

(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2004-510749
(P2004-510749A)

(43) 公表日 平成16年4月8日(2004.4.8)

(51) Int.Cl.⁷

A61K 45/00
A61K 31/426
A61P 1/00
A61P 1/04
A61P 1/16

F 1

A 61 K 45/00
A 61 K 31/426
A 61 P 1/00
A 61 P 1/04
A 61 P 1/16

テーマコード(参考)

4 C 0 3 3
4 C 0 8 4
4 C 0 8 6

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 58 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-532257 (P2002-532257)	(71) 出願人	397009934 グラクソ グループ リミテッド G L A X O G R O U P L I M I T E D イギリス ミドルセックス ユービー6 Oエヌエヌ グリーンフォード パークレー アベニュー グラクソ ウエルカム ハウス (番地なし) G l a x o W e l l c o m e H o u s e , B e r k e l e y A v e n u e G r e e n f o r d , M i d d l e s e x U B 6 O N N , G r e a t B r i t a i n
(86) (22) 出願日	平成13年10月2日 (2001.10.2)	(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔
(85) 翻訳文提出日	平成15年4月2日 (2003.4.2)		
(86) 國際出願番号	PCT/GB2001/004370		
(87) 國際公開番号	W02002/028433		
(87) 國際公開日	平成14年4月11日 (2002.4.11)		
(31) 優先権主張番号	0024362.6		
(32) 優先日	平成12年10月5日 (2000.10.5)		
(33) 優先権主張国	イギリス (GB)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 NO阻害またはTNF阻害に関連した疾病の治療におけるPPARデルタ活性化因子の使用

(57) 【要約】

NOシンターゼおよび/またはTNFの阻害が望ましい疾病または状態の予防または治療の方法、上記方法へのPPARデルタ活性化因子の使用、および上記治療に有用な化合物を同定する方法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

P P A R デルタ活性化因子を投与することを含む、ヒトのような哺乳類においてN Oシンターゼおよび/またはT N Fの阻害剤が適応となる疾病または状態を治療する方法。

【請求項 2】

N Oシンターゼおよび/またはT N Fの阻害剤が適応となる疾病または状態を治療するための医薬品の製造におけるP P A R デルタ活性化因子の使用。

【請求項 3】

P P A R デルタ活性化因子がP P A R デルタアゴニストである、請求項1記載の方法または請求項2記載の使用。

10

【請求項 4】

P P A R デルタアゴニストが選択的アゴニストである、請求項3記載の方法または使用。

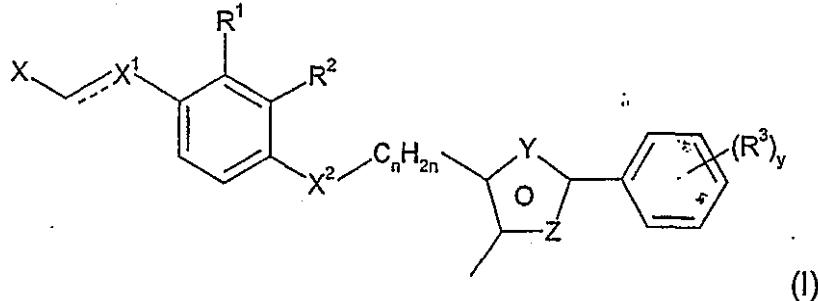
【請求項 5】

選択的P P A R デルタアゴニストがh P P A R デルタ選択的アゴニストである、請求項4記載の方法または使用。

【請求項 6】

P P A R デルタ活性化因子が一般式(I)：

【化1】



20

で表される構造を有する、請求項2記載の使用または請求項1記載の方法。

【請求項 7】

P P A R デルタ活性化因子が、{2-メチル-4-[4-メチル-2-(4-トリフルオロメチルフェニル)チアゾール-5-イルメチルチオ]フェノキシ}酢酸である、請求項5記載の使用または方法。

30

【請求項 8】

P P A R デルタ活性化因子および少なくとも1つの製剤用担体を含み、P P A R デルタアゴニストがN Oシンターゼおよび/またはT N Fの阻害剤が適応となる疾病または状態の治療に使用するために有効な量で存在する、N Oシンターゼおよび/またはT N Fの阻害剤が適応となる疾病または状態の治療に使用するための医薬製剤。

【請求項 9】

化合物がP P A R デルタと直接相互作用するかどうかを決定するステップ、または化合物がP P A R デルタを活性化するかどうかを決定するステップを含む、N Oシンターゼおよび/またはT N Fの阻害剤が適応となる疾病または状態の治療に有用な化合物を同定する方法。

40

【請求項 10】

請求項9記載のスクリーニング法を用いて同定された化合物を投与することを含む、N Oシンターゼおよび/またはT N Fの阻害剤が適応となる疾病または状態を治療する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は医薬品に関する。特に、本発明は、P P A R デルタに結合し、これを活性化する化合物に関する。別の態様において、本発明はi N O Sおよび/またはT N Fにより介する疾病および状態を予防または治療する方法、およびi N O Sおよび/またはT N F

50

により仲介される疾病および状態の治療に有用な化合物を同定する方法に関する。

【0002】

一酸化窒素は可溶性グアニル酸シクラーゼ酵素の内因性刺激物質であり、多くの生物学的作用に関与している。また、過剰な一酸化窒素の生産も、敗血症性ショックおよび多くの炎症性の疾病を含む多くの状態に関与していると考えられている。L-アルギニンからの一酸化窒素の生化学的合成は、酵素NOSにより触媒される。これまでに多くのNOSの阻害剤が文献に記載され、治療に用いることを提案してきた。最近では、内皮NOSよりも、誘導NOSまたはニューロンNOSのいずれかに選択性を示すNOS阻害剤を提供することがこの分野における目的となっている。

10

【0003】

ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体（以後PPARと記載する）は、リガンド活性化転写因子のステロイド/レチノイド/甲状腺ホルモン受容体ファミリーの公知のメンバーであって、とりわけ、高いマイクロモル濃度のある種のペルオキシソーム増殖因子により活性化される。ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アルファ（以後PPARと記載する）、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体ガンマ（以後PPARと記載する）およびペルオキシソーム増殖因子活性化受容体デルタ（以後PPARと記載する）がそれぞれPPARのサブタイプとして同定されている。

【0004】

腫瘍壞死因子（TNF）は、in vivoにおける多くの生体応答を仲介することが知られている。特異的TNF中和抗体、可溶性TNF受容体構築物およびTNF検出技術を用いた動物およびヒトにおける臨床および前臨床研究により、TNFが、炎症性/自己免疫性の疾病または状態を含む非常に多くの病変の仲介物質であることが示された。

20

【0005】

本発明の発明者らは、驚くべきことに、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体デルタ（以後PPARと記載する）の活性化因子が、iNOSおよびTNFの生成を阻害し、それにより、NOSの阻害剤、特にiNOSの阻害剤が適応となる状態の予防および治療に有用であることを見いだした。

【0006】

したがって、本発明は、NOSの阻害剤（特にiNOSの阻害剤）が適応となる疾病および状態の治療におけるPPAR活性化因子の使用、およびPPARアゴニストを用いてNOSおよび/またはTNFに仲介される疾病を治療する方法を提供する。特に、本発明は、NOSの阻害剤（特に、iNOSの阻害剤）が適応となる状態の治療における使用に対して効力が高く、選択性的なPPARアゴニストの使用を提供する。

30

【0007】

NOSの阻害剤が適応となる状態には、炎症性の状態、ショック状態、免疫疾患、および胃腸運動性障害が含まれる。PPARデルタアゴニストならびにその薬学的に許容される塩、溶媒和物および生理的機能を有する誘導体はまた、片頭痛を含む中枢神経系の疾病的予防および治療に使用することもできる。

40

【0008】

ショック状態という用語は、NOの過剰生産の結果生じるものを感じ、敗血症性ショック、出血性ショック、外傷性ショック、または激症肝不全により引き起こされるショック、またはTNF、IL-1およびIL-2のようなサイトカインによる治療により引き起こされるショック、または、たとえば5,6-ジメチルキサンテノン酢酸のようなサイトカイン誘導剤による治療により引き起こされるショックを含む。

【0009】

炎症性の状態および免疫疾患の例には、関節の疾病または状態、特に関節炎（たとえば、慢性関節リウマチ、変形性関節症、人工関節不全）、または胃腸管の疾病または状態（たとえば、潰瘍性大腸炎、クローン病、および他の炎症性の腸および胃腸の疾病、感染の結

50

果生じる胃炎および粘膜の炎症、非ステロイド抗炎症薬により誘発された腸疾患)、肺の疾患または状態(たとえば、成人呼吸困難症候群、喘息、囊胞性線維症、または慢性閉塞性肺疾患)、心臓の疾患または状態(たとえば、心筋炎)、神経組織の疾患または状態(たとえば、多発性硬化症)、膵臓の疾患または状態(たとえば、糖尿病に伴う炎症およびその合併症)、腎臓の疾患または状態(たとえば、糸球体腎炎)、皮膚の疾患または状態(たとえば、皮膚炎、乾癬、湿疹、じんま疹、やけど)、目の疾患または状態(たとえば、緑内障)、ならびに移植された器官の状態(たとえば、拒絶反応)、および多器官疾患(たとえば、全身性エリテマトーデス)、ウイルスまたは細菌感染症の炎症性後遺症、およびアテローム硬化に伴う炎症性の状態、およびそれに続く、たとえば脳または虚血性心臓病における低酸素または虚血性発作(再灌流を伴うまたは伴わない)が含まれる。

10

【0010】

胃腸運動性障害には、イレウス、たとえば手術後イレウスおよび敗血症の間のイレウスが含まれる。

【0011】

中枢神経系の疾患という用語は、NOおよび/またはTNFの過剰生産が関与する疾患、たとえば、片頭痛、精神病、不安、統合失調症、睡眠障害、脳虚血、CNS外傷、てんかん、多発性硬化症、 AIDS痴呆、慢性神経変性疾患(たとえば、レーヴィ(Lewy)体痴呆、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、またはアルツハイマー病)および急性および慢性の痛み、ならびに非アドレナリン性非コリン性神経が関与する状態、たとえば、持続勃起症、肥満症および過食症を意味する。

20

【0012】

急性の痛みの例には、筋骨格痛、手術後の痛みおよび外科手術の痛みが含まれる。慢性の痛みの例には、慢性の炎症性の痛み(たとえば、慢性関節リウマチおよび変形性関節症)、神経障害による痛み(たとえば、ヘルペス後の神経痛、糖尿病に伴う糖尿病性神経障害、三叉神経痛、機能性腸疾患に伴う痛み、たとえば、過敏性腸症候群、非心臓性胸痛および交感神経により維持される痛み)ならびに癌および纖維筋痛に伴う傷みが含まれる。

【0013】

さらに、NOシンターゼおよび/またはTNFの阻害は、HIV感染に伴うリンパ球の減少の防止、放射線療法中の腫瘍の放射線感受性の増大、ならびに腫瘍の増殖、腫瘍の進行、脈管形成および転移の減少に有益である可能性がある。

30

【0014】

好ましくは、PPARデルタ活性化因子はPPARアゴニストである。本明細書において、「アゴニスト」または「活性化化合物」または「活性化因子」等は、関連PPAR、たとえばヒトPPARに対して、下に記載する結合アッセイにおいて6.0以上のpKiを有し、また、たとえば、WO 00/08002に記載されるトランスフェクションアッセイにおいて、10⁻⁵ M以下の濃度で、指示された適当なポジティブコントロールと比較して、関連PPARの50%以上の活性化を達成する化合物を意味する。より好ましくは、本発明の化合物はトランスフェクションアッセイにおいて、10⁻⁷ M以下の濃度でヒトPPARの50%活性化を達成する。

40

【0015】

最も好ましくは、PPARデルタアゴニストは、選択的hPPARアゴニストである。本明細書において、「選択的hPPARアゴニスト」は、そのPPARに対するEC50が、そのPPARおよびPPARに対するEC50よりも10倍以上低いhPPARアゴニストである。このような選択的な化合物を「10倍選択的」であると言う。EC50は、たとえばWO 00/08002に記載されたトランスフェクションアッセイにおいて定義され、化合物がその最大活性の50%を達成する濃度である。最も好ましい化合物は、100倍以上選択的なhPPARアゴニストである。

【0016】

以下にさらに特定的な本発明の態様を示す。

【0017】

50

(a) NOシンターゼおよび/またはTNFの阻害剤、特にiNOSの阻害剤が適応となる状態の治療における治療剤として使用するためのPPARデルタアゴニスト(たとえば、一般式(I)の化合物)；

(b) PPARデルタアゴニスト(たとえば、一般式(I)の化合物)および少なくとも1つの製剤用担体を含み、PPARデルタアゴニストが、NOシンターゼおよび/またはTNFの阻害剤、特にiNOSの阻害剤が適応となる状態の治療に使用するために有効な量で存在する医薬製剤；

(c) NOシンターゼおよび/またはTNFの阻害剤、特にiNOSの阻害剤が適応となる状態を治療するための医薬品の製造におけるPPARデルタアゴニスト(たとえば、一般式(I)の化合物)の使用；

(d) 治療上有効な量のPPARデルタアゴニスト(たとえば、一般式(I)の化合物)を哺乳類に投与することを含む、ヒトのような哺乳類における、NOシンターゼおよび/またはTNFの阻害剤、特にiNOSの阻害剤が適応となる状態を治療する方法。

【0018】

本明細書において、「治療」という用語は、NOシンターゼおよび/またはTNFの阻害剤が適応となることが確立されている状態の予防および軽減を含む。PPARデルタアゴニストは、化合物またはその薬学的に許容される誘導体として使用される。

【0019】

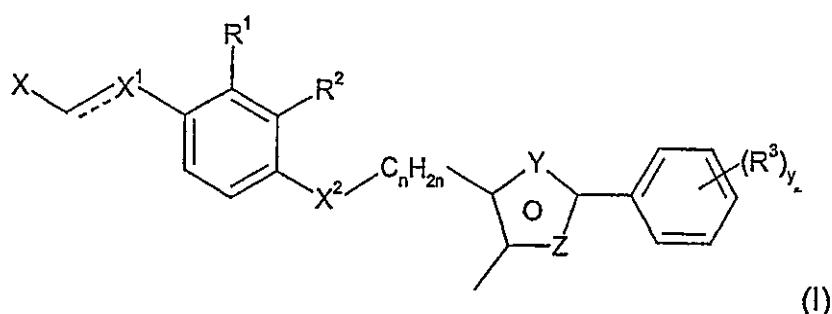
薬学的に許容される誘導体という用語は、PPARデルタアゴニストのすべての薬学的に許容される塩、溶媒和物、エステルもしくはアミド、またはそのようなエステルもしくはアミドの塩もしくは溶媒和物、または受容者に投与した際にPPARデルタアゴニストまたはその活性な代謝産物もしくは残基を(直接または間接的に)生成することができる他の全ての化合物を意味する。

