

(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2004-532187

(P2004-532187A)

(43) 公表日 平成16年10月21日(2004. 10. 21)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C07C 233/44	C O 7 C 233/44	4 C O 5 5
A61K 31/167	A 6 1 K 31/167	4 C O 8 4
A61K 31/17	A 6 1 K 31/17	4 C O 8 6
A61K 31/18	A 6 1 K 31/18	4 C 2 O 4
A61K 31/216	A 6 1 K 31/216	4 C 2 O 6
	審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 208 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2002-559382 (P2002-559382)	(71) 出願人	300046119
(86) (22) 出願日	平成14年1月25日 (2002. 1. 25)		ギルフォード ファーマシューティカルズ
(85) 翻訳文提出日	平成15年7月24日 (2003. 7. 24)		インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/002538		アメリカ合衆国 メリーランド州2122
(87) 国際公開番号	W02002/059080		4, バルチモア, トリビュータリーストリ
(87) 国際公開日	平成14年8月1日 (2002. 8. 1)		ート 6611
(31) 優先権主張番号	60/263, 703	(74) 代理人	100085109
(32) 優先日	平成13年1月25日 (2001. 1. 25)		弁理士 田中 政浩
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	ヤング・タイアン・ウー
(31) 優先権主張番号	60/291, 965		アメリカ合衆国 メリーランド州2104
(32) 優先日	平成13年5月21日 (2001. 5. 21)		4, コロンビア, バーレイコンロー, 6
(33) 優先権主張国	米国 (US)		510
		(72) 発明者	セルゲイ・ベリヤコフ
			アメリカ合衆国 メリーランド州2123
			6, バルチモア, ミダロコート, 9500
			最終頁に続く

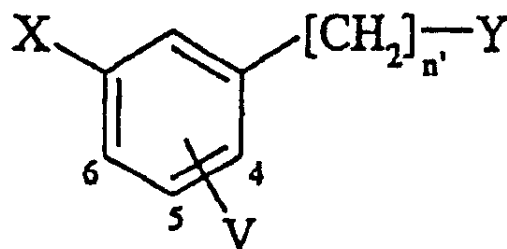
(54) 【発明の名称】 三置換カルボサイクリックサイクロフィリン結合化合物とその用途

(57) 【要約】

【課題】この発明は、サイクロフィリン (C y P) 型イムノフィリン蛋白に親和性を有する新規な、非ペプチド性小有機化合物と一以上のこの化合物よりなる薬剤組生物を提供する。

【解決手段】本発明の化合物は下記の一般式を有し、

【化1】



式中、Vは4, 5, 又は6位に結合したC₁—C₄のアルキルオキシ、C₁—C₄のアルキル等、XとYは

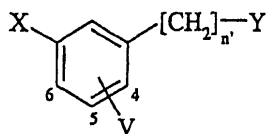
【化2】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次式の化合物

【化 1】



式 1

10

及び薬剤として許容できるその誘導体

式中、Vは4、5又は6位に結合され、そしてC₁－C₄アルキルオキシ、C₁－C₄アルキル、Qで置換されていてもよいC₂－C₄アルケニルオキシ、C₁－C₄アルコキシカルボニル、アミノ又はC₁－C₄アルコキシカルボニルアミノで置換されていてもよいC₁－C₆アルキルカルバモイル、ジ－(C₁－C₄アルキル)カルバモイル、C₁－C₄アルカノイル、Q置換C₁－C₆アルキル、アルケニル又はアルキニル、CO－W及び－(CH₂)_n－Wよりなる群から選ばれたものであり、

20

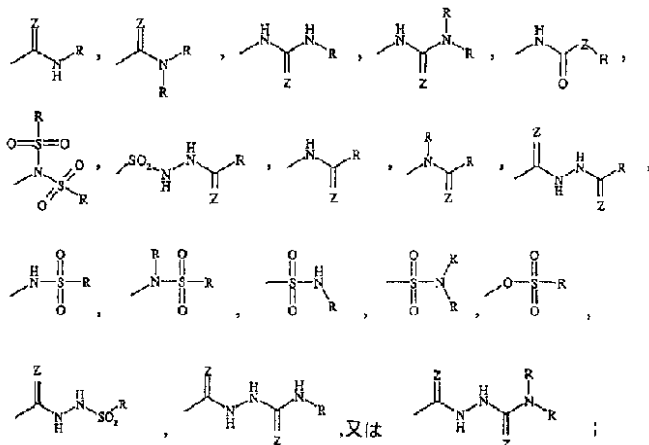
そこでは、WはQ、－Z'－(CH₂)_m－Q、－N＝CH－(CH₂)_m－Q、COOCH₃、COCH₃、ヒドロキシル、メルカプチル、アミノ、ニトロ、ハロ、カルキボシ、トリフルオロメチル、又はアミノもしくはC₁－C₄アルコキシカルボニルアミノであり、
nとmは独立に0－4であり、

n'は0－3であり、

Z'はO、S、NH又はNRであり、

そこでは、XとYは同一又は異なって、そして独立に、

【化 2】

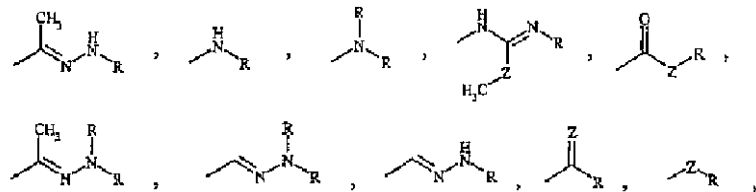


30

40

そして、そこではYはさらに、Q、

【化 3】



もしくは、一もしくはいくつかの位置がQで置換され、そしてさらに一もしくはいくつかの位置がヒドロキシル、メルカプチル、もしくはカルボニル酸素で置換されていてもよい

50

、 C_1-C_6 連鎖もしくは分岐鎖のアルキル、アルケニルもしくはアルキニルであって、
ZはOもしくはSであり、
そして、Rは独立に、

Q、

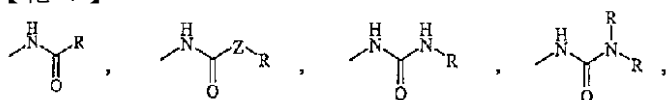
もしくは、一もしくははいくつかの位置がQで置換され、そしてさらに一もしくははいくつかの位置がヒドロキシル、メルカプチル、もしくはカルボニル酸素で置換されていてもよい、 C_1-C_6 連鎖もしくは分岐鎖の低級アルキル、アルケニルもしくはアルキニルであって、そして一以上の炭素原子がO、N、NH、S、SO、もしくはSO₂で置換されていてもよく、

そして、そこでは、Qは飽和、部分飽和もしくは芳香族の単環、二環もしくは三環の炭素環もしくは複素環であって、個々の環のサイズは5-6員環であり、もし存在するのであれば、O、N及びSよりなる群から独立に選ばれた1-4個の異種原子を如何なる化学的に安定な順序及び酸化状態で含んでおり、

そして、Qは一もしくははいくつかの位置が、ハロ、ヒドロキシル、メルカプチル、ニトロ、トリフルオロメチル、アミノカルボニル、アリールがハロゲン化されそしてトリフルオロメチルもしくはシアノで置換されていてもよいアリールアミノカルボニル、 C_1-C_4 アルキルスルホニル、 C_1-C_4 アルキルチオ、オキソ、シアノ、カルボキシ、 C_1-C_4 アルキルもしくはアルケニル、 C_1-C_4 アルコキシ、 C_1-C_5 アルコキシカルボニル、 C_1-C_4 アルケニルオキシ、フェノキシ、フェニル、シアノフェニル、ベンジルオキシ、ベンジル、アミノ、 C_1-C_4 アルキルアミノ、ジー(C_1-C_4)アルキルアミノ、 C_1-C_4 アルキルカルバモイル、ジー(C_1-C_4)アルキルカルバモイルもしくはこれらの組合せでよく、

但し、XとYが

【化4】



又は、これらの組合せであって、

n' が0で、

n が0で、

Vがハロ、ヒドロキシル、ニトロ、トリフルオロメチル、 C_1-C_4 アルコキシもしくはアルケニルオキシ、フェノキシ、ベンジルオキシ、アミノもしくはQである場合には、

RはQ又はQで置換された C_1-C_3 分岐もしくは直鎖アルキルではない。

【請求項2】

Vが C_1-C_4 アルキルオキシ、Qで置換されていてもよい C_2-C_4 アルケニルオキシ、 C_1-C_4 アルコキシカルボニル、アミノもしくは C_1-C_4 アルコキシカルバモイルアミノで置換されていてもよい C_1-C_6 アルキルカルバモイル、ジー(C_1-C_4 アルキル)カルバモイル、 C_1-C_4 アルカノイル、Q置換 C_1-C_6 直鎖もしくは分岐鎖アルキル、アルケニルもしくはアルキニル、 $-CO-W$ 及び $-(CH_2)_n-W$ よりなる群から選ばれたものであり、

XとYは独立に、

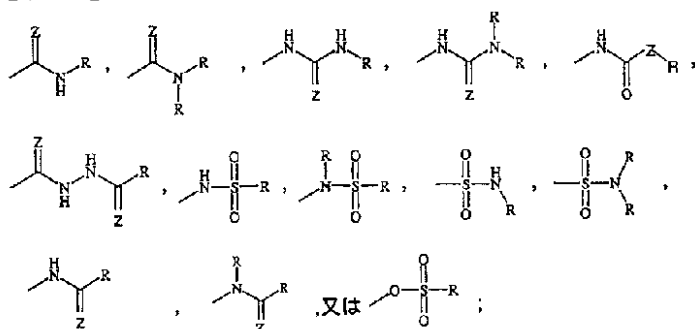
10

20

30

40

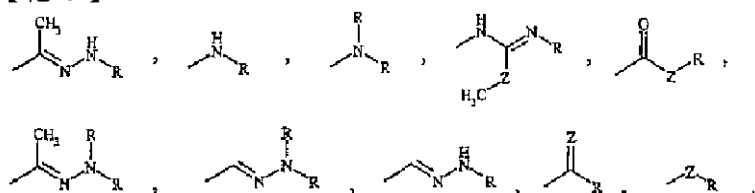
【化 5】



10

そして、Yはさらに、Q、

【化 6】



20

もしくは、一もしくははいくつかの位置がQで置換され、そしてさらに一もしくははいくつかの位置がヒドロキシル、メルカプチル、もしくはカルボニル酸素で置換されていてもよい、 C_1-C_6 連鎖もしくは分岐鎖のアルキル、アルニケルもしくはアルキニルであって、そして、そこでは、Qは飽和、部分飽和もしくは芳香族の単環、二環もしくは三環の炭素環もしくは複素環であって、個々の環のサイズは5-6員環であり、もし存在するのであれば、O、N及びSよりなる群から独立に選ばれた1-6個の異種原子を如何なる化学的に安定な順序及び酸化状態で含んでおり、

そして、Qは一もしくははいくつかの位置が、ハロ、ヒドロキシル、メルカプチル、ニトロ、トリフルオロメチル、アセチル、アミノカルボニル、ハロゲン化され、そしてトリフルオロメチルもしくはシアノで置換されていてもよいアリールアミノカルボニル、メチルスルホニル、メチルチオ、オキシ、シアノ、カルボキシ、 C_1-C_6 直鎖もしくは分岐鎖アルキルもしくはアルケニル、 C_1-C_4 アルコキシ、 C_1-C_4 アルケニルオキシ、フェノキシ、フェニル、シアノフェニル、ベンジルオキシ、ベンジル、アミノ、 C_1-C_4 アルキルアミノ、ジ- (C_1-C_4) アルキルアミノ又はこれらの組合せである請求項1による化合物

30

【請求項 3】

Vが $-(CH_2)_n-W$ であり、nが0であり、そしてWがハロである請求項1による化合物

【請求項 4】

Vが5位に結合している請求項1の化合物

【請求項 5】

Vが $-(CH_2)_n-W$ であって、Wが $-Z'-(CH_2)_m-Q$ である請求項4の化合物

40

【請求項 6】

nが1であり、mが0であって、 Z' がOである請求項5の化合物

【請求項 7】

nが0であり、mが1であって、 Z' がOである請求項5の化合物

【請求項 8】

nとmが0であり、 Z' がNHである請求項5の化合物

【請求項 9】

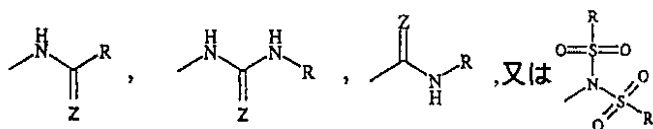
VがQ置換 C_1-C_6 直鎖もしくは分岐鎖のアルキル又はQ置換 C_2-C_6 直鎖もしくは分岐鎖アルケニルである請求項4の化合物

【請求項 10】

n'が0であり、XとYが独立に、

50

【化 7】



である請求項 1 による化合物

【請求項 1 1】

各 R が独立に Q 又は Q 置換 C_1-C_6 アルキルである請求項 1 0 の化合物

【請求項 1 2】

V が 5 位に結合している請求項 1 1 の化合物

10

【請求項 1 3】

V が $-(CH_2)_n-W$ であって、W が $-Z'-(CH_2)_m-Q$ である請求項 1 2 の化合物

【請求項 1 4】

n が 1 であり、m が 0 であって、 Z' が O である請求項 1 3 の化合物

【請求項 1 5】

n が 0 であり、m が 1 であって、 Z' が O である請求項 1 3 の化合物

【請求項 1 6】

n と m が 0 であり、 Z' が NH である請求項 1 3 の化合物

【請求項 1 7】

V が Q 置換 C_1-C_6 直鎖もしくは分岐鎖のアルキル又は Q 置換 C_2-C_6 直鎖もしくは分岐鎖アルケニルである請求項 1 2 の化合物

20

【請求項 1 8】

化合物が次の群から選ばれたものである請求項 1 による化合物

化合物 1 : 3 - { 3 , 5 - ビス - [3 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) - ウレイド] - フェニル } プロピオン酸メチルエステル ;

化合物 2 : 5 - ヒドロキシ - N , N ' - ビス - (3 - トリフルオロメチル - フェニル) - イソフタルアミド ;

化合物 3 : 5 - ナフタレン - 1 - イル - N , N ' - ビス - (3 - トリフルオロメチル - フェニル) イソフタルアミド ;

化合物 4 : { 6 - [3 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) - ウレイド] - 5 - (3 - トリフルオロメチル - フェニルカルバモイル) - ベンゾイルアミノ } ヘキシル } カルバミン酸 tert - ブチルエステル ;

30

化合物 5 : 3 - { 3 , 5 - ビス - [3 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) ウレイド] - フェニル } メチルエステル ;

化合物 6 : 1 , 3 - (3 , 5 - ジクロロフェニル) - N - [5 - (3 , 4 - ジクロロフェノキシメチル) フェニル] アミド ;

化合物 7 : 1 , 3 - (1 - ナフタレン) - N - [5 - (3 , 4 - ジクロロフェノキシメチル) - フェニル] - スルホナミド ;

化合物 8 : 3 , 5 - ジ (ベンジルオキシ) - 3 ' - (トリフルオロメチル) ベンスアニリド ;

40

化合物 9 : N - (5 - { [2 - アザ - 2 - [3 , 5 - ジクロロフェニル) - 1 - メチルチオビニル] アミノ } - 3 - { [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] アミノ } フェニル) (3 , 5 - ジクロロフェニル) ホルムアミド ;

化合物 1 0 : (3 , 5 - ジクロロフェニル) - N - [5 - ({ [(3 , 5 - ジクロロフェニル) アミノ] チオキソメチル } アミノ) - 3 - { [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] アミノ } フェニル] ホルムアミド ;

化合物 1 1 : [(3 , 5 - ジクロロフェニル) アミノ] { [3 , 5 - ジクロロフェニル) アミノ] チオキソメチルアミノ } - 5 - [(4 - ブロモフェニル) アミノ] フェニル] アミノ } メタン - 1 - チオン ;

化合物 1 2 : N - (5 - [(1 , 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル) メチル] - 3

50

- ー { [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルボニルアミノ } フェニル) [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ;
- 化合物 13 : [(3 , 5 - ジクロロフェニル) アミノ] { [3 - ({ [(3 , 5 - ジクロロフェニル) アミノ] チオキソメチル } アミノ) - 5 - (2 - ピリジルアミノ) フェニル] アミノ } メタン - 1 - チオン ;
- 化合物 14 : N - (5 - { [(ナフチルメチル) アミノ] メチル } - 3 - { [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルボニル - アミノ } フェニル) [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ;
- 化合物 15 : 1 - ベンゾイル - 2 - { 3 - [(3 - トリフルオロメチル) フェニル] カルボニルアミノ - 5 - ヒドロキシ } ベンゾイルヒドラジン ; 10
- 化合物 16 : (3 - (2 - (4 - ピリジル) ビニル) - 5 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド) 。
- 化合物 16 : (3 - (2 - (4 - ピリジル) ビニル) - 5 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ;
- 化合物 17 : (5 - (2 - ナフチルオキシ) - 3 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ;
- 化合物 17 : (5 - (2 - ナフチルオキシ) - 3 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ; 20
- 化合物 18 : (5 - (2 - ナフチル) - 3 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ;
- 化合物 18 : (5 - (2 - ナフチル) - 3 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ;
- 化合物 19 : 1 - [(3 , 4 - ジクロロフェニル) オキシメチル] - 3 , 5 - ビス - { [2 - (3 , 4 - ジクロロフェニル) エチル] アミノカルボニル } ベンゼン ; 30
- 化合物 20 : 1 - [(3 , 4 - ジクロロフェニル) オキシメチル] - 3 , 5 - ビス - [(3 , 5 - ジクロロフェニル) アミノカルボニル] ベンゼン ;
- 化合物 21 : 1 - [4 - (2 - シアノフェニル) ベンジル] オキシ - 3 , 5 - ビス { 2 - [(3 , 4 - ジクロロフェニル) エチル] アミノカルボニル } ベンゼン ;
- 化合物 22 : 1 - [4 - (2 - シアノフェニル) ベンジル] オキシ - 3 , 5 - ビス - [(3 - シアノフェニル) アミノカルボニル] ベンゼン ;
- 化合物 23 : (5 - (2 - (2 - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロナフチル) エチル) - 3 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ;
- 化合物 23 : (5 - (2 - (2 - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロナフチル) エチル) - 3 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ; 40
- 化合物 24 : (5 - (2 - (2 - ナフチル) エチル) - 3 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ;
- 化合物 24 : (5 - (2 - (2 - ナフチル) エチル) - 3 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド ;
- 化合物 25 : (5 - (2 - (2 - ナフチル) ビニル) - 3 - { N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル } フェニル) - N - [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] 50

ニル] ホルムアミド；

化合物 25：(5-(2-(2-ナフチル)ビニル)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド；

化合物 26：(3-ブromo-5-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド；

化合物 27：2-{[3, 5-ビス({[3, 5-ジクロロフェニル]アミノ)チオキソメチル}アミノ)フェニル]メチル}イソインドリン-1, 3-ジオン；

化合物 28：1-(3, 5-ジクロロフェニル)-3-[3-(3, 5-ジクロロベンジルオキシ)-4-メトキシフェニル]ウレア；

化合物 29：N-(3-{ビス[(3, 5-ジクロロフェニル)スルホニル]アミノ}-4-ブromoフェニル)[(3, 5-ジクロロフェニル)アミノ]ホルムアミド；

化合物 30：ビス[(3, 5-ジクロロフェニル)スルホニル](3-{ビス[(3, 5-ジクロロフェニル)スルホニル]アミノ}-4-ブromoフェニル)アミン；

化合物 31：2-{[3-アミノ-5-({[3, 5-ジクロロフェニル]アミノ)チオキソメチル}アミノ)フェニル]メチル}イソインドリン-1, 3-ジオン；

化合物 32：1-(3, 4-ジクロロベンジルオキシ)-3, 5-ビス-[(3, 4, 5-トリクロロフェニル)アミノカルボニル]ベンゼン；

化合物 33：[3, 5-ジクロロフェニル]アミノ{[2-ブromo-5-(ナフチルメトキシ)フェニル]アミノ}メタン-1-チオン；

化合物 34：N-[2-ブromo-5-(ナフチルメトキシ)フェニル][3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド；

化合物 35：[(3, 5-ジクロロフェニル)アミノ]{[5-({[3, 5-ジクロロフェニル]アミノ)チオキソメチルアミノ}-2-{[4-(ジメチルアミノ)フェニル]アミノ}フェニル]アミノ}メタン-1-チオン；

化合物 36：[(3, 5-ジクロロフェニル)アミノ]{[3-({[3, 5-ジクロロフェニル]アミノ)チオキソメチル}アミノ-4-[(4-クロロフェニル)アミノ]フェニル]アミノ}メタン-1-チオン；

化合物 37：3-{[(3-トリフルオロメチル-4-クロロフェニル)アミノカルボニル]ベンジルオキシ}-1, 5-ビス-[(3-トリフルオロメチル-4-クロロフェニル)アミノカルボニル]ベンゼン；

化合物 38：3-{[(3, 4-ジクロロフェニル)アミノカルボニル]ベンジルオキシ}-1, 5-ビス-[(3, 4-ジクロロフェニル)アミノカルボニル]ベンゼン；

化合物 39：[(3, 5-ジクロロフェニル)アミノ]{[3-({[3, 5-ジクロロフェニル]アミノ)チオキソメチル}アミノ]-4-(3, 5-ジメチルピラゾリル)フェニル]アミノ}メタン-1-チオン；

化合物 40：[3, 5-ジクロロフェニル]アミノ{[3-({[3, 5-ジクロロフェニル]アミノ)チオキソメチル}アミノ]-4-[(4-フェノキシフェニル)アミノ]フェニル]アミノ}メタン-1-チオン；

化合物 41：{2-ブromo-5-[N-(3-ニトロフェニル)カルバモイル]フェニル}-N-(3-ニトロフェニル)ホルムアミド；

化合物 42：1, 3-ビス[(3-トリフルオロメチルフェニル)アミノカルボニル]-5-[(2-ナフチル)メチルオキシ]ベンゼン；

化合物 43：1, 3-ビス-[(3, 4-ジクロロフェニル)アミノカルボニル]-5-(ベンジルオキシ)ベンゼン；

化合物 44：[(3, 5-ジクロロフェニル)アミノ]{[5-({[3, 5-ジクロロフェニル]アミノ)チオキソメチルアミノ}-2-ピペリジルフェニル]アミノ}メタン-1-チオン；

化合物 45：1-[3-(3, 5-ジクロロフェノキシ)メチル-4-メトキシフェニル]-3-(3, 5-ジクロロフェニル)チオウレア；

10

20

30

40

50

化合物 46 : 1 - [3 - (3 , 5 - ジクロロフェノキシ) メチル - 4 - メトキシフェニル] - 3 - ベンゾイルチオウレア ;

化合物 47 : N - [4 - メトキシ - 3 - (ナフチルメトキシ) フェニル] ナフチルホルムアミド ;

化合物 48 : N - [4 - メトキシ - 3 - (ナフチルメトキシ) フェニル] - 2 - ナフチルエタナミド ;

化合物 49 : N - [4 - メトキシ - 3 - (ナフチルメトキシ) フェニル] - 2 , 2 - ジフェニルエタナミド ;

化合物 50 : [4 - メトキシ - 3 - (2 - ナフチルエトキシ) フェニル] (ナフチルスルホニル) アミン ;

化合物 51 : (3 , 5 - ジクロロフェニル) - N - [4 - クロロ - 3 - (フェニルカルボニル) フェニル] ホルムアミド ;

化合物 52 : (3 , 5 - ジクロロフェニル) - N - (5 - { [(ジフェニルメチル) アミノ] スルホニル } - 2 - クロロフェニル) ホルムアミド ; 及び

化合物 53 : 1 - { 3 - [(5 - フェニル) バレロイルアミノ] - 5 - ブロモベンゾイル } - 4 - (3 , 4 - ジクロロフェニル) チオセミカルバジド。

10

【請求項 19】

(i) 請求項 1 で定められた式 I の化合物、及び

(i i) 薬剤として許容できる基剤、希釈剤又は賦形剤からなる薬剤組成物

【請求項 20】

20

さらに毛髪成長促進剤、脱毛抑制剤、抗生物質、ふけ症防止剤、抗炎症剤、殺シラミ剤、止痒剤、麻酔薬、角質溶解剤、抗脂漏剤、抗坐瘡剤及び毛染剤からなる群から選ばれた添加剤を含む請求項 19 の薬剤組成物

【請求項 21】

化合物をサイクロフィリン型イムノフィリンに接触させることにより、該化合物が請求項 1 記載の式 I のものである。サイクロフィリン型イムノフィリン蛋白へ結合させる化合物の使用法

【請求項 22】

該化合物のサイクロフィリン型イムノフィリンへの接触がインビトロで起こる請求項 21 の方法

30

【請求項 23】

該化合物のサイクロフィリン型イムノフィリンへの接触がインビボで起こる請求項 21 の方法

【請求項 24】

該化合物のサイクロフィリン型イムノフィリンへの接触が動物に投与後に起こる請求項 23 の方法

【請求項 25】

該化合物のサイクロフィリン型イムノフィリンへの接触が細胞内で起こる請求項 22 の方法

【請求項 26】

40

該化合物のサイクロフィリン型イムノフィリンへの接触が細胞のない製剤内で起こる請求項 22 の方法

【請求項 27】

請求項 1 の式 I の化合物とサイクロフィリン型イムノフィリンの複合体

【請求項 28】

サイクロフィリン型イムノフィリンがヒトである請求項 27 の複合体

【請求項 29】

請求項 1 の式 I の化合物の薬剤的に有効な量を動物に投与することによりなる、請求項 1 の式 I の化合物の使用法

【請求項 30】

50

動物が神経性疾患があると診断され、それに罹りやすい状態にあり、あるいはそれがあると疑われるものである請求項29の方法

【請求項31】

神経性疾患を有する患者に請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体の治療に有効な量を投与することによりなり、該神経性疾患が神経変性疾患、神経障害疾患、神経血管疾患、脳、脊髄もしくは末梢神経系の外傷性損傷、中枢もしくは末梢神経系の脱髄疾患、中枢もしくは末梢神経系の代謝もしくは遺伝性代謝障害又は中枢もしくは末梢神経の毒素誘発性もしくは栄養関連疾患である、神経性疾患を有する患者の治療方法

【請求項32】

神経変性疾患がパーキンソン病、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、ハンチンソン病、小脳性失調症又は多系統萎縮症である請求項31の方法 10

【請求項33】

脱髄疾患が多発性硬化症、ギラニーバレー症候群又は慢性炎症性脱髄多発性根神経症である請求項31の方法

【請求項34】

神経血管疾患が全脳虚血症、脊髄虚血症、虚血性発作、心原性脳塞栓症、出血性発作、小窩性梗塞、又は多発性梗塞症候群である請求項31の方法

【請求項35】

中枢又は末梢神経系の外傷性損傷が震盪症、挫傷、びまん性軸索症、浮腫、頭蓋脳又は脊髄の外傷に関連する血腫、末梢神経もしくは叢の裂傷、圧迫、引伸し、もしくは剥離に関連する軸索もしくは神経鞘の損傷、又は手術中に起こる神経組織の損傷である請求項31の方法 20

【請求項36】

手術が前立腺の手術であり、神経組織の損傷が骨盤の神経節の大部分又は海綿状神経に対するものである請求項35の方法

【請求項37】

神経障害疾患が、糖尿病性神経障害、尿毒症性神経障害、薬治療関連の神経障害又はウイルス感染症関連の神経障害である請求項31の方法

【請求項38】

代謝障害がてんかん重積持続状態、低血糖による昏睡又はウイルソン病である請求項31の方法 30

【請求項39】

請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体の薬剤としての有効量を動物に投与することによりなる神経性疾患の予防方法

【請求項40】

請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体の有効量を哺乳動物に投与することによりなる、哺乳動物の毛髪の成長を刺激し、脱毛を防止しあるいは脱毛を抑制する方法

【請求項41】

前記哺乳動物が癌の化学療法剤の治療を受けている請求項40の方法 40

【請求項42】

前記の癌の化学療法剤がシスプラチン、カーボプラチン、サイクロホスホアミド、ダクチノマイシン、エトポシド、ヘキサメタメラミン、アイホスファミド、タキソール、ビンクリスチン、ブレオマイシン又は5-フルオロウラシルである請求項41の方法

【請求項43】

前記哺乳動物の放射線治療を受けている請求項40の方法

【請求項44】

前記哺乳動物が円形脱毛症、雄性脱毛症／男性型脱毛症、毛髪成長期の臭気、抜毛癖、牽引脱毛又は毛髪休止期の臭気に罹っている請求項40の方法

【請求項45】

前記哺乳動物がメトトレキセート、非ステロイド性抗炎症剤又はベータブロッカーによる治療を受けている請求項40の方法

【請求項46】

ミトコンドリアを請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体をミトコンドリアと接触させることよりなる、ミトコンドリアの透過転移孔のブロック方法

【請求項47】

酸化性ストレスを受けている細胞を請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体をミトコンドリアと接触させることよりなる、酸化性ストレスを受けている細胞のミトコンドリア代謝の破壊を抑制する方法

【請求項48】

カルシウムの過負荷を受けている細胞を請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体をミトコンドリアと接触させることよりなる、カルシウムの過負荷を受けている細胞の細胞死を防止しあるいは遅らせる方法

【請求項49】

細胞、組織又は臓器に請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体を接触させることよりなる、興奮毒性又は低血糖症の該細胞、組織又は臓器への傷付を予防し、緩和し又は遅らせる方法

【請求項50】

細胞に請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体を接触させることよりなる、プログラム細胞死の生理的誘発をもたらす哺乳動物の細胞のエネルギー代謝の破壊と細胞死を抑制する方法

【請求項51】

細胞に請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体を接触させることよりなる、大規模又は営業規模での細胞培養における培養細胞の死を防止しあるいは遅らせる方法

【請求項52】

哺乳動物に請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体の有効量を投与することよりなる、該哺乳動物の虚血性疾患又は虚血症／再灌流疾患の治療又は予防方法

【請求項53】

前記虚血性疾患又は虚血症／再灌流疾患が腸間膜梗塞、結腸虚血症、肝臓梗塞、腎臓梗塞、脾臓梗塞又は虚血性心臓病である請求項52の方法

【請求項54】

前記虚血性心臓病がうっ血性心不全、心筋虚血症、又は冠状動脈性心疾患である請求項53の方法

【請求項55】

哺乳動物に請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体の治療に有効な量を投与することよりなる、哺乳動物の眼の疾患の治療方法

【請求項56】

前記眼の疾患が緑内障、虚血性網膜症、血管性網膜症又は光受容体細胞層の退化である請求項55の方法

【請求項57】

ライ症候群患者に請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体の治療に有効な量を投与することよりなる、ライ症候群患者の治療方法

【請求項58】

臓器移植手術に用いられる臓器に、請求項1の式Iの化合物又は薬剤として許容できるその誘導体を接触させることよりなる、臓器移植手術に用いられる臓器の組織の損傷を防止しあるいは減少させる方法

【請求項59】

病原性原生動物又は蠕虫である寄生虫に請求項1の式Iの化合物を接触させることよりなる、病原性原生動物又は蠕虫である寄生虫の感染又は侵入の治療方法

10

20

30

40

50

【請求項 60】

動物に請求項 1 の式 I の化合物又は薬剤として許容できるその誘導体の治療に有効な量を投与することによりなる、該動物への病原性原生動物又は蠕虫である寄生虫の感染の治療方法

【請求項 61】

前記の感染がマラリア、回旋糸状虫症、リンパ腺糸状虫症、腸線虫感染、サナダムシ感染、蟯虫感染、トキソプラズマ症、リーシュマニア症、トリパノソーマ症、又は住血吸虫である請求項 60 の方法

【請求項 62】

哺乳動物に、請求項 1 の式 I の化合物又は薬剤として許容できるその誘導体の治療に有効な量を投与することによりなる、哺乳動物のウイルス感染の治療方法 10

【請求項 63】

前記のウイルス感染がヒト免疫不全症ウイルス感染である請求項 62 の方法

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、サイクロフィリン (C y P) 型イムノフィリン蛋白に対して親和性を有する、新規な非ペプチド性小分子有機化合物に関する。本発明は、さらに、C y P 型蛋白に結合し、それらのペプチジルプロリルイソメラーゼ活性を抑制し、そして、多種類の医療における研究、開発、治療への応用へのこれらの化合物の用途に関するものである。 20

【背景技術】

【0002】

イムノフィリンは、ある種の免疫抑制剤に結合する能力によって機能的に特徴づけられた蛋白のグループである。イムノフィリンは、構造と薬理から、F K 5 0 6 結合性蛋白 (F K B P s) とサイクロフィリン (C y P) 蛋白の 2 つのクラスに分けられる。これらの 2 つの蛋白グループの基本型である F K B P 1 2 とサイクロフィリン A はいずれも免疫抑制を媒介する細胞機構に含まれるものであるが、それらはマクロライド抗生物質である F K 5 0 6 とラバマイシンに結合する F K B P グループのメンバーと、一方サイクリックウンデカペプチドであるサイクロスポリン A (C s A) に結合する C y P グループのメンバー、という全く異なるタイプの免疫抑制剤に対して選択的な親和性を発揮する。 30

【0003】

全ての免疫抑制剤に共通なのは、免疫システムの細胞における細胞内シグナルカスケードを阻害する能力である。F K 5 0 6 と C s A の場合には、これらの医薬のそれぞれのレセプター蛋白である F K B P 1 2 とサイクロフィリン A への結合は、細胞内ホスファターゼカルシニューリンの医薬レセプター複合体への架橋をもたらす。このカルシニューリンの失活は、最終的にはシグナル蛋白である N F A T (活性化 T 細胞の核因子) を含むリン酸化カルシニューリン基質の蓄積を導く。N F A T は、免疫応答の T 細胞活性化プログラミングに含まれる遺伝子の調節と転写の活性化において重要な役割を果たす。カルシニューリン活性がないと、T 細胞活性化カスケードは、リン酸化状態にある N F A T が細胞核に転座できないので阻止される。 40

【0004】

免疫系におけるその効果は別にして、C s A は中枢神経系において生物学的な活性があることを示した。脳卒中のきつ歯動物モデル実験では、C s A の組織への治療によって内側大脳動脈の梗塞の前後を問わず梗塞サイズの減少をもたらしている [T. Y o s h i m o t o 及び B. K. S i e s j o, B r a i n R e s., 8 3 9, p p 2 8 3 - 9 1 (1 9 9 9)]。C s A はまた、一過性の全体的な前脳虚血症の後の海馬形成にみられるアセチルコリン受容体の疾患から保護し [Y. K o n d o ら, N e u r o c h e m, R e s., 2 4, p p 9 - 1 3 (1 9 9 9)]、インシュリンが誘発する低血糖による昏睡 [H. F r i b e r g ら, J. N e u r o s c i., 1 8, p p 5 1 5 1 - 9 (1 9 9 8)]、外傷性脳障害 [P. G. S u l l i v a n ら, E x p, N e u r o l., 2 0 0 0 F e b 50

；161, 631-7 (2000)」、及びドパミンニューロン変性実験 [K. Matsuuraら, *Exp. Neurol.*, 146, 526-351 (1997)]、の動物モデルにおいてニューロン保護効果が明らかにされている。CsAが神経の障害の後に保護効果を発揮するためには、傷害の部位に取入れ可能でなければならない。しかしながら、血脳関門のために、CsAは組織に投与されたときに脳へはごく限られた量が入りうるだけであり、それが最も効果を発揮するのは血脳関門に欠陥があらわれたときである [H. Uchinoら, *Brain Res.*, 812, pp 216-26 (1998)；P. G. Sullivanら, *Exp. Neurol.*, 161, pp 631-7 (2000)]。

【0005】

一方、本発明は特定の理論に縛られるものではなく、少なくとも神経系細胞へのCsAの何らかの効果がカルシニューリン抑制と独立して起こるものと思われる。本発明者のある者が、カルシニューリン結合領域が欠如しているCsAの非免疫抑制性ペプチド類縁体が神経細胞培養において神経親和活性を発揮し、これがCsAのものと同じであることを見出した [J. P. Steinerら, *Nat. Med.*, 3, pp 421-8 (1997)]。

【0006】

サイクロフィリンA, B, C, D及びサイクロフィリン-40という多くの種類の哺乳動物のサイクロフィリンが同定され、クローン化された [Snyder及びSabatini, *Nat. Med.* 1:32-37 (1995)；Friedmanら, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90:6815-6819 (1993)]。サイクロフィリンBは、当該細胞の小胞体への転座を指図するN末端シグナル配列を有している。23 kDのサイクロフィリンCは細胞の細胞質ゾル内に見出される。18 kDのサイクロフィリンDはミトコンドリアにおけるその作用をターゲットとしているように思われ、そして、サイクロフィリン-40は不活性型グルココルチコイド受容体の成分である。サイクロフィリンAは各種の細胞に多量に発現される19 kDの蛋白である。他のサイクロフィリンと同様に、サイクロフィリンAも免疫抑制剤であるCsAに結合するばかりでなく、ペプチジルプロリンシスートランスイソメラーゼ (PPiase) と蛋白抱持又は“シャペロン”活性を有している。PPiase活性は蛋白におけるプロリン残基のシスからトランス配座への転換を触媒する [Fischerら, *Biomed. Biochem. Acta* 43:1101-1112 (1984)]。

【0007】

サイクロフィリンAはCsAのレセプターとして最初に同定されたので、CsA：サイクロフィリン相互作用の効果は十分に証明されている。サイクロスポリンAはサイクロフィリンAに、親和性を表わす値としては比較的高い 10^{-8} mol/Lの範囲の解離定数で結合する [Handschumacherら, *Science* 226:544 (1984)]。医薬と蛋白との相互作用に関する知識によって多くの医薬を発見する努力がなされてきた。最初は、投与量を制限する副作用がないがCsAに効果が似ている新規な免疫抑制薬の同定に焦点が当てられた。

【0008】

しかしながら、この分野では、中枢神経系及び身体の他の部分を含む病状、傷害及び他の異常な状態を治療するためのサイクロフィリン結合性化合物の有用性の評価が欠けている。中枢神経系の疾患の治療に用いるためには、例えば、サイクロフィリンに結合性化合物が血流から脳に入り込んでサイクロフィリンに結合し、生物化学的な効果を発揮する必要がある。しかし、サイクロスポリンAは一般に組織への投与後中枢神経系へ入り込みにくく、それ故、もし血脳関門が無傷ならばCNSへ適用できる治療能力は低いものにすぎない。前記のUchinoら；Sullivanら参照。それ故、サイクロフィリン結合性化合物を用いることによって中枢神経系及び他の臓器を含む病状、傷害及び他の異常な状態を治療するための安全で効果のある組成物及び方法論の必要性が存在している。これらの必要性は本発明が開発されるまで未解決のものであった。

10

20

30

40

50

【0009】

研究者たちは、また、H I VウイルスのG a g 蛋白に対するサイクロフィリンAの機能性会合に注目してきた〔Th a l i ら, N a t u r e, 3 7 2 : 3 6 3 - 3 6 5 (1 9 9 4) 〕。これは新しい方向での医薬開発の取組みを得たものである（例えば、米国特許第5, 7 6 7, 0 6 9 号明細書参照）。多くの研究者が、H I Vライフサイクルを破壊するためにサイクロフィリンAとG a gの間の相互作用をターゲットとする医薬の開発を模索している〔S t e r n b e r g, B i o W o r l d T o d a y 7 : 1 (1 9 9 6) 〕。

【発明の開示】

【0010】

10

発明の目的

本発明の焦点は、サイクロフィリン蛋白と相互作用し、親和性を有し、そして結合する非ペプチド性小分子化合物に合わされている。サイクロフィリンとC s Aとが結合する相互作用の研究によって、本発明者らはサイクロフィリンと相互作用する多数の新規な小分子有機化合物を設計し、かつ確認し、それに基づいて本発明者らは同様な活性のある化合物の群を迅速に同定するスクリーニング方法を開発し、利用することができた。これらの化合物は、神経系の細胞の成長と再生に効果を示し、そしてこの細胞をそうでなければ死に至らせる化学的な障害から保護することが実験で明確に示された。これらの化合物は、神経学上の障害を含む各種の医療状態への治療、研究及び開発への応用を含む数多くの方法に用いることができる。

20

【0011】

この発明は、こうしてC y P蛋白と結合する化合物を提供するものである。この発明の化合物は、好ましくは、免疫系を抑制せず、そして、好ましくは、F K B Pへの結合を含んでいない。すなわち、これらの化合物は5 0 0 n Mより大きいI C₅₀でF K B Pのペプチジルプロリルイソメラーゼ活性を抑制するものである。C y Pへの結合を決定する多数の方法とこの結合をインビトロ及びインビボで利用するやり方の方法と用途が提供される。好ましい化合物は、神経細胞の成長を促進しあるいはそれに影響を与え、障害を受けあるいは病気になったニューロンを再生し、あるいはニューロンもしくは神経細胞の障害に続く死や変性から保護する機能を発揮する。さらに、本発明の態様は、ほかのC y P結合性化合物を同定しそして単離する方法や、この化合物のほかの用途に用いることができる。

30

【0012】

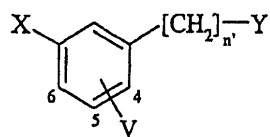
本発明はまた、これらの化合物をイムノフィリン蛋白と接触させることよりなる用途を含む数多くの用途を提供するものでもある。この方法は各種の変更を工夫することができる。特に、これらの化合物は、培養されているあるいは動物の体内の神経細胞の成長あるいは有害な刺激への抵抗力へ影響を与えるのに用いることができる。

