

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4927306号
(P4927306)

(45) 発行日 平成24年5月9日(2012.5.9)

(24) 登録日 平成24年2月17日(2012.2.17)

(51) Int.Cl.

F 1

C07D 409/12	(2006.01)	C 07 D 409/12
A61K 31/4535	(2006.01)	A 61 K 31/4535
A61P 1/04	(2006.01)	A 61 P 1/04
A61P 9/00	(2006.01)	A 61 P 9/00
A61P 11/06	(2006.01)	A 61 P 11/06

請求項の数 10 (全 38 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-532439 (P2002-532439)
 (86) (22) 出願日 平成13年9月27日 (2001.9.27)
 (65) 公表番号 特表2004-510772 (P2004-510772A)
 (43) 公表日 平成16年4月8日 (2004.4.8)
 (86) 國際出願番号 PCT/IB2001/001771
 (87) 國際公開番号 WO2002/028856
 (87) 國際公開日 平成14年4月11日 (2002.4.11)
 審査請求日 平成20年9月26日 (2008.9.26)
 (31) 優先権主張番号 00810886.2
 (32) 優先日 平成12年9月27日 (2000.9.27)
 (33) 優先権主張国 歐州特許庁(EP)

(73) 特許権者 309025524
 メルク セローノ ソシエテ アノニム
 スイス国, ボー, 1267 クワンサン,
 サントル アンデュストリエル
 (74) 代理人 100099759
 弁理士 青木 篤
 (74) 代理人 100077517
 弁理士 石田 敏
 (74) 代理人 100087871
 弁理士 福本 積
 (74) 代理人 100087413
 弁理士 古賀 哲次
 (74) 代理人 100111903
 弁理士 永坂 友康

最終頁に続く

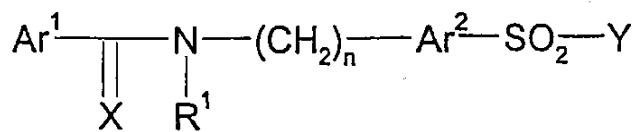
(54) 【発明の名称】タンパク質 Jun-キナーゼのインヒビターとしての医薬的活性親水性スルホンアミド誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記式 I :

【化 1】



I

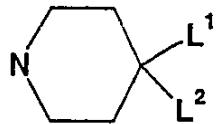
10

[式中、 Ar^1 は、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ -アルコキシにより置換されていてもよいフェニル基であり； Ar^2 は、チエニル基であって、当該チエニル基は、カルボキシル基、カルボキシレート、カルボキサミド、OH、OHを担持するアルキル基及びヒドラジドカルボニル基から選択される少なくとも1つの基により置換されており；

 X は、O又はSであり； R^1 は、水素又は $\text{C}_1\text{-C}_6$ -アルキル基であり； n は、0~5の整数であり； Y は、下記一般式：

20

【化2】



(式中、L²はHであり、L¹は-NHR³であり、ここでR³は、C₁-C₁₂-アルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールC₁-C₆-アルキル、ヘテロアリール-C₁-C₆-アルキルから成る群から選択された置換基であり；前記アリール又はヘテロアリール基は、ハロゲン、ヒドロキシ、ニトロ、スルホニルにより任意に置換されていてもよい）で表される環状アミンである]

10

で表される親水性スルホンアミド誘導体、光学的活性形若しくはラセミ体の形での幾何学的異性体、又は医薬的に許容できるそれらの塩。

【請求項2】

前記光学活性形が鏡像異性体又はジアステレオマーである、請求項1に記載のスルホンアミド誘導体。

【請求項3】

20

下記群：

5 - { [(3 - メトキシベンゾイル) アミノ] メチル } - 2 - [(4 - { 3 - [(トリフルオロメチル) スルホニル] - アニリノ } ピペリジン - 1 - イル) スルホニル] チオフェン - 3 - カルボン酸；

5 - { [(3 - メトキシベンゾイル) アミノ] メチル } - 2 - { [4 - (オクチルアミノ) ピペリジン - 1 - イル] スルホニル } チオフェン - 3 - カルボン酸；

N - (2 - ヒドロキシエチル) - 5 - { [(3 - メトキシベンゾイル) アミノ] メチル } - 2 - [(4 - { 3 - [(トリフルオロメチル) スルホニル] アミノ } ピペリジン - 1 - イル) スルホニル] チオフェン - 3 - カルボキサミド；

N - ({ 4 - (ヒドロジノカルボニル) - 5 - [(4 - { 3 - [(トリフルオロメチル) スルホニル] アニリノ } - ピペリジン - 1 - イル) スルホニル] チエン - 2 - イル } メチル) - 3 - メトキシベンズアミド；

5 - { [(3 - メトキシベンゾイル) アミノ] メチル } - 2 - [(4 - { 3 - [(トリフルオロメチル) スルホニル] - アニリノ } ピペリジン - 1 - イル) スルホニル] チオフェン - 3 - カルボキサミド；

N - [2 - (ジメチルアミノ) エチル] - 5 - { [(3 - メトキシベンゾイル) アミノ] メチル } - 2 - [(4 - { 3 - [(トリフルオロメチル) スルホニル] アニリノ } ピペリジン - 1 - イル) スルホニル] チオフェン - 3 - カルボキサミド；

N - ({ 4 - (ヒドロキシメチル) - 5 - [(4 - { 3 - [(トリフルオロメチル) スルホニル] アニリノ } ピペリジン - 1 - イル) スルホニル] チエン - 2 - イル } メチル) - 3 - メトキシベンズアミドから選択される請求項1又は2に記載のスルホンアミド誘導体。

30

【請求項4】

薬剤として使用される請求項1～3のいずれか1項に記載のスルホンアミド誘導体。

【請求項5】

癲癇、アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病、網膜疾患、脊髄損傷、多発性硬化症、頭の外傷及び虚血から選択されたニュウロン疾患、炎症性腸疾患（IBD）、リウマチ様関節炎、ぜん息、敗血性ショック、移植性拒絶から選択された自己免疫疾患、乳-、結腸直腸-、膵臓、卵巣、前立腺、精巣、肝臓、腎臓、肺癌から選択された癌、発作、動脈硬化、心筋梗塞、心筋再灌流損傷を包含する心血管疾患、及び心臓、腎性、腎臓

40

50

及び脳再灌流損傷、腎不全を包含する虚血性状態の処理のための薬剤の調製のためへの請求項1～3のいずれか1項に記載のスルホンアミド誘導体の使用。

【請求項6】

JNK (Jun - キナーゼ) 経路の調節のためへの請求項5に記載のスルホンアミド誘導体の使用。

【請求項7】

JNKの異常発現又は活性に関連する障害の処理の又は予防のためへの請求項6に記載の使用。

【請求項8】

JNK2及び/又はJNK3の異常発現又は活性に関連する障害の処理又は予防のためへの請求項7に記載の使用。

10

【請求項9】

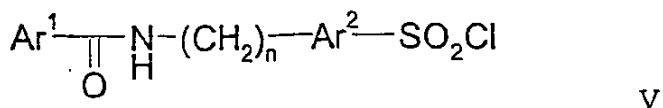
請求項1～3のいずれか1項に記載の少なくとも1つのスルホンアミド誘導体、及び医薬的に許容できるそのキャリヤー、稀釀剤又は賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項10】

請求項1～3のいずれか1項に記載のスルホンアミド誘導体の製造方法であって、下記式V：

【化3】

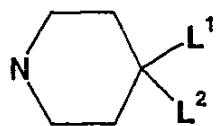
20



で表される塩化スルホニルを、下記式：

【化4】

30



[式中、L¹及びL²は上記で定義された通りである]で表されるアミンと反応せしめる方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の分野：

本発明は、実質的に親水性のスルホンアミド誘導体、又は実質的に親水性の成分を有するスルホンアミド誘導体に関する。前記スルホンアミド誘導体は、医薬的に活性の化合物としての使用のために注目に値する。また、本発明は、そのようなスルホンアミド誘導体を含む医薬製剤にも関する。特に、本発明は、免疫系及びニューロン系の疾病的処理及び/又は予防において有用であるスルホンアミド誘導体に関する。特に、本発明のスルホンアミド誘導体は、それぞれJNK (Jun - キナーゼ) 機能又は経路の実質的な調節、特に阻害活性を示す。

40

【0002】

発明の背景：

アポプトシスは、細胞がプログラムされた細胞死の工程を受ける場合、細胞の膜及びオルガネラの複雑なゆがみを示す。前記工程の間、細胞は固有の自殺プログラムを活性化し、

50

そして組織的にそれ自体を破壊する。次の連続の現像が観察され得る：

- ・細胞表面はプレブを形成し始め、そして前食作用シグナルを発現する。次に、完全なアポプトシス細胞は、急速且つ巧妙に食作用により処理される膜結合された小胞に断片化し、その結果、周囲組織に対して最少の損傷が存在する。
- ・次に、細胞はその隣接部分から分離する。

【0003】

核はまた、それが遺伝子自殺をする場合、形態学的变化の特徴的パターンを受け、クロマチンが濃縮し、そして特に、DNAフラグメントに切断される。

ニューロン細胞の死は、神経系が正常に成長することを確保することにおいて重要な役割を演じる。成長するニューロンの死は、それらが刺激する細胞のサイズに依存すると思われ、すなわち少数のシナプスパートナーを有する細胞は、多数のシナプスを形成したそれらの細胞よりもたぶん、より死亡する。これは、成長する神経系において前 - 又は後シナプスニューロンの相対的数を平衡化する工程に影響を与えることができる。ニューロン細胞死はアポプトシスであると思われるが、成長する齧歯動物の脳におけるニューロンは決定的には、形態学及びDNAフラグメント化により分類されるように、アポプトシスを受けることがつい最近、示されている。成長の間の細胞死は明らかに、病理学的工程ではないので、細胞は実際、存在するのを終えると思われる。

【0004】

ニューロンの死は、外傷性神経損傷に続いて、又は神経変性疾病的間、アポプトシス又は壊死工程のいずれかにより生じる。複数の成分が、ニューロンのプログラムされた細胞死の駆動において役割を有するキープレイヤーとして出現する。中でも、ニューロンアポプトシスを導く成分は、MAPキナーゼ (MAPK) のサブファミリーであるSAPK/JNKのメンバーである。

【0005】

哺乳類細胞は、種々のミトゲン - 活性化されたタンパク質キナーゼ (MAPK) により介在されるシグナル化カスケードを活性化することによって、いくらかの細胞外刺激に対して応答する。上流の刺激に対するそれらの応答における差異にもかかわらず、MAPキナーゼキナーゼキナーゼ (MAPKKK又はMEKK) 、MAPキナーゼキナーゼ (MAPKK又はMKK) 及びMAPキナーゼ (MAPK) から成るMAPキナーゼカスケードが類似する態様で組織化される。MAPキナーゼは、“ストレス - 活性化されたタンパク質キナーゼ” (SAPK) としても知られているc-Jun N - 末端キナーゼ (JNK) 、並びに細胞外シグナル調節されたキナーゼ (ERK) 及びp38MAPキナーゼを包含する広いファミリーのキナーゼである。

【0006】

それらの3種のMAPキナーゼサブファミリーの個々は、外部刺激により誘発される情報を運ぶ、少なくとも3種の異なっているが、しかし同目的の経路に包含される。JNKシグナル化経路は、環境ストレス、例えば化学的毒素、放射線、低酸素及び浸透圧ショックへの細胞の暴露により、及び成長因子又は前炎症性サイトカイン、例えば腫瘍壊死因子 (TNF -) 又はインターロイキン-1 (IL-1) による細胞の処理により活性化される。

【0007】

2種のMAPキナーゼキナーゼ (MKK又はMAPKKとして知られている) 、すなわちMKK4 (JNKK1としても知られている) 及びMKK7 (JNKK2としても知られている) は、サイトカイン及びストレスシグナルに応答して、酸素に対する活性化ループ上のThr - Pro - Tyrモチーフ内に位置する特定のトレオニン及びチロシン残基の二重リン酸化によりJNKを活性化する。シグナル化カスケードにおけるさらなる上流においてさえ、MKK4は、セリン及びトレオニン残基でのリン酸化を通して、MAPキナーゼキナーゼ (MEKK1) によりそれ自体活性化されることが知られている。活性化されると、JNKは転写因子標的物のN - 末端に結合し、そして転写活性化ドメインをリン酸化し、アポプトシス、炎症応答又は腫瘍形成工程を導くことができる、種々の遺伝子活性物の発現のアップ - レギュレーションをもたらす (1 - 5)。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 8 】

MAPK(ミトゲン-活性化されたタンパク質キナーゼ)は、トレオニン及びチロシン残基に対する二重リン酸化により活性化されるセリン/トレオニンキナーゼである。哺乳類細胞においては、MAPKに対して、細胞外刺激により生成される情報を運ぶ、少なくとも3種の異なっているが、しかし同目的の経路が存在する。前記経路は、ERK(細胞外調節されたキナーゼ)、JNK(c-Jun N-末端キナーゼ)及びp38/CSBPキナーゼの活性化を導くキナーゼカスケードから成る。JNK及びp38経路は、ストレス型分子外シグナルの供給に包含されるが、ERK経路は主に、細胞核へのミトゲン/分化シグナルの形質導入を担当する。

【 0 0 0 9 】

SAKカスケードは、異なった外部刺激、例えばUV照射、TNF- α 、IL-1 β 、セラミド、細胞ストレス及び反応性酸素種によるDNA損傷により活性化され、そして明確な基質特性を有する、ミトゲン-活性化タンパク質キナーゼファミリーを示す。MKK4/JNK又はMKK3/p38によるシグナルransductionは、下流のエフェクターの転写を開始するために、次にホモダイマー又はヘテロダイマーとして作用する、誘発性転写因子、c-Jun及びATF2のリン酸化をもたらす。

【 0 0 1 0 】

c-Junは、炎症応答に関与する多くの遺伝子(例えば、マトリックスメタロテイナーゼ)の活性化のために必要とされるトランス活性化複合体APを生成するために、JNKは、いくつかの異なった刺激、例えばUV光及びTNF- α が、タンパク質のN-末端における特定のセリン残基に対するc-Junのリン酸化を刺激することが見出された場合に発見された。

【 0 0 1 1 】

3種の異なったJNK酵素が、遺伝子JNK1、JNK2及びJNK3の生成物として同定されており、そしてJNKの10種の異なったイソフォームが同定されている(3, 6, 7)。JNK1及び-2は、ヒト組織において偏在して発現され、ところがJNK3は脳、心臓及び精巣において選択的に発現される(7, 8, 9, 10)。個々のイソフォームは、異なった親和性を有する基質に結合し、このことは、異なったJNKイソフォームによるシグナル化経路のインビオでの基質特異的調節を示す。

【 0 0 1 2 】

Xie. Xなど、(Structure 1998, 6(8): 983-991)の最近の公開においては、ストレス-活性化されたシグナルransduction経路の活性化は、ラットPC-12及び上頸神経節(SCG)交感神経ニューロン細胞におけるNGF除去により誘発されるニューロンアポトシスのために必要とされることが示唆されている。特定のキナーゼ、すなわちMAPキナーゼキナーゼ3(MKK3)及びMAPキナーゼキナーゼ4(MKK4)、又はc-Jun(MKK-4カスケードの一部)の阻害は、アポトシスを阻害するために十分であり得る(また、Kumagae Yなど、Brain Res. Mol. Brain Res., 1999, 67(1), 10-17及びYang DD.など、Nature, 1997, 389 (6653): 865-870を参照のこと)。SCGニューロンにおけるNGF剥奪の数時間以内で、c-Junは非常にリン酸化するように成り、そしてタンパク質レベルが上昇する。

