混合物を、1時間、37で攪拌し、NMP(1mL)およびDIEA(0.2mL)中の実施例Aで調製されたピロールアミン($R_2 = CH_2CH_2OH$ 、 $X = CH_2$)の溶液に添加した。反応混合物を、16時間、37で攪拌し、AcOH(2mL)および H_2O (5mL)で希釈し、 Et_2O (3×)で洗浄した。水層の調整用HPLCにより、化合物1b-39を得た。 1H -NMRスペクトルおよび質量スペクトルは、化合物1b-39の構造と一致した。

40

【0094】

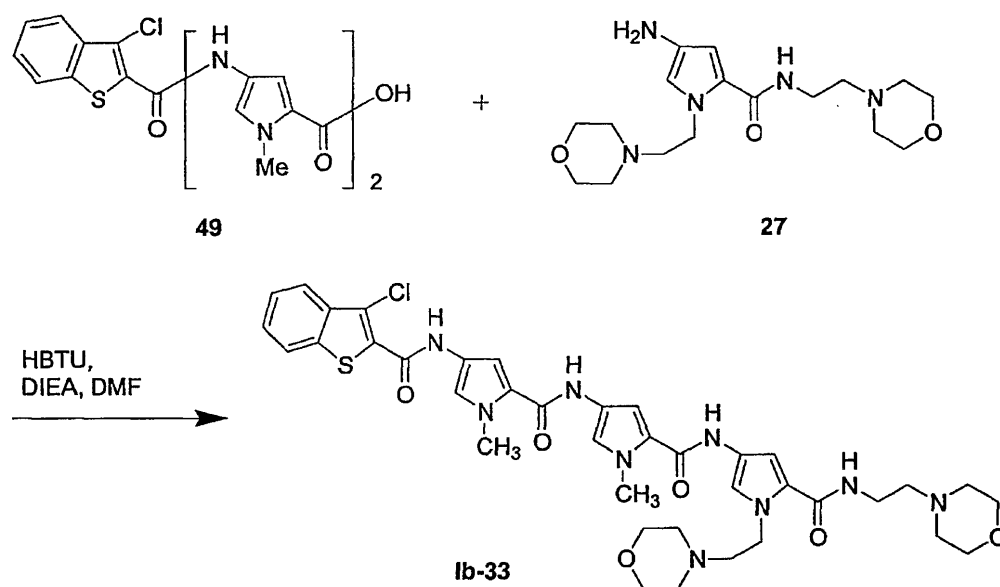
実施例D

この実施例で、実施例AおよびBにより合成された中間体(変法b)は、本発明の化合物の提供につながる。合成略図は、略図3aに要約され、詳述された代表的な手段は、特に、化合物

50

Ib-33に関して提供される。

略図3a



10

【0095】

化合物 Ib-33の合成

NMP(約1mL)およびDIEA(約0.2mL)中の三量体カルボン酸49(119mg、1.2当量)およびHBTU(93.8mg、1.14当量)の混合物を、1時間、40℃で攪拌し、NMP(約1mL)およびDIEA(約0.2mL)中のピロールアミン27(100mg、1.0当量)の溶液に添加した。その溶液を、16時間、40℃で攪拌し、50%水性AcOHで希釈し、Et₂O(1×)で洗浄した。水相の調整用HPLCにより、化合物Ib-33を得た。¹H-NMRスペクトルおよび質量スペクトルは、化合物Ib-33の構造と一致した。

20

【0096】

実施例A~Dに記載した収束的な合成方法は、特に例示されるもの以外は、本発明の別の化合物の調製のために容易に適用でき、Ib-22、Ib-23、Ib-25、Ib-27、Ib-30、Ib-35、もしくはIb-37のようなピロール単位が置換されていないか、または化合物Ib-21およびIb-27のように、一つまたは複数の5員複素環がピロール以外である、ピロールカルボキサミド単位を有するものが含まれる。非置換(「デスメチル」)ピロール部分を有する中間体の合成および使用は、Bremerら、Bioorg. Med. Chem. 8巻、1947-1955頁(2000年)に記述され、参照として本明細書に組み入れられる。ピロール以外の5員複素環を有する中間体の合成および使用は、とりわけ、Dervan、米国特許第6,090,947号(2000年); Dervan、国際公開公報第98/49142号(1998年); Beriaら、米国特許第5,753,629号(1998年); およびBogerら、J. Am. Chem. Soc. 122巻、6382-6394頁(2000年)に記述され、その開示は、参照として本明細書に組み入れられる。

30

【0097】

実施例E

本実施例は、特に化合物Ib-1に関して、2つから3つのN-メチルピロールカルボキサミド部分の連鎖と結合した、ベンゾチオフェン部分を有する化合物の合成を示す。当業者は、Ib-2~Ib-20のような構造部分を有する他の化合物が、必要な変更を加えて、類似に合成されうることを理解する。その手段は、略図4に要約される。

40

略図4

【0101】

粗ニトロピロール128(68g)を、還流下で400ml乾燥EtOAcに溶解させた。その後、生じた溶液を4時間、0℃に冷却した。高真空下での濾過および乾燥の後、純粋なニトロピロール128(62g、収率88%)を得た。

【0102】

アミン129

Pd/C(10%)(2.5g)を、N₂下で2LオートクレーブにおいてTHF(500mL)中のニトロピロール128(50g、0.177モル、上によって再結晶化)の溶液に添加した。その後、オートクレーブを真空下で脱気した。H₂をオートクレーブに通過させ、反応は室温で125psiで進行した。2時間攪拌した後、TLC[トルエン：EtOAc=7：3(v/v), R_f(NO₂Py₁₂₀₈)=0.85]により、反応を完了した。反応混合物を、セライトケーキを通して濾過し、無水エーテル(2L)で希釈した。HCl(気体)を、反応混合物に通過させて、アミン129塩酸塩を沈殿させた。濾過後、純粋生成物(48g、0.166モル、収率94%)を得て、ジエチルエーテル(3×50mL)で洗浄し、真空下で乾燥させた。

10

【0103】

化合物1b-1

DIEA(46g、0.36モル)を、室温で攪拌しながら2L丸底フラスコ中のDMF(1000mL)中の酸49(68.4g、0.15モル)およびHBTU(64g、0.16モル)の溶液に添加した。反応混合物を、30分間、45℃で攪拌した。アミン128塩酸塩(52g、0.18モル、12当量)を、反応混合物に添加し、50℃で攪拌した。15時間後、TLCによって反応を完了した。反応混合物を室温に冷却し、激しく攪拌しながら1.5L氷水に注いだ。生じた沈殿物を濾過し、MeOHからの再結晶化により、化合物1b-1を得た(57g、0.082モル、収率55%)。

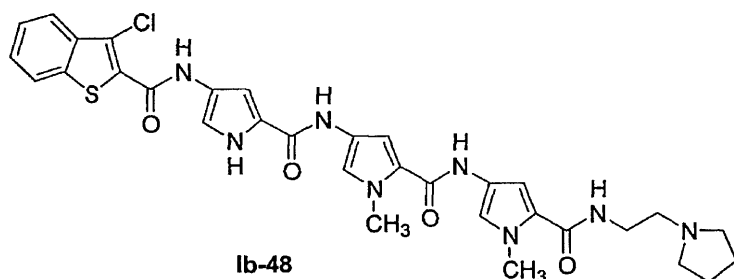
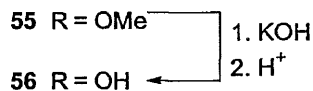
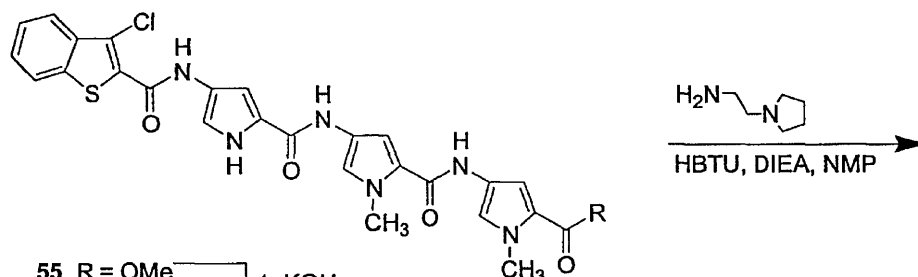
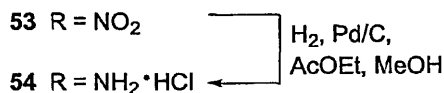
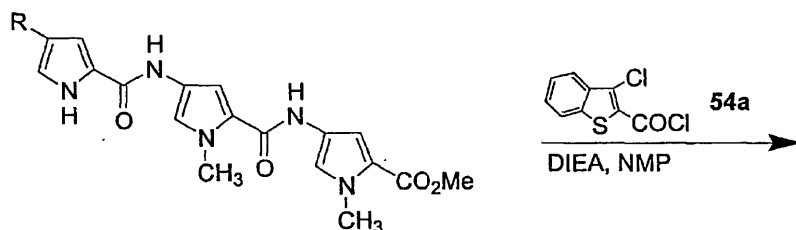
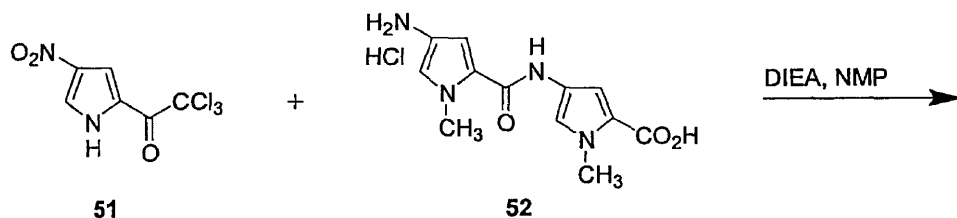
20

【0104】

実施例F

本実施例は、化合物1b-26、1b-47~1b-49、および1b-52のような、非置換(「デスメチル」)ピロールカルボキサミド単位を有する化合物の合成を示す。略図4は、特に化合物1b-48に関する手段を要約し、必要な変更を加えて、類似化合物を調製しうるということが理解される。

略図5



10

20

30

【0105】

三量体53の合成

NMP(50mL)およびDIEA(9.5mL)中のケトン51(6.00g、1当量)およびアミン52(7.27g、1当量)の混合物を、室温で2時間攪拌し、氷水(800mL)に滴下で加えた。生じた固形物を、濾過により回収し、真空で乾燥させて、三量体53を得た(9.40g、97%)。¹H-NMRスペクトルは、53の構造と一致していた。

40

【0106】

三量体アミン54の合成

AcOEt(30mL)およびMeOH(30mL)中の53(1.19g、1当量)および10% Pd-C(0.2g)の懸濁液を、16時間、H₂雰囲気下(100psi)で、室温(RT)で攪拌した。混合物を、セライトを通して濾過し、蒸発させた。残基をMeOHで希釈し、HCl(g)で処理し、Et₂O(約200mL)で希釈した。生じた沈殿物を濾過により回収し、乾燥させて、54を得た(1.0g、83%)。¹H-NMRスペクトルは、54の構造と一致していた。

【0107】

三量体アミン55の合成

50

NMP(10mL)およびDIEA(3mL)中のアミン54(2.90g、1.0当量)および酸塩化物54a(1.75g、1.1当量)の混合液を、2時間半、室温(発熱性)で攪拌し、氷水(400mL)中の約10% K₂CO₃に滴下で加えた。生じた固形物を、濾過により回収し、乾燥させ、直接的にさらに56に変換させた。

【0108】

四量体酸56の合成

粗四量体55を、EtOH(40mL)に溶解させ、1M水性KOH(40mL)で処理し、6時間、60 で攪拌した。混合物をH₂Oで希釈し、Et₂O(1×)で洗浄した。水層を、pH=2まで酸性化し、生じた沈殿物を、濾過により回収し、乾燥させて、56を得た(2.2g、2工程かけて57%)。¹H-NMRスペクトルは、56の構造と一致していた。

10

【0109】

化合物1b-48の合成

NMP(1mL)およびDIEA(0.1mL)中の四量体56(80mg、1当量)およびHBTU(60mg、1.1当量)の混合液を、30分間、37 で攪拌し、1-(2-アミノエチル)ピロリジン(約0.1mL)で処理し、約12時間、37 で攪拌した。粗生成物を、50%水性AcOHで希釈し、Et₂O(1×)で洗浄した。水層の調整用HPLCで、化合物1b-48を得た。¹H-NMRスペクトルおよび質量スペクトルは、化合物1b-48の構造と一致していた。

【0110】

実施例G

化合物37、47、または49のような中間体を含むベンゾチオフエンを、部分M¹、M²、および/またはM³を含む樹脂結合中間体に結合させる固相技術を使用して、ヘアピンターンを有する一連の1d中の化合物を合成しうる。その後、所望のアミンを使用して、樹脂から樹脂に結合した前駆体を切断する。それらの開示が参照として本明細書に組み入れられるDervanら、米国特許第6,090,947号(2000年)および2001年4月26日に提出されたBairdら、米国特許仮出願第60/286,454号では、必要な変更を加えて、本発明の化合物を合成するのに取りうる固相技術が開示される。

20

【0111】

実施例H

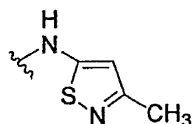
一連の1e中の化合物も、また前述のDervanらの米国特許第6,090,947号およびBairdらの米国特許仮出願第60/286,454号に開示される技術を、必要な変更を加えて、適合させる固相技術により調製しうる。

30

【0112】

実施例I

-Z(R²)_nが、化合物1b-53および1b-54のような



である化合物を、商業上利用可能な5-アミノ-3-メチルイソチアゾールを、相補性カルボン酸中間体と結合させることにより調製する。好ましくは、結合は、HBTUよりいっそう活性化されたエステルを生成し、脂肪族アミン基に比べて芳香族アミン基の低い反応性を補足する、0-(7-アザベンゾチアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(「HATU」)で達成される。また、さらに上昇した温度でカップリング反応を行うことが望ましい。

40

【0113】

実施例J

置換ベンゾチオフエン構築ブロックの調製

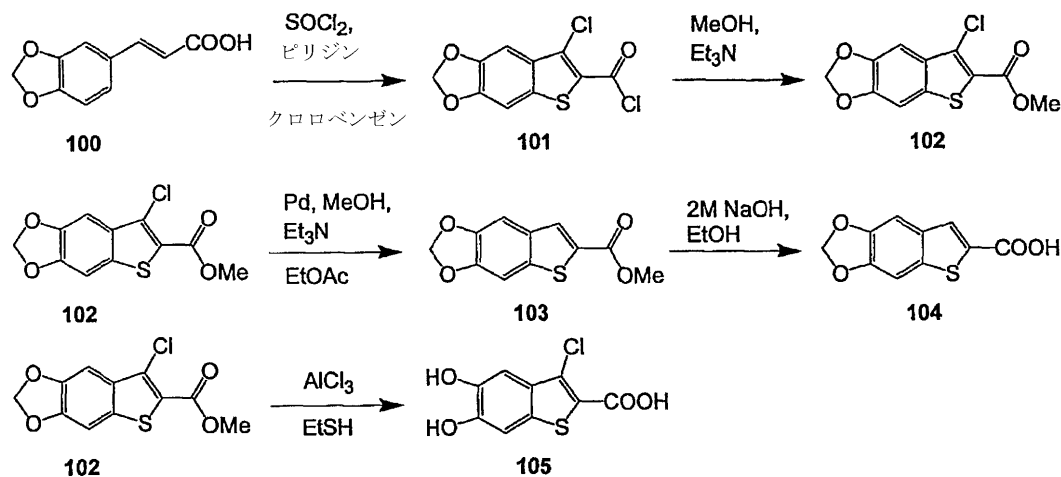
a)5,6-メチレンジオキシおよび5,6-ジヒドロキシベンゾチオフエン化合物の調製

SOCl₂を用いた3,4-メチレンジオキシ桂皮酸100の処理により、3-クロロベンゾチオフエン

50

101を得た。この酸塩化物を、それぞれ、1b-20d~1b-20i、1b-20l~1b-20r、1b-59~1b-71、1b-73、および1b-74のような化合物の調製のために使用した(アミノ基を有する対応する中間体への101の標準カップリング)。化合物101も、カルボン酸104(水添分解脱塩素、続いてケン化により)に、そしてジヒドロキシ誘導体105(ルイス酸で触媒された脱保護により)に変換させた。標準アミド結合形成プロトコル(HBTUもしくはBOPCI活性化または対応する酸塩化物を介して)を使用して、これらのカルボン酸誘導体を、アミノ基を有する中間体に結合させうる;例えば、104を、その酸塩化物に(5分間、 SOCl_2 中で還流させることにより)変換させ、そしてさらに、化合物1b-20wおよび1b-20iに変換させた。これらの構築ブロックの調製のための実験手段は、以下に記述される。

略図6



10

20

【0114】

酸塩化物101の合成

クロロベンゼン(80ml)中の桂皮酸100(15.58g、1.0当量)、 SOCl_2 (30ml、5.0当量)およびピリジン(0.7ml、0.1当量)の混合物を、 N_2 下で3日間還流させ、室温に冷却し、 AcOEt (30ml)で処理した。生じた黄色固形物を、濾過により回収し、冷 AcOEt (2×、各20ml)で洗浄し、乾燥させて、酸塩化物101(約15g、67%)を得た。粗生成物の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは、材料が

30

【0115】

メチルエステル102の合成

MeOH (150ml)および Et_2N (10ml)中の粗酸塩化物101(約15g)の溶液を、30分間還流させ、0に冷却した。生じた沈殿物を、濾過により回収し、 H_2O (3×、各30ml)、 MeOH (2×、各30ml)および Et_2O (20ml)で洗浄し、乾燥させて、定量的にメチルエステル102を得た($^1\text{H-NMR}$ スペクトルにより95%純度)。

【0116】

エステル103への脱塩素

MeOH/EtOAc (2:1、300ml)および Et_3N (2ml)中の化合物102(2.0g)およびPd(黒色、400mg)の懸濁液を、3日間、約80で攪拌し、セライトに通して濾過した。溶媒の蒸発で、定量的に化合物103を得て、それをさらに精製なしに使用した。

40

【0117】

酸104の合成

EtOH (15ml)および2M水性 NaOH (15ml)中のエステル103(1.0g)の混合物を、2時間、約60で攪拌し、酸性氷水(400ml、約3M HCl)に注いだ。生じた沈殿物を、濾過により回収し、 H_2O で洗浄し、乾燥させて、黄色固形物としてカルボン酸104を得た(0.82g、87%)。生成物を、 $^1\text{H-NMR}$ により特徴づけた。

【0118】

酸105の合成

50

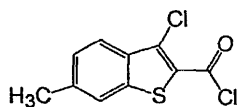
EtSH(20ml)中のエステル102(1.50g)および AlCl_3 (2.90g、4当量)の混合物を、2時間、室温で攪拌し、1M HCl氷水(100mL)で処理し、AcOEt(3×100ml)で抽出した。合わせた有機層を、1M水性HCl、 H_2O およびブラインで洗浄し、無水 NaSO_4 上で乾燥させ、蒸発させて、化合物105を得た(1.2g、89%)。生成物を、 $^1\text{H-NMR}$ により特徴づけ、それをさらに精製なしに使用した。

【0119】

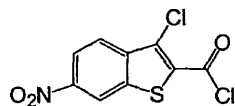
実施例K

他の置換ベンゾチオフェン化合物の合成

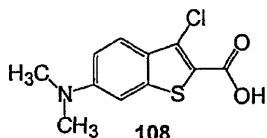
化合物101は別として、位置4から7までに置換基を有する他のベンゾチオフェン-2-カルボン酸誘導体は、塩化チオニルで対応する桂皮酸誘導体を処理することによって、都合よく調製されうる(101の調製に類似の合成手段)。生じた酸塩化物を、結晶化により精製しうる。ある場合には、対応するメチルエステルへの変換、続いてフラッシュクロマトグラフィーによる精製が好まれうる。以下の略図に示される酸塩化物106および107は、このようなベンゾチオフェン構築ブロックの特別な例である。それらは、抗細菌分子の調製のために使用されてきた(例えば、106からIb-20c、107からIb-20j、標準アミド結合形成プロトコル)。これらの環状化反応の生成物を、さらに誘導しうる；例えば、エステル化、アミンへの水素化、ジメチル化、およびけん化により、ニトロ化合物107をジメチルアミン108に変換した。108は、Ib-20kの調製のための結合ブロックとして働いた。