発明の要約

【0013】

一つの態様では、本発明は、下記に示す式Iの化合物を提供するものである。

【化1】



式 I

40

【0014】

式中、Vは4、5又は6位に結合され、そしてC₁-C₄アルキルオ

50

キシ、 C_1-C_4 アルキル、Qで置換されていてもよい C_2-C_4 アルケニルオキシ、 C_1-C_4 アルコキシカルボニル、アミノ又は C_1-C_4 アルコキシカルボニルアミノで置換されていてもよい C_1-C_6 アルキルカルバモイル、ジ- (C_1-C_4 アルキル) カルバモイル、 C_1-C_4 アルカノイル、Q置換 C_1-C_6 アルキル、アルケニル又はアルキニル、 $CO-W$ 及び- $(CH_2)_n-W$ よりなる群から選ばれたものであり、

そこでは、WはQ、 $-Z'-(CH_2)_m-Q$ 、 $-N=CH-(CH_2)_m-Q$ 、 $COOCH_3$ 、 $COCH_3$ 、ヒドロキシル、メルカプチル、アミノ、ニトロ、ハロ、カルキボシ、トリフルオロメチル、又はアミノもしくは C_1-C_4 アルコキシカルボニルアミノであり、

nとmは独立に0-4であり、

n'は0-3であり、

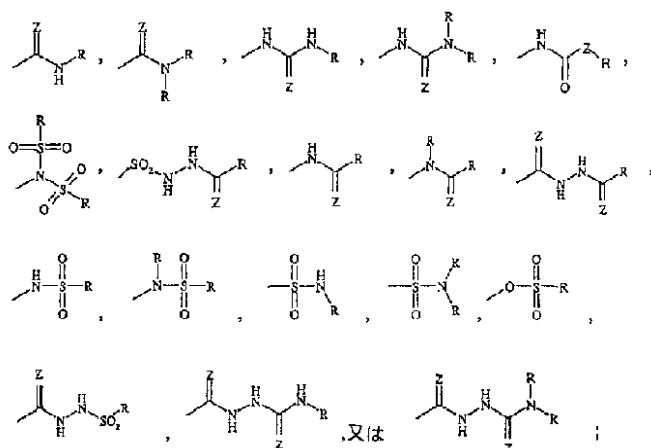
Z'はO、S、NH又はNRであり、

10

【0015】

そこでは、XとYは同一又は異なって、そして独立に、

【化2】

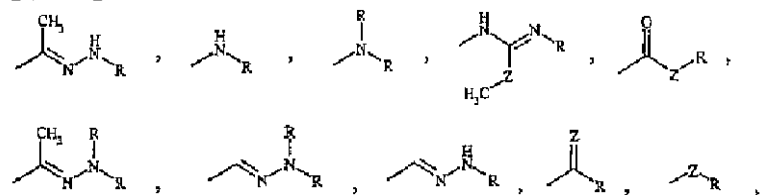


20

【0016】

そして、そこではYはさらに、Q、

【化3】



30

【0017】

もしくは、一もしくははいくつかの位置がQで置換され、そしてさらに一もしくははいくつかの位置がヒドロキシル、メルカプチル、もしくはカルボニル酸素で置換されていてもよい、 C_1-C_6 連鎖もしくは分岐鎖のアルキル、アルケニルもしくはアルキニルであって、

ZはOもしくはSであり、

40

そして、Rは独立に、

Q、

【0018】

もしくは、一もしくははいくつかの位置がQで置換され、そしてさらに一もしくははいくつかの位置がヒドロキシル、メルカプチル、もしくはカルボニル酸素で置換されていてもよい、 C_1-C_6 連鎖もしくは分岐鎖の低級アルキル、アルケニルもしくはアルキニルであって、そして一以上の炭素原子がO、N、NH、S、SO、もしくは SO_2 で置換されていてもよく、

【0019】

そして、そこでは、Qは飽和、部分飽和もしくは芳香族の単環、二環もしくは三環の炭素

50

環もしくは複素環であって、個々の環のサイズは5-6員環であり、もし存在するのであれば、O、N及びSよりなる群から独立に選ばれた1-4個の異種原子を如何なる化学的に安定な順序及び酸化状態で含んでおり、

【0020】

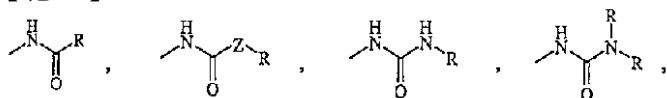
そして、Qは一もしくはいくつかの位置が、ハロ、ヒドロキシル、メルカプチル、ニトロ、トリフルオロメチル、アミノカルボニル、アリールがハロゲン化されそしてトリフルオロメチルもしくはシアノで置換されていてもよいアリールアミノカルボニル、 C_1-C_4 アルキルスルホニル、 C_1-C_4 アルキルチオ、オキシ、シアノ、カルボキシ、 C_1-C_4 アルキルもしくはアルケニル、 C_1-C_4 アルコキシ、 C_1-C_5 アルコキシカルボニル、 C_1-C_4 アルケニルオキシ、フェノキシ、フェニル、シアノフェニル、ベンジルオキシ、ベン

10

【0021】

但し、XとYが

【化4】



又は、これらの組合せであって、

20

n' が0で、

n が0で、

Vがハロ、ヒドロキシル、ニトロ、トリフルオロメチル、 C_1-C_4 アルコキシもしくはアルケニルオキシ、フェノキシ、ベンジルオキシ、アミノもしくはQである場合には、

【0022】

RはQ又はQで置換された C_1-C_3 分岐もしくは直鎖アルキルではない。

【0023】

本発明のこの態様における好ましい化合物は5位がVで置換されたものである。好ましくは、Vは $-(CH_2)_n-Z'-(CH_2)_m-Q$

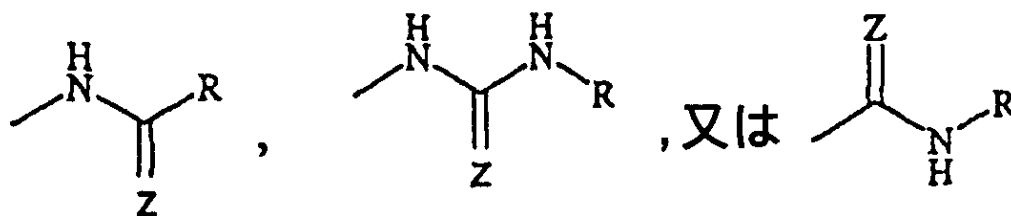
又はQ置換 C_1-C_6 直鎖又は分岐鎖のアルキル又はアルケニルである。

30

【0024】

好ましい化合物はさらに、 n' が0であって、XとYが独立に、

【化5】



40

であるものである。

【発明を実施するための最良の形態】

【0025】

本発明の化合物は式Iから選択して用いることができる。特定の化合物か出発して、R、X、Y、Z、Z'、Q、Vの個々の可変基と n 、 n' 及び m の値のいずれも選択することができ、一方、一以上の他の可変基を変えることができる。例えば、式Iにおいて、Vを5位に結合させてこれを $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_m-Q$ とし、この化合物のカブグループとして、少なくともQ基の一つがアミン結合を介して結合している、共通の1, 3, 5-置換パターンを有しているものを選択することができる。

50

【0026】

こうして求められたサブグループはいずれも、許されるXとYの組合せによって、そして、XとYが互いに似ておりあるいは異なることの要求によって、そして、例えばRがQであること、あるいはRがQ置換のアルキル、アルケニル又はアルキニルであること、そして、全てのQ置換基が同じでありあるいは異なっていることの要求によって、さらに化合物を別のサブグループに分けることができる。このプロセスは、これらの可変基のいずれかあるいはその組合せを用いることによって繰返すことができる。この方法では、当業者は本発明の範囲内の全ての関連化合物のグループを、あるいは個々の化合物であっても、選択しそして使用することができる。後で多くの例が示されるが、それらは単に可能な変更と修飾の範囲の代表例にすぎない。当業者は式Iの記述からだけでも多くの別の化合物

10

【0027】

この明細書における、一般的用語である“アルキル”、“アルケニル”又は“アルキニル”は、直鎖と分岐鎖の飽和又は不飽和基の両方を含んでいる。“アリアルアミノカルボニル”などの用語における“アリアル”は一般にフェニル、ナフチル、ピロリル、ピロリジニル、ピリジニル、ピリミジニル、プリニル、フリル、イミダゾリル、キノリニル、オキサゾリル、チアゾリル、ピラゾリル及びチエニルを意味している。“アルキルオキシ”又は“アルコキシ”は、例えばメトキシやエトキシのような基を指しており、“アルコシカルボニル”は、例えばメチルエステルやブチルエスエルのような基を指しており、“C₁—C₆アルキルカルバモイル”と“ジ(C₁—C₄)アルキルカルバモイル”は、例えばエチルカルバモイルやジエチルカルボモイルのようなアミド結合を経由して飽和又は不飽和の炭素鎖に結合していることを指しており、“C₁—C₄アルコシカルボニルアミノ”は例えばtert-ブトキシカルボニルアミノ(C₄H₉)—O—CO—NH—などの基を接しており、“アリアルアミノカルボニル”はフェニルアミノカルボニル(C₆H₅)—NH—CO—のような基を指しており、“C₁—C₄アルカノイル”は、例えばホルミルやアセチルのような基を指しており、“C₆アルキルアミノ”は、例えばヘキシルアミノのよ

20

【0028】

式Iの化合物は、医薬及び組織又は細胞培養への用途を含むいくつかの用途に塩又は誘導体として調製しあるいは処方してもよい。ここに用いられている本発明のCyP結合性化合物は薬剤として許容できる誘導体を含むことが定められている。“薬剤として許容できる誘導体”とは、本発明の化合物あるいは他のいかなる化合物の薬剤として許容できる塩、エステル、チオエステルあるいはこのエステル又はチオエステルの塩であって、動物又はヒトの患者への投与時に、この発明の化合物、又はCyPに結合する能力及び／又は病気の治療又は予防の有効性によって特徴づけられたその代謝産物あるいは残基を提供できるものを表わしている。本発明のこの態様の範囲内の病気の例を後で示す。本発明の化合物はまた、式Iの1以上の化合物よりなる組成物の一部であることができる。

30

【0029】

本発明の化合物は、異性体又はラセミ混合物として、あるいは光学的に純粋な化合物として製造することができる。この業界で知られている立体異性体の分離方法を、混合物に含まれる1以上の化合物の量を豊富にするために用いることもできる。本発明の組成物も同様に、立体異性体の混合物、1以上の立体異性体の混合物、又は1以上の立体異性体を豊富にしたものを含んでいてもよい。これらの形態は全てこの発明に明確に含まれており、そして特許請求の範囲に含まれるものであることが意図されている。

40

【0030】

式Iの好ましい化合物は、例えばCyPのペプチジルプロリルシスートランスイソメラーゼ酵素活性(PPiase)の測定可能な阻害によって検出されるCyPに選択的に結合するものである。“CyPに選択的に結合する”とは、その化合物がFKBPに対し有意な結合親和性を有しておらず、及び／又はFKBPへの結合に関係する生物学的な活性を有していないことを意味する。例えば、FKBPに対するIC₅₀は500nM以上である

50

。当業者はC y PとF K B Pにおけるロタマーゼ阻害の検出方法をよく知っている。さらに、C y Pへの結合を検出する多数の方法を後述する。

【0031】

式 I から容易に明らかであるように、少なくとも2つの炭素環又は複素環基が直鎖又は分岐鎖の組合せによって中央の三置換フェニル環に結合しているという共通の置換パターンが存在する。この共通のパターンは、以前に他のイムノフィリン結合性化合物や医薬の同定で取られたアプローチとは異なっている。例えば、H o l t ら (B i o o r g . M e d . C h e m . L e t t e r s , 4 : 3 1 5 - 3 2 0 (1 9 9 4)) は F K B K に結合する基本構造を含むものとしてピペコレートや1- (1 , 2 - ジオキソ) 2 - カルボキシレートピペリジンについて論じている。同様に、本発明者らの以前の研究では、F K B P に結合する構造を含むものとして、1- (1 , 2 - ジオキソ) 2 - ピロリジンの関連性を確立した (S t e i n e r ら , P N A S 9 4 : 2 0 1 9 - 2 0 2 4 (1 9 9 7)) 。多分、これらの構造はペプチジルプロリルイソメラーゼ (P P I a s e) 活性に対する自然の基質である蛋白のプロリン含有フラグメントに似せたものである。蛋白では、アミノ酸のプロリンが1, 2-置換ピロリジン構造に相当する。以前の研究では一般はこの構造が組込まれていた。しかしながら、式 I は1, 2-置換ピロリジン構造に対応していない。さらに、ここに示す如く、この式の化合物は重要な生物活性そして生化学作用を有している。

10

【0032】

研究の主体は、本発明の化合物が従来の研究とさらに隔たりのあるサイクロスポリンA、F K - 5 0 6 及びラパマイシンの類縁体に関するものであった。(例えば、米国特許第5, 7 6 7, 0 6 9 号、第5, 2 8 4, 8 2 6 号、第4, 7 0 3, 0 3 3 号、及び第5, 1 2 2, 5 1 1 号各明細書参照。) これらの類縁体は一般に環状ペプチド構造を有している。

20

【0033】

別の態様では、本発明は、非ペプチド性化合物をサイクロフィリン型イムノフィリンに結合させる方法に関する。一方、本発明は、この理論に縛られるものではなく、結合がP P I a s e 阻害剤のインビボでの免疫抑制と神経栄養の活性における活性剤であると考えられる“イムノフィリン：医薬”複合体をもたらすという仮説に立っている (H a m i l l t o n 及び S t e i n e r , J . o f M e d . C h e m . 4 1 : 5 1 1 9 - 5 1 4 3 (1 9 9 8) ; G o l d , M o l . N e u r o b i o l . 1 5 : 2 8 5 - 3 0 6 (1 9 9 7)) 。この複合体がこれらのP P I a s e 阻害剤の治療作用のいずれかあるいは全てに働くか否かは、イムノフィリン：医薬相互作用へ向けられた焦点が多数の新しい医薬組成物の発見につながるか否かにかかっている。従って、式 I のような化合物を用いてイムノフィリン：化合物複合体あるいはC y P：化合物複合体を生み出す方法はこの発明の重要な態様をもたらす。この態様は、例えばこの化合物もしくは1以上の本発明の化合物よりなる混合物又は1以上の本発明の化合物よりなる薬剤組成物を培養物内の細胞あるいは動物に投与する方法に利用できる。

30

【0034】

一方、このイムノフィリン：化合物複合体は培養細胞にインビボ及びインビトロでの有益な効果を有しており、この化合物をイムノフィリンに結合させる多くの他の用途がある。例えば、この化合物を担持したアフィニティークロマトグラフィーのカラムやマトリックスはC y Pと反応し、C y Pを含む細胞や組織の抽出物はこのカラムやマトリックスを通過するであろうことから、さらに、インビトロでの結合実験を、細胞のない環境でのイムノフィリン複合体と相互作用する細胞成分の同定や精製に用いることができる。

40

【0035】

こうして、本発明はまた、イムノフィリン：化合物又はC y P：化合物複合体自身はもとより、これらの複合体を形成する方法を提供するものでもある。これらの複合体を形成するには、該化合物をインビボで、細胞又は組織培養で、あるいは無細胞製剤中で、イムノフィリン又はC y P蛋白と接触させればよい。好ましい態様では、この化合物をC y P A, B, C, D 又は-40の1以上のヒトC y P蛋白と接触させる。このC y P蛋白

50

は、天然の細胞もしくは生物、リコンビナントDNAを経由して製造され、導入された遺伝子物質を含む他の操作によって製造され、あるいは合成手段で製造されたものでよい。さらに、イムノフィリンリガンドに結合する機能を有するイムノフィリン領域を有するキメラ蛋白もまた蛋白：化合物複合体を形成させるのに使用することができる。このCyP：化合物、イムノフィリン：化合物又は蛋白：化合物複合体は不可逆的である必要はない。

【0036】

化合物のCyPへの結合は、PPase阻害アッセイ、アフィニティークロマトグラフィー、インビボでのニューロン保護又はニューロン再生活性アッセイ、インビトロでの神経栄養活性アッセイ、又は後述する、実施例に、あるいは引用した参考文献に記載された、神経系の神経細胞あるいは細胞での何らかの活性による、等を含む多くの手段で検出することができる。

10

【0037】

この発明はまた、式Iの少なくとも1つの化合物よりなる組成物を提供する。この組成物は、薬剤として許容できる1以上の基剤、賦形剤又は希釈剤を含んでいてもよい。これらの組成物、又は化合物自身、又は上記の化合物あるいは組成物の混合物は動物に投与することができる。投与は、この化合物を動物の内部でCyPと接触させる方法でよい。当業者が認識している各種のルートでの投与が可能である。このルートの例は後に詳細な記述がある。

【0038】

式Iの化合物、又はそれらを含む組成物は、神経細胞を再生し、神経突起の派生を促進し、そしてそうでなければ損傷を生じる処理や状態から神経を保護する機能を発揮することができる。こうして、本発明の化合物と組成物は、ヒトを含む動物の神経性状態の診断、治療、緩和、治療あるいは予防に、そして、神経変性剤にさらされているあるいは神経系細胞が損傷を受けている動物（ヒトを含む）に有用である。このような状態や疾患は、ヒトを含む動物に存在しているときには、神経変性疾患、神経障害患者、神経血管疾患、脳、脊髄もしくは末梢神経系の外傷性損傷、中枢もしくは末梢神経系の脱髄疾患、中枢もしくは末梢神経系の代謝もしくは遺伝性代謝障害又は中枢もしくは末梢神経の毒素誘発性もしくは栄養関連疾患でありうる。ヒトに存在している場合には、神経変性疾患はパーキンソン病、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、ハンチンソン病、小脳性失調症又は、例えばオリブ橋小脳変性疾患、線条体黒質変性疾患、進行性核上麻痺、シャイードレーガー症候群、脊髄小脳変性疾患及び皮質基底変性疾患を含む多系統萎縮症でありうる。脱髄疾患は、例えば、多発性硬化症、ギラニーバレー症候群又は慢性炎症性脱髄多発性根神経症であることができる。神経血管疾患は、例えば、全脳虚血症、脊髄虚血症、虚血性発作、心原性脳塞栓症、出血性発作、小窩性梗塞、多発性梗塞による痴呆を含む多発性梗塞症候群あるいは中枢神経系の虚血症あるいは虚血症／再灌流傷害に基づくいかなる疾患であることができる。中枢又は末梢神経系の外傷性損傷が、例えば震盪、挫傷、びまん性軸索症、浮腫、及び頭蓋脳又は脊髄の外傷に関連する血腫、又は、末梢神経もしくは叢の裂傷、圧迫、引伸し、もしくは剥離に関連する軸索もしくは神経鞘の損傷であることができ、さらに手術例えば前立腺の手術中に起こる神経の損傷が含まれる。神経障害疾患は、糖尿病性神経障害、尿毒症性神経障害、治療関連の神経障害、例えばフェニトイン、スーラミン、タキソール、サリドマイド、ビンクリスチン又はビンブラスチンによるもの、又は感染症関連の神経障害／脳障害、例えばHIV、ルベラウイルス、イブスタインバーウイルス、単純ヘルペスウイルス、トキソプラズマ症、プリオン感染症に関連する脳障害等であることができる。代謝障害は、例えばてんかん重積持続状態、低血糖による昏睡又はウイルソン病であることができる。

20

30

40

【0039】

次の詳細な記述は本発明の範囲を制限するものではなく、与えられた全ての実施態様及び実施例は単に本発明を説明しているに過ぎないものである。本発明のさらなる態様は、この開示全体と、明細書を通じて及びその末尾に引用され、表にされた、あるいは当業者の

50

知っている参考文献の組合せから工夫することができる。引用され、表にされた参考文献は全て本発明のさらなる態様をつくりそして用いるのにそれらの全体を利用することができる。

【実施態様の詳細な説明】

【0040】

当業者は、ここで論じられる公知の技術あるいはそれと同等の技術の詳細な説明を一般文献の原文に求めることができる。これらの原文には、Current Protocols in Molecular Biology [Ausubel, ら, eds., John Wiley & Sons, N.Y., 及び2001年5月までの増補版]、Current Protocols in Immunology [Coliganら, eds., John Wiley and Sons, N.Y., 及び2001年5月までの増補版]、and Current Protocols in Pharmacology [Ennaら, eds., John Wiley & Sons, N.Y., 及び2001年5月までの増補版]、例えば、それら全体のなかに特に参考文献として組込まれているものが含まれる。これらの原文もまた、本発明の態様をつくり、用いるのに参照することができる。

10

【0041】

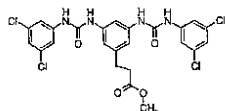
前述のように、サイクロスポリンAはCyPと結合することが明らかにされた最初の化合物である。サイクロスポリンAの環状構造に基づいて、多くの大きな、通常は環状のペプチドがCyPに結合する免疫抑制化合物として開発された。今や、本発明者らは神経細胞においてCyPに結合する活性を有する非ペプチドクラスの化合物を見出した。次の化合物はそれらのテストを行った代表的なものである。

20

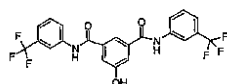
【0042】

【化6】

化合物 #1

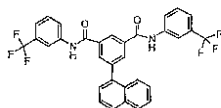


化合物 #2

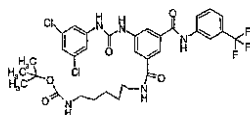


30

化合物 #3



化合物 #4

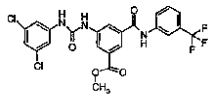


40

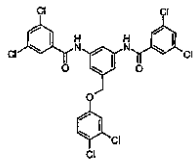
【0043】

【化7】

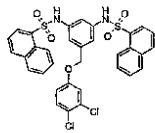
化合物 # 5



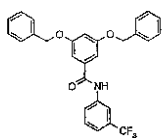
化合物 # 6



化合物 # 7



化合物 # 8



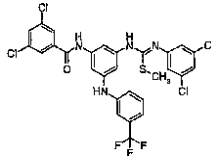
10

20

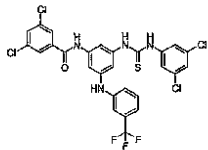
【 0 0 4 4 】

【 化 8 】

化合物 # 9

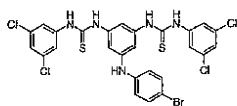


化合物 # 1 0

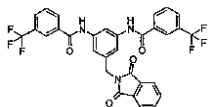


30

化合物 # 1 1



化合物 # 1 2

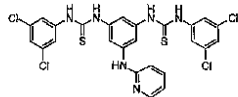


40

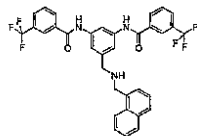
【 0 0 4 5 】

【 化 9 】

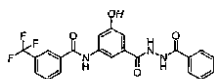
化合物 # 13



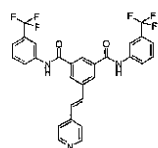
化合物 # 14



化合物 # 15



化合物 # 16



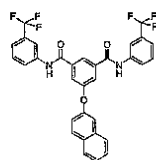
10

20

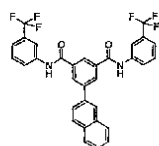
【 0 0 4 6 】

【 化 1 0 】

化合物 # 17

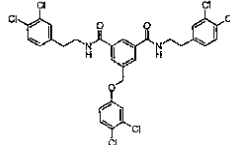


化合物 # 18

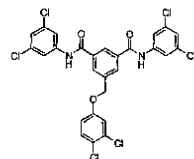


30

化合物 # 19



化合物 # 20

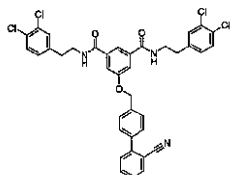


40

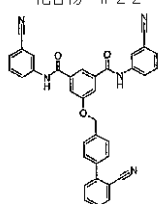
【 0 0 4 7 】

【 化 1 1 】

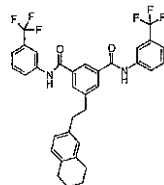
化合物 # 2 1



化合物 # 2 2



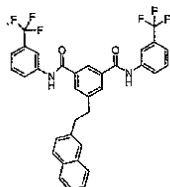
化合物 # 2 3



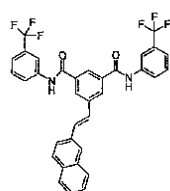
【 0 0 4 8 】

【 化 1 2 】

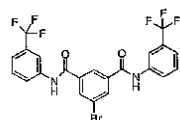
化合物 # 2 4



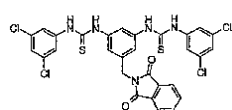
化合物 # 2 5



化合物 # 2 6



化合物 # 2 7



【 0 0 4 9 】

【 化 1 3 】

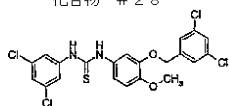
10

20

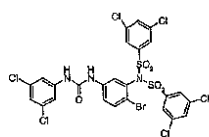
30

40

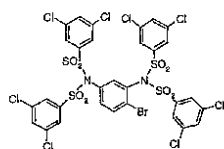
化合物 # 28



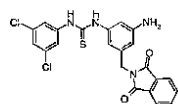
化合物 # 29



化合物 # 30



化合物 # 31



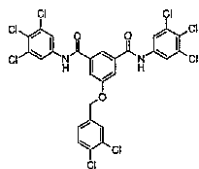
10

20

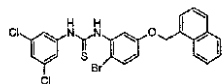
【 0 0 5 0 】

【 化 1 4 】

化合物 # 32

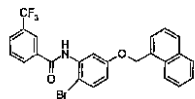


化合物 # 33

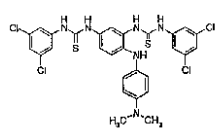


30

化合物 # 34



化合物 # 35

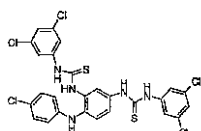


40

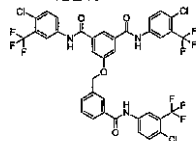
【 0 0 5 1 】

【 化 1 5 】

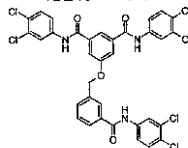
化合物 # 3 6



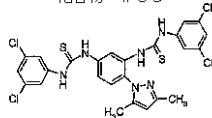
化合物 # 3 7



化合物 # 3 8



化合物 # 3 9



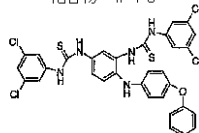
10

20

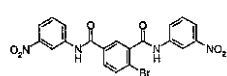
【 0 0 5 2 】

【 化 1 6 】

化合物 # 4 0

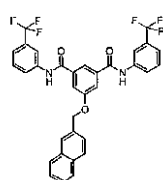


化合物 # 4 1

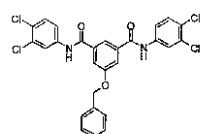


30

化合物 # 4 2



化合物 # 4 3

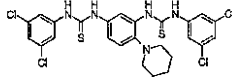


40

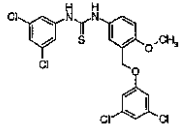
【 0 0 5 3 】

【 化 1 7 】

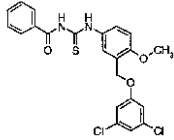
化合物 # 4 4



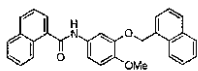
化合物 # 4 5



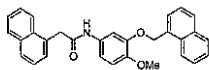
化合物 # 4 6



化合物 # 4 7



化合物 # 4 8



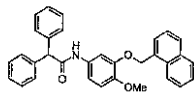
10

20

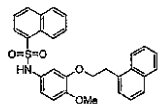
【 0 0 5 4 】

【 化 1 8 】

化合物 # 4 9

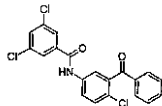


化合物 # 5 0

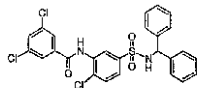


30

化合物 # 5 1

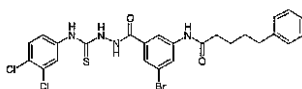


化合物 # 5 2



40

化合物 # 5 3



【 0 0 5 5 】

本発明の化合物の作製

本発明の化合物は多くの合成経路によって作製することができる。以下の実施例は反応体 50

系I-XIと個々の化合物の調製を詳細に説明するものである。しかしながら、当業者は、この実施例や反応体系における工程、反応物、反応条件を変更することによって、本発明の化合物の多数の例に到達することができる。さらに、特定の立体異性体や混合物を所望であれば、それに従ってこの作製体系における出発物質及び／又は反応物を選択して用いることができる。その代わりにあるいはそれに加えて、特定の中間体をクロマトグラフィーもしくは酵素的方法、又は反応条件の操作もしくは選択的な晶析によって精製しあるいは豊富として最終産物又は混合物を得ることができる。当業者は、所望の立体異性体又は混合物を選択的に生成させあるいは豊富化する沢山の方法をよく知っている。中間体を含む実施例の化合物は全て明らかに本発明の化合物に含まれるものであり、そして、本発明の方法に使用することができるものである。

10

【0056】

この発明の化合物として有用な合成中間体の具体例には、化合物例10の調製に用いられるN-(3-アミノ-5-{[3-(トリフルオロメチル)フェニル]アミノ}フェニル)(3,5-ジクロロフェニル)ホルムアミド；化合物例14の調製に用いられるN-(5-(2-アザ-3-ナフチルプロピ-2-エニル)-3-{[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルボニルアミノ}フェニル)[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド；化合物例23-25の調製に用いられる(3-ブロモ-5-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド；化合物例15の調製に用いられる1-{3-[(2-ナフチル)メトキシ]-5-ニトロベンゾイル}-2-ベンゾイルヒドラジン；並びに化合物例8の合成に用いられる3,5-ビス(ベンジルオキシ)安息香酸；3,5-ビス(ベンジルオキシ)安息香酸、及び3,5-ビス(ベンジルオキシ)安息香酸クロライドが含まれる。

20

【0057】

本発明の化合物は塩あるいは誘導体として作製してもよい。この分野では各種の塩と誘導体が知られており、制限なく選択しうるものには、酸塩：酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、硫酸水素塩、略酸塩、クエン酸塩、樟脳酸塩、樟脳スルホン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコエナント酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、エナント酸塩、カプロン酸塩、塩酸塩、臭素酸塩、ヨウ素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、蓼酸塩、メシレート、ジメシレート、パモエート、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアネート、トシレート及びウンデカン酸塩を含む。塩基の塩には、アミン塩、アンモニウム塩、ナトリウムや、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウムやマグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、ジシクロヘキシルアミン塩やN-メチル-D-グルコサミン等の有機塩基との塩、アルギニンやリジン等のアミノ酸との塩を含むことができる。化合物の窒素含有基は、アルキルハライド、例えば塩化、臭化又はヨウ化メチル、エチル、プロピル及びブチル等、ジアルキル硫酸塩、例えばジメチル、ジエチル、ジブチル及びジアミル硫酸塩等、長鎖ハライド、例えば、塩化、臭化又はヨウ化デシル、ドデシル、ラウリル、ミリスチル又はステアリル、アラキルハライド、例えば臭化、塩化又はヨウ化ベンジル及びフェネチル等のような試薬で4級化することができる。当業者は如何なる塩あるいは誘導体を作製し試験する方法をよく知っている。(例えば、ここで特に参考文献として取入れられているRemington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, 第18版参照)

30

40

【0058】

ニューロン又は神経系細胞での活性

一般に、特定の化合物の神経系での活性は、神経突起の派生促進、化学処理による損傷からニューロンの保護、ニューロン又はニューロン細胞の成長促進、神経系又は再生ニュー

50

ロンと関連する、失われあるいは損傷を受けた運動、機能あるいは認識能力の回復能力をアッセイすることで同定できる。これらの活性は、前述の神経状態、細胞及び視神経の傷害、聴神経障害及び前立腺手術中の神経損傷に関連する勃起機能不全を限定されることなく含む人間の多くの病状を治療し、診断し、予測するのに有用でありうる。

【0059】

沢山の動物モデルアッセイと細胞培養アッセイが開発され、上記のヒトの病気を含む病気の治療への医療関連に利用することができる。次の引例の各々がこれらのアッセイの情報源として用いることができ、そして、それらは全てこの目的のためにそれらの全体が参考資料としてここに特に組入れられている：スタイナーら，P N A S 94：2019-2024（1997）；ハミルトンら，B i o o r g a n . M e d . C h e m . L e t t . 7 10：1785-1790（1997）；マックマホンら，C u r r . O p i n . N e u r o b i o l . 5：616-624（1995）；ガッシュら，N a t u r e 380：252-255（1996）；ゲーラッハら，E u r . J . P h a r m a c o l . - M o l . P h a r m a c o l . 208：273-286（1991）；アプフェルら，B r a i n R e s . 634：7-12（1994）；ワングら，J . P h a r m a c o l . E x p . T h e r a p . 282：1084-1093（1997）；ホッファーら，J . N e u r a l T r a n s m . [S u p p l .] 49：1-10（1997）；リヨンら，P N A S 91：3191-3195（1994）；ヨシモト及びシースジョー，B r a i n R e s . , 839, p p . 283-91（1999）；コンドーら，N a u r o c h e m R e s . , 24. , p p . 9-13（1999）；フリーベルグら，J N e u r o 20s c i . , 18, p p . 5151-9（1998）；ケリバンら，E x p N e u r o l . , 2000 F e v ; 161, 631-7（2000）。

【0060】

ニューロン活性を検出する好ましい方法には、例えば化合物のグルタメート神経毒に基づく処理を保護する能力を調べる、例えば脊髄の有機典型薄片培養などのニューロン保護アッセイが含まれる。脊髄神経節（DRG）の感覚ニューロン培養もまた神経突起の派生をアルセイする神経栄養アッセイでありうる。

【0061】

培養細胞は本発明の化合物で処理してから新しい神経突起ファイバーの存在のアッセイがなされる。この化合物は、新たに分離したラット肝臓のミトコンドリアのミトコンドリア 30膨脹の大きな振幅を分光測光法で測定することにより、ミトコンドリア透過性の変化を阻止する該化合物の能力を調べることもできる〔ブロエケマイヤーら，J . B i o l . C h e m . 264：7826-7830（1989）〕。

【0062】

本発明の化合物はさらに、神経変性障害の普通のマウスモデルを使って、そのインビボでの力価と効能をアッセイすることもできる。マウスは、本発明の化合物で例えば経口あるいは皮下注射で処理し、次いで、M P T P 処理が行われる。M P T P（N-メチル-4-フェニル-1, 2, 3, 6-テトラヒドロピリジン）は、前脳突起はもとより中脳前部のドーパミン作動性ニューロンを選択的に破壊する浸透性神経毒である。当業者は、この発明の化合物で処理された、M P T P 障害マウスの中脳-前脳突起の完全無欠性を評価する 40方法をよく知っており、そして、神経繊維、神経末端あるいは中脳前部のドーパミン作動性細胞体の相対的保存は、本発明の化合物の相対的な神経保護能力の指標となるものであろう。ここで説明するアッセイでは、免疫組織化学が神経突起、末端及び細胞体を視覚化し定量することを援助することができる。

【0063】

本発明の化合物はまた、組織あるいは細胞培養の確立あるいは維持の促進に用いることもできる。ニューロン細胞成長の促進への使用と同様に、この化合物はまた、一次の、形質転換されたあるいは確立された細胞培養に添加することもできる。特にニューロン細胞の場合には、この化合物は、細胞の培養物中での成長を誘発しそして培養生存期間を延長することができる。

【0064】

CyPへの結合とその他の用途

この化合物のサイクロフィリンへの親和性を評価する認められた方法はロタマーゼ阻害アッセイである。この目的で、次の参考文献が特に言及され、そして、ロタマーゼ阻害アッセイを組立てるのに利用することができる：フィッシャーら、*Biomed. Biochem. Acta* 43:1101-1112 (1984)；コフロンら、*Biochem.* 30:6127-6134 (1991)；コフロンら、*J. Am. Chem. Soc.* 114:2670-2675 (1992)；ハリソンら、*Biochem.* 29:3813-3816 (1990)；ラングら、*Nature* 329:268-270 (1987)；マッケら、*Biochem.* 31:7848-7854 (1992)；ションブルンナーら、*J. Biol. Chem.* 266:3630-3635 (1991)；ヒューズら、*J. Am. Chem. Soc.* 112:6745-6747 (1990)；とジャスティスら、*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 171:445-450 (1990)。

【0065】

この化合物の別の用途も、CyP結合と関連するものであってもなくてもよいが、本発明の方法に含まれる。例えば、この化合物は、毛髪の成長と脱毛の遅延又は阻止に有用である。ヒトの単発の毛髪卵胞退行あるいはヒトの化学療法誘発脱毛に似ているねずみのモデルにおいては、CsAの局所塗布によって毛髪成長が誘発され、維持されることが見出され、そして、CsAの局所又は全身塗布によって、癌の化学療法剤によって引き起こされる脱毛から保護されることが見出された（例えば、マウラーら、*Am. J. Pathol.* 150(4):1433-41 (1997)；パウスら、*Am. J. Pathol.* 144, 719-34 (1994) 参照）。CsAによる毛髪成長の開始は免疫抑制とは関係がないことが推測された（イワブチら、*J. Dermatol. Sci.* 9, 64-69 (1995)）。本発明の化合物は、ドキソルビシン、カルボプラチン、シスプラチン、サイクロホスファミド、ダクチノマイシン、エトポサイド、ヘキサメタメラミン、アイホスファミド、タキソール、ビンクリスチン、プレオマイシン、5-フルオロウラシル、及び癌の治療に有用な他の薬剤で治療されている患者の脱毛を防止しあるいは遅らせるのに有用である。本発明の化合物はさらに、上記の化学療法剤の一つ又は組合せに基づいて脱毛した患者の毛髪の成長を促進するのに有用である。本発明の化合物はさらに、放射線治療を受けている患者、及び円形脱毛症、雄性脱毛症／男性型脱毛症、毛髪成長期の臭気、抜毛癖、牽引脱毛、毛髪・休止期の臭気に罹っている患者の脱毛の防止と毛髪・成長の促進、並びにメトトレキセート、非ステロイド性抗炎症剤、又はベータブロッカーのような医薬によって誘起される脱毛の防止にも有用である。

【0066】

これらの目的のために、化合物は薬剤又は化粧品組成物の一部として、単独で、本発明の他の化合物と組合せて、他の毛髪成長促進もしくは脱毛防止剤と組合せて、又は一もしくはいくつかの他の活性剤、例えば抗生物質、ふけ症防止剤及び抗炎症剤と組合せて投与することができる。

【0067】

本発明の化合物はまた、ミトコンドリア障害、代謝障害、糖尿病、失明の治療又は影響を支えるのにも有用である。ミトコンドリアは、低酸素症、虚血症、及び化学毒性での細胞死の重要な媒介者として増加が認識されている。ミトコンドリアの経膜ポテンシャルの破壊が細胞死（例えば、活性酸素種あるいはマクレオゾーム間のDNA分裂“はしご化”）の他の特徴が検出されるようになる前に観察される。これは、細胞死を誘起する沢山の異なるモデル、例えば、培養交感ニューロンのNGF欠乏状態、デキサメタゾン誘発リンパ球壊死、プログラムされたリンパ球死、T細胞ハイブリドーマの活性化誘発プログラム化細胞死、及びリンパ腫細胞の腫瘍壊死因子誘発死などに適用される〔マルチェティ、P. ら、*J. Exp. Med.* 184, 1996, 1155-1160〕。細胞死前状態の細胞におけるミトコンドリア経膜ポテンシャルの破壊は、内部ミトコンドリア膜の水分子溶

質に対する透過性を増大させる非特異高伝導性チャンネル、すなわちミトコンドリア透過性トランジション孔の形成に寄与する。ミトコンドリア内イオンの放出の確保、溶質の流出、酸化性リン酸化の脱共役、及び代謝中間体の喪失は、ミトコンドリア膨張の大きな振幅と細胞エネルギー貯蔵の涸渇を伴う〔例えば、レマスターズ, J. Jら, Mol. cell. Biochem. 174 (1997) 159-165 参照〕。重要なことは、CsAと非免疫抑制ペプチドCsA類縁体がポアの伝導性を強力にブロックし、ミトコンドリアの透過性変化の開始を阻害することが開示されていることである〔プロエケマイヤー, K. M. ら, J. Biol. Chem. 264 (1989) 7826-7830; ザムザミ, Mら, FEBS Lett. 384 (1996) 53-7〕。ミトコンドリア透過性トランジション孔は、虚血症／再灌流傷害などで起こるカルシウム過負荷状態で形成され、CsA及び／又は非免疫抑制ペプチドCsA類縁体の投与が、この透過性トランジション孔のブロックによって、脳発作〔Matsumoto, Sら, J. Cereb. Blood Flow Metab. 19 (1999) 736-41〕、心臓虚血症〔グリフィス, E. J. 及びハレストラップ, A. P., J. Mol. Cell Cardiol. 25 (1993) 1461-1469〕、及び肝臓虚血症／再灌流傷害〔レデューク, N. ら, Biochem. J. 336 (1998) 501-6〕の実験モデルで有意に保護することが見出された。本発明の化合物は、ミトコンドリア透過性トランジション孔のブロッキング、インビトロ及びインビボの両方での酸化ストレス、カルシウム透負荷、興奮毒性又は低血糖傷害で起こる細胞内でのミトコンドリア代謝の破壊の抑制、ミトコンドリア膨張の抑制、腫瘍壊死因子などのシグナル分子を通じてのプログラムされた細胞死の生理学的誘発あるいは低酸素症、低血糖症、興奮性発作あるいはカルシウム過負荷に続く哺乳動物細胞のエネルギー代謝破壊と細胞死のインビボとインビトロの両方での抑制に有用である。本発明の化合物は大規模／営業規模での細胞培養において細胞死を防止しあるいは遅らせるのに有用である。本発明の化合物はさらに腸間膜梗塞、結腸虚血症、肝臓梗塞もしくは虚血症／再灌流傷害、腎臓梗塞、脾臓梗塞、又は心臓虚血症もしくは例えば狭心症、うっ血性心不全、心筋梗塞などに関連する虚血症／再灌流傷害などの虚血傷害又は虚血症／再灌流傷害の診断、治癒、緩和、治療あるいは予防に有用である。本発明の化合物の用途には、さらにライ症候群、眼疾患、例えば緑内障、虚血性又は欠管性網膜症、光受容体細胞層の退化など、の診断、治癒、緩和、治療あるいは予防への適用が含まれる。本発明はまた、式Iの化合物を臓器に接触させることよりなる臓器移植手術に用いられる臓器の組織損傷を防止しあるいは減少させる方法も提供するものである。