【 0 0 1 3 】

同様に、NGFを剥奪されたラットPC-12においては、JNK及びp38は、持効性活性化を受け、そしてERKは阻害される。このJNK3と一致するKOマウスは、海馬における毒性誘発されたアポトシスに対して耐性であり、そしてより重要には、それらは、正常な動物に比較し、毒性促進性に応答して、非常に低められた癲癇性発作を示す(Nature 1997, 389, 865-870)。より最近には、JNKシグナル化経路は細胞増殖に包含され、そしてT-細胞活性化及び増殖により介在される自己免疫疾患において重要な役割を演じる(Immunity, 1998, 9, 575-585; Current Biology, 1999, 3, 116-125)ことが報告されている。

【 0 0 1 4 】

純粋な(前駆体)CD4 $^{+}$ ヘルパーT(Th)細胞は、T-細胞受容体(TCR)複合体を通して、抗原提供細胞(APC)上の特定MHC-ペプチド複合体を認識する。TCT-介在性シグナルの他に、同時刺激シグナルは、APC上のB7タンパク質と共に、T-細胞上で発現されるCD28の連結により、少なくとも部分的に供給される。それらの2種のシグナルの組合せは、T

10

20

30

40

50

- 細胞のクローン発現を誘発する。

4 ~ 5日の増殖の後、CD4⁺T細胞の前駆体は、免疫系の機能を介在する武装されたエフェクターTh細胞に分化する。この分化工程の間、遺伝子発現の実質的なプログラミングが生じる。

【 0 0 1 5 】

2種のサブセットのエフェクターT細胞は、それらの明確なサイトカイン分泌パターン及びそれらの免疫 - 調節効果に基づいて定義され：Th1細胞は、細胞 - 介在性炎症反応のために必要とされるTFN 及びLT (TNF -) を生成し；Th2細胞は、B細胞活性化及び分化を介在する、IL-4, IL-5, IL-6, IL-10及びIL-13を分泌する。それらの細胞は、免疫応答において中心的な役割を演じる。JNK MAPキナーゼ経路は、抗原刺激に基づいて、Th1エフェクター細胞において誘発されるが、しかしTh2においては誘発されない。さらに、前駆体CD4⁺細胞の、Th2細胞ではなく、エフェクターT細胞への分化は、JNK2 - 欠失マウスにおいては低められる。従って、最近、JNKキナーゼ経路が、JNK2を通してのTh1及びTh2免疫応答の釣り合いにおいて重要な役割を演じることが、実現されている。

10

【 0 0 1 6 】

JNK基質であることが知られているいくつかの転写因子は、Junタンパク質 (c-Jun, Jun B 及びJun D) 、関連する転写因子ATF2及びATFa、Ets転写因子、例えばElk - 1及びSap-1、腫瘍サプレッサーp53及び細胞死ドメインタンパク質 (DENN) である。

JNK経路の活性化は、多くの疾病工程において提供されており、従って、薬剤発見のためにこの経路を標的化するための原理を提供する。さらに、分子遺伝子アプローチは、いくつかの疾病においてこの経路の病原性役割を確認している。

20

【 0 0 1 7 】

例えば、自己免疫及び炎症疾患は、免疫系の不適切な活性化に起因する。活性化された免疫細胞は、炎症分子、例えばサイトカイン、成長因子、細胞表面受容体、細胞付着分子、及び変性酵素をコードする多くの遺伝子を発現する。それらの遺伝子の多くは、転写因子c-Jun及びATF - 2の転写の活性化を用いて、JNK経路により調節されている。

細菌リポ多糖 - 刺激されたマクロファージにおけるJNK活性化の阻害は、キー前炎症サイトカイン、すなわちTNF の生成を効果的に調節する (11)。

30

【 0 0 1 8 】

JNK活性化の阻害は、リウマチ様関節炎における軟骨及び骨侵食、及び他の自己免疫疾患における組織化された組織破壊の増進を担当することが知られている、マトリックスマタロプロテイナーゼ (MMP) (12) の誘発性発現を担当する転写因子活性化を低める。

JNKカスケートはまた、抗原刺激及びCD28受容体同時刺激により、T細胞において活性化され (13)、そしてIL-2プロモーターの生成を調節する (14)。Tリンパ球の不適切な活性化は、多くの自己免疫疾患、例えば喘息、炎症性腸疾患及び多発性硬化症を開始し、そして永続せしめる。

【 0 0 1 9 】

アルツハイマー病から損傷を受けやすいニューロン、及び急性低酸素症を有する患者のCA 1ニューロン (15) においては、JNK3タンパク質が高く発現される。JNK3遺伝子はまた、アルツハイマーの患者の脳の損傷された領域において発現されることが見出された (16)。さらに、JNK3 KO 1マウスからのニューロンは、野生型マウスからのニューロンに比較して、カイニン酸により誘発されたニューロン性アポトシスに対して耐性になることが見出された (8)。

40

【 0 0 2 0 】

それらの発見に基づけば、JNKシグナル化経路及び特に、JNK2及びJNK3のその経路は、アポトシス - 駆動の神経変性疾患、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、癲癇及び発作、ハンチントン病、外傷性脳損傷、虚血性及び出血性発作に包含されると思われる。心血管疾患、例えばアテローム硬化症及び再狭窄は、血管壁の成長の欠陥性調節に起因する。JNK経路は、アテローム発生刺激により活性化され、そして前 - アテローム硬化性遺

50

伝子 (19) を誘発する血管細胞 (17, 18) における局部サイトカイン及び成長因子生成を調節する。

【0021】

虚血のみ、又は心臓、肝臓、腎臓又は脳における再灌流と連結する虚血は、究極的には、うっ血性心不全、肝障害、腎不全又は大脳機能不全を導くことができる、細胞死及び瘢痕形成をもたらす。JNK経路は、JNK - 応答遺伝子及び白血球 - 介在性組織損傷の活性を導く、心臓における虚血及び再灌流 (20) により活性化される。JNK活性化はまた、虚血及び再灌流に続いて、腎臓 (21) 又は肝臓 (22) においても観察される。JNKのダウンレギュレーションは、腎炎及び虚血性腎不全の間、腎機能及び長期結果を改良することがわかっている (23)。

10

【0022】

癌は、細胞の制御できない成長、増殖及び移動により特徴づけられる。初期肺癌においては、c-Junの発現が変えられ、そして非 - 小細胞肺癌において成長因子シグナル化を介在することができる (24)。c-Jun生成及び活性の調節の他に、JNK活性化は、p53のリン酸化を調節し、そして従って、細胞周期進行を調節することができる (25)。さらに、HTLV - 1 (ヒトT細胞白血病ウィルスタイプ1) 介在性腫瘍形成におけるJNK活性化の役割 (26) は、癌処理におけるJNKインヒビターの可能性ある使用を示唆している (27)。JNK - 相互作用 - タンパク質 - 1 (JIP1) 呼ばれる、天然に介在するJNK阻害タンパク質によるJNK活性化の選択的阻害は、細胞形質転換を阻止する (28)。従って、JNKインヒビターは、形質転換及び腫瘍細胞増殖を阻止することができる。

20

【0023】

JNKキナーゼ経路を阻害する目的に関しては、W09849188号は、ヒトポリペプチド、すなわち生物学的生成物であり、そしてアポプトシス関連疾患を克服するためにまたアッセイされているJNK - 相互作用タンパク質 1 (JIP - 1) の使用を教授する。

そのようなヒトポリペプチドはJNKキナーゼ経路に対して阻害効果を有することが確かめられているが、次の広範囲の種々の欠点がそれらの使用に関連している：

【0024】

- ・活性生 - ペプチド又は生 - タンパク質は、結果的に、時折り、得られる生成物をかなりの費用 - 強調的にするかなり包括的且つ高価な生合成によって、単に得られ、
- ・ペプチドは不良な膜侵入性を示すことが知られており、そして血液脳膜を通過することができず、
- ・ペプチドインヒビター又はアンタゴニストの使用に関する主要欠点は、腸分解に起因する低い経口生物利用能の問題である。従って、それらは非経口投与されるべきであり、そして最終的に、

30

【0025】

・ペプチドインヒビター又はアンタゴニストが、排除されるべき物質を導入する場合、宿主本体により観察され、従って自己免疫応答を誘発する。

いくつかの広く拡散した疾病におけるJNK経路の高い関連性は、JNKのインヒビター、好ましくは選択的インヒビターを開発する必要性を強調する。

従って、種々の疾病、特にニューロン又は自己免疫系関連疾病、癌、虚血状態及び心血管疾患の処理のために適切である分子を供給することが、本発明の目的である。

40

【0026】

JNK経路を包含する疾病の処理方法において有用であるよう、JNK (Junキナーゼ) 経路を調節し、好ましくはダウンレギュレートし、又は阻害することができる化合物を供給することが特に本発明の目的である。

さらに、前記化合物を調製するための方法を提供することが本発明の目的である。疾病、特にJNK機能により介在されるそれらの疾病の処理のための新規カテゴリーの医薬製剤を供給することが、本発明のさらなる目的である。

最終的には、自己免疫及び/又はニューロン系の障害により引き起こされる疾病の処理及び/又は予防のための方法を提供することが、本発明の目的である。

50

【0027】

発明の記載：

前記目的は、独立請求項に従って満たされている。好ましい態様は、そこに組み込まれる従属請求項内に記載されている。

次の文章は、本発明の化合物を構成し、そして本明細書及び請求項を通して均等に適用することを意図される種々の化学成分の定義を提供し、そして特にことわらない限り、広い定義を提供する。

【0028】

“C₁-C₆-アルキル”とは、1～6個の炭素原子を有する1価アルキル基を言及する。この用語は、基、例えばメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、tert-ブチル、n-ヘキシル及び同様のものにより例示される。 10

“アリール”とは、単環（例えば、フェニル）又は複数の縮合された環（例えば、ナフチル）を有する、6～14個の炭素原子の不飽和芳香族炭素環式基を言及する。好ましいアリールは、フェニル、ナフチル、フェナントレニル及び同様のものを包含する。

“C₁-C₆-アルキルアリール”とは、アリール置換基を有するC₁-C₆-アルキル基、例えばベンジル、フェネチル及び同様のものを言及する。

【0029】

“ヘテロアリール”とは、単環式複素芳香族、又は二環式もしくは三環式の融合環複素芳香族基を言及する。複素芳香族基の特定の例は、任意に置換されていてもよいピリジル、ピロリル、フリル、チエニル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、ピラゾリル、1,2,3-チアゾリル、1,2,4-トリアゾリル、1,2,3-オキサジアゾリル、1,2,4-オキサジアゾリル、1,2,5-オキサジアゾリル、1,3,4-オキサジアゾリル、1,3,4-トリアジニル、1,2,3-トリアジニル、ベンゾフリル、[2,3-ジヒドロ]ベンゾフリル、イソベンゾフリル、ベンゾチエニル、ベンゾトリアゾリル、イソベンゾチエニル、インドリル、イソインドリル、3H-インドリル、ベンズイミダゾリル、イミダゾ[1,2-a]ピリジル、ベンゾチアゾリル、ベンズオキサゾリル、キノリジニル、キナゾリニル、フタラジニル、キノキサリニル、シンノリニル、ナフチリジニル、ピリド[3,4-b]ピリジル、ピリド[3,2-b]ピリジル、ピリド[4,3-b]ピリジル、キノリル、イソキノリル、テトラゾリル、5,6,7,8-テトラヒドロキノリル、5,6,7,8-テトラヒドロイソキノリル、ブリニル、ブテリジニル、カルバゾリル、キサンテニル、又はベンゾキノリルを包含する。 20

【0030】

“C₁-C₆-アルキルヘテロアリール”とは、ヘテロアリール置換基を有するC₁-C₆-アルキル基、例えば2-フリルメチル、2-チエニルメチル、2-(1H-インドール-3-イル)エチル及び同様のものを言及する。

“アルケニル”とは、好ましくは2～6個の炭素原子を有し、そしてアルケニル不飽和の少なくとも1又は2個の部位を有するアルケニル基を言及する。好ましいアルケニル基は、エテニル(-CH=CH₂)、n-2-プロペニル(アリル、-CH₂CH=CH₂)及び同様のものを包含する。 40

【0031】

“アルキニル”とは、好ましくは2～6個の炭素原子を有し、そしてアルキル不飽和の少なくとも1～2個の部位を有するアルキニル基を言及し、好ましいアルキニル基はエチニル(-C≡CH)、プロパルギル(-CH₂C≡CH)及び同様のものを包含する。

“アシル”とは、基-C(O)Rを言及し、ここでRはC₁-C₆-アルキル、アリール、ヘテロアリール、C₁-C₆-アルキルアリール又はC₁-C₆-アルキルヘテロアリールを包含する。

【0032】

“アシルオキシ”とは、基-OC(O)Rを言及し、ここでRはC₁-C₆-アルキル、アリール、ヘテロアリール、C₁-C₆-アルキルアリール又はC₁-C₆-アルキルヘテロアリールを包含する。 50

“アルコキシ”とは、基 - O - Rを言及し、ここでRはC₁-C₆ - アルキル、アリール、ヘテロアリール、C₁-C₆ - アルキルアリール又はC₁-C₆ - アルキルヘテロアリールを包含する。好ましいアルコキシ基は、例によれば、メトキシ、フェノキシ及び同様のものを包含する。

【0033】

“アルコキシカルボニル”とは、基 - C(O)ORを言及し、ここでRはC₁-C₆ - アルキル、アリール、ヘテロアリール、C₁-C₆ - アルキルアリール又はC₁-C₆ - アルキルヘテロアリールを包含する。

“アミノカルボニル”とは、基 - C(O)NRR'を言及し、ここで個々のR, R'は独立して、水素、C₁-C₆ - アルキル、アリール、ヘテロアリール、C₁-C₆ - アルキルアリール又はC₁-C₆ - アルキルヘテロアリールを包含する。 10

【0034】

“アシルアミノ”とは、基 - NR(CO)R'を言及し、ここで個々のR, R'は独立して、水素、C₁-C₆ - アルキル、アリール、ヘテロアリール、C₁-C₆ - アルキルアリール又はC₁-C₆ - アルキルヘテロアリールを包含する。

“ハロゲン”とは、フルオロ、クロロ、ブロモ及びヨード原子を言及する。

“スルホニル”とは、基 - SO₂ - Rを言及し、ここでRは、H、アリール、ヘテロアリール、C₁-C₆ - アルキル、ハロゲンにより置換されたC₁-C₆ - アルキル - SO₂ - CF₃基、C₁-C₆ - アルキルアリール、又はC₁-C₆ - アルキルヘテロアリールから選択される。

【0035】

“スルホキシ”とは、基 - S(O)-Rを言及し、ここでRは、H、C₁-C₆ - アルキル、ハロゲンにより置換されたC₁-C₆ - アルキル、例えば - SO-CF₃基、アリール、ヘテロアリール、C₁-C₆ - アルキルアリール、又はC₁-C₆ - アルキルヘテロアリールから選択される。 20

“チオアルコキシ”とは、基 - S-Rを言及し、ここでRは、C₁-C₆ - アルキル、アリール、ヘテロアリール、C₁-C₆ - アルキルアリール又はC₁-C₆ - アルキルヘテロアリールを包含する。好ましいチオアルコキシ基は、チオメトキシ、チオエトキシ及び同様のものを包含する。