【0020】

好みしいPPARデルタ活性化因子は、たとえば、WO 01/00603に開示された、一般式(I)の化合物およびその薬学的に許容される塩および溶媒和物である。

【0021】

【化2】



〔式中、

Xは、COOH(またはその加水分解性エステル)またはテトラゾール基を表し；
X¹は、NH、NCH₃、O、S、結合(すなわち、存在しない)、CH₂、またはCHを表し、ここで点線は、X¹がCHの場合には描かれた結合が二重結合であることを示す；

X²は、OまたはSを表し；

R¹およびR²は、独立にH、CH₃、OCH₃、またはハロゲンを表し；
nは1または2であり；

YおよびZのうち一方はNであり、他方はSまたはOであり；

yは0、1、2、3、4または5であり；

R³はそれぞれ独立に、CF₃またはハロゲンを表す。〕

【0022】

10

20

30

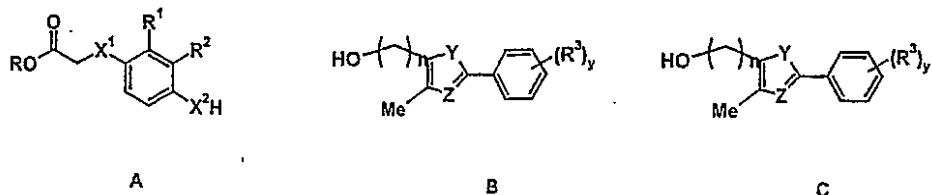
40

50

これらの化合物は、Mitsunobuプロトコール(O. Mitsunobu, 1981 Synthesis, p 1)を用いてAのような成分をアルコール(B)と結合させる一般的な方法により、またはK₂CO₃、Cs₂CO₃またはNaHのような適当な非求核塩基を用いてAをハロゲン化アルキル(C)でアルキル化することにより、都合よく調製することができる。この合成は、Rで保護された酸基を用いて行なうことが好ましい点に注意されたい。好ましくは、Rは、加水分解により脱離して一般式(I)の酸を与えるような1-6アルキルであり、または容易に加水分解される場合には、得られたエステルを投与することもできる。

【0023】

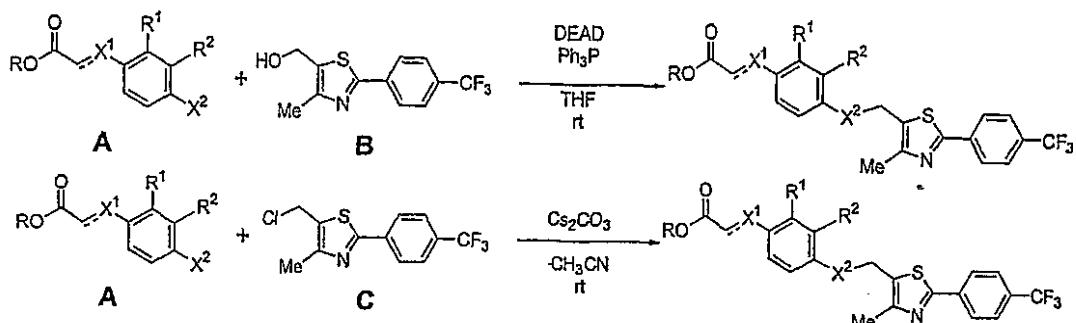
【化3】



【0024】

たとえば、nが1、YがS、ZがN、およびR³がp-CF₃の場合、

【化4】



【0025】

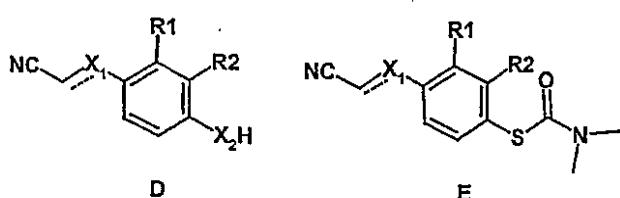
タイプAの中間体は市販されている。また、タイプBの中間体の合成法は下に記載する通りである。

【0026】

さらに、テトラゾール誘導体は、Mitsunobuプロトコール(O. Mitsunobu, 1981 Synthesis, p 1)を用いてDのような成分をアルコール(B)と結合させる一般的な方法により、K₂CO₃、Cs₂CO₃またはNaHのような適当な非求核塩基を用いてDをハロゲン化アルキル(C)でアルキル化することにより、またはNaOHのような適当な非求核塩基を用いてEのような成分をハロゲン化アルキル(C)と結合させることにより、都合よく調製することができる。

【0027】

【化5】



【0028】

10

20

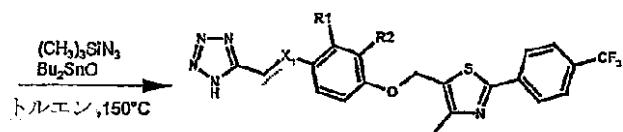
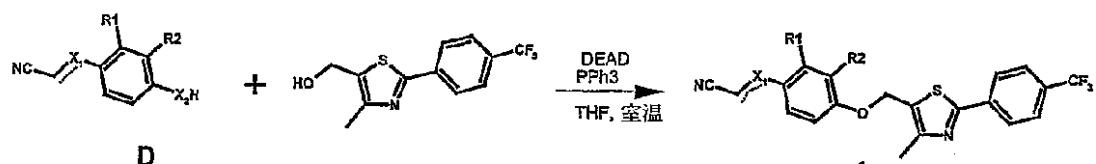
30

40

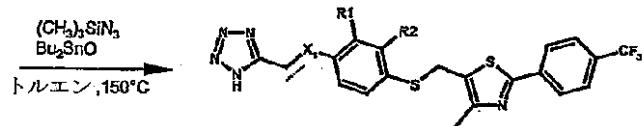
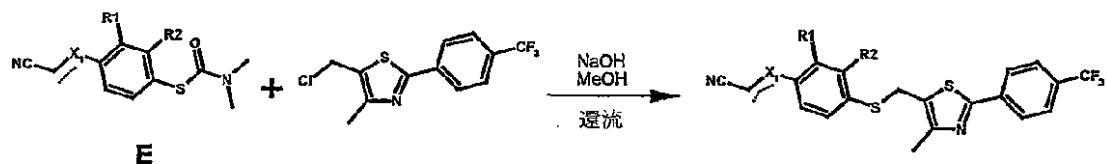
50

たとえば、 n が 1、Y が S、Z が N、および R^3 が p - C_6F_5 の場合、

【化 6】



10



20

【0029】

本発明の好ましい化合物は以下の通りである：

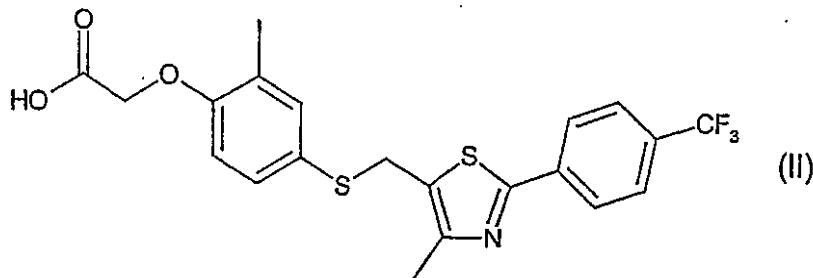
2 - { 2 - メチル - 4 - [({ 4 - メチル - 2 - [4 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1 , 3 - チアゾール - 5 - イル } メチル) スルファニル] フエノキシ } 酢酸、
 2 - { 2 - メチル - 4 - [({ 4 - メチル - 2 - [4 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1 , 3 - オキサゾール - 5 - イル } メチル) スルファニル] フエノキシ } 酢酸、
 2 - { 4 - [({ 4 - メチル - 2 - [4 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1 , 3 - チアゾール - 5 - イル } メチル) スルファニル] フエノキシ } 酢酸メチル、
 2 - { 4 - [({ 4 - メチル - 2 - [4 - (トリフルオロメチル) フェニル - 1 , 3 - チアゾール - 5 - イル } メチル) スルファニル] フエノキシ } 酢酸、
 (E) - 3 - [2 - メチル - 4 - ({ 4 - メチル - 2 - [4 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1 , 3 - チアゾール - 5 - イル } メトキシ) フェニル] - 2 - プロパン酸
 2 - { 3 - クロロ - 4 - [({ 4 - メチル - 2 - [4 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1 , 3 - チアゾール - 5 - イル } メチル) スルファニル] フェニル } 酢酸。

【0030】

特に好ましい PPAR デルタアゴニストは、{ 2 - メチル - 4 - [4 - メチル - 2 - (4 - トリフルオロメチルフェニル) チアゾール - 5 - イルメチルチオ] フエノキシ } 酢酸およびその薬学的に許容される塩、溶媒和物、および加水分解性エステルである（下記の一般式（II））。

【0031】

【化 7】



【0032】

10

P P A R デルタ活性化因子はまた、その薬学的に許容される塩または溶媒和物の形でも利用することができるることは当業者に理解されるであろう。生理的に許容される塩には、薬学的に許容される無機または有機の酸または塩基から形成された従来用いられている塩、および第4アンモニウム酸付加塩が含まれる。好ましい酸性塩のより特定的な例には、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、硝酸、過塩素酸、フマル酸、酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、ギ酸、乳酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、パルモ酸 (p a l m o i c)、マロン酸、ヒドロキシマレイン酸、フェニル酢酸、グルタミン酸、安息香酸、サリチル酸、フマル酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、ナフタレン-2-スルホン酸、ベンゼンスルホン酸、ヒドロキシナフト酸、ヨウ化水素酸、リンゴ酸、ste roic酸、タンニン酸等の塩が含まれる。シュウ酸のような他の酸は、それ自体は薬学的に許容されないが、本発明の化合物およびその薬学的に許容される塩を得るための中間体として有用な塩の調製に有用であり得る。好ましい塩基性塩のより特定的な例には、ナトリウム、リチウム、カリウム、マグネシウム、アルミニウム、カルシウム、亜鉛、N,N'-ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、N-メチルグルカミンおよびプロカインの塩が含まれる。これ以後、P P A R デルタ活性化因子という場合、化合物およびその薬学的に許容される塩または溶媒和物の両方を含む。

20

【0033】

30

P P A R デルタ活性化因子およびその薬学的に許容される誘導体は、医薬組成物の形で都合よく投与される。このような組成物は、従来の方法により1以上の生理的に許容される担体または添加剤との混合物として使用のために都合よく提供される。担体(1種または複数種の)は製剤の他の成分と共存でき、その受容者に対して有害でないと言う意味で「許容される」ものでなくてはならない。

【0034】

P P A R デルタ活性化因子を未加工の化学物質として治療用に投与することも可能であるが、活性成分を医薬製剤として提供するのが好ましい。

【0035】

40

製剤には、経口、非経口(たとえば注射またはデポ錠剤による皮下、皮内、鞘内、たとえばデポによる筋内、および静脈内を含む)、直腸および局所(皮膚、口腔および舌下を含む)投与に適したもの、または通気投与の吸入による投与に適した形が含まれるが、好ましい経路はほとんどの場合たとえば受容者の状態および障害に応じて決定される。製剤は1回服用量製剤の形で都合よく提供され、また、薬剤学の分野において周知の方法により調製することができる。全ての方法は、化合物(「活性成分」)を1以上の補助的な成分からなる担体と混合するステップを含む。一般的に、製剤は、活性成分と液体の担体または細かく分割された固体の担体またはその両方とを均一および緊密に混合した後、必要なならば、製品を所望の製剤に形作ることにより調製される。

【0036】

50

経口投与に適した製剤は、それぞれがあらかじめ決定された量の活性成分を含むカプセル剤、カシェ剤または錠剤(たとえば、特に小児への投与のための咀嚼錠)のような分離した単位として;粉末または顆粒として;水性の液体または非水性の液体中の溶液または懸

濁液として；またはO/W型液体乳剤またはW/O型液体乳剤として提供される。活性成分はまたボーラス、舐剤またはペースト剤として提供されてもよい。

【0037】

錠剤は、必要に応じて1以上の補助的な成分とともに、圧縮または成形することにより作られる。圧縮錠剤は、粉末または顆粒のような流動しやすい形の活性成分を、必要に応じて他の一般的な添加剤、たとえば、結合剤（たとえば、シロップ、アラビアゴム、ゼラチン、ソルビトール、トラガント、デンプンの漿剤、ポリビニルピロリドン）またはヒドロキシメチルセルロースまたはヒドロキシメチルセルロース増量剤（たとえば、ラクトース、糖、微結晶セルロース、コーンスター、リン酸カルシウム、またはソルビトール）、滑沢剤（たとえば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルク、ポリエチレングリコールまたはシリカ）、崩壊剤（たとえば、バレイショデンプンまたはデンブングリコール酸ナトリウム）またはラウリル硫酸ナトリウムのような湿潤剤と混合して、適当な機械で圧縮することにより調製される。すりこみ錠剤は、不活性な液体希釈剤により湿らせた粉末の化合物の混合物を適当な機械で成型することにより製造される。錠剤は必要に応じてコーティングまたは刻印をおこない、また、含まれる活性成分が徐放または制御放出されるように製剤化してもよい。錠剤は当業者に公知の方法によりコーティングすることができる。

【0038】

あるいは、本発明の化合物は、たとえば、水性または油性の懸濁液、溶液、乳液、シロップまたはエリキシルのような経口液体製剤に混合してもよい。さらに、これらの化合物を含む製剤は、使用前に水または他の適当なビヒクルと混合して溶解するための乾燥品として提供されてもよい。このような液体製剤は、懸濁剤、たとえば、ソルビトールシロップ、メチルセルロース、グルコース／糖シロップ、ゼラチン、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ステアリン酸アルミニウムゲルまたは水素添加された食用油；乳化剤、たとえば、レシチン、モノオレイン酸ソルビタン、またはアラビアゴム；非水性ビヒクル（食用油を含んでもよい）、たとえば、アーモンド油、ヤシ油、油性のエステル、プロピレングリコールまたはエチルアルコール；および保存剤、たとえば、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピルまたはソルビン酸のような一般的に用いられる添加剤を含んでいてもよい。このような製剤はまた、たとえば、ココアバターまたは他のグリセリドのような一般的な坐剤基剤を含む坐剤として製剤化されてもよい。

【0039】

非経口投与用の製剤には、抗酸化剤、緩衝剤、静菌薬、および想定される受容者の血液と製剤とを等張にするための溶質を含んでいてよい水性および非水性無菌注射溶液；および懸濁剤および粘稠化剤を含んでいてよい水性および非水性無菌懸濁液が含まれる。

