

(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2004-509070

(P2004-509070A)

(43) 公表日 平成16年3月25日(2004.3.25)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 07 C 225/20	C O 7 C 225/20	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/136	A 6 1 K 31/136	4 H 0 0 6
A 6 1 K 31/277	A 6 1 K 31/277	
A 6 1 P 1/00	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 1/02	A 6 1 P 1/02	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 60 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2002-500818 (P2002-500818)	(71) 出願人	591002957
(86) (22) 出願日	平成13年5月30日 (2001.5.30)		スミスクライン・ビーチャム・コーポレイ ション
(85) 翻訳文提出日	平成14年11月29日 (2002.11.29)		S M I T H K L I N E B E E C H A M C O R P O R A T I O N
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/017678		アメリカ合衆国ペンシルベニア州1940 6-0939、キング・オブ・プルシア、 スウェードランド・ロード709番
(87) 国際公開番号	W02001/092202	(74) 代理人	100062144
(87) 国際公開日	平成13年12月6日 (2001.12.6)		弁理士 青山 稔
(31) 優先権主張番号	60/207, 911	(74) 代理人	100086405
(32) 優先日	平成12年5月30日 (2000.5.30)		弁理士 河宮 治
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100081422
			弁理士 田中 光雄
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 I L-8 受容体アンタゴニスト

(57) 【要約】

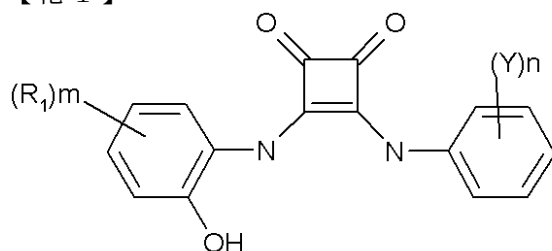
本発明は、ケモカイン、インターロイキン-8 (I L-8) によって媒介される病態の治療におけるジアニリノスクアラートの新規使用に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式：

【化 1】



10

(I)

〔式中、

R_1 は、独立して、水素、ハロゲン、ニトロ、シアノ、ハロ置換 C_{1-10} アルキル、 C_{1-10} アルキル、 C_{2-10} アルケニル、 C_{1-10} アルコキシ、ハロ置換 C_{1-10} アルコキシ、アジド、 $(CR_8R_8)_q S(O)_t R_4$ 、ヒドロキシ、ヒドロキシ C_{1-4} アルキル、アリール、アリール C_{1-4} アルキル、アリールオキシ、アリール C_{1-4} アルキルオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロサイクリック、ヘテロサイクリック C_{1-4} アルキル；ヘテロアリール C_{1-4} アルキルオキシ、アリール C_{2-10} アルケニル、ヘテロアリール C_{2-10} アルケニル、ヘテロサイクリック C_{2-10} アルケニル、 $(CR_8R_8)_q NR_4 R_5$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)NR_4 R_5$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)NR_4 R_5$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)NR_4 R_{10}$ 、 $S(O)_3 H$ 、 $S(O)_3 R_8$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)R_{11}$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)R_{11}$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)OR_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)OR_{12}$ 、 $(CR_8R_8)_q OC(O)R_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q NR_4 C(O)R_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q NH S(O)_2 R_{17}$ 、 $(CR_8R_8)_q$ ；および $(O)_2 NR_4 R_5$ からなる群から選択されるか；または 2 つの R_1 基が一緒になって $O-(CH_2)_s O$ または 5～6 員不飽和環を形成し；

20

q は、0、または 1～10 の値を有する整数であり；

t は、0、または 1 もしくは 2 の値を有する整数であり；

30

s は、1～3 の値を有する整数であり；

R_4 および R_5 は、独立して、水素、置換されていてもよい C_{1-4} アルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいアリール C_{1-4} アルキル、置換されていてもよいヘテロアリール、置換されていてもよいヘテロアリール C_{1-4} アルキル、ヘテロサイクリック、およびヘテロサイクリック C_{1-4} アルキルからなる群から選択されるか、または R_4 および R_5 がそれらが結合している窒素と一緒にあって酸素、窒素または硫黄から選択される付加的ヘテロ原子を含んでいてもよい 5～7 員環を形成し；

Y は、独立して、水素、ハロゲン、ニトロ、シアノ、ハロ置換 C_{1-10} アルキル、 C_{1-10} アルキル、 C_{2-10} アルケニル、 C_{1-10} アルコキシ、ハロ置換 C_{1-10} アルコキシ、アジド、 $(CR_8R_8)_q S(O)_t R_4$ 、ヒドロキシ、ヒドロキシ C_{1-4} アルキル、アリール、アリール C_{1-4} アルキル、アリールオキシ、アリール C_{1-4} アルキルオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリール C_{1-4} アルキルオキシ、ヘテロサイクリック、ヘテロサイクリック C_{1-4} アルキル；アリール C_{2-10} アルケニル、ヘテロアリール C_{2-10} アルケニル、ヘテロサイクリック C_{2-10} アルケニル、 $(CR_8R_8)_q NR_4 R_5$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)NR_4 R_5$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)NR_4 R_5$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)NR_4 R_{10}$ 、 $S(O)_3 H$ 、 $S(O)_3 R_8$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)R_{11}$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)R_{11}$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)OR_{11}$ 、 $C(O)R_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)OR_{12}$ 、 $(CR_8R_8)_q OC(O)R_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q NR_4 C(O)R_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q NH S(O)_2 R_d$ 、および $(CR_8R_8)_q S(O)$

40

50

- $_2 \text{NR}_4 \text{R}_5$ からなる群から選択されるか；または、2つのY基が一緒になって $\text{O} - (\text{CH}_2)_s \text{O} -$ または5～6員不飽和環を形成し；
- nは、1～5の値を有する整数であり；
- mは、1～4の値を有する整数であり；
- R_8 は、水素または C_{1-4} アルキルであり；
- R_{10} は、 C_{1-10} アルキル $\text{C}(\text{O})_2 \text{R}_8$ であり；
- R_{11} は、水素、 C_{1-4} アルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいアリール C_{1-4} アルキル、置換されていてもよいヘテロアリール、置換されていてもよいヘテロアリール C_{1-4} アルキル、置換されていてもよいヘテロサイクリック、および置換されていてもよいヘテロサイクリック C_{1-4} アルキルからなる群から選択され； 10
- R_{12} は、水素、 C_{1-10} アルキル、置換されていてもよいアリールおよび置換されていてもよいアリールアルキルから選択され；
- R_{17} は、 C_{1-4} アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリール C_{1-4} アルキル、ヘテロサイクリック、およびヘテロサイクリック C_{1-4} アルキルからなる群から選択され、ここで、アリール、ヘテロアリールおよびヘテロサイクリック環は、全て、置換されていてもよい]
- で示される化合物。
- 【請求項2】
- 3- (2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2-ブロモフェニルアミノ) -シクロ 20
 ブター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2, 3-ジクロロフェニルアミノ) -
 シクロブター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (4-ニトロ-2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4-フェニルアミノ-シクロブ
 ター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (4-シアノ-2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4-フェニルアミノ-シクロブ
 ター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (2-メトキシベンジルアミノ) -4-フェニルアミノ-シクロブター-3-エン-
 1, 2-ジオン、
- 3- (4-シアノ-2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2-ブロモフェニルアミ 30
 ノ) -シクロブター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (4-シアノ-2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2-クロロフェニルアミ
 ノ) -シクロブター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (4-シアノ-2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2, 3-ジクロロフェニ
 ルアミノ) -シクロブター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2-フェニルフェニルアミノ) -シク
 ロブター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2-メトキシフェニルアミノ) -シク
 ロブター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2-エチルフェニルアミノ) -シクロ 40
 ブター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2-フェノキシフェニルアミノ) -シ
 クロブター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 3- (2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2-クロロフェニルアミノ) -シクロ
 ブター-3-エン-1, 2-ジオン、
- 6-クロロ-3- (3, 4-ジオキソ-2-フェニルアミノ-シクロブター-1-エニルア
 ミノ) -2-ヒドロキシベンゼンスルホンアミド、
- 3, 4-ビス- (4-シアノ-2-ヒドロキシフェニルアミノ) -シクロブター-3-エン
 -1, 2-ジオン、
- 3- (2-ヒドロキシフェニルアミノ) -4- (2, 3-ジメチルフェニルアミノ) - 50

シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-メチル-4-ブロモフェニルアミノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-プロピルフェニルアミノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-メチル-3-クロロフェニルアミノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2, 3-ジメトキシフェニルアミノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-クロロ-3-メチルフェニルアミノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(4-ニトロ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-ブロモフェニルアミノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(4-ニトロ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-クロロフェニルアミノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3, 4-ビス-(4-ニトロ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-[(2-ヒドロキシフェニル)-メチルアミノ]-4-フェニルアミノシクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(3-ヒドロキシピリジン-2-イルアミノ)-4-フェニルアミノシクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 またはその医薬上許容される塩
 である請求項1記載の化合物。

10

20

【請求項3】

有効量の請求項1記載の化合物、および医薬上許容される担体または希釈剤を含む医薬組成物。

【請求項4】

哺乳動物における、ケモカインがIL-8 α または β 受容体に結合するケモカイン媒介病態の治療方法であって、該哺乳動物に有効量の請求項1記載の式で示される化合物を投与することを含む方法。

30

【請求項5】

哺乳動物が17から選択されるケモカイン媒介疾患に悩んでいる請求項4記載の方法。

【請求項6】

哺乳動物がアトピー性皮膚炎、変形性関節症、慢性関節リウマチ、喘息、慢性閉塞性肺疾患、成人呼吸窮迫症候群、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、卒中、敗血症性ショック、多発性硬化症、エンドトキシンショック、乾癬、グラム陰性敗血症、トキシックショック症候群、心臓および腎臓再灌流傷害、糸球体腎炎、血栓症、対宿主性移植片反応、アルツハイマー病、同種移植片拒絶反応、マラリア、再狭窄、脈管形成、アテローム性動脈硬化症、骨粗鬆症、歯肉炎および望ましくない造血性幹細胞放出、呼吸器ウイルス、ヘルペスウイルスおよび肝炎ウイルスによって引き起こされる疾患、髄膜炎、ヘルペス脳炎、CNS脈管炎、外傷性脳損傷、CNS腫瘍、クモ膜下出血、術後外傷、嚢胞性線維症、早期分娩、咳、掻痒症、間質性肺炎、過敏症、結晶性関節炎、ライム関節炎、進行性骨化性線維形成異常症、急性および慢性脾炎、急性アルコール性肝炎、壊死性全腸炎、慢性副鼻腔炎、ブドウ膜炎、多発性筋炎、脈管炎、ざ瘡、胃および十二指腸潰瘍、セリアック病、食道炎、舌炎、気道閉塞、気道反応性亢進、閉塞性細気管支炎器質化肺炎、気管支拡張症、細気管支炎、閉塞性細気管支炎、慢性気管支炎、肺性心、呼吸困難、気腫、高炭酸ガス症、過膨張、低酸素血症、低酸素症、外科的肺気量減少、肺線維症、肺高血圧、右心室肥大、サルコイドーシス、小気道疾患、呼吸-還流不適合、ぜん鳴および狼瘡から選択されるケモカイン媒介疾患に悩んでいる請求項16記載の方法。

40

【発明の詳細な説明】

50

【0001】

(発明の分野)

本発明は、新規ジアニリノスクアラン化合物群、その製造方法、IL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2、およびENA-78媒介疾患の治療におけるそれらの使用、ならびにかかる治療に使用するための医薬組成物に関する。

【0002】

(発明の背景)

インターロイキン-8 (IL-8) に対し、好中球誘引/活性化タンパク質-1 (NAP-1)、単球由来好中球走化性因子 (MDNCF)、好中球活性化因子 (NAF) およびT-細胞リンパ球走化性因子などの、多数の異なる名称が使われている。インターロイキン-8は、好中球、好塩基球、およびT-細胞のサブセットに対する化学誘引物質である。これは、TNF、IL-1 α 、IL-1 β またはLPSに曝露されたマクロファージ、線維芽細胞、内皮細胞および上皮細胞を含むほとんどの有核細胞により、およびLPSまたはFMLPのような走化性因子に曝露された場合に好中球自体により産生される。M. Baggiolini et al., J. Clin. Invest. 84, 1045 (1989); J. Schroder et al., J. Immunol. 139, 3474 (1987) および J. Immunol. 144, 2223 (1990); Strieter et al., Science 243, 1467 (1989) および J. Biol. Chem. 264, 10621 (1989); Casatella et al., J. Immunol. 148, 3216 (1992)。

【0003】

Gro α 、GRO β 、GRO γ およびNAP-2もまたケモカイン α ファミリーに属する。IL-8と同様に、これらのケモカインもまた様々な名称で呼ばれてきた。例えば、GRO α 、 β 、 γ は、各々、MGSA α 、 β および γ と呼ばれてきた(黒色腫増殖刺激活性)。Richmond et al., J. Cell Physiology 129, 375 (1986) および Chang et al., J. Immunol 148, 451 (1992) を参照のこと。CXCモチーフの直ぐ前にELRモチーフを有する α -ファミリーのケモカインは、全て、IL-8受容体に結合する。

【0004】

IL-8、Gro α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2、およびENA-78は、インビトロで多くの機能を刺激する。それらはすべて好中球に対して化学誘引性を有することが明らかにされたが、IL-8およびGRO α はT-リンパ球および好塩基球走化性活性を示した。加えて、IL-8は正常な個体由来およびアトピー性個体由来の両方の好塩基球からのヒスタミン放出を誘発しうる。GRO- α およびIL-8はさらに、好中球からのリソソーム酵素放出および呼吸バーストを誘発しうる。IL-8はまた、新たにタンパク質を合成することなく、好中球上でのMac-1 (CD11b/CD18)の表面発現を増加させることが明らかにされた。このことは、好中球の血管内皮細胞への付着の増加を引き起こすかもしれない。多くの既知の疾患が、大量の好中球浸潤により特徴付けられる。IL-8、Gro α 、GRO β 、GRO γ およびNAP-2は好中球の蓄積および活性化を促進するので、これらのケモカインは、乾癬および慢性関節リウマチを含む広範囲に及ぶ急性および慢性炎症性障害と関係付けられてきた。Baggiolini et al., FEBS Lett. 307, 97 (1992); Miller et al., Crit. Rev. Immunol. 12, 17 (1992); Oppenheim et al., Annu. Rev. Immunol. 9, 617 (1991); Seitz et al., J. Clin. Invest. 87, 463 (1991); Miller et al., Am. Rev. Respir. Dis. 146, 427 (1992); Donnelly et al., Lancet 341, 643 (1993)。加えて、ELRケモカイン(CXCモチーフの直前にアミノ酸ELRモチーフを含有するもの)はまた、アンギオスタシス(angiotasis)とも関連付

けられてきた。Strieter et al., Science 258, 1798 (1992)。

【0005】

インビトロで、IL-8、Gro α 、Gro β 、Gro γ およびNAP-2は、7回膜貫通型G-タンパク質結合ファミリーの受容体と結合してそれを活性化することにより、特に、IL-8受容体、最も顕著には、B受容体と結合することにより、好中球形状変化、走化性、顆粒放出および呼吸バーストを誘発する。Thomas et al., J. Biol. Chem. 266, 14839 (1991); および Holmes et al., Science 253, 1278 (1991)。この受容体ファミリーのメンバーに対する非ペプチド性小型分子アンタゴニストの開発が進められてきた。総説については、R. Freidinger in: Progress in Drug Research, Vol. 40, pp. 33-98, Birkhauser Verlag, Basel 1993 を参照のこと。したがって、IL-8受容体は新規抗炎症剤の創薬のための有望な標的である。

10

【0006】

2つの高親和性ヒトIL-8受容体(77%相同性)が特徴付けられている: IL-8R α はIL-8のみと高親和性をもって結合し、IL-8R β はIL-8に対して、ならびにGro α 、Gro β 、Gro γ およびNAP-2に対して高親和性を有する。Holmes et al., 上掲; Murphy et al., Science 253, 1280 (1991); Lee et al., J. Biol. Chem. 267, 16283 (1992); LaRosa et al., J. Biol. Chem. 267, 25402 (1992); および Gayle et al., J. Biol. Chem. 268, 7283 (1993) を参照のこと。

20

【0007】

当該分野において、IL-8 α または β 受容体との結合能を有する化合物に対する処理が依然として必要とされている。したがって、IL-8産生の増加(好中球およびT-細胞サブセットの炎症部位への走化性に関与する)に付随する症状はIL-8受容体結合の阻害物質である化合物により利益を得るであろう。

【0008】

(発明の概要)

本発明は、ケモカインがIL-8 α または β 受容体に結合するものであるケモカイン媒介疾患の治療法であって、有効量の式(I)で示される化合物またはその医薬上許容される塩を投与することを含む方法を提供する。特に、ケモカインはIL-8である。