【0036】

“置換された又は置換されていない”：特に個々の置換基の定義により制限されない限り、上記に示される基、例えばアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール及びヘテロアリール、等の基は任意には、C₁-C₆ - アルキル、C₁-C₆ - アルキルアリール、C₁-C₆ - アルキルヘテロアリール、C₂-C₆ - アルケニル、C₂-C₆ - アルキニル、第一、第二又は第三アミノ基又は第四アンモニウム成分、アシル、アシルオキシ、アシルアミノ、アミノカルボニル、アルコキシカルボニル、アリール、ヘテロアリール、カルボキシル、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシ、メルカブト、ニトロ、スルホキシ、スルホニル、アルコキシ、チオアルコキシ、トリハロメチル及び同様のものから成る群から選択された1～5個の置換基により置換され得る。 30

【0037】

他方では、前記置換基はまた、隣接する置換基が、特にビシナル官能置換基が包含される場合、環閉鎖を受ける情況を含んで成り、従って、例えばラクタム、ラクトン、環状無水物、またアセタール、チオアセタール、保護基を得るための努力において環閉鎖により形成されるアミナールを形成する。 40

【0038】

“医薬的に許容できる塩又は複合体”とは、所望する生物学的活性を保持する、下記に定義される式Iの化合物の塩又は複合体を言及する。そのような塩の例は、無機酸（例えば、塩酸、臭酸、硫酸、リン酸、硝酸及び同様のもの）により形成される酸付加塩、及び有機酸、例えば酢酸、シュウ酸、酒石酸、琥珀酸、リンゴ酸、フマル酸、マレイン酸、アスコルビン酸、安息香酸、タンニン酸、パモール酸（pamoic acid）、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸及びポリガラクツロン酸により形成される塩を包含するが、但しそれらだけには限定されない。

【0039】

前記化合物はまた、式 - NR, R', R'', +Z- (式中、R, R', R'' は独立して、水素、アルキル又はベンジルであり、そしてZはカウンターイオン、例えばクロリド、プロミド、ヨージド、-O-アルキル、トルエンスルホネート、メチルスルホネート、スルホネート、ホスフェート、又はカルボキシレート(例えば、ベンゾエート、スクシネート、アセテート、グリコレート、マレート、マレート、フマレート、シトロレート、タルトレート、アスコルベート、シンナモエート、マンデロエート及びジフェニルアセテート)である)で表される第四アンモニウム塩を特に包含する。

【0040】

当業者に知られている医薬的に許容できる第四塩として投与され得る。塩基-付加塩の例は、ナトリウム、カリウム、アンモニウム及び水酸化第四アンモニウム、例えば水酸化テトラメチルアンモニウムに由来するそれらの塩を包含する。 10

【0041】

“医薬的活性誘導体”とは、受容体への投与に基づいて、本明細書に開示される活性を、直接的に又は間接的に提供することができるいずれかの化合物を言及する。

“イオン化できる成分”とは、官能基を言及し、ここでその特徴的な電子分布が、イオン性又はイオン化された基、例えば塩に転換されるその能力を前記成分に付与する。そのような基は、陽性化され得る塩基性成分、又は脱陽性化され得る酸性基であり得る。好ましいイオン化できる成分は、アミンのような塩基性基、又はカルボン酸のような酸性基である。

【0042】

“実質的に溶解できる”とは、本発明の化合物が水性溶解において良好な溶解性を示すことを意味する。好ましい限界値は、約50 μm/ml溶媒、より好ましくは、少なくとも100 μg/ml溶媒である。 20

“親油性鎖”とは、疎水性基、置換基又は化合物、特に脂質又は脂肪化合物又は成分に対して明白な誘引性を有する基を言及する。それらは特に、任意に置換されたC₄-C₁₈-アルキル基又は置換されているか又は置換されていないアルキル-アリール基を包含する。

【0043】

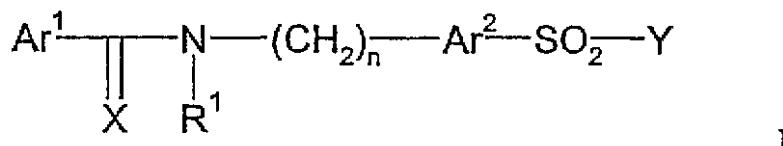
“親水性基”とは、親水性又は極性基、置換基又は化合物、又は脂肪化合物又は成分に対して明白な誘引性を有する官能基を言及する。それらは、カルボキシレート、ヒドロキシド、スルフェート、又はスルホネート、又はアミン又はアンモニウム塩を包含する。 30

“鏡像異性体過剰率”(ee)とは、実質的に鏡像異性体合成、又は鏡像選択段階を含んで成る合成により得られる生成物を言及し、それによれば、少なくとも52%のeeの程度での過剰の1つの鏡像異性体が得られる。鏡像異性体合成の不在下で、Junキナーゼインヒターとしての活性を有するラセミ生成物が通常、得られる。

【0044】

本発明の1つの観点は、下記式I:

【化10】



で表されるスルホンアミド誘導体である。

【0045】

10

20

30

40

50

適切な医薬剤である本発明の式Iの化合物は、次のものであり、ここで
 Ar^1 は置換されているか又は置換されていないアリール又はヘテロアリールであり、
 Ar^2 は少なくとも1つの親水性置換基を担持するアリール又はヘテロアリール基であり、
 X はO又はS、好ましくはOであり、

【0046】

R^1 は水素、又は C_1-C_6 -アルキル基であるか、あるいは R^1 は置換されているか又は置換されていない5~6員の飽和又は不飽和環を Ar^1 と共に形成し、
 n は0~5の整数、好ましくは1~3及び最も好ましくは、1であり、
式I内のYは、少なくとも1つの窒素原子を含む、置換されていないか又は置換されている
4~12員の飽和環状又は二環式アルキルであり、それにより、前記環内の1つの窒素原子
は式Iのスルホニル基と共に結合を形成し、従ってスルホンアミドを提供する。 10

【0047】

本発明の好ましい態様においては、Yは、下記式：

【化11】



で表されるピペリジン又はピペリジン成分である。

【0048】

前記ピペリジン又はピペリジン基においては、 L^1 及び L^2 は、H、置換されているか又は置換されていない C_1-C_6 -アルキル、置換されているか又は置換されていない C_2-C_6 -アルケニル、置換されているか又は置換されていない C_2-C_6 -アルキニル、任意に1~3個のヘテロ原子を含み、そして任意には、アリール、又はヘテロアリールと融合している、置換されているか又は置換されていない環状 C_4-C_8 -アルキルを含んで成るか又はそれらから成る群からそれぞれ独立して選択されるか、又は L^1 及び L^2 は、置換されているか又は置換されていないアリール、置換されているか又は置換されていないヘテロアリール、アリール- C_1-C_6 -アルキル、ヘテロアリール- C_1-C_6 -アルキル、- $C(O)-OR^3$ 、- $C(O)-R^3$ 、- $C(O)-NR^3$ 、 R^3 、- NR^3 、 R^3 、- NR^3 、 $C(O)R^3$ 、- NR^3 、 $C(O)NR^3$ 、 R^3 、-(SO) R^3 、-(SO_2) R^3 、- NSO_2R^3 、- SO_2NR^3 、 R^3 を含んで成るか、又はそれらから成る群から独立して選択される。 30

【0049】

それによれば、 R^3 及び R^3 は、H、置換されているか又は置換されていない C_1-C_6 -アルキル、置換されているか又は置換されていない C_2-C_6 -アルケニル、置換されているか又は置換されていないアリール、置換されているか又は置換されていないヘテロアリール、置換されているか又は置換されていないアリール- C_1-C_6 -アルキル、置換されているか又は置換されていないヘテロアリール- C_1-C_6 -アルキルを含んで成るか、又はそれから成る群から独立して選択された置換基である。 40

【0050】

R^6 は、水素、置換されているか又は置換されていない C_1-C_6 -アルキル、置換されているか又は置換されていない C_1-C_6 -アルコキシ、OH、ハロゲン、ニトロ、シアノ、スルホニル、オキソ(=O)、スルホキシ、アシルオキシ、チオアルコキシを含んで成るか、又はそれ

20

40

50

らから成る群から選択され、そして n' は0～4の整数、好ましくは1又は2である。

【0051】

上記に言及されたアリール又はヘテロアリール基のすべては、置換されているか又は置換されていない C_1-C_6 -アルキル、同様のハロメチル、置換されているか又は置換されていない C_1-C_6 -アルコキシ、アシリオキシ、置換されているか又は置換されていない C_2-C_6 -アルケニル、置換されているか又は置換されていない C_2-C_6 -アルキニル、アミノ、アシリアミノ、アシリカルボニル、 C_1-C_6 -アルコキカルボニル、アリール、カルボキシル、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシ、ニトロ、スルホニル、スルホキシ、 C_1-C_6 -チオアルコキシから選択された群から少なくとも1つにより任意に置換され得る。

【0052】

10

また、 L^1 及び L^2 は、一緒に取られる場合、4～8員の飽和環状アルキル又はヘテロアルキル基、同様のトリアゾリン、テトラゾリン、オキサゾリン、イソキサゾリン、オキサゾール又はイソオキサゾールを形成することができる。好ましい態様においては、 L^1 及び L^2 は、2～3個の窒素原子を含む、5～6員の飽和環状アルキル環を一緒に形成する。

L^1 はまた、親油性鎖が結合されるイオン化できる成分であり得る。そのようなイオン化できる成分は、親油性 C_4-C_8 -アルキル、好ましくは C_6-C_{12} -アルキル、又は置換されているか又は置換されていないアルキル-アリール基により置換されるアミノ基であり得る。

【0053】

L^1 内の上記に言及されるイオン化できる成分は、式Iの分子に良好な溶解性を付与することを意味する。 L^1 内のイオン化できる成分を通しての式Iの分子の溶解性の改良は、医薬化合物のために特に興味あるものである。

20

Junキナーゼの阻害に関しての式Iの特に有能な化合物は、 L^1 が親油性成分を含んで成るそれである。アミノ基のようなイオン化できる成分に結合される C_4-C_{18} アルキル基が最も好ましい。そのような親油性基は、阻害されるべき酵素の孔中に侵入すると思われる。

本発明はまた、式Iの化合物の幾何学的異性体、光学的活性形、鏡像異性体、ジアステレオマー、並びに式Iのスルホンアミド誘導体のそれらのラセミ体及び医薬的に許容できる塩及び医薬的活性誘導体を包含する。

【0054】

式Iにおける好ましい Ar^1 は、置換されているか又は置換されていない C_1-C_6 -アルキル、同様のトリハロメチル、置換されているか又は置換されていない C_1-C_6 -アルコキシ、置換されているか又は置換されていない C_2-C_6 -アルケニル、置換されているか又は置換されていない C_2-C_6 -アルキニル、アミノ、アシリアミノ、アミノカルボニル、 C_1-C_6 -アルコキカルボニル、アリール、カルボキシル、シアノ、ハロ、ヒドロキシ、ニトロ、スルホニル、スルホキシ、アシリオキシ、 C_1-C_6 -チオアルコキシにより任意に置換された、フェニル、チエニル、フリル、ピリジルを含んで成るか又はそれらから成る群から独立して選択されるそれである。最も好ましい Ar^1 は、置換されたフェニル、例えばクロロフェニル、ニトロフェニル、ヒドロキシフェニル、アルコキシフェニルである。

30

【0055】

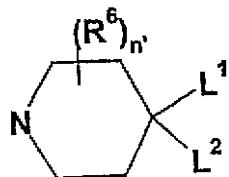
最も好ましい Ar^2 は、少なくとも1つの、好ましくは1つの親水性置換基を有するチエニル、ピロロ又はフェニル基である。前記チエニル、ピロロ又はフェニル基に結合されるそのような親水性置換基は、式Iの分子に良好な溶解性を付与する残基である。それらは、特にカルボキシル基、カルボキシレート、カルボキサミド、OH又はOH担持のアルキル基、又はヒドロジドカルボニル基を包含する。 Ar^2 上の親水性置換基を通しての式Iの化合物の溶解性の改良は、溶液にされる医薬化合物のために特に興味あるものである。

40

【0056】

本発明の特に好ましい態様は、式Iのスルホンアミド誘導体に関し、ここでYは下記式：

【化12】



10

【0057】

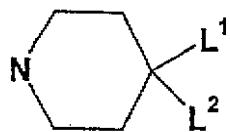
[式中、 R^6 、 n' 、 L^1 及び L^2 は上記で定義された通りである]で表される、置換されているか又は置換されていないピペリジン残基である。

より好ましい態様によれば、式1のスルホンアミド誘導体は、 Ar^1 が4-クロロフェニルであり、 X が0であり、 R^1 が水素であり、 n が1であり、 Ar^2 がチエニルであり、 Y が下記式：

【0058】

【化13】

20



【0059】

[式中、 L^2 はHであり、 L^1 は $-NHR^3$ であり；ここで R^3 は、 C_1-C_{12} -アルキル、アリール、ヘテロアリール、アリール- C_1-C_6 -アルキル、ヘテロアリール- C_1-C_6 -アルキルを含んで成るか又はそれらから成る群から選択された置換基である]で表されるそれらの誘導体である。

30

前記アリール又はヘテロアリール基は、ハロゲン、ヒドロキシ、ニトロ、スルホニルにより任意に置換され得る。

【0060】

式1の化合物の特定の例は、次のものを包含する：

5-[[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル]-2-[(4-[3-[(トリフルオロメチル)スルホニル]-アミニノ]ピペリジン-1-イル)スルホニル]チオフェン-3-カルボン酸；

40

5-[[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル]-2-[(4-[(オクチルアミノ)ピペリジン-1-イル]スルホニル)チオフェン-3-カルボン酸；

N-[(2-ヒドロキシエチル)-5-[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル]-2-[(4-[3-[(トリフルオロメチル)スルホニル]-アミニノ]ピペリジン-1-イル)スルホニル]チオフェン-3-カルボキサミド；

N-[(4-[(ヒドラジノカルボニル)-5-[(4-[3-[(トリフルオロメチル)スルホニル]-アミニノ]ピペリジン-1-イル)スルホニル]チエニ-2-イル]メチル]-3-メトキシベンズアミド；

5-[[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル]-2-[(4-[3-[(トリフルオロメチル)スルホニル]-アミニノ]ピペリジン-1-イル)スルホニル]チオフェン

50

- 3 - カルボキサミド；

【0061】

N - [2 - (ジメチルアミノ)エチル] - 5 - { [(3 - メトキシベンゾイル)アミノ] メチル} - 2 - [(4 - { 3 - [(トリフルオロメチル)スルホニル] アニリノ}ピペリジン - 1 - イル)スルホニル] チオフェン - 3 - カルボキサミド；

N - ({ 4 - (ヒドロキシメチル) - 5 - [(4 - { 3 - [(トリフルオロメチル)スルホニル] アニリノ}ピペリジン - 1 - イル)スルホニル] チエン - 2 - イル} メチル) - 3 - メトキシベンズアミド；

2 - { [4 - (ヘキシルアミノ) - 1 - ピペリジニル]スルホニル} 5 - { [(3 - メトキシベンゾイル)アミノ] メチル} - 3 - チオフェンカルボン酸；

5 - { [(3 - メトキシベンゾイル)アミノ] メチル} - 2 - [(4 - { [4 - (トリフルオロメチル)ベンジル]アミノ} - 1 - ピペリジニル)スルホニル] - 3 - 4 オフェンカルボン酸。