【0068】

CsA及びその非免疫抑制ペプチド類縁体はまた、クリプトスポリジウム・パルバム、プラスモジウム・ファルシパラム、プラスモジウム・ビバックス、シストゾーマ種、及びトキソプラズマ・ゴンディイなどの病原性原生動物の寄生虫の成長を強力に抑制することも見出された〔パーキンスら, Antimicrob. Agents Chemother. 42: 843-848 (1998)〕、抗原生動物活性は免疫抑制あるいはPP1ase抑制活性とは関係がないように思われるが〔ベルら, Biochem. Pharmacol. 48: 495-503 (1994); カタブら, Exp. Parasitol. 90: 103-109 (1998)〕、CsA又はその非免疫抑制類縁体と複合体を形成する原生動物のサイクロフィリンはペプチド性サイクロフィリンリガンドの抗寄生虫効果を仲介する役割を発揮することが提示された〔ベリマン及びフェアラム, Biochem. J. 334: 437-445 (1998)〕。CyAとその非免疫抑制類縁体もまた、それらの免疫抑制活性及びプラスモジウムに対する活性と関係なくフィラリア寄生虫の再生をインビボで強力に抑制し〔ザーナー及びシュルセイス, J. Helminthol. 61: 282-90 (1987)〕、そして、直接駆虫効果を発揮することが示された〔マクラウチランら, Parasitology 121: 661-70 (2000)〕。

【0069】

本発明の化合物はまた、ヒトを含む動物の病原性原生動物又は寄生虫の感染を診断し、治癒させ、緩和し、治療し、あるいは予防するのに有用である。ヒトでは、この化合物は、

例えばマラリア、回旋糸状虫症、リンパ腺糸状虫症、腸腺虫感染、サナダムシ感染、蟯虫感染、トキソプラズマ症、リーシュマニア症、トリパノソーマ症、及び住血吸虫の病状の治療への適用が見出される。

【0070】

本発明の化合物はまた、H I Vウイルスのウイルス複製プロセスに影響を与えるのに有用である。H I Vウイルスの感染力は、ウイルスのG a g 蛋白カプシド複合体の宿主サイクロフィリンAとの相互作用に決定的に依存していると信じられている。[ストレブローら, *V i r o l o g y* 1998: 245, 197-202; リーら, *J. M e d. C h e m.* 2000: 43, 1770-9]。この発明の化合物は、ヒト宿主C y P AのH I V-1 G a g 蛋白との相互作用を抑制しあるいは破壊して、H I V-1ウイルスの感染力を減少させあるいは除去し、ヒトのH I V-1ウイルスの感染を治療しあるいは予防し、そして、H I V-1感染関連の後天性免疫不全症候群(A I D S)を治療しあるいは予防する機能を発揮することができる。この発明の化合物はさらに、H I V-1以外のヒト免疫不全ウイルスの種族の感染及び他の病原性ウイルス、例えばインフルエンザウイルスによる感染を診断し、治療し、治癒し、緩和しあるいは予防するのにも有用である。

10

【0071】

製剤処方と投与ルート

本発明の化合物は、各種の神経性の、虚血性のそして炎症性の疾患を治療し予防するための、そして、各種のインビドロそして細胞培養処理のための薬剤組成物に有用である。この化合物はまた、H I V感染の予防と治療、毛髪成長促進、免疫抑制、ミトコンドリア障害、神経組織の外傷性傷害あるいは網膜及び視神経損傷関連状態のための薬剤組成物にも有用である。本発明の化合物は、前述のように、塩又は誘導体として作製してもよい。

20

【0072】

本発明の化合物は、それ自身で、あるいは適当な基剤又は賦形剤を混合した薬剤組成物にして、各種の病状を治療しあるいは改善する投与量を動物又はヒトに投与することができる。本発明による化合物は、十分な安定性、効能、選択性、溶解性及び安全な入手可能性を有していて、中枢神経系、末梢神経及び他の臓器の病気、傷害及び他の異常状態あるいは発作を治療するのに有効である。治療に有効な投与量とは、神経もしくはニューロン細胞の活性に影響を及ぼし、細胞もしくは生物に検出できる変化を生じさせ、又はヒトもしくは他の哺乳動物の障害を治療するのに十分な化合物の量を意味する。本発明との関係で

30

【0073】

本発明の方法は、(i) 式Iの化合物の投与であって、そこではこの化合物はそれ自身目的とする医療状態の治療に有効であるか、(ii) 式Iの化合物のプロドラッグの投与であって、そこではこのプロドラッグが投与後に式Iの化合物に代謝変換しうるものであるか、(iii) 式の化合物の投与であって、そこではこの化合物は投与後に代謝産物に代謝変換しうるものであって、この代謝産物は目的とする医療状態の治療に有効であるか、あるいは(iv) 式Iの化合物の代謝産物の投与であって、そこではこの代謝産物は目的とする医療状態の治療に有効であることよりなる。こうして、本発明の方法における式Iの化合物の使用は明らかにこの化合物自身の使用ばかりでなくこの節で論じたii, iii及びivの態様も含んでおり、この状態は全て明らかに次のクレームの範囲内であることが意図されている。

40

【0074】

治療に有効な投与量は、単独で投与してもよく、あるいは他の治療と組合せた補助的な治

50

療として投与してもよい。この用途の化合物の処方と投与の技術は Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, 第18版(1990)に見出すことができる。

【0075】

投与の適当なルートには、例えば、経口、直腸、経粘膜、頬又は小腸投与、筋肉、皮下、髄内注射を含む非経口投与、鞘内、直接心室内、静脈、腹膜内、鼻腔内、又は眼球内注射、そして必要により、デポー又は徐放性構成が含まれる。さらに、本発明の薬剤を、目的とする医薬送込みシステム、例えば抗体で被覆したリポゾームで投与してもよい。このリポゾームは、適当な抗原を発現している細胞をターゲットとし、選択的に取り入れられるであろう。

10

【0076】

本発明の薬剤組成物は、それ自身公知の方法、例えば、常法の混合、溶解、乳化、カプセル化、閉込、あるいは凍結乾燥工程で製造することができる。本発明によって使用される薬剤組成物は、活性化化合物を薬剤として利用しうるようにする製剤化を容易にする賦形剤、助剤などの生理学的に受容できる1以上の基剤を用いて常法で処方することができる。

【0077】

注射用には、本発明の薬剤は、水溶液、好ましくは生理学的に適合性のあるバッファー、例えばハंक液、リンゲル液あるいは生理食塩バッファーなどで調製することができる。経粘膜又は頬投与用には、バリエーを透過しうる適当な浸透剤を調製に用いることができる。この浸透剤は当業界で公知である。

20

【0078】

経口投与用には、この活性化化合物に薬剤として許容できる業界でよく知られている基剤を組合せることによって容易に調製できる。この基剤によって、本発明の化合物を、治療される患者による経口摂取用の錠剤、丸薬、カプセル、液、速溶性剤、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液にしうる。本発明の化合物の経口用薬剤調製物は、固形の賦形剤を用い、得られた混合物は粉碎してもよく、そして、所望により適当な助剤を加えてからこの粒体混合物を加工して錠剤にすることによって得ることができる。賦形剤の適当なものは、特に、乳糖、蔗糖、マニトール、あるいはソルビトールを含む糖などの増量剤、トウモロコシ、デンプン、小麦デンプン、米デンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガカントガム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム塩等のセルロース調製物及び／又はポリビニルピロリドン(PVP)である。

30

【0079】

一般に、薬剤組成物はまた、適当な固形又はゲル状の基剤又は賦形剤よりなるものであってもよい。この基剤又は賦形剤の例には、特に限定されないが、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、各種の糖、デンプン、セルロース誘導体、ゼラチン、及びポリエチレングリコール等のポリマーが含まれる。必要ならば、架橋ポリビニルピロリドン、寒天、又はアルギン酸もしくはアルギン酸ナトリウム等のその塩、又は沢山の他の崩壊剤(例えば、Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Co., Easton, PA, 第18版(1990)参照)などの崩壊剤を加えることができる。

40

【0080】

吸入による投与用には、本発明による用途のための化合物を、適当な噴射剤、例えばジクロロフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、加圧空気、あるいは他の適当なガスや混合物などを使用した加圧パック又は噴霧器からエアゾル噴霧の形で投与するのが簡便である。加圧エアゾルの場合には、弁を設けて計量された量を送り込むことによって投与量を定めることができる。吸入器や吹入器で用いられるゼラチンなどのカプセルやカートリッジは、化合物と乳糖やデンプンなどの適当な粉末ベースの粉末混合物を含ませて処方することができる。

【0081】

50

化合物を注射による非経口投与、例えばボーラス注射や連続注入等用に処方することもできる。非経口投与用の薬剤処方には、水溶性の形の活性化合物の水溶液が含まれる。さらに、活性化合物の懸濁液を適当な油性注射懸濁液として調製してもよい。適当な親油性溶媒又はベヒクルには、ゴマ油などの脂肪油、あるいはオレイン酸エチルやトリグリセライドなどの脂肪酸エステル、あるいはリポソームが含まれる。水性注入懸濁液には、懸濁液の粘性を増す物質、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム塩、ソルビトール、あるいはデキストランなどを含むことができる。この懸濁液はまた、化合物の溶解度を増加させて高濃度溶液を調製させる適当な安定剤を含むこともできる。代わりに、活性成分は、使用前に適当なベヒクル例えばパイロジェンのない滅菌水で復元するための粉末形態のものであってもよい。

10

【0082】

化合物はまた、例えばココアバターや他のグリセリドのような通常の坐薬基剤を含む坐薬などの直腸組成物に処方してもよい。以前に述べた処方に加えて、この化合物はまた、デポー製剤として処方することもできる。このような長期間にわたって作用する処方は移植（例えば皮下あるいは筋肉内に）あるいは筋肉注入によって投与することができる。こうして、例えば、化合物は適当なポリマー又は疎水性物質（例えば受容可能なオイルでの乳濁液として）あるいはイオン交換樹脂と、あるいは例えばやや溶けにくい塩などのやや溶けにくい誘導体として、処方することができる。

【0083】

本発明の化合物は、さらに、水性、アルコール性、水性／アルコール性もしくは油性溶液、水相中脂肪相（O／W）又は逆（W／O）の分散液で得られた、ローションもしくは乳清型分散液又はミルク型の液体もしくは半液体の硬度を有する乳濁液、マイクロカプセルもしくは微粒子の水性もしくは無水のゲル、フォーム又はクリーム型の柔らかい硬度の懸濁液又は乳濁液、あるいはイオン及び／又は非イオン型の小胞分散液の形態で皮フに局所塗布する薬剤又は化粧品組成物に処方することもでき、あるいはさらに加圧噴射剤よりなるエアゾルの形態で投与することもできる。本発明の化合物はまた、毛髪ケア用、特に、シャンプー、毛髪をセットするローション、トリートメントローション、スタイリングクリーム又はゲル、毛染組成物（特に酸化染剤）、それらはカラー強化シャンプー、毛髪再構築ローション、パーマネントウェーブ組成物等であってもよい、の各種の組成物に処方することもできる。本発明の化合物よりなる薬剤又は化粧品組成物はまた、ゲル化剤、保存剤、酸化防止剤、溶剤、香料、増量剤、遮蔽剤、脱臭剤、着色剤などの化粧品分野で通常の添加剤やアジェバントを含むことができる。これらの異なる添加剤及びアジェバントの量は化粧品分野で用いられている一般的な量と範囲であり、例えば組成物全重量の0.01%－20%、好ましくは0.1%－10%、より好ましくは0.5%－5%である。本発明の1つあるいはいくつかの化合物に加えて、局所塗布用組成物はさらに、この業界で毛髪の成長を促進しあるいは脱毛を予防もしくは遅らせることが既に知られている薬剤、例えば、特に限定されないが、トコフェロールニコチネート、ベンジルニコチネート又は2,4-ジアミノ-6-ピペリジノピリミジン3-オキシドをさらに含むことができ、あるいは、他の活性剤、例えば抗菌剤、抗寄生虫剤、抗カビ剤、抗ウイルス剤、抗炎症剤、抗痒疹剤、麻酔薬、角質溶解剤、抗脂漏剤、ふけ症防止剤、抗坐瘡剤を含むこともできる。本発明による化粧品又は薬剤組成物は個々の頭皮及び皮フの脱毛部位に局所的に塗布することができ、それは長時間接触を維持してもよくあるいはすすぎ落としてもよい。例えば、本発明の少なくとも1つの化合物の有効量を含む組成物を夕方に塗布し、一夜この組成物を接触させ、そして任意で朝シャンプーすることもできる。これらの塗布は各個体によって1ヶ月あるいは多数ヶ月間毎日繰返すことができる。

20

30

40

【0084】

リポソームと乳濁液は疎水性医薬を送り込むためのベヒクル又はキャリアーの周知例である。ジメチルスルホキシドなどのある有機溶剤もまた用いることができる。さらに、この化合物は徐放性システム、例えば治療剤を含む固形の疎水性ポリマーの半透過性マトリックスなどを用いて送り込むこともできる。各種の徐放性物質が確立されており、当業者に

50

よく知られている。徐放性カプセルは、その化学的性質により化合物を数週間から100日以上までの間放出しうる。治療剤の化学的性質と生物学的安定性により、安定化のための手段をさらに用いることができる。

【0085】

本発明における用途に適する薬剤組成物は、活性成分を、その意図する目的を達成し、治療の利益をもたらす、あるいは細胞、組織もしくは臓器の機能に検出できる変化をもたらすのに有効な量を含む組成物を含んでいる。より具体的には、治療に有効な量とは、治療される患者の症状の進行を阻止しあるいは症状を緩和するのに有効な量を意味する。この有効な量の認定は、当業者の能力、特にここでの詳細な開示に照らしての範囲内で充分である。

10

【0086】

この化合物あるいは組成物の毒性と治療の効きめは、細胞培養あるいは実験動物の標準の薬剤、薬、理学及び毒物学上の方法で決定することができる。例えば、LD₅₀（個体数の50%の致死投与量）及びED₅₀（個体数の50%の治療有効投与量）を決定する沢山の方法が存在している。この毒性と治療効果の投与量の比率はLD₅₀とED₅₀との比で表わされる治療指数である。化合物と組成物は高い治療指数を発揮するものが好ましい。細胞培養アッセイあるいは動物研究から得られるデータはヒトに用いる投与量の範囲を定めるのに用いることができる。[例えば、フィングルら、in The Pharmacological Basis of Therapeutics, ch. 1 p. 1 (1975) 参照]

20

【0087】

本発明の化合物は、1回投与、多数回投与あるいは連続注入で投与できる。この化合物は、好ましくは非ペプチド性で、易拡散性でそして比較的安定なので、連続注入に充分に適合させることができる。

【0088】

活性成分の約0.1mgから約10,000mgの桁の投与レベルを前記の症状の治療に有用であり、約0.1mgから約1,000mgが好ましいレベルである。特定の患者への具体的な投与レベル、すなわち治療に有効な量は、用いられる具体的な化合物の活性及びその医薬作用部位の生物学的利用可能性、年齢、体重、一般的な健康度、患者の性と食事、投与時期、排泄率、薬の組合せ、治療される具体的病気の重さ、並びに投与の形態を含む各種の因子に基いて変わる。一般的には、インビトロでの投与結果から、患者への投与の適当な量のガイダンスがもたらされる。動物モデルでの研究もまた有益である。適当な投与レベルの決定するためにどうするかは当業者から入手できる。

30

【0089】

ある化合物は凍結乾燥の形態で投与することができる。この場合、1-1000mgの本発明の化合物をマニトールやリン酸ナトリウム等の基剤やバッファーとともに個々のバイアルに入れて凍結乾燥すればよい。この化合物は投与前に、バイアル内で静菌水で復元できる。

【0090】

全身又は局部的虚血症に基づく神経障害の治療では、本発明の化合物は、少なくとも1日に1-6回、経口、直腸、非経口又は局所投与することが好ましく、これは初期の高濃度でのボーラス投与に続いて実施しうるものである。

40

【0091】

本発明の化合物、方法及び用途のために、医薬の送込みの時期と順序を規制する如何なる投与方式も治療を有効にするのに必要なように用い、繰返すことができる。この方式には、他の治療剤での前治療及び／又は併用投与を含んでいてもよい。

【実施例】

【0092】

本発明の実施例化合物を製造する合成ルート

実施例 1

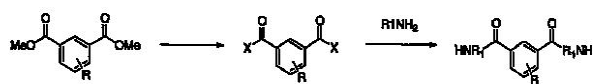
50

化合物例 2, 3, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 32, 37, 38, 41, 42 及び 43 の合成

化合物例 2, 3, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 32, 37, 38, 41, 42 及び 43 などの対称ビスアミドは、対応するエステルから得られるアリールビスカルボン酸又はクロライドを適当なアミンと反応機構 I のように反応させて作製することができる。

【0093】

【化 19】



反応機構 I

10

【0094】

1, 3-ビス-〔3, 4-ジクロロフェニル) アミノカルボニル〕-5-(ベンジルオキシ)ベンゼン (化合物例 43 の合成)

5-フェノキシシメチル-イソフタル酸ジメチルエステル

5-ハイドロキシイソフタル酸ジメチルエステル (700 mg, 3.33 mmol)、臭化ベンジル (635 mg, 3.70 mmol) 及び炭酸カリウム (510 mg, 3.7 mmol) をアセトンに入れた混合物を一夜還流した。冷却後、この混合物を水と酢酸エチルで分配した。この層を分離し、水層を酢酸エチルでさらに 2 回抽出し、これらを合わせた有機物の部分をブラインで洗浄し、乾燥し、濃縮して粗製の固体を得た。これを酢酸エチル/ヘキサンで再結晶して白色結晶生成物を得た。融点 95-97℃、¹H NMR (400 MHz); d 3.94 (s, 6H); 5.15 (s, 2H); 7.42 (m, 5H); 7.84 (s, 2H); 8.29 (s, 1H)。

20

【0095】

5-フェノキシシメチルイソフタル酸

5-フェノキシシメチル-イソフタル酸ジメチルエステル (5.5 g, 12.3 mmol) 及び 20% エタノール水酸化カリウム (250 mL) を一夜還流した。冷却し、濃縮してから、残渣を水に溶かし、2NHCl で酸性にして、生成物を酢酸エチルで抽出した。この有機物抽出物をブラインで洗い、乾燥し、濃縮して 4.8 g の二酸を白色粉末として得た。

30

【0096】

1, 3-ビス-〔3, 4-ジクロロフェニル) アミノカルボニル〕-5-(ベンジルオキシ)ベンゼン (化合物例 43)

上記の二酸の塩化チオニル溶液 (50 mL) を一夜還流した。揮発物を真空中で除いて、ビス酸クロライド (500 mg) を得、これを直ちにジメチルアセトアミド (10 mL) に溶解して、3, 5-ジクロロアニリン (520 mg, 3.23 mmol) とトリエチルアミン (2 mL) で処理した。この混合物を一夜攪拌後、氷の上に注ぎ、得られた固体を濾過して集め、水洗し、乾燥した。これをアセトンで再結晶して生成物を得た。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.64 (s, 2H); 8.17-8.13 (m, 3H); 7.83-7.76 (m, 4H); 7.65 (d, J=9.0 Hz, 2H); 7.52 (d, J=7.0 Hz, 2H); 7.44 (t, J=7.0 Hz, 2H); 7.40-7.35 (m, 1H); 5.29 (s, 2H)。分析値: 計算値: C, 57.88; H, 3.24; N, 5。実測値: C, 57.66; H, 3.37; N, 4.93。

40

【0097】

5-ハイドロキシ-N, N'-ビス-(3-トリフルオロメチル-フェニル)-イソフタルアミド (化合物例 2)。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 10.01 (s, 2H), 8.34 (s, 2H), 8.18 (d, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.

50

6.6 (s, 2H), 7.57 (t, 2H), 7.42 (d, 2H)。分析値：計算値：C, 56.42; H, 3.01; N, 5.98。実測値：C, 56.31; H, 3.29; N, 6.11。

【0098】

5-ナフタレン-1-イル-N, N'-ビス-(3-トリフルオロメチルフェニル)イソフタルアミド (化合物例3)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 10.77 (s, 2H), 8.739 (s, 1H), 8.36 (s, 2H), 8.269 (s, 2H), 8.06 (m, 4H), 7.86 (t, 1H), 7.46-7.61 (m, 8H)。

【0099】

(3-(2-(4-ピリジル)ビニル)-5-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド (化合物例16)。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.98 (s, 2H), 8.46 (s, 1H), 8.34 (s, 2H), 8.229 (s, 1H), 7.78 (d, 2H), 7.70 (d, 2H), 7.49 (s, 1H), 7.32-7.41 (m, 9H)。分析値：計算値：C, 61.88; H, 3.52; N, 7.73。実測値：C, 61.78; H, 3.76; N, 7.68。

【0100】

(5-(2-ナフチルオキシ)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド (化合物例17)。¹H NMR (アセトン-d₆, 400 MHz) 9.87 (s, 2H, NH), 8.28 (s, 1H), 8.149 (s, 2H), 7.93 (d, 2H), 7.84 (d, 1H), 7.80 (s, 2H), 7.76 (s, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.48 (t, 2H), 7.40 (t, 1H), 7.36 (t, 1H), 7.309 (d, 2H), 7.229 (d, 1H)。分析値：計算値：C, 64.65; H, 3.57; N, 4.68。

【0101】

(5-(2-ナフチル)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド (化合物例18)。¹H NMR (アセトン-d₆, 400 MHz) 10.35 (s, NH, 2H), 8.63 (s, 2H), 8.57 (s, 1H), 8.45 (m, 3H), 8.15 (d, 1H), 8.10 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.61 (t, 1H), 7.52 (d, 2)。分析値：計算値：C, 66.44; H, 3.48; N, 4.84。実測値：C, 66.86; H, 3.64; N, 4.97。

【0102】

1-[(3,4-ジクロロフェニル)オキシメチル]-3,5-ビス-{[2-(3,5-ジクロロフェニル)エチル]アミノカルボニル}ベンゼン (化合物例19)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 8.70 (s, 2H); 8.19 (s, 1H); 7.98 (s, 2H); 7.52-7.49 (m, 5H); 7.36 (s, 1H); 7.23 (d, J=8.0, 2H); 7.07 (d, J=9.0, 1H); 5.22 (s, 2H); 3.52-3.49 (m, 4H); 2.89-2.84 (m, 4H)。分析値：計算値：C, 54.34; H, 3.53; N, 4.09; Cl, 31.04。実測値：C, 54.23; H, 3.62; N, 4.02; Cl, 30.98。

【0103】

1-[(3,4-ジクロロフェニル)オキシメチル]-3,5-ビス-[(3,5-ジクロロフェニル)アミノカルボニル]ベンゼン (化合物例20)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.82 (s, 2H); 8.55 (s, 1H); 8.24 (s, 2H); 7.93 (s, 4H); 7.58 (d, J=9.0, 1H); 7.42 (s, 1H); 7.38 (s, 2H); 7.12 (d, J=9.0, 1H); 5.34 (s, 2H)。分析値：計算値：C, 51.54; H, 2.56; N, 4.45。実測値：C,

10

20

30

40

50

51.74; H, 3.03; N, 4.64。

【0104】

1-[4-(2-シアノフェニル)ベンジルオキシ]-3,5-ビス-[2-[(3,4-ジクロロフェニル)エチル]アミノカルボニル]ベンゼン(化合物例21)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) 8.65(t, J=5.5, 2H); 7.97(d, J=7.5, 1H); 7.87(s, 1H); 7.81(t, J=7.5, 1H); 7.69-7.50(m, 12H); 7.23(d, J=8.0, 2H); 5.28(s, 2H); 3.51(q, J=6.5, 4H); 2.87(t, J=7.0, 4H)。分析値:計算値:C, 63.61; H, 4.07; N, 5.86; Cl, 19.77。実測値C, 63.51; H, 4.18; N, 5.80; Cl, 19.66。

10

【0105】

1-[4-(2-シアノフェニル)ベンジル]オキシ-3,5-ビス-[[(3-シアノフェニル)アミノカルボニル]ベンゼン(化合物例22)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) 10.76(s, H); 8.29(s, 2H); 8.22(s, 1H); 8.14-8.07(m, 2H); 7.98(d, J=7.5, 1H); 7.89(s, 2H); 7.81(t, J=8.0, 1H); 7.72-7.56(m, 10H); 5.40(s, 2H)。分析:計算値:C, 73.09; H, 4.26; N, 11.84。実測値:C, 73.17; H, 4.27; N, 11.82。

(5-(2-(2-5,6,7,8-テトラヒドラナフチル)エチル)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例23)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) 10.049(s, 2H, NH), 8.499(s, 1H), 8.38(s, 2H), 8.13(m, 4H), 7.65(d, 2H), 7.55(d, 2H), 7.11(s, 1H), 7.01(d, 2H), 3.18(t, 2H), 3.03(t, 2H), 2.75(m, 4H), 1.84(m, 4H)。分析:計算値:C, 66.88; H, 4.62; N, 4.59。実測値:C, 66.50; H, 4.81; N, 4.49。

20

【0106】

(5-(2-(2-ナフチル)エチル)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルボモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例24)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) 9.88(s, 2H, NH), 8.30(s, 1H), 8.19(s, 2H), 8.06(s, 2H), 7.94(d, 2H), 7.71(d, 2H), 7.69(d, 1H), 7.61(s, 1H), 7.53(t, 2H), 3.11(s, 4H)。分析:計算値:C, 67.32; H, 3.99; N, 4.62。実測値:C, 67.04; H, 4.06; N, 4.60。

30

【0107】

(5-(2-(2-ナフチル)ビニル)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例25)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) 10.81(s, 2H, NH), 8.5(s, 3H), 8.28(s, 2H), 8.15(d, 2H), 8.12(s, 1H), 7.97(s, 2H), 7.93(t, 2H), 7.64(m, 4H), 7.52(m, 4H)。分析:計算値:C, 65.22; H, 3.93; N, 4.47。実測値C, 65.20; H, 3.67; N, 4.73。

40

【0108】

(3-ブromo-5-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例26)。¹H NMR(DMSO-d₆+D₂O, 400 MHz) 10.6(s, 2H, NH), 8.64(s, 1H), 8.81(s, 2H), 8.53(s, 2H), 8.22(d, 2H), 7.76(t, 2H), 7.62(d, 2H)。分析:計算値:C, 49.74

50

; H, 2.47; N, 5.27。実測値: C, 49.56; H, 2.40; H, 2.40; N, 5.29。

【0109】

1- (3, 4-ジクロロベンジルオキシ) - 3, 5-ビス- [3, 4, 5-トリクロロフェニル] アミノカルボニル) ベンゼン (化合物例 32)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.69 (s, 2H); 8.16 (s, 1H); 8.11 (s, 4H); 7.82-7.77 (m, 3H); 7.70 (d, J=8.5 Hz, 1H); 7.50 (d, J=8.5 Hz, 1H); 5.28 (s, 2H)。分析: 計算値: C, 46.46; H, 2.02; N, 4.01。実測値: C, 46.38; H, 2.17; N, 3.94。

10

【0110】

3- { [(3-トリフルオロメチル) - 4-クロロフェニル] アミノカルボニル] ベンジルオキシ} - 1, 5-ビス- [(3-トリフルオロメチル 4-クロロフェニル) アミノカルボニル] ベンゼン (化合物例 37)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.80 (s, 2H); 10.71 (s, 1H); 8.37 (s, 3H); 8.23 (s, 1H); 8.30-8.07 (m, 4H); 7.99 (d, J=8.0 Hz, 1H); 7.89 (s, 2H); 7.82-7.71 (m, 4H); 7.63 (t, J=7.5 Hz, 1H); 5.41 (s, 2H)。分析: 計算値: C, 52.35; H, 2.49; N, 4.95。実測値: C, 52.36; H, 2.54; N, 5.09。

20

【0111】

3- { [(3, 4-ジクロロフェニル) アミノカルボニル] ベンジルオキシ} - 1, 5-ビス- [(3, 4-ジクロロフェニル) アミノカルボニル] ベンゼン (化合物例 38)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.65 (s, 2H); 10.57 (s, 1H); 8.16 (s, 4H); 8.10 (s, 1H); 7.97 (d, J=8.0 Hz, 1H); 7.85 (s, 2H); 7.83-7.77 (m, 4H); 7.69-7.51 (m, 4H); 5.39 (s, 2H)。分析: 計算値: C, 53.29; H, 3.03; N, 5.48。実測値: C, 53.20; H, 2.87; N, 5.52。

【0112】

{2-ブromo-5- [N- (3-ニトロフェニル) カルバモイル] フェニル} - N- (3-ニトロフェニル) ホルムアミデ (化合物例 41)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 7.68 (q, 2H); 7.95-8.07 (m, 5H); 8.21 (t, 2H); 8.78 (s, 2H)。分析: 計算値: C, 49.59; H, 2.82; N, 11.34。実測値: C, 49.75; H, 2.86; N, 11.38。

30

【0113】

1, 3-ビス [(3-トリフルオロメチルフェニル) アミノカルボニル] - 5- [(2-ナフチル) メチルオキシ] ベンゼン (化合物例 42)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.73 (s, 2H); 8.26 (s, 2H); 8.23 (s, 1H); 8.12-8.05 (m, 3H); 8.02-7.92 (m, 3H); 7.91 (s, 2H); 7.66-7.61 (m, 3H); 7.57-7.52 (m, 2H); 7.49 (d, J=7.5 Hz, 2H); 5.48 (s, 2H)。分析: 計算値: C, 65.13; H, 3.64; N, 4.60。実測値: C, 64.88; H, 3.80; N, 4.69。

40

【0114】

化合物例 42、32、22と21と化合物例 19と20の中間体の二酸をそれぞれ反応機構 I-AとI-Bに示すように合成した。

【0115】

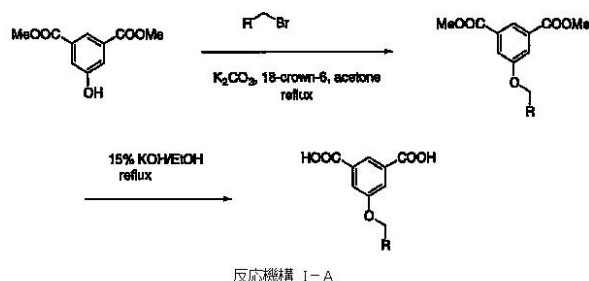
ジメチル 3- (3, 4-ジクロロベンジルオキシ) イソフタレート
5-ハイドロキシイソフタル酸ジメチルエステル (4.62 g, 20 mmol), (3, 4-ジクロロ) ベンジル) ブロマイド (2.77 mL, 20 mmol)、炭酸カリウム (4.15 g, 30 mmol) 及びジクロロヘキサノー 18-クラウン-6 (80 mg) を

50

アセトン（100 mL）に入れた混合物を一夜攪拌還流し、室温に冷却して、氷水（200 g）に注いだ。生成した沈殿物を濾過し、水（5×50 mL）で洗って空気乾燥して、この置換ジエステル6.94 g（94%）を得た。¹H NMR（CDCl₃, 400 MHz）, δ: 8.31（s, 1H）; 7.81（s, 2H）; 7.55（s, 1H）; 7.47（d, J = 8.0 Hz, 1H）; 7.27（d, J = 8.5 Hz, 1H）; 5.10（s, 2H）; 3.95（s, 6H）。

【0116】

【化20】



10

【0117】

3-（3，4-ジクロロベンジルオキシ）イソフタル酸

ジメチル 3-（3，4-ジクロロベンジルオキシ）イソフタレート（6.94 g, 18.8 mmol）を KOH（15% aq, 50 mL）と EtOH（100 mL）の混合物に入れた懸濁物を 0.5 時間還流し、室温に冷却し、一夜攪拌した。この形成された溶液を濃 HCl で酸性に（pH 2 に）し、生成した嵩張る沈殿物を濾過して空気乾燥した。白色固体：収量 5.66 g（88%）。

20

【0118】

上記の二酸を反応機構 I の方法によって最終生成物（化合物例 42）にした。

【0119】

反応機構 I-A の順序に従って、化合物例 21、22 及び 32 に必要な中間体を作製し、反応機構 I の方法によって最終生成物に変えた。

【0120】

30

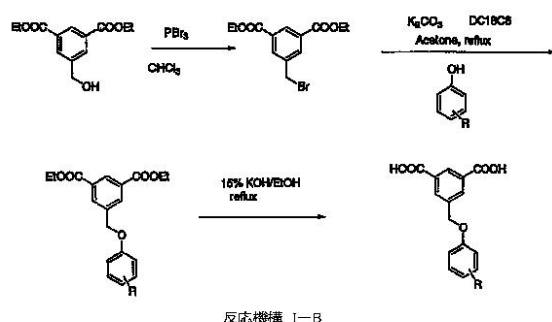
3，5-ビス（エトキシカルボニル）ベンジルブロマイド

3，5-ビス（エトキシカルボニル）ベンジルアルコール（2.53 g, 10 mmol）と PBr₃（0.95 mL, 10 mmol）をクロロホルム（50 mL）に溶かした溶液を室温で一晩攪拌した。黄色の溶液を水（50 mL）で洗浄した。有機物層を分離し、Na₂SO₄ 無水物で乾燥して、真空中で蒸発させ、臭化ベンジルを白色固体として得た。収量 3.10 g（98%）。¹H NMR（CDCl₃, 400 MHz）, δ: 8.61（s, 1H）; 8.25（s, 2H）; 4.55（s, 2H）; 4.42（q, J = 7.0 Hz, 4H）; 1.43（t, J = 7.0 Hz, 6H）。

【0121】

【化21】

40



【0122】

50

ジメチル 5-[(3,4-ジクロロフェニル)オキシメチル]イソフタレート

主題の化合物を、3,4-ジクロロフェニルと3,5-ビス-(エトキシカルボニル)ベンジルブロマイドからジメチル 3-[(3,4-ジクロロベンジルオキシ)イソフタレート (反応機構 I-A) に記載されたものと同様のやり方で作製した。収率 90%。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz), δ: 8.53 (s, 1H); 8.27 (s, 2H); 7.53 (d, J=8.0 Hz, 2H); 7.38 (s, 1H); 7.08 (d, J=8.0 Hz, 1H); 5.32 (s, 2H); 4.46 (q, J=7.0 Hz, 4H); 1.45 (t, J=7.0, Hz, 6H)。

【0123】

5-[(3,4-ジクロロフェニル)オキシメチル]イソフタル酸

10

主題の化合物を反応機構 I-A に記載されているようにしてジエステルを二酸に加水分解して作製した。白色微細結晶、収率 96%。

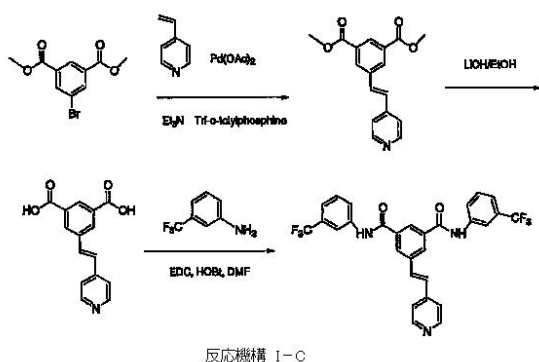
【0124】

上記の二酸を反応機構 I の方法によって化合物例 19 と 20 に変えた。

【0125】

下記の反応機構 I-C の方法を用いて化合物例 16 を作製した。

【化 22】



20

【0126】

(3-(2-(4-ピリジル)ビニル)-5-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド (化合物例 16 の合成)

30

5-(2-ピリジン-4-イル-ビニル)-イソフタル酸ジメチルエステル

【0127】

5-ブロモイソフタル酸ジメチルエステル (542 mg, 2 mmol) と 4-ビニルピリジン (206 mg, 2 mmol), Pd(OAc)₂ (8 mg), トリー-オー-トリルホスフィン (30 mg) を 5 mL Et₃N (5 mL) に溶かした溶液を 80 °C で一夜攪拌した。この反応混合物をシリカゲルカラムを用いてヘキサン中 50% EtOAc で溶出して精製し、この生成物を得た。(65% 収率)。MS += 297。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz), δ: 8.64 (s, 1H); 8.61 (d, 2H); 8.38 (d, 2H), 7.40 (m, 2H), 7.35 (m, 1H), 7.21 (m, 1H), 4.02 (s, 6H)。

40

【0128】

5-(2-ピリジン-4-イル-ビニル)-イソフタル酸

LiOH (2.5 mmol) を水 (1 mL) に溶かした溶液を 5-(2-ピリジン-4-イル-ビニル)-イソフタル酸ジメチルエステル (297 mg, 1 mmol) を 5 mL エタノールに懸濁した液に加えた。この混合物を室温で攪拌した。この反応は完結するまで TLC で追跡した。次いで 2.5 mL の 1 M HCl 溶液を加え、この混合物を蒸発乾燥した。この生成物はさらに精製することなく次の工程で使用した。

【0129】

(3-(2-(4-ピリジル)ビニル)-5-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド (化合物例 16 の合成)

50

ニル}カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例16)

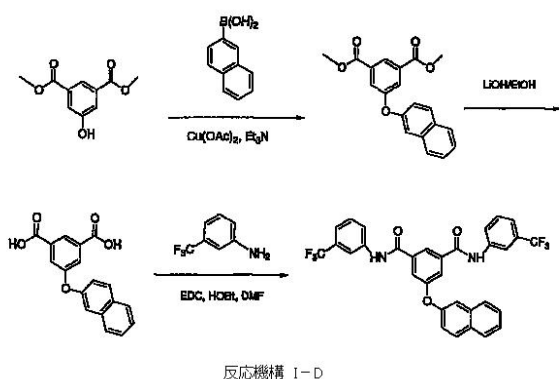
EDC(287mg, 1.5mmol)を5mLのDMFに溶かした溶液を前工程からの生成物、HOBt(270mg, 2mmol)及び3-トリフルオロメチルアニリン(322mg, 2mmol)を含む10mL DMFに溶かした混合物溶液に室温でゆっくり加えた。一夜攪拌後、この反応混合物を水とヘキサンに分配した。この反応混合物を2×100mLのEtOAcで抽出した。有機物相を乾燥し、濃縮して、シリカゲルカラム(50%EtOAc/ヘキサン)で精製し、g(55%)の所望の生成物を得た。Rf=0.30(1:1ヘキサン:EtOAc), ¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz) 9.98(s, 2H), 8.46(s, 1H), 8.34(s, 2H), 8.229(s, 1H), 7.78(d, 2H), 7.70(d, 2H), 7.49(s, 1H), 7.32-7.41(m, 9H)。実測値:C, 61.78; H, 3.76; N, 7.68。

10

【0130】

化合物例17を下記の反応機構I-Dに示すようにして作製した。

【化23】



20

【0131】

(5-(2-ナフチルオキシ)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメトキシ)フェニル]ホルムアミド(化合物例17の合成)

30

5-(ナフタレン-2-イルオキシ)-イソフタル酸ジメチルエステル
5-ハイドロキシイソフタル酸ジメチルエステル(208mg, 1mmol)と2-ナフタレンホウ酸(172mg, 1mmol), Cu(OAc)₂(61mg, 0.5mmol), Et₃N(0.16mL, 1.2mmol)を10mLのメチレンクロライドに溶かした溶液を一夜還流した。この反応混合物をシリカゲルカラムでヘキサン中15%Teacで溶出して精製して生成物を得た。(76%収率)。¹H NMR(アセトン-d₆, 400 MHz) 8.25(s, 1H), 8.05(d, 1H), 7.97(d, 1H), 7.89(d, 1H), 7.73(s, 2H), 7.54(t, 1H), 7.51(t, 1H), 7.37(d, 1H), 4.01(s, 6H)。

【0132】

40

5-(ナフタレン-2-イルオキシ)-イソフタル酸

LiOH(1.5mmol)を水(1mL)に溶かした溶液を5mL EtOHに懸濁した5-(ナフタレン-2-イルオキシ)-イソフタル酸ジメチルエステル(0.5mmol)に加えた。この混合物を室温で攪拌した。反応は完結するまでTLCで追跡した。2.5mLの1M HCl溶液を加え、沈殿物を集めた。この生成物をさらに精製することなく次の工程で用いた。

【0133】

(5-(2-ナフチルオキシ)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例17)