30

【0009】

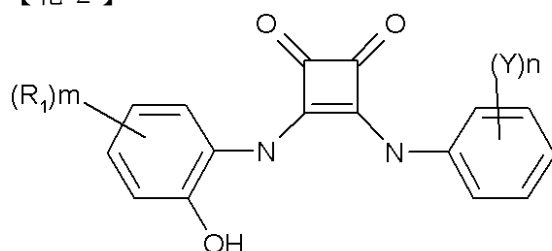
本発明は、また、IL-8とその受容体との結合の阻害を必要とする哺乳動物におけるかかる阻害方法であって、かかる哺乳動物に有効量の式(I)で示される化合物を投与することを含む方法に関する。

【0010】

本発明に有用な式(I)で示される化合物は、構造式:

【化2】

40



(I)

[式中、

R₁ は、独立して、水素、ハロゲン、ニトロ、シアノ、ハロ置換C₁-₁₀アルキル、C

50

C_{1-10} アルキル、 C_{2-10} アルケニル、 C_{1-10} アルコキシ、ハロ置換 C_{1-10} アルコキシ、アジド、 $(CR_8R_8)_q S(O)_t R_4$ 、ヒドロキシ、ヒドロキシ C_{1-4} アルキル、アリール、アリール C_{1-4} アルキル、アリールオキシ、アリール C_{1-4} アルキルオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロサイクリック、ヘテロサイクリック C_{1-4} アルキル、；ヘテロアリール C_{1-4} アルキルオキシ、アリール C_{2-10} アルケニル、ヘテロアリール C_{2-10} アルケニル、ヘテロサイクリック C_{2-10} アルケニル、 $(CR_8R_8)_q NR_4R_5$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)NR_4R_5$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)NR_4R_5$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)NR_4R_{10}$ 、 $S(O)_3H$ 、 $S(O)_3R_8$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)R_{11}$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)R_{11}$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)OR_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)OR_{12}$ 、 $(CR_8R_8)_q OC(O)R_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q NR_4C(O)R_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q NHSS(O)_2R_{17}$ 、 $(CR_8R_8)_q S(O)_2NR_4R_5$ からなる群から選択されるか；または2つの R_1 基が一緒になって $O-(CH_2)_sO$ または5～6員不飽和環を形成し；

q は、0、または1～10の値を有する整数であり；

t は、0、または1もしくは2の値を有する整数であり；

s は、1～3の値を有する整数であり；

R_4 および R_5 は、独立して、水素、置換されていてもよい C_{1-4} アルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいアリール C_{1-4} アルキル、置換されていてもよいヘテロアリール、置換されていてもよいヘテロアリール C_{1-4} アルキル、ヘテロサイクリック、およびヘテロサイクリック C_{1-4} アルキルからなる群から選択されるか、または R_4 および R_5 がそれらが結合している窒素と一緒に becoming 酸素、窒素または硫黄から選択される付加的ヘテロ原子を含んでもよい5～7員環を形成し；

Y は、独立して、水素、ハロゲン、ニトロ、シアノ、ハロ置換 C_{1-10} アルキル、 C_{1-10} アルキル、 C_{2-10} アルケニル、 C_{1-10} アルコキシ、ハロ置換 C_{1-10} アルコキシ、アジド、 $(CR_8R_8)_q S(O)_t R_4$ 、ヒドロキシ、ヒドロキシ C_{1-4} アルキル、アリール、アリール C_{1-4} アルキル、アリールオキシ、アリール C_{1-4} アルキルオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリール C_{1-4} アルキルオキシ、ヘテロサイクリック、ヘテロサイクリック C_{1-4} アルキル；アリール C_{2-10} アルケニル、ヘテロアリール C_{2-10} アルケニル、ヘテロサイクリック C_{2-10} アルケニル、 $(CR_8R_8)_q NR_4R_5$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)NR_4R_5$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)NR_4R_5$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)NR_4R_{10}$ 、 $S(O)_3H$ 、 $S(O)_3R_8$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)R_{11}$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)R_{11}$ 、 C_{2-10} アルケニル $C(O)OR_{11}$ 、 $C(O)R_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q C(O)OR_{12}$ 、 $(CR_8R_8)_q OC(O)R_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q NR_4C(O)R_{11}$ 、 $(CR_8R_8)_q NHSS(O)_2R_d$ 、および $(CR_8R_8)_q S(O)_2NR_4R_5$ からなる群から選択されるか；または2つの Y 基が一緒になって $O-(CH_2)_sO$ または5～6員不飽和環を形成し；

n は、1～5の値を有する整数であり；

m は、1～4の値を有する整数であり；

R_8 は、水素または C_{1-4} アルキルであり；

R_{10} は、 C_{1-10} アルキル $C(O)_2R_8$ であり；

R_{11} は、水素、 C_{1-4} アルキル、置換されていてもよいアリール、置換されていてもよいアリール C_{1-4} アルキル、置換されていてもよいヘテロアリール、置換されていてもよいヘテロアリール C_{1-4} アルキル、置換されていてもよいヘテロサイクリック、および置換されていてもよいヘテロサイクリック C_{1-4} アルキルからなる群から選択され；

R_{12} は、水素、 C_{1-10} アルキル、置換されていてもよいアリールおよび置換されていてもよいアリールアルキルから選択され；

R_{17} は、 C_{1-4} アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロアリール、ヘテロア

リール $C_1 - 4$ アルキル、ヘテロサイクリック、およびヘテロサイクリック $C_1 - 4$ アルキルからなる群から選択され、ここで、アリール、ヘテロアリールおよびヘテロサイクリック環は、全て、置換されていてもよい]

で示される。

【0011】

(発明の詳細な説明)

式 (I) で示される化合物はまた、IL-8 または IL-8 RA および RB 受容体と結合する他のケモカインの阻害を必要とする、ヒト以外の哺乳動物の獣医学的治療に関連しても用いられる。動物における治療的または予防的処置に関するケモカイン媒介疾患は、本明細書において治療法のセクションに列挙するような病態を包含する。

10

【0012】

本明細書で用いる場合、以下の用語は、以下のとおり意味する：

【0013】

・「ハロ」は、全てのハロゲン、すなわち、クロロ、フルオロ、ブロモおよびヨードを意味する。

【0014】

・「 $C_2 - 5$ アルキル」または「アルキル」は、共に、鎖長を他に限定しない限り、炭素原子 2 ～ 5 個の直鎖または分枝鎖を意味し、メチル、エチル、*n*-プロピル、*i*sopropyl、*n*-ブチル、sec-butyl、isobutyl、tert-butyl、*n*-ペンチルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

20

【0015】

・「アルケニル」なる用語は、全ての場合、鎖長を他に限定しない限り、炭素原子 2 ～ 10 個の直鎖または分枝鎖を意味するために用いられ、エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、2-メチル-1-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニルなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0016】

・「アリール」は、フェニルおよびナフチルを意味する。

【0017】

・「ヘテロアリール」(それ自体で、または「ヘテロアリールオキシ」もしくは「ヘテロアリールアルキル」のようないずれもの組合せにおいて)は、1 個またはそれ以上の環が N、O または S からなる群から選択される 1 個またはそれ以上のヘテロ原子を含有する 5 ～ 10 員芳香環系を意味し、例えば、ピロール、ピラゾール、フラン、チオフェン、キノリン、イソキノリン、キナゾリニル、ピリジン、ピリミジン、オキサゾール、チアゾール、チアジアゾール、トリアゾール、イミダゾール、またはベンゾイミダゾールが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

30

【0018】

・「ヘテロサイクリック」(それ自体で、または「ヘテロサイクリックアルキル」のようないずれもの組合せにおいて)は、1 個またはそれ以上の環が N、O、または S からなる群から選択される 1 個またはそれ以上のヘテロ原子を含有する飽和または部分不飽和 4 ～ 10 員環系を意味する；例えば、ピロリジン、ピペリジン、ピペラジン、モルホリン、テトラヒドロピラン、またはイミダゾリジンが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

40

【0019】

・「アリールアルキル」または「ヘテロアリールアルキル」または「ヘテロサイクリックアルキル」なる用語は、本明細書において、他に指示しない限り、本明細書で定義したアリール、ヘテロアリールまたはヘテロサイクリック基に結合した、上記で定義した $C_1 - 10$ アルキルを意味するために用いられる。

【0020】

式 (I) で示される化合物の例としては、以下の化合物が挙げられる：

3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-ブロモフェニルアミノ)-シクロ

50

- ブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2, 3-ジクロロフェニルアミノ)-
 シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(4-ニトロ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-フェニルアミノ-シクロブ
 タ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(4-シアノ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-フェニルアミノ-シクロブ
 タ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-メトキシベンジルアミノ)-4-フェニルアミノ-シクロブタ-3-エン-
 1, 2-ジオン、
 3-(4-シアノ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-ブロモフェニルアミ 10
 ノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(4-シアノ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-クロロフェニルアミ
 ノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(4-シアノ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2, 3-ジクロロフェニ
 ルアミノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-フェニルフェニルアミノ)-シク
 ロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-メトキシフェニルアミノ)-シク
 ロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-エチルフェニルアミノ)-シクロ 20
 ブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-フェノキシフェニルアミノ)-シ
 クロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-クロロフェニルアミノ)-シクロ
 ブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 6-クロロ-3-(3, 4-ジオキソ-2-フェニルアミノ-シクロブタ-1-エニルア
 ミノ)-2-ヒドロキシベンゼンスルホンアミド、
 3, 4-ビス-(4-シアノ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-シクロブタ-3-エン
 -1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2, 3-ジメチルフェニルアミノ)- 30
 シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-メチル-4-ブロモフェニルアミ
 ノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-プロピルフェニルアミノ)-シク
 ロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-メチル-3-クロロフェニルアミ
 ノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2, 3-ジメトキシフェニルアミノ)
 -シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-クロロ-3-メチルフェニルアミ 40
 ノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(4-ニトロ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-ブロモフェニルアミ
 ノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(4-ニトロ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-4-(2-クロロフェニルアミ
 ノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3, 4-ビス-(4-ニトロ-2-ヒドロキシフェニルアミノ)-シクロブタ-3-エン
 -1, 2-ジオン、
 3-[(2-ヒドロキシフェニル)-メチル-アミノ]-4-フェニルアミノ-シクロ
 ブタ-3-エン-1, 2-ジオン、
 3-(3-ヒドロキシピリジン-2-イルアミノ)-4-フェニルアミノ-シクロブタ 50

－ 3 － エン － 1 , 2 － ジオン、
またはその医薬上許容される塩。

【 0 0 2 1 】

製造方法

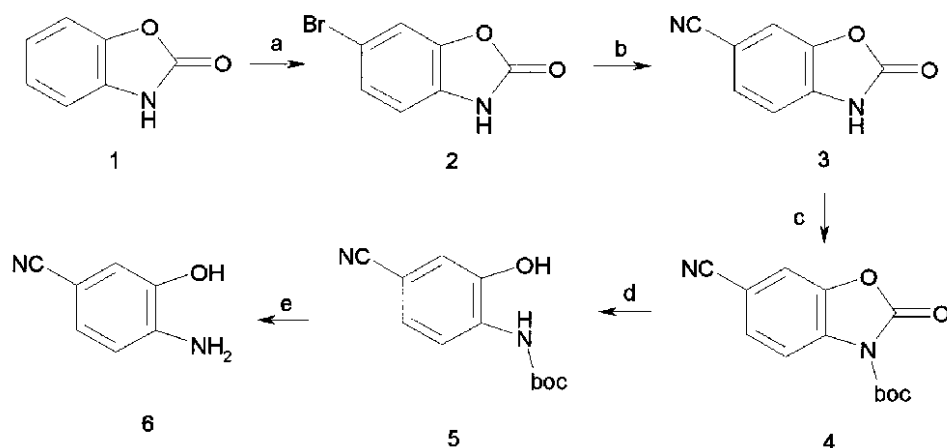
式 (I) で示される化合物は、いくつかを以下のスキームに例示する合成法を用いることによって得ることができる。これらのスキームにおいて提供される合成法は、本明細書に概要を記載した反応との適合性を達成するように適当に保護される任意の置換基を用いて反応させられる種々の R、R₁、およびアリール基を有する式 (I) で示される化合物の製造に用いることができる。これらの場合において、次なる脱保護により、一般的に開示されている性質を有する化合物が得られる。グアニジン核が一旦確立されると、これらの式で示されるさらなる化合物は、当該技術分野においてよく知られている官能基相互変換の標準的な技法を用いることにより調製することができる。該スキームは、式 (I) で示される化合物についてのみ示されているが、これは、単に例示目的のためだけである。

10

【 0 0 2 2 】

【 化 3 】

スキーム 1



20

a) Br₂, NaOAc, HOAc; b) CuCN, DMF, 還流; c) (BOC)₂O, DMAP, TEA;
d) K₂CO₃, MeOH; e) TFA

30

【 0 0 2 3 】

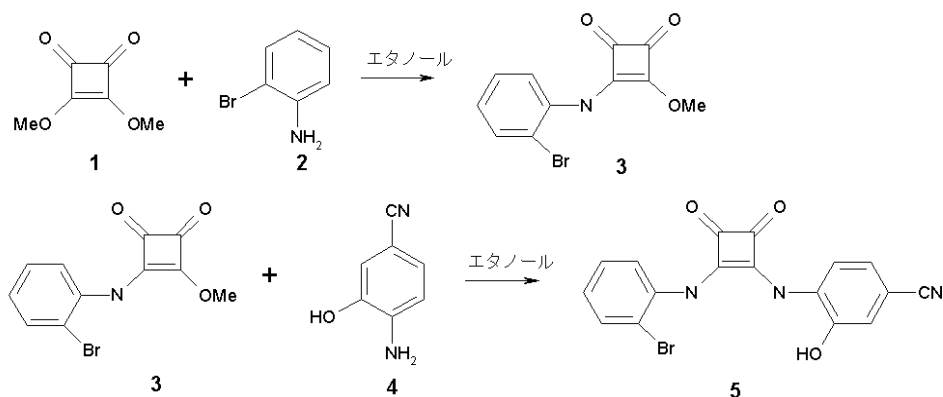
所望のアニリン 6 スキーム 1 は、市販のベンゾオキサゾリノン 1 スキーム 1 から製造され得る。酢酸中の臭素および酢酸ナトリウムのような標準的な臭素化条件を用いてベンゾオキサゾリノン 1 スキーム 1 から臭素化物 2 スキーム 1 を製造することができる。還流 DMF 中シアン化銅 (I) のような標準的な手法を用いて臭素化物 2 スキーム 1 をシアン化物 3 スキーム 1 に転換することができる。塩化メチレンまたは他の適当な有機溶媒中、BOC 無水物およびトリエチルアミンならびに触媒量のジメチルアミノピリジンのような標準的な条件を用いてアミド 3 スキーム 1 を BOC 保護化合物 4 スキーム 1 に転換することができる。オキサゾリノン 4 スキーム 1 を、まず、メタノール中の炭酸カリウムのような標準的な条件を用いてフェノール 5 スキーム 1 に加水分解し、次いで、塩化メチレンまたは他の適当な有機溶媒中のトリフルオロ酢酸のような標準的な条件を用いて BOC 保護基を除去してアニリン 6 スキーム 1 を得ることによって、所望のアニリン 6 スキーム 1 に転換することができる。

40

【 0 0 2 4 】

【 化 4 】

スキーム 2



10

【0025】

構造式5で示される化合物は、スキーム1に概略記載するように市販のスクエア酸ジメチルエーテル1から得られる。還流エタノールまたは他の適当な有機溶媒中、スクエア酸ジエチルエーテル1と所望のアニリン2とを反応させることによって中間体3を得ることができる。還流エタノールまたは他の適当な有機溶媒中、スクアラン3と第2のアニリン4

20

【0026】

合成実施例

単なる例示であり、本発明の範囲を限定するものではない以下の実施例を引用して本発明を記載する。温度は、全て、摂氏で示され、溶媒は、全て、入手可能な最高純度のものであり、反応は、全て、他に指示しない限り、アルゴン雰囲気下で無水条件下にて行われる。

【0027】

実施例において、温度は、全て、摂氏(℃)で示される。質量スペクトルは、他に指示しない限り、高速原子衝撃を用いてVG Zab質量分析計にて行なった。¹H-NMR (以下、「NMR」と記す)スペクトルは、Bruker AM 250またはAm 400分光計を用いて、250 MHzで記録した。示される多重度は、s＝一重線、d＝二重線、t＝三重線、q＝四重線、m＝多重線を表し、brは幅広いシグナルを表す。Sat.は飽和溶液を表し、当量は主たる反応体に対する試薬のモル当量の割合を表す。