【0040】

製剤は、1回服用量または複数回服用量用容器、たとえば、密閉されたアンプルおよびバイアルに入れて提供されてもよく、また、使用の直前に、たとえば注射用水のような無菌の液体担体を加えるのみで使用できるようになっている凍結乾燥された状態で保存されてもよい。即時調合の注射溶液および懸濁液は、上記のような種類の無菌の粉末、顆粒および錠剤から調製されてもよい。

【0041】

直腸投与用の製剤は、ココアバター、硬脂肪またはポリエチレングリコールのような通常の担体を用いて坐剤として提供される。

【0042】

口腔、たとえば頬または舌下への局所投与用の製剤には、スクロースおよびアラビアゴムまたはトラガカントのような香味を付けた基剤に入れた活性成分からなるトローチ剤、およびゼラチンおよびグリセリンまたはスクロースおよびアラビアゴムのような基剤に入れた活性成分からなる香錠が含まれる。

【0043】

10

20

30

40

50

表皮への局所投与のためには、化合物をクリーム、ゲル、軟膏またはローションとして、または経皮パッチとして製剤化してもよい。

【0044】

化合物はまたデポ製剤として製剤化してもよい。このような長期間作用する製剤は埋め込み（たとえば、皮下または筋内に）または筋内注射により投与される。そのために、たとえば、化合物を、適当な高分子または疎水性材料（たとえば、許容される油中の乳液として）またはイオン交換樹脂と共に、または難溶性の誘導体として、たとえば、難溶性の塩として製剤化することができる。

【0045】

鼻内投与のために、本発明の化合物は、たとえば、液体スプレーとして、粉末として、または滴剤の形で用いることができる。 10

【0046】

吸入による投与のために、本発明の化合物は、適当な噴射剤、たとえば、1, 1, 1, 2 - トリフルオロエタン（HFA 134A）および1, 1, 1, 2, 3, 3, 3 - ヘプタプロパン（HFA 227）、二酸化炭素または他の適当な気体を用いて、加圧容器またはネブライザーからのエーロゾルスプレーの供給の形で都合よく送達される。加圧したエーロゾルの場合には、一定量を送達するためのバルブを設けて1回用量を決定してもよい。吸入器または吹き付け器に用いるための、たとえばゼラチンのカプセルおよびカートリッジは、本発明の化合物およびラクトースまたはデンプンのような適当な粉末基剤の粉末混合物を含むように製剤化される。 20

【0047】

上に詳細に記載した材料に加えて、製剤には、たとえば、経口投与に適した製剤は着香剤を含むというように、その製剤のタイプを考慮して当技術分野で従来使用されている他の薬剤を加えてもよい。

【0048】

本明細書における治療に関する言及は、確立された疾病または症状の治療のみならず、予防にも範囲が及ぶことは当業者に理解されるであろう。さらに、治療における使用に必要なPPARデルタ活性化因子の量は、治療される状態の性質および患者の年齢および状態により変化し、最終的には治療する医師または獣医の裁量に任せられることが理解されるであろう。しかしながら、一般的に成人の治療に用いられる用量は典型的には1日あたり0.02～5000mg、好ましくは1日あたり1～1500mgの範囲である。所望の用量を、1回量で提供してもよく、または適当な間隔にて投与するために分割した量で、たとえば、1日2、3、4回またはそれ以上に分割したものとして提供してもよい。本発明の製剤は0.1～99%の活性成分を含んでいてよく、錠剤およびカプセルでは30から95%、液体製剤では3から50%含むのが都合がよい。 30

【0049】

本発明に使用するためのPPARデルタ活性化因子は、1以上の他の治療薬、たとえば、痛み緩和薬、たとえば、グリシンアンタゴニスト、ナトリウムチャンネル阻害剤（たとえば、ラモトリギン）、サブスタンスPアンタゴニスト（たとえば、NK1アンタゴニスト）、アセトアミノフェンまたはフェナセチン；マトリックスマタロプロテイナーゼ阻害剤；一酸化窒素シンターゼ（NOS）阻害剤（たとえば、iNOSまたはnNOS阻害剤）；腫瘍壊死因子の放出または作用の阻害剤；抗体治療（たとえば、モノクローナル抗体治療）；カフェインを含む刺激剤；ラニチジンのようなH2-アンタゴニスト；オメ普ラゾールのようなプロトンポンプ阻害剤；水酸化アルミニウムまたは水酸化マグネシウムのような制酸剤；シメチコンのような整腸剤；フェニレフリン、フェニルプロパノールアミン、プロソイドエフェドリン、オキシメタゾリン、エピネフリン、ナファゾリン、キシロメタゾリン、プロピルヘキセドリン、またはレボデソキシエフェドリンのようなうっ血除去薬；コデイン、ヒドロコデイン、カルミフェン、カルベタベンタン、またはデキストラメトルファンのような鎮咳薬；利尿薬；または鎮静もしくは非鎮静抗ヒスタミン薬；Vi oxx（商標）またはCelebrex（商標）のようなCOX-2阻害剤および他のN 40

S A I D と組み合わせて使用することができる。そこで、本発明は、別の態様において、炎症の治療に、一般式(Ⅰ)の化合物と他の治療薬からなる組合せを使用することを提供する。

【0050】

P P A R デルタ活性化因子を他の治療薬と組み合わせて使用する場合、化合物は都合のよい経路により、順次または同時に投与することができる。

【0051】

上に記載した組合せは、製剤の形で都合よく使用に供することができ、したがって、上に定義した組合せを含み、望ましくは製薬上許容される担体または添加剤をも含む製剤は本発明の別の態様である。このような組合せの個々の成分は、順次、または別々のもしくは1つの製剤として同時に、のいずれかの方法で投与される。

【0052】

同一の製剤中で組み合わせる場合には、2つの化合物は安定で、相互に、また製剤の他の成分と適合可能でなければならないこと、および投与のために製剤化され得ることが理解されるであろう。別々に製剤化する場合には、このような化合物の製剤法として当業者に公知の方法を用いて、任意の都合のよい製剤の形で提供することができる。

【0053】

P P A R デルタ活性化因子と同じ疾病に対して活性を有する第2の治療薬と組み合わせて使用する場合、それぞれの化合物の用量は上記化合物を単独で用いる場合とは異なる可能性がある。適当な用量は当業者に容易に理解されるであろう。

【0054】

本発明の発明者らは、P P A R デルタの活性化因子である化学化合物は、N O シンターゼおよび/またはT N F 、特にi N O S の阻害剤が適応となる疾病または状態の治療にもあることを見いたした。新規のP P A R デルタ活性化因子の同定は、これらの疾病および状態の治療のためのより有効な薬物の開発につながる可能性がある。したがって、本発明はさらに、化合物がP P A R デルタと直接相互作用するかどうかを決定するステップ、または化合物がP P A R デルタを活性化するかどうかを決定するステップを含む、N O シンターゼおよび/またはT N F の阻害剤が適応となる疾病または状態の治療に有用な化合物をスクリーニングする方法を提供する。好ましいスクリーニング試験には、本明細書において先に論じ、またW O 00 08002に開示された結合およびトランスフェクションアッセイが含まれる。P P A R デルタの好ましい対照は、たとえば、2 - { 2 - メチル - 4 - [({ 4 - メチル - 2 - [3 - フルオロ - 4 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1 , 3 - チアゾール - 5 - イル } メチル) スルファニル] フェノキシ } 酢酸であり、これは放射線標識されていると都合がよい。

【0055】

本発明はまた、本発明の方法を用いて同定された化合物を治療上有効な量投与することを含む、被験者におけるN O シンターゼおよび/またはT N F 、特にi N O S の阻害剤が適応となる疾病または状態を治療する方法を提供する。本発明はまた、本発明のスクリーニング法により同定された化合物の、これらの疾病または状態を治療するための医薬品の製造における使用を提供する。

【0056】

以下の実施例は、本発明のいくつかの特定の化合物の合成法を説明し、さらに上に記載された一般的なプロセスの特定の応用の例を示すために記載するものである。したがって、以下の実施例は本明細書に記載された発明の範囲を限定することを目的とするものではない。

【0057】

実施例

実施例1

2 - { 2 - メチル - 4 - [({ 4 - メチル - 2 - [4 - (トリフルオロメチル) フェニル] - 1 , 3 - チアゾール - 5 - イル } メチル) スルファニル] フェノキシ } 酢酸の調製

10

20

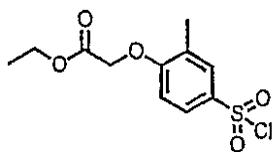
30

40

50

中間体 A :

【化 8】

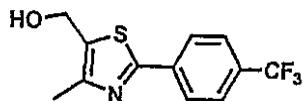


クロロスルホン酸（15 mL）を0に冷却した後、10.0 g（0.05 M）の2-メチルフェノキシ酢酸エチルを10分間かけて加えた。反応混合物を0~5で30分間10
攪拌し、浴を外してさらに2時間攪拌を続けた。反応混合物を氷に注いで白色の固体を形成させ、これを氷水で洗浄し、高度の減圧下で乾燥し、表題の化合物（12.846 g、86%）を得た。

【0058】

中間体 B :

【化 9】

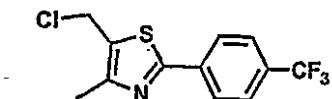


LiAlH₄（1.52 g、40 mmol）の無水THF（50 mL）溶液を0でよく攪拌し、4-メチル-2-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-チアゾール-5-カルボン酸エチル（12.6 g、40 mmol）の無水THF（50 mL）溶液をゆっくりと加えた。混合物を室温で2時間攪拌した。0で水（2 mL）、5 N NaOH（2 mL）および水（6 mL）をゆっくり加えることにより反応を止めた。沈殿を濾過し、EtOAc、MeOH、CH₂Cl₂およびTHFにより洗浄した。溶媒の蒸発の後、黄色の固体が得られ、これをMeOH-水から結晶化して上に記載した中間体B（9.90 g、36 mmol、90%）を黄色の固体として得た。mp 120~122。20

【0059】

中間体 C :

【化 10】

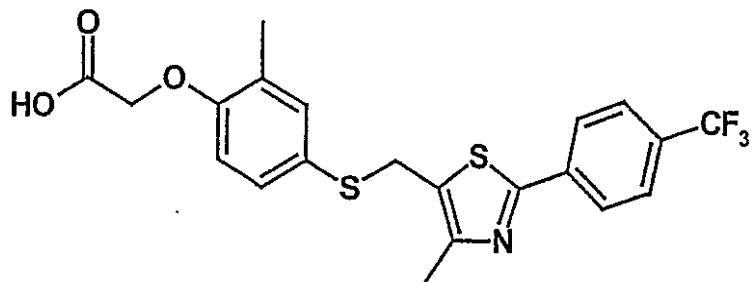


冷却して（0）、攪拌した中間体B（8.2 g、30 mmol）およびEt₃N（6.07 g、8.36 mL、60 mmol）の無水CH₂Cl₂（120 mL）中の溶液に、MeSO₂Cl（5.49 g、3.71 mL、48 mmol）をゆっくりと加えた。2時間後に0でEt₃N（6 mmol）およびMeSO₂Cl（4.8 mmol）をさらに加えた。さらに2時間後に、TLC（ヘキサン：EtOAc、1:1）により反応が完結したことを確認した。反応混合物をCH₂Cl₂（120 mL）により希釈し、飽和NaHCO₃（2×240 mL）および水（2×240 mL）により洗浄し、乾燥、濾過し、溶媒を蒸発させて中間体C（8.0 g、27 mmol、90%）を黄色の固体として得た。40

【0060】

2-[2-メチル-4-[({4-メチル-2-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル}メチル)スルファニル]フェノキシ]酢酸：

【化 11】



中間体 A (4.68 g、16 mM) を、9.6 g のスズ粉末と共にエタノール (20 mL) およびジオキサン / HCl (200 mL) 中で還流した。3 時間後、反応混合物を氷および CH_2Cl_2 (200 mL) の中に注ぎ、濾過した。相を分離して水層を 2×50 mL の CH_2Cl_2 で抽出した。有機層を合わせて乾燥 (MgSO_4)、濾過し、溶媒を蒸発させて 3.5 g (97%) の生成物を得た。この物質は容易にジスルフィドを形成するので、直ちに使用した。これを中間体 C (4.0 g、14.0 mM) および CS_2CO_3 (10.1 g、31.0 mM) と共にアセトニトリル (50 mL) に溶かし、1 時間攪拌した後、エーテル (200 mL) および水 (200 mL) で希釈した。相を分離し、有機相を $2 \times \text{NaOH}$ 0.1 N (50 mL) で洗浄し、乾燥 (MgSO_4)、濾過して、溶媒を蒸発させて粗生成物 (6.57 g) を得た。これをヘキサン : エーテル (1 : 1) 中にスラリー化し、濾過して純粋な中間体 D (5.0 g、74%) を得た。この物質を下に記載する方法で加水分解して表題の化合物を調製した。対応するエステル (中間体 D) (1 mmol) の THF (10 mL) (場合によっては溶解度を高めるために MeOH を数滴加えた) 中の溶液を、1 N LiOH 水溶液 (2 mL、2 mmol) で処理して、室温で 16 時間攪拌した (反応が遅い場合には温度を 50 に上げた)。溶液を 1 N HCl (2 mL、2 mmol) で中和し、有機溶媒を蒸発させて不溶性の生成物を有する水溶液を得た。不溶物が固体の場合にはこれを濾過し、乾燥して最終生成物を得た。不溶物がオイルの場合には、これを EtOAc (30 mL) により抽出した。有機溶液を分離し、水で洗浄 (2×30 mL)、乾燥、濾過し、溶媒を蒸発させて最終生成物を得た。

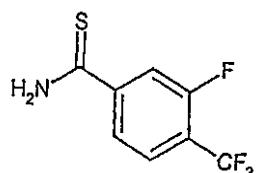
【0061】

実施例 2

2-[2-メチル-4-[[(4-メチル-2-[3-フルオロ-4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル]メチル]スルファニル]フェノキシ}酢酸

中間体 1

【化12】



P_4S_{10} (0.2 mmol) のトルエン (100 mL) 溶液に NaHCO_3 (2 mmol) を加えて、混合物を約 30 分間加熱還流した。置換ベンズアミド (1 mmol) を加えて反応液を 90 で 1 時間攪拌した。次いで、反応液を蒸発乾固し、食塩水 (100 mL) で処理し、 CH_2Cl_2 (2×50 mL) で抽出した。有機相を乾燥、濾過し、溶媒を蒸発させて最終生成物を黄色の固体として得た (50%)。