50

EDC (287 mg, 1.5 mmol) を 5 mL の DMF に溶かした溶液を 5- (ナフタレン-2-イルオキシ) -イソフタル酸、HOBA (135 mg, 1 mmol) 及び 3-トリフルオロメチル-アニリン (161 mg, 1 mmol) を含む 10 mL の DMF に溶かした混合物溶液に室温でゆっくり加えた。一夜攪拌後、この反応混合物を水とヘキサンに分配した。この混合物を 2 × 100 mL の EtOAc で抽出した。有機物相を乾燥し、濃縮して、シリカゲルカラム (20% EtOAc / ヘキサン) で精製し、g (55%) の所望の生成物を得た。Rf = 0.70 (4:1 Hex: EtAc)。¹H NMR (アセトン-d₆, 400 MHz) 9.87 (s, 2H, NH), 8.28 (s, 1H), 8.149 s, 2H), 7.93 (d, 2H), 7.84 (d, 1H), 7.80 (s, 2H), 7.76 (s, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.84 (t, 2H), 7.40 (t, 1H), 7.36 (t, 1H), 7.309 d, 2H), 7.299 d, 1H)。実測値; C, 64.88; H, 3.57; N, 4.68。

10

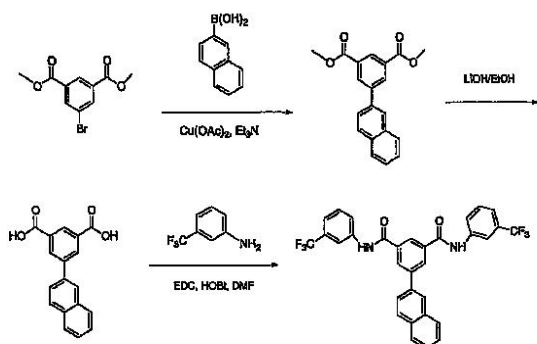
【0134】

化合物例 18 を下記の反応機構 I-E に従って作製した。

【0135】

(5- (2-ナフチル) -3- {N- [3- (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル} フェニル) -N- [3- (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド (化合物例 18) の合成

【化 2 4】



反応機構 I-E

20

30

【0136】

5- (ナフタレン-2-イル) -イソフタル酸ジメチルエステル
5-プロモイソフタル酸ジメチルエステル (544 mg, 2 mmol), 2-ナフタレンホウ酸 (342 mg, 2 mmol), Pd(OAc)₂ (8 mg), トリー-オートリルホスチン (30 mg) と 5 mL Et₃N (5 mL) を 10 mL の DMF に溶かした溶液を 100 °C で一夜攪拌した。この反応混合物をシリカゲルカラムでヘキサン中 20% EtAc で溶出して精製し、生成物を得た (収率: 75%) ¹H NMR (アセトン-d₆, 400 MHz), 8.55 (s, 1H), 8.45 (s, 2H), 8.17 (d, 1H), 7.91 (d, 1H), 7.88 (d, 1H), 7.77 (t, 1H), 7.67 (t, 1H), 7.38 (m, 2H), 4.03 (s, 6H)。

40

【0137】

5- (ナフタレン-2-イル) -イソフタル酸
LiOH (1.5 mmol) を水 (1 mL) に溶かした溶液を 5 mL EtOH に懸濁した 5- (ナフタレン-2-イル) -イソフタル酸ジメチルエステル (160 mg, 0.5 mmol) に加えた。この混合物を室温で攪拌した。反応は完結するまで TLC で追跡した。1.5 mL の 1 M HCl 溶液を加え、沈殿を集めた。生成物はさらに精製することなく次の工程で用いた。

【0138】

(5- (2-ナフチル) -3- {N- [3- (トリフルオロメチル) フェニル] カルバモイル} フェニル) -N- [3- (トリフルオロメチル) フェニル] ホルムアミド (化合物

50

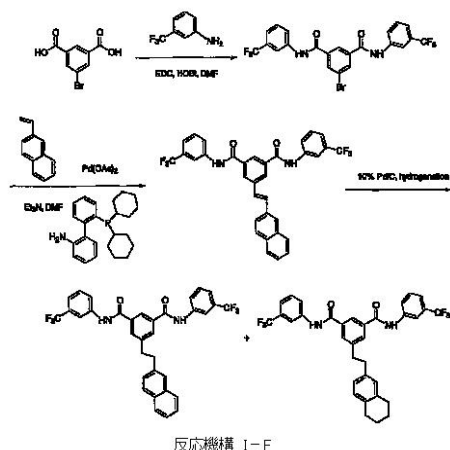
例 18)

EDC (287 mg, 1.5 mmol) を 5 mL の DMF に溶かした溶液を 10 mL DMF に溶かした前工程からの生成物 (0.5 mmol)、HOBt (135 mg, 1 mmol) 及び 3-トリフルオロメチルアニリン (161 mg, 1 mmol) を含む混合物溶液に室温でゆっくり加えた。一夜攪拌後、反応混合物を水と酢酸エチルに分配した。得られた混合物を 2 × 100 mL の EtOAc で抽出した。有機物相を乾燥し、濃縮して、シリカゲルカラム (50% EtOAc / ヘキサン) で精製し、g (55%) の所望の生成物を白色固体として得た。Rf = 0.40 (3:1 Hex: EtOAc)、¹H NMR (アセトン-d₆, 400 MHz) 10.35 (s, NH, 2H), 8.63 (s, 2H), 8.57 (s, 1H), 8.45 (m, 3H), 8.15 (d, 1H), 8.10 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.65 (t, 1H), 7.56 (t, 1H), 7.52 (d, 2)。実測値: C, 66.86; H, 3.64; N, 4.97。

【0139】

化合物 23-25 を下記の反応機 I-F に従って作製した。

【化 25】



【0140】

(5-(2-(2-ナフチル)ビニル)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド (化合物例 25) の合成

(3-ブromo-5-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド。EDC (573 mg, 3 mmol) を 5 mL DMF に溶かした溶液を 5-ブromoイソフタル酸 (245 mg, 1 mmol), HOBt (270 mg, 2 mmol) と 3-トリフルオロメチルアニリン (322 mg, 2 mmol) と 3-トリフルオロメチルアニリン (322 mg, 2 mmol) を 15 mL DMF に加えた混合物に室温でゆっくり加えた。一夜攪拌後、この反応混合物を水と酢酸エチルに分配した。この混合物を 2 × 100 mL の酢酸エチルで抽出し、有機物相を乾燥し、濃縮して、シリカゲルカラム (20% ヘキサン / ヘキサン) で精製して 975 mg (92%) の所望の生成物を白色固体として得た。Rf = 0.50 (5:1 Hex: EtAc)。¹H NMR (DMSO-d₆ + D₂O, 400 MHz) 10.6 (s, 2H, NH), 8.64 (s, 1H), 8.819 s, 2H, 8.53 (s, 2H), 7.76 (t, 2H), 7.62 (d, 2H)。実測値: C, 49.56; H, 2.40; N, 5.29。

【0141】

(5-(2-(2-ナフチル)ビニル)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド (化合物例 25)

(3-ブロモ-5-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(265mg, 0.5mmol)と2-ビニルナフタレン(0.5mmol), Pd(OAc)₂(7mg), 2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2'-(N,N-ジメチルアミノ)ビフェニル(30mg)及びEt₃N(5mL)を10mL DMFに溶かした溶液を100℃で一夜加熱した。それから、この混合物を水に注ぎ、沈殿を集めてメチレンクロライドから再結晶して白色固体の生成物を得た。(収率76%)。R_f=0.60(6:1Hex:EtOAc)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) 10.81(s, 2H, NH), 8.5(s, 3H), 8.28(s, 2H), 8.15(d, 2H), 8.12(s, 1H), 7.979s, 2H), 7.93(t, 2H), 7.64(m, 4H), 7.529m, 4H) C, 65.22; H, 3.93; N, 4.47。実測値: C, 65.20; H, 3.67; N, 4.73。

【0142】

(5-(2-(2-ナフチル)エチル)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例24)と(5-(2-(2-5, 6, 7, 8-テトラヒドロナフチル)エチル)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例23)の合成

5-(2-(2-ナフチル)ビニル)-3-{N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイル}フェニル)-N-[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例25)(200mg)と触媒量の10%Pd/Cの20mL EtOH溶液を50_{psi}で一夜水素化した。解媒を濾過し、溶媒を濃縮した後、残渣をシリカゲルで精製し、両方の表題化合物を白色固体として得た(合計収率: 97%)。

【0143】

化合物例24:¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) 9.88(s, 2H, NH), 8.30(s, 1H), 8.19(s, 2H), 8.06(s, 2H), 7.94(d, 2H), 7.71(d, 2H), 7.69(d, 1H), 7.61(s, 1H), 7.53(t, 2H), 7.35(m, 4H), 3.11(s, 4H)。実測値: C, 67.04; H, 4.06; N, 4.60。

【0144】

化合物例23:¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) 10.04(s, 2H, NH), 8.499s, 1H), 8.38(s, 2H), 8.13(m, 4H), 7.65(t, 2H), 7.55(d, 2H), 7.11(s, 1H), 7.01(d, 2H), 3.18(t, 2H), 3.03(t, 2H), 2.75(m, 4H), 1.84(m, 4H)。実測値: C, 66.50; H, 4.81; N, 4.49。

【0145】

化合物例37と38を下記の反応機構I-Gに従って作製した。

【0146】

ジメチル5-[3-(メトキシカルボニル)ベンシルオキシ]イソフタレート

【0147】

5-ヒドロキシーイソフタル酸ジメチルエステル(3.47g, 16.5mmol), 3-ブロモメチル安息香酸メチルエステル(3.44g, 15mmol), 炭酸カリウム(3.11g, 22.5mmol), 及びジクロロヘキサノ-18-クラウン-6(50mg)をアセトン(150mL)に入れた混合物を一夜攪拌と還流を行い、室温に冷却し、氷水(200g)上に注いだ。生成した沈殿物を濾過し、水(5×50mL)で洗い、空気乾燥して6.36g(100%)のトリエステルを得た。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.09(d, J=7.0Hz, 2H); 7.94(d, J=8.0Hz, 1H); 7.83-7.76(m, 3H); 7.58(t, J=7.5Hz, 1H); 5.35(s, 2H); 3.89(s, 6H); 3.87(s, 3H)。

【0148】

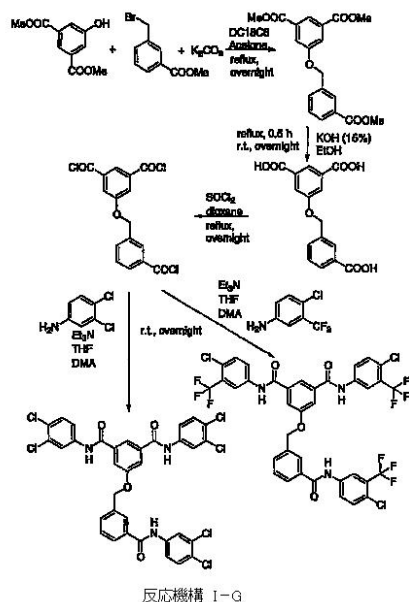
5-[3-(カルボキシ)ベンジルオキシ]イソフタル酸

ジメチル5-[3-(メトキシカルボニル)ベンジルオキシ]イソフタレート(6.36g, 16.5mmol)をKOH(15% aq., 45mL)とEtOH(100mL)の混合物に入れた懸濁物を0.5時間還流し、それから室温に冷却して一夜攪拌した。生成した溶液をジクロロメタン(50mL)で抽出した。水層を分離して濃HClで酸性(pH2)にし、生成した嵩張った沈殿物を濾過して空気乾燥した。白色微結晶。収量4.71g(97%)。

【0149】

【化26】

10



20

【0150】

5-[3-(カルボキシ)ベンジルオキシ]イソフタル酸トリクロライド

5-[3-(カルボキシ)ベンジルオキシ]イソフタル酸(4.71g, 14.9mmol)をジオキサン(50mL)に入れて攪拌している懸濁物にSOCl₂(4.34mL, 59.4mmol)を一度に加えた。その全体を一夜攪拌し還流した。得られた透明溶液を室温に冷却し、僅かに生じた固体を識別して、濾液を真空中で濃縮して5.25g(95%)のクリーム白色固体を得、これを直ちに反応機構Iの方法による化合物37と38の合成に用いた。

【0151】

実施例2

化合物例6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 27, 31, 35, 36, 39, 40及び44の合成

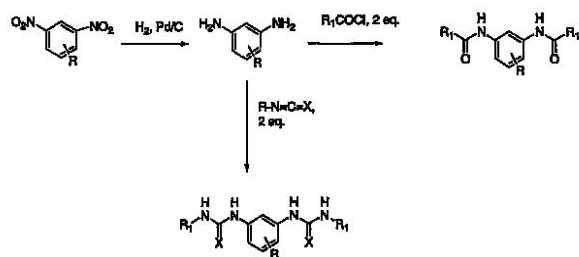
化合物例6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 27, 31, 35, 36, 39, 40及び44を下記の反応機構IIに示すようにして、適当に置換された1,3-ジニトロ芳香族前駆体から作製した。

【0152】

N-(5-[3-(1,3-ジオキソインドリン-2-イル)メチル]-3-{[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルボニル-アミノ}フェニル)[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例12)の合成

【化27】

40



反応機構 II

【0153】

10

2-[(3,5-ジニトロフェニル)メチル]イソインドリン-1,3-ジオン
3,5-ジニトロベンジル クロライド (2.2 g, 10 mmol) を DMA (40 mL) に溶かした溶液をフタルイミドカリウム (1.9 g, 10 mmol) で処理し、この混合物を12時間攪拌した。この混合物を次いで濃縮し、固体残渣を酢酸エチルで洗って乾燥し、水洗して乾燥して2.5 g (76%) の実質的に純粋な付加物を白色固体として得た。¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 5.06 (s, 2H); 7.82-7.97 (m, 4H); 8.62 (s, 2H); 8.74 (s, 1H)。

【0154】

20

N-(5-[(1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)メチル]-3-{[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルボニルアミノ}フェニル)[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド (化合物例12)

2-[(3,5-ジニトロフェニル)メチル]イソインドリン-1,3-ジオン (1.5 g, 4.6 mmol) を CH₂Cl₂ (25 mL) に溶かした溶液を10%パラジウム/炭素 (300 mg) で処理し、この混合物を50 psi H₂の下で1時間攪拌した。この混合物を濾過して濾液をトリエチルアミン (1.0 g, 10 mmol)、続いて3-トリフルオロメチルベンゾイルクロライド (2.0 g, 9.6 mmol) で処理し、12時間攪拌した。それから、反応混合物を濃縮し、生成物をヘキサン：酢酸エチル1：1を溶離剤として用いてシリカで精製し、2.1 g (75%) の例12の化合物を白色固体として得た。¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 4.80 (s, 2H); 7.49 (s, 2H); 7.78 (t, J=8.0 Hz, 2H); 7.86-7.91 (m, 2H); 7.92-8.00 (m, 4H); 8.26 (d, J=8.0 Hz, 2H); 8.29 (s, 2H); 8.36 (s, 1H); 10.56 (s, 2H); 分析：計算値：C₃₁H₁₉N₃O₄F₆：C, 60.89; H, 3.13; N, 6.87。実測値：C, 60.84; H, 3.00; N, 6.91。

30

【0155】

同様にして次の化合物を作製した。

【0156】

40

[(3,5-ジクロロフェニル)アミノ]{[5-{[(3,5-ジクロロフェニル)アミノ]チオキソメチル}アミノ]-2-{[4-ジメチルアミノ]フェニル}}メタン-1-チオン (化合物例35)

¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 2.85 (s, 6H); 6.73 (d, 2H, J=8); 6.94-6.98 (m, 3H); 7.06-7.08 (m, 2H); 7.28 (dt, 2H, J=2, 4); 7.43 (s, 1H); 7.53 (s, 2H); 7.58 (s, 2H); 9.50 (s, 1H); 9.57 (s, 1H); 9.83 (s, 1H); 10.01 (s, 1H)。分析：計算値：C₂₈H₂₄N₆S₂Cl₄ (0.25 EtOAc)：C, 51.79; H, 3.90; N, 12.50; S, 9.54。実測値：C, 51.70; H, 4.02; N, 12.16; S, 9.37。

【0157】

2-{[(3,5-ビス({[(3,5-ジクロロフェニル)アミノ]チオキソメチル}アミノ)フェニル)メチル]イソインドリン-1,3-ジオン (化合物例27)。¹H

50

NMR 400 MHz (DMSO) δ 4.76 (s, 2H); 7.16 (s, 2H); 7.30 (s, 2H); 7.54 (s, 4H); 7.65 (s, 1H); 7.85–7.95 (m, 4H); 9.91 (s, 2H); 10.20 (s, 2H)。分析：計算値： $C_{29}H_{19}N_5S_2Cl_4O_2$ (1.0H₂O) : C, 50.23; H, 3.05; N, 10.10; S, 9.25。実測値：C, 49.90; H, 3.08; N, 10.04; S, 9.31。

【0158】

2- { [(3-アミノ-5- ({ [(3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] チオキソメチル} アミノ) フェニル] メチル} イソインドリン-1, 3-ジオン (化合物例31)。¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 4.60 (s, 2H); 5.25 (s, 2H); 6.31 (s, 1H); 6.44 (s, 1H); 6.57 (s, 1H); 7.28 (s, 2H); 7.58 (s, 2H); 7.83–7.91 (m, 4H); 9.75 (s, 1H); 9.94 (s, 1H)。分析：計算値： $C_{22}H_{16}N_4S_1Cl_2O_2$: C, 56.06; H, 3.42; N, 11.89; S, 6.80; Cl, 15.04。実測値：C, 55.78; H, 3.55; N, 11.74; S, 6.76; Cl, 15.30。

10

【0159】

1, 3- (3, 5-ジクロロフェニル) -N- [5- (3, 4-ジクロロフェノキシメチル) -フェニル] アミド (化合物例6)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 5.19 (s, 2H); 7.06 (q, 1H); 7.35 (d, 1H); 7.55 (d, 1H); 7.61 (d, 2H); 7.89 (t, 2H); 8.00 (d, 4H); 8.32 (t, 1H); 10.56 (s, 2H)。分析：計算値：C, 51.54; H, 2.56; N, 4.45。実測値：C, 51.28; H, 2.74; N, 4.35。

20

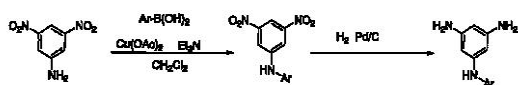
【0160】

アミノ置換ジニトロアリール化合物を、対応するジニトロアリールアニリンを銅触媒でアリールホウ酸と結合させるか (反応機構 I I-A)、あるいは対応するジニトロアリールハライドをパラジウム触媒でアリールハライドと結合させることにより (反応機構 I I-B) 作製される。いずれの場合にも、得られる置換アリールジニトロ中間体を還元して対応するジアミンとし、これを反応機構 I に記載されている最終生成物に変える。

【0161】

【化28】

30



反応機構 II-A

【0162】

チオキソメチル [(3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] { [3- ({ [3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] チオキソメチル} アミノ) -5- [(4-ブロモフェニル) アミノ] フェニル] アミノ} メタン-1-チオン (化合物例11) の合成

40

(3, 5-ジニトロフェニル) (4-ブロモフェニル) アミノジニトロアニリン (1.3 g, 7.1 mmol), 酢酸銅 (1.29 g, 7.1 mmol) 及びトリエチルアミン (2.2 g, 21 mmol) を CH_2Cl_2 (50 mL) に入れた混合物を攪拌しながら4-ブロモフェニルボロニックアシッド (5.8 g, 21 mmol) を1 gずつ4時間かけて加え、この混合物を一夜攪拌した。この反応混合物を濃縮し、この生成物をヘキサン：酢酸エチル3：1を溶離剤として用いたシリカゲルで精製し、0.80 g (33%) の当該アミノ置換芳香族化合物を橙色固体として得た。低分解能MS: $C_{12}H_8N_3O_4Br$ としての計算値338。実測値338。

【0163】

(3, 5-ジアミノフェニル) (4-ブロモフェニル) アミン
(3, 5-ジニトロフェニル) (4-ブロモフェニル) アミン (0.34 g, 1.0 mmol)

50

o 1) をエタノール (10 mL) に溶かした溶液にインジウム (2.0 g, 17 mmol) を加え、さらに飽和塩化アンモニウム溶液 (3 mL) を加えて、この混合物を12時間攪拌した。その時、TLCは反応が完結したことを示した。この反応混合物をセライトで濾過し、濃縮して、残渣を50 mLのCH₂Cl₂に溶解した。この有機物溶液を50 mLの水、次いで50 mLのブラインで洗い、硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過して0.26 g (93%) の褐色オイル、R_f 0.1 (ヘキサン：酢酸エチル 1：1) を次の工程に送った。

【0164】

[(3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] { [3- ({ [3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] チオキソメチル } アミノ) -5- [(4-ブロモフェニル) アミノ] フェニル] アミノ } メタン-1-チオン (化合物例 11) 10

(3, 5-ジアミノフェニル) (4-ブロモフェニル) アミン (0.25 g, 0.90 mmol) をCH₂Cl₂ (5 mL) に溶かした溶液に3, 5-ジクロロフェニルイソチオシアネート (0.39 g, 1.9 mmol) を加え、この混合物を一夜攪拌した。固体沈殿物を濾過し、冷CH₂Cl₂で洗浄し、乾燥して0.28 g (45%) の例 11 の化合物を白色固体として得た。¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 6.97 (s, 1H) ; 7.02 (s, 2H) ; 7.09 (d, J = 8.5 Hz, 2H) ; 7.31 (s, 2H) ; 7.35 (d, J = 8.5 Hz, 2H) ; 7.57 (s, 4H) ; 8.54 (s, 1H) ; 9.92 (s, 2H) ; 10.20 (s, 2H)。分析：計算値：C₂₆H₁₆N₅S₂Cl₄Br₁ (0.1 H₂O) : C, 45.38 ; H, 2.67 ; N, 10.18 ; S, 20 9.32。実測値：C, 44.99 ; H, 2.68 ; N, 9.97 ; S, 9.31。

【0165】

化合物例 36, 39, 40 及び 44 をこの方法で作製した。

【0166】

化合物例 36 : [3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] { [3- ({ [3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] チオキソメチル } アミノ) -4- [(4-クロロフェニル) アミノ] フェニル] アミノ } メタン-1-チオン : ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.28 (br, NH, 1H) ; 8.21 (br, NH, 2H) ; 7.89 (br, NH, 1H) ; 7.72 (s, 1H) ; 7.36 (s, 2H) ; 7.12-7.21 (m, 7H) ; 7.01 (d, 1H) ; 6.84 (d, 2H) ; 6.0 (s, 1H)。分析：計算 30 値：C, 48.65 ; H, 2.83 ; N, 10.91 ; S, 9.99 ; Cl, 27.62。実測値：C, 48.91 ; H, 3.11 ; N, 10.43 ; S, 9.24 ; Cl, 27.01。

【0167】

化合物例 39 : [3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] { [3- ({ [3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] チオキソメチル } アミノ) -4- (3, 5-ジメチルピラゾリル) フェニル] アミノ } メタン-1-チオン : ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.56 (s, NH, 1H) ; 8.72 (s, NH, 1H) ; 8.42 (s, NH, 1H) ; 8.26 (s, NH, 1H) ; 7.53 (s, 2H) ; 7.27 (d, 1H) ; 7.25 (s, 1H) ; 7.21 (d, 1H) ; 7.09 (d, 1H) ; 6.97 (s, 1H) 40 ; 2.25 (s, 3H) ; 2.12 (s, 3H)。分析：計算値：C, 48.34 ; H, 3.44 ; N, 13.53 ; S, 10.32。実測値：C, 48.40 ; H, 3.44 ; N, 13.77 ; S, 10.41。

【0168】

化合物例 40 : [3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] { [3- ({ [3, 5-ジクロロフェニル) アミノ] チオキソメチル } アミノ) -4- [(4-フェノキシフェニル) アミノ] フェニル] アミノ } メタン-1-チオン : ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.24 (s, NH, 1H) ; 8.15 (s, NH, 1H) ; 8.10 (s, NH, 1H) ; 7.93 (s, NH, 1H) ; 7.56 (d, 2H) ; 7.38 (d, 2H) ; 7.26-7.36 (m, 5H) ; 7.21 (d, 2H) ; 7.11 (s, 1H, 7.05 50

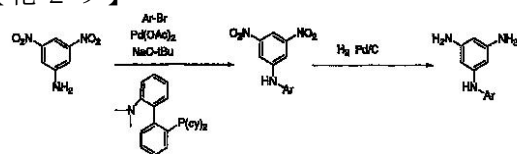
(d, 1H), 7.02 (s, 1H); 6.97 (s, 1H); 6.94 (s, 4H); 5.95 (s, NH, 1H)。分析：計算値：C, 54.11; H, 3.43; N, 9.86; S, 9.03。実測値：C, 54.47; H, 3.67; N, 9.58; S, 8.63。

【0169】

化合物例44：〔3, 5-ジクロロフェニル〕アミノ〕{〔5-〔〔3, 5-ジクロロフェニル〕アミノ〕チオキソメチルアミノ〕-2-ピペリジルフェニル〕アミノ}メタン-1-チオン：¹H NMR (アセトン-d₆, 400 MHz) 9.35 (br, NH, 1H); 9.02 (br, NH, 3H); 7.67 (s, 2H); 7.65 (s, 2H); 7.53 (s, 1H); 7.23 (d, 1H); 7.22 (s, 1H); 7.21 (s, 1H); 6.93 (d, 1H); 2.06 (m, 4H); 1.97 (m, 6H)。分析：計算値：C, 49.50; H, 3.95; N, 11.54; S, 10.57; Cl, 23.38。実測値：C, 49.15; H, 3.80; N, 11.75; S, 10.67; Cl, 23.56。

【0170】

【化29】



反応機構 II-B

【0171】

(3, 5-ジニトロフェニル)-2-ピリジルアミン

3, 5-ジニトロアニリン (1.3 g, 7.1 mmol), 2-プロモピリジン (1.1 g, 7.1 mmol), 酢酸パラジウム (0.13 g, 0.57 mmol) 及び 2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2'-(N, N-ジメチルアミノ)ビフェニル (0.28 g, 0.71 mmol) をトルエン (20 mL) に入れた混合物に固体の tert-ブトキシドナトリウム (0.75 g, 7.8 mmol) を加え、この混合物を3日間還流温度に加熱した。この反応混合物を次いで濃縮し、生成物を、溶離剤としてヘキサン：酢酸エチル 2：1 を用いてシリカゲルで精製し、0.30 g (16%) のピリジン置換化合物を赤色固体として得た。低分解能 MS 計算値 C₁₁H₈N₄O₄ : 260。実測値 260。

【0172】

〔(3, 5-ジクロロフェニル)アミノ〕{〔5-〔〔3, 5-ジクロロフェニル)アミノ〕チオキソメチル}アミノ〕-5-(2-ピリジルアミノ)フェニル〕アミノ}メタン-1-チオン (化合物例13)。前述のようにして、(3, 5-ジニトロフェニル)-2-ピリジルアミンをジアミノ化合物で還元し、2当量の3, 5-ジクロロイソチオシアネートと反応させて、化合物例13を得た。¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 6.73-6.79 (m, 1H); 6.89 (d, J=8.4 Hz, 1H); 7.11 (s, 1H); 7.30 (s, 2H); 7.53-7.69 (m, 7H); 8.11 (d, J=3.9 Hz, 1H); 9.24 (s, 1H); 9.83 (s, 2H); 10.24 (s, 2H)。分析：計算値：C₂₅H₁₈N₆S₂Cl₄ : C, 49.35; H, 2.98; N, 13.81; S, 10.54; Cl, 23.31。実測値：C, 49.34; H, 3.19; N, 13.88; S, 10.30; Cl, 23.30。

【0173】

ジアミノアリール中間体の3, 5-ジクロロベンゾイルクロライド次いで3, 5-ジクロロイソチオシアネートとの逐次反応による化合物例10の取得：(3, 5-ジクロロフェニル)-N-〔5-〔〔(3, 5-ジクロロフェニル)アミノ〕チオキソメチル}アミノ〕-3-〔〔3-(トリフルオロメチル)フェニル〕アミノ〕フェニル〕ホルムアミド (化合物例10) の合成。

10

20

30

40

50

【0174】

N-（3-アミノ-5-〔〔3-（トリフルオロメチル）フェニル〕アミノ〕フェニル）（3, 5-ジクロロフェニル）ホルムアミド。

【0175】

以前に述べたホウ酸との結合を経由して作製された（3, 5-ジクロロフェニル）〔3-（トリフルオロメチル）フェニル〕アミン（0.50 g, 1.5 mmol）をCH₂Cl₂（7 mL）に溶かした溶液を10%パラジウム／炭素（100 mg）で処理し、この混合物を50 psi H₂下で1時間攪拌した。この溶液を濾過し、濾液をトリエチルアミン（0.15 g, 1.5 mmol）次いで3, 5-ジクロロベンゾイルクロライド（0.29 g, 1.4 mmol）で処理し、一夜攪拌した。この反応混合物を濃縮し、生成物を、溶離剤としてヘキサン：酢酸エチル2：1を用いてシリカゲルで精製し、0.54 g（80%）の所望の生成物を白色固体として得た。¹H NMR 400 MHz（DMSO）δ 5.17（s, 2H）；6.16（s, 1H）；6.69（s, 1H）；6.82（s, 1H）；7.05（t, J=8 Hz, 1H）；7.26-7.44（m, 4H）；7.94（s, 2H）；8.30（s, 1H）；10.08（s, 1H）。 10

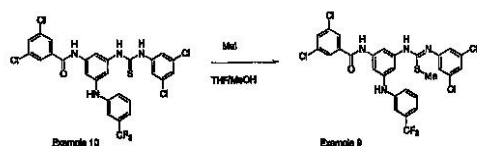
【0176】

（3, 5-ジクロロフェニル）-N-〔5-（〔〔3, 5-ジクロロフェニル〕アミノ〕チオキソメチル〕アミノ）-3-〔〔3-（トリフルオロメチル）フェニル〕アミノ〕フェニル〕ホルムアミド（化合物例10）
N-（3-アミノ-5-〔〔3-（トリフルオロメチル）フェニル〕アミノ〕フェニル）（3, 5-ジクロロフェニル）ホルムアミド（0.54 g, 1.2 mmol）をDMA（10 mL）に溶かした溶液に3, 5-ジクロロフェニルイソチオシアネート（0.30 g, 1.5 mmol）を加え、この混合物を一夜攪拌した。この反応混合物を次いで濃縮し、生成物を、溶離剤として、ヘキサン：酢酸エチル2：1を用いてシリカゲルで精製し、0.70 g（89%）の化合物例10をオフホワイトの固体として得た。¹H NMR 400 MHz（DMSO）δ 7.10-7.16（m, 2H）；7.31-7.34（m, 1H）；7.35-7.39（m, 2H）；7.39-7.45（m, 2H）；7.47（s, 1H）；7.65（d, J=2.0 Hz, 2H）；7.87-7.89（m, 1H）；7.97（d, J=2.0 Hz, 2H）；8.47（s, 1H）；10.02（s, 1H）；10.22（s, 1H）；10.44（s, 1H）；分析：計算値：C₂₇H₁₇N₄S₁Cl₄O₁F₃：C, 50.33；H, 2.66；N, 8.70；S, 4.98；Cl, 22.01。実測値：C, 50.10；H, 2.75；N, 8.60；S, 5.00；Cl, 22.21。 20 30

【0177】

化合物例9を化合物例10から反応機構II-Cに示すようにして作製した。

【化30】



反応機構 II-C

40

【0178】

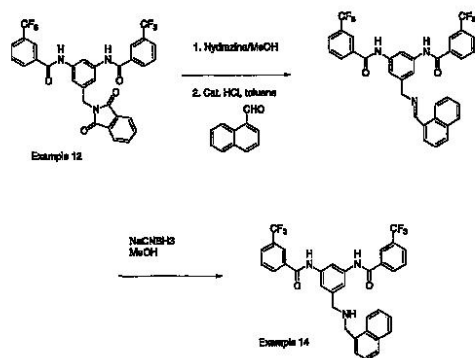
N-（5-〔〔2-アザ-2-（3, 5-ジクロロフェニル）-1-メチルチオビニル〕アミノ〕-3-〔〔3-（トリフルオロメチル）フェニル〕アミノ〕フェニル）（3, 5-ジクロロフェニル）ホルムアミド（混合物例9）
例10（0.50 g, 0.78 mmol）をTHF（3 mL）に溶かした溶液を7 mLのエタノールで希釈し、ヨードメタン（0.55 g, 3.9 mmol）で処理して一夜攪拌した。この反応混合物を次いで濃縮し、生成物を、溶離剤としてヘキサン：酢酸エチル3：1を用いてシリカゲルで精製し0.43 g（85%）の化合物例9を白色固体として得 50

た。 ^1H NMR 400 MHz (DMSO) δ 2.41–2.47 (m, 3H); 6.88 (s, 2H); 7.06–7.20 (m, 2H); 7.27–7.57 (m, 5H); 7.79 (s, 1H); 7.87 (s, 1H); 7.93–7.99 (m, 2H); 8.62 (s, 1H); 9.03 (s, 1H); 10.34 (s, 1H); 分析: 計算値: $\text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{S}_1\text{Cl}_4\text{O}_1\text{F}_3$: C, 50.08; H, 2.91; N, 8.51; S, 4.87; Cl, 21.54。実測値: C, 51.21; H, 3.09; N, 8.49; S, 4.73; Cl, 21.60。

【0179】

化合物例14を化合物例12から下記の反応機構II-Dに示すようにして作製した。

【化31】



反応機構 II-D

10

20

【0180】

N-(5-(2-アザ-3-ナフチル-2-プロペニル)-3-{[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルボニルアミノ}フェニル)[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド

化合物例12(2.0g, 3.3mmol)をメタノール(25mL)に溶かした溶液にヒドラジン(1.0g, 33mmol)を加え、この混合物を還流温度に一夜加熱した。この混合物を次いで冷却し、濾液して、濾過を濃縮し、褐色の固体残渣を得た。この残渣を1-ナフトアルデヒド(0.56g, 36mmol)を60mLトルエンに溶かした溶液に入れて80℃に加熱し、3滴のHClで処理してDean-Starkトラップを用いて12時間還流温度に加熱し、反応物から蒸発する水分を集めた。この反応物を次いで濃縮し、生成物をヘキサン/酢酸エチルで再結晶精製し0.35g(18%)のこのイミンを淡黄色固体として得た。 ^1H NMR 400 MHz (DMSO) δ 4.96 (s, 2H); 7.57–7.68 (m, 6H); 7.79 (dd, $J=7.5, 8.0$ Hz, 1H); 7.97 (d, $J=7.5$ Hz, 1H); 8.00–8.10 (m, 4H); 8.28 (d, $J=8.0$ Hz, 1H); 8.30–8.35 (m, 4H); 9.15 (d, $J=8.5$ Hz, 1H); 9.23 (s, 1H); 10.58 (s, 2H); 分析: 計算値: $\text{C}_{34}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2\text{F}_6$: C, 65.91; H, 3.74; N, 6.78。実測値: C, 65.82; H, 3.91; N, 6.80。

30

【0181】

N-(5-{[ナフチルメチル]アミノ}メチル)-3-{[3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルボニルアミノ}フェニル)[3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルムアミド(化合物例14)

前の工程からのこのイミン(40mg, 0.06mmol)をエタノール(3mL)に溶かした溶液にシアノボロハイドライドナトリウム(10mg, 0.1mmol)を加え、この混合物を一夜攪拌した。この反応混合物を次いで濃縮し、生成物をヘキサン:酢酸エチル2:1を溶離剤として用いてシリカゲルで精製し30mg(75%)の化合物例14を白色固体として得た。 ^1H NMR 400 MHz (DMSO) δ 3.78 (s, 2H); 4.19 (s, 2H); 7.26 (s, 1H); 7.34–7.50 (m, 8H); 7.66 (d, $J=8.0$ Hz, 2H); 7.74 (d, $J=8.0$ Hz, 1H); 7

40

50

. 8 3 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H); 7. 8 9 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 2H); 8. 0 2 (s, 2H); 8. 0 5 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H); 8. 5 3 (s, 2H); 分析: 計算値: $\text{C}_{34}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_2\text{F}_6$: C, 65. 70; H, 4. 05; N, 6. 76。実測値: C, 65. 79; H, 3. 78; N, 6. 70。

【0182】

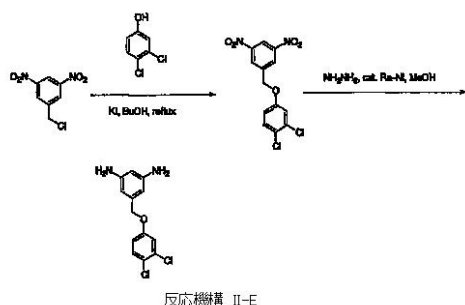
化合物例6の中間体であるジアミンを下記の反応機構II-Eに従って作製した。

【0183】

5-(3, 4-ジクロロフェノキシメチル)-1, 3-ジニトロベンゼン
0. 5mmol 3, 4-ジクロロフェノールと1mmol KIを0. 5mmol 1-クロロメチル-3, 5-ジニトロベンゼンを2. 5ml 1-ブタノールに溶かした溶液に加えた。この混合物を一夜還流しつつ攪拌した。1-ブタノールを留去させてから、残渣を $2 \times 10 \text{ mL}$ 1N HClと $2 \times 10 \text{ mL}$ EtOAcで洗い、乾燥させた。 ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) 5. 44 (s, 2H); 7. 14 (d, 1H); 7. 43 (s, 1H); 7. 58 (d, 1H); 8. 73 (s, 2H); 8. 81 (s, 1H)。

【0184】

【化32】



20

【0185】

5-(3, 4-ジクロロフェノキシメチル)ベンゼン-1, 3-ジアミン
5mL MeOHに溶かした5-(3, 4-ジクロロフェノキシメチル)-1, 3-ジニトロベンゼンを10mLの2. 5mmolヒドラジン1水和物と触媒量のRaNiを含む溶液に加えた。この混合物を還流しつつ30分間攪拌し、次いで室温に冷却した。GC-MSは還元された生成物のピークを与えた。この溶液をセライトで濾過し、メタノールをロータリーエバポレーターで蒸発させた。この残渣をさらに精製することなく直接次の工程に用いた。

【0186】

実施例3

化合物例1, 5と4の合成

化合物例1は下記の反応機構III-Aの方法で合成した。

【0187】

3-{3, 5-ビス-[3-(3, 5-ジクロロフェニル)-ウレイド]-フェニル}-プロピオン酸メチルエステル(化合物例1)の合成

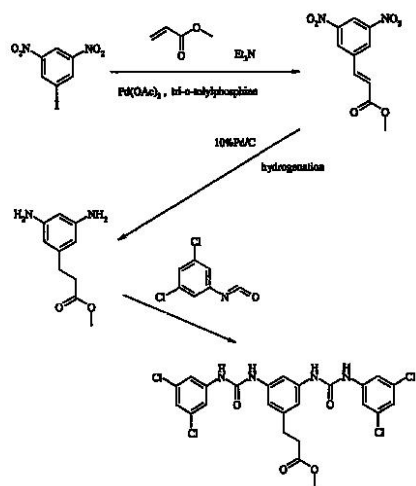
【0188】

3-(3, 5-ジニトロフェニル)アクリル酸メチルエステル
ヨードジニトロベンゼン(10mmol)とアクリレートメチルエステル(50mmol)、Pd(OAc) $_2$ (80mg)、トリ-*o*-トリルホスフィン(300mg)と30mL Et $_3$ Nの溶液を80℃で一夜攪拌した。この反応混合物をヘキサン中30% EtAcでシリカゲルカラムから溶出して精製し、生成物(収率56%)を白色固体として得た。 ^1H NMR (CDCl $_3$, 400 MHz) 9. 04 (s, 1H); 8. 67 (s, 2H); 7. 71 (d, 1H), 6. 77 (d, 1H); 3. 89 (s, 3H)。

【0189】

50

【化 3 3】



反応機構 III-A

10

【0190】

3- {3, 5-ビス- [3- (3, 5-ジクロロフェニル) -ウレイド] -フェニル} プロピオン酸メチルエステル (化合物例 1)

3- (3, 5-ジニトロフェニル) アクリル酸メチルエステル (2 mmol) とメチレンクロライド 20 mL の触媒量の 10% Pd/C を含む溶液を 50 psi で 20 分間水素化した。このパラジウム触媒を濾過した。次いで、ジクロロフェニルイソシアネート (4 mmol) を濾液に加え、この混合物を室温で一夜攪拌した。沈殿を濾過して集め、メチレンクロライドで 2 回洗った。この粗製生成物をアセトンから再結晶して純粋な生成物 (収率 91%) を白色固体として得た。R_f = 0.60 (2:1 ヘキサン: EtAc)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 8.96 (s, 2H); 8.88 (s, 2H); 7.53 (s, 5H), 7.16 (s, 2H); 6.98 (s, 2H), 3.60 (s, 3H), 2.79 (t, 2H), 2.62 (t, 2H)。実測値: C, 50.45; H, 3.67; N, 9.98。

20

【0191】

化合物例 5 を下記の反応機構 III-B に従って作製した。

30

【0192】

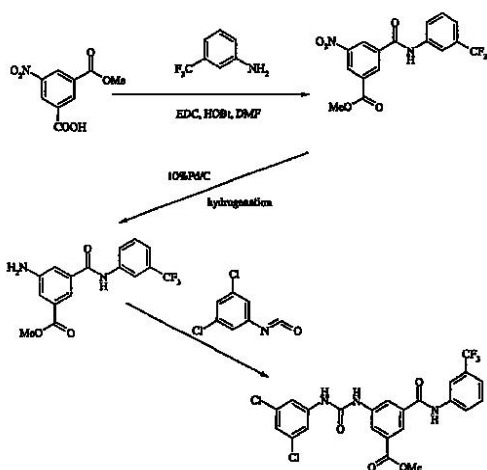
3- {3, 5-ビス- [3- (3, 5-ジクロロフェニル) ウレイド] -フェニル} プロピオン酸メチルエステル (化合物例 5) の合成