【0062】

式Iの化合物は、哺乳類、特にヒトの免疫系及びニューロン系の障害の処理への使用のために適切である。そのようなニューロン系障害は、例えばニューロン変性疾患、例えばアルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病、網膜疾患、脊髄損傷、多発性硬化症、頭の外傷、癲癇及び発作、虚血及び出血性脳発作を包含する。免疫系疾患は、例えばぜん息、移植片拒絶、炎症工程、例えば炎症性腸疾患（IBD）、軟膏及び骨侵食障害、リウマチ様関節炎、敗血性ショックを包含する。

【0063】

式Iの化合物はまた、癌、例えば乳、結腸直腸、膵臓、前立腺、精巣、卵巣、肺、肝臓、腎臓癌の処理への使用のためにも適切である。

もう1つの態様においては、式Iの化合物は、心血管疾患、例えばアテローム硬化症、再狭窄、発作、虚血症、例えば大脳虚血症、心筋梗塞の処理のために使用され得る。

もう1つの態様においては、式Iの化合物は、種々の虚血性状態、例えば心及び腎不全、肝障害及び脳再灌流損傷の処理のために使用され得る。

【0064】

好ましくは、式Iの化合物は、単独で又は医薬組成物の形で、JNK経路の調節のために、より特定には、JNK、特にJNK2及び-3の発現又は活性に関連する疾病の処理又は予防のために有用である。前記調節は通常、好ましくはJNK経路、特にJNK2及び/又は-3の阻害を包含する。そのようなJNKの異常発現又は活性は、多くの刺激（例えば、ストレス、敗血性ショック、酸化ストレス、サイトカイン）により誘発され、そして例えば制御されていないアポプトシス、炎症応答又は腫瘍遺伝子工程を導く工程カスケードを引き起こすことができる。

【0065】

それらの現象は時折、上記疾病及び疾病状態を包含する種々の疾病に包含される。従って、本発明の化合物は、JNK機能又はシグナル化経路を調節することによって、疾病的処理のために使用され得る。JNK機能又は経路の調節は、その活性化を包含するが、しかし好ましくは、それは、JNK経路、特にJNK1及び/又は-2及び/又はJNK3の阻害までのダウン-レギュレーションを包含する。本発明の化合物は、単独で、又は追加の医薬剤、例えば追加のJNKモジュレーターと組合して使用され得る。

【0066】

さらに、本発明のさらなる目的は、上記に記載される式Iの新規スルホンアミド誘導体を調製するための方法である。本発明のスルホンアミド誘導体は、次の一般的方法を用いて、容易に入手できる出発材料から調製され得る。典型的な又は好ましい実験条件（すなわち、反応温度、時間、試薬のモル数、溶媒、等）が与えられる場合、他の実験条件もまた、特にことわらない限り、使用され得ることが理解されるであろう。最適な反応条件は、使用される特定の反応体又は溶媒により変化するが、しかしそのような条件は、通常の最適化方法を用いて、当業者により決定され得る。

10

20

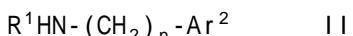
30

40

50

【0067】

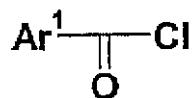
好ましい合成方法においては、本発明のスルホンアミド誘導体は、まず、下記式II：



[式中、Ar²及びR¹は上記で決定された通りである]で表されるアミンを、下記式III：

【0068】

【化14】



III

10

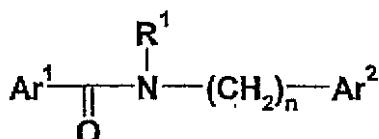
【0069】

[式中、Ar¹は上記で定義された通りである]で表される塩化アシルによりカップリングし、下記式IV：

【0070】

【化15】

20



IV

30

【0071】

で表されるアミドを供給することによって調製される。式IIのアミンは、既知の化合物であるか、又は従来の方法により既知の化合物から調製され得る。出発材料としての好ましいアミンは、チエン-2-イル-メチルアミン、フラン-2-イル-メチルアミン、ピリジル-2-イルメチルアミン及び同様のものを包含する。式IIIの塩化アシルはまた、市販されており、又は前に記載された化合物である。好ましい塩化アシルは、4-クロロベンゾイルクロリド、3-メトキシ-ベンゾイルクロリド、2-ニトロベンゾイルクロリド及び同様のものを包含する。知られていない場合、酸ハロゲン化物は、その対応するカルボン酸と、無機酸ハロゲン化物、例えば塩化チオニル、三塩化リン又は塩化オキサリルとを、従来の条件下で反応せしめることによって調製され得る。

40

【0072】

一般的に、この反応は、純粹な形で又は不活性溶媒、例えば四塩化炭素下で、約1～5モル当量の無機酸ハロゲン化物又は塩化オキサリルを用いて、約0～約80の温度で、約1～約48時間、行われる。N,N-ジメチルホルムアミドのような触媒がまた、この反応において使用され得る。

ハロゲン化アシルがカップリング反応に使用される場合、それは典型的には、反応の間に生成される酸を除去するために、適切な塩基の存在下で第IIアミンと反応せしめられる。適切な塩基は、例によれば、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン及び同様のものを包含する。他方では、過剰の第IIアミンが、反応の間に生

50

成される酸を除去するために使用され得る。

【 0 0 7 3 】

他方では、化合物IIIのカルボン酸が、カップリング反応に使用され得る。IIIのカルボン酸は通常、市販されている試薬であるか、又は従来の方法により調製され得る。

III(すなわち、塩化アシル)のカルボン酸のカップリング反応は、いずれかの従来のカップリング試薬、例えばカルボジイミド、例えばジシクロヘキシルカルボジイミド、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド及び他の促進剤、例えばN,N-カルボニル-ジイミダゾール又はPyBOPを用いて行われる。この反応は、カルボン酸及びアミンのカップリングを促進することが知れられている、良く知られている添加剤、例えばN-ヒドロキシスクシンイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾールを用いて、又はそれを用いないで行われ得る。

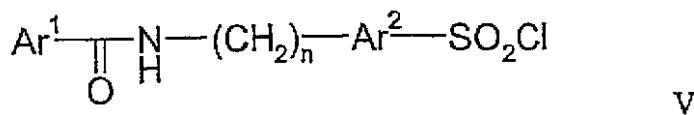
【 0 0 7 4 】

酸ハロゲン化合物III又はそのカルボン酸のいずれかを用いてのカップリング反応は好ましくは、約0 ~ 約6 の温度で、約1 ~ 約24時間、行われる。典型的には、反応は、カルボン酸又はその酸ハロゲン化合物に基づいて約1 ~ 約5モル当量のアミンを用いて、不活性非プロトン性溶媒、例えばN, N -ジメチルホルムアミド、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトニトリル、テトラヒドロフラン及び同様のものにおいて行われる。反応の完結に基づいて、カルボキサミドIVは、従来の方法、例えば沈殿、クロマトグラフィー、濾過、蒸留及び同様の方法により回収される。

【 0 0 7 5 】

式Iのスルホニル-ピペリジン又はピペラジンの調製のために必要な下記式V:

【化 1 6】



で表される塩化スルホニルは、従来のスルホン化方法を用いて調製される。

【 0 0 7 6 】

この反応への使用のための好ましいスルホン化試薬は、クロロスルホン酸である。典型的には、スルホン化反応は、式(IV)のカルボキサミドを、約5～約10モル当量のスルホン化試薬により、不活性溶媒、例えばジクロロメタン下で、約-70～約50の範囲の温度で処理することによって行われる。好ましくは、クロロスルホン酸の添加が-70で行われ、そして中間体スルホン酸の形成が誘導される。20への温度の上昇は、式Vの塩化スルホニルの形成を可能にする。

【 0 0 7 7 】

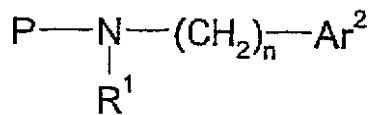
さらなる好ましい調製方法によれば、特に、式Vの塩化スルホニルの予備合成を導く、上記で指摘された方法が適用できない場合、本発明のスルホニルピペリジン及びピペリジンが次の段階により調製される：

- ・式IIの化合物のアミン官能基の保護；
 - ・芳香族基のクロロスルホニル化；
 - ・スルホンアミド官能基の形成；
 - ・保護基の保護解除；
 - ・上記で生成される遊離アミンのアシリ化。

式IIのアミンは、下記式VI：

【0078】

【化17】



VI

10

【0079】

[式中、Pは保護基を示す]で表される中間体を供給するために、アミン成分の適切な保護基により保護される。アミン官能基の多くの保護基P、及びそれらの導入及び除去は、T.W. Greene and G.M. Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, Third Edition, Wiley, New York, 1998、及びそこに引用される引例に良く記載されている。酸及び塩基安定性であり、そしてさらに、遷移金属錯体、例えばパラジウム錯体、例えばアリルカルバメート基(Alloc)又はN, N'-ビスアリル基を用いることによって除去され得る保護基が好ましい。もう1つの好ましい保護基は、すべての範囲の実験条件下で安定するマレイミド基である。

20

【0080】

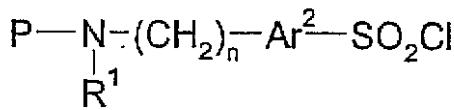
前記基の導入は、その対応するビスアリルカルボネート無水物又はアリルプロミド、又は無水マレイン酸を、塩基、例えばトリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン及び同様のものの存在下で、非プロトン性溶媒、例えばN, N-ジメチルホルムアミド、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトニトリル、テトラヒドロフラン及び同様のものにおいて、約0 ~ 約80 の範囲の温度で反応することによって行われ得る。

30

【0081】

次に、式VIの化合物は、下記式VII：

【化18】



VII

40

【0082】

で表される塩化スルホニルの獲得を可能にする従来の非常に温和なスルホン化方法を用いてスルホン化される。典型的には、保護されたアミンVIは、不活性雰囲気下で塩基、例えばn-ブチルリチウム又はtert-ブチルリチウムにより、極性溶媒、例えばテトラヒドロフラン、エーテル又はジオキサン下で、-70 ~ 0 の範囲の温度で、15分 ~ 4時間、処理される。次に、そのようにして形成されたアニオンは、SO₂Cl₂又は最も好ましくはSO₂により-70 ~ 20 の範囲の温度で、5分 ~ 1時間、反応混合物中にガスを泡立てることによって処理される。次に、得られるスルホネートは、0 ~ 70 の範囲の温度でN-クロ

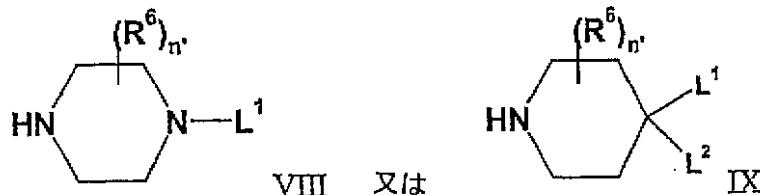
50

ロスクシンイミドと接触せしめることによって、式VIIの塩化スルホニルに、現場転換される。

【0083】

次に、式Iのスルホンアミド誘導体は、対応する環状アミン、例えば下記一般式VIII又はIX：

【化19】

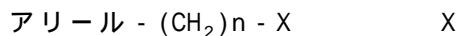


【0084】

[式中、 L^1 及び L^2 は上記で定義された通りである]で表されるピペラジン又はピペリジンと反応することによって、その反応する上記で言及された塩化スルホニルV又はVIIから調製される。式VIII又はIXのアミンは、市販されている化合物、又は既知方法により調製され得る化合物である。典型的には、タイプVIIIのピペラジンは、当業者に知られてる従来の方法を用いて調製され得る。

【0085】

L^1 及び/又は L^2 = アリールに関しては、適切な調製方法は、Tetrahedron Lett. 1996, 37, 8487-8488及びそこに引用される引例に記載されている。 L^1 及び/又は L^2 = アリール C_1-C_6 アルキルに関しては、さらなる好ましい方法は、その対応するピペラジン又はモノ-N-保護されたピペラジンと、下記式X：



[式中、XはCl, Br, I, OTs, OMs である]で表される化合物との反応である。

【0086】

反応は一般的に、溶媒、例えばN, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、N-メチルピロリジドン、エタノール、アセトニトリルにおいて、塩基、例えばトリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、炭酸カリウム及び同様のものの存在下で、約0 ~ 約100 の温度で行われる。

L^1 及び/又は L^2 = $-C(S) -$ に関しては、さらなる好ましい方法は、Bull. Soc. Chim. Belga, 1978, 87, 229に記載されるように、チオアミド基へのアミドの転換を可能にするLawesson's 試薬を用いての下記式XI：

【0087】

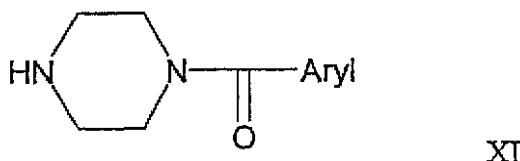
【化20】

20

20

30

40



10

【0088】

で表される化合物の転換である。式Iのスルホンアミドは、塩化スルホニルと、式VIIIのアミンとを、反応の間に生成される酸を除去するのに適切な塩基の存在下で、接触せしめることによって容易に調製される。適切な塩基は、例によれば、トリエチルアミン、ジイソブロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン及び同様のものを包含する。反応は、溶媒、例えはN, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、N-メチルピロリドン、エタノール、アセトニトリルにおいて、約0 ~ 約100 の温度で行われる。他方では、式Iのスルホンアミド誘導体は、一般式IXのピペリジンとの反応により、その対応する塩化スルホニルV又はVIIから容易に調製される。

20

【0089】

式IXのピペリジンは、市販されている化合物は又は既知の方法により調製され得る化合物のいずれかである。

典型的には、タイプIXのピペリジンは、当業者により知られており、そしてJ. Pharm. Sci. 1972, 61, 1316; J. Heterocyclic. Chem., 1986, 23, 73; アメリカ特許第5106983号、WO/9113872号及びWO/9606609号に記載される従来の方法を用いて調製され得る。

【0090】

式IXのピペリジンの獲得の好ましい方法は次の通りである: $L^1 = H$ 及び $L^2 = (CH_2)_n - \text{アリール}$ ($n = 0, 1, 2$) に関しては、モノ-保護された4-ピペリドン上への有機金属種、例えは $Ar^3(CH_2)_nLi$ 又は $Ar^3(CH_2)_nMgBr$ の付加、続いて、タイプIXの化合物の形成を可能にする、そのようにして形成された二重結合の還元。

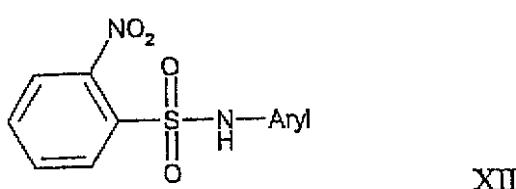
30

$L^2 = -NR - (CH_2)_n - \text{アリール}$ (ここで $n = 0, 1, 2$) に関しては、好ましい方法は、アリール- $(CH_2)_n - NR - H$ のアミンによる4-ピペリドンの還元性アミノ化である。 $n = 0$ である場合のさらなる好ましい方法は、Tetrahedron Lett. 1995, 36, 6373 - 6374に記載されるように、モノ-N-保護された4-ピペリドールと、下記式XII:

【0091】

【化21】

40



【0092】

50

で表される活性化されたアニリンとの間での“Mitsunobu type”カップリングである。次に、スルファミノ基の保護解除が、炭酸カリウムの存在下で、チオフェノールを用いて行われる。