106



107



108

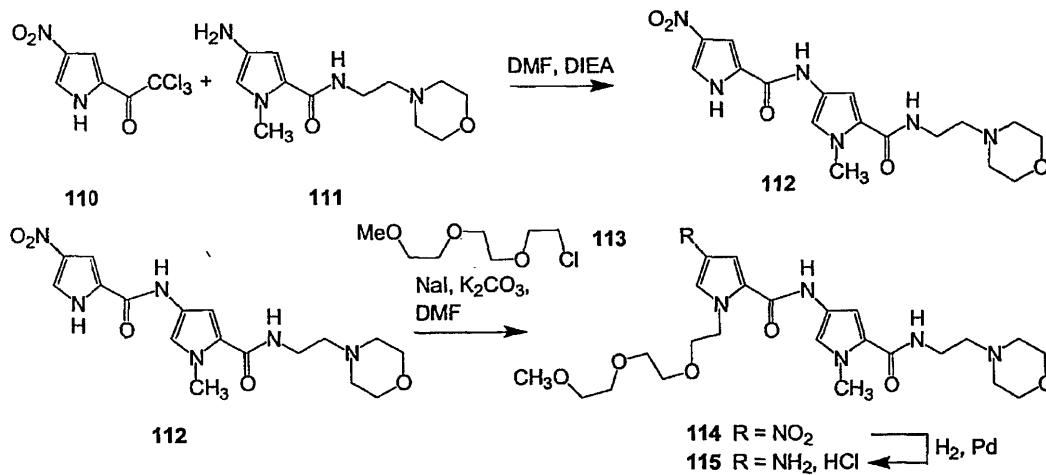
【0120】

実施例L

ペグ化(pegylated)ピロール構築ブロック

位置2にカルボン酸エステルまたはアミド官能基を有する4-ニトロ-ピロールを、環窒素においてアルキル化できる。ペグ化ピロール二量体115の調製のための実験の詳細は、以下に記述される。この二量体を、化合物Ib-61(酸塩化物101および115の標準カップリング)の調製のために使用した。他のニトロピロール、例えば、エチル4-ニトロ-ピロール-2-カルボキシレート1を、同様に置換(ペグ化)できる。

略図7



10

20

30

40

【 0 1 2 1 】

ニトロ化合物112の合成

DMF(80ml)およびDIEA(20ml)中のトリクロロケトン110(11.32g、1.0当量)、アミン111(15.00g、1.0当量)の混合物を、20時間、室温で攪拌し、 H_2O (約600ml)および飽和水性 K_2CO_3 に注いだ。溶液を、AcOEt(6×)で抽出し、有機層を乾燥(MgSO_4)させ、蒸発させて、黄色固形物として112($^1\text{H-NMR}$ により確認された構造)を得た。

【 0 1 2 2 】

ニトロ化合物114の合成

DMF(約30ml)中の二量体112(1.00g、1.0当量)、塩化物113(3.67g、2.5当量)、NaI(576mg、1.5当量)、および K_2CO_3 (884mg、2.5当量)の混合物を、48時間、65℃で攪拌し、AcOEt(150ml)で希釈し、飽和水性 K_2CO_3 および H_2O (2×)で洗浄した。合わせた有機層を、乾燥(MgSO_4)させ、蒸発させた。生じた油状物のフラッシュクロマトグラフィー(CH_2Cl_2 :0-15% MeOH)により、黄色固形物として114を得た(785mg、57%、 $^1\text{H-NMR}$ およびMSにより確認された構造)。

【 0 1 2 3 】

アミン115の合成

AcOEt(36ml)およびMeOH(4ml)中の114(780mg)および10% Pd-C(200mg)の懸濁液を、22時間、 H_2 (1気圧)下、室温(RT)で攪拌し、セライトに通して濾過した。濾液を、約15秒間、HCl(気体)で処理し、蒸発させて、黄褐色固形物として115を得た(804mg、 $^1\text{H-NMR}$ およびMSにより確認された構造)。

【 0 1 2 4 】

実施例M

3,5-二置換イソチアゾールを、化合物Ib-56(以下、略図8に示される)によって例示されるとおり、抗細菌分子のための内部構築ブロックとして使用しうる。重要なことには、117のようなイソチアゾール誘導体の遊離アミノ基は、むしろ無反応であり；したがって、このような部位でのアミド結合形成は、酸塩化物のような、より反応性の活性化カルボン酸および/または高い反応温度、反応時間が延長されることを使用して行われた。

略図8

化合物	生物 (最小阻害濃度 (MIC), $\mu\text{g/mL}$)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ib-1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-2	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-3	+++	+++	ND	++	+++	++	+++	+++
Ib-4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-5	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-7	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-8	+	+++	++	++	+++	+++	+++	+++
Ib-9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-12	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-13	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-14	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-15	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-16	++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-17	+++	+	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-18	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-19	>32	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-20	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-20a	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-20b	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20c	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20d	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20e	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20f	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20g	+++	ND	+++	+++	+++	ND	+++	+++

10

20

30

化合物	生物 (最小阻害濃度 (MIC), $\mu\text{g/mL}$)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ib-20h	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20i	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-20j	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20k	>32	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-20l	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20m	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20n	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20o	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20p	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20q	>32	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20r	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20s	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20t	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20u	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20v	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20w	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20x	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-21	>32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-22	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-23	++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-24	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-25	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-26	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++	+++
Ib-27	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

10

20

30

化合物	生物 (最小阻害濃度 (MIC), $\mu\text{g/mL}$)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ib-28	+++	+	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-29	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-30	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-31	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-32	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-33	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-34	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-35	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-36	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-37	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-38	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-39	+++	+++	++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-40	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-41	+++	ND	+	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-42	+++	+++	+++	+++	++	ND	+	+++
Ib-43	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-44	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-45	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-46	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-47	+++	+	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-48	+++	++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-49	+++	ND	+++	++	ND	ND	ND	ND
Ib-50	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-51	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-52	+++	ND	+++	++	ND	ND	ND	ND

10

20

30

化合物	生物 (最小阻害濃度 (MIC), $\mu\text{g/mL}$)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ib-53	++	ND	++	+	ND	ND	ND	ND
Ib-54	++	ND	+	+	ND	ND	ND	ND
Ib-55	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-56	>32	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-57	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-58	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-59	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-60	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-61	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-62	+	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-63	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-64	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-65	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-66	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-67	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-68	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-69	>32	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-70	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-71	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-72	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+
Ib-73	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-74	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-75	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++

10

20

30

化合物	生物 (最小阻害濃度 (MIC), $\mu\text{g/mL}$)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ib-76	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	ND
Ib-77	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-78	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Id-1	>32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Id-4	>32	ND	+	+	ND	ND	ND	ND
Ie-1	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ie-2	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ie-3	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ie-4	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND

40

表Aのデータは、本発明の化合物が、グラム陽性菌に対して特に活性があることを示す。

【0128】

さらに、本発明の化合物のいくつかは、カンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*) (ATCC 38247) に対するそれらの活性により立証されるとおり、抗真菌活性を保持する。データは、表Bに表される。(MIC値は、表3と同様に記号で示される。)

【0129】

(表B) カンジダ・アルビカンスに対する活性 (ATCC 38247)

化合物整理番号	(MIC), $\mu\text{g/mL}$
Ib-08	++
Ib-44	+++
Ib-45	+
Ib-47	+++
Ib-48	+++
Ib-50	++
Ib-51	+++
Ib-02	+++
Ib-27	+
Ib-13	++
Ib-29	+
Ib-32	+++
Ib-19	+
Ib-39	+
Ib-43	+

10

20

【0130】

実施例0

本実施例は、マウス好中球減少性大腿部モデルを使用して、メチシリン耐性スタフィロコッカス・アウレウス ATCC 33591 による感染に対するインピボ効力を示す。

【0131】

S. アウレウス ATCC 33591 菌株を、一晩、対数期まで育成し、600nmで約0.1の最適密度までリン酸緩衝生理食塩水 (pH7.2) に希釈し、およそ 10^8 cfu/mL の濃度を示した。懸濁液を、 10^6 cfu/mL の最終濃度のために、リン酸緩衝生理食塩水 (pH7.2) で 1:100 に希釈した。

【0132】

非近交系交配したメスCF1マウス (体重およそ20グラム) を、接種の2日前および4日前に、シクロホスファミドでの処置により (200mg/kg体重、膈内注射)、好中球減少性にさせた。5匹のマウスの群に、0.05mLの細菌 (およそ 10^6 cfu/mL) を前面大腿部に接種した。各群に、溶剤 (リン酸緩衝生理食塩水) または被験化合物を、感染の2時間後に、静脈内に処置した。マウスを、処置の6時間後または24時間後に犠牲にし、大腿部を無菌で回収した。各大腿部を秤量し、滅菌生理食塩水に入れ、ホモジェナイズした。組織ホモジェネートを、寒天プレートに蒔くために適切に希釈した。コロニー計数を記録し (cfu/グラム)、対照群と比較した。データは、下で表4に表される。

40

【0133】

(表C) マウス好中球減少性大腿部モデル

30

化合物番号 (時間)	投量 (mg/kg)	コロニー計数 (log cfu/gram)	
		化合物	溶剤
Ib-26 (6時間)	80	6.17	7.83
Ib-47 (6時間)	50	6.11	8.01
Ib-48 (6時間)	50	4.74	8.01
Ib-50 (6時間)	50	7.97	8.67
Ib-51 (6時間)	50	7.04	8.27

10

【0134】

溶剤のみを与えられた動物におけるコロニー計数と比較した場合に、インビボ効力は、化合物で処置された動物におけるコロニー計数 (log cfu/組織のグラム) における減少により示された。

【0135】

実施例P

本実施例は、DNA分解酵素Iフットプリント技術を使用して、本発明の化合物のDNA結合特性を示す。一般的に、Dervan、国際公開公報第98/50582号(1998年)に記述される手段に従った。

【0136】

DNA分解酵素Iフットプリント力価測定実験についての標的配列を含む、二本鎖DNA結合プロンプを調製するために、二本鎖環状プラスミドAおよびBを使用した。

20

【0137】

2組の5'-リン酸化相補性オリゴヌクレオチドをハイブリダイズさせることにより、プラスミドAを作成し、第一の組は、

5'-CTAGATGCCGCTAAGTACTATGCCGCTAACTACTATGCCGCTAAT
TACTATGCCGC-3'

および

5'-CATAGTAATTAGCGGCATAGTAGTTAGCGGCATAGTACTTAGCGGCAT-3'

30

であり、第二の組は、

5'-TAAATACTATGCCGCTAACTAGTATGCCGCTATGCA-3'

および

5'-TAGCGGCATACTAGTTAGCGGCATAGTATTTAGCGG-3'

であり、大型pUC19XbaI/PstI制限断片に、生じた二重鎖をライゲーションした。

【0138】

プラスミドBは、アマシャム・ファルマシア・バイオテック社から得られたプラスミドpTrc99aであった。

40

【0139】

シーケナーゼv.2.0、[⁻³²P]-デオキシアデノシン-5'-三リン酸、および[⁻³²P]-チミジン-5'-三リン酸を使用して、同時フィルイン反応(fill-in)によりEcoRIおよびPvuIIでプラスミドを消化し、非変性ゲル電気泳動によりクローン化断片を単離することにより、各プラスミドから得られる3'-P32末端標識EcoRI/PvuII断片を作成した。AおよびGシーケンシング反応を、記述されたとおり行った(MaxamおよびGilbert、Methods Enzymol. 65巻、499-560頁(1980年); IversonおよびDervan、Methods Enzymol. 15巻、7823-7830頁(1987年); Sambrookら、「Molecular Cloning」、第2版、1989年、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス: ニューヨーク州コールド・スプリング・ハーバー

50

を参照)。標準法を、全てのDNA増幅について使用した(Sambrookら、上記)。

【0140】

プラスミドAの310塩基対dsDNA制限断片(配列番号：1)は、標的配列ACTACTを含んだ。プラスミドBの352塩基対dsDNA制限断片(配列番号：2)は、標的配列GACAATTAATCAおよびAATTAATCATを含んだ。これらの断片を、定量的DNA分解酵素Iフットプリント実験のために使用した。標的配列を、細菌遺伝子についてのプロモーター部位とそれらの同一性、または類似性について選択した。

【0141】

以下の変更を伴い、先に(Dervan、国際公開公報第98/50582号、1998年)記述されるように、定量的DNA分解酵素Iフットプリント力価測定実験を行った。全ての反応は400 μ Lの総量で行い、15,000cpm放射線標識制限断片に添加された化合物保存溶液または水により、10mM トリスHCl、10mM KCl、10mM MgCl₂、5mM CaCl₂(pH7.0)、および0.01nM、0.1nM、1.0M、10.0nM化合物、または参照レーンとして化合物なしの最終溶液条件を得た。化合物を16時間、22 $^{\circ}$ Cで平衡にさせた。フットプリント反応を、1mM DTTを含む10 μ LのDNA分解酵素I保存溶液(~50%の無傷のDNAを得るのに適切な濃度)の添加により開始し、22 $^{\circ}$ Cで7分間進行させた。反応を停止させ、エタノール沈殿させ、装填緩衝液で再懸濁し、熱変性させ、先に(Dervan、国際公開公報第98/50582号、1998年)記述されるとおり氷上に置いた。反応生成物を、2000Vで、1 \times TBE中で、ストラタジーンから得た32の予備成形ウェルを有する、成形された8%ポリアクリルアミド変性シーケンシングキャストアウエーゲル上で分離した。製造業者に従ってゲルを乾燥させ、貯蔵リン光体質スクリーン(モレキュラー・ダイナミックス)に曝露させた。定量およびデータ解析を、Dervan、国際公開公報第98/50582号(1998年)に記述のとおりに行った。

【0142】

dsDNA結合結果は、表Dに提供される。

【0143】

(表D) dsDNA結合

化合物	標的配列	解離定数 K _d (nM)	標的位置 (断片/プラスミド)
Ib-1	AATTAATCAT	0.2	352 bp/B
Ib-26	GACAATTAATCA	0.1	352 bp/B
Ib-32	AATACT	50	310 bp/A
Ib-32	AATTAATCAT	10	352 bp/B
Ic-3	ATTACT	50	310 bp/A
Ic-3	AATTAATCAT	5	352 bp/B

【0144】

本発明の前述の詳細な説明は、本発明の特定の部分または局面に、主にまたは占有的に関連している経路を含む。これが明白かつ都合のよいものであること、特定の特徴が、開示されるまさにその経路より多くのものに関連しうること、そして本明細書での開示は、様々な経路で見られる情報の全ての適切な組み合わせを包含することを理解すべきである。同様に、本明細書での種々の図面および説明は、本発明の特定の態様に関連するが、特定の特徴が、別の特徴と組合わせて、または一般に本発明で、別の図面もしくは態様の内容に、適切な範囲まで、特徴も使用できるように、特定の図面または態様の内容に開示されることと理解すべきである。

【0145】

さらに、本発明が特定の好ましい態様の点で特に記述された一方で、本発明はそのような好ましい態様に限定されない。むしろ、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によって定義される。

【0146】

配列番号

配列番号：1(プラスミドAに由来する310bpのEdoRI/PvuII制限断片；1つの鎖のみを示す)
 AATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGATGCCGCTAAGTACTATGCCGCTAACTACTA
 TGCCGCTAATTACTATGCCGCTAAATACTATGCCGCTAACTAGTATGCCGCTATGCAGGCAT
 GCAAGCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAAT
 TCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCT
 AACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTTCAGTTCGGGAAACCTGTCGTGCCAG

【 0 1 4 7 】

配列番号：2(プラスミドBに由来する352bpのEdoRI/PvuII制限断片；1つの鎖のみを示す) 10
 CTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTT
 AGCGCGAATTGATCTGGTTTGGACAGCTTATCATCGACTGCACGGTGCACCAATGCTTCTGGC
 GTCAGGCAGCCATCGGAAGCTGTGGTATGGCTGTGCAGGTCGTAAATCACTGCATAATTCGT
 GTCGCTCAAGGCGCACTCCCGTTCTGGATAATGTTTTTTGCGCCGACATCATAACGGTTCTG
 GCAAATATTCTGAAATGAGCTGTTGACAATTAATCATCCGGCTCGTATAATGTGTGGAATTG
 TGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGACCATGGAATT

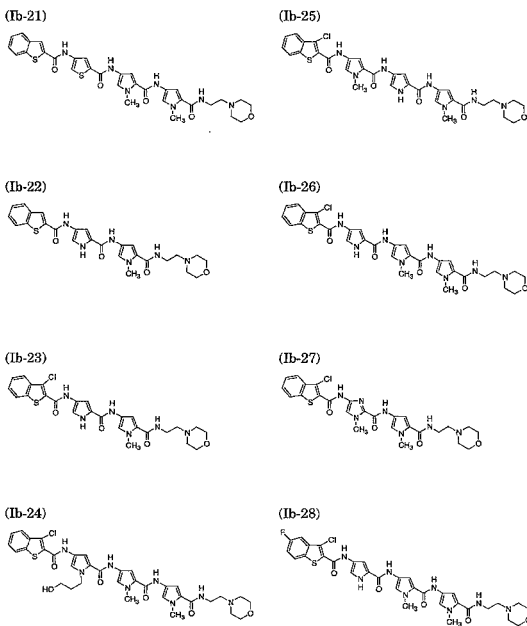
【 図面の簡単な説明 】

20

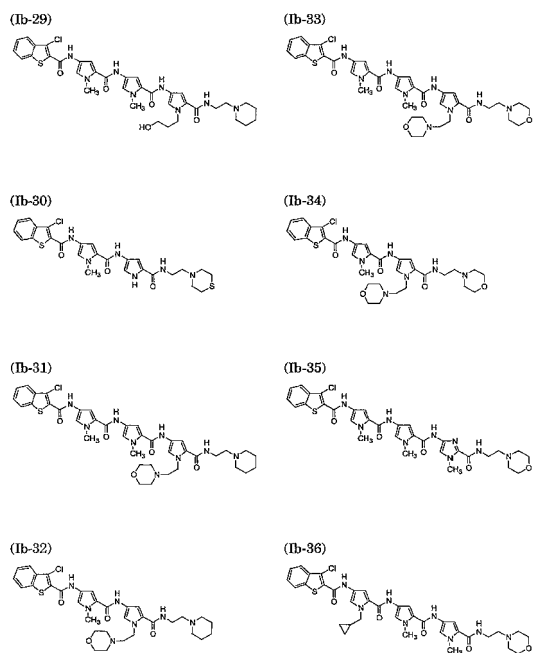
【 0 1 4 8 】

(図 1 図 10) 本発明の化合物を表す。

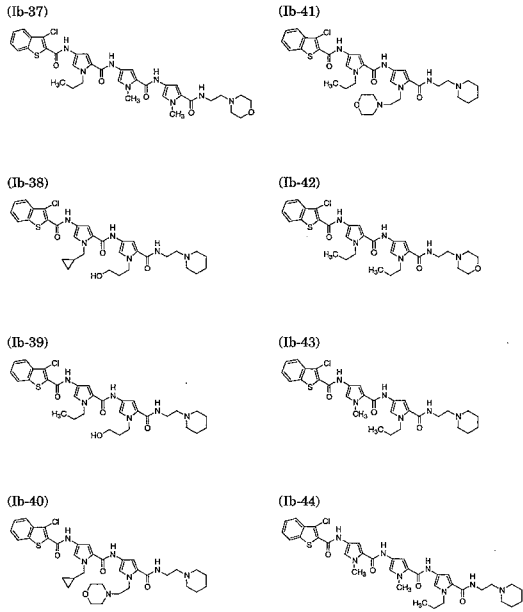
【 図 1 】



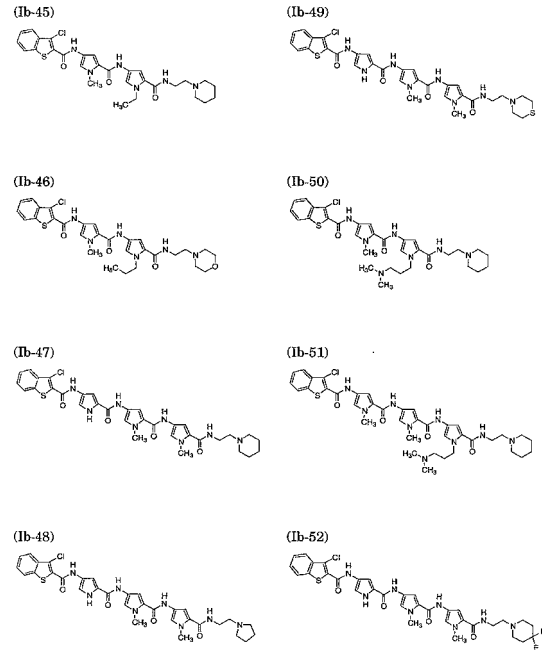
【 図 2 】



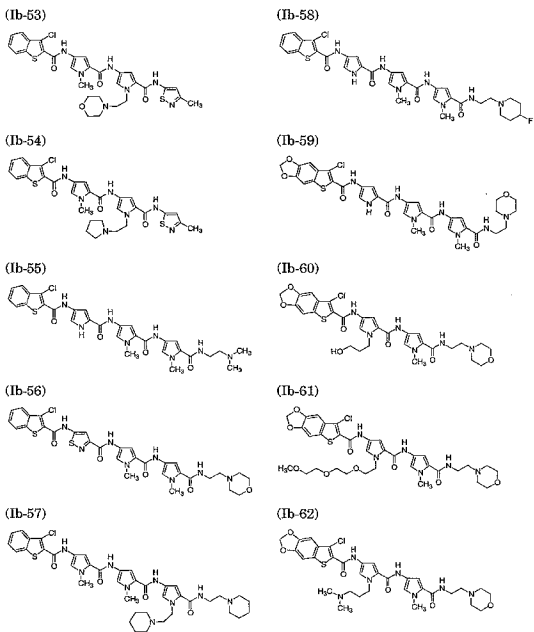
【 図 3 】



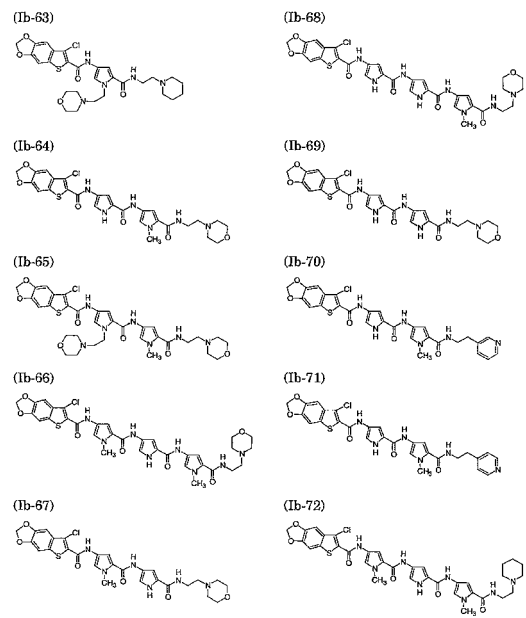
【 図 4 】



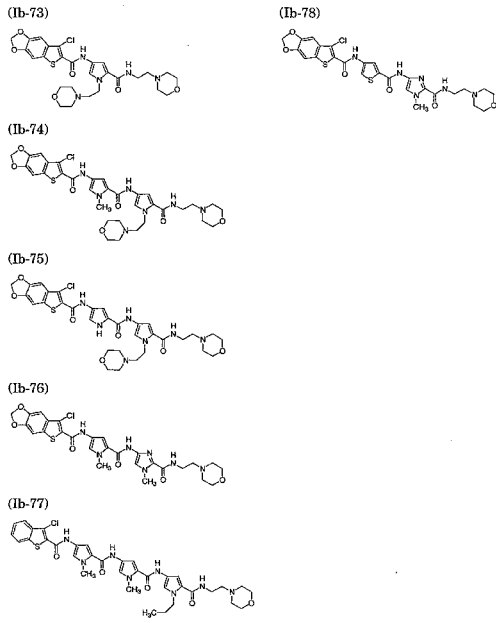
【 図 5 】



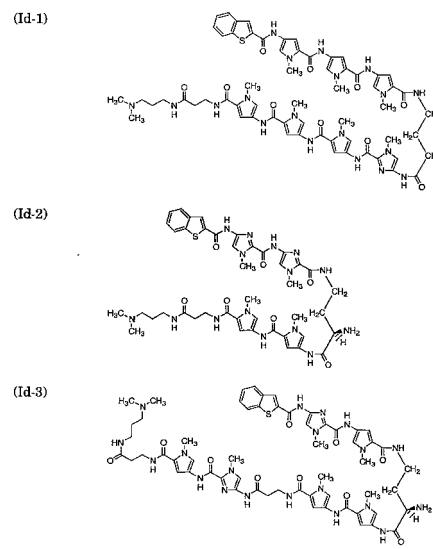
【 図 6 】



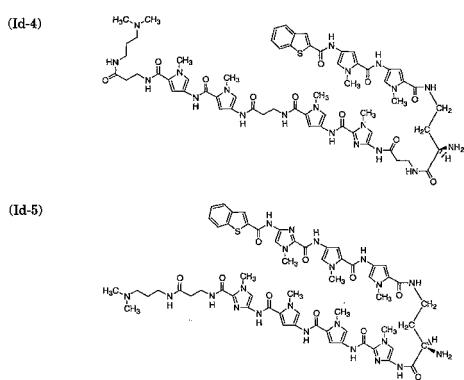
【 図 7 】



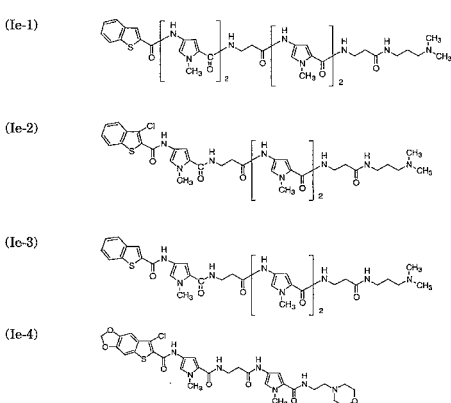
【 図 8 】



【 図 9 】



【 図 10 】



【国際公開パンフレット】

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
19 December 2002 (19.12.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/100852 A1

(51) International Patent Classification: C07D 333/56, 405/00, 413/00, A61K 31/385, 31/40, 31/535 (74) Agents: KEZER, William, B. et al.; Townsend And Townsend And Crew LLP, Two Embarcadero Center, Eighth Floor, San Francisco, CA 94111 (US).

(21) International Application Number: PCT/US02/17952

(22) International Filing Date: 6 June 2002 (06.06.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 13 June 2001 (13.06.2001) US 60/298,206 24 September 2001 (24.09.2001) US 60/325,134

(71) Applicant (for all designated States except US): GENE-SOFT, INC. [US/US]; 7300 Shoreline Court, South San Francisco, CA 94080 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): BURLI, Roland, W. [CH/US]; 3700 20th Street, Apt. 11, San Francisco, CA 94110 (US). BAIRD, Eldon, E. [US/US]; 229 Valdez Avenue, Half Moon Bay, CA 94019 (US). TAYLOR, Matthew, J. [US/US]; 310 Cardenas Avenue, San Francisco, CA 94132 (US). KAIZERMAN, Jacob, A. [US/US]; 7300 Shoreline Court, South San Francisco, CA 94080 (US). HU, Wenhao [CN/US]; 1731 A Marina Court, San Marco, CA 94403 (US).

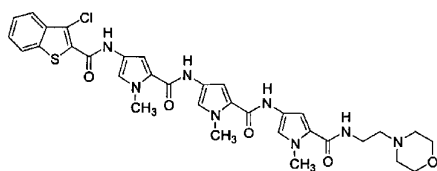
(81) Designated States (national): AI, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, GR, GU, HD, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

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

Declaration under Rule 4.17:
of inventorship (Rule 4.17(iv)) for US onlyPublished:
— with international search report

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

(54) Title: BENZOTHIOPHENE COMPOUNDS HAVING ANTIHYPERTENSIVE ACTIVITY



(57) Abstract: Benzothiophene compounds such as formula (I) are DNA binding compounds exhibiting antibacterial activity.

WO 02/100852 A1

WO 02/100852

PCT/US02/17952

**BENZOTHIOPHENE COMPOUNDS HAVING ANTIINFECTIVE
ACTIVITY**

CROSS-REFERENCES TO RELATED APPLICATIONS

- 5 [01] This application claims the benefit of U.S. Ser. Nos. 60/325,134, filed Sep. 24, 2001, and 60/298,206, filed Jun. 13, 2001; the disclosures of which are incorporated herein by reference.

STATEMENT AS TO RIGHTS TO INVENTIONS MADE UNDER
FEDERALLY SPONSORED RESEARCH OR DEVELOPMENT

- 10 [02] This invention was made with Government support under Grant No. N65236-99-1-5427 awarded by the Space and Naval Warfare Systems Command. The Government has certain rights in this invention.

REFERENCE TO A "SEQUENCE LISTING," A TABLE, OR A COMPUTER
PROGRAM LISTING APPENDIX SUBMITTED ON A COMPACT DISK.

- 15 [03] NOT APPLICABLE

BACKGROUND OF THE INVENTION

20 Field of the Invention

[04] This invention relates to compounds having benzothiophene groups, in particular those binding to nucleic acids and having anti-bacterial properties, and methods for their use.

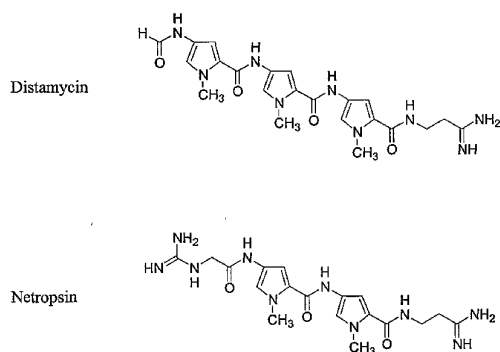
Description of Related Art

- 25 [05] A number of naturally occurring or synthetic compounds bind to double stranded nucleic acid, especially double stranded DNA ("dsDNA"). Some bind to the major groove, while others bind to the minor groove. Still others intercalate between adjacent base pairs. Combination binding modes are known, in which a compound has binding interactions with more than one nucleic acid site.

- 30 [06] The natural products distamycin and netropsin represent a class of DNA-binding compounds that has been studied over the years:

WO 02/100852

PCT/US02/17952



5

[07] Structurally, distamycin and netropsin are heteroaromatic polyamides, having as their core structural motif N-methylpyrrole carboxamide residues. They bind to the minor groove, their crescent molecular shapes providing a conformational fit within the groove. The

10 binding occurs with a preference for A,T rich dsDNA tracts.

[08] A number of heteroaromatic polyamides have been synthesized elaborating on the distamycin/netropsin motif, with the objective of enhancing or varying biological properties, increasing binding affinity to dsDNA, and/or improving specificity in base pair sequence recognition. The use of synthetic heteroaromatic polyamides in therapeutics has been

15 proposed, for example, in Dervan et al., US 5,998,140 (1999); Dervan et al., WO 00/15209 (2000); Dervan, WO 00/15773 (2000); and Gottesfeld et al., WO 98/35702 (1998).

[09] The effect of structural variations in the heteroaromatic ring has been a focus of extensive research. See, e.g., reviews by Bailly et al., *Bioconjugate Chemistry*, Vol. 9, No. 5,

20 pp. 513-538 (1998) and Neidle, *Nat. Prod. Rep.* 2001, 18, 291-309. Alternative heteroaromatic rings reported in the art include furan, imidazole (especially N-methylimidazole), isoxazole, oxazole, pyrazole, pyridine, thiophene, triazole rings, and others. Art that may be relevant to the use of benzothiophene groups in DNA binding

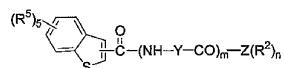
25 Cozzi et al., WO 99/50266 (1999); and Turin et al., WO 01/19792 (2001).

WO 02/100852

PCT/US02/17952

BRIEF SUMMARY OF THE INVENTION

[10] The present invention provides benzothiophene compounds of the formula

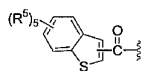


5

(I)

[11] including the pharmaceutically acceptable salts thereof.

[12] Each R^5 is independently H, F, Cl, Br, I, CN, OH, NH_2 , a substituted or unsubstituted (C₁-C₁₂)alkyl group, a substituted or unsubstituted (C₁-C₁₂)alkoxy group, or a substituted or unsubstituted (C₁-C₁₂)heteroalkyl group. Each R^2 is independently H, a substituted or unsubstituted (C₁-C₁₂)alkyl group, or a substituted or unsubstituted (C₁-C₁₂)heteroalkyl group. Subscript m is an integer from 1 to 25, inclusive. Z is either O or N, with n being 1 if Z is O and 2 if Z is N. Each Y is independently a branched or unbranched, substituted or unsubstituted (C₁-C₃)alkylene group or a substituted or unsubstituted, aromatic or heteroaromatic ring system, wherein the ring system can comprise a 5- or 6-member aromatic or heteroaromatic ring or fused 6,6 or 6,5 aromatic or heteroaromatic rings, with the proviso that at least one Y is a substituted or unsubstituted aromatic or heteroaromatic ring system. Preferably, at least one Y is a 5- or 6-member heteroaromatic ring. More preferably, Y in the moiety $\text{---}(\text{NH} \text{---} \text{Y} \text{---} \text{CO}) \text{---}$ immediately adjacent to the moiety

10
15
20

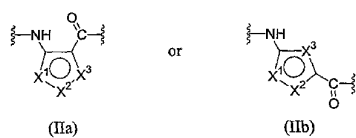
[13] is a 5- or 6-member heteroaromatic ring.

[14] Preferably, each moiety $\text{---}(\text{NH} \text{---} \text{Y} \text{---} \text{CO}) \text{---}$ is independently selected from the group consisting of

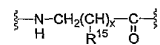
(a) moieties M^1 of the formula

WO 02/100852

PCT/US02/17952

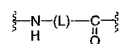


- [15] wherein one of X^1 , X^2 , and X^3 is a ring vertex selected from the group consisting of -O-, -S-, and -NR²-, and the other two of X^1 , X^2 , and X^3 are ring vertices selected from the group consisting of =N- and =CR¹-;
- 5 (b) moieties M² of the formula



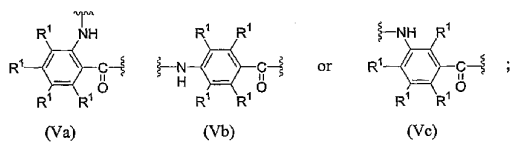
10

- [16] wherein x is 0 or 1 and each R¹⁵ is independently H, OH, NH₂, or F;
- (c) moieties M³ of the formula



- 15 [17] wherein each L is independently a divalent moiety separating -NH- and -(C=O)- by 3 or 4 atoms; and

- (d) moieties M⁴ of the formula



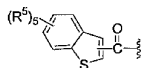
20

- [18] with the proviso that at least one moiety -(NH-Y-CO)- is M¹ or M⁴;
- [19] and the compound contains a basic group having a pK_a of 12 or less or a quaternized nitrogen group.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

[20] Preferably, at least one moiety $-(NH-Y-CO)-$ is a moiety M^1 . More preferably, the moiety $-(NH-Y-CO)-$ immediately adjacent to the residue



5

[21] is a moiety M^1 .

[22] In the preceding formulae R^1 and R^2 are as previously defined.

[23] Preferably, R^1 is hydrogen, halogen (F, Cl, Br, or I, especially F or Cl), a (C_1-C_3) alkyl group such as methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, s-butyl, pentyl, and the like, a (C_1-C_3) alkoxy group such as methoxy, ethoxy, propoxy, isopropoxy, butoxy, and the like, hydroxy, or cyano. Preferably, each R^2 is H or a (C_1-C_3) alkyl group such as methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, s-butyl, pentyl, and the like.

[24] Figures 1 through 10 depict compounds of this invention.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

Abbreviations and Definitions

[25] The term "alkyl," by itself or as part of another substituent, means, unless otherwise stated, a straight or branched chain, or cyclic hydrocarbon radical, or combination thereof, which may be fully saturated, mono- or polyunsaturated and can include di- and multivalent radicals, having the number of carbon atoms designated (*i.e.* C_1-C_{10} means one to ten carbons). Examples of saturated hydrocarbon radicals include groups such as methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, t-butyl, isobutyl, sec-butyl, cyclohexyl, (cyclohexyl)methyl, cyclopropylmethyl, homologs and isomers of, for example, n-pentyl, n-hexyl, n-heptyl, n-octyl, and the like. An unsaturated alkyl group is one having one or more double bonds or triple bonds. Examples of unsaturated alkyl groups include vinyl, 2-propenyl, crotyl, 2-isopentenyl, 2-(butadienyl), 2,4-pentadienyl, 3-(1,4-pentadienyl), ethynyl, 1- and 3-propynyl, 3-butenyl, and the higher homologs and isomers.

[26] The term "alkylene" by itself or as part of another substituent means a divalent radical derived from an alkane, as exemplified by $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$. Typically, an alkyl (or alkylene) group will have from 1 to 24 carbon atoms, with those groups having 10 or fewer

WO 02/100852

PCT/US02/17952

carbon atoms being preferred in the present invention. A "lower alkyl" or "lower alkylene" is a shorter chain alkyl or alkylene group, generally having six or fewer carbon atoms.

[27] The terms "alkoxy," "alkylamino" and "alkylthio" (or thioalkoxy) are used in their conventional sense, and refer to those alkyl groups attached to the remainder of the molecule via an oxygen atom, an amino group, or a sulfur atom, respectively.

[28] The term "heteroalkyl," by itself or in combination with another term, means, unless otherwise stated, a stable straight or branched chain, or cyclic hydrocarbon radical, or combinations thereof, consisting of the stated number of carbon atoms and from one to three heteroatoms selected from the group consisting of O, N, Si and S, and wherein the nitrogen and sulfur atoms may optionally be oxidized and the nitrogen heteroatom may optionally be quaternized. The heteroatom(s) O, N and S may be placed at any interior position of the heteroalkyl group. The heteroatom Si may be placed at any position of the heteroalkyl group, including the position at which the alkyl group is attached to the remainder of the molecule. Examples include -CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-NH-CH₃, -CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃, -CH₂-S-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃, -CH=CH-O-CH₃, -Si(CH₃)₃, -CH₂-CH=N-OCH₃, and -CH=CH-N(CH₃)-CH₃. Up to two heteroatoms may be consecutive, such as, for example, -CH₂-NH-OCH₃ and -CH₂-O-Si(CH₃)₃. Similarly, the term "heteroalkylene" by itself or as part of another substituent means a divalent radical derived from heteroalkyl, as exemplified by -CH₂-CH₂-S-CH₂CH₂- and -CH₂-S-CH₂-CH₂-NH-CH₂-. For heteroalkylene groups, heteroatoms can also occupy either or both of the chain termini (e.g., alkyleneoxy, alkylenedioxy, alkyleneamino, alkylenediamino, and the like). Still further, for alkylene and heteroalkylene linking groups, no orientation of the linking group is implied.

[29] The terms "cycloalkyl" and "heterocycloalkyl", by themselves or in combination with other terms, represent, unless otherwise stated, cyclic versions of "alkyl" and "heteroalkyl", respectively. Additionally, for heterocycloalkyl, a heteroatom can occupy the position at which the heterocycle is attached to the remainder of the molecule. Examples of cycloalkyl include cyclopentyl, cyclohexyl, 1-cyclohexenyl, 3-cyclohexenyl, cycloheptyl, and the like. Examples of heterocycloalkyl include 1-(1,2,5,6-tetrahydropyridyl), 1-piperidinyl, 2-piperidinyl, 3-piperidinyl, 4-morpholinyl, 3-morpholinyl, tetrahydrofuran-2-yl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrothien-2-yl, tetrahydrothien-3-yl, 1-piperazinyl, 2-piperazinyl, and the like.

[30] The terms "halo" or "halogen," by themselves or as part of another substituent, mean, unless otherwise stated, a fluorine, chlorine, bromine, or iodine atom. Additionally, terms such as "haloalkyl," are meant to include monohaloalkyl and polyhaloalkyl. For example, the

WO 02/100852

PCT/US02/17952

term "halo(C₁-C₄)alkyl" is meant to include trifluoromethyl, 2,2,2-trifluoroethyl, 4-chlorobutyl, 3-bromopropyl, and the like.

[31] The term "aryl" means, unless otherwise stated, a polyunsaturated, typically aromatic, hydrocarbon substituent, which can be a single ring, or multiple rings (up to three rings), which are fused together or linked covalently. The term "heteroaryl" refers to aryl groups (or rings) that contain from zero to four heteroatoms selected from N, O, and S, wherein the nitrogen and sulfur atoms are optionally oxidized, and the nitrogen atom(s) are optionally quaternized. A heteroaryl group can be attached to the remainder of the molecule through a heteroatom. Non-limiting examples of aryl and heteroaryl groups include phenyl, 1-naphthyl, 2-naphthyl, 4-biphenyl, 1-pyrrolyl, 2-pyrrolyl, 3-pyrrolyl, 3-pyrazolyl, 2-imidazolyl, 4-imidazolyl, pyrazinyl, 2-oxazolyl, 4-oxazolyl, 2-phenyl-4-oxazolyl, 5-oxazolyl, 3-isoxazolyl, 4-isoxazolyl, 5-isoxazolyl, 2-thiazolyl, 4-thiazolyl, 5-thiazolyl, 2-furyl, 3-furyl, 2-thienyl, 3-thienyl, 2-pyridyl, 3-pyridyl, 4-pyridyl, 2-pyrimidyl, 4-pyrimidyl, 5-benzothiazolyl, purinyl, 2-benzimidazolyl, 5-indolyl, 1-isoquinolyl, 5-isoquinolyl, 2-quinoxalyl, 5-quinoxalyl, 3-quinolyl, and 6-quinolyl. Substituents for each of the above noted aryl and heteroaryl ring systems are selected from the group of acceptable substituents described below.