MS m/z 223。

【0062】

中間体 2

10

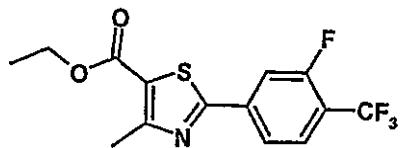
20

30

40

50

【化13】



中間体1を2-クロロアセト酢酸エチルと反応させ(1:1mmol)、混合物を一晩加熱還流した。反応液を室温に冷却して溶媒を蒸発させた。得られた固体をEt₂Oまたはヘキサンから結晶化して、表題の化合物を白っぽい固体として得た(56%)。

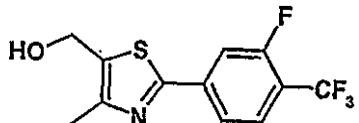
MS m/z 333。

10

【0063】

中間体3

【化14】



中間体2を0でLiAlH₄の溶液と反応させた。反応液を攪拌しながら室温に温めた。全ての出発物質が消失した後、反応液を水(5mL)、次いで1N NaOH(10mL)で注意深く処理した。混合物をセライトで濾過した。濾液をCH₂Cl₂(3×50mL)で抽出した。有機相を乾燥、濾過し、溶媒を蒸発させて表題の化合物を白っぽい固体として得た(63%)。

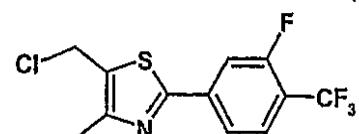
MS m/z 291。

20

【0064】

中間体4

【化15】



30

中間体3(1mmol)およびEt₃N(2mmol)のCH₂Cl₂(100mL)中の溶液に、塩化メタンスルホニル(1.6mmol)を0で滴下した。2~4時間後に反応が終結した。CH₂Cl₂(50mL)を加えて、有機相を飽和NaHCO₃溶液(2×50mL)、水(2×50mL)で洗浄し、乾燥、濾過した後、溶媒を蒸発させて表題の化合物を淡黄色の固体として得た(100%)。

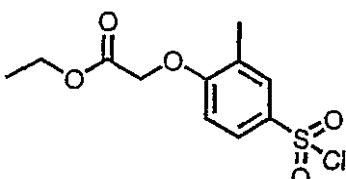
1H-NMR(CDCl₃) 2.40(s, 3H)、4.70(s, 2H)、7.55-7.75(m, 3H)。

40

【0065】

中間体5

【化16】



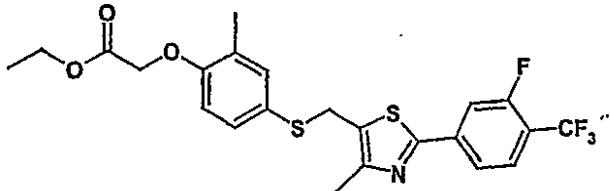
クロロスルホン酸(15mL)を0に冷却した後、10.0g(0.05M)の2-メチルフェノキシ酢酸エチルを10分間かけて加えた。反応混合物を0~5で30分間攪拌し、浴を外してさらに2時間攪拌を続けた。反応混合物を氷に注いで、白色の固体を形

50

成させ、これを氷水で洗浄し、高度の減圧で乾燥して、表題の化合物を得た (12.846 g、86%)。

【0066】

【化17】



10

実施例2a

2-[2-メチル-4-[[(4-メチル-2-[3-(フルオロ-4-(トリフルオロメチル)フェニル]チアゾール-5-イル)メチル]スルファニル]フェノキシ]酢酸エチル

中間体5 (4.68 g、16 mM) を、9.6 g のスズ粉末と共にエタノール (20 mL) およびジオキサン / HCl (20 mL) 中で還流した。3時間後に反応混合物を氷およびCH₂Cl₂ (200 mL) の中に注いで濾過した。相を分離し、水層を2×50 mLのCH₂Cl₂ で抽出した。有機層を合わせて乾燥 (MgSO₄)、濾過し、溶媒を蒸発させて3.5 g (97%) の生成物を得た。この物質は容易にジスルフィドを形成するので、直ちに使用した。これを、中間体4 (4.0 g、14 mM) およびCs₂CO₃ (10.1 g、31.0 mM) と共にアセトニトリル (50 mL) に溶解して1時間攪拌した後、エーテル (200 mL) および水 (200 mL) で希釈した。相を分離して、有機相を2×NaOH 0.1N (50 mL) で洗浄し、乾燥 (MgSO₄)、濾過し、溶媒を蒸発させて、中間体54である粗生成物 (6.57 g) を得た。この粗生成物をCH₂Cl₂ (100%) を用いてクロマトグラフィーをおこない、表題の化合物 (50%) を透明なオイルとして得た。これを静置すると固体となった。

20

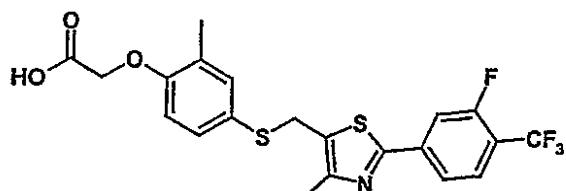
【0067】

1H-NMR (CDCl₃) 1.20 (t, 3H)、2.15 (s, 3H)、2.20 (s, 3H)、4.05 (s, 2H)、4.15 (q, 2H)、4.55 (s, 2H)、6.55 (d, 1H)、7.05 (dd, 1H)、7.15 (d, 1H)、7.55 (t, 1H)、7.65 (m, 2H)
MS m/z 500 (M+1)。

30

【0068】

【化18】



40

実施例2b

2-[2-メチル-4-[[(4-メチル-2-[3-(フルオロ-4-(トリフルオロメチル)フェニル]チアゾール-5-イル)メチル]スルファニル]フェノキシ]酢酸

実施例2a (1 mmol) のTHF (10 mL) 溶液を、1N LiOHの水溶液 (2 mL、2 mmol) で処理し、室温で16時間攪拌した (反応が遅い場合には、温度を50℃に上げた)。溶液を1N HCl (2 mL、2 mmol) で中和し、有機溶媒を蒸発させて、不溶性生成物を有する水溶液を得た。不溶物が固体の場合には、これを濾過して乾燥し、最終生成物を得た。不溶物がオイルの場合には、これをEtOAc (30 mL)

50

) で抽出した。有機溶液を分離し、水 (2 × 30 mL) で洗浄し、乾燥、濾過し、溶媒を蒸発させて最終生成物を得た。

【0069】

粗物質をエーテルから沈殿させ、表題の化合物を黄色の泡状物として得た (81%)。mp < 50°。

【0070】

質量分析、C₂₁H₁₇F₄NO₃S₂に対する計算値：C, 53.50%; H, 3.63%; N, 2.97%; S, 13.60%。計測値：C, 53.86%; H, 3.63%; N, 2.87%; S, 13.82%
MS m/z 472 (M+1)。

10

【0071】

INOS 生検

PPAR デルタ活性化因子の、誘導一酸化窒素シンターゼ (INOS) の活性および発現を阻害する能力を、2-[2-[4-メチル-2-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル]メチル]スルファニル]フェノキシ}酢酸 (これ以降、化合物 A と呼ぶ。実施例 1 に記載された方法で合成された) および 2-[2-メチル-4-[4-メチル-2-[3-フルオロ-4-(トリフルオロメチル)フェニル]-1,3-チアゾール-5-イル]メチル]スルファニル]フェノキシ}酢酸 (これ以降、化合物 B と呼ぶ。実施例 2 b に記載された方法で合成された) のような効力の高い選択的 PPAR デルタアゴニストを用いて試験した。

20

【0072】

このアッセイ系において、マウスマクロファージ細胞系、J774 における INOS の発現を誘導するためにリポ多糖 (LPS) を用いた。薬理的に適切な濃度の PPAR デルタアゴニストによる J774 細胞の前処理により、INOS 活性の阻害が見られた。この INOS 活性の減少は、LPS 誘導 INOS mRNA 発現の減少と相関があった。

【0073】

INOS 活性の測定

具体的には、LPS - 誘導 INOS 活性を以下のアッセイ条件を用いて測定した。J774 細胞をウェルあたり 3500 - 5000 万細胞の密度で、黒い、底の透明な 96 ウェルプレートに使用の 24 時間前に播種した。細胞培養および薬物希釈は、ウシ胎児血清 (10%)、グルタミン (2 mM)、ペニシリン (100 u/ml) およびストレプトマイシン (100 µg/ml) を含む DMEM (Dulbecco 改変 Eagle 培地) からなる完全培地中でおこなった。J774 細胞は、LPS (典型的には、1 µg/ml の濃度の LPS を用いた) の添加の前 6 時間および添加の後 24 時間に渡って、PPAR デルタ活性化因子 A および B、またはビヒクルにより前処理された。LPS の添加の 24 時間後に、以下の方法で INOS 活性を測定した。細胞培養培地 / 薬物希釈を除去し、細胞を D-PBS (Dulbecco 改変リン酸緩衝生理食塩水) で洗浄した。次いで D-PBS を除去し、DAF-2 (4,5-ジアミノフルオレセイン; 5 µM) および L-アルギニン (500 µM) を含む D-PBS と置き換えた。37°で 3 時間インキュベーションをおこなった後、それぞれのウェルの蛍光を 485 nm の励起波長、530 nm の発光波長で測定した。次に、PPAR デルタ活性化因子が存在する場合と存在しない場合における LPS の INOS 活性を誘導する能力を計算した。得られたデータの例を、LPS により誘導された対照の INOS 活性の上昇を 100% の応答として、図 1 に示す。

30

【0074】

その結果、化合物 A または化合物 B による前処理は、ナノモル未満からナノモルの濃度で、J774 細胞の LPS - 誘導 INOS 活性を著しく阻害した。

【0075】

INOS mRNA の阻害の測定

PPAR デルタ活性化因子による INOS 活性の阻害に関するメカニズムをより詳細に研究した。

40

50

【0076】

具体的には、PPARデルタアゴニストの、J774細胞におけるLPSに誘導されたINO SmRNAの発現を阻害する能力を試験した。J774細胞を、使用の24時間前に6ウェルプレートに塗布した(10⁶細胞/ウェル)。LPSを加える前に細胞をPPARデルタ活性化因子対照培地により6時間前処理して、これをPPARデルタ活性化因子/対照とともにさらに24時間インキュベートした。このインキュベーション期間の終わりに、培地を吸引により除去して細胞をD-PBSで洗浄した。D-PBSを除去した後、市販のRNA分離キットを用いてそれぞれのサンプルから全細胞RNAを分離した。第1に、AMV逆転写(RT)システムにより与えられる指示に従って、第1鎖cDNA合成をおこなった。1アリコート(1000ng)のRNAを、MgCl₂(5mM)、Tris-HCl(10mM; pH8.8)、KCl(50mM)、Triton X-100(0.1%)、dNTP(1mM)、rRNasin(1U/μl)、AMV逆転写酵素(0.75U/μl)、オリゴ(dT)₁₅(25ng/μl)(最終濃度)を含む混合物に加えた。これをサーマルサイクラーで42で30分間、次いで95で15分間、最後に4でインキュベートした後、保存のために冷凍庫(-20)に移した。

【0077】

PCRの使用のために以下のプライマーセットを使用した:

マウスINO Smセンス C C C T T C C G A A G T T T C T G G C A G C A G C (配列番号1)

マウスINO Smアンチセンス G G C T G T C A G A G C C T C G T G G C T T T G G (配列番号2)

マウスGAPDHセンス T G A A G G T C G G T G T G A A C G G A T T T G G C (配列番号3)

マウスGAPDHアンチセンス C A T G T A G G C C A T G A G G T C C A C C A C (配列番号4)。

【0078】

PCRを、5μlのRT反応、INO Sm/GAPDHに対するセンスおよびアンチセンスプライマー(0.4pmol/μl)、dNTP(160μM)、KCl(50mM)、Tris-HCl(10mM; pH9.0)、Triton X-100(0.1%)、MgCl₂(2mM)、およびTaq DNAポリメラーゼ(0.04U/μl)(最終濃度)を含む50μl反応体積で開始した。PCRを、95で60秒の後、94で30秒、55で60秒、72で90秒を28サイクルという条件を用いて、サーマルサイクラーで実施した。72で5分間の最後の伸長ステップの後、サンプルをアガロースゲル上で分析するまで、4に維持した。sybr-greenで染色したゲルのデンシティメトリーによる分析を、Storm蛍光イメージングシステム(Molecular Devices)を用いておこなった。

【0079】

その結果、薬理的に適切な濃度のPPARデルタ活性化因子により前処理されたJ774細胞では、LPS(下記のデータで1μg/ml)に誘導されるINO SmRNA発現の阻害が見られた。このデータを図2に示す。

【0080】

TNFの阻害の測定

PPARデルタ活性化因子の、腫瘍壞死因子-(TNF)の発現/分泌を阻害する能力もまた試験した。その結果、PPARデルタ活性化因子のLPS-誘導TNF発現を阻害する能力は、PPARデルタ活性化因子のLPS-誘導INO Sm活性化に対する阻害効果と高い相関を示した。

【0081】

具体的には、LPS-誘導INO Sm活性およびTNFの発現を以下のアッセイ条件を用いて測定した。J774細胞をウェルあたり3500-5000万細胞の密度で、黒い、底

10

20

30

40

50

の透明な 96 ウェルプレートに播種した。細胞培養および薬物希釈は、ウシ胎児血清 (10%)、グルタミン (2 mM)、ペニシリン (100 U / ml) およびストレプトマイシン (100 µg / ml) を含む DMEM (Dulbecco 改変 Eagle 培地) からなる完全培地中でおこなった。J774 細胞は、LPS (典型的には、1 µg / ml の濃度の LPS を用いた) の添加の前 6 時間および添加の後 24 時間に渡って、PPAR デルタ活性化因子またはビヒクルにより前処理された。LPS の添加の 24 時間後に、以下の方法で iNOS 活性を測定した。細胞培養培地 / 薬物希釈を除去して、市販の ELISA システムを用いた定量により TNF 濃度を測定した。細胞を D-PBS で洗浄した。次いで D-PBS を除去し、DAF-2 (4,5-ジアミノフルオレセイン; 5 µM) および L-アルギニン (500 µM) を含む D-PBS と置き換えた。次いで、iNOS 活性を先に記載した方法で測定した。得られたデータの例を図 3 に示す。 10