30

【0028】

3-(2,3-ジクロロアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター3-エン-1,2-ジオン
3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター3-エン-1,2-ジオン(100 mg、0.43 mmol)のトルエン(2 mL)およびDMSO(1滴)中溶液に2,3-ジクロロアニリン(0.07 mL、0.43 mmol)を添加し、反応を110℃で一夜撹拌した。得られた固体を濾過により回収し、酢酸エチルで洗浄してトルエンを除去し、真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 349 (M⁺)。

40

【0029】

3-(2-ブロモアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター3-エン-1,2-ジオン
3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター3-エン-1,2-ジオン(50 mg、0.21 mmol)のDMSO(1.5 mL)中溶液に2-ブロモアニリン(36.9 mg、0.21 mmol)を添加し、反応を110℃で一夜撹拌した。反応をHPLC(アセトニトリル：水)にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 359 (M⁻)。

50

【0030】

3-(2-フェニルアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 2-アミノビフェニル (36.3 mg、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜攪拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 357.2 (M^+)。

【0031】

3-(2-メトキシアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン 10

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 2-メトキシアニリン (0.024 mL、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜攪拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 311.4 (M^+)。

【0032】

3-(2-エチルアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 2-エチルアニリン (0.024 mL、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜攪拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 309 (M^+)。 20

【0033】

3-(2-フェノキシアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 2-ペノキシアニリン (49 mg、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜攪拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 373 (M^+)。 30

【0034】

3-(2-クロロアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 2-クロロアニリン (0.023 mL、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜攪拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 315 (M^+)。 40

【0035】

3-(2-メチルアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3-エン-1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 2-メチルアニリン (0.023 mL、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜攪拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 295 (M^+)。

【0036】

3-(2, 3-ジメチルアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブタ-3 50

ーエンー 1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 2, 3-ジメチルアニリン (0.026 mL、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜撹拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 309 (M^+)。

【0037】

3-(4-ブロモ-2-メチルアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 4-ブロモ-2-メチルアニリン (40 mg、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜撹拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 373 (M^+)。 10

【0038】

3-(2-プロピルアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 2-プロピルアニリン (0.030 mL、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜撹拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 323 (M^+)。 20

【0039】

3-(3-クロロ-2-メチルアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 3-クロロ-2-メチルアニリン (0.026 mL、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜撹拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 329 (M^+)。 30

【0040】

3-(2, 3-メトキシアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 2, 3-メトキシアニリン (0.031 mL、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜撹拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 341 (M^+)。

【0041】

3-(2-クロロ-3-メチルアニリノ)-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン 40

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-シクロブター 3-エンー 1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) の DMSO (1.5 mL) 中溶液に 2-クロロ-3-メチルアニリン (0.026 mL、0.21 mmol) を添加し、反応を 110 °C で一夜撹拌した。反応を HPLC (アセトニトリル：水) にて精製し、生成物を濃縮した。固体を真空乾燥させた。LC-MS (m/z) 329 (M^+)。

【0042】

3-(2-ヒドロキシアニリノ)-4-(2-ブロモアニリノ)-3-シクロブテンー 1, 2-ジオン

室温で、ブロモアニリン (74 mg、0.43 mmol) にトルエン中 2 M トリメチルア 50

ルミニウム 214 μL を添加した。該混合物をガス発生が止むまで攪拌し、次いで、塩化メチレン 1 mL 中の 3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン (50 mg、0.21 mmol) を添加した。該混合物を室温で一夜反応させた。該反応混合物を水でクエンチし、次いで、水で後処理した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮した。Gilson HPLC に付した後、精製生成物 14 mg (12%) を得た。LCMS (H^+) 359。

【0043】

3-(2-ブロモアニリノ)-4-(2-ヒドロキシ-4-シアノアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン

3, 4-ジエトキシ-3-シクロブテン-1, 2-ジオン (1.2 mL、8.12 mmol) および 3-ヒドロキシ-4-アミノベンゾトリル (1.25 g、8.11 mmol) のエタノール中溶液を 85 $^{\circ}\text{C}$ で一夜加熱した。黄褐色の沈澱物が形成する。固体を濾過し、回収した。3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシ-4-シアノアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン 1.12 g (53%) を得た。LC/MS (H^+) 259。

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシ-4-シアノアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン (0.7 g、2.71 mmol) と 2-ブロモアニリン (0.47 g、2.73 mmol) との混合物を DMSO 6 mL 中にて一夜加熱した。該反応混合物を室温に冷却し、酢酸エチルを添加し、沈澱物が形成した。濾液を酢酸エチルと水との間で分配させた。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮した。Gilson HPLC に付した後、精製生成物 34 mg (3%) を得た。LC/MS (H^+) 386。

【0044】

3-(2-ブロモアニリノ)-4-(2-ヒドロキシ-4-ニトロアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシ-4-ニトロアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン (0.39 g、1.4 mmol) および 2-ブロモアニリン (0.36 g、2.09 mmol) の DMSO 2 mL 中溶液を 110 $^{\circ}\text{C}$ で一夜加熱した。該反応混合物を室温に冷却し、酢酸エチルを添加し、沈澱物が形成した。濾液を酢酸エチルと水との間で分配させた。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮した。アセトンおよびヘキサンからの滴定によって 3-(2-ブロモアニリノ)-4-(2-ヒドロキシ-4-ニトロアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン 106 mg (19%) を得た。LCMS (H^+) 404。

【0045】

3-(2-クロロアニリノ)-4-(2-ヒドロキシ-4-ニトロアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシ-4-ニトロアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン (0.38 g、1.37 mmol) および 2-クロロアニリン (0.23 mL、2.2 mmol) の DMSO 2 mL 中溶液を 110 $^{\circ}\text{C}$ で一夜加熱した。該反応混合物を室温に冷却し、酢酸エチルを添加し、沈澱物が形成した。濾液を酢酸エチルと水との間で分配させた。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮した。酢酸エチルおよびヘキサンから再結晶して、3-(2-クロロアニリノ)-4-(2-ヒドロキシ-4-ニトロアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン 203 mg (41%) を得た。LCMS (H^+) 360。

【0046】

3-(2, 3-ジクロロアニリノ)-4-(2-ヒドロキシ-4-ニトロアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン

3-エトキシ-4-(2-ヒドロキシ-4-ニトロアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン (0.40 g、1.44 mmol) および 2, 3-ジクロロアニリン (0.34 g、2.10 mmol) の DMSO 2 mL 中溶液を 110 $^{\circ}\text{C}$ で一夜加熱した。該反応混合物を室温に冷却し、酢酸エチルを添加し、沈澱物が形成した。濾過ケーキを回収した。アセトンおよびヘキサンからの滴定によって 3-(2-クロロアニリノ)-4-(2-

10

20

30

40

50

ヒドロキシ-4-ニトロアニリノ)-3-シクロブテン-1, 2-ジオン 68 mg (11%)を得た。LCMS (H⁺) 394。

【0047】

治療法

式(I)で示される化合物またはその医薬上許容される塩を、ヒトまたは他の哺乳動物における、かかる哺乳動物の細胞、例えば、限定されないが、単球および／またはマクロファージ、またはIL-8α受容体もしくはβ受容体(I型受容体もしくはII型受容体とも称する)と結合する他のケモカインなどによる過剰または未調整のIL-8サイトカイン産生により悪化するかまたは引き起こされる病態の予防的または治療的処置用医薬の製造において用いることができる。

10

【0048】

したがって、本発明は、ケモカインがIL-8αまたはβ受容体と結合するものであるケモカイン媒介疾患の治療法であって、有効量の式(I)で示される化合物またはその医薬上許容される塩を投与することを含む方法を提供する。特に、ケモカインは、IL-8、GROα、GROβ、GROγ、NAP-2またはENA-78である。

【0049】

式(I)で示される化合物は、サイトカイン機能、特に、IL-8、GROα、GROβ、GROγ、NAP-2またはENA-78を阻害して、生理学的機能を正常なレベルまたは場合によっては正常下レベルに生物学的にダウンレギュレートして病態を改善するのに十分な量で投与される。例えば、本発明に関するIL-8、GROα、GROβ、GROγ、NAP-2またはENA-78の異常なレベルとは、(i)1ピコグラム/mL以上の遊離IL-8のレベル；(ii)正常な生理学的レベルより高いいずれかの細胞性IL-8、GROα、GROβ、GROγ、NAP-2またはENA-78；または(iii)IL-8、GROα、GROβ、GROγ、NAP-2またはENA-78を各々産生する細胞または組織における基底レベル以上のIL-8、GROα、GROβ、GROγ、NAP-2またはENA-78の存在である。

20

【0050】

式(I)で示される化合物は、一般に、WO 96/25157およびWO 97/29743(出典明示により本明細書の記載とする)に開示されている化合物よりも長いt₁/t₂および改良された経口生物学的利用能を有することが証明されている。

30

【0051】

過度または未調整のIL-8産生が疾患の憎悪および／または発生に関与している多くの病態がある。ケモカイン媒介疾患としては、乾癬、アトピー性皮膚炎、変形性関節症、慢性関節リウマチ、喘息、慢性閉塞性肺疾患、成人呼吸窮迫症候群、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、卒中、敗血症性ショック、多発性硬化症、エンドトキシンショック、グラム陰性敗血症、トキシックショック症候群、心臓および腎臓再灌流傷害、糸球体腎炎、血栓症、対宿主性移植片反応、アルツハイマー病、同種移植片拒絶反応、マラリア、再狭窄、脈管形成、アテローム性動脈硬化症、骨粗鬆症、歯肉炎および望ましくない造血性幹細胞放出、ならびに呼吸器ウイルス、ヘルペスウイルスおよび肝炎ウイルスによって引き起こされる疾患、髄膜炎、ヘルペス脳炎、CNS脈管炎、外傷性脳損傷、CNS腫瘍、クモ膜下出血、術後外傷、間質性肺炎、過敏症、結晶性関節炎、急性および慢性膵炎、急性アルコール性肝炎、壊死性全腸炎、慢性副鼻腔炎、ブドウ膜炎、多発性筋炎、脈管炎、ざ瘡、胃および十二指腸潰瘍、セリアック病、食道炎、舌炎、気道閉塞、気道反応性亢進、閉塞性細気管支炎器質化肺炎、気管支拡張症、細気管支炎、閉塞性細気管支炎、慢性気管支炎、肺性心、呼吸困難、気腫、高炭酸ガス症、過膨張、低酸素血症、低酸素症、外科的肺気量減少、肺線維症、肺高血圧、右心室肥大、サルコイドーシス、小気道疾患、呼吸-還流不適合、ぜん鳴および狼瘡が挙げられる。

40

【0052】

これらの疾患は、主に、大量の好中球浸潤、T細胞浸潤、または新生血管成長により特徴付けられ、好中球の炎症部位への走化性または内皮細胞の定方向増殖を引き起こすIL-

50

8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2またはENA-78産生の増加に付随する。他の炎症性サイトカイン（IL-1、TNFおよびIL-6）とは異なり、IL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2またはENA-78は、好中球走化性、エラスターゼ放出を包含するがこれに限定されない酵素放出、ならびにスーパーオキシド産生および活性化を促進する独特の性質を有する。IL-8 I型またはII型受容体を介して作用する α -ケモカイン、特に、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2またはENA-78は、内皮細胞の定方向増殖の促進により腫瘍の新生血管形成を促進しうる。したがって、IL-8誘発性走化性または活性化の阻害は好中球浸潤の直接的減少をもたらす。

【0053】

10

最近の証拠は、また、HIV感染の治療におけるケモカインの役割を示している。Lit tleman et al., Nature 381, pp. 661 (1996) および Koup et al., Nature 381, pp. 667 (1996)。

【0054】

最近の証拠は、また、アテローム性動脈硬化症の治療におけるIL-8阻害剤の使用を示している。第一の文献、Boisvert et al., J. Clin. Invest, 1998, 101: 353-363 は、骨髄移植を介して、幹細胞（および、したがって、単球／マクロファージ）上のIL-8受容体の不在がLDL受容体欠損マウスにおいてアテローム性硬化性斑の発生を減少させることを証明している。さらなる支持文献には以下のものがある：Apostolopoulos, et al., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1996, 16: 1007-1012; Liu, et al., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol, 1997, 17: 317-323; Rus, et al., Atherosclerosis. 1996, 127: 263-271.; Wang et al., J. Biol. Chem. 1996, 271: 8837-8842; Yue, et al., Eur. J. Pharmacol. 1993, 240: 81-84; Koch, et al., Am. J. Pathol., 1993, 142: 1423-1431.; Lee, et al., Immunol. Lett., 1996, 53, 109-113.; および Terkeltaub et al., Arterioscler. Thromb., 1994, 14: 47-53。

20

30

【0055】

本発明は、また、式（I）で示されるケモカイン受容体アンタゴニスト化合物による、CNS損傷の急性発症における治療手段、およびCNS損傷に罹患し易いと考えられる個体における予防手段を提供する。

【0056】

本明細書で定義されるCNS損傷は、手術によるような開放性もしくは穿通性頭部外傷、または頭部への損傷によるような非開放性頭部外傷の両方を包含する。また、特に、脳領域の虚血性発作もまたこの定義に含まれる。

【0057】

虚血性発作は、通常、血管の塞栓、血栓、または局所性アテローム性閉鎖の結果として、特定の脳領域への不十分な血液供給により引き起こされる焦点神経障害であると定義できる。この領域における炎症性サイトカインの役割が明らかになってきており、本発明は、これらの損傷の有効な治療手段を提供する。これらのような急性損傷について利用可能な治療法は比較的少ない。

40

【0058】

TNF- α は、内皮白血球接着分子発現を包含する炎症誘発作用を有するサイトカインである。白血球は虚血性脳病変へ浸潤し、故に、TNFのレベルを阻害するかまたは減少させる化合物は、虚血性脳損傷の治療に有用である。Liu et al., Stroke, Vol. 25., No. 7, pp. 1481-88 (1994) を参照のこと（出典明示によりその内容を本明細書の記載とする）。

50

【0059】

非開放性頭部損傷のモデルおよび5-LO/CO混合薬剤での処置は、Shoham et al., J. of Vasc & Clinical Physiology and Pharmacology, Vol. 3, No. 2, pp. 99-107 (1992) において検討されている(出典明示により本明細書の記載とする)。浮腫形成を減少させる処置は、これらの治療される動物における機能的結果を改善することが判明した。

【0060】

式(I)で示される化合物を、例えば、好中球走化性および活性化の減少により証明されるような、IL-8 α または β 受容体と結合するIL-8がこれらの受容体と結合するのを阻害するのに十分な量で投与する。式(I)で示される化合物がIL-8結合の阻害物質であるという知見は、本明細書において記載するインビトロ受容体結合検定における式(I)で示される化合物の効果に基づいている。式(I)で示される化合物はIL-8 II型受容体の阻害物質であることが明らかにされた。

10

【0061】

本明細書において用いる場合、「IL-8媒介疾患または病態」なる用語は、IL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2またはENA-78が、IL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2またはENA-78その物を産生することにより、またはIL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2またはENA-78が限定されないがIL-1、IL-6またはTNFなどの別のモノカインを放出させることにより役割を果たす全ての病態を意味する。したがって、例えば、IL-1が主成分であり、その産生または作用がIL-8に応答して悪化または分泌される病態は、IL-8により媒介される病態であると考えられる。

20

【0062】

本明細書において用いる場合、「ケモカイン媒介疾患または病態」なる用語は、IL-8 α または β 受容体と結合するケモカイン、例えば、限定されないがIL-8、GRO- α 、GRO- β 、GRO γ 、NAP-2またはENA-78などが役割を果たす全ての病態を意味する。これは、IL-8が、IL-8その物を産生することにより、またはIL-8が限定されないがIL-1、IL-6またはTNFなどの別のモノカインを放出させることにより役割を果たす病態を包含する。したがって、例えば、IL-1が主成分であり、その産生または作用がIL-8に応答して悪化または分泌される病態は、IL-8により媒介される病態であると考えられる。

30

【0063】

本明細書において用いる場合、「サイトカイン」なる用語は、細胞の機能に影響を与え、免疫、炎症または造血応答における細胞間の相互作用を調節する分子である分泌ポリペプチドを意味する。サイトカインとしては、どの細胞が産生するかにかかわらず、モノカインおよびリンホカインが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、モノカインは、一般に、単核細胞、例えば、マクロファージおよび/または単球により産生および分泌されるものをいう。しかしながら、ナチュラルキラー細胞、線維芽細胞、好塩基球、好中球、内皮細胞、脳星状細胞、骨髓ストローマ細胞、表皮性ケラチノサイトおよびB-リンパ球などの多くの他の細胞もまたモノカインを産生する。リンホカインは、一般に、リンパ球により産生されるものをいう。サイトカインの例としては、インターロイキン-1(IL-1)、インターロイキン-6(IL-6)、インターロイキン-8(IL-8)、腫瘍壊死因子-アルファ(TNF- α)および腫瘍壊死因子ベータ(TNF- β)が挙げられるがこれらに限定されるものではない。