[32] For brevity, the term "aryl" when used in combination with other terms (e.g., aryloxy, arylthioxy, arylalkyl) includes both aryl and heteroaryl rings as defined above. Thus, the term "arylalkyl" is meant to include those radicals in which an aryl group is attached to an alkyl group (e.g., benzyl, phenethyl, pyridylmethyl and the like) including those alkyl groups in which a carbon atom (e.g., a methylene group) has been replaced by, for example, an oxygen atom (e.g., phenoxymethyl, 2-pyridylloxymethyl, 3-(1-naphthylloxy)propyl, and the like).

[33] Each of the above terms (e.g., "alkyl," "heteroalkyl," "aryl" and "heteroaryl") is meant to include both substituted and unsubstituted forms of the indicated radical. Preferred substituents for each type of radical are provided below.

[34] Substituents for the alkyl, heteroalkyl, aryl, and heteroalkyl radicals (including those groups often referred to as alkylene, alkenyl, heteroalkylene, heteroalkenyl, alkynyl, cycloalkyl, heterocycloalkyl, cycloalkenyl, and heterocycloalkenyl) can be a variety of groups selected from: -OR', =O, =NR', =N-OR', -NR'R'', -SR', -halogen, -SiR'R''R''', -OC(O)R', -C(O)R', -CO₂R', -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR'-C(O)NR''R''', -NR''C(O)₂R', -NH-C(NH₂)=NH, -NR'C(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -CN and -NO₂ in a number ranging from zero to (2m'+1), where m' is the total number of carbon atoms in such radical. R', R'' and R''' each independently refer to

WO 02/100852

PCT/US02/17952

hydrogen, unsubstituted (C₁-C₈)alkyl and heteroalkyl, unsubstituted aryl, aryl substituted with 1-3 halogens, unsubstituted alkyl, alkoxy or thioalkoxy groups, or aryl-(C₁-C₄)alkyl groups. When R' and R'' are attached to the same nitrogen atom, they can be combined with the nitrogen atom to form a 5-, 6-, or 7-membered ring. For example, -NR'R'' is meant to include 1-pyrrolidinyl and 4-morpholinyl. From the above discussion of substituents, one of skill in the art will understand that the term "alkyl" is meant to include groups such as haloalkyl (e.g., -CF₃ and -CH₂CF₃) and acyl (e.g., -C(O)CH₃, -C(O)CF₃, -C(O)CH₂OCH₃, and the like). Preferably, the substituted alkyl and heteroalkyl groups have from 1 to 4 substituents, more preferably 1, 2 or 3 substituents. Exceptions are those perhalo alkyl groups (e.g., pentafluoroethyl and the like), which are also preferred and contemplated by the present invention.

[35] Similarly, substituents for the aryl and heteroaryl groups are varied and are selected from: halogen, -OR', -OC(O)R', -NR'R'', -SR', -R', -CN, -NO₂, -CO₂R', -CONR'R'', -C(O)R', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR''C(O)₂R', -NR'-C(O)NR''R''', -NH-C(NH₂)=NH, -NR'C(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -N₃, -CH(Ph)₂, perfluoro(C₁-C₄)alkoxy, and perfluoro(C₁-C₄)alkyl, in a number ranging from zero to the total number of open valences on the aromatic ring system; and where R', R'' and R''' are independently selected from hydrogen, (C₁-C₈)alkyl and heteroalkyl, unsubstituted aryl and heteroaryl, (unsubstituted aryl)-(C₁-C₄)alkyl, and (unsubstituted aryl)oxy-(C₁-C₄)alkyl.

[36] Two of the substituents on adjacent atoms of the aryl or heteroaryl ring may optionally be replaced with a substituent of the formula -T-C(O)-(CH₂)_q-U-, wherein T and U are independently -NH-, -O-, -CH₂- or a single bond, and q is an integer of from 0 to 2. Alternatively, two of the substituents on adjacent atoms of the aryl or heteroaryl ring may optionally be replaced with a substituent of the formula -A-(CH₂)_r-B-, wherein A and B are independently -CH₂-, -O-, -NH-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂NR'- or a single bond, and r is an integer of from 1 to 3. One of the single bonds of the new ring so formed may optionally be replaced with a double bond. Alternatively, two of the substituents on adjacent atoms of the aryl or heteroaryl ring may optionally be replaced with a substituent of the formula -(CH₂)_s-X-(CH₂)_t-, where s and t are independently integers of from 0 to 3, and X is -O-, -NR'-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, or -S(O)₂NR'-. The substituent R' in -NR'- and -S(O)₂NR'- is selected from hydrogen or unsubstituted (C₁-C₆)alkyl.

[37] As used herein, the term "heteroatom" is meant to include oxygen (O), nitrogen (N), sulfur (S) and silicon (Si).

WO 02/100852

PCT/US02/17952

[38] The term "pharmaceutically acceptable salts" is meant to include salts of the active compounds which are prepared with relatively nontoxic acids or bases, depending on the particular substituents found on the compounds described herein. When compounds of the present invention contain relatively acidic functionalities, base addition salts can be obtained
5 by contacting the neutral form of such compounds with a sufficient amount of the desired base, either neat or in a suitable inert solvent. Examples of pharmaceutically acceptable base addition salts include sodium, potassium, calcium, ammonium, organic amino, or magnesium salt, or a similar salt. When compounds of the present invention contain relatively basic functionalities, acid addition salts can be obtained by contacting the neutral form of such
10 compounds with a sufficient amount of the desired acid, either neat or in a suitable inert solvent. Examples of pharmaceutically acceptable acid addition salts include those derived from inorganic acids like hydrochloric, hydrobromic, nitric, carbonic, monohydrogen-carbonic, phosphoric, monohydrogenphosphoric, dihydrogenphosphoric, sulfuric, monohydrogensulfuric, hydriodic, or phosphorous acids and the like, as well as the salts
15 derived from relatively nontoxic organic acids like acetic, ascorbic, propionic, isobutyric, maleic, malonic, lactic, malic, glutamic, benzoic, succinic, suberic, fumaric, mandelic, phthalic, benzenesulfonic, p-tolylsulfonic, citric, tartaric, methanesulfonic, lactobionic, and the like. Also included are salts of amino acids such as arginate and the like, and salts of organic acids like glucuronic or galacturonic acids and the like (see, for example, Berge, S.M., et al, "Pharmaceutical Salts", *Journal of Pharmaceutical Science*, 1977, 66, 1-19).
20 Certain specific compounds of the present invention contain both basic and acidic functionalities that allow the compounds to be converted into either base or acid addition salts.

[39] The neutral forms of the compounds may be regenerated by contacting the salt with a
25 base or acid and isolating the parent compound in the conventional manner. The parent form of the compound differs from the various salt forms in certain physical properties, such as solubility in polar solvents, but otherwise the salts are equivalent to the parent form of the compound for the purposes of the present invention.

[40] In addition to salt forms, the present invention provides compounds, which are in a
30 prodrug form. Prodrugs of the compounds described herein are those compounds that readily undergo chemical changes under physiological conditions to provide the compounds of the present invention. Additionally, prodrugs can be converted to the compounds of the present invention by chemical or biochemical methods in an *ex vivo* environment. For example,

WO 02/100852

PCT/US02/17952

prodrugs can be slowly converted to the compounds of the present invention when placed in a transdermal patch reservoir with a suitable enzyme or chemical reagent.

[41] Certain compounds of the present invention can exist in unsolvated forms as well as solvated forms, including hydrated forms. In general, the solvated forms are equivalent to unsolvated forms and are intended to be encompassed within the scope of the present invention. Certain compounds of the present invention may exist in multiple crystalline or amorphous forms. In general, all physical forms are equivalent for the uses contemplated by the present invention and are intended to be within the scope of the present invention.

[42] Certain compounds of the present invention possess asymmetric carbon atoms (chiral centers) or double bonds; the racemates, diastereomers, geometric isomers and individual isomers are all intended to be encompassed within the scope of the present invention.

[43] The compounds of the present invention may also contain unnatural proportions of atomic isotopes at one or more of the atoms that constitute such compounds. For example, the compounds may be radiolabeled with radioactive isotopes, such as for example tritium (³H), iodine-125 (¹²⁵I) or carbon-14 (¹⁴C). All isotopic variations of the compounds of the present invention, whether radioactive or not, are intended to be encompassed within the scope of the present invention.

[44] In the discussions below, reference is made to dsDNA as the nucleic acid, but it is to be understood that the invention is not limited to dsDNA and is applicable to other nucleic acids, i.e., ribonucleic acid.

Compounds

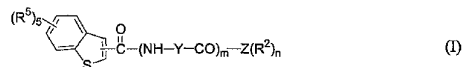
[45] Compounds (I) of this invention are polyamides (or oligoamides) having a benzothiophene carboxamide unit and, additionally, aliphatic, aromatic, and/or heteroaromatic carboxamide units. The compounds are DNA-binding compounds, having an affinity for the minor groove thereof. Different polyamide-dsDNA binding modes are possible. In the simplest mode, often referred to as the 1:1 binding mode, a single polyamide molecule fits in the channel formed by the minor groove. In what is referred to as the 2:1 binding mode, two polyamide molecules fit at the same site in the minor groove, often aligned side-by-side in an antiparallel manner (i.e., with one polyamide being aligned N-to-C and the other polyamide being aligned C-to-N, where "C" and "N" refer to the carboxy and amino termini, respectively of the polyamides). When binding in the 2:1 mode, the compounds may alternatively overlap only partially – the so-called "slipped" binding configuration. Lastly, in what is referred to as a "hairpin" binding mode, a single polyamide molecule that has a more or less centrally positioned flexible moiety (i.e., a moiety M³, as

WO 02/100852

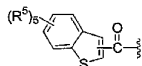
PCT/US02/17952

discussed in greater detail here-inbelow) folds around itself to adopt a hairpin conformation when it is bound to the minor groove, so that a first portion of the polyamide at one side of the hairpin turn is adjacent to a second portion of the polyamide at the other side of the hairpin turn.

5 [46] In formula (I)

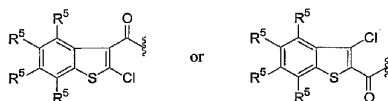


[47] the benzothiophene group has bonded to each non-bridgehead carbon either a group R^5 or the group $-C(=O)-(NH-Y-C=O)_m-Z(R^2)_n$. Preferably, the latter group is bonded to either the benzothiophene C2 or C3 and the benzothiophene group has a chlorine at position C3 or C2, depending on the positioning of the group $-C(=O)-(Y)_m-Z(R^2)_n$. That is, the residue



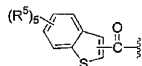
[48] preferably is either

15

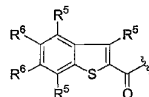


[49] especially where each R^5 is H.

[50] In another preferred embodiment, the residue



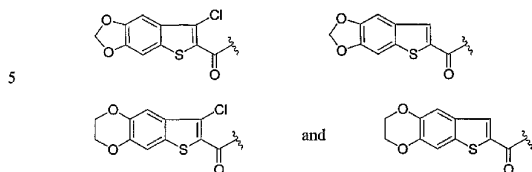
20 is



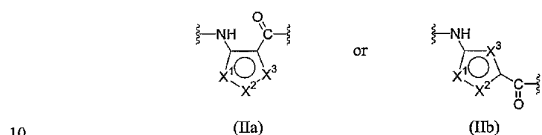
WO 02/100852

PCT/US02/17952

[51] where each R^5 is as previously defined and the two R^6 's are both OH or OCH_3 or combine to form $O-(CH(R^7))_t-O$, where t is 1 or 2 and each R^7 is independently H or C_1-C_6 alkyl, alkenyl, alkynyl, or acyl. Specific examples include:



[52] Moieties M^1 , described by formulae IIa and IIb



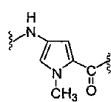
[53] provide additional heteroaromatic polyamide building blocks. Moieties M^1 are 5-membered ring heteroaromatic moieties, the selection of X^1 , X^2 , and X^3 determining the type of heteroaromatic ring. Exemplary heteroaromatic rings include imidazole, pyrrole, pyrazole, furan, isothiazole, oxazole, isoxazole, thiazole, furazan, 1,2,3-thiadiazole, 1,2,4-thiadiazole, 1,2,5-thiadiazole, 1,3,4-thiadiazole, 1,2,3-triazole, 1,2,4-triazole, 1,3,4-oxadiazole, 1,2,4-oxadiazole, and thiophene. Preferably, at least one moiety ($NH-Y-C=O$) is a moiety M^1 .

[54] The circle in the five-membered rings of formulae IIa and IIb above is meant to indicate the presence of two double bonds, which, in some embodiments, can move within the ring.

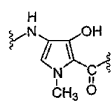
20 [55] Preferred moieties M^1 are IIc (hereinafter "Py"), formally derived from 1-methyl-4-aminopyrrole-2-carboxylic acid, IId (hereinafter "Hp"), formally derived from 1-methyl-3-hydroxy-4-aminopyrrole-2-carboxylic acid, and IIe (hereinafter "Im"), formally derived from 1-methyl-4-aminoimidazole-2-carboxylic acid:

WO 02/100852

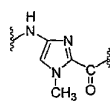
PCT/US02/17952



(IIc)



(IIId)



(IIe)

[56] Dervan and co-workers — see, e.g., Dervan, US 6,143,901 (2000); Dervan et al., WO 98/37066 (1998); White et al., *Nature* 391, 468 (1998); White et al., *Chem. Biol.* 1997, 4, 569 — have shown that the moieties Py, Im, and Hp can be used to construct a polyamide that, when binding in a 2:1 mode or hairpin configuration, recognizes specific dsDNA base pairs, giving rise to a set of “pairing rules” correlating heteroaromatic moiety pairs and DNA base pairs. These pairing rules are summarized below:

Heteroaromatic Pair	dsDNA Base Pair(s) Recognized
Im/Py	G/C
Py/Im	C/G
Py/Py	A/T, T/A (degenerate)
Hp/Py	T/A
Py/Hp	A/T

[57] See, e.g., White et al., *Chem. Biol.* Aug. 1997, 4, 459 and White et al., *Nature* 1998, 391, 468. Such recognition ability can lead to sequence-specific dsDNA binding, enabling the design of compounds (I) that target predetermined DNA base pair sequences, for example, a specific promoter site or a sequence characteristic of a gene.

[58] Optionally, compound (I) can include one or more moieties M²



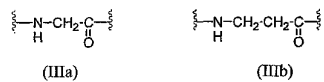
[59] A moiety M² can function as a “spacer” for adjusting the positioning of the heteroaromatic moieties M¹ or M³ relative to the dsDNA base pairs at the binding site. As a compound (I) binds in the minor groove, the alignment of heteroaromatic moieties M¹ and M³ with the DNA base pairs with which they interact of optimal binding or sequence recognition may drift as the number of heteroaromatic moieties M¹ and M³ increases. Alternatively, incorporation of a moiety M² adds flexibility to compound (I), allowing its curvature to more accurately match that of the minor groove. The incorporation of one or more flexible moieties M² relaxes the curvature of the compound backbone, permitting larger

WO 02/100852

PCT/US02/17952

compounds (I) to bind to longer sequences of DNA. In some preferred embodiments a moiety M^2 is present for every 4 to 5 heteroaromatic moieties M^1 or M^4 , more preferably interrupting long sequences of M^1 and/or M^4 groups.

- [60] Preferred moieties M^2 are those corresponding to glycine ($x = 0$ in formula III, depicted as IIIa below) and β -alanine ($n = 1$ and $R^{15} = H$ in formula III; depicted as IIIb below, hereinafter " β "), with the latter being especially preferred.

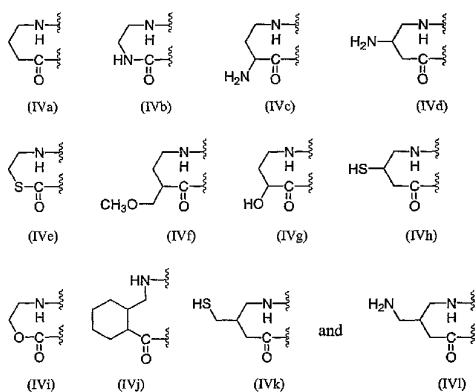


- [61] Moieties M^2 in which $x = 1$ and $R^{15} = OH, NH_2$, or F can be used to alter the binding affinity and specificity (relative to β -alanine), as disclosed in Floreancig et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 6342; the disclosure of which is incorporated herein by reference.

[62] When present in compound (I), optional moieties M^3 (formula IV)



- [63] have a group L providing a spacer of 3 to 4 atoms between $-\text{NH}-$ and $-\text{C}(=\text{O})-$ and can be used to introduce a hairpin turn into compound (I). See Mrksich et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 7983. Exemplary moieties M^3 include:



20

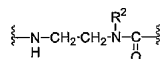
WO 02/100852

PCT/US02/17952

[64] Moieties IVa (hereinafter "γ"), corresponding to γ-aminobutyric acid, and IVc, corresponding to 2,4-diaminobutyric acid, are preferred. Selecting one enantiomer or the other of moieties M³ that are chiral allows stereochemical control of the binding of polyamides to the minor groove, for example as disclosed in Baird et al., WO 98/45284

5 (1998) in respect of R-2,4-diaminobutyric acid and S-2,4-diaminobutyric acid (corresponding to R-IVc and S-IVc, respectively).

[65] Yet another class of moieties M³ is represented by the formula



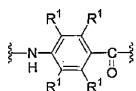
[66] where R² is as previously defined.

10 [67] While the group L preferably provides a 3-atom separation between the --NH- and the --(C=O)-, a 4-atom separation is also permissible, as illustrated by a 5-aminovaleric acid residue (i.e., L equals --(CH₂)₄--):



[68] L can have pendant groups, which serve to enhance solubility or function as attachment points for other groups (e.g., IVc, IVd, IVg, IVh, IVk, IVl). The 3 to 4 atoms can be part of a larger group, which provides conformational rigidity (e.g., IVj). The 3 to 4 atoms can comprise carbon atoms only or it can include heteroatoms (e.g., IVb, IVe, IVi).

[69] Moieties M¹ are used to introduce a benzamide unit into compound (I). Preferably, the benzamide unit is *para*-oriented, as in

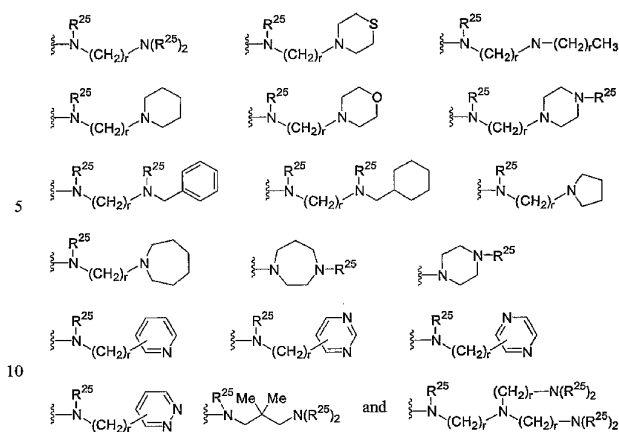


20 [70] The group Z(R²)_n can be viewed as a terminal group, located at the C-terminus of compound (I), forming an amide or ester cap there. In the case of Z is N, the two groups R² can be linked to each other to form a cyclic structure. A group Z(R²)_n can contain a basic group (as defined hereinbelow). Examples of suitable groups containing a basic group

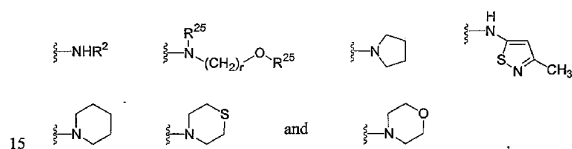
25 include:

WO 02/100852

PCT/US02/17952



[71] Examples of suitable groups $Z(R^2)_n$ not containing a basic group include:



[72] The classification of the 5-amino-2-methylisothiazole group as a "nonbasic" $Z(R^2)_n$ group is somewhat arbitrary, as its pK_b is marginal, normally around 12-13 (i.e., pK_a 1-2) and depending on the molecular structure of the entire compound, it may qualify or not as a basic group as such is defined herein. Preferably, where a 5-amino-2-methylisothiazole is present, the compound has a basic group elsewhere in the molecule, for example pendant from a moiety M^1 or M^4 , as exemplified by compounds Ib-53 and Ib-54 in Fig. 5.

[73] In the foregoing formulae, r is an integer ranging from 2 to 8, inclusive (preferably 2 to 6), and each R^{25} is independently H, CH_3 , CH_2CH_3 , $CH_2CH_2CH_3$, or $CH(CH_3)_2$.

[74] The preceding illustrative formulae of basic and nonbasic groups $Z(R^2)_n$ have been drawn with Z being N and n being 2 for convenience. Those skilled in the art will appreciate

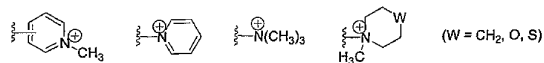
WO 02/100852

PCT/US02/17952

that these illustrations can be replaced with the alternative embodiment in which Z is O and n is 1. Where Z is O, preferably the adjacent moiety Y is Py.