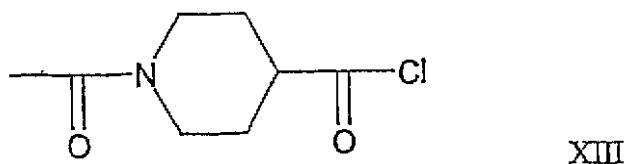
【0093】

$L^2 = -NR^3' C(O)R^3, -NR^3' C(O)NR^3' R, NR^3' SO_2-R^3$ に関しては、式IXの化合物の好ましい合成方法は、当業者に非常に良く知られている従来の条件下で、市販のN-BOC-4-アミノピペリジンと、それぞれ塩化アシル、イソシアネート及び塩化スルホニルとの反応である。

$L^2 = -CO-$ アリールに関しては、式IXの化合物は、極性非プロトン性溶媒、例えばジクロロメタンにおいて、ルイス酸、例えば三塩化アルミニウム又は四塩化チタンの存在下で、十分に選択された芳香族又はヘテロ芳香族環と、下記のタイプXIII：

【0094】

【化22】



【0095】

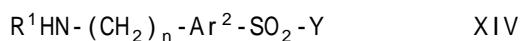
で表される中間体とを接触せしめることによって容易に調製される。中間体VIIIは、まず、ピペリド-4-イルカルボン酸のアセチル化、及び塩化チオニルによる処理による塩化アシルの形成により容易に得られる。

【0096】

式Iのスルホンアミドは、反応の間に生成される酸を除去するために適切な塩基の存在下で、塩化スルホニルVと式IVのアミンとを接触することによって容易に調製される。適切な塩基は、例によれば、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン及び同様のものを包含する。反応は好ましくは、溶媒、例えば、N, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、N-メチルピロリドン、エタノール、アセトニトリル下で、約0 ~ 約100 の温度で行われる。

【0097】

式XIVのスルホンアミドは、反応の間に生成される酸を除去するために適切な塩基の存在下で、塩化スルホニルVIIと式VIII又はIXのアミンとを接触することによって容易に調製される。適切な塩基は、例によれば、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン及び同様のものを包含する。反応は好ましくは、溶媒、例えばN, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、N-メチルピロリドン、エタノール、アセトニトリル下で、約0 ~ 約100 の温度で行われる。タイプVIIの塩化スルホニルの使用は、下記一般式XIV：



[式中、 R^1 、 Ar^2 、 Y 及び n は、上記で定義された通りである] で表されるアミンを得るために、当業者に良く知られている方法を用いて保護解除されるべきであるアミンを誘導する。

【0098】

次に、タイプXIVの誘導体が、一般式Iの化合物を誘導する上記の好ましい条件下での酸塩化物又はカルボン酸とアミンとの縮合によるアミドの調製のための記載される方法に従つ

10

20

30

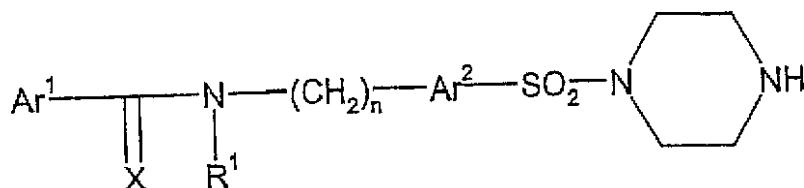
40

50

て、アシリル化される。特に一般式I（ここでYはピペラジン誘導体を表す）の化合物の場合、本発明の一部としてまた見なされるべきである他の調製方法は、下記式XV：

【0099】

【化23】



10

XV

【0100】

で表されるピペラジン誘導体と、L¹（L¹、L²の上記定義を参照のこと）の性質に依存して選択されるであろう求電子試薬との縮合から成る。それらのタイプの縮合を行うための方法は、良く知られており、そしてN-置換されたピペラジン誘導体の種々の合成に基づいて十分に記載されている。

20

【0101】

式I（式中、Ar²は置換基R⁶により置換されている）のスルホンアミドを調製するためのより好ましいアプローチは、下記段階を包含する：

- ・保護基Pを有する塩化スルホニル（VII）を供給し；
- ・塩化スルホニル（VII）とアミン（VIII）、例えば保護されたピペリジン-4-オンと反応せしめ、スルホンアミド（IX）を供給し：

【0102】

- ・前記スルホンアミド（IX）をAr²のメタレーション（例えば、BuLiを用いることにより）にゆだね、その対応する置換されたスルホンアミド（IXa）を生成し、ここでR⁶はカルボキシル基、カルボキシレート、カルボキサミド、OH、又はOH担持のアルキル基、ヒドログリドカルボニル基、スルフェート、スルホネート、アミン又はアンモニウム塩であり；
- ・前記スルホンアミド（IXa）の保護基Pを除去し、そしてスルホンアミドをアシリル化し、式（IXb）の化合物を生成し；
- ・前記スルホンアミド（IXb）を保護解除し、そして式Iの化合物を得るために、その対応するケトンを還元的にアミノ化する。

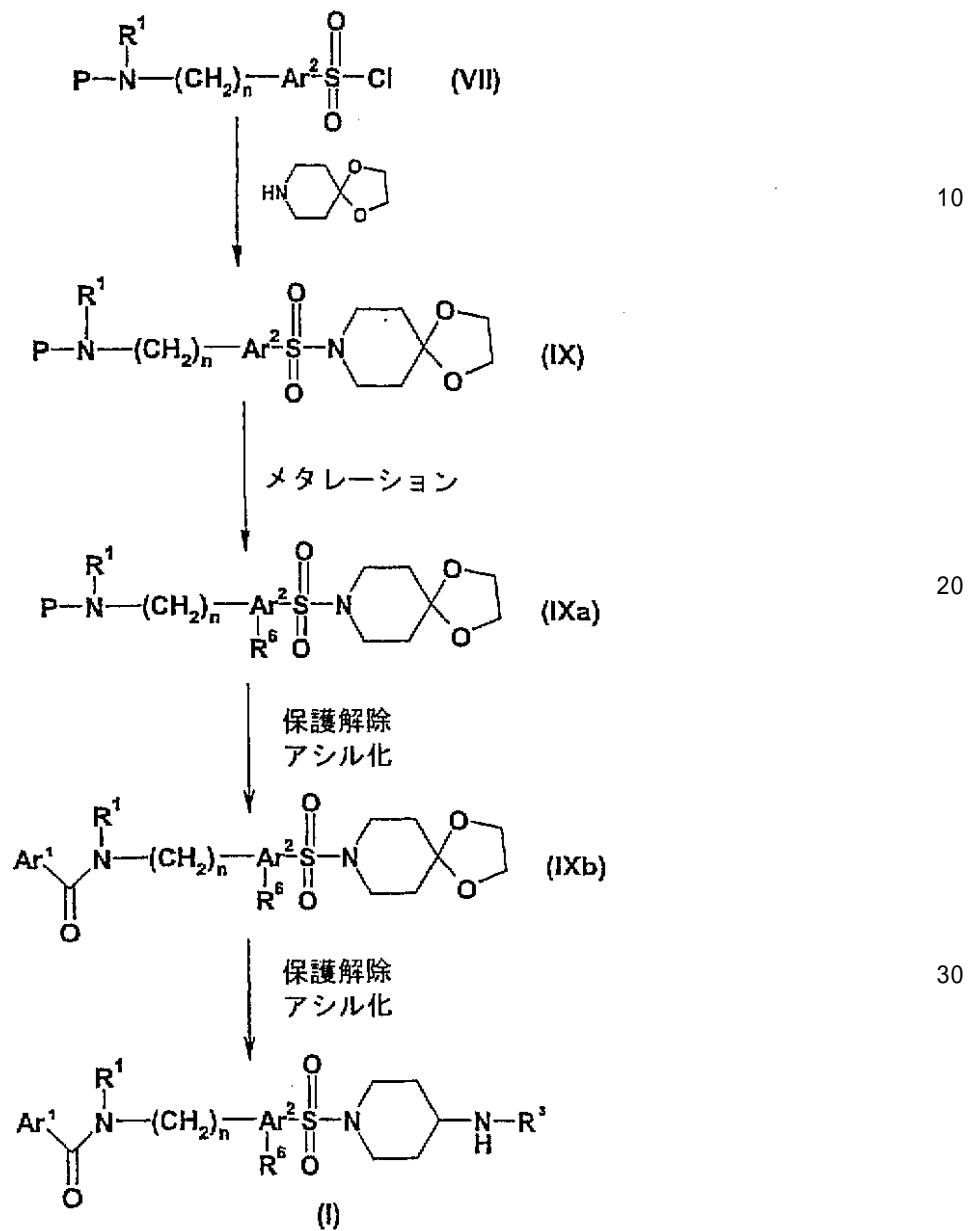
30

前記アプローチは、下記スキーム1に例示される：

【0103】

【化24】

スキーム1：



【0104】

上記に示される一般合成方法が式Iの化合物の獲得のために適用できない場合、当業者により知られている適切な調製方法が使用されるべきである。例えば、Ar²がフェニルである場合、市販の4-シアノフェニルスルホニルクロリドから出発し、そして当業者により知られている従来の方法を適用し、式Iのスルホンアミド誘導体に達すべきである。

【0105】

本発明の最終観点は、JNK機能又はシグナル化経路の調節のためへの式Iの化合物の使用、すなわちJNK経路の調節のための医薬組織物、及び式Iの活性化合物を含む精製の調製のためへの前記化合物の使用に関する。JNK経路の前記調節は、種々の障害のための適切な処理アプローチとして見られる。医薬として使用される場合、本発明のスルホンアミド誘導体は典型的には、医薬組成物の形で投与される。従って、式Iの化合物、及び医薬的に許

40

50

容できるキャリヤー、希釈剤又は賦形剤を含んで成る医薬組成物はまた、本発明の範囲内である。当業者は、医薬組成物を配合するために適切な種々のそのようなキャリヤー、希釈剤又は賦形剤化合物を知っている。また、本発明は、薬剤として使用するための化合物を供給する。特に、本発明は、哺乳類、特にヒトの免疫及びニューロン系の疾患の処理のためのJNK、特にJNK3のインヒビターとして使用するための式Iの化合物を、単独で又は他の薬剤と組合して提供する。

【0106】

本発明の化合物は、従来使用されるアジュバント、キャリヤー、希釈剤又は賦形剤と共に、医薬組成物及びその単位用量の形に配置され、そしてそのような形においては、経口使用のためには、固体、例えば錠剤又は充填されたカプセル、又は液体、例えば前記物質により充填された溶液、懸濁液、エマルジョン、エリキシル又はカプセルとして、又は非経口（皮下使用を包含する）ための無菌注射用溶液の形で使用され得る。そのような医薬組成物及びその単位用量形は、追加の活性化合物又は成分を伴なって又はそれらを伴なわないで、従来の割合で成分を含んで成り、そしてそのような単位用量形は、使用される意図された毎日の用量範囲に比例し、いずれかの適切な有効量の活性成分を含むことができる。

10

【0107】

医薬として使用され得る場合、本発明のスルホンアミド誘導体は典型的には、医薬組成物の形で投与される。そのような組成物は、医薬業界において良く知られている様で調製され得、そして少なくとも1つの活性化合物を含んで成る。一般的に、本発明の化合物は、医薬的に有効な量で投与される。実際に投与される化合物の量は、適切な環境、例えば処理される状態、投与の選択された経路、投与される実際の化合物、個々の患者の年齢、体重及び応答、患者の症状の重症度、及び同様のものを考慮して、医者により決定されるであろう。

20

【0108】

本発明の医薬組成物は、種々の経路、例えば経口、直腸、経皮、皮下、静脈内、筋肉内及び鼻腔内投与され得る。意図される供経路に依存して、化合物は好ましくは、注射用又は経口用組成物として配合される。経口投与のための組成物は、大量液体溶液又は懸濁液、又は大量粉末の形で取られ得る。しかしながら、より通常には、組成物は、正確な投与を促進するために単位用量形で提供される。用語“単位用量形”とは、ヒト対象及び他の哺乳類のために単位用量として適切な物理的に分離した単位を言及し、個々の単位は、適切な医薬賦形剤と共に、所望する治療効果を生成するために計算された、予定された量の活性材料を含む。

30

【0109】

典型的な単位用量形は、液体組成物の予備充填され、予備測定されたアンプル又は注射器、又は固体組成物の場合、ピル、錠剤、カプセル又は同様のものを包含する。そのような組成物においては、スルホンアミド化合物は通常、マイナーな成分であり（約0.1～約50重量%、又は好ましくは約1～約40重量%）、そして残りは所望する用量形の形成を助ける種々のピークル又はキャリヤー及び加工助剤である。

40

【0110】

経口投与のために適切な液体形は、緩衝液、懸濁及び分散剤、着色剤及び同様のものと共に、適切な水性又は非水性ピークルを含むことができる。固体形は、例えば、次の成分又は類似する性質の化合物のいずれかを含むことができる：結合剤、例えば微結晶性セルロース、トラガカントガム又はゼラチン；賦形剤、例えばスターク又はラクトース、碎解剤、例えばアルギン酸、Primogel又はトウモロコシスターク；滑剤、例えばステアリン酸マグネシウム；グリダント（glidant）、例えばコロイド状二酸化珪素；甘味剤、例えばスクロース又はサッカリン；又は風味剤、例えばペパーミント、サリチル酸メチル又はオレンジフレーバー。

【0111】

注射用組成物は典型的には、注射用無菌塩溶液又はリン酸緩衝溶液、又は当業者において

50

知られている他の注射用キャリヤーに基づかれている。上記で言及されたように、そのような組成物における式Iのスルホンアミド化合物は典型的には、時折、0.05~10重量%の範囲のマイナーな成分であり、残りは注射用キャリヤー及び同様のものである。

【0112】

経口投与されるか又は注射用組成物のための上記に記載される成分は、単なる代表物である。さらなる材料、加工技法及び同様のものは、Part 8 of Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th Edition, 1985, Marck Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 及びそこに引用される引例に示される。本発明の化合物はまた、持効性形で、又は持効性薬物供給システムから投与され得る。代表的な持効性材料の記載はまた、Remington's Pharmaceutical Sciencesにおける組み込まれる材料に見出され得る。

10

【0113】

次に、本発明は、いくつかの例により例示されるが、それらは、本発明の範囲を制限するものではない。下記に記載される例に提供されるHPLC、NMR及びMSデータは、次の通りにして得られた。次の略語が、この後、付随する例に使用される：min(分)、hr(時)、g(グラム)、mmol(ミリモル)、m.p.(溶融点)、eq(当量)、mL(ミリリットル)、μL(マイクロリッター)、ACN(アセトニトリル)、Boc(ブトキシカルボニル)、CDCl₃(重水素化されたクロロホルム)、cHex(シクロヘキサン)、DCM(ジクロロメタン)、DEC P(ジエチルシアノホスフェート)、DIC(ジイソプロピルカルボジイミド)、DMAP(4-ジメチルアミノピリジン)、DMF(ジメチルホルムアミド)、DMSO(ジメチルホキシド)、DMSO-d₆(重水素化されたジメチルスルホキシド)、DEC(1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド)、EtOAc(酢酸エチル)、