40

【0064】

本明細書において用いる場合、「ケモカイン」なる用語は、上記した「サイトカイン」なる用語と同様に、細胞の機能に影響を与え、免疫、炎症または造血応答における細胞間の相互作用を調節する分子である分泌ポリペプチドを意味する。ケモカインは主に細胞膜貫通を介して分泌され、特定の白血球、好中球、単球、マクロファージ、T-細胞、B-細胞

50

胞、内皮細胞および平滑筋細胞の走化性および活性化を引き起こす。ケモカインの例としては、IL-8、GRO- α 、GRO- β 、GRO- γ 、NAP-2、ENA-78、IP-10、MIP-1 α 、MIP- β 、PF4、ならびにMCP1、2および3が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0065】

式(I)で示される化合物またはその医薬上許容される塩を治療において用いるためには、通常、これを標準的製薬プラクティスにしたがって医薬組成物に処方する。したがって、本発明は、また、有効な非毒性量の式(I)で示される化合物および医薬上許容される担体または希釈剤を含む医薬組成物に関する。

【0066】

式(I)で示される化合物、その医薬上許容される塩およびこれを配合した医薬組成物は、好都合には、薬剤投与に慣用的に用いられる経路のいずれか、例えば、経口、局所、非経口または吸入によって投与される。式(I)で示される化合物は、それを慣用的な方法に従って標準的医薬担体と組み合わせることにより調製される慣用的な投与剤形で投与される。式(I)で示される化合物は、また、公知の第二の治療上活性な化合物と組合せて慣用的な投与形態で投与できる。これらの方法は、成分を、所望の調製物に適するように、混合し、造粒し、次いで、圧縮または溶解させることからなる。医薬上許容される担体または希釈剤の形態および特性は、組合せる有効成分の量、投与経路および他のよく知られている要因に依存すると考えられる。担体は、他の処方成分と適合し、レシピエントに有害でないという意味で「許容され」なければならない。

【0067】

用いられる医薬担体は、例えば、固体または液体のいずれでもよい。固体担体の例は、ラクトース、白土、シュクロース、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アカシア、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸などである。液体担体の例は、シロップ、落花生油、オリーブ油、水などである。同様に、担体または希釈剤は、モノステアリン酸グリセリンまたはジステアリン酸グリセリンなどの当該分野で周知の遅延性物質を単独でまたはワックスと共に含んでもよい。

【0068】

広範囲に及ぶ医薬形態を用いることができる。したがって、固体担体を用いる場合、製剤は、錠剤にしたり、粉末またはペレット形態でハードゼラチンカプセル中に入れたり、トローチまたはロゼンジの形態にできる。固体担体の量は、広範囲に及ぶが、好ましくは、約25mgないし約1gである。液体担体を用いる場合、製剤は、シロップ剤、乳剤、ソフトゼラチンカプセル剤、滅菌注射液剤、例えば、アンプル剤、または非水性液体懸濁剤の形態にされる。

【0069】

式(I)で示される化合物は、局所的に、すなわち、非全身性投与により投与される。これは、式(I)で示される化合物の表皮へまたは口腔内への外用、およびかかる化合物の耳、目および鼻への滴下注入を包含し、化合物が著しく血流に入らないようにする。これに対して、全身性投与は、経口、静脈内、腹腔内および筋肉内投与を意味する。

【0070】

局所投与に適した処方は、皮膚を通して炎症部位へ浸透するのに適した液体または半液体製剤、例えば、リニメント剤、ローション剤、クリーム剤、軟膏剤またはペースト剤、および目、耳または鼻への投与に適した滴剤を包含する。有効成分は、局所投与の場合、処方物の0.001%w/wないし10%w/w、例えば、1重量%ないし2重量%を含む。しかしながら、それを処方物の10%w/wほども含んでもよいが、好ましくは、5%w/w未満、より好ましくは、0.1%ないし1%w/w含む。

【0071】

本発明のローション剤は、皮膚または目への適用に適したものを包含する。眼ローション剤は、所望により殺菌剤を含んでもよい無菌水溶液を含み、滴剤の調製法と類似の方法により調製される。皮膚へ適用するためのローション剤またはリニメント剤は、また、アル

10

20

30

40

50

コールまたはアセトンなどの皮膚の乾燥を促進し、冷却する薬剤および／またはグリセロールなどの保湿剤またはヒマシ油もしくは落花生油などの油を含んでもよい。

【0072】

本発明のクリーム剤、軟膏剤またはペースト剤は、外用のための有効成分を含む半固体処方物である。これらは、有効成分を微粉末または粉末形態で、単独または水性または非水性流体中溶液または懸濁液の形態で、適当な機械を用いて、グリース状または非グリース状基剤と混練することにより調製される。基剤は、炭化水素、例えば、固型、軟または流動パラフィン、グリセロール、ミツロウ、金属石鹸；漿剤；扁桃油、トウモロコシ油、落花生油、ヒマシ油またはオリーブ油などの天然起源の油；羊毛脂もしくはその誘導体またはステアリン酸もしくはオレイン酸などの脂肪酸などをアルコール、例えば、プロピレングリコールまたはマクロゲルとともに含んでもよい。処方物は、いずれの適当な界面活性剤、例えば、アニオン、カチオンまたは非イオン性界面活性剤、例えば、ソルビタンエステルまたはそのポリオキシエチレン誘導体を配合してもよい。懸濁化剤、例えば、天然ガム、セルロース誘導体または無機物質、例えば、ケイ酸質シリカ（silicaceous silicas）、および他の成分、例えば、ラノリンを配合してもよい。

10

【0073】

本発明の滴剤は、滅菌水性または油性溶液または懸濁液を含んでもよく、有効成分を殺菌剤および／または殺真菌剤および／または他の適当な保存剤の適当な水溶液に溶かし、好ましくは、界面活性剤を配合することにより調製される。次いで、得られた溶液を濾過により清澄化し、適当な容器に移し、次いで、これを密封し、オートクレーブ処理または98～100℃に半時間維持することにより滅菌する。別法として、溶液を濾過滅菌し、無菌技法により容器に移す。滴剤に配合するのに適した殺菌剤および殺真菌剤の例は、硝酸フェニル水銀または酢酸フェニル水銀（0.002%）、塩化ベンザルコニウム（0.01%）および酢酸クロルヘキシジン（0.01%）である。油性溶液の調製に適した溶媒としては、グリセロール、希アルコールおよびプロピレングリコールが挙げられる。

20

【0074】

式（I）で示される化合物は、非経口的、すなわち、静脈内、筋肉内、皮下、鼻内、直腸内、腔内または腹腔内投与により投与される。皮下および筋肉内形態の非経口投与が一般に好ましい。かかる投与に適する投与剤形は慣用技術により調製される。式（I）で示される化合物は、また、吸入、すなわち、鼻内または経口吸入投与によっても投与できる。エアゾール処方物または定量型吸入器などのかかる投与に適した投与形態は、慣用技術により調製される。

30

【0075】

式（I）で示される化合物に関して本明細書に記載したあらゆる使用法に関して、1日の経口投与量は、好ましくは、全体重1kgあたり約0.01ないし約80mgである。1日の非経口投与量は、全体重1kgあたり約0.001ないし約80mgである。1日の局所投与量は、好ましくは、0.1mgないし150mgであり、1日に1ないし4回、好ましくは、2または3回投与する。1日の吸入量は、好ましくは、1日に約0.01mg/kgないし約1mg/kgである。式（I）で示される化合物またはその医薬上許容される塩の最適用量および個々の投与間隔は、治療する症状の性質および程度、投与の形態、経路および部位、ならびに治療する個々の患者により決定されること、およびこのような最適値は慣用技術により決定できることも当業者には理解できるであろう。また、最適な治療単位、すなわち、特定の日数の間、1日につき投与される式（I）で示される化合物またはその医薬上許容される塩の投与回数は、慣用的な治療単位決定試験を用いて当業者により確認できることも、当業者には理解できるであろう。

40

【0076】

単なる例示であり、本発明の範囲を限定するものではない以下の生物学的実施例を引用して本発明を記載する。

【0077】

生物学的実施例

50

本発明の化合物の I L - 8、および G r o - α ケモカイン阻害効果を以下のインビトロ検定により測定した：

【0078】

受容体結合検定

比活性が 2000 Ci / mmol である [125 I] I L - 8 (ヒト組換え体) をイリノイ州アーリントン・ハイツのアマシャム・コーポレイション (A m e r s h a m C o r p .) から入手した。G r o - α をエヌイーエヌーニュー・イングランド・ニュークリア (N E N - N e w E n g l a n d N u c l e a r) から入手した。他の薬品はすべて分析用であった。すでに開示されているようにして (H o l m e s e t a l . , S c i e n c e , 1991, 253, 1278)、高レベルの組換えヒト I L - 8 α および β 型受容体を、個別に、チャニーズハムスター卵巣細胞において発現させた。すでに開示されているプロトコル (H a o u r e t a l . , J . B i o l . C h e m . , 249, p p 2195-2205 (1974)) に従って、チャニーズハムスター卵巣膜をホモジナイズした。ただし、ホモジナイゼーション緩衝液を 10 mM T r i s - H C l、1 mM M g S O ₄、0.5 mM E D T A (エチレンジアミン四酢酸)、1 mM P M S F (α -トフルエンシルホニルフルオリド)、0.5 mg / L ロイペプチン、pH 7.5 に変更した。膜タンパク質濃度を、ピアス・カンパニー (P i e r c e C o .) のマイクロ検定キットを用いて、ウシ血清アルブミンを標準として用いて測定した。すべての検定は、96-ウェルマイクロプレートフォーマットで行った。各反応混合物は、1.2 mM M g S O ₄、0.1 mM E D T A、25 mM N a および 0.03 % C H A P S を含有する 20 mM ビストリスプロパンおよび 0.4 mM T r i s H C l 緩衝液 (pH 8.0) 中 125 I I L - 8 (0.25 nM) または 125 I G r o - α および 0.5 μ g / mL の I L - 8 R α または 1.0 μ g / mL の I L - 8 R β 膜を含有した。加えて、あらかじめ D M S O に溶解させて最終濃度を 0.01 nM ~ 100 μ M にした目的の薬物または化合物を添加した。検定を、 125 I - I L - 8 の添加により開始した。室温で 1 時間後、T o m t e c 96-ウェルハーベスターを用いて 1 % ポリエチレンイミン / 0.5 % B S A でブロックしたガラス繊維フィルターマット上にてプレートを収穫し、25 mM N a C l、10 mM T r i s H C l、1 mM M g S O ₄、0.5 mM E D T A、0.03 % C H A P S (pH 7.4) で 3 回洗浄した。次いで、フィルターを乾燥させ、B e t a p l a t e 液体シンチレーションカウンターで計数した。組換え I L - 8 R α または I 型受容体は、また、本明細書において非許容受容体とも称され、組換え I L - 8 R β または II 型受容体は許容受容体と称される。

【0079】

合成化学セクションの実施例 1 ~ 15 に記載した式 (I) で示される代表的化合物は、全て、I L - 8 受容体阻害のための許容モデルにおいて約 45 ~ 約 < 1 μ g / mL の I C ₅₀ を示した。これらの被験化合物のうち実施例 1 ~ 12 は、ほぼ同一レベルで G r o - α 結合の阻害物質であることも判明した。

【0080】

走化性検定

C u r r e n t P r o t o c o l s i n I m m u n o l o g y , v o l . I , S u p p l 1 , U n i t 6.12.3. (その開示内容は、全体として出典明示により本明細書の一部とする) に記載されているようにして好中球走化性検定法でこれらの化合物のインビトロ阻害特性を測定する。C u r r e n t P r o t o c o l s i n I m m u n o l o g y V o l . I , S u p p l 1 U n i t 7.23.1 (その開示内容は、全体として出典明示により本明細書の一部とする) に開示されているようにしてヒト血液から好中球を単離する。化学誘引物質 I L - 8、G R O - α 、G R O - β 、G R O - γ および N A P - 2 を 0.1 ~ 100 nM の濃度で 48 マルチウェルチャンバー (メリーランド州キャビン・ジョンのニューロ・プローブ (N e u r o P r o b e)) の下部チャンバーに入れる。2 つのチャンバーは 5 μ m ポリカーボネートフィルターで隔てられている。本発明の化合物を試験する場合、細胞を上部チャンバーに添加する直前に、該化合物を

細胞と混合する（ $0.001-1000\text{ nM}$ ）。インキュベーションは、 $5\% \text{ CO}_2$ を有する加湿インキュベータ中にて約 37°C で約 $45\sim90$ 分間行う。インキュベーション期間の最後に、ポリカーボネート膜を取り出し、最上部を洗浄し、次いで、該膜を、Diff Quick 染色プロトコル（アメリカ合衆国イリノイ州マックゴー・パークのバクスター・プロダクツ（Baxter Products））を用いて染色する。ケモカインに対して走化性を示した細胞を顕微鏡を用いて目視により計数する。一般に、各サンプルについて4つのフィールドを計数し、これらの数を平均して、移動した細胞の平均数を求める。各サンプルを三重に試験し、各化合物を少なくとも4回繰り返し試験する。特定の細胞（正の対照細胞）には化合物を添加せず、これらの細胞は細胞の最大走化性応答を示す。負の対照（刺激しない）が望ましい場合には、下部チャンバーにケモカインを添加しない。正の対照と負の対照との差異は、細胞の走化性活性を表す。 10

【0081】

エラスターゼ放出検定：

ヒト好中球からのエラスターゼ放出を防止する能力について本発明の化合物を試験する。Current Protocols in Immunology Vol. 1, Supplement 1 Unit 7.23.1. に記載されているようにしてヒト血液から好中球を単離する。リンゲル溶液（ $\text{NaCl } 118$ 、 $\text{KCl } 4.56$ 、 $\text{NaHCO}_3 \ 25$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4 \ 1.03$ 、グルコース 11.1 、 $\text{HEPES } 5\text{ mM}$ 、 $\text{pH } 7.4$ ）中に懸濁した $\text{PMN } 0.88 \times 10^6$ 細胞を、 50 u l の容量で 96 ウェルプレートの各ウェルに入れる。このプレートに、 50 u l の容量の試験化合物（ $0.001-1000\text{ nM}$ ）、 50 u l （ 20 u g/ml ）の容量のシトカラシンBおよび 50 u l の容量のリンゲル緩衝液を添加する。これらの細胞を5分間加温（ 37°C 、 $5\% \text{ CO}_2$ 、 $95\% \text{ RH}$ ）した後、最終濃度 $0.01-1000\text{ nM}$ の IL-8 、 $\text{GRO}\alpha$ 、 $\text{GRO}\beta$ 、 $\text{GRO}\gamma$ または NAP-2 を添加した。該反応を45分間進行させた後、 96 ウェルプレートを遠心分離し（ $800 \times g$ 、5分）、上清 100 u l を取り出した。この上清を第2の 96 ウェルプレートに添加し、次いで、リン酸緩衝生理食塩水に溶解した人工エラスターゼ基質（ $\text{MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC}$ 、カリフォルニア州ラ・ジョラのノヴァ・ビオケム（Nova Biochem））を最終濃度 6 u g/ml になるように添加する。直ちに、プレートを蛍光 96 ウェルプレートリーダー（Cytofluor 2350、マサチューセッツ州ベッドフォードのミリポア（Millipore））に入れ、Nakajima et al., J. Biol Chem 254 4027（1979）の方法に従って3分間隔でデータを集める。PMNから放出されたエラスターゼの量を、 $\text{MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC}$ 分解速度を測定することにより計算する。 20 30

【0082】

$\text{TNF-}\alpha$ 外傷性脳傷害検定

この検定は、ラットにおいて実験的に誘発した側液衝撃外傷性脳傷害（TBI）の後に起こる特定の脳領域における腫瘍壊死因子 mRNA の発現を調べるために行う。成体スプレグドーリーラット（ $n=42$ ）をペントバルビタールナトリウム（ 60 mg/kg 、i.p.）で麻酔し、左側頭頭頂皮質上に集中する中度の重篤度（ 2.4 atm ）の側液衝撃脳傷害（ $n=18$ ）、または「擬似」処置（麻酔、および傷害を伴わない手術、 $n=18$ ）を与えた。傷害の1時間後、6時間後および24時間後に動物を断頭により屠殺し、脳を取り出し、左（傷害）頭頂皮質（LC）、対側性右皮質の対応する領域（RC）、傷害頭頂皮質と隣接する皮質（LA）、右皮質における対応する隣接領域（RA）、左海馬（LH）および右海馬（RH）の組織試料を調製する。全 RNA を単離し、ノーザンブロットハイブリダイゼーション処理し、 $\text{TNF-}\alpha$ 正対照 RNA と比較して定量化する（マクロファージ = 100% ）。傷害の1時間後、損傷した半球において、 $\text{TNF-}\alpha$ mRNA 発現の著しい増加が LH（正対照の $104 \pm 17\%$ 、擬似処置と比較して $p < 0.05$ ）、LC（ $105 \pm 21\%$ 、 $p < 0.05$ ）および LA（ $69 \pm 8\%$ 、 $p < 0.01$ ）にて見られる。傷害の6時間後、 $\text{TNF-}\alpha$ mRNA 発現の増加がまた LH（46 40 50