[75] As used herein with reference to groups R¹ and R², "substituted or unsubstituted (C₁-C₁₂)alkyl group, or a substituted or unsubstituted (C₁-C₁₂)heteroalkyl group" includes not only conventional alkyl or cycloalkyl groups such as methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, s-butyl, isobutyl, t-butyl, cyclopentyl, cyclohexyl, and pentyl, but also unsaturated C₁ to C₁₂ groups, having for example aromatic, alkenyl, or alkynyl groups (e.g., phenyl, benzyl, vinyl, cyclohexenyl, etc.). One or more backbone carbons can be replaced by heteroatoms. There may be present functionalities such as hydroxy; oxo (=O); primary, secondary, or tertiary amine (e.g., -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂); quaternary ammonium (e.g., -N(CH₃)₃⁺); alkoxy (e.g., methoxy, ethoxy); acyl (e.g., -C(=O)CH₃); amide (e.g., -NHC(=O)CH₃); thiol; thioether (e.g., -SCH₃); sulfoxide; sulfonamide (e.g., -SO₂NHCH₃); halogen (e.g., F, Cl); nitro; and the like. Exemplary specific R¹, R², and R³ groups include methyl, trifluoromethyl, ethyl, acetyl, methoxy, methoxyethyl, ethoxyethyl, aminoethyl, hydroxyethyl, propyl, hydroxypropyl, cyclopropyl, isopropyl, 3-(dimethylamino)propyl, butyl, s-butyl, isobutyl, t-butyl, pentyl, cyclopentyl, vinyl, allyl, ethynyl, propynyl, and the like.

[76] Compound (I) preferably has a basic group having a pK_b of 12 or less or a quaternized nitrogen group. (Or, stated conversely, the conjugate acid of the basic group has a pK_a greater than 2 (pK_a = 14 - pK_b.) Preferably, the pK_b is less than 10, more preferably less than 5. A pK_b of less than 12 ensures that compound (I) is protonated under the conditions in which it interacts with a nucleic acid. Preferably the basic group is a nitrogenous group, for example an amine, an amidine, a guanidine, a pyridine, a pyridazine, a pyrazine, a pyrimidine, an imidazole, or an aniline. Primary, secondary, or tertiary aliphatic amines, are preferred. Exemplary quaternized nitrogen groups include alkyl pyridinium and tetraalkyl ammonium groups such as:



[77] Without being bound by theory, it is believed that the basic group enhances cell transport properties, enabling the compounds of this invention to be transported across cellular and nuclear membranes and to reach dsDNA in the nucleus. See Rothbard et al., WO 98/52614 (1998), which discloses that guanidine or amidino side chain moieties enhance transport across biological membranes. Another possible benefit is enhancement of the

WO 02/100852

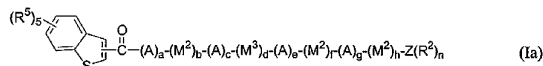
PCT/US02/17952

binding affinity to the nucleic acid, perhaps via ionic interactions with backbone phosphate groups. See Baird and Dervan, WO 98/37087 (1998) and Bruice et al., US 5,698,674 (1997). Lastly, the protonated basic group enhances the solubility of compounds (I).

[78] Preferably, the basic group is present within the C-terminal group $Z(R^2)_n$, but it may be present elsewhere in the molecule, for example as part of a group R^1 or R^2 in M^1 or M^4 .

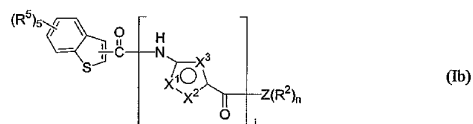
Or, multiple basic groups may be present, at different parts of compound (I).

[79] In a preferred embodiment, compound (I) is according to formula (Ia):

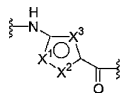


[80] wherein M^2 , M^3 , R^2 , R^5 , Z and n have the same meanings as previously assigned; each A is independently M^1 or M^4 ; each of a , c , e , g and h is an integer independently from 0 to 5, inclusive; and each of b , d , and f is independently 0 or 1. The sum of a , c , e , and g is at least 2, preferably at least 3. In one preferred embodiment, each A is M^1 . Also preferably, the moiety A associated with the subscript a is a moiety M^1 .

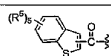
[81] In another preferred embodiment, compound (I) is according to formula (Ib):



[82] wherein X^1 , X^2 , X^3 , R^2 , R^5 , Z , and n have the meanings previously assigned and i is an integer from 1 to 4, inclusive. In one subset of compounds according to formula (Ib), each of the moieties

















[83] is Py, with Table 1 listing exemplary such compounds (Ib):

Table 1 — Illustrative Compounds (Ib)			
Compound Ref.		i	$\text{Z(R}^2\text{)}_n$

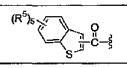

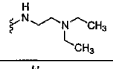
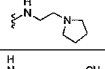
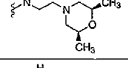
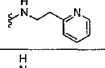
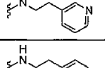
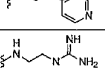
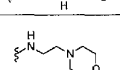

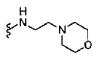

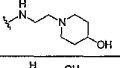
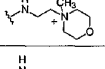
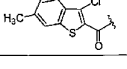
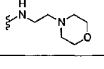
WO 02/100852

PCT/US02/17952

Ib-1		3	
Ib-2	Same	3	
Ib-3		2	
Ib-4		2	Same
Ib-5	Same	3	
Ib-6	Same	3	
Ib-7	Same	3	
Ib-8	Same	2	Same
Ib-9	Same	2	
Ib-10		3	
Ib-11		2	Same
Ib-12	Same	3	

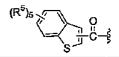
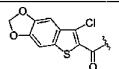




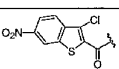

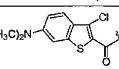
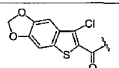




WO 02/100852

PCT/US02/17952

Table 1 (continued)			
Compound Ref.		i	$Z(R^2)_n$
Ib-13		3	
Ib-14	Same	3	
Ib-15	Same	3	
Ib-16	Same	3	
Ib-17	Same	3	
Ib-18	Same	3	
Ib-19	Same	2	
Ib-20		3	
Ib-20a		2	
Ib-20b	Same	3	
Ib-20c		3	

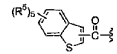
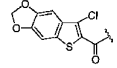



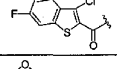

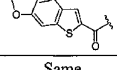



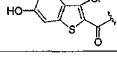

WO 02/100852

PCT/US02/17952

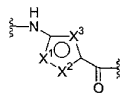
Table 1 (continued)			
Compound Ref.		i	$Z(R^2)_n$
Ib-20d		3	
Ib-20e	Same	2	Same
Ib-20f	Same	1	Same
Ib-20g	Same	3	
Ib-20h	Same	3	
Ib-20i	Same	3	
Ib-20j		3	
Ib-20k		3	Same
Ib-20l		3	
Ib-20m	Same	3	
Ib-20n	Same	1	
Ib-20o	Same	1	

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Table 1 (continued)			
Compound Ref.		i	$\text{---Z(R}^2\text{)}_n$
Ib-20p		1	
Ib-20q	Same	1	
Ib-20r	Same	1	
Ib-20s		2	
Ib-20t		1	
Ib-20u	Same	2	Same
Ib-20v	Same	3	Same
Ib-20w	Same	1	
Ib-20x	Same	1	
Ib-20y		1	

[84] However, in formula Ib the moieties



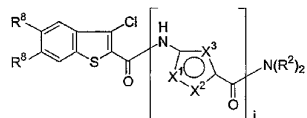
5

[85] need not all be Py. They can include other 5-member ring heterocycles, as illustrated by the compounds shown in Figs. 1 through 7.

WO 02/100852

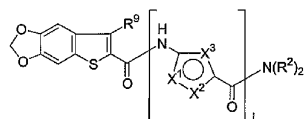
PCT/US02/17952

[86] A preferred sub-embodiment according to formula (Ib) is



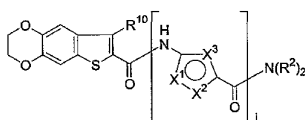
[87] where one R^8 is H and the other R^8 is H, F, CH_3 , NO_2 , or $N(CH_3)_2$ and X^1 , X^2 , X^3 , i , and R^2 are as previously defined.

5 [88] A second preferred sub-embodiment is



[89] where R^9 is Cl or H and X^1 , X^2 , X^3 , i , and R^2 are as previously defined.

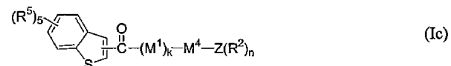
[90] A third preferred sub-embodiment is



10 [91] where R^{10} is Cl or H and X^1 , X^2 , X^3 , i , and R^2 are as previously defined.

[92] Examples of the foregoing sub-embodiments according to formula (Ib) are found in Table 1 and Figs. 1 through 7.

[93] In another preferred embodiment, compound (I) is according to formula (Ic):

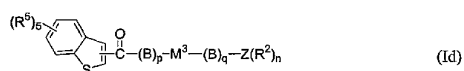


15 [94] wherein M^1 , M^4 , R^2 , R^5 , Z and n are as previously defined and k is an integer from 0 to 2 (preferably 0 or 1, more preferably 1), inclusive.

[95] In another preferred embodiment, compound (I) is according to formula (Id):

WO 02/100852

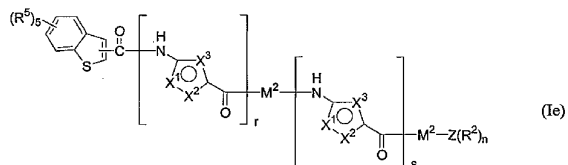
PCT/US02/17952



[96] wherein M^3 , R^2 , R^5 , Z and n are as previously defined; each B is independently M^1 or M^2 ; and p and q are independently integers from 1 to 7, inclusive (more preferably 2 to 4, inclusive). Exemplary compounds (Id) include compounds Id-1 through Id-5, whose

5 structures are depicted in Figs. 8 and 9.

[97] In another preferred embodiment, compound (I) is according to formula (Ie):



10 [98] wherein X^1 , X^2 , X^3 , M^2 , R^2 , R^5 , Z , and n are as previously defined and each of r and s is independently 1 or 2. Exemplary compounds (Ie) include compounds Ie-1 through Ie-4, whose structures are depicted in Fig. 10.

[99] Compounds (I) can be conjugated or linked to another nucleic acid binding compound. The conjugated nucleic acid binding compounds can be two identical or different
 15 compounds (I), or one compound (I) and a different class of nucleic acid binder, for example an intercalator, a triple helix former, a binder to the phosphate backbone, a major groove binder, another type of minor groove binder, and the like. A preferred site for forming the conjugating link is an amino, hydroxy, or thiol functionality in a group L in moiety M^2 , which can be acylated or alkylated. The preparation of tandem linked nucleic acid binding
 20 polyamides in this manner is disclosed in Baird et al., WO 98/45284 (1998), the disclosure of which is incorporated herein by reference.

[100] Compounds (I) also can be conjugated to other moieties, such as, peptides, proteins, transport agents, fluorophores or other reporter groups, and the like.

[101] Compounds (I) preferably bind to dsDNA with high affinity, meaning an equilibrium dissociation constant of 10^{-3} M or less, more preferably 10^{-6} M or less, and most preferably 10^{-9} M or less. The measurement of binding affinities by quantitative DNase I footprinting is
 25 disclosed in Dervan, WO 98/50582 (1998), and Trauger et al., *Nature* 382, 559 (8 Aug.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

1996); the disclosures of which are incorporated herein by reference, and is also described in the examples hereinbelow.

[102] Compounds of this invention can be used to form complexes with dsDNA, for the purpose of recognizing and/or isolating dsDNA strands containing particular base-pair sequences, for example for analytical or diagnostic purposes. Thus, in another aspect of this invention there is provided a complex between dsDNA and compound of this invention. In cellular systems or in living organisms, they can modulate the expression of a gene by binding to the gene or a promoter or repressor region thereof. Such modulation may be useful for therapeutic or research purposes.

[103] Additionally, compounds of this invention have been found to have anti-bacterial and/or properties and therefore may be used for combating (i.e., preventing and/or treating) infections in eukaryotic organisms, especially mammals. Other pathogens against which compounds of this invention can be useful include fungi, protozoa and viruses. For human anti-infective applications, an effective amount of a compound of this invention is used, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier. The composition may be dry, or it may be a solution. Treatment may be reactive, for combating an existing infection, or prophylactic, for preventing infection in an organism susceptible to infection. Preferably, compounds of this invention are used to treat infections by Gram-positive bacteria, in particular drug-resistant strains thereof, for example MRSA (methicillin resistant *S. aureus*), MRSE (methicillin resistant *S. epidermidis*), PRSP (penicillin resistant *S. pneumoniae*) or VRE (vancomycin resistant *Enterococci*). By "drug-resistant" it is meant that the bacteria are resistant to treatment with conventional antibiotics.

[104] Host organisms that can be treated include eukaryotic organisms, in particular plants and animals. The plant may be an agriculturally important crop, such as wheat, rice, corn, soybean, sorghum, and alfalfa. Animals of interest include mammals such as bovines, canines, equines, felines, ovines, porcines, and primates (including humans). Thusly, in another aspect of this invention, there is provided a method for treating a bacterial infection — particularly an infection by Gram-positive bacteria — comprising administering to a patient in need of such treatment an effective amount of compound (I). Compounds of this invention can also be used for the preparation of a medicament for the treatment of a bacterial infection in mammals. The compounds may be administered orally, topically, or parenterally (e.g., intravenously, subcutaneously, intraperitoneally, transdermally).

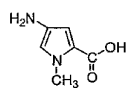
[105] While not wishing to be bound by any particular theory, it is believed that the compounds of this invention derive their biological activity from their ability to bind to

WO 02/100852

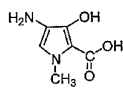
PCT/US02/17952

dsDNA, in particular promoter regions of genes essential for pathogen survival and interfering with the expression of such essential genes.

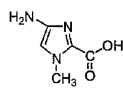
[106] Compounds I can be synthesized by solid phase techniques from the corresponding amino acids or their derivatives, for instance IIc', II d', and IIe' for the synthesis of the Py, Hp, and Im building blocks, respectively.



(IIc')



(II d')



(IIe')

[107] In solid phase synthesis, a polyamide is synthesized on a resin such as Boc-glycine-PAM-resin or Boc-β-alanine-PAM-resin, with moieties Y being added in series of steps involving amino-protected and carboxy-activated monomers, as taught in Dervan et al., US 6,090,947 (2000); Baird et al., WO 98/37066 (1998); Baird et al., WO 98/37067 (1998); and Dervan et al., WO 98/49142 (1998); the disclosures of which are incorporated herein by reference. Alternatively, combinatorial synthetic techniques can be employed. See, for example, Boger et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 6382-6394, also incorporated herein by reference.

[108] The practice of this invention may be further understood by reference to the following examples, which are provided by way of illustration and not of limitation.

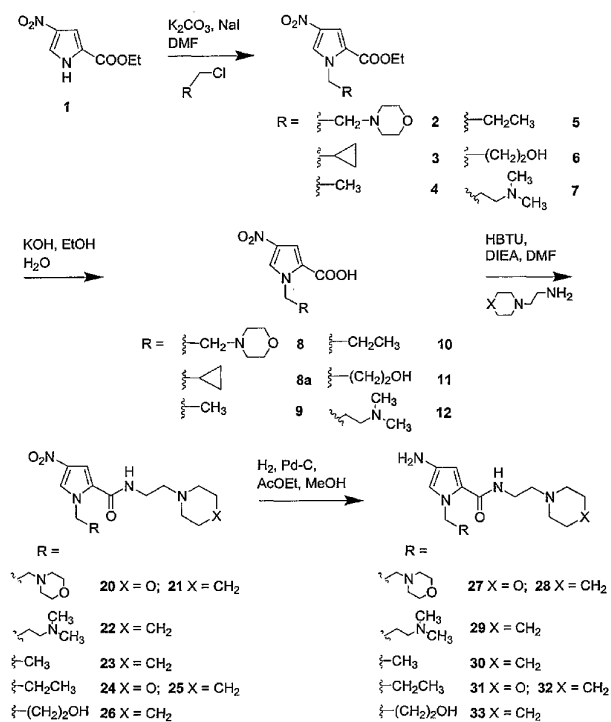
Example A

[109] This example describes the synthesis of intermediates for the preparation of compounds of this invention having pyrrole carboxamide units in which the pyrrole nitrogen is substituted with a substituent other than methyl, as in the instance of compounds Ib-29, Ib-31 to Ib-34, Ib-36 to Ib-46, Ib-50 to Ib-51. A general method for the preparation of the above-mentioned intermediates is given in the Scheme 1.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Scheme 1



- [110] *Synthesis of Compounds 2-7.* The synthesis of compounds 2-7 is illustrated with specific reference to compound 2, the other compounds being analogously synthesizable. A mixture of ethyl 4-nitropyrrole-2-carboxylate **1** (20.00 g, 1.0 equiv.), 4-(2-chloroethyl)morpholine hydrochloride (28.28 g, 1.4 equiv.), NaI (16.28 g, 1.0 equiv.) and K₂CO₃ (28.78 g, 1.92 equiv.) in DMF (200 mL) was stirred at 60°C for 10.5 h and poured into a mixture of H₂O and saturated aq. K₂CO₃ (550/50 mL). The resulting solution was extracted

WO 02/100852

PCT/US02/17952

with AcOEt (4x, each 200 mL). The combined organic layers were dried (MgSO₄) and evaporated to give compound 2 as pale yellow crystals (31.4 g, 97%). The ¹H-NMR spectrum was consistent with the structure of compound 2.

[111] *Synthesis of Compounds 8-12.* The synthesis of compounds 8-12 is illustrated with specific reference to compound 8, the other compounds being analogously synthesizable. A suspension of the ester 2 (31.4 g, 1.0 equiv.) and KOH (8.13 g, 2 equiv.) in EtOH (100 mL) and H₂O (100 mL) was stirred at RT for 16 h (complete dissolution occurred after 1 h). The mixture was acidified with 1M aq. HCl to pH = 3.0 and the resulting precipitate was collected by filtration and dried *in vacuo* to give compound 8 as white solids (23.0 g, 81%). The ¹H-NMR spectrum was consistent with the structure of compound 8.

[112] *Synthesis of Compounds 20-26 and 27-33.* The synthesis of compounds 20-26 and 27-33 is illustrated with specific reference to compounds 20 and 27, the other compounds being analogously synthesizable. A mixture of the acid 8 (1.5 g, 1.0 equiv.) and HBTU (2-(1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate) (1.8 g, 1 equiv.) in DMF (8 mL) and DIEA (diisopropyl-ethylamine) (2 mL) was stirred at RT for 1h, treated with the 4-(2-aminoethyl)morpholine (0.70 mL, 1.1 equiv.) and stirred for 15 h at RT. The solution was added dropwise to ice water (150 mL) and extracted with AcOEt (5x). The combined organic layers were dried (MgSO₄) and evaporated to give compound 20 as brown solids (1.6 g, ¹H-NMR spectrum was consistent with the structure of 20). The crude product was dissolved in AcOEt (50 mL) and MeOH (5 mL), treated with 10% Pd-C (*ca.* 100 mg), and stirred at RT under H₂ (1 atm) for 48 h. The mixture was filtered through *Celite* and the solids washed with MeOH. The filtrate was concentrated *in vacuo*, diluted with Et₂O (250 mL) and AcOEt (50 mL), and treated with HCl (g) for 1 min. Evaporation of the solvents gave compound 27 as orange solids (1.7 g), which was subsequently used without further purification for the preparation of final compounds such as Ib-33 or Ib-34.

Example B

[113] This example describes the synthesis of intermediates containing benzothiophene moieties, for coupling with the intermediates prepared in Example A, as illustrated in Scheme 2 with particular reference to 3-chlorobenzothiophene moieties.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

solids were collected by filtration and dissolved in EtOH (ca. 50 mL), H₂O (40 mL) and 2M aqueous KOH (10 mL). The mixture was stirred at 60°C for 24 h and washed with Et₂O (1x). The aqueous layer was acidified to pH = 1.9 using 1M aqueous HCl and the resulting precipitate collected by filtration and dried *in vacuo* to give compound 41 as a white solid.

5 The ¹H-NMR spectrum was in agreement with the structure of 41.

[115] *Variation b: Synthesis of Compounds 46 and 49.* Variation b pertains to the coupling of a benzothiophene moiety to one or more pyrrole carboxamide moieties in which the pyrrole nitrogens are substituted with methyl groups, using compounds 48 and 49 as

10 examples, with compounds 46 and 47 being analogously synthesizable. A mixture of the acid chloride 54a (8.23 g, 1.1 equiv.) and amine 45 (10.00 g, 1.0 equiv., Bailly et al., *J. Pharm. Chem.*, Nov. 1989, 78 (11), 910-917) in DMF (75 mL) and DIEA (15 mL) was stirred for 23

h at RT (exothermic) and added to a mixture of ice water (1000 mL) and sat. aqueous K₂CO₃ (50 mL). The resulting precipitate was collected by filtration and washed (H₂O). A small sample was dried *in vacuo*: the ¹H-NMR spectrum of this sample was in agreement with the

15 structure of compound 48.