【図面の簡単な説明】

【図 1】

PPAR デルタアゴニストのリポ多糖 (LPS) 誘導 iNOS 活性に対する効果を示す図である。

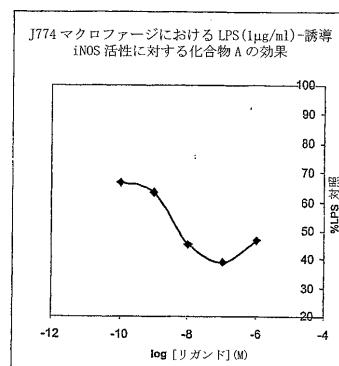
【図 2】

PPAR デルタアゴニストの iNOS mRNA の LPS による上昇に対する効果を示す図である。

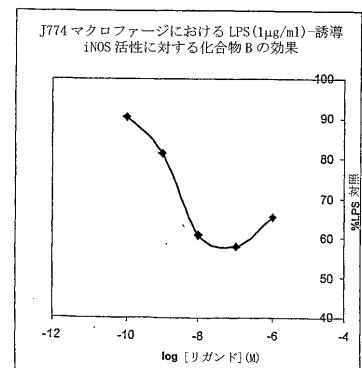
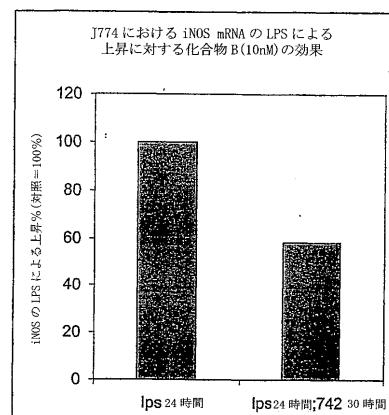
【図 3】

PPAR デルタアゴニストの、LPS - 誘導 iNOS 活性化と比較した LPS - 誘導 TNF 発現化合物に対する効果を示す図である。 20

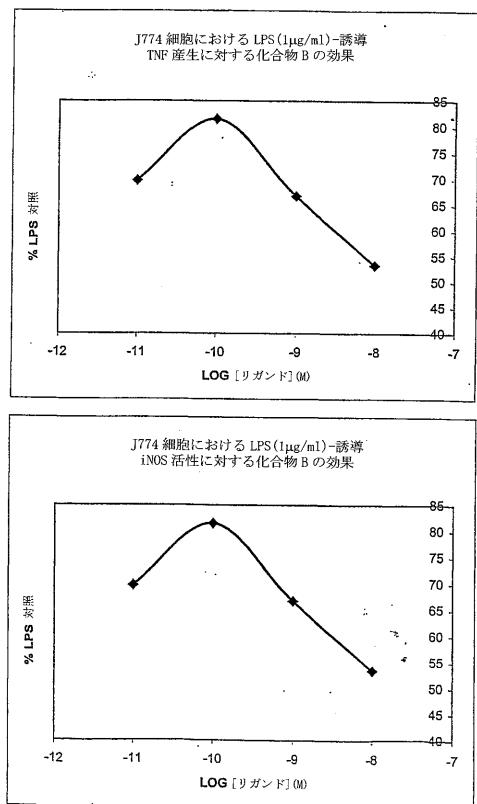
【図 1】



【図 2】



【図3】



【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
11 April 2002 (11.04.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/28433 A2

(51) International Patent Classification: A61K 45/08, 31/421, 31/426, A61P 1/06, 19/02, 21/00, 29/00, 37/00

(21) International Application Number: PCT/GB01/04370

(22) International Filing Date: 2 October 2001 (02.10.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 0024362.6 5 October 2000 (05.10.2000) GB

(71) Applicant (for all designated States except US): GLAXO GROUP LIMITED [GB/GB]; Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN (GB).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): BUCHAN, Kevin, William [GB/GB]; c/o GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB).

(74) Agent: GIDDINGS, Peter, John; GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property (CN925.1), 980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS (GB).

(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, PH, 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, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— without international search report and to be republished upon receipt of that report

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



WO 02/28433 A2

(54) Title: MEDICAMENTS

(57) Abstract: Methods of prevention or treatment of diseases or conditions where inhibition of NO synthase and/or TNF is desirable, the use of PPAR delta activators in such methods and methods for the identification of compounds useful in such treatment.

Medicaments

- The present invention is concerned with medicaments. More particularly, the invention relates to compounds that bind to and activate PPAR delta. In another aspect, the present invention relates to methods for prevention or treatment of diseases and conditions mediated by iNOS and/or TNF and methods for identifying compounds useful in the treatment of diseases and conditions mediated by iNOS and/or TNF.
- 5 Nitric oxide is the endogenous stimulator of the soluble guanylate cyclase enzyme and is involved in a number of biological actions. Excess nitric oxide production is also thought to be involved in a number of conditions, including septic shock and many inflammatory diseases. The biochemical synthesis of nitric oxide from L-arginine is catalysed by the enzyme NO synthase. Many 10 inhibitors of NO synthase have been described and proposed for therapeutic use. More recently, it has been an object in this field to provide NO synthase inhibitors displaying selectivity for either inducible NO synthase (iNOS) or neuronal NO synthase (nNOS) over endothelial NO synthase (eNOS).
- 15 Peroxisome proliferator activated receptor (hereinafter referred to as PPAR) is a known member of the steroid/retinoid/thyroid hormone receptor family of ligand activated transcription factors and is activated, inter-alia, by high micromolar concentrations of certain peroxisome proliferators. Peroxisome proliferator activated receptor alpha (herein after referred to as PPAR α), peroxisome proliferator activated receptor gamma (hereinafter referred to as PPAR γ) and peroxisome proliferator activated receptor delta (hereinafter referred to as PPAR δ) have respectively been identified as subtypes of PPARs.
- 20 Tumor necrosis factor (TNF) is known to mediate many biological responses in vivo. Clinical and Pre-clinical studies in animals and humans with specific TNF neutralising antibodies, soluble TNF receptor constructs and TNF detection techniques have implicated TNF as a mediator in numerous pathologies including inflammatory/auto immune diseases or conditions.
- 25
- 30

The present inventors have surprisingly found that activators of the peroxisome proliferator activated receptor delta (hereinafter referred to as PPAR δ) inhibit iNOS and TNF formation and are therefore useful in the prophylaxis and treatment of conditions for which an inhibitor of NO synthase is indicated, in particular, an inhibitor of iNOS.

The present invention therefore provides the use of PPAR δ activators in the treatment of diseases and conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated (in particular, an inhibitor of iNOS) and methods of 10 treating NOS and/or TNF mediated diseases employing PPAR δ agonists. More particularly, the present invention provides the use of potent and selective PPAR δ agonists for use in the treatment of conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated, (in particular, an inhibitor of iNOS).

15 **Description of Drawings**

Figure 1: Shows the effect of PPAR delta agonists on lipopolysaccharide (LPS) induced iNOS activity.

20 Figure 2: Shows the effect of a PPAR delta agonist on LPS elevation of iNOS mRNA.

Figure 3: Shows the effect of a PPAR delta agonist on LPS-induced TNF α expression compound to LPS-induced iNOS activation.

25 Conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated, include inflammatory conditions, shock states, immune disorders, and disorders of gastrointestinal motility. PPAR delta agonists and pharmaceutically acceptable salts, solvates, and physiologically functional derivatives thereof may also be of use in the prophylaxis and treatment of diseases of the central nervous system including migraine.

30 By shock states is meant those resulting from overproduction of NO, such as septic shock, haemorrhagic shock, traumatic shock, or shock caused by fulminant hepatic failure or by therapy with cytokines such as TNF, IL-1 and IL-2

or therapy with cytokine-inducing agents, for example 5,6-dimethylxanthene acetic acid.

Examples of inflammatory conditions and immune disorders include those of the joint, particularly arthritis (e.g. rheumatoid arthritis, osteoarthritis, prosthetic joint failure), or the gastrointestinal tract (e.g. ulcerative colitis, Crohn's disease, and other inflammatory bowel and gastrointestinal diseases, gastritis and mucosal inflammation resulting from infection, the enteropathy provoked by non-steroidal anti-inflammatory drugs), of the lung (e.g. adult respiratory distress syndrome, asthma, cystic fibrosis, or chronic obstructive pulmonary disease), of the heart (e.g. myocarditis), of nervous tissue (e.g. multiple sclerosis), of the pancreas, (e.g. inflammation associated with diabetes mellitus and complications thereof of the kidney (e.g. glomerulonephritis), of the skin (e.g. dermatitis, psoriasis, eczema, urticaria and burn injury), of the eye (e.g. glaucoma) as well as of transplanted organs (e.g. rejection) and multi-organ diseases (e.g. systemic lupus erythematosus), inflammatory sequelae of viral or bacterial infections and inflammatory conditions associated with atherosclerosis and following hypoxic or ischaemic insults (with or without reperfusion), for example in the brain or in ischaemic heart disease.

Disorders of gastrointestinal motility include ileus, for example post-operative ileus and ileus during sepsis.

By diseases of the central nervous system is meant those for which overproduction of NO and/or TNF is implicated, for example migraine, psychosis, anxiety, schizophrenia, sleep disorders, cerebral ischaemia, CNS trauma, epilepsy, multiple sclerosis, AIDS dementia, chronic neurodegenerative disease (e.g. Lewy Body Dementia, Huntington's disease, Parkinson's disease, or Alzheimer's disease) and acute and chronic pain, and conditions in which non-adrenergic non-cholinergic nerve may be implicated such as priapism, obesity and hyperphagia.

Examples of acute pain include musculoskeletal pain, post operative pain and surgical pain. Examples of chronic pain include chronic inflammatory pain (e.g. rheumatoid arthritis and osteoarthritis), neuropathic pain (e.g. post herpetic

neuralgia, diabetic neuropathies associated with diabetes, trigeminal neuralgia, pain associated with functional bowel disorders, e.g. irritable bowel syndrome, non cardiac chest pain and sympathetically maintained pain) and pain associated with cancer and fibromyalgia.

5

Furthermore, inhibition of NO synthase and/or TNF may be of advantage in preventing the lymphocyte loss associated with HIV infection, in increasing the radiosensitivity of tumours during radiotherapy and in reducing tumour growth, tumour progression, angiogenesis, and metastasis.

10

Preferably, the PPAR delta activators are PPAR δ agonists. As used herein, by "agonist", or "activating compound", or "activator", or the like, is meant those compounds which have a pKi of at least 6.0 to the relevant PPAR, for example human PPAR δ , in the binding assay described below, and which achieve at least 50% activation of the relevant PPAR relative to the appropriate indicated positive control in the transfection assay described, for example in WO 00/08002 at concentrations of 10^{-5} M or less. More preferably, the compounds of this invention achieve 50% activation of human PPAR δ in the transfection assay at concentrations of 10^{-7} M or less.

20

Most preferably, PPAR delta agonists are selective hPPAR δ agonists. As used herein, a "selective hPPAR δ agonist" is a hPPAR δ agonist whose EC50 for PPAR δ is at least 10 fold lower than its EC50 for PPAR α and PPAR γ . Such selective compounds may be referred to as "10-fold selective". EC50 is defined in the transfection assay described, for example in WO 00/08002 and is the concentration at which a compound achieves 50% of its maximum activity. Most preferred compounds are greater than 100-fold selective hPPAR δ agonists.

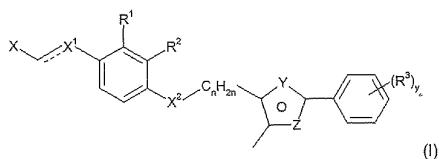
The following are further particular aspects of the present invention:

30

(a) a PPAR delta agonist (e.g. a compound of formula (I)) for use as a therapeutic agent in the treatment of conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated, in particular, an inhibitor of iNOS;

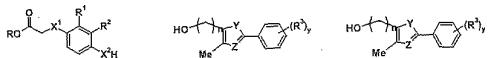
- (b) pharmaceutical formulations comprising a PPARdelta agonist (e.g. a compound of formula (I)) and at least one pharmaceutical carrier, wherein the PPAR delta agonist is present in an amount effective for use in the treatment of conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated, in particular, an inhibitor of iNOS;
- (c) the use of a PPAR delta agonist (e.g. a compound of formula (I)) in the manufacture of a medicament for the treatment of conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated, in particular, an inhibitor of iNOS;
- (d) a method of treating conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated, in particular, an inhibitor of iNOS in a mammal, such as a human, which comprises the administration of a therapeutically effective amount of a PPAR delta agonist (e.g. a compound of formula (I)) to a said mammal.
- The term 'treatment' as used herein includes prophylaxis as well as alleviation of established conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated. The PPAR delta agonists may be used as compounds or pharmaceutically acceptable derivatives thereof.
- By pharmaceutically acceptable derivative is meant any pharmaceutically acceptable salt, solvate, ester or amide, or salt or solvate of such ester or amide, of the PPAR delta agonist, or any other compound which upon administration to the recipient is capable of providing (directly or indirectly) the PPAR delta agonist or an active metabolite or residue thereof.
- Suitable PPAR delta agonists are described in for example WO 01/00603 which discloses compounds of formula (I), and pharmaceutically acceptable salts and, solvates thereof,

6



wherein:

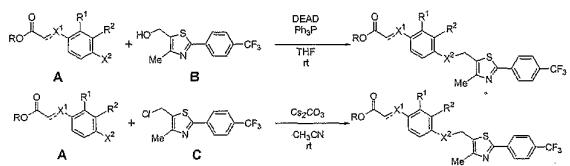
- 5 X represents a COOH (or a hydrolysable ester thereof) or tetrazole group;
 X¹ represents NH, NCH₃, O, S, a bond (i.e. is absent), CH₂, or CH where the dashed line indicates that when X1 is CH the depicted bond is a double bond;
 X² represents O or S;
 R¹ and R² independently represent H, CH₃, OCH₃, or halogen;
- 10 n is 1 or 2;
 one of Y and Z is N and the other is S or O;
 y is 0, 1, 2, 3, 4 or 5;
 Each R³ independently represents CF₃ or halogen.
- 15 These compounds may be conveniently prepared by a general process wherein a moiety like A is coupled to an alcohol (B) using the Mitsunobu protocol (O. Mitsunobu, 1981 *Synthesis*, p 1) or by alkylation of A using a suitable non nucleophilic base such as K₂CO₃, Cs₂CO₃ or NaH, with an alkyl halide (C). Note that this synthesis is preferably carried out with the acid group protected by R.
- 20 Preferably, R is 1-6 alkyl which can be hydrolyzed off to give an acid of Formula (I), or if readily hydrolyzable, the resulting ester can be administered.



25

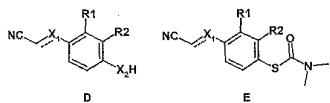
For example, when n is 1, Y is S, Z is N, and R³ is para-CF₃:

7



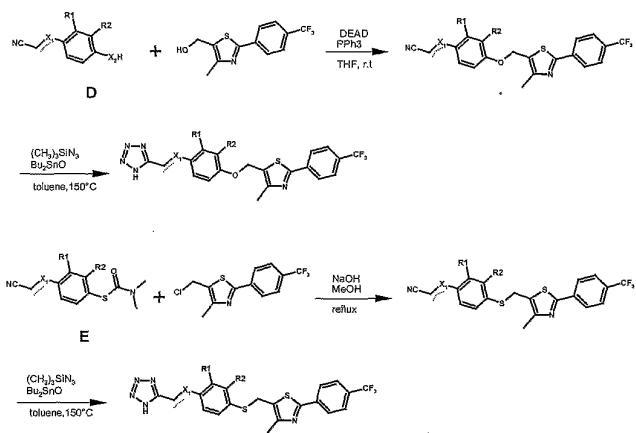
Intermediates of type A are commercially available. The synthesis of
5 intermediates of type B is also illustrated below.