3- (3, 5-ジクロロフェニル) アクリル酸メチルエステル。ヨードジニトロベンゼン (10 mmol) とアクリル酸メチルエステル (50 mmol)、Pd(OAc)₂ (80 mg)、トリ-*o*-トリルホスフィン (300 mg) 及び 30 mL Et₃N の溶液を 80 °C で一夜攪拌した。この反応混合物をシリカゲルカラムヘキサン中 30% EtAc で溶出して精製し、生成物 (収率 56%) を白色固体として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.04 (s, 1H); 8.67 (s, 2H); 7.71 (d, 1H), 6.77 (d, 1H); 3.89 (s, 3H)。

40

【0193】

【化 3 4】



反応機構 III-B

10

【0194】

3-〔3, 5-ビス-〔3-〔3, 5-ジクロロフェニル〕ウレイド〕-フェニル〕プロピオン酸メチルエステル（化合物例5）

3-〔3, 5-ジニトロフェニル〕アクリル酸メチルエステル（2 mmol）及び20 mLメチレンクロライド中触媒量の10% Pd/Cを含む溶液を50 psiで20分間水素化した。このパラジウム触媒を濾過した。次いで、ジクロロフェニルイソシアネート（4 mmol）を濾液に加え、この混合物を室温で一夜攪拌した。沈殿を濾過して集め、メチレンクロライドで2回洗浄した。この粗精生成物をアセトンから再結晶し、純粋な生成物（収率91%）を白色固体として得た。R_f=0.60（2：1ヘキサン：EtAc）。¹H NMR（DMSO-d₆, 400 MHz）8.96（s, 2H）；8.88（s, 2H）；7.53（s, 5H），7.16（s, 2H）；6.98（s, 2H），3.60（s, 3H），2.79（t, 2H），2.62（t, 2H）。実測値：C, 50.45；H, 3.67；N, 9.98。

20

【0195】

化合物例4を化合物例5：〔6-〔3-〔3-〔3, 5-ジクロロフェニル〕-ウレイド〕-5-〔3-トリフルオロメチルフェニルカルバモイル〕-ベンゾイルアミノ〕ヘキシル〕カルバミン酸tert-ブチルエステルから作製した。¹H NMR（DMSO-d₆, 400 MHz）10.71（s, 1H, NH）；9.28（s, 1H, NH）；9.16（s, 1H, NH）；8.54（s, 1H, NH）；8.26（s, 1H）；8.14（s, 1H）；8.10（m, 3H）；7.68（t, 1H）；7.55（s, 2H）；7.47（d, 1H），7.18（s, 1H）；6.75（s, 1H），3.26（t, 2H），2.91（t, 2H），1.32-1.57（m, 17H）。分析：計算値：C, 54.55；H, 4.99；N, 9.64。実測値：C, 54.34；H, 4.89；N, 9.88。

30

【0196】

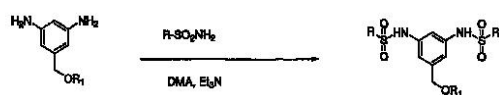
実施例4

化合物例7, 29及び30の合成

化合物例7を下記の反応機構IV-Aに従って作製した。

【0197】

【化35】



反応機構 IV-A

40

50

【0198】

1, 3- (1-ナフタレン) -N- [5- (3, 4-ジクロロフェノキシメチル) -フェニル] -スルホナミド (化合物例7) の合成

5- (3, 4-ジクロロフェノキシメチル) ベンゼン-1, 3-ジアミン (反応機構 I I-Eの方法によって作製した。) を5 mLのDMAに溶解した。2 mmolのTEAと1 mmolのナフタレン-1-スルホニルクロライドをこの溶液に加えた。この混合物を室温で一夜攪拌し、GC-MSが出発物質の消失を示してから氷水に注ぎ入れた。沈殿物を濾過し、ヘキサン/酢酸エチルから再結晶した。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 4.82 (s, 2H); 6.60 (s, 2H); 6.79 (q, 1H); 6.90 (s, 1H); 7.10 (d, 1H); 7.47 (q, 3H); 7.66 (m, 4H); 8.05 (t, 4H); 8.17 (d, 2H); 8.62 (d, 2H); 10.76 (s, 2H)。分析: 計算値: C, 58.15; H, 3.84; N, 4.11; S, 9.41。実測値: C, 57.98; H, 3.76; N, 4.23; S, 9.23。

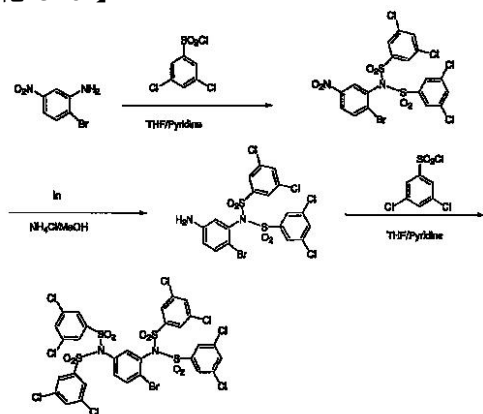
【0199】

化合物例29と30の合成を下記の反応機構 I V-Bに従って行った。

【0200】

ビス [(3, 5-ジクロロフェニル) スルホニル] (3- {ビス [3, 5-ジクロロフェニル) スルホニル] アミノ) -4-ブロモフェニル) アミン (化合物例30) の合成

【化36】



反応機構 IV-B

【0201】

3- {ビス [(3, 5-ジクロロフェニル) スルホニル] } アミノ-4-ブロモニトロベンゼン

0.5 mmol 2-ブロモ-5-ニトロフェニルアミンを4 mLのTHFピリジン (1:1) 混合物に溶かした溶液に、1 mL THFに入れた1.2 mmol 3, 5-ジクロロベンゼンスルホニルクロライドを加えた。この混合物を還流しつつ一夜攪拌した。室温まで冷却後生じた沈殿物を濾過し、酢酸エチルで洗浄した。GC-MSはこの物質を所望の生成物であると同定した。

【0202】

3- {ビス [(3, 5-ジクロロフェニル) スルホニル] } アミノ-4-ブロモアニリン工程1からの沈殿物を2 mL MeOHと0.6 mL飽和NH₄Clに溶解し、0.4 gのインジウム粉末を加えた。この混合物を還流しつつ一夜攪拌した。反応の完結をGC-MSで判断し、冷却した反応混合物を水で希釈してセライトで濾過した。この水性の濾液を酢酸エチル (3×10 mL) で抽出した。有機物層を合わせて乾燥 (MgSO₄) し、真空中で濃縮した。この精製生成物を直接次の工程に用いた。

【0203】

ビス [(3, 5-ジクロロフェニル) スルホニル] (3- {ビス [3, 5-ジクロロフェニル) スルホニル] アミノ) -4-ブロモフェニル) アミン (化合物例30)

工程からの化合物を5 mLのジメチルアセトアミド (DMA) に溶かし、2 mmolのト

リエチルアミンと1mmolの3, 5-ジクロロベンゼンスルホニルクロライドをこの溶液に加えた。この混合物を室温で一夜攪拌し、GC-MSが出発物質の消失を示してから氷水に注ぎ入れた。沈殿物を濾過し、ヘキサン酢酸エチルから再結晶して例30の化合物を得た。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 7.19 (d, 1H); 7.55 (q, 1H); 7.89 (d, 4H); 7.94 (d, 4H); 8.03 (d, 1H); 8.16 (m, 4H)。分析: 計算値: C, 36.01; H, 1.79; N, 2.62; S, 12.02。実測値: C, 36.24; H, 1.91; N, 2.81; S, 12.17。

【0204】

N-(3-{ビス[(3, 5-ジクロロフェニル)スルホニル]アミノ}-4-ブロモフェニル) [(3, 5-ジクロロフェニル)アミノ]ホルムアミド (化合物例29) 10

1, 3-ジクロロ-5-イソシアナートーベンゼンを下記の反応機構IV-Cによる第3工程で開いた外は例30で記載したのと同じ方法を例29の作製に用いた。

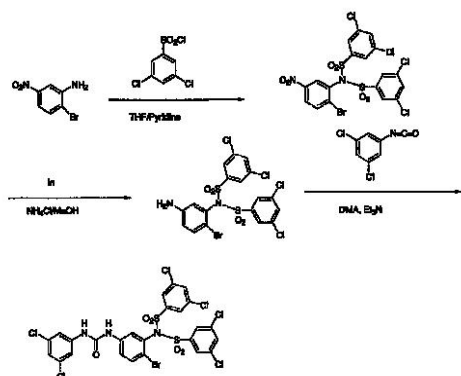
【0205】

化合物例29: ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 7.11 (t, 1H); 7.40 (q, 1H); 7.67 (m, 3H); 7.82 (d, 1H); 7.93 (d, 4H); 8.15 (t, 2H); 9.19 (s, 1H); 9.32 (s, 1H)。分析: 計算値: C, 38.31; H, 1.98; N, 5.15; S, 7.87。実測値: C, 38.45; H, 2.02; N, 5.37; S, 8.10。

【0206】

20

【化37】



反応機構 IV-C

30

【0207】

実施例5

化合物例8の合成

化合物例8を下記の反応機構Vに従って作製した。

【0208】

3, 5-ビス(ベンジロキシ)安息香酸

表題化合物をメチル3, 5-ビス(ベンジルオキシ)ベンゾエート (1.74 g, 5mmol) から出発して反応機構I-Aの方法に従って作製した。白色固体、収量1.44 g (86%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz), δ 7.47-7.30 (m, 10H); 7.15 (s, 2H); 6.92 (s, 1H); 5.15 (s, 2H)。 40

【0209】

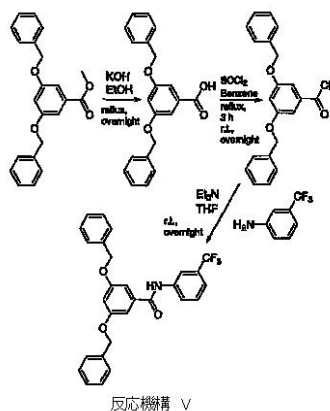
3, 5-ビス(ベンジルオキシ)安息香酸クロライド

表題化合物を酸3, 5-ビス(ベンジルオキシ)安息香酸 (1.32 g, 4.0mmol) から出発して反応機構I-Aの方法に従って作製した。オフホワイト固体、収量1.38 g (99%)。直ちに、化合物例8の作製に用いた。

【0210】

【化38】

50



10

【0211】

3, 5-ジ(ベンジルオキシ)-3'-(トリフルオロメチル)ベンズアニリド(化合物例18)

表題化合物を3, 5-ビス(ベンジルオキシ)安息香酸クロライドと3-(トリフルオロメチル)アニリンのTHF溶液から出発して反応機構I-Aの方法に従って作製した。白色固体、収量0.250g(69%)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz), δ 10.47(s, 1H); 8.24(s, 1H); 8.06(d, J=8.3 Hz, 1H); 7.60(t, J=8.0 Hz, 1H); 7.51-7.32(m, 11H); 7.25(s, 2H); 6.95(s, 1H); 5.18(s, 4H)。分析: 計算値: C₂₈H₂₂F₃NO₃: 70.43; H, 4.64; N, 2.93。実測値: C, 70.58; H, 4.67; N, 2.91。

20

【0212】

実施例6

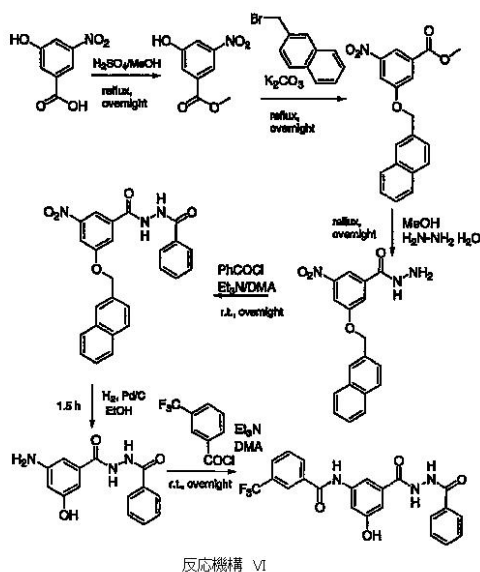
化合物例15の合成

化合物例15を下記の反応機構VIに従って作製した。

【0213】

【化39】

30



40

【0214】

メチル3-ヒドロキシ-5-ニトロベンゾエート

3-ヒドロキシ-5-ニトロ安息香酸(2.00g, 11mmol)と濃硫酸(0.5mL)のMeOH(15mL)溶液を一夜還流し、室温まで冷却して、Na₂CO₃(飽和溶液25mL)、水(150mL)及び氷(50g)の混合物に注ぎ入れた。生じた沈殿物

50

を濾過し、水洗（ $3 \times 30 \text{ mL}$ ）して空気乾燥した。黄色微結晶、収量 1.37 g （ 63% ）。 ^1H NMR（ $\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz ）, $\delta 10.94$ （s, 1H ）； 8.09 （s, 1H ）； 7.78 （s, 1H ）； 7.71 （s, 1H ）； 3.90 （s, 3H ）。

【0215】

メチル 3-〔（2-ナフチル）メトキシ〕-5-ニトロベンゾエート

メチル 3-ヒドロキシ-5-ニトロベンゾエート（ 0.685 g , 3.5 mmol ）とアセトン（ 75 mL ）に溶解した。炭酸カリウム（ 1.43 g , 10.4 mmol ）と 2-ブロモメチルナフタレン（ 0.77 g , 3.5 mmol ）を加えた。還流下で 5 時間攪拌後、この混合物を室温まで冷却し、塩基性の（ NaOH , $\text{pH } 10-11$ ）水に注ぎ入れた。1 時間後、沈殿した固体を濾過し、水（ $3 \times 25 \text{ mL}$ ）で洗い、空気乾燥した。オフホワイト結晶、収量 0.970 g （ 82% ）。 ^1H NMR（ $\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz ）, $\delta 8.24$ （s, 1H ）； 8.14 （s, 1H ）； 8.05 （s, 1H ）； $7.99-7.90$ （m, 4H ）； 7.63 （d, $J=7.5 \text{ Hz}$, 1H ）； $7.57-7.50$ （m, 2H ）； 5.51 （m, 2H ）； 3.92 （s, 3H ）。 10

【0216】

3-〔（2-ナフチル）メトキシ〕-5-ニトロベンズヒドラジド

メチル 3-〔（2-ナフチル）メトキシ〕-5-ニトロベンゾエート（ 0.97 g , 2.87 mmol ）とヒドラジン水和物（ 0.56 mL , 11.5 mmol ）を MeOH （ 50 mL ）に溶かした溶液を還流下で一夜攪拌した。沸騰混合物からの固体のヒドラジドの生成が朝観察された。混合物を冷却し、固体を濾過して空気乾燥した。緑っぽい白色板、収量 0.60 g （ 62% ）。 ^1H NMR（ $\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz ）, $\delta 10.15$ （br. s, 1H ）； 8.27 （s, 1H ）； $8.05-7.91$ （m, 6H ）； 7.63 （d, $J=7.5 \text{ Hz}$, 1H ）； $7.59-7.52$ （m, 2H ）； 5.48 （s, 2H ）； 4.66 （br. s, 2H ）。 20

【0217】

1-〔3-〔（2-ナフチル）メトキシ〕-5-ニトロベンゾイル〕-2-ベンゾイルヒドラジン

3-〔（2-ナフチル）メトキシ〕-5-ニトロベンズヒドラジド（ 0.30 g , 0.89 mmol ）とトリエチルアミン（ 0.14 mL , 0.98 mmol ）の DMA （ 25 mL ）溶液を室温で攪拌しながらベンゾイルブロマイド（ 0.11 mL , 0.89 mmol ）を加え、一夜攪拌を続けた。黄味がかった溶液を氷水（ 50 g ）上に注ぎ 24 時間置いた。生成した沈殿物を濾過し、水洗し、空気乾燥した。オフホワイト固体収量 0.34 g （ 87% ）。 ^1H NMR（ $\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz ）, $\delta 10.92$ （s, 1H ）； 10.66 （s, 1H ）； $8.12-7.89$ （m, 8H ）； $7.67-7.50$ （m, 6H ）； 5.53 （s, 2H ）。 30

【0218】

1-（3-ヒドロキシ-5-アミノベンゾイル）-2-ベンゾイルヒドラジン

1-〔3-〔（2-ナフチル）メトキシ〕-5-ニトロベンゾイル〕-2-ベンゾイルヒドラジン（ 0.34 g , 0.77 mmol ）、 Pd/C （ 10% , 0.35 g ）、 EtOH （ 10 mL ）の混合物を Parr 装置（ H_2 圧力 -30 psi ）中で室温で 1.5 時間水素化した。触媒を濾制し、濾液を真空中で濃縮して白色針状物のスラリーを得、これを濾過して EtOH （ $3 \times 24 \text{ mL}$ ）で洗浄した。収量 0.20 g （ 96% ）。 ^1H NMR（ $\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz ）, $\delta 10.37$ （s, 1H ）； 10.12 （s, 1H ）； 9.20 （s, 1H ）； 7.91 （d, $J=7.0 \text{ Hz}$, 2H ）； $7.62-7.48$ （m, 3H ）； 6.54 （s, 1H ）； 5.46 （s, 1H ）； 6.19 （s, 1H ）； 5.18 （br. s, 2H ）。 40

【0219】

1-ベンゾイル-2-〔3-〔（3-トリフルオロメチル）フェニル〕カルボニルアミノ-5-ヒドロキシ〕ベンゾイルヒドラジン（化合物例 15）

表題の化合物を反応機構 I の方法に従って 3-(トリフルオロメチル)ベンゾイルクロライドと上記のアミンの DMA 溶液から作製した。白色固体、収量 0.175 g (59%)。¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz), δ: 10.55 (s, 1H); 10.48 (s, 1H); 10.41 (s, 1H); 9.88 (s, 1H); 8.32 (s, 1H); 8.28 (d, J=7.5 Hz, 1H); 7.98 (d, J=8.0 Hz, 1H); 7.93 (d, J=8.0 Hz, 2H); 7.80 (t, J=8.0 Hz, 1H); 7.69 (s, 1H); 7.66-7.48 (m, 3H); 7.08 (s, 1H)。分析: 計算値: C₂₂H₁₆F₃N₃O₄ (0.4H₂O): C, 58.64; H, 3.76; N, 9.33。実測値: C, 58.62; H, 3.75; N, 9.31。

【0220】

10

実施例 7

化合物例 33 と 34 の合成

化合物例 33 と 34 を下記の反応機構 VII に従って作製した。

【0221】

4-ブロモ-3-ニトロフェノール

1-ブロモ-4-メトキシ-2-ニトロベンゼン (2.32 g, 10 mmol) の 75 mL ジクロロメタン水溶液を 0℃ で攪拌しながら BBr₃ 溶液 (DCM 中 1 M, 12 mL, 12 mmol) を滴下して加えた。この溶液を室温に温め 16 時間攪拌した。GC/MS が出発物質がまだ残っていることを示したので 12 mL の BBr₃ 溶液をさらに加え、この反応混合物を 4 時間還流した。この反応混合物を氷で冷却し、水で急冷した。飽和 NaHCO₃ (aq) とブラインで連続して洗浄後、有機物層を MgSO₄ 上で乾燥し、濾過し、蒸発させた。残った黄色団体をフラッシュクロマトグラフィー (25% EtOAc/ヘキサン) し、1.5 g の生成物を (69%) 収率で淡黄色団体として得た。MS (EI) m/z 218 (M⁺)。

20

【0222】

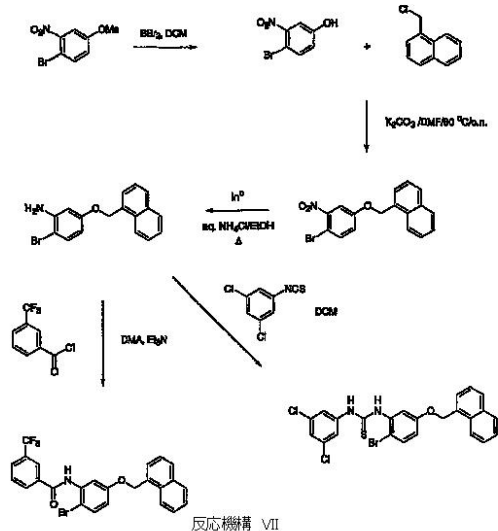
1-ブロモ-4-(2-ナフチルメトキシ)-2-ニトロベンジン

4-ブロモ-3-ニトロフェノール (1.5 g, 6.9 mmol)、1-(クロロメチル)ナフチレン (1.34 g, 7.6 mmol) 及び K₂CO₃ (1.05 g, 7.6 mmol) を 50 mL の乾燥 DMF 溶液を 80℃ で 16 時間窒素下で加熱した。この混合物を冷却し、濾過し、蒸発させた。残渣を酢酸エテル (~75 mL) に取り、水とブラインで連続的に洗浄した。この有機物相を MgSO₄ で乾燥し、濾過し、蒸発させた。フラッシュクロマトグラフィー (20% EtOAc/ヘキサン) で 2.0 g の生成物を収率 (81%) で淡黄色固体として得た。MS (EI) m/z 358 (M⁺)。

30

【0223】

【化 40】



40

50

【0224】

2-ブロモ-5-(ナフチルメトキシ)フェニルアミン

ニトロエーテル(1.0g、2.8mmol)を10mLの絶対エタノールに溶かした溶液に飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}_{(\text{aq})}$ (3mL)とインジウム粉末(2.0g、17.4mmol)を加えた。この混合物を還流下で4時間激しく攪拌した。この反応混合物を熱いうちにセライトで濾過し、このセライトを酢酸エチルで十分に洗浄した。有機物相を水とブラインで洗って、 MgSO_4 で乾燥し、濾過し、蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(25% EtOAc/ヘキサン)を行って0.7gの生成物を収率(76%)で淡黄色固体として行った。MS(EI)m/z 328(M^+)。

【0225】

N-[2-ブロモ-5-(ナフチルメトキシ)フェニル][3-(トリフルオロメチル)フェニル]ホルミアミドマミド(化合物例34)

2-ブロモ-5-(2-ナフチルメトキシ)フェニルアミン(100mg、0.3mmol)及び、3-(トリフルオロメチル)ベンゾイルクロライド(63mg、0.3mmol)をトリエチルアミン(0.5mg、3.6mmol)を含む10mLのジメチルアセトアミドに溶かした溶液を16時間攪拌し、酢酸エチル/ヘキサシから再結晶して5.2mgの化合物例34を白色針状物として得た。mp 125-127°C。 ^1H NMR(400 MHz、 $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 5.59(s, 2H); 7.05-8.33(m, 14H); 10.35(s, 1H) 分析: 計算値 $\text{C}_{25}\text{H}_{17}\text{BrF}_3\text{NO}_2$: C、60.02; H、3.42; N、2.80 実測値C、60.15; H、3.52; N、2.73。

【0226】

[(3,5-ジクロロフェニル)アミノ]{[2-ブロモ-5-(ナフチルメトキシ)フェニル]アミノ}メタン-1-チオン(化合物例33)

2-ブロモ-5-(2-ナフチルメトキシ)フェニルアミン(100mg、0.3mmol)と3,5-ジクロロフェニルイソチオシアネート(60mg、0.3mmol)を10mLのジクロロメタンに溶かした溶液を室温で16時間攪拌した。この反応混合物を蒸発乾燥して、残渣を酢酸エチル/ヘキサンから再結晶して60mgの生成物を収率(38%)で白色固体として得た。mp 149-151°C。 ^1H NMR(400 MHz、 $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 5.56(s, 2H); 7.02(dd, 1H, $J=3.0, 8.9$); 7.29(d, 1H, $J=3.0$); 7.35(t, 1H, $J=1.8$); 7.49-7.69(m, 7H); 7.93-7.99(m, 2H); 8.07-8.10(m, 1H) 9.78(s, 1H); 10.10(s, 1H) 分析: 計算値: $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{BrCl}_2\text{N}_2\text{OS}$: C、54.16; H、3.22; N、5.26; S、6.02; Cl、13.32; Br、15.01。実測値: C、54.17; H、3.32; N、5.28; S、6.10; Cl、13.31; Br、15.00。

【0227】

実施例8

化合物例45と46の作製

化合物例45と46を下記の反応機構VIIIIに従って作製した。

【0228】

3-[(3,5-ジクロロフェノキシ)メチル]-4-メトキシフェニルアミン塩酸塩

【0229】

2-ブロモメチル-1-メトキシ-4-ニトロベンゼン(2.46g、0.01M)、3,5-ジクロロフェニル(1.79g、0.011M)及び炭酸カリウム(2.07g、0.015M)をアセトン(150mL)に入れた混合物を5分間激しく攪拌し、次いでジシクロヘキサノ-18-クラウン-6(80mg)を加えて、全体を攪拌しつつ還流した。4時間後、この混合物を室温に冷却し、一夜攪拌を続けた。溶媒を真空中で蒸発させた。黄色がかった白色の固体を水(200mL)でこねて30分間攪拌した。液体を逆濾過を用いてフラスコから除き、残った固体をEtOH(75mL)で希釈した。この懸濁液に湿ラネーニッケル(2.0g)を加えて、全体を60°Cまで加熱した。ヒトラ

10

20

30

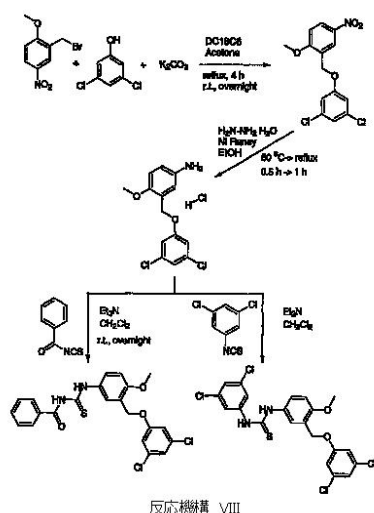
40

50

ジン水和物（100%，2.0 mL）をEtOH（5 mL）に溶かした溶液を攪拌しながら30分以内に滴下して加えた。混合物が透明になったらできるだけ早く還流し1時間攪拌しながらこれを続けた。この溶液を室温まで冷却し、触媒を傾浮して、真空中で濃縮した。油状残渣をMeOH（30 mL）に溶解して濃HCl（12 mL）で処理した。生成した懸濁液をフリーザー内に一夜置き、次いで濾過した。微細結晶、収量1.55 g 濾液は真空中で濃縮し、生成した沈殿物を濾過して、さらに生成物（0.410 g）を得た。表題化合物の合計収量は1.960 g（59%）となった。

【0230】

【化41】



10

20

【0231】

1-[3-(3,5-ジクロロフェノキシ)メチル-4-メトキシフェニル]-3-ベンゾイルチオウレア（化合物例46）

上記のアミン塩酸塩（0.167 g, 0.5 mmol）（30 mL）に懸濁させた懸濁液をトリエチルアミン（0.076 mL, 0.55 mmol）で室温で処理し短時間（10 min）攪拌し、次いでベンゾイルイソチオシアネート（0.067 mL, 0.5 mmol）を生成した溶液に一度に加えた。一夜攪拌を続けた。水（50 mL）をこの混合物に加え、抽出と有機物層の分離を行ってから溶媒を真空中で蒸発させ、得られた固体をジメチルエーテル：ヘキサン混合物でこね、濾過した。収量0.130 g（56%）。黄色結晶，m. p. 167-169 °C。¹H NMR（DMSO-d₆, 400 MHz）δ：12.45（s, 1H）；11.53（s, 1H）；7.98（d, J=8.5 Hz, 2H）；7.69-7.61（m, 3H）；7.56-7.51（m, 2H）；7.18-7.09（m, 4H）；5.12（s, 2H）；3.86（s, 3H）。分析：計算値：C₂₂H₁₈Cl₂N₂O₃S：C, 57.27；H, 3.93；N, 6.07。実測値：C, 56.90；H, 4.01；N, 6.13

30

【0232】

1-[3-(3,5-ジクロロフェノキシ)メチル-4-メトキシフェニル]-3-(3,5-ジクロロフェニル)チオウレア（混合物例45）

工程1からのアミン塩酸塩（0.167 g, 0.5 mmol）のジクロロメタン（30 mL）懸濁液をトリエチルアミン（0.076 mL, 0.55 mmol）で室温で処理し、短時間（10 min）攪拌し、次いで3,5-ジクロロフェニルイソチオシアネート（0.102 g, 0.5 mmol）を生成した溶液に一度に加えた。攪拌を一夜続けた。水（50 mL）をこの混合物に加え、抽出と有機物層の分離を行ってから溶媒を真空中で蒸発させ、得られた固体をジエチルエーテル：ヘキサン混合物でこねて、濾過した。収量0.145 g（57%）。ピンク色微細結晶，m. p. 172-173 °C（dec.）。¹H NMR（DMSO-d₆, 400 MHz）δ：9.97（s, 1H）；9.85（s, 1H）；7.60（s, 2H）；7.40-7.35（m, 2H）；7.30（s, 1H）

40

50

; 7.14 (s, 1H); 7.11 (s, 2H); 7.09–7.04 (m, 1H); 5.10 (s, 2H); 3.83 (s, 3H)。分析：計算値：C₂₁H₁₆Cl₄N₂O₂S：C, 50.22; H, 3.21; N, 5.58。実測値：C, 50.29; H, 3.29; N, 5.49

【0233】

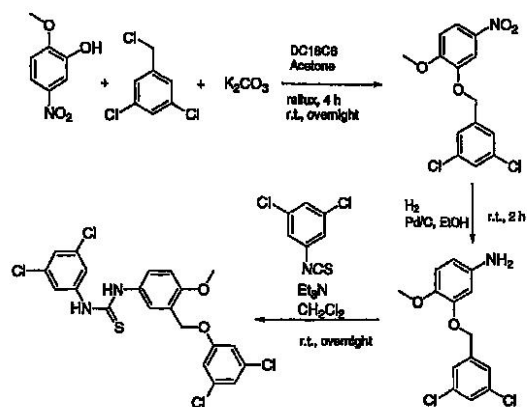
実施例 9

化合物例 28 の作製

化合物例 28 を下記の反応機構 I X に従って作製した。

【0234】

【化 4 2】



反応機構 IX

10

20

【0235】

3-[(3,5-ジクロロフェニル)メトキシ]-4-メトキシフェニルアミン
表題化合物を3-ニトロ-5-メキシフェニルと3,5-ジクロロベンジルクロライドから出発して反応機構 V I I I の方法に従って作製した。

【0236】

1-(3,5-ジクロロフェニル)-3-[3-(3,5-ジクロロベンジルオキシ)-4-メトキシフェニル]ウレア (化合物例 28)

30

3-[(3,5-ジクロロフェニル)メトキシ]-4-メトキシフェニルアミン (0.596 g, 2 mmol) をジクロロメタル (30 mL) に溶かした水溶液を攪拌しながら3,5-ジクロロフェニルイソチオシアネート (0.408 g, 2 mmol) を一度に加えた。攪拌を一夜続けた。水 (100 mL) をこの混合物に加え、抽出と有機物層の分離を行ってから、溶媒を真空中で蒸発させ、得られた固体をジエチルエーテル：ヘキサン混合物でこねて濾過した。収率 0.273 g (27%)。白色微細結晶, m. p. 154–155 °C (dec.); ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 9.67 (s, 1H); 9.74 (s, 1H); 7.59 (s, 2H); 7.53 (s, 1H); 7.48 (s, 2H); 7.30 (s, 1H); 7.11 (s, 1H); 7.00 (d, J = 8.5 Hz, 1H); 6.92 (dd, J = 9.0 及び 2.5 Hz, 1H); 5.10 (s, 2H); 3.79 (s, 3H) 分析：計算値：C, 50.22; H, 3.21; N, 5.58。実測値：C, 50.50; H, 3.45; N, 5.56。

40

【0237】

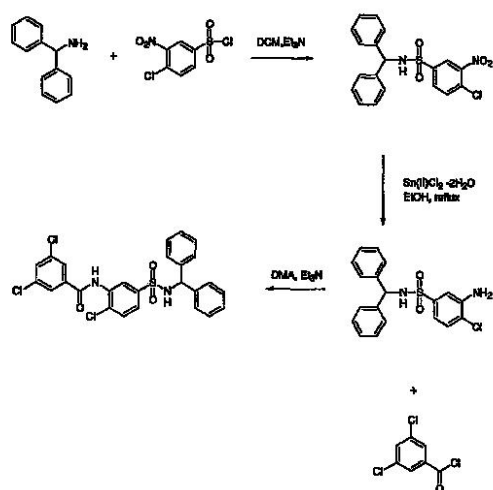
実施例 10

化合物例 52 の作製

化合物例 52 を下記の反応機構に従って作製した。

【0238】

【化 4 3】



反応機構 ×

10

【0239】

(ジフェニル) [(4-クロロ-3-ニトロフェニル) スルホニル] アミン
 アミノジフェニルメタン (1.9 g, 11 mmol) と 4-クロロ-3-ニトロベンゼン
 スルホニルクロライド (2.56 g, 10 mmol) を 75 mL のジクロロメタンに溶か
 した溶液を攪拌しつつトリエチルアミン (2 mL, 14.4 mmol) を加えた。この溶
 液を 16 時間攪拌した。この反応混合物を 1 M HCl とブラインで連続して濾過した。 20
 有機物層を MgSO₄ で乾燥し、濾過して蒸発させた。

得られた黄色個体を酢酸エチル／ヘキサンから再結晶して 2.98 g の生成物を (74 %)
) 収率で淡黄色結晶として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.34
 (d, 1H, J = 7.0 Hz)、5.73 (d, 1H, J = 7.0 Hz) ; 7.11–7.
 14 (m, 4H) ; 7.23–7.26 (m, 6H) ; 7.43 (d, 1H, J = 8.
 5 Hz) ; 7.67 (dd, 1H, J = 2.0, 8.5 Hz) ; 7.93 (d, 1H, J
 = 2.0 Hz)。

【0240】

[(3-アミノ-4-クロロフェニル) スルホニル] (ジフェニルメチル) アミン
 工程 1 からのニトロ化合物 (2.0 g, 5 mmol) と Sn(II)Cl₂ 水和物 (5. 30
 5 g, 24.4 mmol) を 50 mL の絶対エタノールに溶かした溶液を窒素の下で 1 時
 間還流した。この反応混合物を氷上に注ぎ、固体の NaHCO₃ で中和し、酢酸エチルで
 抽出した。有機物相をブラインで洗い、MgSO₄ で乾燥し、濾過して蒸発させ、1.7
 g の生成物 (92 %) を白色結晶性固体として得、これをさらに精製することはしなかつ
 た。MS (EI) m/z 372 (M⁺)。

【0241】

(3, 5-ジクロロフェニル) -N- (5- { [(ジフェニルメチル) アミノ] スルホニ
 ル} -2-クロロフェニル) ホルムアミド (混合物例 52)

(570 mg, 1.53 mmol) と 3, 5-ジクロロベンゾイルクロライド (340 m
 g, 1.62 mmol) を 10 mL のジメチルアセトアミドに溶かした溶液にトリエチル 40
 アミン (1 mL, 7.17 mmol) を加えた。この溶液を室温で 16 時間攪拌した。こ
 の反応混合物を次いで氷上に注ぎ、生成した沈殿物を濾過して集めた。水で十分に洗浄し
 、乾燥後、この固体を酢酸エチル／ヘキサンから再結晶して 600 mg の生成物を (71
 %) の収率で淡橙色結晶として得た。m. p. 196–198 °C。¹H NMR (400
 MHz, CDCl₃) δ 5.21 (d, 1H, J = 7.5 Hz) ; 5.69 (d, 1H
 , J = 7.5 Hz) ; 7.14–7.24 (m, 10H) ; 7.33–7.39 (m, 2
 H) ; 7.61 (t, 1H, J = 1.8 Hz) ; 7.75 (d, 2H, J = 1.8 Hz)
 ; 8.22 (bs, 1H) ; 8.84 (d, 1H, 2.0 Hz)。分析：計算値：C₂₆H
 19Cl₃N₂O₃S : C, 57.21 ; H, 3.51 ; N, 5.13 ; Cl, 19.48 ;
 S, 5.87。実測値：C, 57.39 ; H, 3.54 ; N, 5.16 ; Cl, 19.4 50

0 ; S , 5 . 7 4 。

【 0 2 4 2 】

実施例 1 1

化合物例 5 1 の合成

化合物例 5 1 を下記の反応機構 X I に記載したようにして作製した。

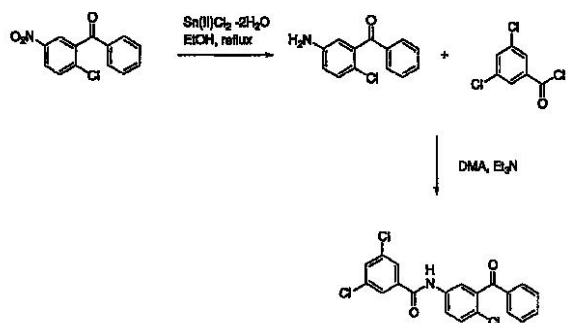
【 0 2 4 3 】

3-アミノ-6-クロロフェニル フェニル ケトン

2-クロロ-5-ニトロフェニルケトン (5.5 g, 21.0 mmol) と Sn (II) Cl₂ 水和物 (23.7 g, 107 mmol) を 200 mL の絶対エタノールに入れて 2 時間還流し、4.9 g の生成物を (100%) の収率で橙色オイルとして得た。この物質をさらに精製することなく用いた。MS (EI) m/z 231 (M⁺)。 10

【 0 2 4 4 】

【 化 4 4 】



反応機構 X I

20

【 0 2 4 5 】

(3, 5-ジクロロフェニル) - N - [4-クロロ-3-(フェニルカルボナル) フェニル] ホルムアミド (化合物例 5 1) を化合物例 5 2 の作製に用いたのと同じ実験条件 (上記の反応機構 X I) を用いて作製した。

【 0 2 4 6 】

3-アミノ-6-クロロフェニル フェニル ケトン (1.62 g, 7 mmol) と 3, 5-ジクロロベンゾイルクロライド (1.5 g, 7.2 mmol) をトリエチルアミン (2 mL, 14.4 mmol) を含む 25 mL のジトシルアセトアミドに入れて 16 時間攪拌し、酢酸エチルアセテート / ヘキサンから再結晶して 2.1 g の生成物を (収率: 74%) を綿状の白色針状物として得た。m. p. 171-173 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.64 (m, 6H); 7.73 (d, 2H, J = 1.9 Hz); 7.82-7.85 (m, 3H); 7.95 (bs, 1H)。分析: 計算値: C₂₀H₁₂Cl₃NO₂: C, 59.36; H, 2.99; N, 3.46; Cl, 26.28。実測値: C, 59.55; H, 3.06; N, 3.50; Cl, 26.11。 30

【 0 2 4 7 】

実施例 1 2

化合物例 5 0 の作製

化合物例 5 0 を下記の反応機構 X I I に従って作製した。

【 0 2 4 8 】

1-メトキシ-2-(2-ナフチルエトキン)-4-ニトロベンゼン

Ph₃P (9.3 g, 35.5 mmol) と 1-ナフチレンエタノール (6.1 g, 35.5 mmol) を 250 mL の THF に溶かした溶液を攪拌し冷却 (氷中) しながら DEAD (6.18 g, 35.5 mmol) を 50 mL の THF に溶かした溶液を滴下して加えた。この水溶液を 0.5 時間攪拌し、2-メトキシ-5-ニトロフェノール (5.0 g, 29.6 mmol) を 50 mL の THF に溶かした溶液を滴下して加えた。この反応混合物を室温に温め、48 時間攪拌した。この反応混合物を蒸発させて得た褐色のオイルを 50

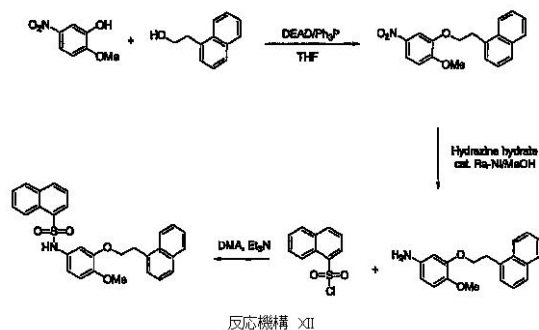
40

50

エーテル (200 mL) にとり僅かに曇るまでヘキサンを加えた。この混合物を晶析が起こるまで室温に保ち、一夜冷蔵庫に入れた。得られた固体を濾過し、エーテル／ヘキサン (1 : 2) に洗浄し、乾燥して ~18 g の淡褐色固体を得た。GC/MS はこの固体が生成物のみを含んでおり、これがトリフェニルホスフィンオキサイドであることを示した。この固体を ~150 mL の酢酸エチルに溶かし、室温まで冷却してから、シリカゲル (~300 g) で吸引濾過し、酢酸エチル／ヘキサン (1 : 5) で溶出した。約 ~1 L の溶媒を集めた後、蒸発させて 4.80 g の生成物を (50%) の収率で淡黄色粉末として得た。MS (EI) m/z 323 (M^+)。