20

【0114】

Et₂O(ジエチルエーテル)、Fmoc(9-フルオレニルメトキシカルボニル)、HOEt(1-ヒドロキシベンゾトリアゾール)、K₂CO₃(炭酸カリウム)、NaH(水素化ナトリウム)、NaHCO₃(炭酸水素ナトリウム)、nBuLi(n-ブチルリチウム)、TBTU(0-ベンゾトリアゾリル-N, N, N', N' - テトラメチルウロニウム-テトラフルオロボレート)、TEA(トリエチルアミン)、TFA(トリフルオロ-酢酸)、THF(テトラヒドロフラン)、TMSC(トリメチルオルトホルメート)、MgSO₄(硫酸マグネシウム)、PetEther(石油エーテル)、rt(室温)。

30

【0115】

実施例

例1：5-[[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル]-2-[[(4-[(3-[(トリフルオロメチル)スルホニル]アニリノ)ピペリジン-1-イル)スルホニル]チオフェン-3-カルボン酸(1)]

ジアリル-チオフェン-2-イルメチルアミン(1a)

CH₂Cl₂(1L)中、2-アミノメチルチオフェン(51.4g, 956mモル)及びi-Pr₂NEt(140g, 1081mモル)の溶液を、冷却器及び効果的磁気攪拌器を備えた3Lのフラスコ中に配置した。臭化アリル(115.7g, 454mモル)を添加し、その後、適度な発熱反応が、2時間後、環流温度に自発的に達した。

40

【0116】

前記混合物を一晩(16時間)、攪拌し、洗浄し(飽和炭酸水素ナトリウム塩；ブライン)、乾燥し(硫酸マグネシウム)、そして濃縮した。得られる油状物を、シリカゲル上で濾過した(EtOAc；ヘキサン1:4)。濾液を濃縮し、そして濾過を反復し、NMRにより純粋な褐色-黄色油状物として標記ジアリルアミン70.3g(80%)を得た：¹H NMR(CDCl₃) 7.25(br. d, J=5.9Hz, 1H), 6.98(br. dd, J=5.1, 2.8Hz, 1H), 6.94-6.92(m, 1H), 5.99-5.86(m, 2H), 5.29-5.18(m, 4H), 3.85(s, 2H), 3.16(dd, J=6.3, 0.9Hz, 4H)。

【0117】

5-ジアリルアミノメチル-チオフェン-2-スルホニルクロリド(1b)

Et₂O中、アリル-保護されたチオフェン(1a)(6.2g, 32.1mモル)の溶液を、アセトン/ドライアイス浴により-70℃に冷却した。ペンタン(21.38mL, 1.5M, 32.1mモル)中、t-

50

BuLiの溶液を2分間にわたって添加し、その後、すぐに、内部温度を-50に上げ、そして混合物はオレンジ色に変わった。10分後、SO₂を2分間、泡立て、濃厚な沈殿物のすぐの形成を導いた。反応を0にし、そしてTHF(20ml)中、NCS(4.63g, 32.1mモル)の懸濁液を添加し、その後、スラリーは紫色に変わった。室温での45分後、混合物をSiO₂上で濾過し、EtOAcにより溶出した。蒸発、EtOAc:ヘキサン1:5による希釈及びSiO₂上の濾過は、さらなる精製を伴なわないで使用される、淡褐色油状物として標記塩化スルホニル(1b)5.0g(53%)を得た。

【0118】

N, N - ジアリル - N - { [5 - (1 , 4 - ジオキサ - 8 - アザスピロ [4.5] デク - 8 - イルスルホニル) チエン - 2 - イル] メチル } アミン (1c)

10

方法A(単離された塩化スルホニル(1b)からの)。CHCl₃中、(1b)(5.84g, 20mモル)の溶液を、0に冷却し、そして1, 4 - ジオキサ - 8 - アザスピロ [4.5] デカン(2.8ml, 22mモル)及びEt₃N(4.2ml, 30mモル)により処理し、そして23に10分間、暖めた。EtOAc(100ml)による希釈、標準の作業(飽和炭酸水素ナトリウム; ブライン; 硫酸マグネシウム)、及びクロマトグラフィー処理(EtOAc:シクロヘキサン1:2)により、無色の油状物として標記スルホンアミド7.57g(95%)を得た。

【0119】

方法B(塩化スルホニル(1b)の単離を伴わないで、(1a)からの)。Et₂O(440g, 617ml)中、アリル - 保護されたチオフェン(1a)(29.1g, 150mモル)の溶液を、1Lの三つ口フラスコ(温度計; アルゴン; 隔壁又はSO₂入口)に配置し、そしてアセトン/ドライアイス浴により-74に冷却した。ペンタン(100ml, 1.5M, 150mモル)中、t-BuLiの溶液を5分間にわたって添加し、その後、内部温度をすぐに-64に上げ、そして混合物はピンク色に変化した。20分後、SO₂(20g, 312mモル)を15分間にわたって泡立てた。SO₂消費を、反応の間、SO₂ボトルをスケール上に配置することによって最良にモニターした。濃厚な白色のワックスに変化した反応混合物を、室温で2時間にわたって暖めた。

20

【0120】

NCS(30g, 226mモル)の懸濁液を添加し、そして攪拌を一晩、続け、その後、スラリーは紫色に変化した。混合物を濾過し(ガラス)、そして沈殿物を注意して、CH₂Cl₂(2×300ml)により洗浄した。組み合わされた有機層を、Ar下で0に冷却し、そしてCH₂Cl₂(200ml)中、1, 4 - ジオキサ - 8 - アザスピロ [4.5] デカン(27.8g, 194mモル)及びトリエチルアミン(19.7g, 194mモル)の溶液により処理した。1時間後、混合物を洗浄し(飽和炭酸水素ナトリウム; ブライン)、乾燥し(硫酸マグネシウム)、そして濃縮し、黄色の油状物として標記スルホンアミド53g(83%)を得た: ¹H NMR (CDCl₃) 7.36 (d, J=3.8Hz, 1H), 6.90 (br. d, J=3.4Hz, 1H), 5.92-5.79 (m, 2H), 5.33-5.16 (m, 4H), 3.93 (s, 4H), 3.78 (s, 2H), 3.21 (t, 5.7Hz, 4H), 3.13 (d, 6.2Hz, 4H), 1.81 (t, 5.7Hz, 4H)。

30

【0121】

エチル 5 - [(ジアリルアミノ) メチル] - 2 - (1 , 4 - ジオキサ - 8 - アザスピロ [4.5] デク - 8 - イルスルホニル) チオフェン - 3 - カルボキシレート (1d)

40

THF(120ml)中、スルホンアミド(1c)(3.36g, 8.43mモル)の溶液を-78に冷却し、そしてt-BuLi(ヘキサン中、7.0ml, 1.5M, 10.5ml)により処理した。5分後、混合物を、THF(60ml)中、エチルクロロホルムート(6.45ml, 67.5mモル)の冷却された(-100; アセトン/液体窒素)溶液中にカニューレ挿入した。

【0122】

反応混合物を-30に2時間にわたって暖め、そして次に、23に一晩、暖めた。混合物を回転蒸発機上で濃縮し、そしてEtOAc(250ml)により希釈した。標準作業(水; ブライン; 硫酸マグネシウム)及び2回のクロマトグラフィー処理(EtOAc:シクロヘキサン1:4)は、標記エチルエステル1.48g(37%)を付与した: ¹H NMR (DMSO-d₆) 7.36 (d, 1H), 5.98-5.82 (m, 2H), 5.32-5.17 (m, 4H), 4.33 (q, J=7.1Hz, 2H), 3.92 (s, 4H), 3.85 (s, 2H), 3.32 (dd, J~6.0, 5.0Hz, 4H), 3.17 (d, J=6.0Hz, 4H), 1.74dd, J~6

50

.0, 5.0Hz, 4H), 1.33 (t, J=7.2Hz, 3H)。

【0123】

エチル2-(1,4-ジオキサ-8-アザスピロ[4.5]デク-8-イルスルホニル)-5-{[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]-メチル}チオフェン-3-カルボキシレート(1e)

CH₂Cl₂ (30ml) 中、エチルエステル(1d) (1.47g, 3.12mモル) 及びNDMBA (1.07g, 6.87mモル) の溶液を、アルゴンを泡立て、そして音波処理することによってガス抜きした。次に、Pd(PPh₃)₄ (216mg, 0.187mモル) を添加し、そして混合物を23℃で攪拌した。2時間後、混合物を-50℃に冷却し、Et₃N (525μl, 3.76mモル) 及び3-(メトキシ)ベンゾイルクロリド (300μl, 2.13mモル) により処理し、そして室温に30分間にわたって暖めた。

【0124】

EtOAcによる希釈、標準作業(水；飽和炭酸水素ナトリウム；硫酸マグネシウム)及びクロマトグラフィー処理(EtOAc : シクロヘキサン 1 : 1)は、標記3-(メトキシベンゾアミド)1.0g (61%) を付与した：¹H NMR (DMSO-d₆) 9.29 (t, J=5.8Hz, 1H), 7.49-7.34 (m, 4H), 7.12 (ddd, J=7.9, 2.6, 1.0Hz, 1H), 4.66 (d, J=5.7Hz, 2H), 4.27 (q, J=7.2Hz, 2H), 3.84 (s, 4H), 3.80 (s, 3H), 3.24 (dd, J~6.0, 5.0Hz, 4H), 1.67 (dd, J~6.0, 5.0Hz, 4H), 1.26 (t, J=7.0Hz, 3H)。M/Z APCI : 525 (M+1), 523 (M-1)。

【0125】

エチル5-{[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]-メチル}-2-[(4-オキソピペリジン-1-イル)スルホニル]-チオフェン-3-カルボキシレート(1f)

アセトン(5ml) 中、スピロケタール(1e) (500mg, 0.952mモル) の溶液を、48℃で18時間、1NのHCl (2.5ml) により処理した。EtOAcによる希釈及び標準作業(水；炭酸水素ナトリウム；ブライン；硫酸マグネシウム)は、所望する標記ケトン(83%) 及び未反応の出発材料(9%) (TLCによる単一スポット) の9 : 1 混合物425mgを付与した：¹H NMR (CDCl₃) 7.37-7.35 (m, 1H), 7.33-7.29 (m, 3H), 7.05 (ddd, J=7.7, 2.6, 1.7Hz, 1H), 6.81 (t, J=5.8Hz, 1H), 4.74 (d, J=6.1Hz, 2H), 4.31 (q, J=7.1Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.70 (t, J=6.1Hz, 4H), 2.52 (t, J=6.2Hz, 4H), 1.34 (t, J=7.1Hz, 3H)。M/Z APCI : 481 (M+1), 479 (M-1)。

【0126】

エチル5-{[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]-メチル}-2-[(4-{[(トリフルオロメチル)スルホニル]アニリノ}ピペリジン-1-イル)スルホニル]-チオフェン-3-カルボキシレート(1g)

無水テトラクロロエチレン(15ml) 中、粗ケトン(1f) (425mg, 0.803mモル)、3-(トリフルオロメチルスルホニル)-アニリン(287mg, 1.27mモル) 及び3%の粉末化されたMS (3g) の懸濁液を、厳格に無水条件下で17時間、加熱環流した。混合物を23℃に冷却し、そして微粉末化されたNaBH(OAc)₃ (1.2g) を添加した。攪拌を2.5日間、続けた。

【0127】

EtOAcによる希釈、標準作業(飽和炭酸水素ナトリウム；ブライン；硫酸マグネシウム)、及びクロマトグラフィー処理(EtOAc；シクロヘキサン 1 : 1.5 ~ 2 : 1)は、出発ケトン(1f) 及びスピロケタール(1e)、及び標記アニリノピペリジン216mg (39%) の混合物167mg (35%) を付与した：¹H NMR (DMSO-d₆) 9.16 (t, J=5.8Hz, 1H), 7.38-7.23 (m, 5H), 6.97-7.08 (m, 4H), 6.42 (d, J=7.9Hz, 1H), 4.53 (d, J=5.7Hz, 2H), 4.15 (q, J=7.0Hz, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.53 (dm, J=10.4Hz, 2H), 3.60-3.43 (m, 1H), 2.81 (br. t, J=10.6Hz, 2H), 1.84 (dm, J~11.3Hz, 2H), 1.35-1.20 (m, 2H), 1.15 (t, J=7.0Hz, 3H)。M/Z APCI : 690 (M+1), 688 (M-1)。

【0128】

5-{[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]-メチル}-2-[(4-{[(トリフルオロメチル)スルホニル]アニリノ}ピペリジン-1-イル)スルホニル]-チオフェン-3-カルボン酸(1)

10

20

30

40

50

MeOH (4ml) 中、エチルエステル (1g) (40mg、0.058mモル) の溶液を、45°で2時間、2MのNaOH (0.8ml) により処理した。混合物を、EtOAcにより希釈し、洗浄し(水性塩化アンモニウム；水；ブライン)、乾燥し(硫酸マグネシウム)、2mlに濃縮し、そしてセライト上で濾過し、EtOAcにより溶出した。蒸発により、標記酸40mg (96%)を得た。M/Z APCI:662 (M+1), 660 (M-1), 616 (M-CO2-1)。分析用HPLC : R.t=6.55分 (方法a)。

【0129】

次の化合物(例番号として示される)を、還元性アミノ化段階における適切なアミンにより3-(トリフルオロメチルスルホニル)-アニリンを置換することによって、上記方法に従って調製した。次の表は、言及される例のHPLCデータ及び質量分光分析データを提供する(HPLC条件: C8対称a-MeCN、0.09%TFA、0~100% (10分) ; 質量スペクトルAPCI)。

10

【0130】

【表1】

表1

例	名称	Rt HPLC	純度 (%)	グラジ エント HPLC	質量 M+1	質量 M-1
2	5-{[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル}-2-[(4-(オクチルアミノ)ピペリジン-1-イル)スルホニル]チオフェン-3-カルボン酸	4.58	90.1	a	567	565
3	2-[(4-(ヘキシルアミノ)-1-ピペリジニル)スルホニル]5-[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル)-3-チオフェンカルボン酸	4.04	98	a	538	536
4	5-[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル)-2-[(4-[(4-(トリフルオロメチル)ベンジル)アミノ]-1-ピペリジニル)スルホニル]-3-チオフェンカルボン酸	4.20	95	a	-	610

20

30

30

【0131】

40

例5: N-(2-ヒドロキシエチル)-5-[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル)-2-[(4-[(3-[(トリフルオロメチル)スルホニル]アミリノ)ピペリジン-1-イル)スルホニル]チオフェン-3-カルボキサミド

MeOH (1ml) 中、エチルエステル (1g) (10mg、0.015mモル) 及びエタノールアミン (0.1ml) の溶液を、8時間、加熱還流し、そして蒸発乾燥し、標記アミド5を、ほぼ定量的収率で得た。M/Z APCI: 705 (M+1), 703 (M-1)。分析用HPLC : R.t=6.14分 (方法a)。

次の化合物(例番号として示される)を、ヒドラジン、水性塩化アンモニウム又はN,N'-ジメチルアミノエチレンジアミンによりエタノールアミンを置換することによって、上記方法(例2)に従って調製した。次の表は、言及される例のHPLCデータ及び質量分光分析データを提供する。

50

【0132】

【表2】

表2

例	名称	Rt HPLC	純度 (%)	グラジ エント HPLC	質量 M+1	質量 M-1	
6	N-({4-(ヒドラジノカルボニル)-5-[{4-{3-[{(トリフルオロメチル)スルホニル]アニリノ}ピペリジン-1-イル}スルホニル]チエン-2-イル}メチル)-3-メトキシベンズアミド	5.67	79.0	a	520	518	10
7	5-{[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル}-2-{[(4-{3-[{(トリフルオロメチル)スルホニル]アニリノ}ピペリジン-1-イル}スルホニル]チオフェン-3-カルボキサミド	5.63	84.4	a	661	659	20
8	N-[2-(ジメチルアミノ)エチル]-5-{[(3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル}-2-{[(4-{3-[{(トリフルオロメチル)スルホニル]アニリノ}ピペリジン-1-イル}スルホニル]チオフェン-3-カルボキサミド	4.85	98.0	a	732	730	