Furthermore, the tetrazole derivatives may be conveniently prepared by a
10 general process wherein a moiety like D is coupled to an alcohol (B) using the
Mitsunobu protocol (O. Mitsunobu, 1981 *Synthesis*, p 1), by alkylation of D using
a suitable non nucleophilic base such as K_2CO_3 , Cs_2CO_3 or NaH , with an alkyl
halide (C) or by coupling of a moiety like E with an alkyl halide (C) using a
suitable non nucleophilic base such as NaOH .



15 For example, when n is 1, Y is S, Z is N, and R^3 is para- CF_3 :

8

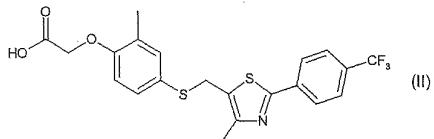


Preferred compounds of the invention are:

- 5 2-{2-methyl-4-[{(4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl)methyl}sulfanyl]phenoxy}acetic acid
 2-{2-methyl-4-[{(4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-oxazol-5-yl)methyl}sulfanyl]phenoxy}acetic acid
 methyl 2-{4-[{(4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl)methyl}sulfanyl]phenoxy}acetate
 2-{4-[{(4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl)methyl}sulfanyl]phenoxy}acetic acid
 (E)-3-[2-methyl-4-((4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl)methoxy)phenyl]-2-propenoic acid
 15 2-{3-chloro-4-[{(4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl)methyl}sulfanyl]phenoxy}acetic acid

A particularly preferred PPAR delta agonist is {2-methyl-4-[4-methyl-2-(4-trifluoromethyl phenyl) thiazol-5-ylmethylthio]phenoxy}-acetic acid and pharmaceutically acceptable salts, solvates, and hydrolyzable esters thereof (formula (II) below).

5



It will also be appreciated by those skilled in the art that the PPAR delta activator 10 may also be utilized in the form of a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof. The physiologically acceptable salts include conventional salts formed from pharmaceutically acceptable inorganic or organic acids or bases as well as 15 quaternary ammonium acid addition salts. More specific examples of suitable acid salts include hydrochloric, hydrobromic, sulfuric, phosphoric, nitric, perchloric, fumaric, acetic, propionic, succinic, glycolic, formic, lactic, maleic, tartaric, citric, palmoic, malonic, hydroxymaleic, phenylacetic, glutamic, benzoic, salicylic, fumaric, toluenesulfonic, methanesulfonic, naphthalene-2-sulfonic, benzenesulfonic hydroxynaphthoic, hydroiodic, malic, steroic, tannic and the like. Other acids such as oxalic, while not in themselves pharmaceutically acceptable, 20 may be useful in the preparation of salts useful as intermediates in obtaining the compounds of the invention and their pharmaceutically acceptable salts. More specific examples of suitable basic salts include sodium, lithium, potassium, magnesium, aluminium, calcium, zinc, N,N-dibenzylethylenediamine, chloroprocaine, choline, diethanolamine, ethylenediamine, N-methylglucamine 25 and procaine salts. References hereinafter to a PPAR delta activator include both compounds and their pharmaceutically acceptable salts and solvates.

The PPAR delta activators and their pharmaceutically acceptable derivatives are 30 conveniently administered in the form of pharmaceutical compositions. Such compositions may conveniently be presented for use in conventional manner in

admixture with one or more physiologically acceptable carriers or excipients. 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.

5 While it is possible that the PPAR delta activators may be therapeutically administered as the raw chemical, it is preferable to present the active ingredient as a pharmaceutical formulation.

10 The formulations include those suitable for oral, parenteral (including subcutaneous e.g. by injection or by depot tablet, intradermal, intrathecal, intramuscular e.g. by depot and intravenous), rectal and topical (including dermal, buccal and sublingual) or in a form suitable for administration by inhalation of insufflation administration although the most suitable route may depend upon for example the condition and disorder of the recipient. The formulations may conveniently be presented in unit dosage form and may be prepared by any of the methods well known in the art of pharmacy. All methods include the step of bringing into association the compounds ("active ingredient") with the carrier which constitutes one or more accessory ingredients. In general the formulations are prepared by uniformly and intimately bringing into association the active ingredient with liquid carriers or finely divided solid carriers or both and then, if necessary, shaping the product into the desired formulation.

15

20

25

30

35

Formulations suitable for oral administration may be presented as discrete units such as capsules, cachets or tablets (e.g. chewable tablets in particular for paediatric administration) each containing a predetermined amount of the active ingredient; as a powder or granules; as a solution or a suspension in an aqueous liquid or a non-aqueous liquid; or as an oil-in-water liquid emulsion or a water-in-oil liquid emulsion. The active ingredient may also be presented as a bolus, electuary or paste.

A tablet may be made by compression or moulding, optionally with one or more accessory ingredients. Compressed tablets may be prepared by compressing in a suitable machine the active ingredient in a free-flowing form such as a powder or granules, optionally mixed with a other conventional excipients such as binding agents, (for example, syrup, acacia, gelatin, sorbitol, tragacanth,

mucilage of starch, polyvinylpyrrolidone) or hydroxymethyl cellulose or hydroxymethyl cellulose fillers (for example, lactose, sugar, microcrystalline cellulose, maize-starch, calcium phosphate or sorbitol), lubricants (for example, magnesium stearate, stearic acid, talc, polyethylene glycol or silica), 5 disintegrants (for example, potato starch or sodium starch glycollate) or wetting agents, such as sodium lauryl sulfate. Moulded tablets may be made by moulding in a suitable machine a mixture of the powdered compound moistened with an inert liquid diluent. The tablets may optionally be coated or scored and may be formulated so as to provide slow or controlled release of the active 10 ingredient therein. The tablets may be coated according to methods well-known in the art.

Alternatively, the compounds of the present invention may be incorporated into 15 oral liquid preparations such as aqueous or oily suspensions, solutions, emulsions, syrups or elixirs, for example. Moreover, formulations containing these compounds may be presented as a dry product for constitution with water or other suitable vehicle before use. Such liquid preparations may contain 20 conventional additives such as suspending agents such as sorbitol syrup, methyl cellulose, glucose/sugar syrup, gelatin, hydroxyethylcellulose, carboxymethyl cellulose, aluminum stearate gel or hydrogenated edible fats; emulsifying agents such as lecithin, sorbitan mono-oleate or acacia; non-aqueous vehicles (which 25 may include edible oils) such as almond oil, fractionated coconut oil, oily esters, propylene glycol or ethyl alcohol; and preservatives such as methyl or propyl p-hydroxybenzoates or sorbic acid. Such preparations may also be formulated as suppositories, e.g., containing conventional suppository bases such as cocoa 30 butter or other glycerides.

Formulations for parenteral administration include aqueous and non-aqueous 35 sterile injection solutions which may contain anti-oxidants, buffers, bacteriostats and solutes which render the formulation isotonic with the blood of the intended recipient; and aqueous and non-aqueous sterile suspensions which may include suspending agents and thickening agents. The formulations may be presented in unit-dose or multi-dose containers, for example sealed ampoules and vials, and may be stored in a freeze-dried (lyophilised) condition requiring only the addition of a sterile liquid carrier, for

example, water-for-injection, immediately prior to use. Extemporaneous injection solutions and suspensions may be prepared from sterile powders, granules and tablets of the kind previously described.

5 Formulations for rectal administration may be presented as a suppository with the usual carriers such as cocoa butter, hard fat or polyethylene glycol.

10 Formulations for topical administration in the mouth, for example buccally or sublingually, include lozenges comprising the active ingredient in a flavoured basis such as sucrose and acacia or tragacanth, and pastilles comprising the active ingredient in a basis such as gelatin and glycerin or sucrose and acacia.

15 For topical administration to the epidermis, the compounds may be formulated as creams, gels, ointments or lotions or as a transdermal patch.

20 15 The compounds may also be formulated as depot preparations. Such long acting formulations may be administered by implantation (for example subcutaneously or intramuscularly) or by intramuscular injection. Thus, for example, the compounds may be formulated with suitable polymeric or hydrophobic materials (for example as an emulsion in an acceptable oil) or ion exchange resins, or as sparingly soluble derivatives, for example, as a sparingly soluble salt.

25 For intranasal administration the compounds of the invention may be used, for example as a liquid spray, as a powder or in the form of drops.

30 25 For administration by inhalation the compounds according to the invention are conveniently delivered in the form of an aerosol spray presentation from pressurised packs or a nebuliser, with the use of a suitable propellant, e.g. 1,1,1,2-trifluoroethane (HFA 134A) and 1,1,1,2,3,3,3-heptapropane (HFA 227), carbon dioxide or other suitable gas. In the case of a pressurised aerosol the dosage unit may be determined by providing a valve to deliver a metered amount. Capsules and cartridges of e.g. gelatin for use in an inhaler or insufflator may be formulated containing a powder mix of a compound of the invention and a suitable powder base such as lactose or starch.

In addition to the ingredients particularly mentioned above, the formulations may include other agents conventional in the art having regard to the type of formulation in question, for example those suitable for oral administration may include flavouring agents.

- 5 It will be appreciated by those skilled in the art that reference herein to treatment extends to prophylaxis as well as the treatment of established diseases or symptoms. Moreover, it will be appreciated that the amount of the PPAR delta activator required for use in treatment will vary with the nature of the condition
10 being treated and the age and the condition of the patient and will be ultimately at the discretion of the attendant physician or veterinarian. In general, however, doses employed for adult human treatment will typically be in the range of 0.02-5000 mg per day, preferably 1-1500 mg per day. The desired dose may conveniently be presented in a single dose or as divided doses administered at
15 appropriate intervals, for example as two, three, four or more sub-doses per day. The formulations according to the invention may contain between 0.1-99% of the active ingredient, conveniently from 30-95% for tablets and capsules and 3-50% for liquid preparations.
- 20 The PPAR delta activators for use in the instant invention may be used in combination with one or more other therapeutic agents for example, pain relievers such as a glycine antagonist, a sodium channel inhibitor (e.g. lamotrigine), a substance P antagonist (e.g. an NK1 antagonist), acetaminophen or phenacetin; a matrix metalloproteinase inhibitor; a nitric oxide synthase (NOS)
25 inhibitor (e.g. an iNOS or an nNOS inhibitor); an inhibitor of the release, or action, of tumour necrosis factor α ; an antibody therapy (e.g. a monoclonal antibody therapy); a stimulant, including caffeine; an H2-antagonist, such as ranitidine; a proton pump inhibitor, such as omeprazole; an antacid, such as aluminium or magnesium hydroxide; an antiflatulent, such as simethicone; a
30 decongestant, such as phenylephrine, phenylpropanolamine, pseudoephedrine, oxymetazoline, epinephrine, naphazoline, xylometazoline, propylhexedrine, or levo-desoxyephedrine; an antitussive, such as codeine, hydrocodone, carmiphen, carbetapentane, or dextromethorphan; a diuretic; or a sedating or non-sedating antihistamine; a COX-2 inhibitor such as VioxxTM or CelebrexTM
35 and other NSAIDs. The invention thus provides in a further aspect the use of a

combination comprising a compound of formula (I) with a further therapeutic agent in the treatment of iNOS and/or TNF mediated diseases.

5 When the PPAR delta activators are used in combination with other therapeutic agents, the compounds may be administered either sequentially or simultaneously by any convenient route.

10 The combinations referred to above may conveniently be presented for use in the form of a pharmaceutical formulation and thus pharmaceutical formulations comprising a combination as defined above optimally together with a pharmaceutically acceptable carrier or excipient comprise a further aspect of the invention. The individual components of such combinations may be administered either sequentially or simultaneously in separate or combined pharmaceutical formulations.

15 When combined in the same formulation it will be appreciated that the two compounds must be stable and compatible with each other and the other components of the formulation and may be formulated for administration. When formulated separately they may be provided in any convenient formulation, 20 conveniently in such a manner as are known for such compounds in the art.

25 When a PPAR delta activator is used in combination with a second therapeutic agent active against the same disease, the dose of each compound may differ from that when the compound is used alone. Appropriate doses will be readily appreciated by those skilled in the art.

30 The present inventors have found that, chemical compounds which are activators of PPAR delta are also useful in the treatment of diseases or conditions where an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated, in particular iNOS. The identification of novel PPAR delta activators may lead to more effective drugs for the treatment of these diseases and conditions. Accordingly, the invention further provides a method for screening for compounds which will be useful in treating diseases or conditions where an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated comprising the step of 35 determining whether the compound interacts directly with PPAR delta, or the step

of determining whether the compound activates PPAR delta. Suitable screening tests include the binding and transfection assays discussed hereinabove and disclosed in WO 00 08002. A suitable control for PPAR delta is for example 2-{2-methyl-4-[(4-methyl-2-[3-fluoro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl)methyl]sulfanyl}phenoxy}acetic acid which conveniently may be radiolabelled.

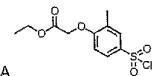
The present invention also provides a method for treating diseases of conditions where an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated, in particular iNOS in a subject comprising the administration of therapeutically effective amounts of compounds identified using the method of the invention. The invention also provides the use of a compound identified by a screening method of the invention in the manufacture of a medicament for the treatment of these diseases or conditions.

The following examples are set forth to illustrate the synthesis of some particular compounds of the present invention and to further exemplify particular applications of general processes described above. Accordingly, the following Example section is in no way intended to limit the scope of the invention contemplated herein.

Examples

Example 1

25 **Preparation of 2-{2-methyl-4-[(4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl)methyl]sulfanyl}phenoxy}acetic acid**



Intermediate A

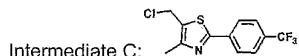
Chlorosulfonic acid (15mL) was cooled to 0°C. then 10.0 g (0.05M) of ethyl (2-methylphenoxyacetate) was added over 10 min. The reaction mixture was stirred at 0-5°C for 30m, the bath was removed and stirring continued for

2h. The reaction mixture was poured into ice, forming a white solid which was washed with ice water and dried under high vacuum affording the title compound (12.846 g, 86%).



To a well stirred solution of LiAlH₄ (1.52 g, 40 mmol) in dry THF (50 mL) at 0°C, was slowly added a solution of ethyl 4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-thiazole-5-carboxylate (12.6 g, 40 mmol) in dry THF (50 mL). The mixture was stirred at room temperature for 2 hs. The reaction was quenched by slow addition at 0°C of water (2 mL), 5N NaOH (2 mL) and water (6 mL). The precipitate was filtered, washed with EtOAc, MeOH, CH₂Cl₂ and THF. After evaporation, a yellow solid was obtained, that was crystallized from MeOH-water to afford intermediate B depicted above (9.90 g, 36 mmol, 90%) as a yellow solid mp 120-122 °C.