[116] The crude product was suspended in EtOH (150 mL) and H₂O (150 mL), treated with KOH (10 g) and stirred at 60°C for 7 h. The mixture was diluted with H₂O (to a volume of ca. 700 mL), washed with AcOEt (1x) and acidified to pH = 2.4 using 6M aqueous HCl. The solids were collected by filtration and dried *in vacuo* to give acid 49 (12.4 g, 85%, two steps).

20 The ¹H-NMR spectrum was in agreement with the structure of compound 49.

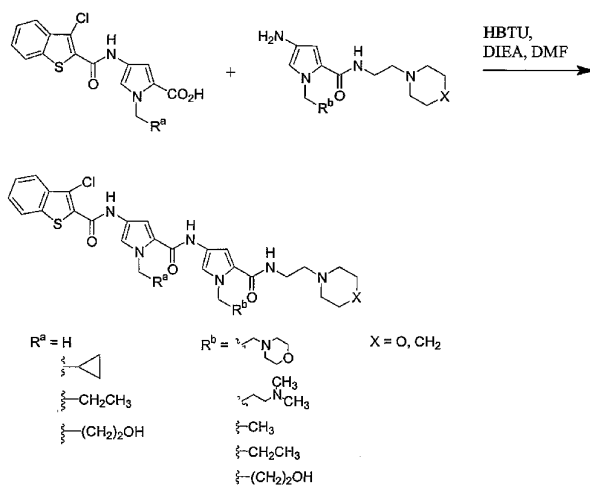
Example C

[117] In this example, intermediates synthesized per Examples A and B (variation a) are coupled to provide compounds of this invention. The synthetic scheme is summarized in Scheme 3 and a detailed representative procedure is provided with specific reference to

25 compound Ib-39.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Scheme 3

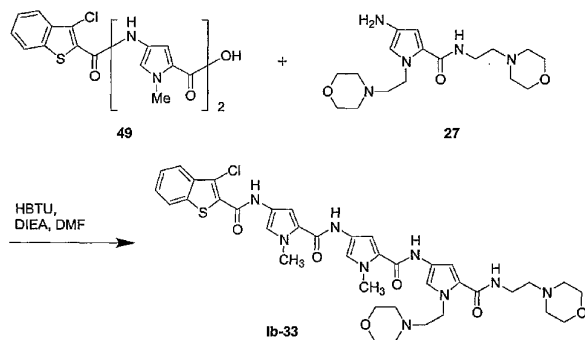
[118] *Synthesis of compound Ib-39* ($R^1 = \text{CH}_2\text{CH}_3$, $R^2 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $X = \text{CH}_2$). A mixture
of the carboxylic acid prepared in Example B ($R^1 = \text{CH}_2\text{CH}_3$, 60 mg, 1.1 equiv.) and HBTU
5 (60 mg) in NMP (1 mL) and DIEA (0.2 mL) was stirred for 1 h at 37°C and added to a
solution of the pyrrole amine prepared in Example A ($R^2 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $X = \text{CH}_2$) in NMP (1
mL) and DIEA (0.2 mL). The reaction mixture was stirred at 37°C for 16 h,
diluted with AcOH (2 mL) and H₂O (5 mL), and washed with Et₂O (3x). Preparative HPLC
of the aqueous layer gave compound Ib-39. The ¹H-NMR spectrum and mass spectrum were
10 in agreement with the structure of compound Ib-39.

Example D

[119] In this example, intermediates synthesized per Examples A and B (variation b) are
coupled to provide compounds of this invention. The synthetic scheme is summarized in
Scheme 3a and a detailed representative procedure is provided with specific reference to
15 compound Ib-33.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Scheme 3a

- [120] *Synthesis of Compound Ib-33.* A mixture of the trimeric carboxylic acid **49** (119 mg, 1.2 equiv.) and HBTU (93.8 mg, 1.14 equiv.) in NMP (ca. 1 mL) and DIEA (ca. 0.2 mL) was stirred at 40°C for 1 h and added to a soln. of the pyrrole amine **27** (100 mg, 1.0 equiv.) in NMP (ca. 1 mL) and DIEA (ca. 0.2 mL). The solution was stirred at 40°C for 16 h, diluted with 50% aqueous AcOH and washed with Et₂O (1x). Preparative HPLC of the aqueous phase gave compound **Ib-33**. The ¹H-NMR spectrum and mass spectrum were in agreement with the structure of compound **Ib-33**.
- [121] The convergent synthetic strategy depicted in Examples A through D is easily applicable for the preparation of additional compounds of this invention beyond the ones specifically illustrated, including those having pyrrole carboxamide units in which the pyrrole unit is unsubstituted, such as **Ib-22**, **Ib-23**, **Ib-25**, **Ib-27**, **Ib-30**, **Ib-35**, or **Ib-37** or in which one or more five member heterocycles is other than pyrrole, as in compounds **Ib-21** and **Ib-27**.
- The synthesis and use of intermediates having unsubstituted ("desmethyl") pyrrole moieties is described in Brenner et al., *Bioorg. Med. Chem.*, 2000, 8, 1947-1955, incorporated herein by reference. The synthesis and use of intermediates having 5-member heterocycles other than pyrrole is described in, *inter alia*, Dervan, US 6,090,947 (2000); Dervan, WO 98/49142 (1998); Beria et al., US 5,753,629 (1998); and Boger et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 6382-6394; the disclosures of which are incorporated herein by reference.

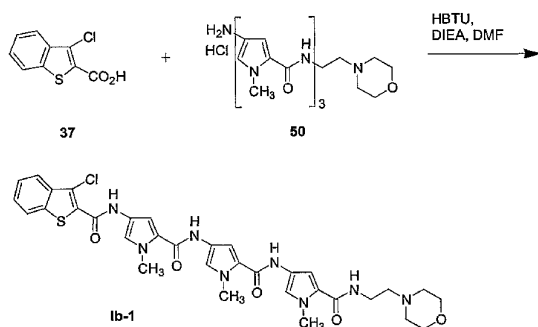
Example E

WO 02/100852

PCT/US02/17952

[122] This example illustrates the synthesis of compounds having a benzothiophene moiety coupled to a sequence of two or three N-methylpyrrole carboxamide moieties, with specific reference to compound Ib-1. Those skilled in the art will understand that other compounds having such a structural motif, such as Ib-2 through Ib-20, can be analogously synthesized, *mutatis mutandis*. The procedure is summarized in Scheme 4.

Scheme 4

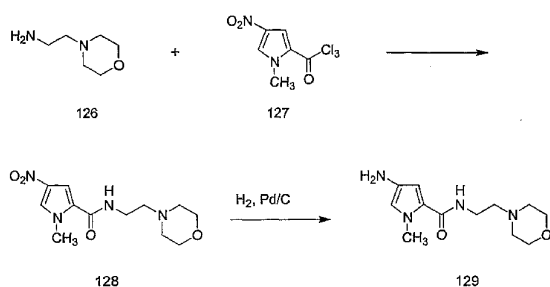


[123] *Synthesis of Compound Ib-1*. A mixture of 3-chlorobenzothiophene-2-carboxylic acid 37 (36 mg, 1.2 equiv.), HBTU (61 mg, 1.14 equiv.) in DMF (1 mL) and DIEA (0.2 mL) was stirred for 30 min at 37°C, added to the trimeric amine 50 (70 mg, 1 equiv.; Baird et al., US Provisional Application No. 60/286,454, filed Apr. 26, 2001, incorporated herein by reference) and stirred for 23 h at 37°C. The mixture was diluted with 50% aqueous AcOH and washed with Et₂O (1x). Preparative HPLC of the aqueous layer gave Ib-1. The ¹H-NMR spectrum and mass spectrum were in agreement with the structure of Ib-1.

[124] Alternatively compound Ib-1 can be synthesized by the HBTU mediated coupling acid 49 with amine 129, which is synthesized as follows:

WO 02/100852

PCT/US02/17952



- [125] *Nitropyrrole 128*. 1-methyl-2-trichloroacetyl-4-nitropyrrole 127 (135.2g, 0.498 mole) was added into the solution of 4-(2-aminoethyl)morpholine 126 (65g, 0.499 mole) in THF (600mL) in a 1L three-necked round-bottomed flask while stirring at room temperature. The reaction was exothermic, and the reaction temperature reached 50 °C in 3 min. The reaction was completed in 2 hr according to TLC [CH₂Cl₂:MeOH (v/v)=9:1]. The reaction mixture was concentrated in vacuo to remove THF and triturated with ether (300 mL). The resulting solid was filtered, washed with ether, and dried to afford nitropyrrole 128 as a light yellow solid (136 g, 0.482 mole, 96.5% yield).
- 10 [126] Crude nitropyrrole 128 (68 g) was dissolved in 400 ml dry EtOAc under reflux. The resulting solution was then cooled to 0 °C for 4h. After filtration and drying under high vacuum, pure nitropyrrole 128 (62 g, 88% yield) was obtained.
- [127] *Amine 129*. Pd/C (10%) (2.5 g) was added into a solution of nitropyrrole 128 (50g, 0.177 mole, recrystallized per above) in THF (500mL) in a 2L autoclave under N₂. The autoclave was then de-gassed under vacuum. H₂ was passed into the autoclave and the reaction proceeded at 125 psi at room temperature. After stirring for 2h, the reaction was completed according to TLC (Toluene:EtOAc=7:3 (v/v), R_f(NO₂Py1208) = 0.85). The reaction mixture was filtered through a Celite cake, diluted with anhydrous ether (2L). HCl (gas) was passed through the reaction mixture to precipitate out the amine 129 hydrochloride. Pure product (48 g, 0.166 mole, 94% yield) was obtained after filtration and washing with diethyl ether (3 x 50 mL) and drying under vacuum.
- 20 [128] *Compound Ib-1*. DIEA (46g, 0.36 mole) was added into a solution of acid 49 (68.4 g, 0.15 mole) and HBTU (64 g, 0.16 mole) in DMF (1000 mL) in a 2 L round bottom flask while stirring at room temperature. The reaction mixture was stirred at 45 °C for 30 min.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Then amine 128 hydrochloride (52 g, 0.18 mole, 1.2 eq) was added into the reaction mixture and stirred at 50 °C. After 15h, the reaction was completed according to TLC. The reaction mixture was cooled to room temperature and poured into 1.5 L ice water under vigorous stirring. The resulting precipitate was filtered, and recrystallization from MeOH gave compound Ib-1 (57 g, 0.082 mole, 55% yield).

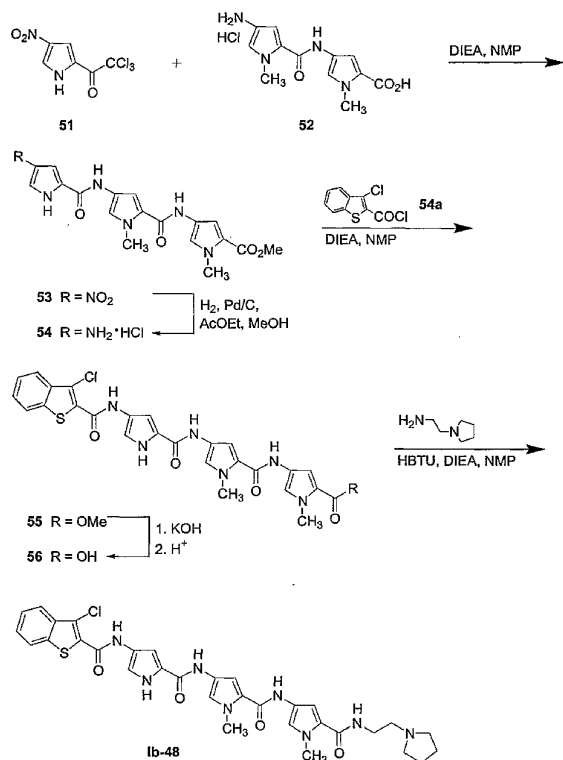
Example F

[129] This example illustrates the synthesis of compounds having an unsubstituted ("desmethyl") pyrrole carboxamide unit, such as compounds Ib-26, Ib-47 to Ib-49, and Ib-52. Scheme 4 summarizes the procedure with particular reference to compound Ib-48, it being understood that analogous compounds can be made, *mutatis mutandis*.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Scheme 5



[130] *Synthesis of the trimer 53.* A mixture of the ketone 51 (6.00 g, 1 equiv.) and the amine 52 (7.27 g, 1 equiv.) in NMP (50 mL) and DIEA (9.5 mL) was stirred for 2 h at RT and added dropwise to ice water (800 mL). The resulting solids were collected by filtration and dried *in vacuo* to give the trimer 53 (9.40 g, 97%). The ¹H-NMR spectrum was in agreement with the structure of 53.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

[131] *Synthesis of the trimeric amine 54.* A suspension of **53** (1.19 g, 1 equiv.) and 10% Pd-C (0.2 g) in AcOEt (30 mL) and MeOH (30 mL) was stirred at RT under H₂ atmosphere (100 psi) for 16 h. The mixture was filtered through Celite and evaporated. The residue was diluted with MeOH, treated with HCl (g) and diluted with Et₂O (ca. 200 mL). The resulting precipitates were collected by filtration and dried to give **54** (1.0 g, 83%). The ¹H-NMR spectrum was in agreement with the structure of **54**.

[132] *Synthesis of the tetramer 55.* A mixture of the amine **54** (2.90 g, 1.0 equiv.) and the acid chloride **54a** (1.75 g, 1.1 equiv.) in NMP (10 mL) and DIEA 3 mL was stirred for 2¹/₂ h at RT (exothermic) and added dropwise to ca. 10% K₂CO₃ in ice water (400 mL). The resulting solids were collected by filtration, dried and directly converted further to **56**.

[133] *Synthesis of the tetrameric acid 56.* The crude tetramer **55** was dissolved in EtOH (40 mL), treated with 1M aqueous KOH (40 mL), and stirred for 6 h at 60°C. The mixture was diluted with H₂O and washed with Et₂O (1x). The aqueous layer was acidified to pH ≈ 2 and the resulting precipitate collected by filtration and dried to give **56** (2.2 g, 57% over two steps). The ¹H-NMR spectrum was in agreement with the structure of **56**.

[134] *Synthesis of compound Ib-48.* A mixture of the tetramer **56** (80 mg, 1 equiv.) and HBTU (60 mg, 1.1 equiv.) in NMP (1 mL) and DIEA (0.1 mL) was stirred at 37°C for 30 min, treated with 1-(2-aminoethyl)pyrrolidine (ca. 0.1 mL) and stirred at 37°C for ca. 12 h. The crude product was diluted with 50% aqueous AcOH and washed with Et₂O (1x).

Preparative HPLC of the aqueous layer gave compound Ib-48. The ¹H-NMR spectrum and mass spectrum were in agreement with the structure of compound Ib-48.

Example G

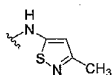
[135] Compounds in the series Id, having a hairpin turn, can be synthesized using solid phase techniques, in which a benzothiophene containing intermediate such as compound **37**, **47**, or **49** is coupled to a resin bound intermediate containing moieties M¹, M², and/or M³. Then, a desired amine is used to cleave the resin bound precursor off the resin. Dervan et al., US 6,090,947 (2000) and Baird et al., US Provisional Patent Appl'n No. 60/286,454, filed Apr. 26, 2001, the disclosures of which are incorporated by reference, disclose solid phase techniques that can be adapted to synthesize compounds of this invention, *mutatis mutandis*.

Example H

[136] Compounds in the series Ie also can be made by solid phase techniques, again adapting the techniques disclosed in the aforementioned Dervan '947 patent and Baird '454 application, *mutatis mutandis*.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Example I[137] Compounds in which $-Z(R^2)_n$ is

[138] such as compounds Ib-53 and Ib-54, are made by coupling commercially available 5-amino-3-methylisothiazole with the complementary carboxylic acid intermediate. The coupling preferably is effected with O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate ("HATU"), which produces a more activated ester than HBTU, compensating for the lesser reactivity of the aromatic amine group compared to an aliphatic amine group. Also, it may be desirable to run the coupling reaction at a more elevated temperature.

Example I**Preparation of substituted benzothiophene building blocks.**

a)

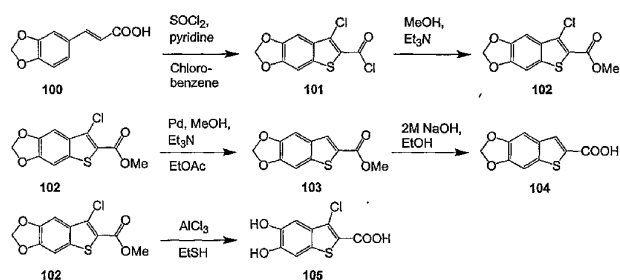
[139] *Preparation of 5,6-methylenedioxy and 5,6-dihydroxy benzothiophenes compounds.*

15 Treatment of 3,4-methylenedioxy cinnamic acid **100** with SOCl_2 gave the 3-chlorobenzothiophene **101**. This acid chloride was used for the preparation of compounds such as Ib-20d to Ib-20i, Ib-20l to Ib-20r, Ib-59 to Ib-71, Ib-73, and Ib-74, respectively (standard coupling of **101** to the corresponding intermediates bearing an amino group). Compound **101** was also converted to the carboxylic acid **104** (by hydrogenolytic
20 dechlorination followed by saponification) and to the dihydroxy derivative **105** (by Lewis-acid catalyzed deprotection). These carboxylate derivatives can be coupled to intermediates bearing an amino group using a standard amide bond formation protocol (HBTU or BOPCl activation or via the corresponding acid chloride); e.g., **104** was converted to its acid chloride (by refluxing in SOCl_2 for 5 min) and further converted to compounds Ib-20w and Ib-20i.
25 The experimental procedures for the preparation of these building blocks are described below.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Scheme 6



[140] Synthesis of acid chloride **101**. A mixture of the cinnamic acid **100** (15.58 g, 1.0 equiv.), SOCl_2 (30 ml, 5.0 equiv.) and pyridine (0.7 ml, 0.1 equiv.) in chlorobenzene (80 ml) was refluxed for 3 days under N_2 , cooled to RT and treated with AcOEt (30 ml). The resulting yellow solids collected by filtration, washed with cold AcOEt (2x, each 20 ml) and dried to give the acid chloride **101** (ca. 15 g, 67%). The $^1\text{H-NMR}$ spectrum of the crude product indicated that the material was pure enough for the next conversion.

[141] Synthesis of methyl ester **102**. A solution of the crude acid chloride **101** (ca. 15 g) in MeOH (150 ml) and Et_3N (10 ml) was refluxed for 30 min and cooled to 0°C . The resulting precipitate was collected by filtration and washed with H_2O (3x, each 30 ml), MeOH (2x, each 30 ml) and Et_2O (20 ml) and dried to give the methyl ester **102** quantitatively (95% purity according to $^1\text{H-NMR}$ spectrum).

[142] Dechlorination to ester **103**. A suspension of compound **102** (2.0 g) and Pd (black, 400 mg) in MeOH/EtOAc (2:1, 300 ml) and Et_3N (2 ml) was stirred at ca. 80°C for 3 days and filtered through *Celite*. Solvent evaporation gave compound **103** quantitatively, which was used without further purification.

[143] Synthesis of acid **104**. A mixture of the ester **103** (1.0 g) in EtOH (15 ml) and 2M aqueous NaOH (15 ml) was stirred at 60°C for 2 h and poured into acidic ice-water (400 ml, ca. 3M HCl). The resulting precipitate was collected by filtration, washed with H_2O and dried to give the carboxylic acid **104** as yellow solids (0.82 g, 87%). The product was characterized by $^1\text{H-NMR}$.

[144] Synthesis of acid **105**. A mixture of the ester **102** (1.50 g) and AlCl_3 (2.90 g, 4 equiv.) in EtSH (20 ml) was stirred at RT for 2 h, treated with 1M HCl ice water (100 mL) and

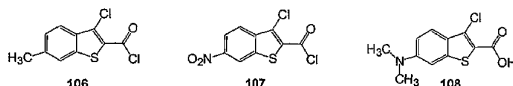
WO 02/100852

PCT/US02/17952

extracted with AcOEt (3x100 ml). The combined organic layers were washed with 1M aqueous HCl, H₂O and brine, dried over anhydrous Na₂SO₄ and evaporated to give compound **105** (1.2 g, 89%). The product was characterized by ¹H-NMR and used without further purification.