30

【0133】

例9 : N-({4-(ヒドロキシメチル)-5-[{4-{3-[{(トリフルオロメチル)スルホニル]アニリノ}ピペリジン-1-イル}スルホニル]チエン-2-イル}メチル)-3-メトキシベンズアミド

カルボン酸(19mg、0.029mモル)の溶液を、ボラン-THF複合体(THF中、1M、1ml、1mモル)に溶解し、そしてその溶液を23℃で30分間、攪拌した。反応を水(1ml)により急冷し、乾燥し(硫酸マグネシウム)、濃縮し、そしてクロマトグラフィー処理し(EtOAc:シクロヘキサン1:2 2:1)、標記アルコール11.1mg(60%)を得た。APCI: 648(M+1), 646(M-1)。分析用HPLC: R.t = 6.43分(方法a)。

【0134】

40

例10: 医薬製剤の調製

次の製剤の例は、本発明の代表的な医薬組成物を例示するが、それらは本発明を制限するものではない。

製剤1 - 錠剤:

式1のスルホンアミド化合物を、乾燥ゼラチン結合剤と共に約1:2の重量比で、乾燥粉末として混合する。少量のステアリン酸マグネシウムを、滑剤として添加する。その混合物を、錠剤プレスにより、240~270mgの錠剤(錠剤当たり80~90mgの活性スルホンアミド化合物)に形成する。

【0135】

製剤2 - カプセル:

50

式Iのスルホンアミド化合物を、スターチ希釈剤と共に約1:1の重量比で、乾燥粉末として混合する。その混合物を250mgのカプセル中に満たす（カプセル当たり125mgの活性スルホンアミド化合物）。

製剤3 - 液体：

式Iのスルホンアミド化合物（1250mg）、スクロース（1.75g）及びキサンガム（4mg）をブレンドし、No.10メッシュのU.S. 篩を通し、そして次に、水中、微結晶セルロース及びナトリウムカルボキシルメチルセルロースの前もって調製された液体（11:89、50mg）と共に混合した。安息香酸ナトリウム（10mg）、風味剤及び着色剤を水により希釈し、そして攪拌しながら添加する。次に、十分な水を添加し、合計体積5mlを生成する。

【0136】

10

製剤4 - 錠剤：

式Iのスルホンアミド化合物を、乾燥ゼラチン結合剤と共に約1:2重量比で、乾燥粉末として混合する。少量のステアリン酸マグネシウムを、滑剤として添加する。その混合物を、錠剤プレスにより、450~900mgの錠剤（150~300mgの活性スルホンアミド化合物）に形成する。

製剤5 - 注射：

式Iのスルホンアミド化合物を、緩衝された無菌塩溶液の注射用水性媒体において、約5mg/mlの濃度に溶解する。

【0137】

20

例11：生物学的アッセイ

生物学的結果

式Iで表されるスルホンアミドの活性を、上記に記載されるインピトロ及びインピボ生物学的アッセイを用いて評価した。

JNK2及び-3インピトロアッセイ

JNK2又はJNK3によるc-junのリン酸化は、下記プロトコールに従ってc-jun中への³³Pの組み込みをモニターすることによって追跡され得る。JNKを通してのc-junリン酸化に関しての式Iの化合物の阻害活性を、式Iの試験化合物の存在又は不在下でJNKのリン酸化活性を計算することによって決定する。

【0138】

30

JNK3及び/又は-2アッセイを、次の用に96ウェルMTTプレートにおいて行う：0.5μgの組換え、予備活性化されたGST-JNK3又はGST-JNK2と、1μgの組換え、ビオチニル化されたGST-c-Jun及び2μMの³³P-ATP（2rCi/μl）と共に、式Iの化合物の存在又は不在下で、及び50mMのトリス-HCl、pH8.0；10mMのMgCl₂；1mMのジチオトレイトール及び100μMのNaVO₄を含む反応体積50μlにおいてインキュベーションを行う。インキュベーションを、RTで120分間、行い、そしてリン酸緩衝液中、250μgのストレプタビジン被覆されたSPAビーズ（Amersham, Inc.）、5mMのEDTA、0.1%Triton X-100及び50μMのATPを含む溶液200μlの添加に基づいて停止する。

【0139】

40

RTでの60分間インキュベーションの後、ビーズを、1500×gでの5分間の遠心分離により沈殿せしめ、5mMのEDTA、0.1%Triton X-100及び50μMのATPを含むPBS200μlに再懸濁し、そして放射能を、上記のようにしてビーズを沈殿した後、シンチレーションカウンターにおいて測定する。ビオチニル化されたGST-₁ATF₂又はビオチニル化されたミエリン塩基性タンパク質によりビオチニル化されたGST-c-Junを置換することによって、このアッセイはまた、それぞれ、予備活性化されたp38及びERK MAPキナーゼの阻害を測定するためを使用され得る。

【0140】

【表3】

例番号	JNK IC ₅₀ (μM)
1	<0.1
4	<0.1
6	<0.1

10

【0141】

それぞれに示される値は、IC₅₀ (μM)、すなわち前記標的物の50%阻害を達成するために必要な量を言及する。前記値は、JNK3に関するスルホンアミド化合物の相当の効能を示す。

式Iの試験された化合物は、JNK3に関して、0.1 μM以下、より好ましくは0.02 μMに等しいか又はそれ以下の阻害性 (IC₅₀) を示す。

【0142】

交感神経ニューロン培養物及び生存性アッセイ

細胞死を誘発されているニューロン細胞の生存率を高める式Iの化合物の能力を、次のプロトコールを用いて評価した。

20

新生児ラット (p4) の上頸神経節 (SCG) からの交感神経ニューロンを、ディスパーゼにより分離し、ラット尾コラーゲンにより被覆された48ウェルMTTプレートにおいて、10⁴個の細胞/cm²の密度でプレートし、そして5%ラット血清、0.75 μg/mlのNGF 7S (Boehringer Mannheim Corp., Indianapolis, IN) 及び10⁻⁵Mのアラビノシンを含むLeibowitz培地において培養する。

【0143】

細胞死を、10 μg/mlの抗NGF抗体 (Boehringer Mannheim Corp., Indianapolis, IN) を含むが、しかしNGF又はアラビノシンを含まない、スルホンアミドインヒビターの存在又は不在下での培地に前記培養物を暴露することによって、プレートの4日後に誘発する。細胞死誘発の24時間後、細胞生存率の決定を、0.5mg/mlの3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロミド (MTT) 下での37 °C で1時間の残基培養物のインキュベーションにより行う。MTTにおけるインキュベーションの後、細胞をDMSOに再懸濁し、96MTTプレートに移し、そして細胞生存率を、590nmでの光学密度を測定することによって評価する。

30

【0144】

IL-2放出アッセイ

IL-2の放出を阻害することによって炎症応答を調節する式Iの化合物の能力を、次のプロトコールを用いて評価した。JNK経路活性化は、炎症サイトカイン、例えばIL-2の生成を誘発する。JNKを、外部刺激、例えばPMA及びイノマイシンにより活性化することができ、そしてIL-2生成を、IL-2 ELISA試験により測定することができる。次のプロトコールに従って本発明の化合物を伴って及びそれを伴なわないでの比較測定は、ストレス-介在性IL-2放出を妨げる化合物の能力を測定する。

40

【0145】

Jurkat細胞、すなわちヒトT細胞白血病細胞系 (American Type Culture Collection # TIB152) を、10%の熱活性化されたウシ胎児血清 (FCS) 、グルタミン及びPenstrepにより補充されたRPMI 1640培地 (Gibco, BRL) において培養する。培地における細胞懸濁液を希釈し、2 × 10⁶個の細胞/mlにする。細胞を、異なった濃度の式Iの化合物 (化合物の最終濃度、10, 3, 1, 0.3, 0.1 μM) を含む96-ウェルプレート上にプレートした (2 × 10⁵個の細胞/ウェル)。この混合物を、湿潤されたCO₂雰囲気下で37 °C で30分間インキュベートする。

50

【0146】

次に、細胞を、負の対照を除くすべてのウェルにおいて、10 μlのPMA (ホルボールミリステート - 13 アセテート - 12) + イノマイシン (0.1 μM 及び 1 μM の最終濃度) により処理した。化合物を含まないウェルにおいては、10 μlの RPMI 2% DMSO (= 最終 0.1%) を添加する。細胞を 37° で 24 時間インキュベートし、そして次に、上清液を収穫し (同じ日に使用されなければ、 -20° で凍結する) 、その後、上清液に対する IL-2 ELISA 試験を行う。

【0147】

IL-2 ELISA アッセイ

試験化合物の存在又は不在下で、 (PMA + イノマイシン) - 刺激された Jurkat 細胞による培地中への IL-2 放出を、 ELISA によりアッセイすることができる。

10

モノクローナル抗 - ヒト IL-2 抗体 (MAB602) (保護) 、ビオチニル化された抗 - ヒト IL-2 抗体 (BAF202) (検出) 及び From R&D Systems からの組換えヒト IL-2 (202-IL-010) (標準) を使用する。

【0148】

プレートの調製

5 μg/ml で PBS (PBS - Tween 0.05%) において希釈された 100 μl の保護抗体を、 96 ウェル ELISA プレートに移し、そして室温で一晩インキュベートする。個々のウェルを、吸引し、そして洗浄緩衝液 (PBS - Tween 0.05%) により 3 度、洗浄する。最後の洗浄の後、プレートをダンピングする。

【0149】

20

アッセイ方法

1. 100 μl のサンプル又は標準を、添加し (2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 pg/ml) 、そして室温で 2 時間インキュベートする。

2. 3 度の洗浄。

3. 100 μl の 12.5 ng/ml のビオチニル化された抗 - ヒト IL-2 を添加し、そして室温で 2 時間インキュベートする。

4. 3 度の洗浄。

【0150】

5. 1 : 10,000 での 100 μl のストレプタビジン - HRP (Zymed # 43 - 4323) を添加し、そして室温で 30 分間インキュベートする。

30

6. 3 度の洗浄。

7. 100 μl の基質溶液 (クエン酸 / Na₂HPO₄ (1 : 1) + H₂O₂ 1:2000+OPD) を添加し、そして室温で 20 ~ 30 分間インキュベートする。

8. 50 μl の停止溶液 (20% 硫酸) を、個々のウェルに添加する。

9. 光学密度を、 570nm での補正を伴なって、 450nm に設定されたマイクロタイタープレートリーダーを用いて測定する。

【0151】

C-Jun レポーターアッセイ

MAP キナーゼシグナルトランスダクション経路における、 JNK による転写因子 c-jun のリン酸化を、 トランス - 報告システム、例えば市販の PathDetect (商標) (32) を通して追跡することができる。次に、式 I の化合物によるリン酸化の阻害を評価することができる。

40

トランス - 報告システムは、ルシフェラーゼ活性を通して、融合トランス - 活性化因子タンパク質の活性化状態の追跡を可能にする。トランス - 活性化因子タンパク質は、酵母転写活性化因子により融合される興味ある (c-jun) 転写因子の活性化ドメイン、すなわち GAL4 DNA 結合ドメイン (abd) から成る。GAL4 dbd は、既知の哺乳類転写因子がそれに結合できず、そして従って、アッセイのバックグラウンドノイズが非常に低い利点を有する。

【0152】

現在の場合、 GAL4 - cJun を構成的に発現する HeLa ルシフェラーゼレポーター c-Jun (HLR-c-Jun) 細胞系を使用した。

MEKK - 1 遺伝子を挿入した。 MEKK - 1 は、 JNK の活性化を誘発する MAPKKK である。野生形 M

50

EKK - 1 の発現は、JNK活性化のために十分である(33)。JNKが活性化されると、それは、ダイマーを形成する融合トランス - 活性化因子タンパク質 (GAL4dbd-cJUN) のc-junドメインのリン酸化を誘発することができる。次に、ダイマーは、ルシフェラーゼ発現を活性化するレポーターのGAL4上流活性化配列 (GAL4UAS) に結合することができる。

【0153】

ルシフェラーゼ発現は、単純なアッセイ、例えばアッセイ、例えばRenillaが“対照”レポーターとして使用されるDual-Luciferase(商標) Reporter Assay System (34) を用いて、発光により検出される。JNKの阻害は、ルシフェラーゼ発現の低下として観察され、そして発光の低下により検出される。

細胞培養

10

HLR-c-Jun細胞を、10%FCS (Sigma) 、2mMのグルタミン (Gibco) 、P/S、ヒグロマイシンb (100 μg/ml) 及びG418 (250 μg/ml) により補充されたDMEM High Glcにおいて培養する。

【0154】

細胞培養物の調製

細胞バンク

細胞を、10%ジメチルスルホキシドを含む培養培地における細胞懸濁液1.8ml体積として、液体窒素下で極低温管において凍結して貯蔵する。

細胞培養物融解

20

必要な場合、細胞の凍結されたバイアルを、水浴において37°で、半 - 完全な融解まで、軽くかきまぜることによって、すばやく融解する。次に、細胞懸濁液を、培養培地10mlに添加し、そして次に、1200rpmで5分間、遠心分離する。上清液を除去し、そして細胞ペレットを培地において再構成する。フラスコを、5%CO₂の霧囲気下で37°でインキュベートする。

【0155】

細胞継代

細胞を、80%の集密度単層が得られる場合、連続的に継代培養する。個々のフラスコ中の培地を除去し、そして単層を、10~15mlのリン酸緩衝溶液 (PBS) により洗浄する。

トリプシン - EDTA溶液を、細胞単層に添加し、37°でインキュベートし、そして細胞を取り除くために一定間隔で軽くたたく、細胞単層の完全な分離及び成分分離を、顕微鏡試験により確かめる。次に、細胞を、10mlの完全培地に再懸濁し、そして1200rpmで5分間、遠心分離する。上清液を捨て、細胞を培養培地において再懸濁し、そして175cm²のフラスコにおいて1/5に希釈する。

30

【0156】

0日目の朝

トランスフェクションのための細胞の調製

ほぼ集密度の培養物の細胞を分離し、そして上記のようにして、トリプシンによる処理により成分分離する。細胞を培養培地に再懸濁し、そして計数する。細胞懸濁液を、培地により希釈し、約3.5 × 10⁶個の細胞/mlにし、そして細胞懸濁液1mlを、培養培地9mlを含む2個の10cm培養皿上に置く。プレートを、空気中、5%CO₂の湿潤された霧囲気下で37°でインキュベートする。

40

【0157】

0日目の夜

トランスフェクション :

対照 : 0.2 μgのpTK Renilla, 5.8 μgのpBluescript KS, 500 μlのOPTIMEM (GIBCO) 、18 μlのFugene6。

誘発された : 0.1 μgのpMEKK1, 0.2 μgのpTK Renilla, 5.7 μgのpBluescript KS, 500 μlのOPTIMEM (GIBCO) 、18 μlのFugene6、30' RT。