【0249】

【化45】



10

20

【0250】

4-メキトシ-3-(2-ナフチルエトキシ)フェニルラミネ

上記のニトロ化合物 (2.0 g, 6.18 mmol) とヒトラジン水和物 (1.5 mL, 30.9 mmol) を 100 mL のメタノールに溶かした溶液を還流近くまで温めた。スパチュラ先端一杯のラネーニッケル解媒 (50% 水中に懸濁) を加え、この溶液を直ちに泡立たせた。この混合物を 0.5 時間還流した。反応が進行し、色が黄色から無色に変わった。この反応混合物を冷却し、セライトで濾過し、蒸発させた。得られた残渣を酢酸エチルに再溶解し、ブラインで洗い、 $MgSO_4$ で乾燥し、濾過し、蒸発させて 1.5 g の生成物 (88%) を淡褐色オイルとして得、そのまま置いて結晶化させた。この固体はさらに精製はしなかった。 ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.38 (bs, 2 H); 3.64 (t, 2 H, $J=8.0$ Hz); 3.79 (s, 3 H), 4.29 (t, 2 H, $J=8.0$ Hz), 6.22-6.28 (m, 2 H); 6.73 (d, 1 H, $J=8.0$), 7.40-7.54 (m, 4 H), 7.74-7.77 (m, 1 H), 7.86-7.88 (m, 1 H), 8.11 (d, 1 H, $J=8.5$ Hz); MS (EI) m/z 293 (M^+)。

30

【0251】

[4-メトキシ-3-(2-ナフチルエトキシ)フェニル] (ナフチルスルホニル) アミン (化合物例 50)

工程 2 からのアニン (250 mg, 0.85 mmol) と 1-ナフチレンスルホニルクロライド (190 mg, 0.85 mmol) を 10 mL のジメチルアセトアミドに溶かした溶液を攪拌しながらトリエチルアミン (1 mL, 7.17 mmol) を加えた。この溶液を室温で 16 時間攪拌した。この反応混合物を次いで氷上に注いだ。得られたオイルを酢酸エチルで抽出し、1 M HCl , 飽和 $NaHCO_3$ (aq) そしてブラインで連続的に洗った。有機物相を $MgSO_4$ で乾燥し、濾過し、蒸発させて白色の泡を得た。この泡をエーテル／ヘキサンに入れ、激しく攪拌して晶析させた。得られた個体を酢酸エチル／ヘキサンから再結晶して 330 mg の生成物 (80%) の収率でベージュ結晶として得た。mp 127-131 °C。 ^1H NMR (400 MHz, Me_2SO-d_6) δ 3.36 (t, 2 H, $J=7.1$); 3.57 (s, 3 H); 3.92 (t, 2 H, $J=7.1$); 6.48-6.50 (m, 2 H); 6.70-6.72 (m, 1 H); 7.34-8.07 (m, 13 H); 8.68 (d, 1 H, $J=8.6$); 10.21 (s, 1 H)。分析

40

50

：計算値：C₂₉H₂₅N₂O₄S：C，72.03；H，5.21，N，2.90；s，6.63。実測値：C，71.39；H，5.23；N，2.88；S，6.62。

【0252】

実施例13

化合物例47、48及び49の作製

化合物47、48と49を下記の反応機構XIIIに従って作製した。

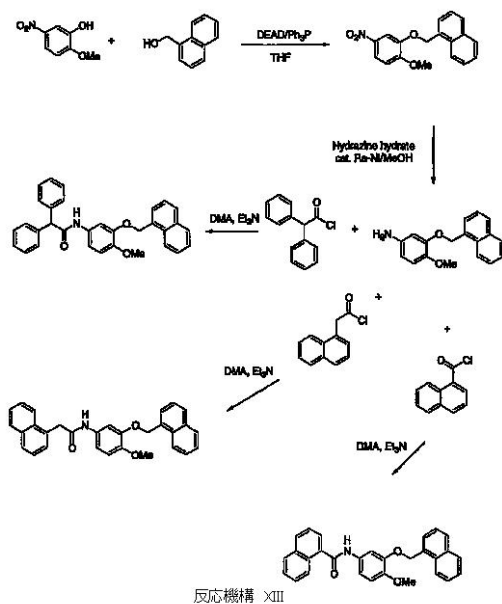
【0253】

1-メトキシ-2-(ナフチルエトキシ)-4-ニトロベンゼン

ニトロエーテルを反応機構XIIIに記載されているのと同じ実験条件を用いて作製した。2-メトキシ-5-ニトロフェニル (5.0 g, 29.6 mmol)、1-ナフチレンメタノール (5.62 g, 35.5 mmol)、Ph₃P (9.3 g, 35.5 mmol) 及びDEAD (6.18 g, 35.5 mmol) を250 mLのTHFに入れて室温で48時間攪拌し、10.4 gの粗製生成物を分離した。この固体を酢酸エチルから再結晶して3.8 gの生成物質を(42%)の収率で淡黄色針状物として得た。MS (EI) m/z 309 (M⁺)。 10

【0254】

【化46】



20

30

【0255】

4-メトキシ-3-(2-ナフチルエトキシ)フェニルアミンを反応機構VIIに記載したのと同じ実験条件を用いて作製した。1-メトキシ-2-(ナフチルメトキシ)-4-ニトロベンゼン (3.8 g, 12.3 mmol)、ヒドラジン水和物 (3.1 g, 61.4 mmol) 及び触媒量のラネーニッケルを100 mLのメタノールに加え0.5時間還流して3.5 gの生成物を(100%)の収率で褐色オイルとして得、これを放置して結晶化させた。MS (EI) m/z 279 (M⁺)。 40

【0256】

N-[4-メトキシ-3-(ナフチルメトキシ)フェニル]-2,2-ジフェルエタナミド(化合物例49)を例52の作製(反応機構X)で用いたのと同じ実験条件で作製した。4-メトキシ-3-(2-ナフチルエトキシ)フェニルアミン (350 mg, 1.25 mmol) とジフェルアセチルクロライド (290 mg, 1.25 mmol) をトリエチルアミン (1 mL, 7.17 mmol) を含む10 mLのジメチルアセトアミドに入れて室温で16時間攪拌し、酢酸エチル/ヘキサンから再結晶して375 mgの生成物を(64%)の収率で白色固体を得た。mp 170-172 °C。¹H NMR (400 MHz, Me₂SO-d₆) δ 3.69 (s, 3H); 5.13 (s, 1H); 5.46 (s, 50

2 H) ; 6. 93 (d, 1 H, J = 8. 7) ; 7. 20 – 7. 37 (m, 10 H) ; 7. 50 – 7. 65 (m, 5 H) ; 7. 94 – 8. 09 (m, 3 H) ; 10. 28 (s, 1 H) 。分析：計算値：C₃₂H₂₇NO₃ : C, 81. 16 ; H, 5. 75 ; N, 2. 96。実測値：C, 80. 95 ; H, 5. 76 ; N, 3. 03。

【0257】

N – [4 – メトキシ – 3 – (ナフチルメトキシ) フェニル] – 2 – ナフチルエタナミド (化合物例 48) を化合物例 52 (上記の反応機構 X) の作製に用いたのと同じ実験条件を用いて作製した。4 – メトキシ – 3 – (2 – ナフチルエトキシ) フェニルアミン (350 mg, 1. 25 mmol) と 1 – ナフチルアセチルクロライド (260 mg, 1. 25 mmol) をトリエチルアミン (1 mL, 7. 17 mmol) を含む 10 mL のジメチルアセトアミドに入れて室温で 16 時間攪拌して 370 mg の生成物を (66 %) の収率でオフホワイトの針状物として得た。mp 161 – 163 °C。¹H NMR (400 MHz, Me₂SO-d₆) δ 3. 69 (s, 3 H) ; 4. 11 (s, 2 H) ; 5. 45 (s, 2 H) ; 6. 93 (d, 1 H, J = 8. 8) ; 7. 18 (dd, 1 H, J = 2. 3, 8. 7) ; 7. 46 – 7. 64 (m, 9 H) ; 7. 82 – 8. 15 (m, 6 H) ; 10. 20 (s, 1 H) 。分析：計算値：C₃₀H₂₅NO₃ : C, 80. 51 ; H, 5. 63 ; N, 3. 13。実測値：C, 80. 38 ; H, 5. 70 ; N, 3. 12。

【0258】

N – [4 – メトキシ – 3 – (ナフチルメトキシ) フェニル] ナフチルホルムアミド (化合物例 47) を化合物例 52 (上記の反応機構 X) の作製に用いたのと同じ実験条件を用いて作製した。4 – メトキシ – 3 – (2 – ナフチルエトキシ) フェニルアミン (350 mg, 1. 25 mmol) と 1 – ナフトイルクロライド (240 mg, 1. 25 mmol) をトリエチルアミン (1 mL, 7. 17 mmol) を含む 10 mL のジメチルアセトアミドを室温で 16 時間攪拌し、酢酸エチル / ヘキサンから再結晶して 280 mg の生成物を (52 %) の収率で白色針状物として得た。mp 161 – 163 °C, ¹H NMR (400 MHz, Me₂SO-d₆) δ 3. 74 (s, 2 H) ; 7. 01 (d, 1 H, J = 8. 8) ; 7. 43 (dd, 1 H, J = 2. 3, 8. 7) ; 7. 51 – 7. 74 (m, 9 H) ; 7. 94 – 8. 21 (m, 6 H) ; 10. 43 (s, 1 H) 。分析：計算値：C₂₉H₂₃NO₃ : C, 80. 35 ; H, 5. 35 ; N, 3. 23。実測値：80. 25 ; H, 5. 39 ; N, 3. 19。

【0259】

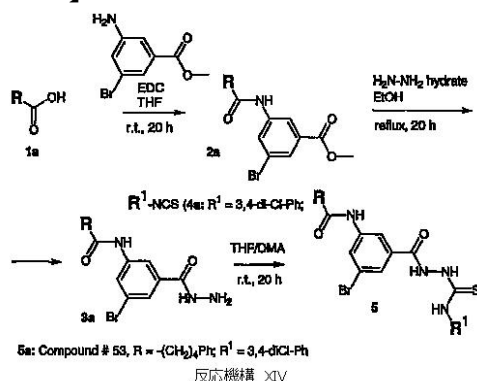
実施例 14

化合物例 53

化合物例 53 を下記の反応機構 XIV の方法に従って作製した。

【0260】

【化 47】



【0261】

3 – (アクリルアミノ) – 5 – ブロモ安息香酸メチルエステル (反応機構 XIV)

2 a 対応する酸 1 a (5 mmol)、メチル 3 – アミノ – 5 – ブロモベンソエート (5 mmol) 50

mol) 及び 1- [3- (ジメチルアミノ) プロピル] - 3- エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDC, 5.7 mmol) を乾燥 THF (30 mL) に入れた混合物を室温で 20 時間攪拌する。その全体を氷水混合物 (100 g) 上に注ぎ、2 時間放置する。生成物をメチレンクロライド (75 mL) で抽出する。有機物質を分離し、乾燥 (Na_2SO_4 無水物) して、溶媒を真空中で蒸発させる。生成物の外観によって、そのまま (固体) 用い、あるいは EtOAc : ヘキサン 1 : 2 を溶出素とするシリカゲルを用いた。カラムクロマトグラフィーにさらにかける (オイル)。

【0262】

3- (アシルアミノ) - 5- ブロモ安息香酸ヒドラジド (反応機構 XIV, 3a)。対応するエステル 2a (5 mmol) ヒドラジン水和物 (8 mL) をプロパノール-2 又はエタノール (100 mL) と水 (1 mL) の混合物に溶かした溶液を 20 時間攪拌と還流を行う。溶媒を真空中で蒸発させてエタノールの最小量 (5-8 mL) でこね、濾過し、空気乾燥して黄色がかった白色の固体を得る。

10

【0263】

1- {3- [(5-フェノル) バレロイルアミノ] - 5- ブロモベンゾイル} - 4- (3, 4-ジクロロフェニル) チオセミカルボジド (化合物例 53; 反応機構 XIV の 5a) ヒドラジド 3a (0.3 mmol) を THF (4 mL) と DMA (1 mL) の混合物に溶かした溶液を攪拌しつつイソチオシアネート 4a (0.043 mL, 0.3 mmol) を THF (1 mL) に溶かした溶液を一度に加える。全体を 18 時間攪拌し、氷水に注ぐ。生成した残渣を濾過し、EtOH 水溶液から再結晶して化合物 53 を得る。

20

【0264】

実施例 15

ロタマーゼ (プロリルペプチジル シスートランスイソメラーゼ) 活性阻害の測定

この分野では沢山のロタマーゼ基質が知られ、また公知のそれらから導き出すことができる。一般的には、基質をロタマーゼ活性を有する蛋白を含む試料と接触させ、この基質の変化を一定時間後に検出する。この基質の変化を検出する方法は選択した個々の基質によって変わるであろう。1つの方法は Ki テストと命名されている (ハードリングら, Nature, 341: 758-760 (1989) 及びホルトラ, J. Am. (Lem. Soc. 115: 9923-9938 参照)。モデル基質、N-サクシニル-Ala-Ala-Pro-Phe-p-ニトロアニリド及びホルトラ, J. Am. (hem. Soc. 115: 9923-9938) 中のアラニン-プロリン結合のシスートランス異性化を、キモトリプシン結合アッセイで分光測光法で追跡する。キモトリプシンの作用は基質のトランス型からのみ p-ニトロアニリンを放出する。p-ニトロアニリンの量は、例えば、分光光度計で追跡することができる。p-ニトロアニリンの存在を検出する他の方法を用いることもできる。阻害剤の異なる濃度ごとのこの反応の阻害度を求め、そのデータは阻害剤の濃度を関数として、Ki 値を生み出す一次反応速度定数の変化として解析される。

30

【0265】

950 mL の氷冷アッセイ緩衝液 (25 mM HEPES, pH 7.8, 100 mM NaCl)、10 μ l の CyPA (2.5 μ M, 10 mM トリス塩酸 pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM ジチオスレイトール中)、25 μ l のキモトリプシン (50 mg/mL, 1 mM HCl 中)、及び各種濃度でジメチルスルホキシドに溶かしたテスト化合物 10 μ l をプラスチック製キュベットに入れた。これに 5 μ l の基質 (5 mg/mL のサクシニル-Ala-Phe-Pro-Phe-パラニトロアニリド、トリフルオロエタノールに溶かした 470 mM LiCl に溶解) を加えて反応を開始させた。390 nm での吸光度の時間変化を分光光度計を用いて 90 秒間追跡し、反応速度定数を吸光度と時間のデータファイルから求めた。

40

【0266】

下記の表 A 中の代表的化合物で得られた IC_{50} 値は試料中のロタマーゼ活性の 50% を抑制する濃度を意味する。

【0267】

50

【表 1】

表 A

化合物	I C ₅₀ (nM)	化合物	I C ₅₀ (nM)
13	456	37	1,200
15	18,700	38	736
20	153	41	1,370
21	490	42	230*
25	297	43	377*
26	909	44	374*
27	214*	45	609*
28	914*	46	3,770*
29	10,000*	47	1,220*
31	1,580/3,530*	48	1,190*
32	164/102*	49	1,020*
33	707*	50	1,978*
34	1,700/12,000*	51	1,550*
35	1,310*	52	861*
36	609*		

10

20

【0268】

値が低い程、化合物はCyPと結合しあるいは相互作用する活性が大きい。用いられたサイクロフィリンはヒトリコンビナントCyPAであった。[ヨーラ, J. Mol. Biol., 269 (1997) 780-95]。星印は、化合物がリコンビナントCyPA-GST融合蛋白を用いて評価されたものであることを示している。CyPAは標準のPCR法を用いて、次の配列：5' CCC CCC GGG AGT CAA CCC CAC CGT GTT CTT CGA 3' 及び5' GGA GAT CTA GA G TTG TCC ACA GTC GGA GAT GGT 3' で初めて抗原刺激を受けたラット脳cDNAから拡大されたものである。得られたフラグメント(573塩基対)はpCRIIにクローン化し、拡大した。このCyP配列はSmaIとEcoRIで切り出し、pGEX2TK(ファルマシア社製)のSmaI/EcoRI部位にクローン化した。このプラスミドGST-CyPA融合蛋白を発現するBL21 E. coli細胞中に形質転換した。

30

【0269】

実施例16

ロタマーゼ活性阻害の半自動化アッセイ

ロタマーゼ抑制を、上述のアッセイを改良した半自動化したマイクロタイタープレートアッセイを用いて定量した[キュラレッツら, Clin. Chem. 44, 502-508 (1998) 参照]。CyPA、ペプチド基質及びキモトリプシンの希釈は全て氷冷35 mM HEPES緩衝液で行った。50 µlのCyPA溶液を、(ヒトリコンビナントCyPの濃度が、CyPAとテスト化合物がなく、ペプチド基質がキモトリプシンのみによって分解される、触媒作用のない対照反応と比較して反応速度が3倍になるように調整されている。) ガラス製のマイクロタイターウエルプレート内の50 µlのペプチド基質溶液(Phe-Pro-Phe-p-ニトロアニリド, 0.16 mg/ml)に加える。Backman Multimek 96(商標名)自動化96-チャンネルピペッターを用いて、5 µlのテスト化合物溶液あるいはDMSOブランクを各々のウエルに加え、4℃で30分間ブレインキュベーションした。100 µlのキモトリプシン溶液(1 mg/

40

50

ml) を各ウェルに加え、390nmの吸光度の経時変化を4℃に維持したBio Rad Ultramark プレートリーダーで9-10分間追跡し、反応速度定数を吸光度と時間のデータファイルから決定した。

【0270】

代表的な化合物について得られたIC₅₀値を下記の表Bに示す。用いたサイクロフィリンはヒトリコンビナートCyPAであった。星印は、化合物がリコンビナントラットCyPA-GST融合蛋白を用いて評価されたものであることを示している。(前の実施例15参照)。

【0271】

【表2】

表 B

化合物	IC ₅₀ (nM)	化合物	IC ₅₀ (nM)
1	2,940	18	1,320
2	15,900	19	2,800
3	3,420	20	499
4	833	21	1,730
5	1,300	22	4,710
6	3,790	23	7,850
7	2,110	24	7,170
8	4,760	25	2,030
9	1,580	26	2,540
10	933	30	10,000
11	807	31	6,940*
12	7,710	32	51.5/91.7*
13	1,370	34	9,720*
14	15,100	35	353*
15	9,100	39	1,120
16	n. d.	40	719
17	1,980	43	287*
		53	392

【0272】

一方、CyPAがこれらの実施例で使用されたが、他のCyP蛋白と替えることもできる。同様の方法を、FKBPなどの他のイムノフィリンに用いてFKBP結合活性の有無を実証するのに用いることができる。

【0273】

本発明の化合物の神経活性の測定

前述のように、本発明の化合物の生物学的活性のアッセイに用いることができる。これらのアッセイはインビボあるいはインビトロの方法であってもよい。以下の実施例は、有毒な取扱いからの神経細胞を保護する化合物の能力と、神経細胞の成長、再生あるいは神経突起の伸長を誘発する化合物の能力のアッセイを示すものである。

【0274】

実施例17

脊髄神経節調製における免疫染色と神経突起派生の定量化

成年マウスから脊髄神経節(DRG)を顕微解剖により分取できる。成年マウス(15-20g)からのDRGを取付けた脊髄を取除いた。脊髄神経を顕微解剖ばさみで切放し、DRGが自由になるまで余計な物質を切取る。鋭い顕微解剖ばさみで末梢神経に横方向に

10

20

30

40

50

1-2 mmを残して切れ目を入れ、外植片をペトリ皿に入れ、植付培地で覆う。全てのDRGの採取が終わったら、脊髄神経を約1 mmの長さに整える。この外植片を円形カバーガラス上の30 μ lの縮退成長因子マトリゲル中に埋込み、35 mm培養皿内に置く。この感覚神経節外植片を次いで2 mlの培地で覆う。化合物、医薬又は対照液を10 $\times$ 株から加え、37 $^{\circ}$ C、5 % CO₂、湿度95 %で48時間インキュベートする。培養物をPBSで2回洗い、10 %ホルマリンで30分間固定する。固定された培養物をPBSで2回洗い、染色及び分析まで冷蔵されているPBS中に保存する。

【0275】

染色のために、培養物を、4 $^{\circ}$ Cで回転させながらブロック緩衝液（5 %馬血清、5 %ヤギ血清、1 %トリトンX、PBS pH=7.4）中で一夜インキュベートする。ベータチューブリン（Sigma Chemical Co.）に対する1次抗体をブロック緩衝液で希釈し、培養物を4 $^{\circ}$ Cで一夜インキュベートする。調製物をPBSで5回洗って、ブロック緩衝液で希釈した2次抗体（Alexa 488 ヤギ抗マウス）を4 $^{\circ}$ Cで一夜接触させる。調製物をPBSで5回洗って、4 $^{\circ}$ Cで一夜放置する。培養物にカバーガラスをかけ、付着させた脊髄神経の端部からの神経突起の全長を市販の顕微鏡録画像解析ソフトウェアを用いて測定する。全神経突起の長さを測って、ベヒクルで処理した対照DRGにあるそれらと比較する。本発明の化合物は、ベヒクルで処理した対照の調製物と比較して神経突起の数及び／又は平均長がかなり増加している。

10

【0276】

実施例18

20

脊髄スライス調製物での神経保護アッセイ

全ての培養物は、市販のマックイルワイン組織切断器を用いて調製した、生後8日（P8）のスパークドローリー種ラットの325ミクロンの厚さの腰部脊髄スライスから得られたものである。各実験は、ウェル毎に4つの異なる動物からのスライスを入れた2枚の6ウェルプレートからなっている。培地の交換は3-4日毎に行った。培養物は、培養1週間後に化合物（10 μ M）を加えた200 μ MのTHA [L（-）-スレオ-3-ヒドロキシアスパラギン酸、Tocris Cookson Inc., ボールウィン, ミズーリ州]で処理した。対照物は、0.1 % DMSOをベヒクルとする未処理試料であった。THA対照は0.1 % DMSOをベヒクルとするTHA処理試料であった。2つのウェルは条件によって用いた。新しいTHAと化合物での培地交換は1回行った。実験は6-8日で停止して、薬物処理（インビトロで全日数13-15, DIV）し、4 %パラホルムアルデヒド／0.1 M リン酸緩衝液で30分間処理して固定し、障害の程度を目視評価した。

30

【0277】

スライスは冷100 %メタノールで10分間処理して浸透可能にし、次いで、0.1 Mリン酸緩衝液で3回洗浄して染色ウェルに移した。このスライスを10 %ウマ血清／0.05 Mトリス緩衝生理食塩溶液でブロックした。1次抗体を2 %HS／TBS中で1:5000で抗神経フィラメントH（非リン酸化）（SMI-32）抗体と4 $^{\circ}$ Cで一夜インキュベートした。ラット吸収抗マウス2次抗体とスライス染色用色原体としてのジアミノベンジジン（DAB）を用いたペクタスタインABCエリートキットを用いた。スライスをスライド上に取付け、カバーガラスをDPX固定液でシールした。

40

【0278】

生存ニューロンの定量をツアيسアキシオバート顕微鏡で行った。ニューロンの生存は、各半球体中の中心管の腹側を処理して無傷のニューロン細胞体を観察して決定した。これはVII、VIII及びIX層に相当している。各半球体は個々に数えた。統計は、条件の異なる3つの実験の最小値に基いてスタービュー（商標名）ソフトウェアで行い、有意差はTHA対照と比較して決定した。保護のパーセントは、次の式によって生存ニューロンの平均数から決定した。（薬剤処理したもの-THA対照／未処理対照-THA対照）。

【0279】

未処理対照培養物は、培養間隔の末端での脊髄スライスの腹側半球体ごとのSMI-32

50

免疫活性ニューロンの平均値が 26.4 ± 4.2 (平均±標準誤差) であり、一方、THA 処理対照培養物は細胞数が 18.97 ± 2.04 で有意な減少を示した。化合物例 43 を THA 処理培養物に加えることによって、THA の誘発する細胞死 (28.14 ± 2.4 細胞数/腹側半球体) から完全に保護される。この発明の他の化合物も等しく対照培養物との比較で生存ニューロン数をかなり増加させることが期待される。

【0280】

実施例 19

分光測定法による大振幅ミトコンドリア膨脹アッセイにおけるミトコンドリア透過性変化の阻害

スプラークドーリーラットの雄からブロエッケマイヤーら, J. Biol. Chem. 260:105-113 (1985) に記載のようにして新鮮なラット肝臓ミトコンドリアを調製する。10 mM コハク酸ナトリウム、3 mM HEPES (pH 7.4)、5 μ M ロテノン、0.5 μ g/mL オリゴマイシン、10 μ M CaCl_2 及び 3:1 の比のマニトール/シュクロースを含むアッセイ緩衝液中で室温でインキュベートし、300 ミリオスモルの浸透強度を得る。5 μ l の単離したミトコンドリア調製物と 5 μ l の化合物又はベヒクル溶液を各種濃度で加え、540 nm での光学密度 (OD) を 1 分間読取ってベースラインを得る。10 μ l のルテニウムレッド溶液を加えて最終濃度を 1 μ M とし、OD₅₄₀ をさらに 1 分間追跡する。25 μ l のフルオロカルボニルシアナイド溶液を加えて最終濃度を 4 μ M とし、OD₅₄₀ をさらに 4-5 分間追跡する。ミトコンドリア透過性変化が、ミトコンドリアの膨脹として正味の吸光度の漸進的落下として顕在化される。本発明の化合物のミトコンドリア透過性変化と膨脹を抑制する能力は IC₅₀ 値として表わすことができる。この発明の化合物は OD₅₄₀ における正味の吸光度の漸進的落下を有意に抑制し、投与量依存のやり方でのミトコンドリア透過性変化を抑制する。

【0281】

実施例 20

脳卒中の動物モデルでのインビボでの保護効果

体重 260-290 g の雄のスプラークドーリー種ラットを、虚血症で誘発される脳損傷に対する本発明の化合物の保護効果の定量に用いる。この化合物を 50 mM HEPES 緩衝生理含塩溶液又は他の生理学的に許容できるベヒクルに溶かし、pH を投与前に 7.4 に調整する。化合物を静脈投与して 60 分後のボーラス投与、例えば 100 mg/kg での実験的な大脳動脈内閉塞 (MCAO) 後直ちに 20 mg/kg/hr の注入速度で 4 時間投与する。一過性 MCAO の管腔内繊維モデルはこの業界では充分に確立されている [例えば、リューら, Eur. J. Pharmacol. 408:233-239 (2000) 参照]。概略は、1.5% ハロタン麻酔して、ラットの通常の頸動脈を内、外頸動脈分岐部のレベルで露出する。この外頸動脈 (ECA) とその分枝を焼灼し、切断する。先端の鈍い 3-0 単繊維ナイロン縫合糸片を、ECA 断部に最も近い端部から内頸動脈 (ICA) 内に導入する。この縫合糸を頸動脈管内を MCA の基部まで前進させ、血流全体をブロックする。2 時間の閉塞が終って、ラットを再麻酔し、縫合糸を ECA 断端まで注意深く引き戻し再灌流させる。この手術の間、動物の体温は加熱毛布を用いて 37.0 °C に維持する。この実験動物を 22 時間の再灌流後にと殺する。脳を摘出して 7 個の 2 mm の厚さの冠状スライスに切断し、1% 2, 3, 5-トリフェニルテトラゾリウムクロリド (TTC) で染色し、次いでコンピューター補助デジタル画像解析システムを用いて画像化する。虚血障害を、TTC 染色が完全に欠如している梗塞組織の体積に基づいて定量する。各ラットの全梗塞体積並びに皮質及び皮質下の部分の梗塞体積を統計的解析に用いる。平均偏差の 1 因子解析を処理効果の比較に用いることができる。グループ間の差は統計学的に $p < 0.05$ で有意であると考えられる。この発明の化合物の投与によって、ベヒクル処理動物に比べて梗塞体積は有意に減少する。

【0282】

実施例 21

心筋梗塞の動物モデルにおけるインビボでの保護効果

実験で心筋梗塞を誘発する外科的手順をプロトコルはこの業界で十分に確立されている〔例えば、ククレジャら, Mol. Cell. Biochem., 195: 123-131 (1999) 参照〕。概略は、雄のスプラークドローリー種ラット (225-300g) を 65 mg/kg のペントバルビタールナトリウム塩の腹膜内投与で麻酔する。気管を切開し、動物を 35% O₂/65% N₂ を 1 ストロークの体積が 2 ml の通気装置を用いて 50 ストローク/分で機械的に通気し、加熱毛布で 37.0 °C に保つ。心電計の導線を皮下電極に取付けて肢 I、II 又は III の導線をモニターする。右頸動脈にカニユーレを挿入し、実験の間を通じて動脈圧をモニターする圧力変換器に接続し、右静脈にはカニユーレを挿入して本発明の化合物の静脈投与ができるようにする。化合物は 50 mM HEPES 緩衝生理食塩溶液又は他の生理学的に許容できるベヒクルで溶解し、投与前に pH を 7.4 に調整する。化合物は、例えば 100 mg/kg のボラス投与での実験的な冠状動脈閉塞の 20 分前に静脈投与し、ボラス投与後直ちに 20 mg/kg/hr の注入速度で 140 分間投与する。左胸の開胸手術を施して第 4 番目の助間スペースと心臓の間を露出する。外傷性針に通した 5-0 絹縫合糸を房室間の溝と頂の間の左冠動脈の途中あたりまで通し、この縫合糸の端部をビニルチューブ片を通してスネアを形成する。冠状動脈はこのスネアで強く結んで固定されることによって一時的に閉塞される。心筋虚血は、露出した心臓の局部的チアノーゼ、心筋の運動機能低下、あるいは心電図での S-T 部分の上昇/下降もしくは T 波の逆転を目で見ることによって確認できる。スネアは 30 分後に開放し、再灌流は、心筋のチアノーゼが起こった部分の充血や血圧の血流力学的改善を目で見ることによって確認される。90 分間の再灌流後スネアを再び強く縛り、頸静脈カテーテルに約 1 ml のエバンスブルー染料をボラスバイアルとして注入する。この動物を直ちにと殺し、心臓を摘出して冷凍し、頂部から底部に 2 mm の厚さの 6-8 枚の横断スライスに切断する。損傷のおそれのある部分はエバンスブルーの染色がないことによって決定される。このスライスは次いで 1% TTC 溶液でインキュベートすることによって生存組織が目に見えるようにすることができる。梗塞のおそれがある体積と面積は市販の画像解析システムを用いて定量する。この発明の化合物を投与することによって、ベヒクルのみで処理された動物に比べて梗塞体積が投与量に応じて有意な減少をもたらす。

10

20

30

40

50

【0283】

実施例 22

黒質と線状体を結ぶドーパミン作動性繊維による除神経線状体のインビボでの神経機能回復

パーキンソン病の MPTP 障害マウスモデルを本発明の化合物のインビボでの効能を示すのに用いた。MPTP (N-メチル-4-フェニル-1, 2, 3, 6-テトラヒドロピリジン) は黒質と線状体を結ぶドーパミン作動性ニューロン、すなわち、ヒトパーキンソン病において退化する細胞に特異的な全身にまわる神経毒である。MPTP をマウスに投与すると、中脳線状体のドーパミン作動性突起の選択的部分破壊と、中脳ドーパミン作動性ニューロンの主要前脳ターゲットである体の線状体におけるドーパミンとドーパミン作動性繊維の喪失がなされる。

【0284】

若い成年の雄である CD1 アルビノマウス (ハーラン・スプラークドローリー種: 22-25 g) に、生理食塩水にフリーベースで 3.4 mg/ml の濃度に溶かしたドーパミン細胞特異性細胞毒である 4-メチル-4-フェニル-1, 2, 3, 6-テトラヒドロピリジン (MPTP 塩酸塩、フリーベース計算で 3.4 mg/kg) を毎日 1 回 1-5 日間腹膜内に投与した。

【0285】

実験化合物は、MPTP の投与の 1 時間前に、毎日 1 回 1-5 日間 (イントラリピッド中 10 mg/kg、皮下) 投与した。

【0286】

7 日目に動物を 10% 中性に緩衝したホルマリンで心臓を通して灌流した。線条体組織の矢状縫合部を冷凍したミクロトーム上で 20 µm の厚さに切断し、ポリクロナル TH 抗

体を用いて、遊離チロシンヒドロラーゼ免疫細胞化学用に加工し（ペルフリーズ，1：2500，4夜冷凍）、アビジン：ビオチンパーオキシダーゼ法（ベクターエリートキット）でさらに加工し、ジアミノベンジジン（DAB-HCl，ポリサイエンス）で可視化した。

【0287】

中央線条体内のTH繊維密度の盲検を630×倍で実施した。各マウスの線条体に対し、中央線条体における5つの代表的な100μm×100μmの範囲をデジタルビデオカメラを用いて写真撮影した。TH陽性突起と末端によって覆われた試料の範囲の割合を画像解析プログラムを用いて計算した（“Simple”，Compix Inc.，ピッツバーグ，PA）。線状体の神経支配の平均を各グループについて計算した。HPTP障害に基づく線条体の求心路遮断の倍率を、MPTP／ベヒクル処理ケースで得られた線条体の神経支配の実測値をベヒクル／ベヒクルグループでの線条体の神経支配の平均値で割って評価し、損失％で表わす。本発明の化合物の相対的効力は、線条体の神経支配の保護％、すなわち、障害のみの動物で観察された損失を越える、障害／化合物処理動物の線条体におけるTH陽性繊維の密度に対する程度として表わしたものである。

10

【0288】

上記のプロトコルに従って本発明の化合物例42で処理された実験動物では、線条体のチロシンヒドロラーゼ免疫反応性繊維の44.1％を保護した。化合物例44の処理では、対照動物に関し、線条体のチロシンヒドロラーゼ免疫反応性繊維の72.4％の保護をもたらした。この発明の化合物のMPTP障害の黒質と線状体を結ぶドーパミン作動性繊維の再生をひき起こす能力を評価するために、マウスを1－5日の間毎日1回MPTPで処理し、そして、化合物例42を8－12日の間毎日1回投与した。マウスを18日目に灌流し、脳組織を前記のように処理し、分析した。障害を受けた／化合物で治療した動物の線状体におけるTH陽性繊維の密度は障害を受けただけの動物で見られた紛失を88％超えていた。この発明の他の化合物の投与も、神経毒による障害から線状体のドーパミン作動性神経支配密度の有意な保護をもたらすことが期待される。

20

【0289】

実施例23

インビボでの発毛

本化合物が癌の化学療法で引き起こされた脱毛症から保護する能力の評価に有用な実験方法はこの業界で確立されている〔例えばマウラーら，Am. J. Pathol. 150（4）：1433－41（1997）参照〕。さらに、男性型脱毛症患者での脱毛頭皮での毛髪成長を誘発する化合物の能力を評価するのに有用な実験モデルも報告されている〔シントフラ，Int. J. Pharm. 194：125－134（2000）〕。実験化合物の毛髪をよみがえらせる性質を評価する簡単な方法は以前に本発明者らによって開示されている。例えば米国特許第6，194，440B1号明細書参照。ここで引用しているこれらの、そして他の出版物は、式I又はIIの化合物の毛髪成長促進と脱毛遅延性の評価に利用することができる。次の方法が示されている。

30

【0290】

7－8週令のC57B1／6株のマウスを個別に小屋に入れる。軽くエーテル麻酔して、後4半部の下部約2cm×2cmの範囲をカミソリで全ての毛を取除く。この皮膚が引掻かれたり、切られたり、こすられたりしないよう注意する。皮膚がピンク色にあることは全ての動物の毛髪成長サイクルが休止期にあることを示している。10匹の動物のグループを20％プロピレングリコールベヒクル又は濃度をベヒクルml当たり0.1μMから100μMまで変えた本発明の化合物で局所的に処理する。化合物は局所的に週3回投与し、毛の成長を盲目の観察者によって0（成長なし）から5（カミソリで剃った部位全体の毛の完全な成長）まで毎週評価する。本発明の化合物は、投与量に応じて毛の成長を誘発し、ベヒクルで処理した動物のカミソリで剃った部分と比べてカミソリで剃った部分が毛で覆われるまでの時間が有意に短くする。

40

【0291】

50

前述のように、これらの実施例は本発明の範囲を限定するものと解されるべきでない。むしろ、これらの実施例は、当業者がこの発明の全体の開示から理解するであろう単なる例示の態様にすぎない。このように記述されてきた本発明は、多くのやり方で変更しうることが明らかであろう。このような変更は、本発明の精神と範囲から出発されるものと考えらるべきでなく、全てのこのような変更は特許請求の範囲に含まれる。

【0292】

引用文献

以下のあるいは上述の本文に引用されている文献はこの発明の如何なる態様を作り、用いるのに利用することができる。一方、特定の用途と文献は前述で論じており、これは如何なる特定の文献の使用を限定としてとらえるべきではない。全ての文献はその全体が、言

10

Apfel, et al., Brain Res. 634: 7-12 (1994);
Ausubel, et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N. Y., (及び2000年12月までの増補版);

Bell, et al., Biochem. Pharmacol. 48: 495-503 (1994);

Berriman and Fairlamb, Biochem. J. 334: 437-445 (1998);

Broekemeier, et al., J. Biol. Chem. 264: 7826-7830 (1989);

20

Coligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley and Sons, N. Y., (及び2000年12月までの増補版);

Enna, et al., eds, Current Protocols in Pharmacology, John Wiley & Sons, N. Y., (及び2000年12月までの増補版);

Fingl, et al., in The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ch. 1, (1975);

Fischer, et al., Biomed. Biochem. Acta 43: 1101-1112 (1984);

30

Friedman et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 90: 6815-6819 (1993);

Gash, et al., Nature 380: 252-255 (1996);

Gerlach, et al., Eur. J. Pharmacol. -Mol. Pharmacol. 208: 273-286 (1991);

Gold, et al., Exp. Neurol. 147: 269-278 (1997);

Gold, Mol. Neurobiol. 15: 285-306 (1997);

Griffiths and Halestrap, J. Mol. Cell Cardiol. 25: 1461-1469 (1993);

40

Hamilton and Steiner, J. Med. Chem. 41: 5119-5143 (1998);

Hamilton, et al., Bioorgan. Med. Chem. Lett. 7: 1785-1790 (1997);

Handschumacher, et al., Science 226: 544 (1984);

Harding, et al., Nature, 341: 758-760 (1989);

Harrison, et al., Biochem. 29: 3813-3816 (1990);

50

- Hoffer, et al., J. Neural Transm. [Suppl.] 49 : 1-10 (1997) ;
- Holt, et al., Bioorg. Med. Chem. Letters, 4 : 315-320 (1994) ;
- Hsu, et al., J. Am. Chem. Soc. 112 : 6745-6747 (1990) ;
- Iwabuchi, et al., J. Dermatol. Sci. 9 : 64-69 (1995) ;
- Jiang, et al., J. Invest. Dermatol., 104 : 523-525 (1995) ;
- Justice, et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 171 : 445-450 (1990) ;
- Khattab, et al., Exp. Parasitol. 90 : 103-109 (1998) ;
- Kofron, et al., Biochem. 30 : 6127-6134 (1991) ;
- Kofron, et al., J. Am. Chem. Soc. 114 : 2670-2675 (1992) ;
- Kukreja, et al., Mol. Cell. Biochem., 195 : 123-131 (1999) ;
- Kullertz, et al., Clin. Chem. 44 : 502-508 (1998) ;
- Lang, et al., Nature 329 : 268-270 (1987) ;
- Leducq, et al., Biochem. J. 336 : 501-506 (1998) ;
- Lemasters, et al., Mol. Cell. Biochem. 174 : 159-165 (1997) ;
- Li, et al., J. Med. Chem. 43 : 1770-9 (2000) ;
- Lu, et al., Eur. J. Pharmacol. 408 : 233-239 (2000) ;
- Lyons, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 91 : 3191-3195 (1994) ;
- Marchetti, et al., J. Exp. Med. 184 : 1155-1160 (1996) ;
- Matsumoto, et al., J. Cereb. Blood Flow Metab. 19 : 736-41 (1999) ;
- Maurer, et al., Am. J. Pathol. 150 (4) : 143-41 (1997) ;
- McLauchlan, et al., Parasitology 121 : 661-70 (2000) ;
- McMahhon, et al., Curr. Opin. Neurobiol. 5 : 616-624 (1995) ;
- Mucke, et al., Biochem. 31 : 7848-7854 (1992) ;
- Palacios, J. Immunol. 128 : 337 (1982) ; Paus, et al., Am. J. Pathol. 144 : 719-34 (1994) ;
- Perkins, et al., Antimicrob. Agents Chemother. 42 : 843-848 (1998) ;
- Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition (1990) ;

10

20

30

40

50

- Schönbrunner, et al., J. Biol. Chem. 266:3630-3635 (1991);
- Sintov, et al., Int. J. Pharm. 194:125-134 (2000);
- Snyder, Nat. Med. 1:32-37 (1995);
- Steiner, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 94:2019-2024 (1997);
- Streblow, et al., Virology 245:197-202 (1998);
- Wang, et al., J. Pharmacol. Exp. Therap. 282:1084-1093 (1997);
- Yamamoto, et al., J. Invest. Dermatol. 102 (1994) 160-164;
- Yoo, et al., J. Mol. Biol., 269:780-795 (1997);
- Zahner and Schultheiss, J. Helminthol. 61:282-90 (1987);
- Zamzami, et al., FEBS Lett. 384:53-57 (1996)

【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
1 August 2002 (01.08.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/059080 A2(51) International Patent Classification: **C07C 275/00**Burleigh Court, Lutherville, MD 21093 (US). **WILKINSON, Douglas** [US/US]; 2051 Harman Avenue, Baltimore, MD 21230 (US).

(21) International Application Number: PCT/US02/02538

(22) International Filing Date: 25 January 2002 (25.01.2002)

(74) Agents: **SAUER, Hansjorg** et al.; Guilford Pharmaceuticals Inc., 6611 Tributary Street, Baltimore, MD 21224 (US).

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/263,703 25 January 2001 (25.01.2001) US
60/291,965 21 May 2001 (21.05.2001) US(71) Applicant (for all designated States except US): **GUILFORD PHARMACEUTICALS INC.** [US/US]; 6611 Tributary Street, Baltimore, MD 21224 (US).