5 **Example K**

- [145] *Synthesis of other substituted benzothiophene compounds.* Apart from compound **101**, other benzothiophene-2-carboxylate derivatives bearing substituents at positions 4 to 7 can be conveniently prepared by treating the corresponding cinnamic acid derivative with thionyl chloride (synthetic procedure analogous to the preparation of **101**). The resulting acid chloride can be purified by crystallization. In some cases, conversion to the corresponding methyl ester followed by purification by flash chromatography may be preferred. The acid chlorides **106** and **107**, shown in the following Scheme, are specific examples of such benzothiophene building blocks. They have been used for the preparation of antibacterial molecules (e.g., **Ib-20c** from **106**, **Ib-20j** from **107**, standard amide bond formation protocol).
- 10 chloride can be purified by crystallization. In some cases, conversion to the corresponding methyl ester followed by purification by flash chromatography may be preferred. The acid chlorides **106** and **107**, shown in the following Scheme, are specific examples of such benzothiophene building blocks. They have been used for the preparation of antibacterial molecules (e.g., **Ib-20c** from **106**, **Ib-20j** from **107**, standard amide bond formation protocol).
- 15 The products of these cyclization reactions may be further derivatized; for instance, the nitro compound **107** was converted to the dimethylamine **108** by esterification, hydrogenation to the amine, dimethylation and saponification. **108** served as a building block for the preparation of **Ib-20k**.

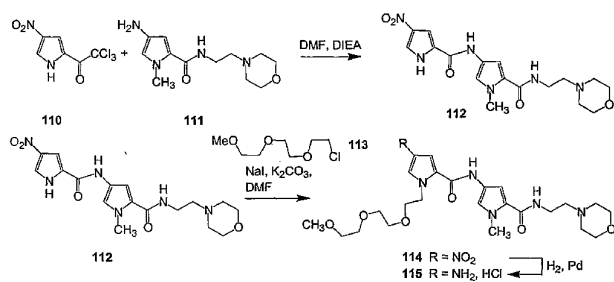


20 **Example L**

- [146] *Pegylated pyrrole building blocks.* A 4-nitro-pyrrole bearing a carboxylic ester or an amide function at position 2 can be alkylated at the ring nitrogen. The experimental details for the preparation of the pegylated pyrrole dimer **115** are described below. This dimer was used for the preparation of compound **Ib-61** (standard coupling of the acid chloride **101** and
- 25 **115**). Other nitro pyrroles, for instance the ethyl 4-nitro-pyrrole-2-carboxylate **1**, can be substituted (pegylated) analogously.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Scheme 7

[147] *Synthesis of nitro compound 112.* A mixture of the trichloroacetone 110 (11.32 g, 1.0 equiv.), the amine 111 (15.00 g, 1.0 equiv.) in DMF (80 ml) and DIEA (20 ml) was stirred at RT for 20 h and poured into H₂O (ca. 600 ml) and sat. aqueous K₂CO₃. The solution was extracted with AcOEt (6x) and the organic layers dried (MgSO₄) and evaporated to give 112 as yellow solids (structure confirmed by ¹H-NMR).

[148] *Synthesis of nitro compound 114.* A mixture of the dimer 112 (1.00 g, 1.0 equiv.), the chloride 113 (3.67 g, 2.5 equiv.), NaI (576 mg, 1.5 equiv.), and K₂CO₃ (884 mg, 2.5 equiv.) in DMF (ca. 30 ml) was stirred at 65°C for 48 h, diluted with AcOEt (150 ml), and washed with sat. aqueous K₂CO₃ and H₂O (2x). The combined organic layers were dried (MgSO₄) and evaporated. Flash chromatography of the resulting oil (CH₂Cl₂: 0 → 15% MeOH) gave 114 as a yellow solid (785 mg, 57%, structure confirmed by ¹H-NMR and MS).

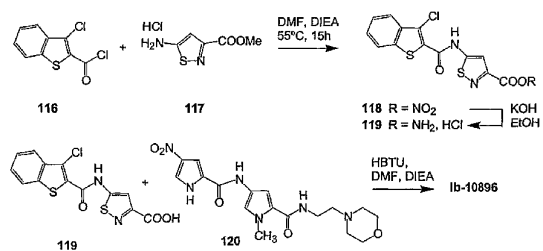
[149] *Synthesis of amine 115.* A suspension of 114 (780 mg) and 10% Pd-C (200 mg) in AcOEt (36 ml) and MeOH (4 ml) was stirred at RT under H₂ (1 atm) for 22 h and filtered through *Celite*. The filtrate was treated with HCl (g) for ca. 15 seconds and evaporated to give 115 as a tan solid (804 mg, structure confirmed by ¹H-NMR and MS).

Example M

[150] 3,5-disubstituted isothiazoles can be used as internal building blocks for antibacterial molecules as exemplified by compound **Ib-56** (shown in Scheme 8 below). Importantly, the free amino group of isothiazole derivatives such as 117 is rather unreactive; thus, amide bond formations at such sites were performed using more reactive activated carboxylic acids such as acid chlorides and/or elevated reaction temperatures and prolonged reaction times.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Scheme 8Example N

[151] *In vitro* biological activity data were collected for a variety of microorganisms, including *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Staphylococcus aureus* (ATCC 27660 (a

5 methicillin resistant strain (MRSA), ATCC 33591 and ATCC 43300); ATCC 13709, a methicillin sensitive strain (MSSA)); *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 51422, a penicillin resistant strain (PRSP)), *Enterococcus faecium* (ATCC 51559, a vancomycin resistant strain (VRE)), and *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 700586, a methycillin resistant strain (MRSE)). Additionally, antifungal activity data were collected for *Candida albicans* (ATCC

10 38247). Minimal inhibition concentrations (MIC's) were determined using the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) broth microdilution assay in microtiter plates, as set forth in: (1) the guidelines of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Document M7-A4 (NCCLS, 1997); (2) the guidelines of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Document M11-A4 (NCCLS,

15 1997); and (3) the guidelines and reference method of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Document M27-T (NCCLS, 1995). For antifungal essays, the method recommended in Murray, PR., *1995 Manual of Clinical Microbiology* (ASM Press, Washington, DC.), was employed. The results are presented in Table A below, which is keyed as follows:

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Organisms tested against:

- | | |
|---------------------------------------|-------------------------------------|
| A = <i>B. cereus</i> ATCC 11778 | B = <i>E. faecium</i> ATCC 51559 |
| C = <i>S. aureus</i> ATCC 13709 | D = <i>S. aureus</i> ATCC 27660 |
| E = <i>S. aureus</i> ATCC 33591 | F = <i>S. aureus</i> ATCC 43300 |
| G = <i>S. epidermidis</i> ATCC 700586 | H = <i>S. pneumoniae</i> ATCC 51422 |
- 5 Activity:
- | | |
|--|---------------------------|
| +++ = MIC \leq 4 | ++ = MIC between 4 and 12 |
| + = MIC from 12 to 32, inclusive | ND = Not determined |
| >32 = preliminary data indicates MIC greater than 32 | |

10

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Table A – Antibacterial activity								
Compound	Organism (Minimum Inhibitory Concentration (MIC), $\mu\text{g/mL}$)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ib-1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-2	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-3	+++	+++	ND	++	+++	++	+++	+++
Ib-4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-5	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-7	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-8	+	+++	++	++	+++	+++	+++	+++
Ib-9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-12	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-13	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-14	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-15	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-16	++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-17	+++	+	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-18	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-19	>32	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-20	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-20a	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-20b	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20c	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20d	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20e	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20f	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20g	+++	ND	+++	+++	+++	ND	+++	+++

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Table A -- (continued)								
Compound	Organism (Minimum Inhibitory Concentration (MIC), µg/mL)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ib-20h	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20i	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-20j	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20k	>32	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-20l	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20m	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20n	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20o	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20p	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20q	>32	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20r	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-20s	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20t	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20u	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20v	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20w	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-20x	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-21	>32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-22	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-23	++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-24	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-25	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ib-26	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++	+++
Ib-27	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Table A (continued)								
Compound	Organism (Minimum Inhibitory Concentration (MIC), $\mu\text{g/mL}$)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ib-28	+++	+	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-29	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-30	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-31	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-32	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-33	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-34	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-35	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-36	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-37	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-38	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ib-39	+++	+++	++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-40	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-41	+++	ND	+	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-42	+++	+++	+++	+++	++	ND	+	+++
Ib-43	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-44	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-45	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-46	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-47	+++	+	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-48	+++	++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-49	+++	ND	+++	++	ND	ND	ND	ND
Ib-50	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-51	+++	ND	+++	+++	ND	ND	ND	ND
Ib-52	+++	ND	+++	++	ND	ND	ND	ND

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Table A (continued)								
Compound	Organism (Minimum Inhibitory Concentration (MIC), $\mu\text{g/mL}$)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ib-53	++	ND	++	+	ND	ND	ND	ND
Ib-54	++	ND	+	+	ND	ND	ND	ND
Ib-55	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-56	>32	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-57	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-58	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-59	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-60	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-61	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-62	+	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-63	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-64	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-65	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-66	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-67	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-68	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-69	>32	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-70	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-71	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-72	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+
Ib-73	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Ib-74	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-75	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Table A (continued)								
Compound	Organism (Minimum Inhibitory Concentration (MIC), $\mu\text{g/mL}$)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Ib-76	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	ND
Ib-77	+++	+++	+++	+++	+++	ND	+++	+++
Ib-78	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND
Id-1	>32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Id-4	>32	ND	+	+	ND	ND	ND	ND
Ie-1	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ie-2	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ie-3	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ie-4	+++	ND	+++	+++	+++	ND	ND	ND

[152] The data of Table A shows that compounds of this invention are particularly active against Gram-positive bacteria.

- 5 [153] Additionally, some of the compounds of this invention possess anti-fungal activity, as evidenced by their activity against *Candida albicans* (ATCC 38247). The data is presented in Table B. (MIC values are keyed in the same manner as in Table 3.)

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Compound Ref.	(MIC), $\mu\text{g/mL}$
Ib-08	++
Ib-44	+++
Ib-45	+
Ib-47	+++
Ib-48	+++
Ib-50	++
Ib-51	+++
Ib-02	+++
Ib-27	+
Ib-13	++
Ib-29	+
Ib-32	+++
Ib-19	+
Ib-39	+
Ib-43	+

Example O

[154] This example demonstrates *in vivo* efficacy against infection by methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, using a murine neutropenic thigh model.

[155] A *S. aureus* ATCC 33591 culture was grown to log phase overnight and diluted in phosphate buffered saline (pH 7.2) to an optical density of about 0.1 at 600 nm, giving an approximate concentration of 10^8 cfu/mL. The suspension was diluted 1:100 in phosphate buffered saline (pH 7.2) for a final concentration of 10^6 cfu/mL.

[156] Outbred female CF1 mice (approx. 20 gram body weight) were rendered neutropenic by treatment with cyclophosphamide (200 mg/kg body weight, intraperitoneal injection) at 2 and 4 days prior to inoculation. Groups of 5 mice were inoculated with 0.05 mL of the bacteria (approx. 10^6 cfu/mL) into the anterior thigh. Each group was treated intravenously two hours post infection with vehicle (phosphate buffered saline) or test compound. The mice were sacrificed at either 6 or 24 hrs after treatment and thighs were collected aseptically. Each thigh was weighed, placed into sterile saline, and homogenized. The tissue homogenates were diluted appropriately for plating on agar plates. Colony counts were

WO 02/100852

PCT/US02/17952

recorded (cfu/gram) and compared to control groups. The data are presented in Table 4 below:

Compound No. (Time)	Dose (mg/kg)	Colony Count (log cfu/gram)	
		Compound	Vehicle
Ib-26 (6 hr)	80	6.17	7.83
Ib-47 (6 hr)	50	6.11	8.01
Ib-48 (6 hr)	50	4.74	8.01
Ib-50 (6 hr)	50	7.97	8.67
Ib-51 (6 hr)	50	7.04	8.27

- 5 [157] *In vivo* efficacy was shown by a decrease in colony count (log cfu/gram of tissue) in the compound-treated animals when compared against the colony count in animals given only the vehicle.

Example P

- 10 [158] This example illustrates the DNA binding properties of compounds of this invention using a DNase I footprinting technique. Generally, the procedure described in Dervan, WO 98/50582 (1998), was followed.

[159] Double stranded circular plasmids A and B were used to prepare double stranded DNA-binding probes containing the target sequences for the DNase I footprint titration experiments.

- 15 [160] Plasmid A was prepared by hybridizing two sets of 5'-phosphorylated complementary oligonucleotides, the first set being

5' -CTAGATGCCGCTAAGTACTATGCCGCTAACTACTATGCCGCTAAT
TACTATGCCGC - 3'

and

- 20 5' -CATAGTAAITAGCGGCATAGTAGTTAGCGGCATAGTACTTAGCGGCAT - 3' ;
and the second set being

5' -TAAATACTATGCCGCTAACTAGTATGCCGCTATGCA - 3'

and

5' -TAGCGGCATACTAGTTAGCGGCATAGTATTTAGCGG - 3' ,

- 25 [161] and ligating the resulting duplexes to the large pUC19 XbaI/PstI restriction fragment.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

- [162] Plasmid B was the plasmid pTrec99a, obtained from Amersham Pharmacia Biotech, Inc.
- [163] The 3'-P32 end-labeled EcoRI/PvuII fragments from each plasmid were prepared by digesting the plasmids with EcoRI and PvuII with simultaneous fill-in using Sequenase v. 2.0, [alpha-P32]-deoxyadenosine-5'-triphosphate, and [alpha-P32]-thymidine-5'-triphosphate, and isolating the cloned fragments by nondenaturing gel electrophoresis. A and G sequencing reactions were carried out as described (See Maxam and Gilbert, *Methods Enzymol.*, 1980, 65, 499-560; Iverson and Dervan, *Methods Enzymol.*, 1987, 15, 7823-7830; Sambrook et al., 1989, *Molecular Cloning*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY.) Standard methods were used for all DNA manipulations (Sambrook et al., *ibid.*)
- [164] The 310 base pair dsDNA restriction fragment (SEQ ID NO. I) of Plasmid A contained a target sequences ACTACT. The 352 base pair dsDNA restriction fragment (SEQ ID NO. II) of Plasmid B contained target sequences GACAATTAATCA and AATAATCAT. These fragments were used for quantitative DNase I footprinting experiments. The target sequences were selected for their identity with, or similarity to, promoter sites for bacterial genes.
- [165] Quantitative DNase I footprint titration experiments were carried out as described previously (Dervan, WO 98/50582, 1998) with the following changes. All reactions were carried out in a total volume of 400 μ L, with compound stock solution or water added to 15,000 cpm radiolabeled restriction fragment affording final solution conditions of 10 mM TrisHCl, 10 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 5 mM CaCl₂, pH 7.0 and 0.01 nM, 0.1 nM, 1.0 nM, 10.0 nM compound or no compound for reference lanes. The compounds were allowed to equilibrate at 22°C for 16 h. Footprinting reactions were initiated with addition of 10 μ L of a DNase I stock solution (at the appropriate concentration to give ~50% intact DNA) containing 1 mM DTT and allowed to proceed for 7 min at 22°C. The reactions were stopped, ethanol precipitated, resuspended in loading buffer, heat denatured, and placed on ice as described previously (Dervan WO 98/50582, 1998). The reaction products were separated on a precast 8% polyacrylamide denaturing sequencing Castaway gel with 32 preformed wells from Stratagene in 1X TBE at 2000 V. Gels were dried according to the manufacturer and exposed to a storage phosphor screen (Molecular Dynamics). Quantitation and data analysis were carried out as described in Dervan, WO 98/50582, 1998.
- [166] dsDNA binding results are provided in Table D:

WO 02/100852

PCT/US02/17952

Compound	Target Sequence	Dissociation Constant K _d (nM)	Target Location (Fragment/Plasmid).
Ib-1	AATTAATCAT	0.2	352 bp/B
Ib-26	GACAATTAATCA	0.1	352 bp/B
Ib-32	AATACT	50	310 bp/A
Ib-32	AATTAATCAT	10	352 bp/B
Ic-3	ATACT	50	310 bp/A
Ic-3	AATTAATCAT	5	352 bp/B

[167] The foregoing detailed description of the invention includes passages that are chiefly or exclusively concerned with particular parts or aspects of the invention. It is to be understood that this is for clarity and convenience, that a particular feature may be relevant in more than just the passage in which it is disclosed, and that the disclosure herein includes all the appropriate combinations of information found in the different passages. Similarly, although the various figures and descriptions herein relate to specific embodiments of the invention, it is to be understood that where a specific feature is disclosed in the context of a particular figure or embodiment, such feature can also be used, to the extent appropriate, in the context of another figure or embodiment, in combination with another feature, or in the invention in general.

[168] Further, while the present invention has been particularly described in terms of certain preferred embodiments, the invention is not limited to such preferred embodiments. Rather, the scope of the invention is defined by the appended claims.

WO 02/100852

PCT/US02/17952

SEQUENCE ID'S

SEQ ID NO. I (310 bp EdoRI/PvuII restriction fragment from Plasmid A; only one strand shown)

5 AATTCGAGCTCGGTACCCGGGGATCCTCTAGATGCCGCTAAGTACTATGCCGCTAACTACTA
TGCCGCTAATTACTATGCGGCTAAATACTATGCCGCTAACTAGTATGCCGCTATGCAGGCAT
GCAAGCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTCCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAAT
TCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCT
AACTCACATTAATTGCGTTCGCTCACTGCCCGCTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAG

10

SEQ ID NO. II (352 bp EdoRI/PvuII restriction fragment from Plasmid B; only one strand shown)

CTGGCAGCAGGTTTCCCGACTGGAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTT
AGCGCGAATTGATCTGGTTTGACAGCTTATCATCGACTGCACGGTGCACCAATGCTTCTGGC
15 GTCAGGCAGCCATCGGAAGCTGTGGTATGGCTGTGCAGGTCGTAATCACTGCATAAATTCGT
GTCGCTCAAGGCGCACTCCCGTTCTGGATAATGTTTTTGGCGCGACATCATAACGGTTCTG
GCAAAATATTCTGAAATGAGCTGTGACAATTAATCATCCGGCTCGTATAATGTGTGGAATTG
TGAGCGGATAACAATTTCAACAGGAAACAGACCATGGAATT

20

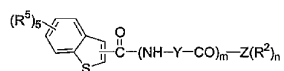
WO 02/100852

PCT/US02/17952

WHAT IS CLAIMED IS:

1 1. A compound of the formula

2



3

4

5 or the pharmaceutically acceptable salts thereof,

6

7 wherein

8

9 each R^5 is independently H, F, Cl, Br, I, CN, OH, NH_2 , a substituted or

10

11 unsubstituted (C_1 - C_{12})alkyl group, a substituted or unsubstituted (C_1 - C_{12})alkoxy group, or a

12

13 substituted or unsubstituted (C_1 - C_{12})heteroalkyl group;

14

15 m is an integer from 1 to 25, inclusive;

16

17 each Y is independently a branched or unbranched, substituted or

18

19 unsubstituted (C_1 - C_3)alkylene group or a substituted or unsubstituted, aromatic or

20

21 heteroaromatic ring system, wherein the ring system comprises a 5- or 6-member aromatic or

22

23 heteroaromatic ring or fused 6,6 or 6,5 aromatic or heteroaromatic rings, with the proviso that

24

25 at least one Y is a substituted or unsubstituted aromatic or heteroaromatic ring system;

26

27 Z is either O or N;

28

29 n is 1 if Z is O and 2 if Z is N; and

30

31 each R^2 is independently H, a substituted or unsubstituted (C_1 - C_{12})alkyl group,

32

33 or a substituted or unsubstituted (C_1 - C_{12})heteroalkyl group.

1

2 2. A compound according to claim 1, having a basic group having a pK_b

3

4 of 12 or less or a quaternized nitrogen group.

1

2 3. A compound according to claim 2, wherein the residue $Z(R^2)_n$ contains

3

4 a basic group having a pK_b of 12 or less or a quaternized nitrogen group.

1

2 4. A compound according to claim 1, wherein at least one Y is a 5- or

3

4 6-member heteroaromatic ring.

1

2 5. A compound according to claim 1, wherein the residue

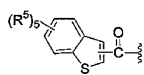
3

4

WO 02/100852

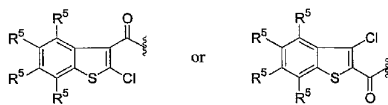
PCT/US02/17952

3
4
5



is

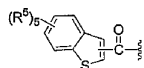
6
7



1
1
2

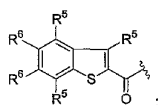
- 6. A compound according to claim 5, wherein each R^5 is H.
- 7. A compound according to claim 1, wherein the residue

3
4
5
6



is

7
8

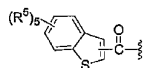


- 9 wherein the two R^6 's are both OH or OCH_3 or combine to form
- 10 $O-(CH(R^7))_t-O$, where t is 1 or 2 and each R^7 is independently H or a C_1-C_6 alkyl, alkenyl,
- 11 alkynyl, or acyl group.