トランスフェクション混合物を、プレートされた細胞に添加する。プレートを、空気中、5%CO₂の湿潤された霧囲気下で37°で一晩、インキュベートする。

50

【0158】

1日目

96ウェルプレート（ウェル当たり100μlの培養培地）を調製する。

負の対照（ピークル）：2μlのDMSOを、前記100μlの培地に添加する（三重反復）。式Iの化合物の原液（100%DMSO中、3, 1及び0.1mM）2μlを、前記100μlの培地に添加する（三重反復）。トランスフェクトされた細胞を、トリプシン処理し、そして12mlの培養培地に再懸濁する。プレートを、空気中、5%CO₂の湿潤された雰囲気下で37℃で一晩、インキュベートする。

【0159】

2日目

10

試験方法：Dual - Luciferase(商標) Reporter Assay System(34)。

培地を、プレートから除去し、そして細胞を100μlのPBSにより2度洗浄する。溶菌試薬を適用する（Passive Lysis Buffer, PLB）。個々の培養ウェル中に、5μlの1×PLBを分配する。培養プレートを、揺動プラットフォーム又はオービタルシェーカー上に、軽く揺動かし又は振盪しながら配置し、1×PLBによる細胞単層の完全な適用範囲を確保する。

【0160】

培養物プレートを、室温で15分間、揺動かす。20μlの溶解物を、白色不透明の96ウェルプレートに移す。発光計読み取りを記録する。50μlのLuciferase Assay Reagent IIを注入し、そして読み取りを、5及び10分で記録する。50μlのStop & Glo(商標) Reagentを注入し、そして読み取りを、5及び10分で記録する。次に、相対的発光を測定する：RLUルシフェラーゼ/RLU Renilla。

20

【0161】

LPSはマウスにおいて内毒素ショックを誘発した

LPS攻撃により誘発される炎症サイトカインのレベルを有意に低める式Iで記載されるJNKインヒビターの能力を、次のプロトコールを用いて評価した：

内毒素は、グラム陰性細菌の外層膜のリポ多糖（LPS）成分である。LPSに対する応答は、異なった細胞集団の活性化を包含し、そして腫瘍壞死因子-α（TNF-α）及びインターフェロン-β（IFN-β）を包含する種々の炎症サイトカインの発現を導くことが示されている。LPSは、JNKを包含する種々のMAPキナーゼ経路の活性化を刺激することが知られているので（35）、JNKインヒビターの能力を、JNKシグナル化経路がLPS攻撃により切り替えられた後、試験することができる。

30

【0162】

式Iの化合物のJNKインヒビターとして野活性を、次のプロトコールを用いて、LPS攻撃の後、評価することができる。

LPS（S. アボルタス（S. abortus） - Galanos Lab.）を、雄C57BL/6マウスに注射し（200μg/kg, i.v.）、内毒素ショックを誘発する。式Iの化合物（0.1, 1, 10mg/kg）又はNaCl（200μM）を、LPS攻撃の15分前、静脈内注射する（10ml/kg）。ヘパリン添加された血液を、LPS攻撃の後、異なった時点で眼窩洞から得、そして血液を9,000rpmで4℃で10分間、遠心分離し、上清液を集め。マウスによるサイトカイン生成物、例えばTNF-α及びIFN-βの測定を、ELISAキット、例えばTNF-αについてのDuoSet(商標) DY410及びIFN-βについてのDY485により行う。（36）に記載されるような他のELISAアッセイを行うことができる。

40

【0163】

アレチネズミにおける全般的な虚血症

発作の間、細胞死を保護する、式Iで記載されるJNKインヒビターの能力を、次のプロトコールを用いて評価した：

アレチネズミの両側頸動脈閉塞は、急性虚血性発作の十分に記載されている動物モデルであり、そして比較的容易な手術技法を包含する。海馬におけるニューロン劣化は、数日間にわたって進行し、そしてしばしば、“遅延されたニューロン死”として言及される。

【0164】

50

さらに、組織学的に観察されるニューロン劣化は、明白であり、そして容易に安定化される(37)。さらに、アレチネズミに見られる組織病理学は、心停止に続いてヒト脳の海馬CA1領域に観察されるその病理学的に類似する。行動性の観察、例えば記憶試験は、アレチネズミの場合、行われ得る。回収の程度の評価のためのこの種の試験は、他のモデルにおいては、例えば学習能力がより不良であるラットにおいては、容易に管理できない(38)。

式Iのニューロン保護効果を、アレチネズミの全般的虚血症モデル及び下記のようなプロトコールを用いて評価することができる:

【0165】

(1) 方法

10

*手術:

- イソフルラン(0.5~4%)による麻酔。
- 頸動脈(左及び右)を、組織から分離する。
- Bullseyeマイクロクランプを用いて、5分間の動脈の閉塞。
- クランプの除去(再灌流)。
- 眼がさめるまで加熱ランプ下での動物の安定化。
- 個々のおりにおける動物の安定化。

【0166】

*殺動物:

20

- 虚血の7日後(断頭又はペントバルビタールの過剰投与)。
- 脳のサンプリング。

*組織学的パラメーター:

- イソペンタンにおける脳の凍結(-20)。
- 凍結-マイクロトームを用いての海馬のスライス(20μm)。
- クレシルバイオレット方法による染色。
- 改良されたGerhard & Boast評点による外傷(海馬のCA1/CA2サブフィールドにおける)の評価。

【0167】

(2) 処理

30

- 式Iの化合物又はビーグルの投与:再灌流(麻酔の回復後5~10分)の後、15分、24時間、及び48時間。
- 標準プロトコール:50匹の動物:8匹の5種のグループ(グループA:対照、グループB-D:3回の用量での試験物質及びグループE:参照化合物(オロト酸、3×300mg/kg, ip))。

式(I)の化合物の溶解性:

前記化合物を、室温でpH7.4での水におけるそれらの溶解性に関して評価した。一般的に、式(I)の化合物の溶解性は、少なくとも50μg/ml溶媒、より好ましくは少なくとも100μg/ml溶媒の範囲にある。化合物1は、pH7.4で室温で、0.18mg/mlの溶解性を示す。

【0168】

参考文献:

40

1. Davis, Roger J., Signal Transduction by the JNK Group of MAP Kinases. *Cell*, 2000, 103: 239-252.
2. Chen, Yi-Rong and Tan, Tse-Hua. The c-Jun N-terminal pathway and apoptotic signaling. *International Journal of Oncology*, 2000, 16: 651-662
3. Ip, YT. And Davis RJ, Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase (JNK) from c-Jun N-terminal kinase (JNK) from inflammation to development *Curr Opin Cell Biol* 1998, 10:205-219.
4. Leppa, S. and Bohmann D., Diverse functions of JNK signalling and c-Jun in stress response and apoptosis, *Oncogene* 1999, 18(45): 6158-6162.
5. Minden, A. and Karin M., Regulation and function if the JNK subgroup of MAP k

50

inases. *Biochim Biophys Acta* 1997, 1333: F85-F104.

【 0 1 6 9 】

6. Whitmarsh, A. J., and Davis. R.J. Transcription factor AP-1: regulation by mitogen activated protein kinases signal transduction pathways. *J. Mol. Med.* 1996, 77, 2360-2371.

7. Gupta, S. et al., Selective interaction of JNK protein kinase isoforms with transcription factors. *The EMBO Journal*, 1996, 158 (11): 2760-2770.

8. Derek D. et al., Absence of excitotoxicity-induced apoptosis in the hippocampus of mice lacking the Jnk3 gene. *Nature* 1997, 389:865-876.

9. Martin, Loel H. et al., Developmental expression in the mouse nervous system of the p49^{3F12} SAP kinase. *Molecular Brain Research*, 1996, 35: 47-57.

10. Kumagae, Y. et al., Human c-Jun N-terminal kinase expression and activation in the nervous system, *Molecular Brain Research* 1999, 67: 10-17

【 0 1 7 0 】

11. Dumitru, Calin D. et al. TNF-alpha induction by LPS is regulated posttranscriptionally via a Tp12/ERK-dependent pathway. *Cell* 2000, 103: 1071-1083.

12. Han, Z. et al., C-Jun N-terminal kinase is required for metalloproteinase expression and joint destruction in inflammatory arthritis. *The Journal of Clinical Investigation* 2001, 108 (1): 73-81.

13. Nishina, H., et al., Impaired CD28-mediated interleukin 2 production and proliferation in stress kinase SAPK/ERK1 kinase (SEK1)/mitogen-activated protein kinase kinase 4 (MKK4)-deficient T lymphocytes. *Journal of Experimental Medicine* 1997, 186 (6): 941-953.

14. Kimpiak, Stephan J. et al., The Jun Kinase Cascade is responsible for activating the CD28 Response element of the IL-2 Promoter. Proof of cross-talk with the IKB Kinase Cascade, *The Journal of Immunology*, 1999, 162: 3176-3187.

【 0 1 7 1 】

15. De la Monte, S. M. et al., Oxygen free radical injury is sufficient to cause some Alzheimer-type molecular abnormalities in human CNS neuronal cells. *J. Alzheimer's Dis.* 2000, 2 (3-4): 261-281.

16. Zhu, X, Activation and redistribution of c-Jun N-terminal Kinase/stress activated protein kinase in degenerating neurons in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry* 2001, 76: 435-441.

17. Force, T. et al., Stress-Activated Protein Kinases in cardiovascular Disease. *Circulation Research*. 1996, 78: 947-953.

18. Kim, S. et al., Angiotensin blockade inhibits activation of mitogen-activated Protein Kinases in Rat balloon-injured artery. *Circulation* 1998, 97:1731-1737.

19. Xu, Q. et al., Acute Hypertension Activates Mitogen-activated Protein Kinases in Arterial Wall. *The Journal of Clinical Investigation* 1996, 97 (2): 508-514.

20. Bogayevitch, M.A. et al., Stimulation of the stress-activated mitogen-activated protein kinase subfamilies in perfused heart. *Circulation Research*. 1996, 79: 162-173.

【 0 1 7 2 】

21. Pombo, CM. et al., The stress-activated protein kinases are major c-Jun amino-terminal kinases activated by ischemia and reperfusion, *J. Biol. Chem.* 1995, 269 (42): 26546-26551.

22. Onishi, I. et al. Activation of c-Jun N-terminal kinase during ischemia and reperfusion in mouse liver, *FEBS Letters* 1997, 420: 201-204.

23. Safirstein, R., Renal stress response and acute renal failure *Adv. Ren. Replace Ther.* 1997, 4 (2 Suppl 1): 38-42.

10

20

30

40

50

24. Butterfield, I. et al., C-Jun NH₂-terminal kinase regulation of the apoptotic response of small cell lung cancer cells to ultraviolet. The journal of Biological Chemistry 1997, 272 (15): 10110-10116.

25. Hu, M. et al., JNK1, JNK2 and JNK3 are p53 N-terminal serine 34 kinases, Oncogene 1997, 15: 2277-2287.

【 0 1 7 3 】

26. Xu, X. et al., Constitutively activated JNK is associated with HTLV-1 mediated tumorigenesis, Oncogene 1996, 13: 135-142.

27. Chen YR and Tan TH, The c-Jun N-terminal Kinase pathway and apoptotic signaling, Int. J. Oncol. 2000, 16 (4): 651-62.

10

28. Harding, T.C. et al., Inhibition of JNK by overexpression of the JNK binding domain of JIP-1 prevents apoptosis in sympathetic neurons, The Journal of Biological Chemistry 2001, 276 (7): 4531-4534.

29. Gennaro, A.R. et al., Remington's Pharmaceutical Sciences. 18th ed. Easton: The Mack Publishing Company. 1995.

30. Gree TW and Wuts PG, 1999, 3rd Edition, Wiley Ed.

【 0 1 7 4 】

31. Abdel-Magid AF et al., Reductive amination of aldehydes and ketones with sodium triacetoxyborohydride. Studies on direct and indirect reductive amination procedures, Journal of Organic Chemistry 1996, 61, 3849-62.

20

32. Xu, L. et al., Assess the in-vivo activation of signal transduction pathways with Pathdetect(商標) reporting systems, Strategies 2001, 14 (1): 17-19.

33. Xu, S. et al., Cloning of rat MEK Kinase 1 cDNA reveals an endogenous membrane-associated 195-Kda protein with a large regulatory domain, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1996, 93: 5291-5295.

34. アメリカ特許第5,744,320号 ; Promega Corporation; April 28, 1998.

35. Guha, M. and Mackman, N., LPS induction of gene expression in human monocytes, Cellular Signalling 2001, 13: 85-94.

【 0 1 7 5 】

36. Fomsgaard, A. et al., Quantification and biological activities of native tumor necrosis factor from LPS-stimulated human monocytes, APMIS 1990, 98 (6): 529-34.

30

37. Hunter J.L. et al., Animal models of acute ischaemic stroke: can they predict clinically successful neuroprotective drugs? TIPS 1995, 16: 123-128.

38. Block, F., Global Ischemia And Behavioural Deficits, Progress in Neurobiology 1995, 58: 279-295.

39. Gerhard SC and Boast CA, Behavioral Neuroscience 1988, 102: 301-303.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 25/08 (2006.01)	A 6 1 P 25/08
A 6 1 P 25/14 (2006.01)	A 6 1 P 25/14
A 6 1 P 25/16 (2006.01)	A 6 1 P 25/16
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
(74)代理人 100117019 弁理士 渡辺 陽一	
(74)代理人 100108903 弁理士 中村 和広	
(74)代理人 100127085 弁理士 越阪部 優子	
(74)代理人 100134784 弁理士 中村 和美	
(74)代理人 100138210 弁理士 池田 達則	
(74)代理人 100141977 弁理士 中島 勝	
(74)代理人 100145436 弁理士 小池 慎太郎	
(74)代理人 100092624 弁理士 鶴田 準一	
(74)代理人 100102990 弁理士 小林 良博	
(74)代理人 100128495 弁理士 出野 知	
(74)代理人 100093665 弁理士 蛭谷 厚志	
(72)発明者 アラジー,セルジュ フランス国,エフ-74100 ベトラ-モントゥー,シュマン デュ グラン クラ 20	
(72)発明者 チャーチ,デニス スイス国,セアッシュ-1291 コミュニュイ,シュマン デ ピニュ 4	
(72)発明者 カンプス,モントセラート イスラエル,セアッシュ-1290 ベルソワ,シュマン ドゥ ラ ピニュ ノワール,21	
(72)発明者 ゴットラン,ジャン-ピエール フランス国,エフ-74160 ボーモン,シュマン デ クレ 423	
(72)発明者 ルエックレ,トーマス スイス国,セアッシュ-1228,プラン-レ-ワット,シュマン デュ プイ 9	
(72)発明者 ピアモント,マルコ アメリカ合衆国,カリフォルニア 92122,サンディエゴ,トスカナ ウェイ 5350 ア パートメント 216	

(72)発明者 アーキンストール, スティーブン
アメリカ合衆国, マサチューセッツ 02478, ベルモント, マーチストリート 31

審査官 岡部 佐知子

(56)参考文献 欧州特許第00138720 (EP, B1)
特表2003-510319 (JP, A)
特表2004-509957 (JP, A)
特表2004-523475 (JP, A)
国際公開第2000/002851 (WO, A1)
国際公開第99/016751 (WO, A1)
国際公開第99/065451 (WO, A1)
米国特許第05238950 (US, A)
国際公開第98/053814 (WO, A1)
Journal of Medicinal Chemistry, 1983年, 26(7), 964-70

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D 409/12

A61K 31/4535

A61P 1/04

A61P 9/00

A61P 11/06

A61P 19/02

A61P 25/00

A61P 25/08

A61P 25/14

A61P 25/16

A61P 25/28

A61P 27/02

A61P 31/04

A61P 35/00

A61P 37/06

A61P 43/00

WPI

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)