± 8 %、 $p < 0.05$ ）、LC（ $30 \pm 3\%$ 、 $p < 0.01$ ）およびLA（ $32 \pm 3\%$ 、 $p < 0.01$ ）にて見られ、24時間後まで続く。対側性半球において、TNF- α mRNAの発現は、傷害の1時間後には、RH（ $46 \pm 2\%$ 、 $p < 0.01$ ）、RC（ $4 \pm 3\%$ ）およびRA（ $22 \pm 8\%$ ）において増加し、6時間後にはRH（ $28 \pm 11\%$ ）、RC（ $7 \pm 5\%$ ）およびRA（ $26 \pm 6\%$ 、 $p < 0.05$ ）において増加するが、24時間後には増加しない。擬似処置（傷害を伴わない手術）またはナイーブ動物においては、TNF- α mRNAの発現の一貫した変化は、いずれの時点でもいずれの半球における6つの脳領域のいずれにおいても見られない。これらの結果は、側矢状液衝撃脳傷害後、TNF- α mRNAの一時的発現が、損傷してない半球のものを含めて特定の脳領域において変えられることを示す。TNF- α は、神経成長因子（NGF）を誘発でき、活性化星状細胞からの他のサイトカインの放出を刺激するので、TNF- α の遺伝子発現におけるこの外傷後の変化は、CNS外傷に対する急性応答および再生性応答の両方において重要な役割を果たす。

【0083】

IL- β mRNAについてのCNS傷害モデル

この検定は、ラットにおいて実験的側液衝撃外傷性脳傷害（TBI）後の特定の脳領域におけるインターロイキン-1 β （IL-1 β ）mRNAの局所的発現を特徴付ける。成体スプレーグドローリーラット（ $n = 42$ ）をペントバルビタールナトリウム（ 60 mg/kg 、i. p.）で麻酔し、左側頭頂皮質上に集中する中度の重篤度（ 2.4 atm ）の側液衝撃脳傷害（ $n = 18$ ）、または「擬似」処置（麻酔、および傷害を伴わない手術、 $n = 18$ ）を与えた。傷害の1時間後、6時間後および24時間後に動物を屠殺し、脳を取り出し、左（傷害）頭頂皮質（LC）、対側性右皮質の対応する領域（RC）、傷害頭頂皮質と隣接する皮質（LA）、右皮質における対応する隣接領域（RA）、左海馬（LH）および右海馬（RH）の組織試料を調製する。全RNAを単離し、ノーザンブロットハイブリダイゼーション処理し、脳組織IL-1 β mRNAの量を、同一ゲル上に負荷したIL-1 β 正マクロフェージRNAの相対的な放射能の%として表す。脳傷害の1時間後、損傷した半球において、IL-1 β mRNAの発現の著しくかつ有意な増加がLC（正対照の $20.0 \pm 0.7\%$ 、 $n = 6$ 、擬似処置動物と比較して $p < 0.05$ ）、LH（ $24.5 \pm 0.9\%$ 、 $p < 0.05$ ）およびLA（ $21.5 \pm 3.1\%$ 、 $p < 0.05$ ）にて見られ、傷害の6時間後まで、LC（ $4.0 \pm 0.4\%$ 、 $n = 6$ 、 $p < 0.05$ ）およびLH（ $5.0 \pm 1.3\%$ 、 $p < 0.05$ ）にて上昇し続ける。擬似処置またはナイーブ動物においては、IL-1 β mRNAの発現は、個々の脳領域のいずれにおいても見られない。これらの結果は、TBI後、IL-1 β mRNAの一時的発現が特定の脳領域において局所的に刺激されることを示す。IL-1 β のようなサイトカインにおけるこれらの局所的変化は、外傷後において役割を果たす。

【0084】

本明細書にて引用した特許および特許出願を包含するがこれらに限定されない全ての刊行物は、個々の刊行物が十分に開示されているかの如く具体的かつ個別的に出典明示により本明細書の一部とすることが明示されているかのように出典明示により本明細書の一部とする。

好ましい実施態様を包含する上記記載事項は本発明を十分に開示する。本明細書に具体的に開示した実施態様の変更および改良は特許請求の範囲の範囲内に含まれる。さらに推敲することなく、当業者は上記記載事項を用いて本発明を最大限に利用することができると考えられる。したがって、本明細書における実施例は単に例示的であって、如何なる場合も本発明の範囲を制限するものではないと考えられる。排他的性質および優先権を主張する本発明の実施態様は特許請求の範囲に定義するとおりである。

10

20

30

40

【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
6 December 2001 (06.12.2001)

PCT

(10) International Publication Number
WO 01/92202 A1

(51) International Patent Classification: C07C 211/00

(21) International Application Number: PCT/US01/17678

(22) International Filing Date: 30 May 2001 (30.05.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 60/207,911 30 May 2000 (30.05.2000) US

(71) Applicant (for all designated States except US):
SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION
[US/US]; One Franklin Plaza, Philadelphia, PA 19103 (US).(74) Agents: **SIMON, Soma, G.** et al.; SmithKline Beecham Corporation, Corporate Intellectual Property, UW2220, 709 Swedeland Road, P.O. Box 1539, King of Prussia, PA 19406-0939 (US).

(81) Designated States (national): 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, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, 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, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(75) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **PALOVICH, Michael, R.** [US/US]; 620 Whitaker Place, Lansdale, PA 19446 (US). **MCCLELAND, Brent** [US/US]; 2140 Old Woods Road, Green Lane, PA 18054 (US). **BI, Guang-ping** [CN/US]; 2839 Colony Drive, Apt. F8, Audubon, PA 19403 (US). **WERNER, Michelle** [US/US]; 4182 Liberty Way, Elizabeth, PA 15037 (US). **WIDDOWSON, Katherine, L.** [CA/US]; 1047 Old Valley Forge Road, King of Prussia, PA 15037 (US).

Published:

— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

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.



WO 01/92202 A1

(54) Title: IL-8 RECEPTOR ANTAGONISTS

(57) Abstract: This invention relates to the novel use of dianilino squarates in the treatment of disease states mediated by the chemokine, Interleukin-8 (IL-8).

WO 01/92202

PCT/US01/17678

IL-8 RECEPTOR ANTAGONISTS**FIELD OF THE INVENTION**

This invention relates to a novel group of dianilino squarane compounds,
 5 processes for the preparation thereof, the use thereof in treating IL-8, GRO α , GRO β ,
 GRO γ , NAP-2, and ENA-78 mediated diseases and pharmaceutical compositions for
 use in such therapy.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Many different names have been applied to Interleukin-8 (IL-8), such as
 10 neutrophil attractant/activation protein-1 (NAP-1), monocyte derived neutrophil
 chemotactic factor (MDNCF), neutrophil activating factor (NAF), and T-cell
 lymphocyte chemotactic factor. Interleukin-8 is a chemoattractant for neutrophils,
 basophils, and a subset of T-cells. It is produced by a majority of nucleated cells
 including macrophages, fibroblasts, endothelial and epithelial cells exposed to TNF,
 15 IL-1 α , IL-1 β or LPS, and by neutrophils themselves when exposed to LPS or
 chemotactic factors such as FMLP. M. Baggiolini et al, J. Clin. Invest. 84, 1045
 (1989); J. Schroder et al, J. Immunol. 139, 3474 (1987) and J. Immunol. 144, 2223
 (1990); Strieter, et al, Science 243, 1467 (1989) and J. Biol. Chem. 264, 10621
 (1989); Cassatella et al, J. Immunol. 148, 3216 (1992).

20 GRO α , GRO β , GRO γ and NAP-2 also belong to the chemokine α family.
 Like IL-8 these chemokines have also been referred to by different names. For
 instance GRO α , β , γ have been referred to as MGS α , β and γ respectively
 (Melanoma Growth Stimulating Activity), see Richmond et al, J. Cell Physiology
 129, 375 (1986) and Chang et al, J. Immunol. 148, 451 (1992). All of the chemokines
 25 of the α -family which possess the ELR motif directly preceding the CXC motif bind
 to the IL-8 B receptor.

IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 and ENA-78 stimulate a number of
 functions in vitro. They have all been shown to have chemoattractant properties for
 neutrophils, while IL-8 and GRO α have demonstrated T-lymphocytes, and
 30 basophiles chemotactic activity. In addition IL-8 can induce histamine release from

WO 01/92202

PCT/US01/17678

- basophils from both normal and atopic individuals. GRO- α and IL-8 can in addition, induce lysosomal enzyme release and respiratory burst from neutrophils. IL-8 has also been shown to increase the surface expression of Mac-1 (CD11b/CD18) on neutrophils without de novo protein synthesis. This may contribute to increased
- 5 adhesion of the neutrophils to vascular endothelial cells. Many known diseases are characterized by massive neutrophil infiltration. As IL-8, Gro α , GRO β , GRO γ and NAP-2 promote the accumulation and activation of neutrophils, these chemokines have been implicated in a wide range of acute and chronic inflammatory disorders including psoriasis and rheumatoid arthritis, Baggiolini et al, FEBS Lett. 307, 97
- 10 (1992); Miller et al, Crit. Rev. Immunol. 12, 17 (1992); Oppenheim et al, Annu. Rev. Immunol. 9, 617 (1991); Seitz et al., J. Clin. Invest. 87, 463 (1991); Miller et al., Am. Rev. Respir. Dis. 146, 427 (1992); Donnelly et al., Lancet 341, 643 (1993). In addition the ELR chemokines (those containing the amino acids ELR motif just prior to the CXC motif) have also been implicated in angiostasis, Strieter et al,
- 15 Science 258, 1798 (1992).
- In vitro, IL-8, Gro α , GRO β , GRO γ , and NAP-2 induce neutrophil shape change, chemotaxis, granule release, and respiratory burst, by binding to and activating receptors of the seven-transmembrane, G-protein-linked family, in particular by binding to IL-8 receptors, most notably the B-receptor, Thomas et al.,
- 20 J. Biol. Chem. 266, 14839 (1991); and Holmes et al., Science 253, 1278 (1991). The development of non-peptide small molecule antagonists for members of this receptor family has precedent. For a review see R. Freidinger in: Progress in Drug Research, Vol. 40, pp. 33-98, Birkhauser Verlag, Basel 1993. Hence, the IL-8 receptor represents a promising target for the development of novel anti-inflammatory agents.
- 25 Two high affinity human IL-8 receptors (77% homology) have been characterized: IL-8R α , which binds only IL-8 with high affinity, and IL-8RB, which has high affinity for IL-8 as well as for GRO- α , GRO β , GRO γ and NAP-2. See Holmes et al., supra; Murphy et al., Science 253, 1280 (1991); Lee et al., J. Biol. Chem. 267, 16283 (1992); LaRosa et al., J. Biol. Chem. 267, 25402 (1992); and
- 30 Gayle et al., J. Biol. Chem. 268, 7283 (1993).

WO 01/92202

PCT/US01/17678

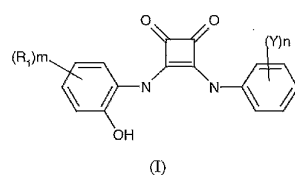
There remains a need for treatment, in this field, for compounds which are capable of binding to the IL-8 α or β receptor. Therefore, conditions associated with an increase in IL-8 production (which is responsible for chemotaxis of neutrophil and T-cells subsets into the inflammatory site) would benefit by compounds which are inhibitors of IL-8 receptor binding.

SUMMARY OF THE INVENTION

This invention provides for a method of treating a chemokine mediated disease, wherein the chemokine is one which binds to an IL-8 α or β receptor and which method comprises administering an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof. In particular the chemokine is IL-8.

This invention also relates to a method of inhibiting the binding of IL-8 to its receptors in a mammal in need thereof which comprises administering to said mammal an effective amount of a compound of Formula (I).

Compounds of Formula (I) useful in the present invention are represented by the structure:



wherein:

R₁ is independently selected from the group consisting of hydrogen, halogen, nitro, cyano, halosubstituted C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkyl, C₂₋₁₀ alkenyl, C₁₋₁₀ alkoxy, halosubstituted C₁₋₁₀ alkoxy, azide, (CR₈R₈)_q S(O)_tR₄, hydroxy, hydroxy C₁₋₄alkyl, aryl, aryl C₁₋₄ alkyl, aryloxy, aryl C₁₋₄ alkyloxy, heteroaryl, heteroarylalkyl, heterocyclic, heterocyclic C₁₋₄alkyl, heteroaryl C₁₋₄ alkyloxy, aryl C₂₋₁₀ alkenyl, heteroaryl C₂₋₁₀ alkenyl, heterocyclic C₂₋₁₀ alkenyl,

WO 01/92202

PCT/US01/17678

- (CR₈R₈)_qNR₄R₅, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)NR₄R₅, (CR₈R₈)_q C(O)NR₄R₅,
 (CR₈R₈)_q C(O)NR₄R₁₀, S(O)₃H, S(O)₃R₈, (CR₈R₈)_q C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl
 C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)OR₁₁(CR₈R₈)_q C(O)OR₁₂, (CR₈R₈)_q OC(O)
 R₁₁, (CR₈R₈)_qNR₄C(O)R₁₁, (CR₈R₈)_q NHS(O)₂R₁₇, (CR₈R₈)_q
 5 S(O)₂NR₄R₅; or two R₁ moieties together y form O-(CH₂)₈O- or a 5 to 6
 membered unsaturated ring;
 q is 0, or an integer having a value of 1 to 10;
 t is 0, or an integer having a value of 1 or 2;
 s is an integer having a value of 1 to 3;
 10 R₄ and R₅ are independently selected from the group consisting of hydrogen,
 optionally substituted C₁₋₄ alkyl, optionally substituted aryl, optionally
 substituted aryl C₁₋₄alkyl, optionally substituted heteroaryl, optionally
 substituted heteroaryl C₁₋₄alkyl, heterocyclic, and heterocyclic C₁₋₄ alkyl, or R₄
 and R₅ together with the nitrogen to which they are attached form a 5 to 7
 15 member ring which optionally comprises an additional heteroatom selected from
 oxygen, nitrogen or sulfur;
 Y is independently selected from the group consisting of hydrogen, halogen, nitro,
 cyano, halosubstituted C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkyl, C₂₋₁₀ alkenyl, C₁₋₁₀ alkoxy,
 halosubstituted C₁₋₁₀ alkoxy, azide, (CR₈R₈)_q S(O)_tR₄, hydroxy, hydroxyC₁₋
 20 4alkyl, aryl, aryl C₁₋₄ alkyl, aryloxy, arylC₁₋₄ alkyloxy, heteroaryl,
 heteroarylalkyl, heteroaryl C₁₋₄ alkyloxy, heterocyclic, heterocyclic C₁₋₄alkyl;
 aryl C₂₋₁₀ alkenyl, heteroaryl C₂₋₁₀ alkenyl, heterocyclic C₂₋₁₀ alkenyl,
 (CR₈R₈)_q NR₄R₅, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)NR₄R₅, (CR₈R₈)_q C(O)NR₄R₅,
 (CR₈R₈)_q C(O)NR₄R₁₀, S(O)₃H, S(O)₃R₈, (CR₈R₈)_q C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl
 25 C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)OR₁₁, C(O)R₁₁, (CR₈R₈)_q C(O)OR₁₂,
 (CR₈R₈)_q OC(O) R₁₁, (CR₈R₈)_q NR₄C(O)R₁₁, (CR₈R₈)_q NHS(O)₂R_d, and
 (CR₈R₈)_q S(O)₂NR₄R₅; or two Y moieties together form O-(CH₂)₈O- or a 5 to
 6 membered unsaturated ring;

WO 01/92202

PCT/US01/17678

n is an integer having a value of 1 to 5;

m is an integer having a value of 1 to 4;

R₈ is hydrogen or C₁₋₄ alkyl;

R₁₀ is C₁₋₁₀ alkyl C(O)₂R₈;

- 5 R₁₁ is selected from the group consisting of hydrogen, C₁₋₄ alkyl, optionally substituted aryl, optionally substituted aryl C₁₋₄alkyl, optionally substituted heteroaryl, optionally substituted heteroarylC₁₋₄alkyl, optionally substituted heterocyclic, and optionally substituted heterocyclicC₁₋₄alkyl;

R₁₂ is selected from hydrogen, C₁₋₁₀ alkyl, optionally substituted aryl and

- 10 optionally substituted arylalkyl;

R₁₇ is selected from the group consisting of C₁₋₄alkyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylC₁₋₄alkyl, heterocyclic, and heterocyclicC₁₋₄alkyl, wherein the aryl, heteroaryl and heterocyclic rings are all optionally substituted.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

- 15 The compounds of Formula (I) may also be used in association with the veterinary treatment of mammals, other than humans, in need of inhibition of IL-8 or other chemokines which bind to the IL-8RA and RB receptors. Chemokine mediated diseases for treatment, therapeutically or prophylactically, in animals include disease states such as those noted herein in the Methods of Treatment
- 20 section.