1
2

- 8. A compound according to claim 1, wherein the residue

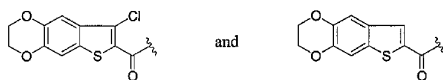
3
4



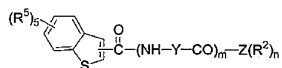
is selected from the group consisting of

WO 02/100852

PCT/US02/17952



9. A compound of the formula



or the pharmaceutically acceptable salts thereof,

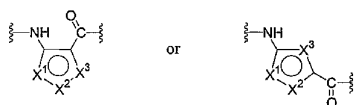
wherein

m is an integer from 1 to 25, inclusive;

each moiety $-(NH-Y-CO)_m-$ is independently selected from the group

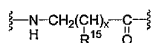
consisting of

(a) moieties M^1 of the formula



wherein one of X^1 , X^2 , and X^3 is a ring vertex selected from the group consisting of $-O-$, $-S-$, and $-NR^2-$, and the other two of X^1 , X^2 , and X^3 are ring vertices selected from the group consisting of $=N-$ and $=CR^1-$;

(b) moieties M^2 of the formula



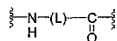
wherein x is 0 or 1 and each R^{15} is independently H, OH, NH_2 , or F;

WO 02/100852

PCT/US02/17952

21 (c) moieties M^3 of the formula

22



23

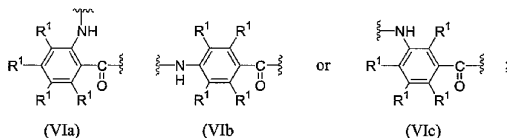
24

25 wherein each L is independently a divalent moiety separating ---NH- and

26 ---(C=O)- by 3 or 4 atoms; and

27 (d) moieties M^4 of the formula

28



29

30

31 with the proviso that at least one moiety ---(NH-Y-CO)- is a moiety M^1 or M^4 ;

32 Z is O or N;

33 n is 1 if Z is O and 2 if Z is N;

34 wherein in the preceding formulae

35 each R^1 is independently H, F, Cl, Br, I, CN, OH, NO_2 , NH_2 , a substituted or

36 unsubstituted $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_{12})$ alkyl group, a substituted or unsubstituted $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_{12})$ alkoxy group, or a

37 substituted or unsubstituted $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_{12})$ heteroalkyl group;

38 each R^2 is independently H, a substituted or unsubstituted $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_{12})$ alkyl group,

39 or a substituted or unsubstituted $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_{12})$ heteroalkyl group; and

40 each R^5 is independently H, F, Cl, Br, I, CN, OH, NH_2 , a substituted or

41 unsubstituted $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_{12})$ alkyl group, or a substituted or unsubstituted $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_{12})$ heteroalkyl

42 group;

43 said compound having a basic group having a pK_b of 12 or less or a

44 quaternized nitrogen group.

1 10. A compound according to claim 9, wherein the residue $Z(\text{R}^2)_n$ contains

2 a basic group having a pK_b of 12 or less or a quaternized group.

1 11. A compound according to claim 9, wherein at least one moiety ---

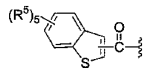
2 (NH-Y-CO)- is a moiety M^1 .

WO 02/100852

PCT/US02/17952

1 12. A compound according to claim 11, wherein a moiety M^1 has a basic
2 group having a pK_b of 12 or less or a quaternized nitrogen group.

1 13. A compound according to claim 9, wherein the residue
2



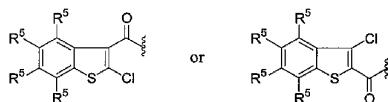
3

4

5

is

6

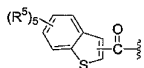


7

8

1 14. A compound according to claim 13, wherein each R^5 is H.

1 15. A compound according to claim 9, wherein the residue
2



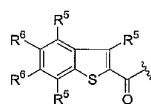
3

4

5

is

6



7

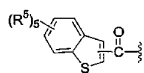
8

9 wherein the two R^6 's are both OH or OCH_3 or combine to form
10 $O-(CH(R^7))_t-O$, where t is 1 or 2 and each R^7 is independently H or a C_1-C_6 alkyl, alkenyl,
alkynyl, or acyl group.

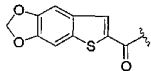
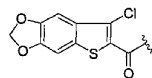
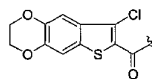
1 16. A compound according to claim 9, wherein the residue

WO 02/100852

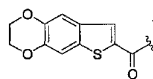
PCT/US02/17952

2
3
4
5

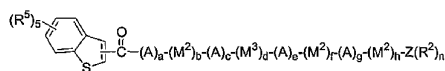
is selected from the group consisting of

6
7

and

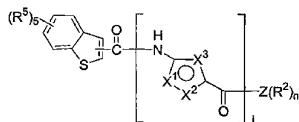
8
9

17. A compound according to claim 9, of the formula

1
23
4

5 wherein M^2 , M^3 , R^2 , R^5 , Z and n have the meanings assigned in claim 5; each
6 A is independently M^1 or M^4 ; each of a , c , e , g and h is an integer independently from 0 to 5,
7 inclusive; and each of b , d , and f is independently 0 or 1, with the sum of a , c , e and g being
8 at least 2.

18. A compound according to claim 9, of the formula

1
23
4

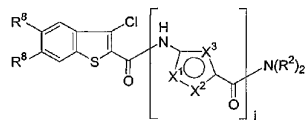
WO 02/100852

PCT/US02/17952

5 wherein X^1 , X^2 , X^3 , R^2 , R^5 , Z , and n have the meanings assigned in claim 5
 6 and i is an integer from 2 to 4, inclusive.

1 19. A compound according to claim 18, of the formula

2



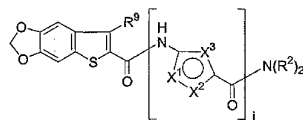
3

4

5 wherein one R^8 is H and the other R^8 is H, F, CH_3 , NO_2 , or $N(CH_3)_2$.

1 20. A compound according to claim 18, of the formula

2



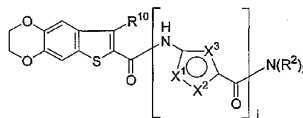
3

4

5 wherein R^9 is H or Cl.

1 21. A compound according to claim 18, of the formula

2



3

4

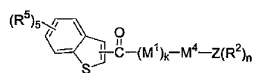
5 wherein R^{10} is Cl or H.

1 22. A compound according to claim 9, of the formula

2

WO 02/100852

PCT/US02/17952



3

4

5

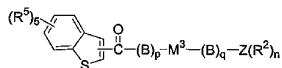
6

wherein M^1 , M^4 , R^2 , R^5 , Z and n are as assigned in claim 5 and k is an integer from 0 to 2, inclusive.

1

23. A compound according to claim 9, of the formula

2



3

4

5

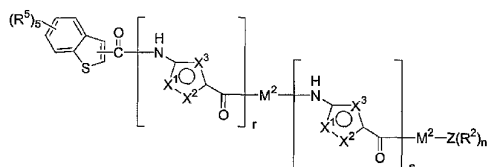
6

wherein M^2 , R^2 , R^5 , Z and n have the meanings assigned in claim 5; each B is independently M^1 or M^2 ; and p and q are independently integers from 1 to 7, inclusive.

1

24. A compound according to claim 9, of the formula

2



3

4

5

6

wherein X^1 , X^2 , X^3 , M^2 , R^2 , R^5 , Z , and n have the meanings assigned in claim 5 and each of r and s is independently 1 or 2.

1

25. A method of treating a bacterial infection in a mammal, comprising administering to a patient in need of such treatment an effective amount of a compound according to claim 1.

1

26. A method according to claim 25, wherein the bacterial infection is an infection by Gram-positive bacteria.

2

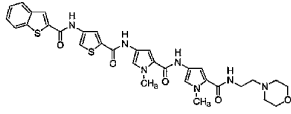
WO 02/100852

PCT/US02/17952

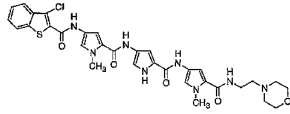
- 1 27. A method according to claim 25, wherein the bacterial infection is an
2 infection by drug resistant bacteria.
- 1 28. A method according to claim 27, wherein the drug resistant bacteria is
2 MRSA, MRSE, PRSP, or VSE.
- 1 29. A method of treating a bacterial infection in a mammal, comprising
2 administering to a patient in need of such treatment an effective amount of a compound
3 according to claim 9.
- 1 30. A method according to claim 29, wherein the bacterial infection is an
2 infection by Gram-positive bacteria.
- 1 31. A method according to claim 29, wherein the bacterial infection is an
2 infection by drug resistant bacteria.
- 1 32. A method according to claim 29, wherein the drug resistant bacteria is
2 MRSA, MRSE, PRSP, or VSE.
- 1 33. The use of a compound in accordance with claim 1 for the preparation
2 of a medicament for the treatment of a bacterial infection in a mammal.
- 1 34. The use of a compound in accordance with claim 9 for the preparation
2 of a medicament for the treatment of a bacterial infection in a mammal.

Fig. 1

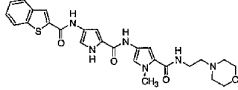
(Ib-21)



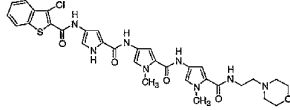
(Ib-25)



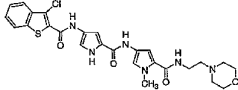
(Ib-22)



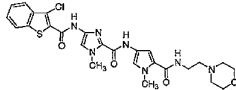
(Ib-26)



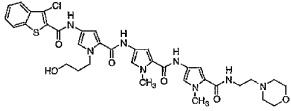
(Ib-23)



(Ib-27)



(Ib-24)



(Ib-28)

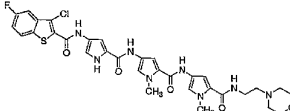
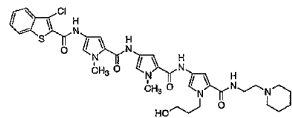
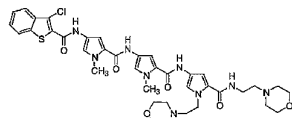


Fig. 2

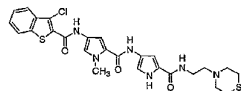
(Ib-29)



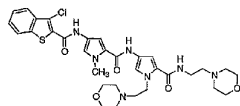
(Ib-33)



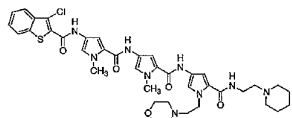
(Ib-30)



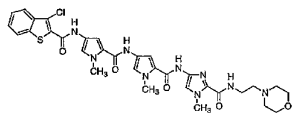
(Ib-34)



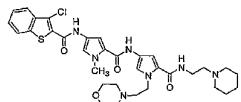
(Ib-31)



(Ib-35)



(Ib-32)



(Ib-36)

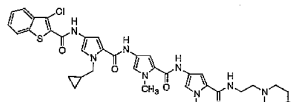
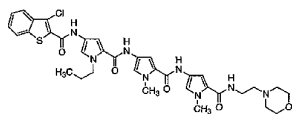
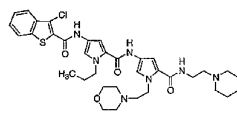


Fig. 3

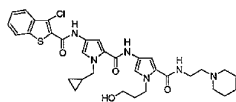
(Ib-37)



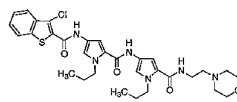
(Ib-41)



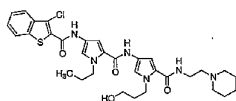
(Ib-38)



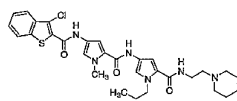
(Ib-42)



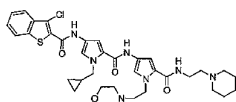
(Ib-39)



(Ib-43)



(Ib-40)



(Ib-44)

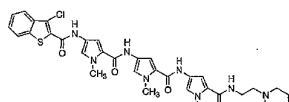
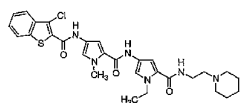
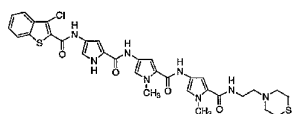


Fig. 4

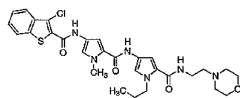
(Ib-45)



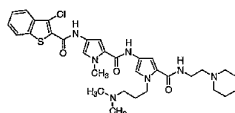
(Ib-49)



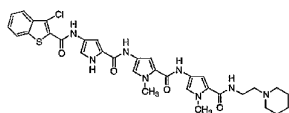
(Ib-46)



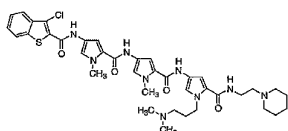
(Ib-50)



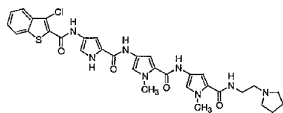
(Ib-47)



(Ib-51)



(Ib-48)



(Ib-52)

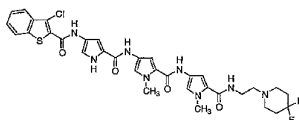
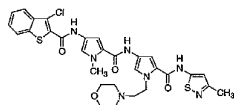
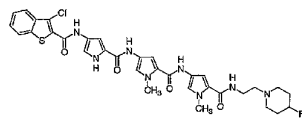


Fig. 5

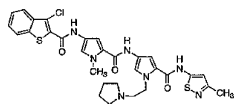
(Ib-53)



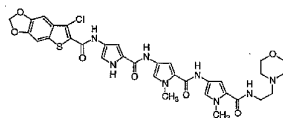
(Ib-58)



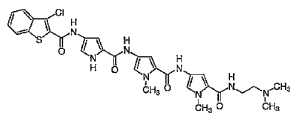
(Ib-54)



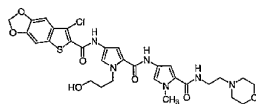
(Ib-59)



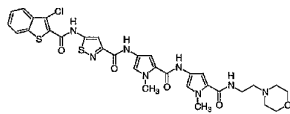
(Ib-55)



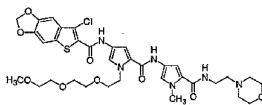
(Ib-60)



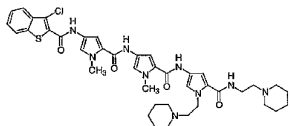
(Ib-56)



(Ib-61)



(Ib-57)



(Ib-62)

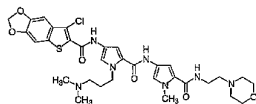
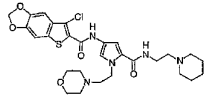
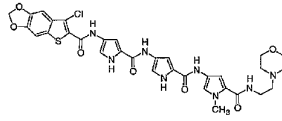


Fig. 6

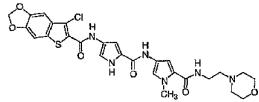
(Ib-63)



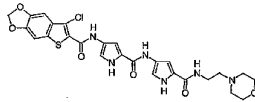
(Ib-68)



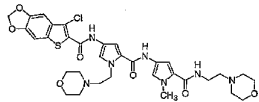
(Ib-64)



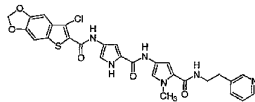
(Ib-69)



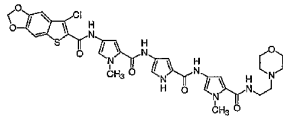
(Ib-65)



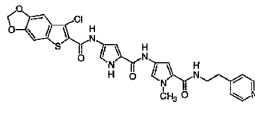
(Ib-70)



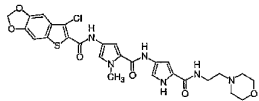
(Ib-66)



(Ib-71)



(Ib-67)



(Ib-72)

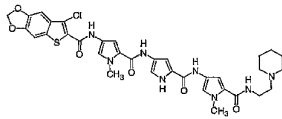
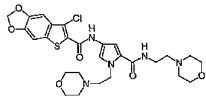
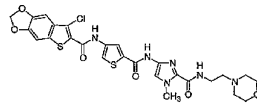


Fig. 7

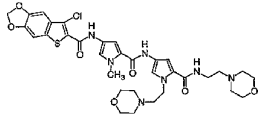
(Ib-73)



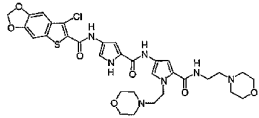
(Ib-78)



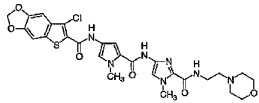
(Ib-74)



(Ib-75)



(Ib-76)



(Ib-77)

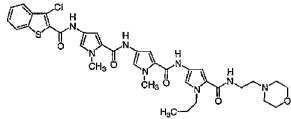
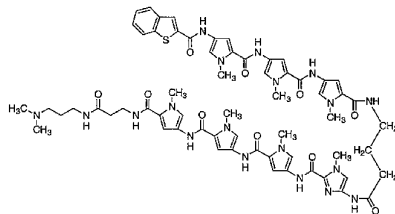
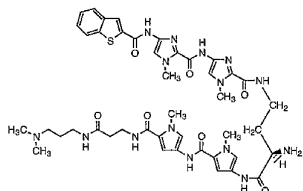


Fig. 8

(Id-1)



(Id-2)



(Id-3)

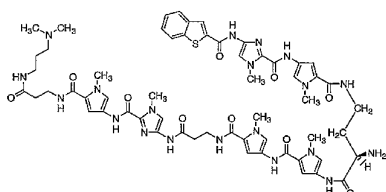
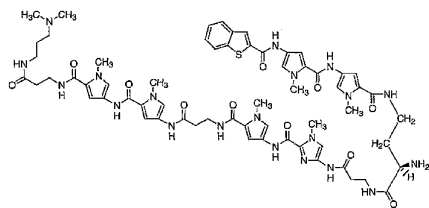


Fig. 9

(Id-4)



(Id-5)

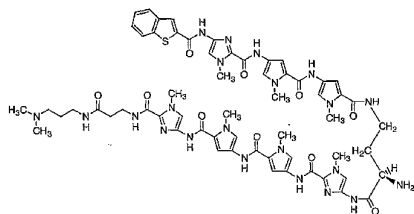
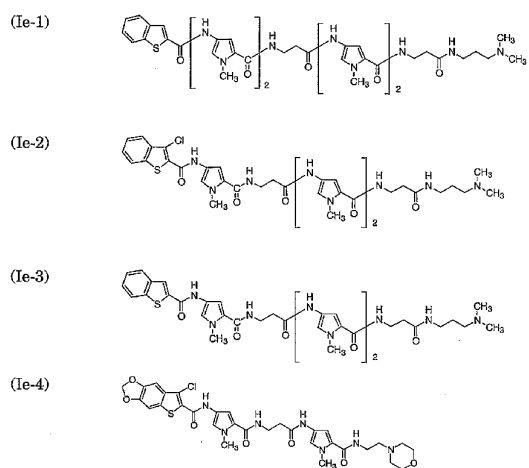



Fig. 10

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/17952
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : C07D 339/56, 405/00, 413/00; A61K 31/385, 31/40, 31/635 US CL : 540/57, 548/525; 544/141, 145; 514/448, 422, 233.5 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) U.S. : 540/57, 548/525; 544/141, 145; 514/448, 422, 233.5 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) CAS ON LINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, A	US 4,800,211 A (TISCHLER et al) 24 January 1989, cols. 2-4.	1-24
X, A	US 5,350,748 A (BOSCHELLI et al) 27 September 1994, cols. 3-4.	1-24
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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	"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	"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
"E" earlier document published on or after the international filing date	"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	
"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)	"S" document member of the same patent family	
"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		
Date of the actual completion of the international search 16 AUGUST 2002	Date of mailing of the international search report 18 SEP 2002	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 505-3230	Authorized officer DEBORAH LAMBKIN  Telephone No. (703) 908-1235	

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/541	A 6 1 K 31/541	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/04	
C 0 7 D 417/14	C 0 7 D 417/14	
C 0 7 D 495/04	C 0 7 D 495/04	1 0 1

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

- (72) 発明者 ブルリ ローランド ダブリュ.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サン フランシスコ アパートメント 11 20 ストリート 3700
- (72) 発明者 バード エルドン イー.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ハーフ ムーン ベイ パルデス アベニュー 229
- (72) 発明者 テイラー マシュー ジェイ.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サン フランシスコ カルデナス アベニュー 310
- (72) 発明者 カイザーマン ジェイコブ エイ.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス サン フランシスコ ショアライン コート 7300
- (72) 発明者 フー ウェンハオ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サン マテオ マリーナ コート 1731 エイ

F ターム(参考) 4C063 AA03 AA05 BB09 CC94 DD04 EE01
 4C071 AA01 AA08 BB01 BB05 CC12 CC21 EE13 FF14 HH28 JJ05
 JJ08 KK14 LL01
 4C086 AA01 AA02 AA03 BC05 BC07 BC17 BC21 BC73 BC88 CA05
 GA04 GA07 GA08 GA09 GA10 GA12 MA01 MA04 NA14 ZB35