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

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GI, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, 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 02/059080 A2

(54) Title: TRISUBSTITUTED CARBOCYCLIC CYCLOPHILIN BINDING COMPOUNDS AND THEIR USE

(57) Abstract: The present invention relates to novel, non-peptidic small organic compounds having an affinity for cyclophilin (CyP)-type immunophilin proteins, and to pharmaceutical compositions comprising one or more of the said compounds. The invention further relates to the uses of these compounds and compositions for binding CyP-type proteins, inhibiting their peptidyl-prolyl isomerase activity, and for research, development, and therapeutic applications in a variety of medical disorders.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

TRISUBSTITUTED CARBOCYCLIC CYCLOPHILIN-BINDING COMPOUNDS AND
THEIR USETechnical Field

5 The present invention relates to novel, non-peptidic small organic compounds having an affinity for cyclophilin (CyP)-type immunophilin proteins. The invention further relates to the uses of these compounds for binding CyP-type proteins, inhibiting their peptidyl-prolyl isomerase activity, and for research, development, and therapeutic applications in a variety of medical conditions.

10

Background

Immunophilins are a group of proteins which are functionally characterized by their ability to bind certain immunosuppressive drugs. Two structurally and pharmacologically distinct classes of immunophilins are the FK506 binding proteins (FKBPs) and the cyclophilin (CyP) proteins. Although the prototypical members of these two protein families, FKBP12 and cyclophilin A, are both involved in the cellular mechanisms which mediate immunosuppression, they display selective affinities for very different types of immunosuppressants: members of the FKBP family bind to the macrolide antibiotics FK506 and rapamycin, whereas members of the CyP family bind to the cyclic undecapeptide Cyclosporin A (CsA).

Common to all immunosuppressant drugs is their ability to interfere with the intracellular signalling cascades of cells of the immune system. In the case of FK506 and CsA, binding of these drugs to their respective receptor proteins FKBP12 and cyclophilin A results in the cross-linking of the intracellular phosphatase calcineurin to the drug-receptor complex. The resulting inactivation of calcineurin eventually leads to the accumulation of phosphorylated calcineurin substrates, including the signaling protein NFAT (nuclear factor of activated T-cells). NFAT plays an important role in the regulation and transcriptional activation of genes involved in the T-cell activation prong of the immune response. Absent calcineurin activity, the T-cell activation cascade is interrupted because NFAT, in its phosphorylated state, cannot translocate to the cell nucleus.

Apart from its effects on the immune system, CsA has been shown to possess

WO 02/059080

PCT/US02/02538

biological activity in the central nervous system. In rodent models of cerebral stroke, systemic treatment with CsA either before or following occlusion of the medial cerebral artery causes a reduction of infarct size [T. Yoshimoto and B.K. Siesjö, *Brain Res.*, 839, pp. 283-91 (1999)]. CsA also protects against the decrease of acetyl choline receptors observed in the hippocampal formation after transient global forebrain ischemia [Y. Kondo *et al.*, *Neurochem Res.*, 24, pp. 9-13 (1999)], and has demonstrable neuroprotective effects in animal models of insulin-induced hypoglycemic coma [H. Friberg *et al.*, *J Neurosci.*, 18, pp. 5151-9 (1998)], traumatic brain injury [P.G. Sullivan *et al.*, *Exp Neurol.*, 2000 Feb;161, 631-7 (2000)], and experimental dopamine neuron degeneration [K. Matsura *et al.*, *Exp. Neurol.*, 146, 526-35 (1997)]. In order for CsA to exert a protective effect after neural insult, it must be available at the site of injury. However, due to the blood-brain barrier, CsA shows only very limited penetration into the brain when administered systemically, and its best beneficial effects are seen if the blood-brain barrier is compromised [H. Uchino *et al.*, *Brain Res.*, 812, pp. 216-26 (1998); P.G. Sullivan *et al.*, *Exp. Neurol.*, 161, pp. 631-7 (2000)].

While the present invention is not bound by any particular theory, it appears that at least some of the effects of CsA on cells of the nervous system occur independently of calcineurin inhibition. Some of the inventors have previously shown that non-immunosuppressive peptidic analogues of CsA, which lack a calcineurin-binding domain, display neurotrophic activity in neural cell culture which is equal to that of CsA [J.P. Steiner *et al.*, *Nat. Med.*, 3, pp. 421-8 (1997)].

A number of types of mammalian cyclophilins have been identified and cloned, cyclophilins A, B, C, D, and cyclophilin-40 [Snyder and Sabatini, *Nat. Med.*, 1:32-37 (1995); Friedman *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90:6815-6819 (1993)]. Cyclophilin B possesses an N-terminal signal sequence that directs translocation into the endoplasmic reticulum of the cell. The 23 kD cyclophilin C is found in the cytosol of the cell. Cyclophilin D, at 18 kD, appears to target its actions in the mitochondria, and cyclophilin-40 is a component of the inactivated form of a glucocorticoid receptor. Cyclophilin A is a 19 kD protein, which is abundantly expressed in a wide variety of cells. Like the other cyclophilins, cyclophilin A not only binds the immunosuppressive agent CsA, but it also possesses peptidyl-prolyl

WO 02/059080

PCT/US02/02538

cis-trans isomerase (PPIase) and protein folding or "chaperone" activities. PPIase activity catalyzes the conversion of proline residues in a protein from the *cis* to the *trans* conformation [Fischer, *et al.*, *Biomed. Biochem. Acta* 43:1101-1112 (1984)].

5 Since cyclophilin A was first identified as the receptor for CsA, the effects of the CsA:cyclophilin interaction have been well documented. Cyclosporin A binds to cyclophilin A with a dissociation constant in the range of 10^{-8} mol/L, a value representing a relatively high degree of affinity [Handschumacher *et al.*, *Science* 226:544 (1984)]. Knowledge about the interaction between drug and protein spawned a number of drug discovery efforts. Initially, the focus was on identifying novel
10 immunosuppressive drugs that would mimic the effects of CsA without displaying its dose-limiting side-effects.

The field, however, lacks appreciation of the usefulness of cyclophilin-binding compounds for treating disease states, injuries and other abnormal conditions involving the central nervous system and other parts of the body. For therapeutic
15 application in disorders of the central nervous system, for example, cyclophilin-binding compounds would need to penetrate from the bloodstream into the brain to bind to cyclophilin and exert biological effects. Cyclosporin A, however, generally displays poor penetration into the central nervous system after systemic administration, and therefore possess only low therapeutic potential for CNS
20 applications if the blood-brain barrier is intact. See Uchino *et al.*; Sullivan *et al.*, *supra*. Therefore, there exists need for safe and effective compositions and methodologies for treating disease states, injuries and other abnormal conditions involving the central nervous system and other organs by use of cyclophilin-binding compounds. These needs have gone unresolved until the development of the present
25 inventions.

Researchers have also noted a functional association of cyclophilin A with the Gag protein of the HIV virus [Thali *et al.*, *Nature* 372:363-365(1994)]. This has taken drug development approaches in a new direction (See, for example, U.S. Patent 5,767,069). Many researchers now seek to develop drugs that target the interaction
30 between cyclophilin A and Gag in order to disrupt the HIV life cycle [Stenberg, *BioWorld Today* 7:1 (1996)].

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Objects of the Invention

The focus of the present invention is on non-peptidic small molecule compounds which interact with, have an affinity for, or bind to cyclophilin proteins. By studying the binding interaction of cyclophilin A and CsA, the inventors have
5 designed and characterized a number of novel small molecule organic compounds which interact with cyclophilins, on the basis of which the inventors were able to develop and utilize screening procedures for rapidly identifying a class of similarly active compounds. These compounds have been specifically tested to show that they effect the growth and regeneration of cells of the nervous system, and protect such
10 cells from otherwise lethal chemical injury. The compounds can be used in a number of ways, including therapeutic and research and development applications for various medical conditions, including neurological disorders.

The invention thus provides compounds that bind to CyP proteins. The compounds of this invention preferably do not suppress the immune system and
15 preferably do not possess a biological activity involving binding to a FKBP, i.e., the compounds inhibit the peptidyl prolyl isomerase activity of FKBP with an IC_{50} of greater than 500 nM. A number of methods for determining the binding to CyPs and ways for exploiting the binding through *in vitro* and *in vivo* methods and uses are presented. Preferred compounds function to promote or affect neuronal cell growth or
20 growth of nervous system cells, regenerate damaged or diseased neurons, or protect neurons or neuronal cells from death or degeneration following damage. Furthermore, aspects of this invention can be used in methods to identify and isolate additional CyP binding compounds or additional uses of the compounds.

The invention also provides a number of uses for these compounds, including
25 uses that comprise the step of allowing the compound to contact an immunophilin protein. A variety of permutations of this method can be devised. In particular, the compounds can be used to affect the growth or resistance to noxious stimuli of neuronal cells, either in culture or in an animal. Thus, the compounds can be

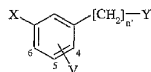
WO 02/059080

PCT/US02/02538

administered to cells or animals to affect a number of conditions associated with the decline, damage, or degeneration of nervous system cells or their physiological function.

Summary of the Invention

5 In one aspect, the invention provides compounds of Formula I as shown and described below:



10

Formula 1

where V is attached at position 4, 5, or 6, and is selected from the group consisting of C₁-C₄ alkyloxy, C₁-C₄ alkyl, C₂-C₄ alkenyloxy which is
15 optionally substituted with Q, C₁-C₄ alkoxycarbonyl, C₁-C₆ alkylcarbamoyl which is optionally substituted with amino or C₁-C₄ alkoxycarbonylamino; di-(C₁-C₄ alkyl)carbamoyl, C₁-C₄ alkanoyl, Q-substituted C₁-C₆ alkyl, alkenyl, or alkynyl, CO—W, and —(CH₂)_n—W;

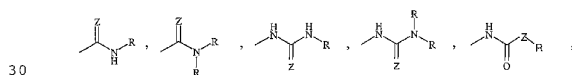
wherein W is Q, —Z'—(CH₂)_m—Q, —N=CH—(CH₂)_m—Q,
20 COOCH₃, COCH₃, hydroxyl, mercaptyl, amino, nitro, halo, carboxy, trifluoromethyl, or C₆ alkylamino substituted with amino or C₁-C₄ alkoxycarbonylamino;

n and m are independently 0-4;

n' is 0-3;

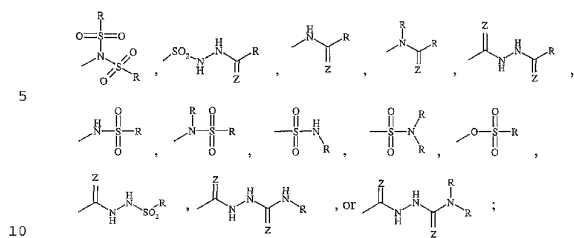
25 Z' is O, S, NH, or NR;

where X and Y are the same or different, and may independently be:

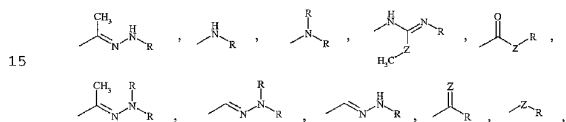


30

PCT/US02/02538



and where Y may further be: O,



or C₁-C₆ straight or branched chain alkyl, alkenyl, or alkynyl which is substituted at one or several positions with Q, and which further is optionally substituted at one or several positions by hydroxyl, mercaptyl, or carbonyl oxygen;
wherein Z is O or S;
and wherein R may independently be:

Q,
or C₁-C₆ straight or branched chain lower alkyl, alkenyl or
alkynyl which is substituted at one or several positions with Q,
and which further is optionally substituted in one or several
positions by hydroxyl, mercaptyl, or carbonyl oxygen, and
wherein one or more of the carbon atoms are optionally
replaced with O, N, NH, S, SO, or SO₂;
and wherein Q is a mono-, bi-, or tricyclic, carbo- or

WO 02/059080

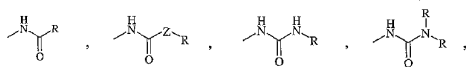
PCT/US02/02538

heterocyclic ring which is saturated, partially saturated, or aromatic, and wherein the individual ring sizes are 5-6 members, and wherein each heterocyclic ring, if present, contains 1-4 heteroatoms independently selected from the group consisting of O, N, and S in any chemically stable order and oxidation state, and wherein Q is optionally substituted in one or several positions with:

halo; hydroxyl; mercaptyl; nitro; trifluoromethyl; aminocarbonyl; arylaminocarbonyl in which the aryl is optionally halogenated and optionally substituted with trifluoromethyl or cyano; C₁-C₄ alkylsulfonyl; C₁-C₄ alkylthio; oxo; cyano; carboxy; C₁ - C₆ alkyl or alkenyl; C₁ - C₄ alkoxy; C₁-C₅ alkoxy carbonyl; C₁ - C₄ alkenyloxy; phenoxy; phenyl; cyanophenyl; benzyloxy; benzyl; amino; C₁-C₄ alkylamino; di-(C₁-C₄) alkylamino; C₁-C₄ alkylcarbamoyl; di(C₁-C₄)alkylcarbamoyl; or a combination thereof;

provided that:

when X and Y are



or a combination thereof, and

n' is 0, and
n is 0, and

V is halo, hydroxyl, nitro, trifluoromethyl, C₁-C₄ alkoxy or -- alkenyloxy, phenoxy, benzyloxy, amino, or Q,

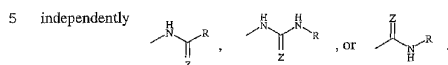
then R is not Q, or C₁-C₃ branched or straight chain alkyl substituted with Q.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Preferred compounds under this aspect of the invention are substituted with V at position 5. Preferably, V is $-(CH_2)_n-Z'-(CH_2)_m-Q$, or Q-substituted C_1-C_6 straight or branched chain alkyl or alkenyl.

In a further group of preferred compounds n' is 0, and X and Y are



Detailed Description

The compounds of this invention can be selected for use from Formula I.

- 10 Starting with a particular compound, any of the individual variable groups R, X, Y, Z, Z', Q, V, and a value for n, n' and m can be selected while one or more of the other variable groups can be modified. For example, in Formula I, V can be attached at position 5 and specified to be $-(CH_2)_n-NH-(CH_2)_m-Q$ to select subgroups of compounds which share a common 1,3,5- substitution pattern wherein at least one of
- 15 the Q groups is attached via an amine linkage.

- Any of the subgroups thus obtained can be further divided into additional subgroups of compounds defined by the allowed combinations of X and Y, and by requiring that X and Y are either similar, or different from each other, and by requiring, for example, that R be Q, or that R be Q-substituted alkyl, alkenyl, or alkynyl, and that all Q-substituents be the same, or different from each other. This
- 20 process can be repeated using any one, or a combination of, the variable groups. In this way, one skilled in the art can select and use groups of related compounds or even individual compounds, all within the invention. Many examples are shown below; however, they are merely representative of the scope of changes and modifications possible. One skilled in the art can devise many separate compounds from the
- 25 description of Formula I alone.

- In this specification, the generic terms "alkyl", "alkenyl" or "alkynyl" include both straight-chain and branched-chain saturated or unsaturated groups. "Aryl" in terms such as "arylamino" typically means groups such as phenyl, naphthyl,
- 30 pyrrolyl, pyrrolidinyl, pyridinyl, pyrimidinyl, purinyl, furyl, imidazolyl, quinolinyl, oxazolyl, thiazolyl, pyrazolyl, and thienyl. "Alkoxy" or "alkoxy" refer to groups such as, for example, methoxy or ethoxy; "alkoxycarbonyl" refers to groups such as,

WO 02/059080

PCT/US02/02538

for example, methyl ester or butyl ester; "C₁-C₆ alkylcarbamoyl" and "di(C₁-C₄)alkylcarbamoyl" refer to saturated or unsaturated carbon chains attached via an amide linkage, such as, for example, ethylcarbamoyl or diethylcarbamoyl; "C₁-C₄ alkoxycarbonylamino" refers to groups such as, for example, *tert*-

5 butoxycarbonylamino (C₄H₉)-O-CO-NH-; "arylamino" refers to groups such as phenylaminocarbonyl (C₆H₅)-NH-CO-; "C₁-C₄ alkanoyl" refers to groups such as, for example, formyl or acetyl; "C₆ alkylamino" refers to groups such as, for example, hexylamino.

Compounds of Formula I may be prepared or formulated as a salt or derivative
10 for some uses, including pharmaceutical and tissue or cell culture uses. As used herein, the CyP-binding compounds of this invention are defined to include pharmaceutically acceptable derivatives. A "pharmaceutically acceptable derivative" denotes any pharmaceutically acceptable salt, ester, thioester, or salt of such ester or thioester, of a compound of this invention or any other compound which, upon
15 administration to an animal or human patient, is capable of providing (directly or indirectly) a compound of this invention, or a metabolite or residue thereof, characterized by the ability to bind to a CyP and/or its usefulness in treating or preventing a medical disorder. Examples of medical disorders within the scope of this aspect of the invention are given below. The compounds of the invention can also be
20 part of a composition comprising one or more compounds of Formula I.

The compounds of the invention can be produced as a mixture of isomers or racemic mixtures or as optically pure compounds. Methods for separating stereoisomers known in the art can also be used to enrich mixtures for one or more compounds. The compositions of the invention may similarly contain mixtures of
25 stereoisomers, mixtures of one or more stereoisomers, or be enriched for one or more stereoisomers. All of these forms are specifically included in this invention and are intended to be included in the claims.

Preferably, compounds of Formula I selectively bind to a CyP as detected, for example, by a measurable inhibition of the peptidyl-prolyl cis-trans isomerase enzyme
30 activity (PPIase) of CyP. "Selectively bind to a CyP" means the compounds do not possess a significant binding affinity toward a FKBP and/or do not possess a biological activity associated with binding to a FKBP. For example, the IC₅₀ towards

WO 02/059080

PCT/US02/02538

FKBP is at or above 500 nM. The skilled artisan is familiar with ways to detect rotamase inhibition in CyP and FKBP. In addition, a number of ways for detecting binding to a CyP are described below.

As is readily apparent from Formula I, a common substitution pattern exists, wherein at least two carbo- or heterocyclic groups are attached to a central trisubstituted phenyl ring by a combination of straight or branched linker chains. This common pattern differs from the approaches previously taken to identify other immunophilin binding compounds or drugs. For example, Holt *et al.* [*Bioorg. Med. Chem. Letters*, 4: 315-320 (1994)] discuss a pipercolate, or 1-(1,2-dioxo) 2-carboxylate piperidine containing base structure for binding to FKBP. Similarly, earlier work by the inventors established the relevance of a 1-(1,2-dioxo) 2-carboxylate pyrrolidine containing structure for binding to FKBP [Steiner *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94:2019-2024 (1997)]. Presumably, these structures mimic the natural substrate for the peptidyl-prolyl-isomerase (PPIase) activity, a proline-containing fragment of a protein. In a protein, the amino acid proline corresponds to a 1,2-substituted pyrrolidine structure. Prior work has generally incorporated that structure. However, Formula I does not correspond to a 1,2-substituted pyrrolidine structure. Yet, as demonstrated here, compounds of this formula possess important bioactive and biochemical functions.

The body of work related to analogues of cyclosporin A, FK-506, and rapamycin further distances the compounds of this invention from prior work. (See, for example, U.S. Patents 5,767,069, 5,284,826, 4,703,033, and 5,122,511). These analogues typically possess a cyclic peptide structure.

In another aspect, the invention relates to methods for binding non-peptidic compounds to cyclophilin-type immunophilins. While the present invention is not bound by this theory, it is hypothesized that binding results in an "immunophilin:drug" complex, which is considered to be the active agent in the *in vivo* immunosuppressive and neurotrophic activities of PPIase inhibitors [Hamilton and Steiner, *J. Med. Chem.* 41:5119-5143 (1998); Gold, *Mol. Neurobiol.* 15:285-306 (1997)]. Whether or not the complex acts for any or all the therapeutic actions of these PPIase inhibitors, focusing on the immunophilin:drug interaction has led to the discovery a number of new drug compounds. Accordingly, methods of using

WO 02/059080

PCT/US02/02538

compounds, such as those of Formula I, to create an immunophilin:compound complex, or a CyP:compound complex, provide an important aspect of this invention. This aspect can be exploited, for example, in methods where the compound, or a mixture comprising one or more of the compounds of the invention, or a pharmaceutical composition comprising one or more of the compounds of the invention, is administered to cells in culture or to an animal.

While the immunophilin:compound complex has beneficial effects *in vivo* and *in vitro* in cultured cells, numerous other uses for binding the compounds to an immunophilin exist. For example, further *in vitro* binding experiments can be used to identify and purify cellular components that interact with the immunophilin complex in a cell-free environment, as would be the case where an affinity chromatography column or matrix bearing the compound is reacted with a CyP, and cellular or tissue extracts containing a CyP are passed over the column or matrix.

Thus, the invention also provides methods for forming immunophilin:compound or CyP:compound complexes as well as the complexes themselves. To form these complexes, the compounds can contact an immunophilin or CyP protein *in vivo*, in cell or tissue culture, or in a cell-free preparation. In preferred embodiments, the compound contacts a human CyP protein, such as one or more of CyP A, B, C, D, or -40. The CyP protein can be native to the cell or organism, produced via recombinant DNA, produced by other manipulations involving introduced genetic material, or produced by synthetic means. Furthermore, chimeric proteins possessing immunophilin domains that function to bind immunophilin ligands can also be used to form a protein:compound complex. The formation of the CyP:compound, immunophilin:compound, or protein:compound complex need not be irreversible.

The binding of a compound to a CyP can be detected in a number of ways, including PPIase inhibition assay, affinity chromatography, *in vivo* neuroprotection or neuroregeneration activity assay, *in vitro* neurotrophic activity assay, or by any of the activities in neuronal cells or cells of the nervous system described below, in the examples, or in the cited references.

The invention also provides compositions comprising at least one compound of Formula I. The compositions may comprise one or more pharmaceutically

WO 02/059080

PCT/US02/02538

acceptable carriers, excipients, or diluents. These compositions, or the compounds themselves, or mixtures of said compounds or compositions, can be administered to an animal. Administration can be one method to allow the compound to contact a Cyp within the animal. As one skilled in the art would recognize, various routes of administration are possible. Exemplary routes are specifically described in the detailed description below.

The compounds of Formula I, or compositions comprising them, can function to regenerate nerve cells, promote neurite outgrowth, and protect nerves from otherwise damaging treatments or conditions. Thus, the compounds and compositions of this invention are useful in the diagnosis, cure, mitigation, treatment, or prevention of neurological conditions in animals, including humans, and in animals (including humans) exposed to neurodegenerative agents or having damaged nervous system cells. Such conditions and disorders, when present in an animal, including humans, can be neurodegenerative disorders, neuropathic disorders, neurovascular disorders, traumatic injury of the brain, spinal cord, or peripheral nervous system, demyelinating disease of the central or peripheral nervous system, metabolic or hereditary metabolic disorder of the central or peripheral nervous system, or toxin-induced- or nutritionally related disorder of the central or peripheral nervous system. When present in a human, a neurodegenerative disorder can be, for example, Parkinson's disease, Alzheimer's disease, amyotrophic lateral sclerosis (ALS), Huntington's disease, cerebellar ataxia, or multisystem atrophy including, for example, olivopontocerebellar degeneration, striatonigral degeneration, progressive supranuclear palsy, Shy-Drager syndrome, spinocerebellar degeneration and corticobasal degeneration. A demyelinating disease can be, for example, multiple sclerosis, Guillain-Barré syndrome, or chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. A neurovascular disorder can be global cerebral ischemia, spinal cord ischemia, ischemic stroke, cardiogenic cerebral embolism, hemorrhagic stroke, lacunar infarction, multiple infarct syndromes including multiple infarct dementia, or any disorder resulting in ischemia or ischemia/reperfusion injury of the central nervous system. Traumatic injury of the central or peripheral nervous system can be, for example, concussion, contusion, diffuse axonal injury, edema, and hematoma associated with craniocerebral or spinal trauma, or axonal or nerve sheath damage associated with laceration, compression,

WO 02/059080

PCT/US02/02538

stretch, or avulsion of peripheral nerves or plexi, and further includes nerve damage caused during surgery, such as prostate surgery. A neuropathic disorder can be, for example, diabetic neuropathy, uremic neuropathy, neuropathy related to therapy with drugs such as phenytoin, suramin, taxol, thalidomide, vincristine or vinblastine; or

5 neuropathy/encephalopathy associated with infectious disease, such as, for example, encephalopathy related to HIV, rubella virus, Epstein-Barr virus, herpes simplex virus, toxoplasmosis, prion infection. A metabolic disorder of the central nervous system can be, for example, status epilepticus, hypoglycemic coma, or Wilson's disease.

10 The following detailed description should not be taken as a limitation on the scope of the invention, and all embodiments and examples given are merely illustrative of the invention. Additional aspects of the invention can be devised by reference to this disclosure as a whole in combination with the references cited and listed throughout and at the end of the specification and the knowledge of one skilled

15 in the art. All of the references cited and listed can be relied on, in their entirety, to allow one to make and use these additional aspects of the invention.

Detailed Description of Exemplary Embodiments

One skilled in the art can refer to general reference texts for detailed

20 descriptions of known techniques discussed herein or equivalent techniques. These texts include *Current Protocols in Molecular Biology* [Ausubel, *et al.*, eds., John Wiley & Sons, N.Y., and supplements through June 1999], *Current Protocols in Immunology* (Coligan, *et al.*, eds., John Wiley and Sons, N.Y., and supplements through June 1999)], and *Current Protocols in Pharmacology* (Enna *et al.*, eds., John

25 Wiley & Sons, N.Y., and supplements through June 1999) for example, each of which are specifically incorporated by reference in their entirety. These texts can also be referred to in making or using an aspect of the invention.

As noted above, cyclosporin A was the first compound identified to bind a CyP. Based on the cyclic structure of cyclosporin A, a number of large, usually cyclic

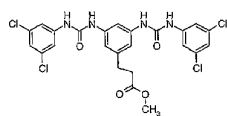
WO 02/059080

PCT/US02/02538

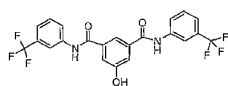
peptides were developed as immunosuppressive compounds that bind CyP. Now, unexpectedly, the inventors have found a non-peptidic class of CyP binding compounds with activity in neuronal cells. The following compounds are representative of those tested.

5

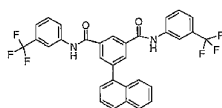
Compound # 1



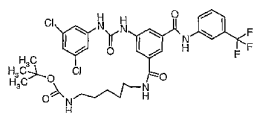
Compound # 2



Compound # 3



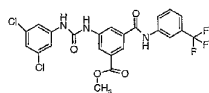
Compound # 4



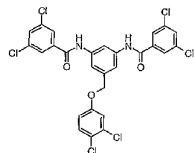
WO 02/059080

PCT/US02/02538

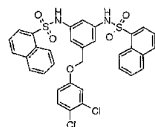
Compound # 5



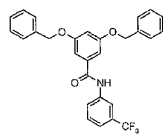
Compound # 6



Compound # 7



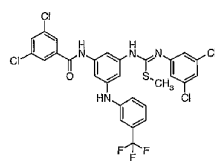
Compound # 8



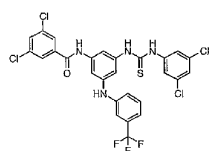
WO 02/059080

PCT/US02/02538

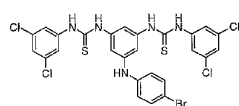
Compound # 9



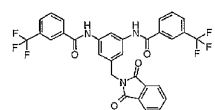
Compound # 10



Compound # 11



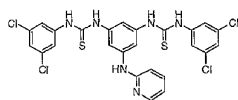
Compound # 12



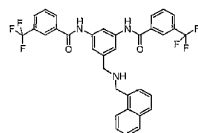
WO 02/059080

PCT/US02/02538

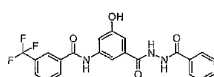
Compound # 13



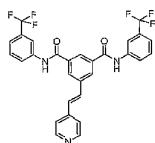
Compound # 14



Compound # 15



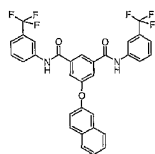
Compound # 16



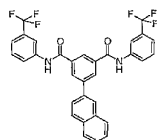
WO 02/059080

PCT/US02/02538

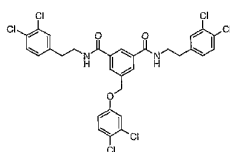
Compound # 17



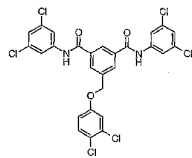
Compound # 18



Compound # 19



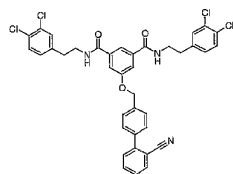
Compound # 20



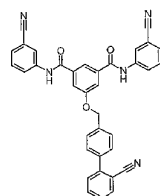
WO 02/059080

PCT/US02/02538

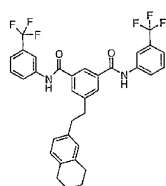
Compound # 21



Compound # 22



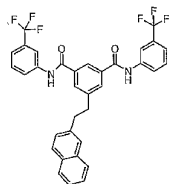
Compound # 23



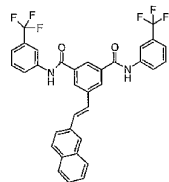
WO 02/059080

PCT/US02/02538

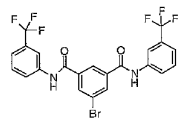
Compound # 24



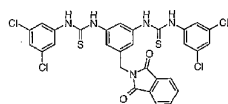
Compound # 25



Compound # 26



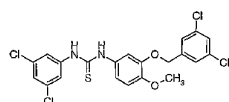
Compound # 27



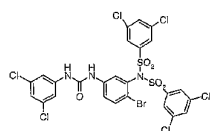
WO 02/059080

PCT/US02/02538

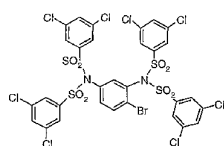
Compound # 28



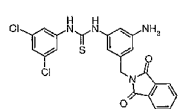
Compound # 29



Compound # 30



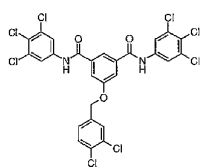
Compound # 31



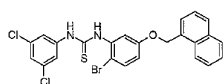
WO 02/059080

PCT/US02/02538

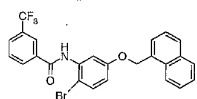
Compound # 32



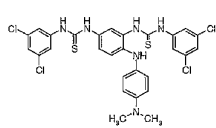
Compound # 33



Compound # 34



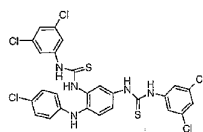
Compound # 35



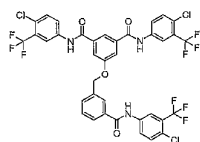
WO 02/059080

PCT/US02/02538

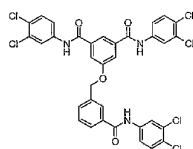
Compound # 36



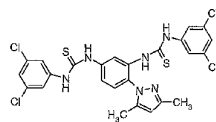
Compound # 37



Compound # 38



Compound # 39

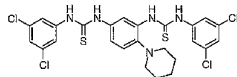


O=[N+]([O-])c1ccc(cc1)NC(=O)c2ccc(cc2C(=O)Nc3ccc(cc3)[N+](=O)[O-])BrO=C(Nc1ccc(Cl)c(Cl)c1)C2=CC(=C(C=C2)C(=O)Nc3ccc(Cl)c(Cl)c3)C4=CC=CC=C4OC5=CC=CC=C5

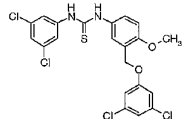
WO 02/059080

PCT/US02/02538

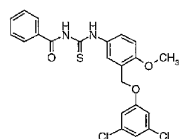
Compound # 44



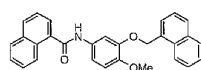
Compound # 45



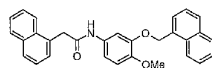
Compound # 46



Compound # 47



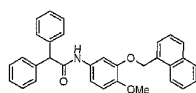
Compound # 48



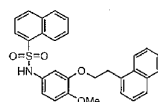
WO 02/059080

PCT/US02/02538

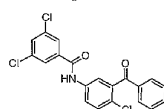
Compound # 49



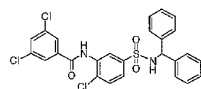
Compound # 50



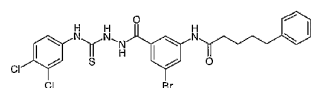
Compound # 51



Compound # 52



Compound # 53



WO 02/059080

PCT/US02/02538

Preparation of Compounds of the Invention

The compounds of the invention can be prepared by a number of synthetic routes. The examples below detail schemes I to XIV and the preparation of specific compounds.

5 However, one skilled in the art can modify the steps, reactants, and reaction conditions in the examples and schemes to arrive at numerous examples of compounds of the invention. In addition, if particular stereoisomers or mixtures are desired, the starting materials and/or reactants in the preparatory scheme can be selected and used accordingly. Alternatively or in addition, particular intermediates
10 can be purified or enriched by chromatographic or enzymatic methods, or by manipulating reaction conditions or selective crystallization, to generate particular final products or mixtures. One skilled in the art is familiar with numerous methods to selectively produce or enrich for desired stereoisomers or mixtures. All of the compounds of the examples, including the intermediates, are specifically included in
15 the compounds of the invention and can be used in the methods of the invention. Specific examples of synthetic intermediates which are useful as compounds of this invention include N-(3-amino-5-[[3-(trifluoromethyl) phenyl]amino]phenyl)(3,5-dichlorophenyl)formamide, used in the preparation of Exemplary Compound 10; N-(5-(2-aza-3-naphthylprop-2-enyl)-3-[[3-(trifluoromethyl)
20 phenyl]carbonylamino]phenyl)[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide, used in the preparation of Exemplary Compound 14; (3-bromo-5-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl] carbamoyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl) phenyl] formamide, used in the preparation of Exemplary Compounds 23-25; 1-(3-[(2-Naphthyl)methoxy]-5-nitrobenzoyl)-2-benzoylhydrazine, used in the preparation of Exemplary Compound
25 15; and 3,5-bis(benzyloxy)benzoate; 3,5-Bis(Benzyloxy)benzoic acid; and 3,5-Bis(Benzyloxy) benzoic acid chloride, used in the synthesis of Exemplary Compound 8.

The compounds of the invention may be prepared as salts or derivatives.

Various salts and derivatives are known in the art and a non-limiting list of possible
30 choices includes acid salts: acetate, adipate, alginate, aspartate, benzoate, benzenesulfonate, bisulfate butyrate, citrate, camphorate, camphorsulfonate, cyclopentanepropionate, digluconate, dodecylsulfate, ethanesulfonate, fumarate,

WO 02/059080

PCT/US02/02538

glucoheptanoate, glycerophosphate, hemisulfate, heptanoate, hexanoate, hydrochloride, hydrobromide, hydroiodide, 2-hydroxyethanesulfonate, lactate, maleate, methanesulfonate, 2-naphthalenesulfonate, nicotinate, oxalate, mesylate, dimesylate, palmoate, pectinate, persulfate, 3-phenylpropionate, phosphates, picrate, 5 pivalate, propionate, succinate, sulfates, tartrate, thiocyanate, tosylate, and undecanoate. Base salts may include: amine salts, ammonium salts, alkali metal salts such as sodium and potassium salts, alkaline earth metal salts such as calcium and magnesium salts, salts with organic bases such as dicyclohexylamine salts, N-methyl-D-glucosamine, and salts with amino acids, for example arginine or lysine. Nitrogen- 1.0 containing groups of the compound can be quaternized with agents as: alkyl halides, for example methyl, ethyl, propyl, and butyl chlorides, bromides, or iodides; dialkyl sulfates, for example dimethyl, diethyl, dibutyl and diamyl sulfates, long chain halides, for example decyl, dodecyl, lauryl, myristyl, or stearyl chlorides, bromides, or iodides; and aralkyl halides, for example benzyl and phenethyl bromides, chlorides, or 1.5 iodides. The skilled artisan is familiar with methods for producing and testing any suitable salt or derivative. (See, for example, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th Edition, specifically incorporated herein by reference.)

Activity in Neuronal or Nervous System Cells

2.0 In general, activity in the nervous system for a particular compound can be identified by assaying for the ability to promote neurite outgrowth, protect neurons from damage by chemical treatments, promote the growth of neurons or neuronal cells, recover lost or damaged motor, functional or cognitive ability associated with 2.5 nervous tissue or organs of the nervous system, or regenerate neurons. These activities can be useful in treating, diagnosing, or prognosing a number of human disease conditions, including, but not limited to, the neurological conditions described above, as well as disorders of the retina and optic nerve, vestibulocochlear disorders, and erectile dysfunction related to nerve damage caused during prostate surgery. 3.0 A number of animal model assays and cell culture assays have been developed and can be relied on for their clinical relevance to disease treatments, including the human diseases noted above. Each of the following references can be used as a

WO 02/059080

PCT/US02/02538

source for these assays, and all of them are specifically incorporated herein by reference in their entirety for that purpose: Steiner, *et al.*, *PNAS* 94: 2019-2024 (1997); Hamilton, *et al.*, *Bioorgan. Med.Chem.Lett.* 7:1785-1790 (1997); McMahon, *et al.*, *Curr. Opin. Neurobiol.* 5:616-624 (1995); Gash, *et al.*, *Nature* 380:252-255 (1996); Gerlach, *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.- Mol. Pharmacol.* 208:273-286 (1991); Apfel, *et al.*, *Brain Res.* 634:7-12 (1994); Wang, *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 282:1084-1093 (1997); Gold, *et al.*, *Exp. Neurol.* 147:269-278 (1997); Hoffer *et al.*, *J. Neural Transm. [Suppl.]* 49:1-10 (1997); Lyons, *et al.*, *PNAS* 91:3191-3195 (1994); Yoshimoto and Siesjö, *Brain Res.*, 839, pp. 283-91 (1999); Kondo *et al.*, *Neurochem Res.*, 24, pp. 9-13 (1999); Friberg *et al.*, *J Neurosci.*, 18, pp. 5151-9 (1998); Sullivan *et al.*, *Exp Neurol.*, 2000 Feb;161, 631-7 (2000).

Preferred methods for detecting neuronal activity include a neuroprotective assay, for example an organotypic slice culture of the spinal cord, in which a compound is tested for the ability to protect against treatment causing glutamate neurotoxicity. Sensory neuronal cultures of the dorsal root ganglia (DRG) can also be assayed for neurite outgrowth, an assay for neurotrophic activity. Cultured cells are treated with a compound of the invention and later assayed for the presence of new neurite fibers. The compounds can also be tested for their ability to inhibit the mitochondrial permeability transition by measuring large amplitude mitochondrial swelling of freshly isolated rat liver mitochondria in a spectrophotometric assay [Broekemeier, *et al.*, *J. Biol. Chem.* 264: 7826-7830 (1989)].

The compounds of the present invention can further be assayed for their *in vivo* potency and efficacy using a common mouse model of a neurodegenerative disorder. Mice can be treated orally or subcutaneously, for example, with the compounds of the present invention, and subsequently be subjected to MPTP-treatment. MPTP (N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) is a systemically available neurotoxin that selectively destroys the dopaminergic neurons of the ventral midbrain as well as their forebrain projections. One skilled in the art is familiar with methods for assessing the integrity of the midbrain-forebrain projection in MPTP-lesioned mice that were treated with the compounds of this invention, and a relative preservation of the nerve fibres, nerve terminals, or of the dopaminergic cell bodies in the ventral midbrain, would be indicative of the relative neuroprotective efficacy of

WO 02/059080

PCT/US02/02538

the compounds of this invention.

In the assays here exemplified, immunohistochemistry can aid in the visualization and quantitation of neurites, terminals and cell bodies.

5 The compounds of the invention can also be used to promote the establishment or maintenance of tissue or cell cultures. Similar to the use for promoting neuronal cell growth, the compounds can be added to primary, transformed, or established cell cultures. Particularly in the case of neuronal cells, the compounds can induce growth in culture and extend the culture lifetime of cells.

10 Binding to CyP and Other Uses

A recognized method for assessing the affinity of the compound to cyclophilin is the rotamase inhibition assay. For this purpose, the following references are specifically incorporated by reference and can be relied on to make assays of
15 rotamase inhibition: Fischer, *et al.*, *Biomed. Biochem. Acta* 43:1101-1112 (1984); Kofron, *et al.*, *Biochem.* 30:6127-6134 (1991); Kofron *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 114:2670-2675 (1992); Harrison *et al.*, *Biochem.* 29:3813-3816 (1990); Lang *et al.*, *Nature* 329:268-270 (1987); Mucke *et al.*, *Biochem.* 31:7848-7854 (1992); Schonbrunner *et al.*, *J. Biol. Chem.* 266:3630-3635 (1991); Hsu *et al.*, *J. Am. Chem.*
20 *Soc.* 112:6745-6747 (1990); and Justice *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 171:445-450 (1990).