The following terms, as used herein, refer to:

- "halo" - all halogens, that is chloro, fluoro, bromo and iodo.
- "C₂₋₅alkyl" or "alkyl" - both straight and branched chain moieties of 2 to 5 carbon atoms, unless the chain length is otherwise limited, including, but not limited
- 25 to, methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, sec-butyl, iso-butyl, tert-butyl, n-pentyl and the like.

•The term "alkenyl" is used herein at all occurrences to mean straight or branched chain moieties of 2-10 carbon atoms, unless the chain length is limited

WO 01/92202

PCT/US01/17678

thereto, including, but not limited to ethenyl, 1-propenyl, 2-propenyl, 2-methyl-1-propenyl, 1-butenyl, 2-butenyl and the like.

- "aryl" - phenyl and naphthyl;
- "heteroaryl" (on its own or in any combination, such as "heteroaryloxy", or "heteroaryl alkyl") - a 5-10 membered aromatic ring system in which one or more rings contain one or more heteroatoms selected from the group consisting of N, O or S, such as, but not limited to, pyrrole, pyrazole, furan, thiophene, quinoline, isoquinoline, quinazolinyl, pyridine, pyrimidine, oxazole, thiazole, thiadiazole, triazole, imidazole, or benzimidazole.
- "heterocyclic" (on its own or in any combination, such as "heterocyclicalkyl") - a saturated or partially unsaturated 4-10 membered ring system in which one or more rings contain one or more heteroatoms selected from the group consisting of N, O, or S; such as, but not limited to, pyrrolidine, piperidine, piperazine, morpholine, tetrahydropyran, or imidazolidine.
- The term "arylalkyl" or "heteroarylalkyl" or "heterocyclicalkyl" is used herein to mean C₁-10 alkyl, as defined above, attached to an aryl, heteroaryl or heterocyclic moiety, as also defined herein, unless otherwise indicated.

Illustrative compounds of Formula (I) include:

- 3-(2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(2-hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dichlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(2-methoxy-benzylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dichlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-phenylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

WO 01/92202

PCT/US01/17678

- 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-ethylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-phenoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 5 6-Chloro-3-(3,4-dioxo-2-phenylamino-cyclobut-1-enylamino)-2-hydroxy-
 benzenesulfonamide,
 3,4-bis-(4-cyano-2-hydroxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dimethylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
 dione,
 10 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methyl-4-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-
 1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-propylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methyl-3-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
 dione,
 15 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dimethoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
 dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-chloro-3-methylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
 dione,
 3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
 20 dione,
 3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
 dione,
 3,4-bis-(4-nitro-2-hydroxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-[(2-Hydroxy-phenyl)-methyl-amino]-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 25 3-(3-Hydroxy-pyridin-2-ylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

METHODS OF PREPARATION

- The compounds of Formula (I) may be obtained by applying synthetic
 procedures, some of which are illustrated in the Schemes below. The synthesis
 30 provided for in these Schemes is applicable for producing compounds of Formula (I)

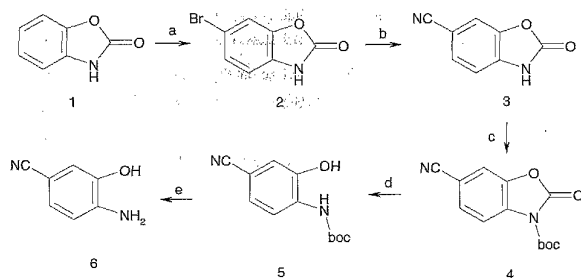
WO 01/92202

PCT/US01/17678

having a variety of different R, R₁, and aryl groups which are reacted, employing optional substituents which are suitably protected, to achieve compatibility with the reactions outlined herein. Subsequent deprotection, in those cases, then affords compounds of the nature generally disclosed. Once the guanidine nucleus has been established, further compounds of these formulas may be prepared by applying standard techniques for functional group interconversion, well known in the art. While the schemes are shown with compounds only of Formula (I) this is merely for illustration purposes only.

10

Scheme 1



a) Br₂, NaOAc, HOAc; b) CuCN, DMF, reflux; c) (BOC)₂O, DMAP, TEA;
d) K₂CO₃, MeOH; e) TFA

The desired aniline 6-scheme-1 can be prepared from the commercially available benzoxazolinone 1-scheme-1. Bromide 2-scheme-1 can be prepared from benzoxazolinone 1-scheme-1 using standard bromination conditions such as bromine and sodium acetate in acetic acid. Bromide 2-scheme-1 can be converted to the cyanide 3-scheme-1 using standard procedures such as copper (I) cyanide in refluxing DMF. The amide 3-scheme-1 can be converted to the BOC protected compound 4-scheme-1 using standard conditions such as BOC anhydride and

20

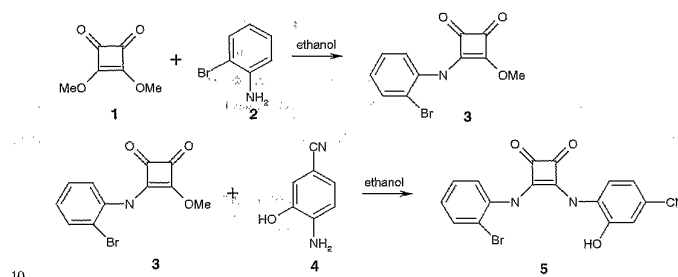
WO 01/92202

PCT/US01/17678

triethylamine with a catalytic amount of dimethylaminopyridine in methylene chloride or another suitable organic solvent. The oxazolinone 4-scheme-1 can be converted to the desired aniline 6-scheme-1 by first hydrolysis to the phenol 5-scheme-1 using standard conditions such as potassium carbonate in methanol

5 followed by removal of the BOC protecting group using standard conditions such as trifluoroacetic acid in methylene chloride or another suitable organic solvent to give the aniline 6-scheme-1.

Scheme 2



Compounds of structure 5 will be obtained from the commercially available dimethylether squarate 1 as outlined in Scheme 1. Intermediate 3 can be obtained by reacting the diethylether squarate 1 with the desired aniline 2 in refluxing ethanol or

15 other suitable organic solvent. The desired squarane compound 5 can be obtained by reacting squarane 3 with a second aniline 4 in refluxing ethanol or other suitable organic solvent.

SYNTHETIC EXAMPLES

The invention will now be described by reference to the following examples which

20 are merely illustrative and are not to be construed as a limitation of the scope of the present invention. All temperatures are given in degrees centigrade, all solvents are highest

WO 01/92202

PCT/US01/17678

available purity and all reactions run under anhydrous conditions in an argon atmosphere unless otherwise indicated.

In the Examples, all temperatures are in degrees Centigrade (°C). Mass spectra were performed upon a VG Zab mass spectrometer using fast atom bombardment, unless

5 otherwise indicated. ¹H-NMR (hereinafter "NMR") spectra were recorded at 250 MHz using a Bruker AM 250 or Am 400 spectrometer. Multiplicities indicated are: s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quartet, m=multiplet and br indicates a broad signal. Sat. indicates a saturated solution, eq indicates the proportion of a molar equivalent of reagent relative to the principal reactant.

10

3-(2,3-dichloroanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (100mg, 0.43mmol) in toluene (2mL) and DMSO (1 drop) was added 2,3-dichloroaniline (0.07mL, 0.43mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. The resulting
15 solid was collected by filtration, washed with ethyl acetate to remove toluene and dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 349 (M⁺).

3-(2-bromoanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-bromoaniline (36.9mg, 0.21mmol) and
20 reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 359 (M⁺).

WO 01/92202

PCT/US01/17678

3-(2-phenylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

- To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-aminobiphenyl (36.3mg, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 357.2 (M⁺).

3-(2-methoxyanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

- To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-methoxyaniline (0.024mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 311.4 (M⁺).

3-(2-ethylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

- To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-ethylaniline (0.024mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 309 (M⁺).

3-(2-penoxyanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

- To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-penoxyaniline (49mg, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 373 (M⁺).

WO 01/92202

PCT/US01/17678

3-(2-chloroanilino)-4-(2-hydroxyvanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyvanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-chloroaniline (0.023mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 315 (M⁺).

3-(2-methylanilino)-4-(2-hydroxyvanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyvanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-methylaniline (0.023mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 295 (M⁺).

3-(2,3-dimethylanilino)-4-(2-hydroxyvanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyvanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2,3-dimethylaniline (0.026mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 309 (M⁺).

3-(4-bromo-2-methylanilino)-4-(2-hydroxyvanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyvanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 4-bromo-2-methylaniline (40mg, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 373 (M⁺).

WO 01/92202

PCT/US01/17678

3-(2-propylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-propylaniline (0.030mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC

5 (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*.

LC-MS (m/z) 323 (M⁺).

3-(3-chloro-2-methylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

10 To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 3-chloro-2-methylaniline (0.026mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 329 (M⁺).

3-(2,3-methoxyanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

15 To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2,3-methoxyaniline (0.031mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*.

20 LC-MS (m/z) 341 (M⁺).

3-(2-chloro-3-methylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

25 To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-chloro-3-methylaniline (0.026mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile:water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 329 (M⁺).

WO 01/92202

PCT/US01/17678

3-(2-Hydroxyanilino)-4-(2-bromoanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione

To bromoaniline (74mg, 0.43mmol) was added 214 μ L of 2M trimethylaluminum in toluene at room temperature. The mixture was stirred until the gasous evolution ceased, then was added 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-3-cyclobutene-1,2 dione (50mg, 0.21 mmol) in 1mL methylenechloride. The mixture was reacted at room temperature for overnight. The reaction mixture was quenched with water, followed by aqueous work up. The organic layer was dried over sodium sulfate and concentrated. After Gilson HPLC, 14mg (12%) of purified product was obtained.

LCMS(H⁺) 359

3-(2-bromoanilino)-4-(2-Hydroxy-4-cyanoanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione

A solution of 3,4-diethoxy-3-cyclobutene-1,2-dione (1.2 mL, 8.12 mmol) and 3-hydroxy-4-aminobenzonitrile (1.25g, 8.11mmol) in ethanol was heated at 85°C for overnight. A tan precipitates forms. The solid was filtered, and collected. 1.12g (53%) of 3-ethoxy-4-(2-hydroxy-4-cyanoanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione was obtained. LC/MS(H⁺) 259

A mixture of 3-ethoxy-4-(2-hydroxy-4-cyanoanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione (0.7g, 2.71mmol) and 2-bromoaniline (0.47g, 2.73mmol) were heated in 6ml DMSO for overnight. The reaction mixture was cooled to room temperature, and ethylacetate was added and precipitates formed. The filtrate was partitioned between ethylacetate and water. The organic layer was dried over sodium sulfate and concentrated. After Gilson HPLC, 34mg (3%) of purified product was obtained. LC/MS (H⁺) 386

3-(2-Bromoanilino)-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione

A solution of 3-ethoxy-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione (0.39g, 1.4mmol) and 2-bromoaniline (0.36g, 2.09mmol) in 2mL DMSO was heated at 110°C for overnight. The reaction mixture was cooled to room temperature, and ethylacetate was added, and a precipitate formed. The filtrate was partitioned between ethylacetate and water. The organic layer was dried over sodium sulfate

WO 01/92202

PCT/US01/17678

and concentrated. Titration from acetone and hexanes gave 106mg (19%) of 3-(2-bromoanilino)-4-(2-hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione. LCMS(H⁺) 404

5 **3-(2-chloroanilino)-4-(2-hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione**

A solution of 3-ethoxy-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione (0.38g, 1.37mmol) and 2-chloroaniline (0.23mL, 2.2mmol) in 2mL DMSO was heated at 110°C for overnight. The reaction mixture was cooled to room temperature, and ethylacetate was added, and a precipitate formed. The filtrate was partitioned between ethylacetate and water. The organic layer was dried over sodium sulfate and concentrated. Recrystallized from ethylacetate and hexanes, 203mg (41%) of 3-(2-chloroanilino)-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione was obtained. LCMS(H⁺) 360.

15 **3-(2,3-dichloroanilino)-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione**

A solution of 3-ethoxy-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione (0.40g, 1.44mmol) and 2,3-dichloroaniline (0.34g, 2.10mmol) in 2mL DMSO was heated at 110°C for overnight. The reaction mixture was cooled to room temperature, and ethylacetate was added, a precipitate formed. The filter cake was collected. Titration from acetone and hexanes gave 68mg (11%) of 3-(2-chloroanilino)-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione. LCMS(H⁺) 394.

WO 01/92202

PCT/US01/17678

METHOD OF TREATMENT

The compounds of Formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof can be used in the manufacture of a medicine for the prophylactic or therapeutic treatment of any disease state in a human, or other mammal, which is exacerbated or caused by excessive or unregulated IL-8 cytokine production by such mammal's cell, such as but not limited to monocytes and/or macrophages, or other chemokines which bind to the IL-8 α or β receptor, also referred to as the type I or type II receptor.

Accordingly, the present invention provides a method of treating a chemokine mediated disease, wherein the chemokine is one which binds to an IL-8 α or β receptor and which method comprises administering an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof. In particular, the chemokines are IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78.

The compounds of Formula (I) are administered in an amount sufficient to inhibit cytokine function, in particular IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78, such that they are biologically regulated down to normal levels of physiological function, or in some case to subnormal levels, so as to ameliorate the disease state. Abnormal levels of IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 for instance in the context of the present invention, constitute: (i) levels of free IL-8 greater than or equal to 1 picogram per mL; (ii) any cell associated IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 above normal physiological levels; or (iii) the presence of IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 above basal levels in cells or tissues in which IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 respectively, is produced.

The compounds of Formula (I), in generally have been shown to have a longer $t_{1/2}$ and improved oral bioavailability over the compounds disclosed in WO 96/25157 and WO 97/29743 whose disclosures are incorporated herein by reference.

There are many disease states in which excessive or unregulated IL-8 production is implicated in exacerbating and/or causing the disease. Chemokine mediated diseases include psoriasis, atopic dermatitis, osteo arthritis, rheumatoid

WO 01/92202

PCT/US01/17678

arthritis, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, adult respiratory distress syndrome, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, stroke, septic shock, multiple sclerosis, endotoxemic shock, gram negative sepsis, toxic shock syndrome, cardiac and renal reperfusion injury, glomerulonephritis, thrombosis, 5 graft vs. host reaction, alzheimer's disease, allograft rejections, malaria, restinosis, angiogenesis, atherosclerosis, osteoporosis, gingivitis and undesired hematopoietic stem cells release and diseases caused by respiratory viruses, herpesviruses, and hepatitis viruses, meningitis, herpes encephalitis, CNS vasculitis, traumatic brain injury, CNS tumors, subarachnoid hemorrhage, post surgical trauma, interstitial 10 pneumonitis, hypersensitivity, crystal induced arthritis, acute and chronic pancreatitis, acute alcoholic hepatitis, necrotizing enterocolitis, chronic sinusitis, uveitis, polymyositis, vasculitis, acne, gastric and duodenal ulcers, celiac disease, esophagitis, glossitis, airflow obstruction, airway hyperresponsiveness, bronchiolitis obliterans organizing pneumonia, bronchiectasis, bronchiolitis, bronchiolitis 15 obliterans, chronic bronchitis, cor pulmonae, dyspnea, emphysema, hypercapnea, hyperinflation, hypoxemia, hypoxia, surgical lung volume reduction, pulmonary fibrosis, pulmonary hypertension, right ventricular hypertrophy, sarcoidosis, small airway disease, ventilation-perfusion mismatching, wheeze and lupus.

These diseases are primarily characterized by massive neutrophil infiltration, 20 T-cell infiltration, or neovascular growth, and are associated with increased IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 production which is responsible for the chemotaxis of neutrophils into the inflammatory site or the directional growth of endothelial cells. In contrast to other inflammatory cytokines (IL-1, TNF, and IL-6), IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 have the unique property of 25 promoting neutrophil chemotaxis, enzyme release including but not limited to elastase release as well as superoxide production and activation. The α -chemokines but particularly, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78, working through the IL-8 type I or II receptor can promote the neovascularization of tumors by promoting the directional growth of endothelial cells. Therefore, the inhibition of IL-8 induced

WO 01/92202

PCT/US01/17678

chemotaxis or activation would lead to a direct reduction in the neutrophil infiltration.

Recent evidence also implicates the role of chemokines in the treatment of HIV infections, Littleman *et al.*, Nature 381, pp. 661 (1996) and Koup *et al.*, Nature 381, pp. 667 (1996).