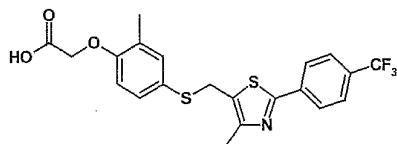
15



To a cold (0°C) stirred solution of intermediate B (8.2g, 30 mmol) and Et₃N (6.07 g, 8.36 mL, 60 mmol), in dry CH₂Cl₂ (120 mL) was slowly added MeSO₂Cl (5.49 g, 3.71mL, 48 mmol). After 2 hs at 0°C more Et₃N (6 mmol) and MeSO₂Cl (4.8 mmol) were added. After 2 more h a tlc (hexane:EtOAc, 1:1) showed complete reaction. The reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (120 mL) and washed with NaHCO₃ (sat.) (2 x 240 mL) and water (2 x 240 mL), dried, filtered and evaporated to afford intermediate C (8.0 g, 27 mmol, 90%) as a yellow solid.

25

2-[2-methyl-4-[[(4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl)methyl]sulfanyl]phenoxy]acetic acid:



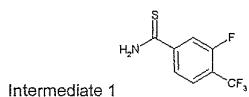
Intermediate A (4.68g, 16mM) was refluxed with 9.6 g of tin powder in ethanol (20mL) and dioxane/HCl (20 mL). After 3 h the reaction mixture was poured into ice and CH_2Cl_2 (200mL) and filtered. The phases were separated and the aqueous layer was extracted 2X 50 mL CH_2Cl_2 . The combined organic layers were dried (MgSO_4), filtered and evaporated to yield 3.5g (97%). This material readily forms disulfides and therefore was used immediately. It was dissolved in acetonitrile (50mL) with intermediate C (4.0 g, 14.0mM) and Cs_2CO_3 (10.1 g, 31.0 mM) and stirred for 1 h then diluted with ether (200mL) and water (200mL). The phases were separated and the organic phase was washed 2X NaOH 0.1N (50mL), dried (MgSO_4), filtered and evaporated to afford crude product (6.57 g,) which was slurried in hexane:ether (1:1) and filtered to yield pure intermediate D (5.0g, 74%). This material was hydrolyzed as described below to prepare the title compound. A solution of the corresponding ester (Intermediate D) (1 mmol) in THF (10 mL) (in some cases few drops of MeOH were added to help solubility), was treated with 1N LiOH in water (2 mL, 2 mmol), and stirred 16 h at room temperature (when reactions were slow, the temperature was elevated to 50°C). The solution was neutralized with 1N HCl (2 mL, 2 mmol) and the organic solvent evaporated to afford an aqueous solution with an insoluble product. If the insoluble was a solid, it was filtered and dried to afford the final product. If the insoluble was an oil, it was extracted with EtOAc (30 mL). The organic solution was separated, washed with water (2 x 30 mL), dried, filtered, and evaporated to afford the final product.

25

Example 2
2-(2-methyl-4-[(4-methyl-2-[3-fluoro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl)methyl]sulfonyl)phenoxy)acetic acid

30

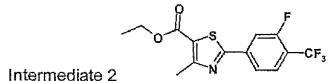
18



NaHCO₃ (2 mmol) was added to a solution of P₄S₁₀ (0.2 mmol) in toluene (100 mL) and the mixture heated to reflux for ca. 30min. The substituted benzamide (1 mmol) was added and the reaction stirred at 90°C for 1h. The reaction was then evaporated to dryness, treated with brine (100 mL) and extracted with CH₂Cl₂ (2 X 50 mL). The organic phase dried, filtered, and evaporated to afford the final product as a yellow solid (50%).

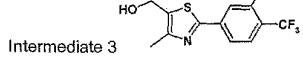
MS m/z 223

10



Intermediate 1 was reacted with ethyl-2-chloroacetoacetate (1:1 mmol) and the mixture heated to reflux overnight. The reaction was cooled to room temperature and the solvent evaporated. The solid was crystallised from Et₂O or hexane to afford the title compound as an off-white solid (56%). MS m/z 333

15

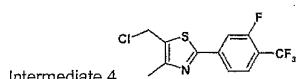


Intermediate 2 was reacted with a solution of LiAlH₄ at 0°C. The reaction was stirred while it was allowed to warm to rt. After all the starting material had disappeared, the reaction was cautiously treated with water (5mL) followed by 1N NaOH (10mL). The mixture was filtered through celite. The filtrate was extracted with CH₂Cl₂ (3 x 50mL). The organic phase was dried, filtered and evaporated to afford the title compound as an off-white solid (63%).

MS m/z 291

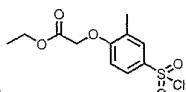
25

19



To a solution of the Intermediate 3 (1 mmol) and Et₃N (2 mmol) in CH₂Cl₂ (100 mL) at 0°C was added dropwise methanesulfonyl chloride (1.6 mmol). After 2-4h the reaction was complete. CH₂Cl₂ (50 mL) is added and the organic phase was washed with a saturated NaHCO₃ solution (2 x 50 mL), water (2 x 50 mL), dried, filtered and then evaporated to afford the title compound as a pale yellow solid (100%).

1H-NMR (CDCl₃) δ2.40 (s, 3H), 4.70 (s, 2H), 7.55-7.75 (m, 3H).



10 Intermediate 5

Chlorosulfonic acid (15mL) was cooled to 0°C. then 10.0 g (0.05M) of ethyl (2-methylphenoxyacetate was added over 10 m. The reaction mixture was stirred at 0-5°C for 30m, the bath was removed and stirring continued for 2 h. The reaction mixture was poured into ice, forming a white solid which was washed with ice water and dried under high vacuum affording the title compound (12.846 g, 86%).

Example 2a

20 ethyl 2-(2-methyl-4-((4-methyl-2-(3-fluoro-4-(trifluoromethyl)phenyl)-1,3-thiazol-5-yl)methyl)sulfanyl)phenoxyacetate

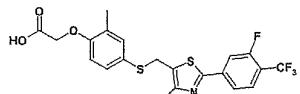
Intermediate 5 (4.68g, 16mM) was refluxed with 9.6 g of tin powder in ethanol (20mL) and dioxane/HCl (20 mL). After 3 h the reaction mixture was poured into ice and CH₂Cl₂ (200mL) and filtered. The phases were separated and the aqueous layer was extracted 2X 50 mL CH₂Cl₂. The combined organic layers were dried (MgSO₄), filtered and evaporated to yield 3.5g (97%). This material readily forms disulfides and therefore was used immediately. It was dissolved in

acetone (50mL) with intermediate 4 (4.0 g, 14.0mM) and Cs_2CO_3 (10.1 g, 31.0 mM) and stirred for 1 h then diluted with ether (200mL) and water (200mL). The phases were separated and the organic phase was washed 2X NaOH 0.1N (50mL), dried (MgSO_4), filtered and evaporated to afford crude product (6.57 g,)

5 which was intermediate 54. The crude material was chromatographed CH_2Cl_2 (100%) to afford the title compound (50%) as a clear oil that solidified on standing.

10 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.20 (t, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 4.05 (s, 2H), 4.15 (q, 2H), 4.55 (s, 2H), 6.55 (d, 1H), 7.05 (dd, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.55 (t, 1H), 7.65 (m, 2H).

15 MS m/z 500 (M+1)



Example 2b
15 2-(2-methyl-4-[(4-methyl-2-[3-fluoro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-
16 yl)methyl]sulfanyl)phenoxy)acetic acid

A solution of Example 2a (1 mmol) in THF (10 mL) was treated with 1N LiOH in water (2 mL, 2 mmol), and stirred 16 h at room temperature (when reactions were slow, the temperature was elevated to 50°C). The solution was neutralized with 1N HCl (2 mL, 2 mmol) and the organic solvent evaporated to afford an aqueous solution with an insoluble product. If the insoluble was a solid, it was filtered and dried to afford the final product. If the insoluble was an oil, it was extracted with EtOAc (30 mL). The organic solution was separated, washed with water (2 x 30 mL), dried, filtered, and evaporated to afford the final product.

25 The crude material was precipitated from ether to afford the title compound (81%) as a yellow foam: mp <50°C.
Anal. Calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{F}_4\text{NO}_3\text{S}_2$: C, 53.50; H, 3.63; N, 2.97; S, 13.60. Found: C53.86; H, 3.63; N, 2.87; S, 13.82.

30 MS m/z 472 (M+1)

INOS biology

The ability of PPAR delta activators to inhibit the activity and expression of inducible nitric oxide synthase (INOS) was examined using potent, selective 5 PPAR delta agonists, such as (2-{2-methyl-4[({4-methyl-2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl}methyl)sulfanyl]phenoxy}acetic acid (hereinafter referred to as Compound A, synthesis as described in Example 1) and (2-{2-methyl-4[({4-methyl-2-[3-fluoro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-5-yl}methyl)sulfanyl]phenoxy}acetic acid (hereinafter referred to as Compound B, 10 synthesis as described in Example 2b).

In this assay system, lipopolysaccharide (LPS) was used to induce the expression of INOS in the mouse macrophage cell line, J774. Pre-treatment of 15 J774 cells, with pharmacologically relevant concentrations of PPAR delta agonists, resulted in inhibition of the INOS activity. This reduction in INOS activity correlated with a reduction in LPS-induced INOS mRNA expression.

Measurement of iNOS Activity

20 Specifically, LPS-induced INOS activity was measured using the following assay conditions. J774 cells were seeded at a density of 35000-50000 thousand cells per well, in a black, clear-bottomed, 96 well plate, 24hours prior to use. The cell culture and the drug dilutions were carried out in complete media, which 25 consisted of DMEM (Dulbecco's modification of Eagle's medium) containing foetal calf serum (10%), glutamine (2mM), penicillin (100u/ml) and streptomycin (100 μ g/ml). The J774 cells were pre-treated with the PPAR delta activators A and B, or vehicle, for 6 hours prior to, and for 24 hours subsequent to the 30 addition of LPS (typically, a concentration of 1ug/ml of LPS was used). Twenty-four hours after the addition of LPS, INOS activity was measured by the following method. The cell culture media/drug dilutions were removed and the cells washed with D-PBS (Dulbecco's modification of phosphate-buffered saline). The D-PBS was then removed, and replaced with D-PBS containing DAF-2 (4,5-diaminofluorescein ; 5 μ M) and L-arginine (500 μ M). After incubation at 37°C for 3 hours, fluorescence from each well was measured at an excitation 35 wavelength of 485nm, and an emission wavelength of 530nm. The ability of

LPS to induce iNOS activity, in the presence and absence of PPAR delta activators, was then calculated. Examples of the data obtained are shown in Figure 1, with the control elevation of iNOS activity, induced by LPS, is a response of 100%.

5

Thus, pre-treatment with Compound A or Compound B, produced a marked inhibition of LPS-induced iNOS activity in J774 cells, at sub-nanomolar – nanomolar concentrations.

10 **Measurement of Inhibition of iNOS mRNA**

The mechanism, associated with the inhibition of iNOS activity by PPAR delta activators, was investigated in greater detail.

15 Specifically, the ability of PPAR delta agonists to inhibit LPS-induced expression of iNOS mRNA, in J774 cells was examined. J774 cells were plated in 6 well plates (10^6 cells/well), 24 hours prior to use. The cells were pre-treated with PPAR delta activator control media for 6 hours, prior to addition of LPS, which was co-incubated with the PPAR delta activator / control, for a further 24 hours. At the end of this incubation period, the culture medium was removed by 20 aspirating and the cells washed with D-PBS. Following removal of the D-PBS, total cellular RNA was isolated from each sample using a commercially available RNA isolation kit. First strand cDNA synthesis was carried out as per instructions supplied with the AMV reverse transcription (RT) system. An aliquot (1000ng) of the RNA was added to a mix which contained (final concentrations) 25 MgCl₂ (5mM), Tris-HCl (10mM ; pH 8.8), KCl (50mM), Triton X-100 (0.1%), dNTP (1mM), rRNasin (1U/ μ l), AMV reverse transcriptase (0.75U/ μ l), oligo(dT)₁₅ (25ng/ μ l). This was incubated in a thermal cycler at 42°C for 30 minutes, followed by 95°C for 15 minutes, and, finally, 4°C, until being transferred to a 30 freezer (-20°C) for storage.

30

For use in PCR, the following primer sets were used

Mouse iNOSsense	CCCTTCCGAAGTTCTGGCAGCAGC (SEQ ID NO: 1)
Mouse iNOS anti-sense	GGCTGTCAGAGCCTCGTGGCTTGG (SEQ ID NO: 2)
Mouse GAPDH sense	TGAAGGTCGGTGTGAACGGATTGAC (SEQ ID NO: 3)
35 Mouse GAPDH anti-sense	CATGTAGGCCATGAGGTCCACAC (SEQ ID NO: 4)

PCR was undertaken in a 50 μ l reaction volume containing 5 μ l of the RT reaction, sense and anti-sense primers for iNOS/GAPDH (0.4pmol/ μ l), dNTPs (160 μ M), KCl (50mM), Tris-HCl (10mM ; pH 9.0), Triton X-100 (0.1%), MgCl₂ (2mM), and Taq DNA polymerase (0.04U/ μ l) (final concentrations). The PCR was carried out in a thermal cycler using the following conditions : 95°C for 60s, followed by 28 cycles of 94°C for 30s, 55°C for 60s, 72°C for 90s. Following a final extension step of 72°C for 5 minutes, the samples were maintained at 4°C, until analysed on an agarose gel. Analysis of sybr-green stained gels, by densitometry, was carried out using a Storm fluorimager system (Molecular Devices)

Thus, pre-treatment of J774 cells, with pharmacologically relevant concentrations of PPAR delta activators, resulted in inhibition of LPS(1 μ g/ml for data below)-induced iNOS mRNA expression. This data is shown in Figure 2.

15 **Measurement of Inhibition of TNF**

The ability of PPAR delta activators to inhibit the expression/secretion of tumour necrosis factor- α (TNF) was also examined. Thus, the ability of PPAR delta activators to inhibit LPS- induced TNF expression correlated well with the inhibitory effects of PPAR delta activators on LPS-induced iNOS activation.