Present evidence also indicates the use of IL-8 inhibitors in the treatment of atherosclerosis. The first reference, Boisvert *et al.*, J. Clin. Invest. 1998, 101:353-363 shows, through bone marrow transplantation, that the absence of IL-8 receptors on stem cells (and, therefore, on monocytes/macrophages) leads to a reduction in the development of atherosclerotic plaques in LDL receptor deficient mice. Additional supporting references are: Apostolopoulos, *et al.*, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1996, 16:1007-1012; Liu, *et al.*, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1997, 17:317-323; Rus, *et al.*, Atherosclerosis, 1996, 127:263-271.; Wang *et al.*, J. Biol. Chem. 1996, 271:8837-8842; Yue, *et al.*, Eur. J. Pharmacol. 1993, 240:81-84; Koch, *et al.*, Am. J. Pathol., 1993, 142:1423-1431.; Lee, *et al.*, Immunol. Lett., 1996, 53, 109-113.; and Terkeltaub *et al.*, Arterioscler. Thromb., 1994, 14:47-53.

The present invention also provides for a means of treating, in an acute setting, as well as preventing, in those individuals deemed susceptible to, CNS injuries by the chemokine receptor antagonist compounds of Formula (I).

CNS injuries as defined herein include both open or penetrating head trauma, such as by surgery, or a closed head trauma injury, such as by an injury to the head region. Also included within this definition is ischemic stroke, particularly to the brain area.

Ischemic stroke may be defined as a focal neurologic disorder that results from insufficient blood supply to a particular brain area, usually as a consequence of an embolus, thrombi, or local atheromatous closure of the blood vessel. The role of inflammatory cytokines in this area has been emerging and the present invention provides a mean for the potential treatment of these injuries. Relatively little treatment, for an acute injury such as these has been available.

WO 01/92202

PCT/US01/17678

TNF- α is a cytokine with proinflammatory actions, including endothelial leukocyte adhesion molecule expression. Leukocytes infiltrate into ischemic brain lesions and hence compounds which inhibit or decrease levels of TNF would be useful for treatment of ischemic brain injury. See Liu *et al.*, Stroke, Vol. 25., No. 7, pp. 1481-88 (1994) whose disclosure is incorporated herein by reference.

Models of closed head injuries and treatment with mixed 5-L/CO agents is discussed in Shohami *et al.*, J. of Vaise & Clinical Physiology and Pharmacology, Vol. 3, No. 2, pp. 99-107 (1992) whose disclosure is incorporated herein by reference. Treatment, which reduced edema formation, was found to improve functional outcome in those animals treated.

The compounds of Formula (I) are administered in an amount sufficient to inhibit IL-8, binding to the IL-8 alpha or beta receptors, from binding to these receptors, such as evidenced by a reduction in neutrophil chemotaxis and activation. The discovery that the compounds of Formula (I) are inhibitors of IL-8 binding is based upon the effects of the compounds of Formulas (I) in the *in vitro* receptor binding assays which are described herein. The compounds of Formula (I) have been shown to be inhibitors of type II IL-8 receptors.

As used herein, the term "IL-8 mediated disease or disease state" refers to any and all disease states in which IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 plays a role, either by production of IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 themselves, or by IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 causing another monokine to be released, such as but not limited to IL-1, IL-6 or TNF. A disease state in which, for instance, IL-1 is a major component, and whose production or action, is exacerbated or secreted in response to IL-8, would therefore be considered a disease state mediated by IL-8.

As used herein, the term "chemokine mediated disease or disease state" refers to any and all disease states in which a chemokine which binds to an IL-8 α or β receptor plays a role, such as but not limited to IL-8, GRO- α , GRO- β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78. This would include a disease state in which, IL-8 plays a role, either by production of IL-8 itself, or by IL-8 causing another monokine to be released,

WO 01/92202

PCT/US01/17678

such as but not limited to IL-1, IL-6 or TNF. A disease state in which, for instance, IL-1 is a major component, and whose production or action, is exacerbated or secreted in response to IL-8, would therefore be considered a disease state mediated by IL-8.

5 As used herein, the term "cytokine" refers to any secreted polypeptide that affects the functions of cells and is a molecule, which modulates interactions between cells in the immune, inflammatory or hematopoietic response. A cytokine includes, but is not limited to, monokines and lymphokines, regardless of which cells produce them. For instance, a monokine is generally referred to as being
10 produced and secreted by a mononuclear cell, such as a macrophage and/or monocyte. Many other cells however also produce monokines, such as natural killer cells, fibroblasts, basophils, neutrophils, endothelial cells, brain astrocytes, bone marrow stromal cells, epidermal keratinocytes and B-lymphocytes. Lymphokines are generally referred to as being produced by lymphocyte cells. Examples of cytokines
15 include, but are not limited to, Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8), Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) and Tumor Necrosis Factor beta (TNF- β).

As used herein, the term "chemokine" refers to any secreted polypeptide that affects the functions of cells and is a molecule which modulates interactions between
20 cells in the immune, inflammatory or hematopoietic response, similar to the term "cytokine" above. A chemokine is primarily secreted through cell transmembranes and causes chemotaxis and activation of specific white blood cells and leukocytes, neutrophils, monocytes, macrophages, T-cells, B-cells, endothelial cells and smooth muscle cells. Examples of chemokines include, but are not limited to IL-8, GRO- α ,
25 GRO- β , GRO- γ , NAP-2, ENA-78, IP-10, MIP-1 α , MIP- β , PF4, and MCP 1, 2, and 3.

In order to use a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof in therapy, it will normally be formulated into a pharmaceutical composition in accordance with standard pharmaceutical practice. This invention, therefore, also relates to a pharmaceutical composition comprising an effective, non-

WO 01/92202

PCT/US01/17678

toxic amount of a compound of Formula (I) and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent.

Compounds of Formula (I), pharmaceutically acceptable salts thereof and pharmaceutical compositions incorporating such may conveniently be administered by any of the routes conventionally used for drug administration, for instance, orally, topically, parenterally or by inhalation. The compounds of Formula (I) may be administered in conventional dosage forms prepared by combining a compound of Formula (I) with standard pharmaceutical carriers according to conventional procedures. The compounds of Formula (I) may also be administered in conventional dosages in combination with a known, second therapeutically active compound. These procedures may involve mixing, granulating and compressing or dissolving the ingredients as appropriate to the desired preparation. It will be appreciated that the form and character of the pharmaceutically acceptable carrier or diluent is dictated by the amount of active ingredient with which it is to be combined, the route of administration and other well-known variables. The carrier(s) must be "acceptable" in the sense of being compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient thereof.

The pharmaceutical carrier employed may be, for example, either a solid or liquid. Exemplary of solid carriers are lactose, terra alba, sucrose, talc, gelatin, agar, pectin, acacia, magnesium stearate, stearic acid and the like. Exemplary of liquid carriers are syrup, peanut oil, olive oil, water and the like. Similarly, the carrier or diluent may include time delay material well known to the art, such as glyceryl mono-stearate or glyceryl distearate alone or with a wax.

A wide variety of pharmaceutical forms can be employed. Thus, if a solid carrier is used, the preparation can be tableted, placed in a hard gelatin capsule in powder or pellet form or in the form of a troche or lozenge. The amount of solid carrier will vary widely but preferably will be from about 25mg. to about 1g. When a liquid carrier is used, the preparation will be in the form of a syrup, emulsion, soft gelatin capsule, sterile injectable liquid such as an ampule or nonaqueous liquid suspension.

WO 01/92202

PCT/US01/17678

Compounds of Formula (I) may be administered topically, that is by non-systemic administration. This includes the application of a compound of Formula (I) externally to the epidermis or the buccal cavity and the instillation of such a compound into the ear, eye and nose, such that the compound does not significantly enter the blood stream. In contrast, systemic administration refers to oral, intravenous, intraperitoneal and intramuscular administration.

Formulations suitable for topical administration include liquid or semi-liquid preparations suitable for penetration through the skin to the site of inflammation such as liniments, lotions, creams, ointments or pastes, and drops suitable for administration to the eye, ear or nose. The active ingredient may comprise, for topical administration, from 0.001% to 10% w/w, for instance from 1% to 2% by weight of the Formulation. It may however comprise as much as 10% w/w but preferably will comprise less than 5% w/w, more preferably from 0.1% to 1% w/w of the Formulation.

Lotions according to the present invention include those suitable for application to the skin or eye. An eye lotion may comprise a sterile aqueous solution optionally containing a bactericide and may be prepared by methods similar to those for the preparation of drops. Lotions or liniments for application to the skin may also include an agent to hasten drying and to cool the skin, such as an alcohol or acetone, and/or a moisturizer such as glycerol or an oil such as castor oil or arachis oil.

Creams, ointments or pastes according to the present invention are semi-solid formulations of the active ingredient for external application. They may be made by mixing the active ingredient in finely-divided or powdered form, alone or in solution or suspension in an aqueous or non-aqueous fluid, with the aid of suitable machinery, with a greasy or non-greasy base. The base may comprise hydrocarbons such as hard, soft or liquid paraffin, glycerol, beeswax, a metallic soap; a mucilage; an oil of natural origin such as almond, corn, arachis, castor or olive oil; wool fat or its derivatives or a fatty acid such as steric or oleic acid together with an alcohol such as propylene glycol or a macrogel. The formulation may incorporate any

WO 01/92202

PCT/US01/17678

suitable surface active agent such as an anionic, cationic or non-ionic surfactant such as a sorbitan ester or a polyoxyethylene derivative thereof. Suspending agents such as natural gums, cellulose derivatives or inorganic materials such as siliceous silicas, and other ingredients such as lanolin, may also be included.

5 Drops according to the present invention may comprise sterile aqueous or oily solutions or suspensions and may be prepared by dissolving the active ingredient in a suitable aqueous solution of a bactericidal and/or fungicidal agent and/or any other suitable preservative, and preferably including a surface active agent. The resulting solution may then be clarified by filtration, transferred to a
10 suitable container which is then sealed and sterilized by autoclaving or maintaining at 98-100 °C. for half an hour. Alternatively, the solution may be sterilized by filtration and transferred to the container by an aseptic technique. Examples of bactericidal and fungicidal agents suitable for inclusion in the drops are phenylmercuric nitrate or acetate (0.002%), benzalkonium chloride (0.01%) and
15 chlorhexidine acetate (0.01%). Suitable solvents for the preparation of an oily solution include glycerol, diluted alcohol and propylene glycol.

Compounds of formula (I) may be administered parenterally, that is by intravenous, intramuscular, subcutaneous intranasal, intrarectal, intravaginal or intraperitoneal administration. The subcutaneous and intramuscular forms of
20 parenteral administration are generally preferred. Appropriate dosage forms for such administration may be prepared by conventional techniques. Compounds of Formula (I) may also be administered by inhalation, that is by intranasal and oral inhalation administration. Appropriate dosage forms for such administration, such as an aerosol formulation or a metered dose inhaler, may be prepared by
25 conventional techniques.

For all methods of use disclosed herein for the compounds of Formula (I), the daily oral dosage regimen will preferably be from about 0.01 to about 80 mg/kg of total body weight. The daily parenteral dosage regimen about 0.001 to about 80 mg/kg of total body weight. The daily topical dosage regimen will preferably be
30 from 0.1 mg to 150 mg, administered one to four, preferably two or three times

WO 01/92202

PCT/US01/17678

daily. The daily inhalation dosage regimen will preferably be from about 0.01 mg/kg to about 1 mg/kg per day. It will also be recognized by one of skill in the art that the optimal quantity and spacing of individual dosages of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof will be determined by the nature and extent of the condition being treated, the form, route and site of administration, and the particular patient being treated, and that such optimums can be determined by conventional techniques. It will also be appreciated by one of skill in the art that the optimal course of treatment, i.e., the number of doses of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof given per day for a defined number of days, can be ascertained by those skilled in the art using conventional course of treatment determination tests.

The invention will now be described by reference to the following biological examples which are merely illustrative and are not to be construed as a limitation of the scope of the present invention.

BIOLOGICAL EXAMPLES

The IL-8, and Gro- α chemokine inhibitory effects of compounds of the present invention were determined by the following in vitro assay:

Receptor Binding Assays:

[¹²⁵I] IL-8 (human recombinant) was obtained from Amersham Corp., Arlington Heights, IL, with specific activity 2000 Ci/mmol. Gro- α was obtained from NEN- New England Nuclear. All other chemicals were of analytical grade. High levels of recombinant human IL-8 type α and β receptors were individually expressed in Chinese hamster ovary cells as described previously (Holmes, et al., Science, 1991, 253, 1278). The Chinese hamster ovary membranes were homogenized according to a previously described protocol (Haour, et al., J Biol Chem., 249 pp 2195-2205 (1974)). Except that the homogenization buffer was changed to 10mM Tris-HCL, 1mM MgSO₄, 0.5mM EDTA (ethylene-diaminetetraacetic acid), 1mMPMSF (α -toluenesulphonyl fluoride), 0.5 mg/L Leupeptin, pH 7.5. Membrane protein concentration was determined using Pierce Co. micro-assay kit using bovine serum albumin as a standard. All assays were performed in a 96-well

WO 01/92202

PCT/US01/17678

micro plate format. Each reaction mixture contained ^{125}I IL-8 (0.25 nM) or ^{125}I Gro- α and 0.5 $\mu\text{g/mL}$ of IL-8R α or 1.0 $\mu\text{g/mL}$ of IL-8R β membranes in 20 mM Bis-Trispropane and 0.4 mM Tris HCl buffers, pH 8.0, containing 1.2 mM MgSO_4 , 0.1 mM EDTA, 25 mM NaCl and 0.03% CHAPS. In addition, drug or compound of interest was added which had been pre-dissolved in DMSO so as to reach a final concentration of between 0.01 nM and 100 μM . The assay was initiated by addition of ^{125}I -IL-8. After 1 hour at room temperature the plate was harvested using a Tomtec 96-well harvester onto a glass fiber filtermat blocked with 1% polyethylenimine/0.5% BSA and washed 3 times with 25 mM NaCl, 10 mM TrisHCl, 1 mM MgSO_4 , 0.5 mM EDTA, 0.03 % CHAPS, pH 7.4. The filter was then dried and counted on the Betaplate liquid scintillation counter. The recombinant IL-8 R α , or Type I, receptor is also referred to herein as the non-permissive receptor and the recombinant IL-8 R β , or Type II, receptor is referred to as the permissive receptor.

All of the exemplified compounds of Formulas (I) noted herein in the Synthetic Chemistry Section, Example 1 to 15, demonstrated an IC_{50} from about 45 to about <1 $\mu\text{g/mL}$ in the permissive models for IL-8 receptor inhibition. Of those compounds tested, Examples 1 to 12 were also found to be inhibitors of Gro- α binding at about the same level.

Chemotaxis Assay:

The in vitro inhibitory properties of these compounds are determined in the neutrophil chemotaxis assay as described in Current Protocols in Immunology, vol I, Suppl 1, Unit 6.12.3., whose disclosure is incorporated herein by reference in its entirety. Neutrophils were isolated from human blood as described in Current Protocols in Immunology Vol I, Suppl 1 Unit 7.23.1, whose disclosure is incorporated herein by reference in its entirety. The chemoattractants IL-8, GRO- α , GRO- β , GRO- γ and NAP-2 are placed in the bottom chamber of a 48 multiwell chamber (Neuro Probe, Cabin John, MD) at a concentration between 0.1 and 100 nM. The two chambers are separated by a 5 μm polycarbonate filter. When compounds of this invention are tested, they are mixed with the cells (0.001 - 1000

WO 01/92202

PCT/US01/17678

nM) just prior to the addition of the cells to the upper chamber. Incubation is allowed to proceed for between about 45 and 90 min at about 37°C in a humidified incubator with 5% CO₂. At the end of the incubation period, the polycarbonate membrane is removed and the top side washed, the membrane then stained using the Diff Quick staining protocol (Baxter Products, McGaw Park, IL, USA). Cells which have chemotaxed to the chemokine are visually counted using a microscope. Generally, four fields are counted for each sample, these numbers are averaged to give the average number of cells which had migrated. Each sample is tested in triplicate and each compound repeated at least four times. To certain cells (positive control cells) no compound is added, these cells represent the maximum chemotactic response of the cells. In the case where a negative control (unstimulated) is desired, no chemokine is added to the bottom chamber. The difference between the positive control and the negative control represents the chemotactic activity of the cells.

Elastase Release Assay:

The compounds of this invention are tested for their ability to prevent Elastase release from human neutrophils. Neutrophils are isolated from human blood as described in Current Protocols in Immunology Vol I, Suppl 1 Unit 7.23.1. PMNs 0.88×10^6 cells suspended in Ringer's Solution (NaCl 118, KCl 4.56, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.03, Glucose 11.1, HEPES 5 mM, pH 7.4) are placed in each well of a 96 well plate in a volume of 50 ul. To this plate is added the test compound (0.001 - 1000 nM) in a volume of 50 ul, Cytochalasin B in a volume of 50 ul (20ug/ml) and Ringers buffer in a volume of 50 ul. These cells are allowed to warm (37 °C, 5% CO₂, 95% RH) for 5 min before IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ or NAP-2 at a final concentration of 0.01 - 1000 nM was added. The reaction is allowed to proceed for 45 min before the 96 well plate is centrifuged (800 xg 5 min) and 100 ul of the supernatant removed. This supernatant is added to a second 96 well plate followed by an artificial elastase substrate (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC, Nova Biochem, La Jolla, CA) to a final concentration of 6 ug/ml dissolved in phosphate buffered saline. Immediately, the plate is placed in a fluorescent 96 well plate reader (Cytofluor 2350, Millipore, Bedford, MA) and data collected at 3 min

WO 01/92202

PCT/US01/17678

intervals according to the method of Nakajima et al J. Biol Chem 254 4027 (1979). The amount of Elastase released from the PMNs is calculated by measuring the rate of MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC degradation.