20 Specifically, LPS-induced iNOS activity and expression of TNF was measured using the following assay conditions. J774 cells were seeded at a density of 35000-50000 thousand cells per well, in black, clear-bottomed, 96 well plates. The cell culture and the drug dilutions were carried out in complete media, which consisted of DMEM (Dulbecco's modification of Eagle's medium) containing foetal calf serum (10%), glutamine (2mM), penicillin (100u/ml) and streptomycin (100 μ g/ml). The J774 cells were pre-treated with PPAR delta activators, or vehicle, for 6 hours prior to, and for 24 hours subsequent to the addition of LPS (typically, a concentration of 1 μ g/ml of LPS was used). Twenty-four hours after the addition of LPS, iNOS activity was measured by the following method. The cell culture media/drug dilutions were removed for measurement of TNF concentrations, quantified using a commercially available ELISA system. The cells washed with D-PBS. The D-PBS was then removed, and replaced with D-

WO 02/28433

PCT/GB01/04370

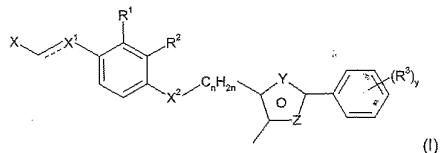
24

PBS containing DAF-2 (4,5-diaminofluorescein ; 5 μ M) and L-arginine (500 μ M). INOS activity was then measured as described previously. Examples of the data obtained are illustrated in Figure 3.

5

Claims

1. A method of treating diseases or conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated in a mammal, such as a human, which comprises the administration of a PPAR delta activator.
- 5
2. Use of a PPAR delta activator in the manufacture of a medicament for the treatment of diseases or conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated.
- 10
3. A method according to use according to claim 1 or use according to claim 2 wherein the PPAR delta activator is a PPAR delta agonist.
- 15
4. A method of use according to claim 3 wherein the PPAR delta agonist is a selective agonist.
5. A method of use according to claim 4 wherein the selective PPAR delta agonist is a hPPAR delta selective agonist.
- 20
6. Use according to claim 2 or a method according to claim 1 where the PPAR delta activator has a structure according to formula (I).



- 25
7. Use or a method according to claim 5 wherein the PPAR delta activator is {2-methyl-4-[4-methyl-2-(4-trifluoromethylphenyl)thiazol-5-ylmethylthio]phenoxy}-acetic acid.

8. A pharmaceutical formulation for use in the treatment of diseases or conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated comprising a PPAR delta activator together with at least one pharmaceutical carrier wherein the PPAR delta agonist is present in an amount effective for use in the treatment of diseases or conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated.
- 5
9. A method for identifying compounds which will be useful in treating diseases or conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated comprising the step of determining whether the compound interacts directly with PPAR delta, or the step of determining whether the compound activates PPAR delta.
- 10
10. The present invention also provides a method for treating diseases or conditions for which an inhibitor of NO synthase and/or TNF is indicated comprising administration of compounds identified using the screening method of claim 9
- 15

Figure 1

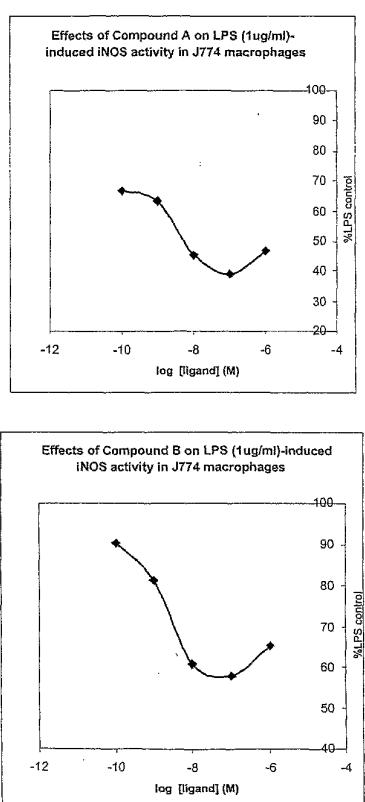


Figure 2

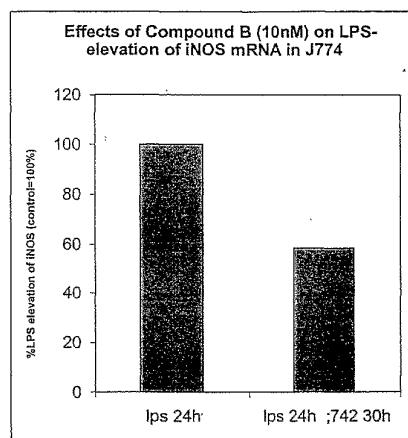
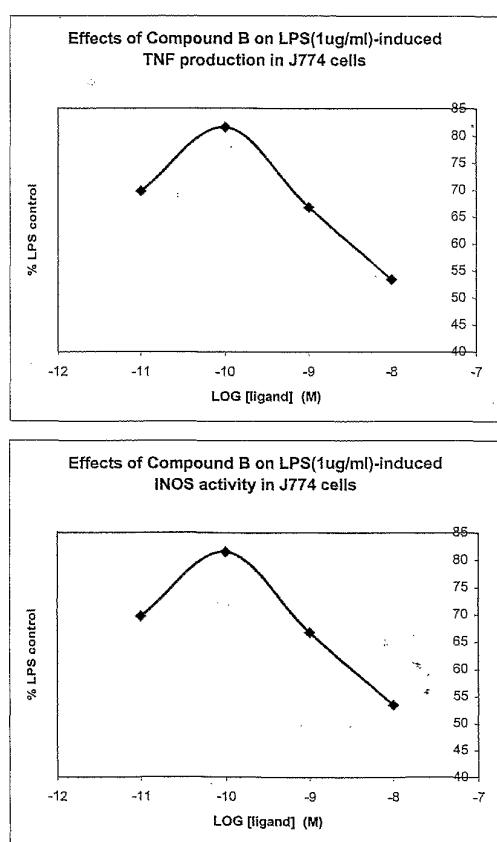


Figure 3



【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
11 April 2002 (11.04.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/028433 A3

(51) International Patent Classification: A61K 45/08. (81) Designated States (national): AE, AG, AI, AM, AT, AU, 31/426, 31/421, A61P 1/00, 19/02 AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CI, 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, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(21) International Application Number: PCT/GB01/04370

(22) International Filing Date: 2 October 2001 (02.10.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 0024362.6 5 October 2000 (05.10.2000) GB

(71) Applicant (for all designated States except US): GLAXO GROUP LIMITED [GB/GB]; Glaxo Wellcome House, Berkeley Avenue, Greenford, Middlesex UB6 0NN (GB).

(72) Inventor: and

(75) Inventor/Applicant (for US only): BUCHAN, Kevin, William [GB/GB]; w/o GlaxoSmithKline, Gunnels Wood Road, Stevenage, Hertfordshire SG1 2NY (GB).

(74) Agent: GIDDINGS, Peter, John; GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property (CN9.25.1), 980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS (GB).

(81) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KU, 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, GG, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) 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(88) Date of publication of the international search report:
15 August 2002

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 02/028433 A3

(54) Title: USE OF A PPAR DELTA ACTIVATOR IN THE TREATMENT OF DISEASES RELATED TO NO INHIBITION OR TNF INHIBITION

(57) Abstract: Methods of prevention or treatment of diseases or conditions where inhibition of NO synthase and/or TNF is desirable, the use of PPAR delta activators in such methods and methods for the identification of compounds useful in such treatment.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No PCT/GB 01/04370
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K45/08 A61K31/426 A61K31/421 A61P1/00 A61P19/02		
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) IPC 7 A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data, PASCAL, BEILSTEIN Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
L	WO 01 00603 A (SIERRA MICHAEL LAWRENCE ; GELIBERT FRANCOISE JEANNE (FR); GLAXO GR) 4 January 2001 (2001-01-04) cited in the application claims 24-26 ---	2,8
X	WO 97 28149 A (AUWERX JOHAN ; BERGER JOEL P (US); MERCK & CO INC (US); MOLLER DAVI) 7 August 1997 (1997-08-07) claim 54 ---	2,8
X	EP 1 023 907 A (YAMANOUCHI PHARMA CO LTD) 2 August 2000 (2000-08-02) * p,3, [0012] * ---	2,8 -/-
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may draw doubts on priority, claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *a* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 21 March 2002	Date of mailing of the international search report 10.06.02	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5816 Patentlaan 2 NL-2233 AH Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Uiber, P	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

page 1 of 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/GB 01/04370

C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE MEDLINE [Online] NLM9793108, 1998 CITROME ET AL: "Utilization of valproate: extent of inpatient use in the New York State Office of Mental Health." XP002193787 abstract & THE PSYCHIATRIC QUARTERLY., vol. 69, no. 4, 1998, pages 283-300, ----	2,8
P,X	EP 1 170 008 A (CHEMOTHERAPEUTISCHES FORSCHUNG) 9 January 2002 (2002-01-09) * p.3, 1.15; claims 1-15 * -----	2,8

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

page 2 of 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/GB 01/04370
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)		
<p>This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 1,3-5,10 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy (claims 1,3-5,10) 2. <input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 2,8 because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically: see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210 3. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a). 		
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)		
<p>This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:</p> <p>see additional sheet</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims. 2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee. 3. <input type="checkbox"/> As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: 4. <input checked="" type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 2 (part), 6, 7, 8 (part) 		
Remark on Protest		<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. <input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 1998)

International Application No. PCT/GB 01/04370

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 2,8

Present claims 2 and 8 relate to a pharmaceutical product or a method respectively containing or testing a compound defined by reference to a desirable characteristic or property, namely PPAR delta activators. In addition, the diseases or conditions are defined by reference to a desirable characteristic or property, namely, " for which an inhibitor of NO synthetase and/or TNF is indicated".

The claims cover all a pharmaceutical product or a method respectively containing or testing SAID compound having this characteristic or property or for treating said diseases or conditions, whereas the application provides support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT for only a very limited number of such a pharmaceutical product, a method respectively containing or testing a compound or such diseases or conditions.

In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Independent of the above reasoning, the claims also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the product and the diseases or conditions by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be clear, supported and disclosed, namely those parts relating to the compounds of formula (I) in claim 6 for treating the diseases EXPLICITLY mentioned in pages 2-4.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

International Application No. PCT/GB 01/04370

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. Claims: 2(part.),6,7,8(part.)

Use of a PPAR delta activator of formula I in the manufacture of a medicament for treating diseases or conditions for which an inhibitor of NO synthetase and/or TNF is indicated and pharmaceutical compositions containing said PPAR delta activators

2. Claims: 9,10

A method for identifying a PPAR delta activator not falling within formula I and its use in the manufacture of a medicament for treating diseases or conditions for which an inhibitor of NO synthetase and/or TNF is indicated

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
 Information on patent family members

International Application No.
PCT/GB 01/04370

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0100603	A 04-01-2001	AU 5817100 A BR 0011891 A CZ 20014664 A3 WO 0100603 A1 EP 1189895 A1 NO 20016078 A	31-01-2001 05-03-2002 13-03-2002 04-01-2001 27-03-2002 13-12-2001
-----	-----	-----	-----
WO 9728149	A 07-08-1997	AU 1856997 A AU 721452 B2 AU 2115997 A CA 2245529 A1 EP 0888278 A1 JP 2002503202 T WO 9728115 A1 WO 9728149 A1 AU 712607 B2 AU 1858197 A CA 2244831 A1 EP 1011651 A1 JP 2000504021 T WO 9727847 A1 AU 719146 B2 AU 2250797 A CA 2245524 A1 EP 0904079 A1 WO 9727857 A1 AU 708055 B2 AU 1856397 A EP 0882029 A1 JP 2002503203 T WO 9728137 A1 US 5859051 A US 6090836 A ZA 9700824 A US 6020382 A US 5847008 A AU 719663 B2 AU 5615298 A EP 0948327 A1 JP 2001511767 T WO 9827974 A1 US 6160000 A US 6090839 A	22-08-1997 06-07-2000 22-08-1997 07-08-1997 07-01-1999 29-01-2002 07-08-1997 07-08-1997 11-11-1999 22-08-1997 07-08-1997 28-06-2000 04-04-2000 07-08-1997 04-05-2000 22-08-1997 07-08-1997 31-03-1999 07-08-1997 29-07-1999 22-08-1997 09-12-1998 29-01-2002 07-08-1997 12-01-1999 18-07-2000 30-10-1998 01-02-2000 08-12-1998 11-05-2000 17-07-1998 13-10-1999 14-08-2001 02-07-1998 12-12-2000 18-07-2000
-----	-----	-----	-----
EP 1023907	A 02-08-2000	AU 8355998 A EP 1023907 A1 US 6300364 B1 WO 9904815 A1	16-02-1999 02-08-2000 09-10-2001 04-02-1999
-----	-----	-----	-----
EP 1170008	A 09-01-2002	EP 1170008 A1 WO 0207722 A2	09-01-2002 31-01-2002
-----	-----	-----	-----

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

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 1/18	A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 3/00	A 6 1 P 3/00	
A 6 1 P 3/04	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 3/10	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 9/02	A 6 1 P 9/02	
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 11/00	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 11/06	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 13/12	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 15/00	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 17/02	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/04	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/04	
A 6 1 P 19/02	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 25/06	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/08	A 6 1 P 25/06	
A 6 1 P 25/14	A 6 1 P 25/08	
A 6 1 P 25/16	A 6 1 P 25/14	
A 6 1 P 25/18	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 25/20	A 6 1 P 25/18	
A 6 1 P 25/22	A 6 1 P 25/20	
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/22	
A 6 1 P 27/02	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 27/06	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 27/06	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 37/00	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 37/06	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 39/02	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 37/06	
// C 0 7 D 277/20	A 6 1 P 39/02	
C 0 7 D 277/36	A 6 1 P 43/00	1 1 1
	C 0 7 D 277/36	

(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,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PH,PL,PT,R0,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(74) 代理人 100118773

弁理士 藤田 節

(74)代理人 100096183

弁理士 石井 貞次

(72)発明者 パカン,ケヴィン,ウィリアム

イギリス国 エスジー1 2エヌワイ ハートフォードシャー,スティーヴェネッジ,ガンネルス
ウッド ロード,シー/オー グラクソスミスクライン

F ターム(参考) 4C033 AD04 AD09 AD16 AD20

4C084 AA17 NA14 ZA01 ZA02 ZA05 ZA06 ZA08 ZA15 ZA16 ZA18
ZA20 ZA22 ZA33 ZA36 ZA43 ZA45 ZA51 ZA59 ZA66 ZA70
ZA75 ZA89 ZA96 ZA97 ZB07 ZB08 ZB11 ZB15 ZB33 ZB35
ZC20 ZC35 ZC37 ZC41 ZC42
4C086 AA01 AA02 BC82 MA01 MA04 NA14 ZA01 ZA02 ZA05 ZA06
ZA08 ZA15 ZA16 ZA18 ZA20 ZA22 ZA33 ZA36 ZA43 ZA45
ZA51 ZA59 ZA66 ZA70 ZA75 ZA89 ZA96 ZA97 ZB07 ZB08
ZB11 ZB15 ZB33 ZB35 ZC20 ZC35 ZC37 ZC41 ZC42