TNF- α in Traumatic Brain Injury Assay:

5 The present assay provides for examination of the expression of tumor necrosis factor mRNA in specific brain regions which follow experimentally induced lateral fluid-percussion traumatic brain injury (TBI) in rats. Adult Sprague-Dawley rats (n=42) were anesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg, i.p.) and subjected to lateral fluid-percussion brain injury of moderate severity (2.4 atm.)

10 centered over the left temporoparietal cortex (n=18), or "sham" treatment (anesthesia and surgery without injury, n=18). Animals are sacrificed by decapitation at 1, 6 and 24 hr. post injury, brains removed, and tissue samples of left (injured) parietal cortex (LC), corresponding area in the contralateral right cortex (RC), cortex adjacent to injured parietal cortex (LA), corresponding adjacent area in the right cortex (RA),

15 left hippocampus (LH) and right hippocampus (RH) are prepared. Total RNA was isolated and Northern blot hybridization is performed and quantitated relative to an TNF- α positive control RNA (macrophage = 100%). A marked increase of TNF- α mRNA expression is observed in LH (104 $\pm$ 17% of positive control, p < 0.05 compared with sham), LC (105 $\pm$ 21%, p < 0.05) and LA (69 $\pm$ 8%, p < 0.01) in the

20 traumatized hemisphere 1 hr. following injury. An increased TNF- α mRNA expression is also observed in LH (46 $\pm$ 8%, p < 0.05), LC (30 $\pm$ 3%, p < 0.01) and LA (32 $\pm$ 3%, p < 0.01) at 6 hr. which resolves by 24 hr. following injury. In the contralateral hemisphere, expression of TNF- α mRNA is increased in RH (46 $\pm$ 2%, p < 0.01), RC (4 $\pm$ 3%) and RA (22 $\pm$ 8%) at 1 hr. and in RH (28 $\pm$ 11%), RC (7 $\pm$ 5%)

25 and RA (26 $\pm$ 6%, p < 0.05) at 6 hr. but not at 24 hr. following injury. In sham (surgery without injury) or naive animals, no consistent changes in expression of TNF- α mRNA are observed in any of the 6 brain areas in either hemisphere at any times. These results indicate that following parasagittal fluid-percussion brain injury, the temporal expression of TNF- α mRNA is altered in specific brain regions,

30 including those of the non-traumatized hemisphere. Since TNF- α is able to induce

WO 01/92202

PCT/US01/17678

nerve growth factor (NGF) and stimulate the release of other cytokines from activated astrocytes, this post-traumatic alteration in gene expression of TNF- α plays an important role in both the acute and regenerative response to CNS trauma.

CNS Injury model for IL- β mRNA

5 This assay characterizes the regional expression of interleukin-1 β (IL-1 β) mRNA in specific brain regions following experimental lateral fluid-percussion traumatic brain injury (TBI) in rats. Adult Sprague-Dawley rats (n=42) are anesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg, i.p.) and subjected to lateral fluid-percussion brain injury of moderate severity (2.4 atm.) centered over the left
10 temporoparietal cortex (n=18), or "sham" treatment (anesthesia and surgery without injury). Animals are sacrificed at 1, 6 and 24 hr. post injury, brains removed, and tissue samples of left (injured) parietal cortex (LC), corresponding area in the contralateral right cortex (RC), cortex adjacent to injured parietal cortex (LA), corresponding adjacent area in the right cortex (RA), left
15 hippocampus (LH) and right hippocampus (RH) are prepared. Total RNA is isolated and Northern blot hybridization was performed and the quantity of brain tissue IL-1 β mRNA is presented as percent relative radioactivity of IL-1 β positive macrophage RNA which was loaded on same gel. At 1 hr. following brain injury, a marked and significant increase in expression of IL-1 β mRNA is observed in LC
20 (20.0 $\pm$ 0.7% of positive control, n=6, p < 0.05 compared with sham animal), LH (24.5 $\pm$ 0.9%, p < 0.05) and LA (21.5 $\pm$ 3.1%, p < 0.05) in the injured hemisphere, which remained elevated up to 6 hr. post injury in the LC (4.0 $\pm$ 0.4%, n=6, p < 0.05) and LH (5.0 $\pm$ 1.3%, p < 0.05). In sham or naive animals, no expression of IL-1 β mRNA is observed in any of the respective brain areas. These results
25 indicate that following TBI, the temporal expression of IL-1 β mRNA is regionally stimulated in specific brain regions. These regional changes in cytokines, such as IL-1 β play a role in the post-traumatic.

All publications, including but not limited to patents and patent applications, cited in this specification are herein incorporated by reference as if

WO 01/92202

PCT/US01/17678

each individual publication were specifically and individually indicated to be incorporated by reference herein as though fully set forth.

The above description fully discloses the invention including preferred embodiments thereof. Modifications and improvements of the embodiments

5 specifically disclosed herein are within the scope of the following claims.

Without further elaboration, it is believed that one skilled in the area can, using the preceding description, utilize the present invention to its fullest extent.

Therefore the Examples herein are to be construed as merely illustrative and not a limitation of the scope of the present invention in any way. The embodiments of

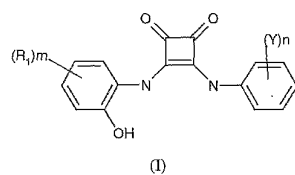
10 the invention in which an exclusive property or privilege is claimed are defined as follows.

WO 01/92202

PCT/US01/17678

What is claimed is:

1. A compound of the formula:



wherein:

- R_1 is independently selected from the group consisting of hydrogen, halogen, nitro, cyano, halosubstituted C_{1-10} alkyl, C_{1-10} alkyl, C_{2-10} alkenyl, C_{1-10} alkoxy, halosubstituted C_{1-10} alkoxy, azide, $(CR_8R_8)_q S(O)_t R_4$, hydroxy, hydroxy C_{1-4} alkyl, aryl, aryl C_{1-4} alkyl, aryloxy, aryl C_{1-4} alkyloxy, heteroaryl, heteroarylalkyl, heterocyclic, heterocyclic C_{1-4} alkyl, heteroaryl C_{1-4} alkyloxy, aryl C_{2-10} alkenyl, heteroaryl C_{2-10} alkenyl, heterocyclic C_{2-10} alkenyl, $(CR_8R_8)_q NR_4 R_5$, C_{2-10} alkenyl $C(O)NR_4 R_5$, $(CR_8R_8)_q C(O)NR_4 R_5$, $(CR_8R_8)_q C(O)NR_4 R_{10}$, $S(O)_3 H$, $S(O)_3 R_8$, $(CR_8R_8)_q C(O)R_{11}$, C_{2-10} alkenyl $C(O)R_{11}$, C_{2-10} alkenyl $C(O)OR_{11}(CR_8R_8)_q C(O)OR_{12}$, $(CR_8R_8)_q OC(O)R_{11}$, $(CR_8R_8)_q NR_4 C(O)R_{11}$, $(CR_8R_8)_q NHS(O)_2 R_{17}$, $(CR_8R_8)_q$; and $(O)_2 NR_4 R_5$; or two R_1 moieties together form $O-(CH_2)_s O-$ or a 5 to 6 membered unsaturated ring;
- q is 0, or an integer having a value of 1 to 10;
- t is 0, or an integer having a value of 1 or 2;
- s is an integer having a value of 1 to 3;
- R_4 and R_5 are independently selected from the group consisting of hydrogen, optionally substituted C_{1-4} alkyl, optionally substituted aryl, optionally

WO 01/92202

PCT/US01/17678

- substituted aryl C₁₋₄alkyl, optionally substituted heteroaryl, optionally substituted heteroaryl C₁₋₄alkyl, heterocyclic, and heterocyclic C₁₋₄ alkyl, or R₄ and R₅ together with the nitrogen to which they are attached form a 5 to 7 member ring which optionally comprises an additional heteroatom selected from oxygen, nitrogen or sulfur;
- 5 Y is independently selected from the group consisting of hydrogen, halogen, nitro, cyano, halosubstituted C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkyl, C₂₋₁₀ alkenyl, C₁₋₁₀ alkoxy, halosubstituted C₁₋₁₀ alkoxy, azide, (CR₈R₈)_q S(O)_pR₄, hydroxy, hydroxyC₁₋₄alkyl, aryl, aryl C₁₋₄ alkyl, aryloxy, arylC₁₋₄ alkyloxy, heteroaryl, heteroarylalkyl, heteroaryl C₁₋₄ alkyloxy, heterocyclic, heterocyclic C₁₋₄alkyl;
- 10 aryl C₂₋₁₀ alkenyl, heteroaryl C₂₋₁₀ alkenyl, heterocyclic C₂₋₁₀ alkenyl, (CR₈R₈)_q NR₄R₅, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)NR₄R₅, (CR₈R₈)_q C(O)NR₄R₅, (CR₈R₈)_q C(O)NR₄R₁₀, S(O)₃H, S(O)₃R₈, (CR₈R₈)_q C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)OR₁₁, C(O)R₁₁, (CR₈R₈)_q C(O)OR₁₂,
- 15 (CR₈R₈)_q OC(O) R₁₁, (CR₈R₈)_q NR₄C(O)R₁₁, (CR₈R₈)_q NHS(O)₂R_d, and (CR₈R₈)_q S(O)₂NR₄R₅; or two Y moieties together form O-(CH₂)₈O- or a 5 to 6 membered unsaturated ring;
- n is an integer having a value of 1 to 5;
- m is an integer having a value of 1 to 4;
- 20 R₈ is hydrogen or C₁₋₄ alkyl;
- R₁₀ is C₁₋₁₀ alkyl C(O)₂R₈;
- R₁₁ is selected from the group consisting of hydrogen, C₁₋₄ alkyl, optionally substituted aryl, optionally substituted aryl C₁₋₄alkyl, optionally substituted heteroaryl, optionally substituted heteroarylC₁₋₄alkyl, optionally substituted
- 25 heterocyclic, and optionally substituted heterocyclicC₁₋₄alkyl;
- R₁₂ is selected from hydrogen, C₁₋₁₀ alkyl, optionally substituted aryl and optionally substituted arylalkyl;

WO 01/92202

PCT/US01/17678

R¹⁷ is selected from the group consisting of C₁₋₄alkyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylC₁₋₄alkyl, heterocyclic, and heterocyclicC₁₋₄alkyl, wherein the aryl, heteroaryl and heterocyclic rings are all optionally substituted.

- 5 2. The compound according to Claim 1 which is:
- 3-(2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dichlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 10 3-(2-methoxy-benzylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 15 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dichlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-phenylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-ethylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 20 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-phenoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 6-Chloro-3-(3,4-dioxo-2-phenylamino-cyclobut-1-enylamino)-2-hydroxy-benzenesulfonamide,
 3,4-bis-(4-cyano-2-hydroxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 25 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dimethylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methyl-4-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-propylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

WO 01/92202

PCT/US01/17678

- 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methyl-3-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dimethoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 5 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-chloro-3-methylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 10 3,4-bis-(4-nitro-2-hydroxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-[(2-Hydroxy-phenyl)-methyl-amino]-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(3-Hydroxy-pyridin-2-ylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
- 15 3. A pharmaceutical composition comprising an effective amount of a compound according to Claim 1, and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent.
- 20 4. A method of treating a chemokine mediated disease state, wherein the chemokine binds to an IL-8 α or β receptor in a mammal, which comprises administering to said mammal an effective amount of a compound of the formula according to claim 1.
- 25 5. The method according to Claim 4 wherein the mammal is afflicted with a chemokine mediated disease selected from 17.
6. The method according to Claim 16 wherein the mammal is afflicted with a chemokine mediated disease selected from atopic dermatitis, osteo arthritis,
 30 rheumatoid arthritis, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, adult

WO 01/92202

PCT/US01/17678

respiratory distress syndrome, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, stroke, septic shock, multiple sclerosis, endotoxic shock, psoriasis, gram negative sepsis, toxic shock syndrome, cardiac and renal reperfusion injury, glomerulonephritis, thrombosis, graft vs. host reaction, alzheimers disease, allograft rejections, malaria, restinosis, angiogenesis, atherosclerosis, osteoporosis, gingivitis
5 and undesired hematopoietic stem cells release, diseases caused by respiratory viruses, herpesviruses, and hepatitis viruses, meningitis, herpes encephalitis, CNS vasculitis, traumatic brain injury, CNS tumors, subarachnoid hemorrhage, post surgical trauma, cystic fibrosis, pre-term labour, cough, pruritus, interstitial
10 pneumonitis, hypersensitivity, crystal induced arthritis, lyme arthritis, fibrodysplasia ossificans progressiva, acute and chronic pancreatitis, acute alcoholic hepatitis, necrotizing enterocolitis, chronic sinusitis, uveitis, polymyositis, vasculitis, acne, gastric and duodenal ulcers, celiac disease, esophagitis, glossitis, airflow obstruction, airway hyperresponsiveness, bronchiolitis obliterans organizing pneumonia,
15 bronchiectasis, bronchiolitis, bronchiolitis obliterans, chronic bronchitis, cor pulmonae, dyspnea, emphysema, hypercapnea, hyperinflation, hypoxemia, hypoxia, surgical lung volume reduction, pulmonary fibrosis, pulmonary hypertension, right ventricular hypertrophy, sarcoidosis, small airway disease, ventilation-perfusion mismatching, wheeze and lupus.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US01/17678										
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : C07C 211/60 US CL : 564/306 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. : 564/306 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched NONE Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) STN CASONLINE												
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT												
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.										
X	Database CAPLUS on STN, AN 1999:79153. CHEN et al. Chemical Abstract Online	1-3										
A	Printout, "Synthesis of asymmetric aryl-substituted amides of squaric acid and asymmetric isosquarylum amides", Hecheng Huaxue, 1998, Vol. 6, No. 4, pages 383-392.	4-6										
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.												
* Special categories of cited documents: <table border="0"> <tr> <td>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"B" earlier application or patent published on or after the international filing date</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"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)</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td>"&" document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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	"B" earlier application or patent published on or after the international filing date	"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	"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)	"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	"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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											
"B" earlier application or patent published on or after the international filing date	"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											
"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)	"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											
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family											
"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 20 September 2001 (20.09.2001)		Date of mailing of the international search report 05 NOV 2001										
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer Samuel A. Barts Telephone No. 703-308-1235										

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

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 P 1/04	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 1/16	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 1/18	A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 7/02	A 6 1 P 7/02	
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 11/00	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 11/06	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 13/12	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 15/00	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/04	A 6 1 P 17/04	
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 19/00	A 6 1 P 19/00	
A 6 1 P 19/02	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 19/04	A 6 1 P 19/04	
A 6 1 P 19/10	A 6 1 P 19/10	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 33/06	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 33/06	
A 6 1 P 37/08	A 6 1 P 37/02	
C 0 7 C 255/59	A 6 1 P 37/08	
	C 0 7 C 255/59	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,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,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,PL,PT,RO,RU,S D,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 マイケル・アール・パロビッチ

アメリカ合衆国19446ペンシルベニア州ランズデイル、ウィテカー・プレイス620番

(72)発明者 ブレント・マックルランド

アメリカ合衆国18054ペンシルベニア州グリーン・レイン、オールド・ウッズ・ロード2140番

(72)発明者 ビ・グアンピン

アメリカ合衆国19403ペンシルベニア州オーデュボン、アパートメント・エフ8、コロニー・ドライブ2839番

(72)発明者 ミシェル・ワーナー

アメリカ合衆国15037ペンシルベニア州エリザベス、リバティ・ウェイ4182番

(72)発明者 キャサリン・エル・ウィードソン

アメリカ合衆国15037ペンシルベニア州キング・オブ・プルシア、オールド・バレー・フォージ・ロード1047番

F ターム(参考) 4C206 AA01 AA02 AA03 FA31 HA14 KA01 MA01 MA04 NA14 ZA02
ZA16 ZA36 ZA39 ZA45 ZA54 ZA59 ZA67 ZA68 ZA75 ZA81
ZA89 ZA94 ZA96 ZA97 ZB07 ZB11 ZB15 ZB26 ZB33 ZB35
ZB38
4H006 AA01 AA03 AB20 BJ20 BM30 BM72 BM73 BN30 BP30 BR70
BU42 BU46