Additional uses for the compounds, which may or may not relate to CyP binding, are also included in the methods of the invention. For example, the compounds are useful to promote hair growth, and to prevent or retard hair loss. In
25 murine models which mimic human premature hair follicle regression or human chemotherapy-induced hair loss, topical application of CsA was found to induce and maintain hair growth, and topical or systemic administration of CsA was found to protect from hair loss induced by cancer chemotherapeutic agents [see, e.g., Maurer, *et al. Am. J. Pathol.* 150(4):1433-41 (1997); Paus, *et al.*, *Am. J. Pathol.* 144, 719-34
30 (1994)]. It has been speculated that initiation of hair growth by CsA is unrelated to immunosuppression [Iwabuchi, *et al.*, *J. Dermatol. Sci.* 9, 64-69 (1995)]. The compounds of the invention are useful in preventing or retarding hair loss in patients

WO 02/059080

PCT/US02/02538

undergoing therapy with doxorubicin, carboplatin, cisplatin, cyclophosphamide, dactinomycin, etoposide, hexamethelamine, ifosfamide, taxol, vincristine, bleomycin, 5-fluorouracil, and other agents useful in the therapy of cancer. The compounds of the invention are further useful in promoting hair growth in patients
5 suffering from hair loss caused by one or a combination of the aforementioned chemotherapeutic agents. The compounds of the invention are further useful in the prevention of hair loss, and in the promotion of hair growth, in patients undergoing radiation therapy, and in patients suffering from alopecia areata, androgenetic alopecia/male pattern baldness, anagen effluvium, trichotillomania, traction alopecia,
10 telogen effluvium, and hair loss induced by drugs such as, for example, methotrexate, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, or beta blockers.

For these purposes, the compounds may be administered as part of pharmaceutical or cosmetic compositions, singly, in combination with other compounds of the invention, in combination with other hair growth-promoting or
15 hair-loss preventing agents, or in combination with one or several other active agents such as, for example, antibiotic agents, antidandruff agents, and anti-inflammatory agents.

The compounds of the invention are also useful to treat or effect mitochondrial disorders, metabolic disorders, diabetes, or vision loss. The mitochondrion is
20 increasingly being recognized as an important mediator of cell death in hypoxia, ischemia, and chemical toxicity. Disruption of the mitochondrial transmembrane potential is observed before other features of apoptosis (e.g. generation of reactive oxygen species or internucleosomal DNA fragmentation ("laddering")) become detectable. This applies to many different models of apoptosis induction, such as, for
25 example, NGF-deprivation of cultured sympathetic neurons, dexamethasone-induced lymphocyte apoptosis, programmed lymphocyte death, activation-induced programmed cell death of T cell hybridomas, and tumor necrosis factor-induced death of lymphoma cells. [Marchetti, P., *et al.*, *J. Exp. Med.* 184 (1996) 1155-1160]. Breakdown of mitochondrial transmembrane potential in proapoptotic cells has been
30 attributed to the formation of an unspecific high conductance channel - the mitochondrial permeability transition pore - which leads to an increased permeability of the inner mitochondrial membrane to small molecular weight solutes. The ensuing

WO 02/059080

PCT/US02/02538

release of intramitochondrial ions, influx of solutes, uncoupling of oxidative phosphorylation, and loss of metabolic intermediates accompanies large amplitude mitochondrial swelling and a depletion of cellular energy stores [see, e.g., Lemasters, J. J. *et al.*, *Mol. Cell. Biochem.* 174 (1997) 159-165]. Importantly, CsA and non-

5 immunosuppressive peptidic CsA analogues have been described to potently block pore conductance and inhibit the onset of the mitochondrial permeability transition [Broekemeier, K.M., *et al.*, *J. Biol. Chem.* 264 (1989) 7826-7830; Zamzami, M., *et al.*, *FEBS Lett.* 384 (1996) 53-7]. The mitochondrial permeability transition pore forms under calcium overload conditions such as occur in ischemia/reperfusion

10 injury, and it has been found that administration of CsA and/or non-immunosuppressive peptidic CsA analogues, by blocking the permeability transition pore, leads to significant protection in experimental models of cerebral stroke [Matsumoto, S., *et al.*, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 19 (1999) 736-41], cardiac ischemia [Griffiths, E.J. and Halestrap, A.P., *J. Mol. Cell Cardiol.* 25 (1993) 1461-

15 1469], and hepatic ischemia/reperfusion injury [Leducq, N., *et al.*, *Biochem. J.* 336 (1998) 501-6]. The compounds of the invention are useful in blocking the mitochondrial permeability transition pore; inhibiting breakdown of mitochondrial metabolism in cells which undergo oxidative stress, calcium overload, excitotoxic or hypoglycemic injury both *in vitro* and *in vivo*; inhibiting mitochondrial swelling;

20 inhibiting, both *in vivo* and *in vitro*, breakdown of energy metabolism and cell death of mammalian cells following either physiological induction of programmed cell death through signal molecules such as, for example, tumor necrosis factor, or following physiological stress related to hypoxia, hypoglycemia, excitotoxic insult, or calcium overload. The inventive compounds are useful in preventing or delaying cell

25 death in large scale/commercial scale cell culture. The compounds of the invention are further useful in the diagnosis, cure, mitigation, treatment, or prevention of ischemic injury or ischemia/reperfusion injury, such as mesenteric infarction, bowel ischemia, hepatic infarction or ischemia/reperfusion injury, renal infarction, splenic infarction, or cardiac ischemia or ischemia/reperfusion injury related, for example, to

30 angina pectoris, congestive heart failure, or myocardial infarction. Additional uses of the compounds of the invention include applications in the diagnosis, cure, mitigation, treatment, or prevention of Reye's syndrome; ophthalmic disorders such as glaucoma,

WO 02/059080

PCT/US02/02538

ischemic or vascular retinopathies, or degeneration of the photoreceptor cell layer.
The invention also provides a method of preventing or reducing tissue damage of
organs used in organ transplantation surgery, comprising contacting said organs with
a compound of Formula I.

5 CsA and its non-immunosuppressive peptidic analogues have also been found
to potently inhibit the growth of pathogenic protozoan parasites, such as
Cryptosporidium parvum, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Schistosoma*
spec., and *Toxoplasma gondii* [Perkins, *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 843-
848 (1998)]. Although antiprotozoan activity appears not to be correlated with
10 immunosuppressive or PPIase inhibitory activity [Bell, *et al.*, *Biochem. Pharmacol.*
48:495-503 (1994); Khattab, *et al.*, *Exp. Parasitol.* 90:103-109 (1998)], the protozoan
cyclophilin, complexed to CsA or its non-immunosuppressive analogues, has been
proposed to play an active role in mediating the antiparasitic effects of peptidic
cyclophilin ligands [Berriman and Fairlamb, *Biochem. J.* 334:437-445 (1998)]. CyA
15 and its non-immunosuppressive analogues also inhibit reproduction of filarial
parasites *in vivo* with a potency unrelated to their immunosuppressive activity and
their activity against *Plasmodium* [Zahner and Schultheiss, *J. Helminthol.* 61:282-90
(1987)], and have been shown to exert direct anthelmintic effects [McLauchlan, *et*
al., *Parasitology* 121:661-70 (2000)].

20 The compounds of this invention are useful in the diagnosis, cure, mitigation,
treatment, or prevention of infections with pathogenic protozoan or helminthic
parasites in animals, including humans. In humans, the present compounds find
application in the treatment of conditions such as, for example, malaria, river
blindness, lymphatic filariasis, intestinal roundworm infection, tapeworm infection,
25 pinworm infection, toxoplasmosis, leishmaniasis, trypanosomiasis, and bilharzia.

The compounds of this invention are also useful in affecting the viral
replication process of the HIV-1 virus. The infectivity of the HIV-1 virus is believed
to depend critically upon an interaction of the viral Gag polyprotein capsid complex
with host Cyclophilin A. [Streblow *et al.* *Virology* 245 (1998) 197-202; Li *et al.* *J.*
30 *Med. Chem.* 43, (2000) 1770-9]. The compounds of this invention can function to
inhibit or disrupt the interaction of human host CyPA with HIV-1 Gag proteins, to
decrease or eliminate the infectivity of the HIV-1 virus, to treat or prevent infection of

WO 02/059080

PCT/US02/02538

humans with the HIV-1 virus, and to treat or prevent acquired immune deficiency syndrome (AIDS) associated with HIV-1 infection. The compounds of this invention are further useful in the diagnosis, treatment, cure, mitigation or prevention of infections with strains of the human immunodeficiency virus other than HIV-1, and of
5 infections caused by other pathogenic viruses, such as influenza viruses.

Pharmaceutical Formulations and Routes of Administration

10 The compounds of the invention have utility in pharmacological compositions for the treatment and prevention of various neurological, ischemic, and inflammatory disorders or for various *in vitro* and cell culture treatments. The compounds also have utility in pharmacological compositions for the treatment and prevention of HIV-
infection, promotion of hair growth, immunosuppression, mitochondrial disorders,
15 traumatic injury to nervous tissue, or conditions associated with retinal and optic nerve damage. The compounds of the invention may be prepared as a salt or derivative, as described above.

A compound of the invention can be administered to an animal or human patient by itself or in pharmaceutical compositions where it is mixed with suitable
20 carriers or excipients, at doses to treat or ameliorate various conditions. The compounds according to the present invention preferably have sufficient stability, potency, selectivity, solubility and availability to be safe and effective in treating diseases, injuries and other abnormal conditions or insults to the central nervous system, the peripheral nerves, and other organs. A therapeutically effective dose refers
25 to that amount of the compound sufficient to effect an activity in a nerve or neuronal cell, to produce a detectable change in a cell or organism, or to treat a disorder in a human or other mammal. The word "treat" in its various grammatical forms as used in relation to the present invention refers to preventing, curing, reversing, attenuating,
alleviating, minimizing, suppressing, ameliorating or halting the deleterious effects of
30 a disease state, disease progression, injury, wound, ischemia, disease causative agent (*e.g.*, bacteria, protozoans, parasites, fungi, viruses, viroids and/or prions), surgical procedure or other abnormal or detrimental condition (all of which are collectively referred to as "disorders," as will be appreciated by the person of skill in the art). A

WO 02/059080

PCT/US02/02538

"therapeutically effective amount" of a compound according to the invention is an amount that can achieve effective treatment, and such amounts can be determined in accordance with the present teachings by one skilled in the art.

The methods of the present invention comprise (i.) administration of a compound of Formula I, where the compound is itself therapeutically active in the treatment of the targeted medical condition, or (ii.) administration of a prodrug of a compound of Formula I, wherein such prodrug is any compound which is capable of undergoing metabolic conversion to a compound of Formula I following administration, or (iii.) administration of a compound of Formula I where the compound is capable of undergoing metabolic conversion to a metabolite following administration, and where the metabolite is therapeutically active in the treatment of the targeted medical condition, or (iv.) administration of a metabolite of a compound of Formula I, where the metabolite is therapeutically active in the treatment of the targeted medical condition. Thus, the use of a compound of Formula I in the methods of the present invention explicitly includes not only the use of the compound itself, but also the modifications ii, iii, and iv discussed in this paragraph, and all such modifications are explicitly intended to be within the scope of the following claims.

Therapeutically effective doses may be administered alone or as adjunctive therapy in combination with other treatments. Techniques for the formulation and administration of the compounds of the instant application may be found in *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition (1990).

Suitable routes of administration may, for example, include oral, rectal, transmucosal, buccal, or intestinal administration; parenteral delivery, including intramuscular, subcutaneous, intramedullary injections, as well as intrathecal, direct intraventricular, intravenous, intraperitoneal, intranasal, or intraocular injections, and optionally in a depot or sustained release formulation. Furthermore, one may administer the agent of the present invention in a targeted drug delivery system, for example in a liposome coated with an antibody. The liposomes will be targeted to and taken up selectively by cells expressing the appropriate antigen.

The pharmaceutical compositions of the present invention may be manufactured in a manner that is itself known, e.g., by means of conventional mixing,

WO 02/059080

PCT/US02/02538

dissolving, emulsifying, encapsulating, entrapping, or lyophilizing processes. Pharmaceutical compositions for use in accordance with the present invention thus may be formulated in conventional manner using one or more physiologically acceptable carriers comprising excipients and auxiliaries, which facilitate processing of the active compounds into preparations, which can thus be used pharmaceutically.

For injection, the agents of the invention may be formulated in aqueous solutions, preferably in physiologically compatible buffers, such as Hank's solution, Ringer's solution, or physiological saline buffer. For transmucosal or buccal administration, penetrants appropriate to the barrier to be permeated may be used in the formulation. Such penetrants are known in the art.

For oral administration, the compounds can be formulated readily by combining the active compounds with pharmaceutically acceptable carriers, well known to those in the art. Such carriers enable the compounds of the invention to be formulated as tablets, pills, capsules, liquids, quick-dissolving preparations, gels, syrups, slurries, suspensions and the like, for oral ingestion by a patient to be treated. Pharmaceutical preparations for oral use of the compounds of this invention can be obtained by employing a solid excipient, optionally grinding a resulting mixture, and processing the mixture of granules, after adding suitable auxiliaries, if desired, to obtain tablets. Suitable excipients are, in particular, fillers such as sugars, including lactose, sucrose, mannitol, or sorbitol; cellulose preparations such as, for example, maize starch, wheat starch, rice starch, potato starch, gelatin, gum tragacanth, methyl cellulose, hydroxypropylmethyl-cellulose, sodium carboxymethylcellulose, and/or polyvinylpyrrolidone (PVP).

In general, the pharmaceutical compositions also may comprise suitable solid or gel phase carriers or excipients. Examples of such carriers or excipients include but are not limited to calcium carbonate, calcium phosphate, various sugars, starches, cellulose derivatives, gelatin, and polymers such as polyethylene glycols. If desired, disintegrating agents may be added, such as the cross-linked polyvinyl pyrrolidone, agar, or alginic acid or a salt thereof such as sodium alginate or a number of others disintegrants [see, for example, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition (1990)].

For administration by inhalation, the compounds for use according to the

WO 02/059080

PCT/US02/02538

present invention are conveniently delivered in the form of an aerosol spray presentation from pressurized packs or a nebulizer, with the use of a suitable propellant, e.g., dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, dichlorotetrafluoroethane, carbon dioxide, pressurized air, or other suitable gas or mixture. In the case of a pressurized 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 the compound and a suitable powder base such as lactose or starch.

The compounds may be formulated for parenteral administration by injection, e.g., by bolus injection or continuous infusion. Pharmaceutical formulations for parenteral administration include aqueous solutions of the active compounds in water-soluble form. Additionally, suspensions of the active compounds may be prepared as appropriate oily injection suspensions. Suitable lipophilic solvents or vehicles include fatty oils such as sesame oil, or synthetic fatty acid esters, such as ethyl oleate or triglycerides, or liposomes. Aqueous injection suspensions may contain substances which increase the viscosity of the suspension, such as sodium carboxymethyl cellulose, sorbitol, or dextran. Optionally, the suspension may also contain suitable stabilizers or agents, which increase the solubility of the compounds to allow for the preparation of highly concentrated solutions. Alternatively, the active ingredient may be in powder form for reconstitution with a suitable vehicle, e.g., sterile pyrogen-free water, before use.

The compounds may also be formulated in rectal compositions such as suppositories, e.g., containing conventional suppository bases such as cocoa butter or other glycerides. In addition to the formulations described previously, the compounds may also be formulated as a depot preparation. 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.

The compounds of the invention may further be formulated in pharmaceutical or cosmetic compositions for topical application to the skin in the form of an aqueous,

WO 02/059080

PCT/US02/02538

alcoholic, aqueous/alcoholic or oily solution, or of a dispersion of the lotion or serum type, of an emulsion having a liquid or semi-liquid consistency of the milk type, obtained by dispersion of a fatty phase in an aqueous phase (O/W) or vice versa (W/O), or of a suspension or of an emulsion with a soft consistency of the aqueous or

5 anhydrous gel, foam or cream type, or, alternatively, of microcapsules or microparticles, or of a vesicular dispersion of ionic and/or nonionic type, or may further be administered in the form of an aerosol composition comprising a pressurized propellant agent. The compounds of the invention can also be formulated into various compositions for hair care and, in particular, shampoos, hair-setting

10 lotions, treating lotions, styling creams or gels, dye compositions (in particular oxidation dyes), optionally in the form of color-enhancing shampoos, hair-restructuring lotions, permanent-wave compositions, and the like. Pharmaceutical or cosmetic compositions comprising compounds of the invention can also contain additives and adjuvants which are conventional in the cosmetics field, such as gelling

15 agents, preservatives, antioxidants, solvents, fragrances, fillers, screening agents, odor absorbers and colorants. The amounts of these different additives and adjuvants are those typically employed in the cosmetics field and range, for example, from 0.01% to 20% of the total weight of the composition, preferably 0.1% to 10%, and more preferably 0.5% to 5%. In addition to one or several compounds of the invention,

20 compositions for topical application may further contain additional agents already known in the art to promote hair growth or to prevent or retard hair loss, such as, without limitation, tocopherol nicotinate, benzyl nicotinate or 2,4-diamino-6-piperidinopyrimidine 3-oxide, or may contain other active agents such as antibacterial agents, antiparasitic agents, antifungal agents, antiviral agents, anti-inflammatory

25 agents, antipruriginous agents, anaesthetic agents, keratolytic agents, antiseborrhoeic agents, antidandruff agents, or antiacne agents. The cosmetic or pharmaceutical compositions according to the invention can be topically applied onto the alopecic areas of the scalp and skin of an individual and optionally maintained in contact for a number of hours and optionally rinsed. It is possible, for example, to apply the

30 composition containing an effective amount of at least one compound of the invention in the evening, to retain the composition in contact overnight and optionally to shampoo in the morning. These applications can be repeated daily for one or a

WO 02/059080

PCT/US02/02538

number of months, depending on the particular individuals involved.

Liposomes and emulsions are well known examples of delivery vehicles or carriers for hydrophobic drugs. Certain organic solvents such as dimethylsulfoxide also may be employed. Additionally, the compounds may be delivered using a
5 sustained-release system, such as semipermeable matrices of solid hydrophobic polymers containing the therapeutic agent. Various sustained-release materials have been established and are well known by those skilled in the art. Sustained-release capsules may, depending on their chemical nature, release the compounds for a few weeks up to over 100 days. Depending on the chemical nature and the biological
10 stability of the therapeutic reagent, additional strategies for stabilization may be employed.

Pharmaceutical compositions suitable for use in the present invention include compositions wherein the active ingredients are contained in an effective amount to achieve their intended purpose, to effect a therapeutic benefit, or to effect a detectable
15 change in the function of a cell, tissue, or organ. More specifically, a therapeutically effective amount means an amount effective to prevent the development of or to alleviate the existing symptoms of the subject being treated. Determining the effective amount is well within the capability of those skilled in the art, especially in light of the detailed disclosure provided herein.

20 Toxicity and therapeutic efficacy of the compounds or compositions can be determined by standard pharmaceutical, pharmacological, and toxicological procedures in cell cultures or experimental animals. For example, numerous methods for determining the LD₅₀ (the dose lethal to 50% of the population) and the ED₅₀ (the dose therapeutically effective in 50% of the population) exist. The dose ratio between
25 toxic and therapeutic effects is the therapeutic index, which can be expressed as the ratio between LD₅₀ and ED₅₀. Compounds and compositions exhibiting high therapeutic indices are preferred. The data obtained from cell culture assays or animal studies can be used in formulating a range of dosages for use in humans. [See, for example, Fingl *et al.*, in *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Ch. 1 p. 1
30 (1975)].

The compounds of the present invention may be administered by a single dose, multiple discrete doses or continuous infusion. Because the compounds

WO 02/059080

PCT/US02/02538

preferably are non-peptidic, easily diffusible and relatively stable, they can be well-suited to continuous infusion.

Dose levels on the order of about 0.1 mg to about 10,000 mg of the active ingredient are useful in the treatment of the above conditions, with preferred levels

5 being about 0.1 mg to about 1,000 mg. The specific dose level, and thus the therapeutically-effective amount, for any particular patient will vary depending upon a variety of factors, including the activity of the specific compound employed and its bioavailability at the site of drug action; the age, body weight, general health, sex and diet of the patient; the time of administration; the rate of excretion; drug combination;
10 the severity of the particular disease being treated; and the form of administration. Typically, *in vitro* dosage-effect results provide useful guidance on the proper doses for patient administration. Studies in animal models also are helpful. The considerations for determining the proper dose levels are available to the skilled person.

15 Certain compounds can administered in lyophilized form. In this case, 1 to 1000 mg of a compound of the present invention may be lyophilized in individual vials, together with a carrier and a buffer, such as mannitol and sodium phosphshate. The compound may be reconstituted in the vials with bacteriostatic water before administration.

20 In treating neurological disorders resulting from global or focal ischemia, for example, the compounds of the present invention are preferably administered orally, rectally, parenterally or topically at least 1 to 6 times daily, and may follow an initial bolus dose of higher concentration.

For the compounds, methods, and uses of the present invention, any
25 administration regimen regulating the timing and sequence of drug delivery can be used and repeated as necessary to effect treatment. Such regimen may include pretreatment and/or co-administration with additional therapeutic agents.

ILLUSTRATIVE EXAMPLES

30 Synthetic Routes to Production of Exemplary Compounds of the Invention

WO 02/059080

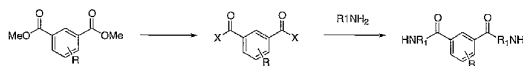
PCT/US02/02538

- Example 1 -

Synthesis of Exemplary Compounds 2, 3, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 32, 37, 38, 41, 42, and 43:

- 5 Symmetrical bis-amides, such as Exemplary Compounds 2, 3, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 32, 37, 38, 41, 42, and 43, may be prepared by reacting aryl bis-carboxylic acids or chlorides, obtained from the corresponding esters, with appropriate amines, as in Scheme 1:

10



15

Scheme 1

Synthesis of 1,3-Bis-[3,4-dichlorophenyl]aminocarbonyl]-5-(benzyloxy)benzene
(**Exemplary Compound 43**).

20

5-Phenoxymethyl-isophthalic acid dimethyl ester. A mixture of 5-hydroxyisophthalic acid dimethyl ester (700 mg; 3.33 mmol), benzyl bromide (635 mg; 3.70 mmol), and potassium carbonate (510 mg; 3.7 mmol) in acetone was refluxed overnight. After cooling, the mixture was partitioned between water and ethyl acetate. The layers were separated, the aqueous layer was extracted twice more with ethyl acetate, and the combined organic portions were washed with brine, dried, and concentrated to provide a crude solid. Recrystallization from ethyl acetate/hexanes furnished the product as a white crystalline material, mp 95-97°C, ¹H NMR (400 MHz): δ 3.94 (s, 6H); 5.15 (s, 2H); 7.42 (m, 5H); 7.84 (s, 2H); 8.29 (s, 1H).

30

5-Phenoxymethylisophthalic acid. A mixture of 5-phenoxymethyl-isophthalic acid dimethyl ester (5.5 g; 12.3 mmol) and 20% ethanolic potassium hydroxide (250 mL) was refluxed overnight. After cooling and concentrating, the residue was dissolved in

WO 02/059080

PCT/US02/02538

water, acidified with 2N HCl, and the product was extracted into ethyl acetate. The organic extracts were washed with brine, dried, and concentrated to obtain the diacid as a white powder, 4.8 g.

5 1,3-Bis-[3,4-dichlorophenyl]aminocarbonyl-5-(benzyloxy)benzene (Exemplary Compound 43). A solution of the diacid in thionyl chloride (50 mL) was refluxed overnight. The volatiles were removed *in vacuo* to obtain the bis-acid chloride (500 mg), which was immediately dissolved in dimethylacetamide (10 mL) and treated with
10 mixture overnight, it was poured on ice, and the resulting solid was collected by filtration, washed with water, and dried. Recrystallization from acetone provided the product, ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.64 (s, 2H); 8.17-8.13 (m, 3H); 7.83-7.76 (m, 4H); 7.65 (d, J=9.0 Hz, 2H); 7.52 (d, J=7.0 Hz, 2H); 7.44 (t, J=7.0 Hz, 2H); 7.40-7.35 (m, 1H); 5.29 (s, 2H). Anal: Calcd for: C, 57.88; H, 3.24; N, 5. Found: C,
15 57.66; H, 3.37; N, 4.93.

5-Hydroxy-N,N'-bis-(3-trifluoromethyl-phenyl)-isophthalamide (Exemplary Compound 2). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 10.01(s, 2H), 8.34(s, 2H), 8.18(d, 2H), 8.12(s, 1H), 7.66(s, 2H), 7.57(t, 2H), 7.42(d, 2H). Anal: Calcd for: C, 56.42; H, 3.01; N, 5.98. Found: C, 56.31; H, 3.29; N, 6.11.

5-Naphthalen-1-yl-N,N'-bis-(3-trifluoromethyl-phenyl)isophthalamide (Exemplary Compound 3). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 10.77(s, 2H), 8.739s, 1H), 8.36(s, 2H), 8.269s, 2H), 8.06(m, 4H), 7.86(t, 1H), 7.46-7.61(m, 8H).

25 (3-(2-(4-pyridyl)vinyl)-5-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbonyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (Exemplary Compound 16). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.98(s, 2H), 8.46(s, 1H), 8.34(s, 2H), 8.229s, 1H), 7.78(d, 2H), 7.70(d, 2H), 7.49(s, 1H), 7.32-7.41(m, 9H). Anal: Calcd for: C, 61.88; H, 3.52; N, 7.73.
30 Found: C, 61.78; H, 3.76; N, 7.68.

(5-(2-naphthoxy)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbonyl]phenyl)-N-[3-

WO 02/059080

PCT/US02/02538

(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 17**). ¹H NMR (Acetone-d₆, 400 MHz) 9.87(s, 2H, NH), 8.28(s, 1H), 8.149s, 2H), 7.93(d, 2H), 7.84(d, 1H), 7.80(s, 2H), 7.76(s, 1H), 7.70(d, 1H), 7.48(t, 2H), 7.40(t, 1H), 7.36(t, 1H), 7.309d, 2H), 7.229d, 1H). Anal: Calcd for: C, 64.65; H, 3.39; N, 4.71. Found: C, 64.88; H, 3.57; N, 4.68.

(5-(2-naphthyl)-3-(N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl)phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 18**). ¹H NMR (Acetone-d₆, 400 MHz) 10.35(s, NH, 2H), 8.63(s, 2H), 8.57(s, 1H), 8.45(m, 3H), 8.15(d, 1H), 8.10(d, 1H), 8.03(d, 1H), 7.65(d, 1H), 7.61(t, 1H), 7.56(t, 1H), 7.52(d, 2). Anal: Calcd for: C, 66.44; H, 3.48; N, 4.84. Found: C, 66.86; H, 3.64; N, 4.97.

1-[(3,4-dichlorophenyl)oxymethyl]-3,5-bis-[(2-(3,4-dichlorophenyl)ethyl)aminocarbonyl]benzene (**Exemplary Compound 19**). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 8.70 (s, 2H); 8.19 (s, 1H); 7.98 (s, 2H); 7.52-7.49 (m, 5H); 7.36 (s, 1H); 7.23 (d, J=8.0, 2H); 7.07 (d, J=9.0, 1H); 5.22 (s, 2H); 3.52-3.49 (m, 4H); 2.89-2.84 (m, 4H). Anal: Calcd for: C, 54.34; H, 3.53; N, 4.09; Cl, 31.04. Found: C, 54.23; H, 3.62; N, 4.02; Cl, 30.98.

1-[(3,4-dichlorophenyl)oxymethyl]-3,5-bis-[(3,5-dichlorophenyl)aminocarbonyl]benzene (**Exemplary Compound 20**). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.82 (s, 2H); 8.55 (s, 1H); 8.24 (s, 2H); 7.93 (s, 4H); 7.58 (d, J=9.0, 1H); 7.42 (s, 1H); 7.38 (s, 2H); 7.12 (d, J=9.0, 1H); 5.34 (s, 2H). Anal: Calcd for: C, 51.54; H, 2.56; N, 4.45. Found: C, 51.74; H, 3.03; N, 4.64.

1-[4-(2-cyanophenyl)benzyl]oxy-3,5-bis-[(3,4-dichlorophenyl)ethyl]aminocarbonyl]benzene (**Exemplary Compound 21**). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 8.65 (t, J=5.5, 2H); 7.97 (d, J=7.5, 1H); 7.87 (s, 1H); 7.81 (t, J=7.5, 1H); 7.69-7.50 (m, 12H); 7.23 (d, J=8.0, 2H); 5.28 (s, 2H); 3.51 (q, J=6.5, 4H); 2.87 (t, J=7.0, 4H). Anal: Calcd for: C, 63.61; H, 4.07; N, 5.86; Cl, 19.77. Found: C, 63.51; H, 4.18; N, 5.80; Cl, 19.66.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

1-[4-(2-cyanophenyl)benzyloxy]-3,5-bis-[(3-cyanophenyl)aminocarbonyl] benzene
(Exemplary Compound 22). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.76 (s, 2H); 8.29 (s, 2H); 8.22 (s, 1H); 8.14-8.07 (m, 2H); 7.98 (d, J=7.5, 1H); 7.89 (s, 2H); 7.81 (t, J=8.0, 1H); 7.72-7.56 (m, 10H); 5.40 (s, 2H). Anal: Calcd for: C, 73.09; H, 4.26; N, 11.84.
5 Found: C, 73.17; H, 4.27; N, 11.82.

(5-(2-(2-5,6,7,8-tetrahydronaphthyl)ethyl)-3-(N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]
carbamoyl) phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (Exemplary
Compound 23). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.049s, 2H, NH), 8.499s, 1H),
10 8.38(s, 2H), 8.13(m, 4H), 7.65(t, 2H), 7.55(d, 2H), 7.11(s, 1H), 7.01(d, 2H), 3.18(t,
2H), 3.03(t, 2H), 2.75(m, 4H), 1.84(m, 4H). Anal: Calcd for: C, 66.88; H, 4.62; N,
4.59. Found: C, 66.50; H, 4.81; N, 4.49.

(5-(2-(2-naphthyl)ethyl)-3-(N-[3-(trifluoromethyl)phenyl] carbamoyl) phenyl)-N-[3-
15 (trifluoromethyl)phenyl]formamide (Exemplary Compound 24). ¹H NMR (DMSO-
d₆, 400 MHz) 9.88(s, 2H, NH), 8.30(s, 1H), 8.19(s, 2H), 8.06(s, 2H), 7.94(d, 2H),
7.71(d, 2H), 7.69(d, 1H), 7.61(s, 1H), 7.53(t, 2H), 7.35(m, 4H), 3.11(s, 4H). Anal:
Calcd for: C, 67.32; H, 3.99; N, 4.62. Found: C, 67.04; H, 4.06; N, 4.60.

(5-(2-(2-naphthyl)vinyl)-3-(N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl) phenyl)-N-[3-
20 (trifluoromethyl)phenyl]formamide (Exemplary Compound 25). ¹H NMR (DMSO-
d₆, 400 MHz) 10.81(s, 2H, NH), 8.5(s, 3H), 8.28(s, 2H), 8.15(d, 2H), 8.12(s, 1H),
7.979s, 2H), 7.93(t, 2H), 7.64(m, 4H), 7.529m, 4H). Anal: Calcd for: C, 65.22; H,
3.93; N, 4.47. Found: C, 65.20; H, 3.67; N, 4.73.

25 (3-bromo-5-(N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl)phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)
phenyl]formamide (Exemplary Compound 26). ¹H NMR (DMSO-d₆ + D₂O, 400
MHz) 10.6(s, 2H, NH), 8.64(s, 1H), 8.819s, 2H), 8.53(s, 2H), 8.22(d, 2H), 7.76(t, 2H),
7.62(d, 2H). Anal: Calcd for: C, 49.74; H, 2.47; N, 5.27. Found: C, 49.56; H, 2.40; N,
30 5.29.

1-(3,4-dichlorobenzyloxy)-3,5-bis-[(3,4,5-trichlorophenyl)aminocarbonyl] benzene

WO 02/059080

PCT/US02/02538

(Exemplary Compound 32). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.69 (s, 2H); 8.16 (s, 1H); 8.11 (s, 4H); 7.82-7.77 (m, 3H); 7.70 (d, J=8.5 Hz, 1H); 7.50 (d, J=8.5 Hz, 1H); 5.28 (s, 2H). Anal: Calcd for: C, 46.46; H, 2.02; N, 4.01. Found: C, 46.38; H, 2.17; N, 3.94.

5

3-[[[(3-Trifluoromethyl-4-chlorophenyl)aminocarbonyl]benzyloxy]-1,5-bis-[(3-trifluoromethyl-4-chlorophenyl)aminocarbonyl]benzene (Exemplary Compound 37). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.80 (s, 2H); 10.71 (s, 1H); 8.37 (s, 3H); 8.23 (s, 1H); 8.30-8.07 (m, 4H); 7.99 (d, J=8.0 Hz, 1H); 7.89 (s, 2H); 7.82-7.71 (m, 4H); 7.63 (t, J=7.5 Hz, 1H); 5.41 (s, 2H). Anal: Calcd for: C, 52.35; H, 2.49; N, 4.95. Found: C, 52.36; H, 2.54; N, 5.09.

10

3-[[[(3,4-dichlorophenyl)aminocarbonyl]benzyloxy]-1,5-bis-[(3,4-dichlorophenyl)aminocarbonyl]benzene (Exemplary Compound 38). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.65 (s, 2H); 10.57 (s, 1H); 8.16 (s, 4H); 8.10 (s, 1H); 7.97 (d, J=8.0 Hz, 1H); 7.85 (s, 2H); 7.83-7.77 (m, 4H); 7.69-7.51 (m, 4H); 5.39 (s, 2H). Anal: Calcd for: C, 53.29; H, 3.03; N, 5.48. Found: C, 53.20; H, 2.87; N, 5.52.

15

{2-bromo-5-[N-(3-nitrophenyl)carbamoyl]phenyl}-N-(3-nitrophenyl) formamide (Exemplary Compound 41). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 7.68(q, 2H); 7.95-8.07(m, 5H); 8.21(t, 2H); 8.78(s, 2H). Anal: Calcd for: C, 49.59; H, 2.82; N, 11.34. Found: C, 49.75; H, 2.86; N, 11.38.

20

1,3-Bis[(3-trifluoromethylphenyl)aminocarbonyl]-5-[(2-naphthyl) methyloxy] benzene (Exemplary Compound 42). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.73 (s, 2H); 8.26 (s, 2H); 8.23 (s, 1H); 8.12-8.05 (m, 3H); 8.02-7.92 (m, 3H); 7.91 (s, 2H); 7.66-7.61 (m, 3H); 7.57-7.52 (m, 2H); 7.49 (d, J=7.5 Hz, 2H); 5.48 (s, 2H). Anal: Calcd for: C, 65.13; H, 3.64; N, 4.60. Found: C, 64.88; H, 3.80; N, 4.69.

25

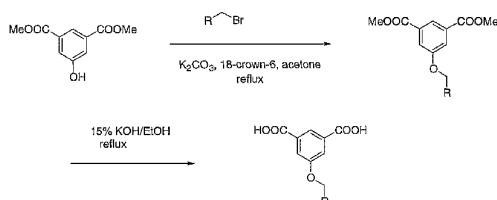
The intermediate diacid for Exemplary Compounds 42, 32, 22, and 21, and for Exemplary Compounds 19 and 20, was synthesized as shown in Scheme I-A and I-B, respectively:

30

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Dimethyl 3-(3,4-dichlorobenzoyloxy)isophthalate. A mixture of 5-hydroxyisophthalic acid dimethyl ester (4.62 g, 20 mmol), (3,4-dichloro)benzyl bromide (2.77 mL, 20 mmol), potassium carbonate (4.15 g, 30 mmol), and dicyclohexano-18-crown-6 (80 mg) in acetone (100 mL) was stirred and refluxed overnight, cooled to room temperature, and poured on ice-water (200 g). Precipitate formed was filtered, washed with water (5x50 mL), and air-dried to give 6.94 g (94%) of the substituted diester: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz), δ: 8.31 (s, 1H); 7.81 (s, 2H); 7.55 (s, 1H); 7.47 (d, J=8.0 Hz, 1H); 7.27 (d, J=8.5 Hz, 1H); 5.10 (s, 2H); 3.95 (s, 6H).



Scheme I-A

3-(3,4-Dichlorobenzoyloxy)isophthalic acid. A suspension of dimethyl 3-(3,4-dichlorobenzoyloxy)isophthalate (6.94 g, 18.8 mmol) in the mixture of KOH (15% aq., 50 mL) and EtOH (100 mL) was refluxed for 0.5 h, then cooled to room temperature and stirred overnight. The formed solution was acidified with HCl conc. (to pH 2), and bulky precipitate formed was filtered and air-dried. White solid; yield 5.66 g (88%).

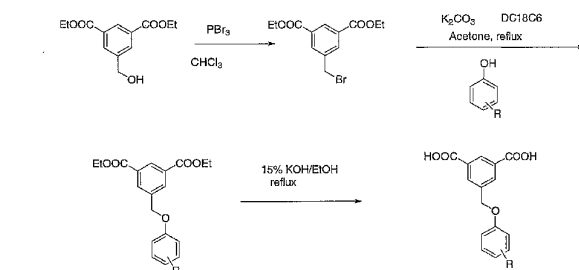
The above diacid was carried on to the final product (Exemplary Compound 42) by the method of Scheme I.

Following the procedure in Scheme I-A, the requisite intermediates for Exemplary Compounds 21, 22, and 32 were prepared and converted to final products by the methods of Scheme I.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

3,5-Bis(ethoxycarbonyl)benzyl bromide. A solution of 3,5-bis(ethoxycarbonyl)benzyl alcohol (2.53 g, 10 mmol) and PBr_3 (0.95 mL, 10 mmol) in chloroform (50 mL) was stirred at room temperature overnight. Yellowish solution was washed with water (50 mL). Organic layer separated, dried with Na_2SO_4 anhyd. and evaporated *in vacuo* to provide the benzylic bromide as a white solid, yield 3.10 g (98%). ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz), δ : 8.61 (s, 1H); 8.25 (s, 2H); 4.55 (s, 2H); 4.42 (q, $J=7.0$ Hz, 4H); 1.43 (t, $J=7.0$ Hz, 6H).



1.0

Scheme I-B

15 Dimethyl 5-((3,4-dichlorophenyl)oxymethyl)isophthalate. The title compound was prepared in a manner similar to that described for dimethyl 3-(3,4-dichlorobenzyloxy)isophthalate (Scheme I-A), from 3,4-dichlorophenol and 3,5-bis(ethoxycarbonyl)benzyl bromide. Yield 90%. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz), δ : 8.53 (s, 1H); 8.27 (s, 2H); 7.53 (d, $J=8.0$ Hz, 2H); 7.38 (s, 1H); 7.08 (d, $J=8.0$ Hz, 1H); 5.32 (s, 2H); 4.46 (q, $J=7.0$ Hz, 4H); 1.45 (t, $J=7.0$ Hz, 6H).

2.0

5-((3,4-Dichlorophenyl)oxymethyl)isophthalic acid. The title compound was prepared by hydrolyzing the diester to the diacid as described in Scheme I-A. White microcrystals, yield 96%.

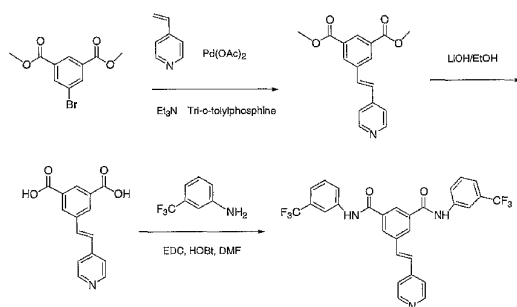
WO 02/059080

PCT/US02/02538

The above diacid was converted to Exemplary Compounds 19 and 20 by the methods of Scheme I.

The method of Scheme I-C was used to prepare Exemplary Compound 16, below.

5



Scheme I-C

- 10 Synthesis of (3-(2-(4-pyridyl)vinyl)-5-([N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)carbamoyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 16**).

5-(2-pyridin-4-yl-vinyl)-isophthalic acid dimethylester. A solution of 5-bromoisophthalic acid dimethylester (542mg, 2mmol) and 4-vinylpyridine (206mg, 2mmol), Pd(OAc)₂ (8mg), tri-o-tolylphosphine (30mg) in 5ml Et₃N(5ml) was stirred at 80°C for overnight. The reaction mixture was purified by silica gel column eluted by 50% EtOAc in hexane to afford the product (65% yield). MS+ = 297. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.64(s, 1H), 8.61(d, 2H), 8.38(d, 2H), 7.40(m, 2H), 7.35(m, 1H), 7.21(m, 1H), 4.02(s, 6H).

20

5-(2-pyridin-4-yl-vinyl)-isophthalic acid. A solution of LiOH (2.5mmol) in water (1ml) was added to 5-(2-pyridin-4-yl-vinyl)-isophthalic acid dimethylester (297mg, 1mmol) suspended in 5ml EtOH. The mixture was stirred at room temperature. The

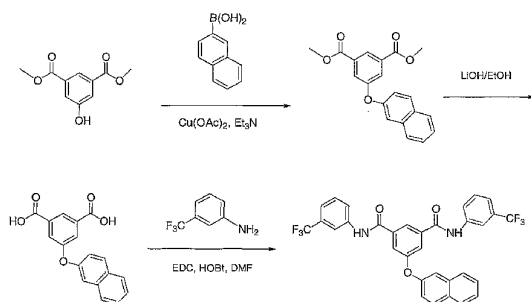
WO 02/059080

PCT/US02/02538

reaction was monitored by TLC until completion. 2.5ml 1 M HCl solution was then added and the mixture was evaporated to dryness. The product was used in next step without further purification.

- 5 (3-(2-(4-pyridyl)vinyl)-5-(N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl}phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 16**). A solution of EDC (287mg, 1.5mmol) in 5ml DMF was slowly added to a mixture solution containing the product from previous step, HOBT (270mg, 2mmol), and 3-trifluoromethylaniline (322mg, 2mmol) in 10 ml DMF at room temperature. After stirring overnight, the
 10 reaction mixture was partitioned water and hexane. The resulting mixture was extracted with 2 x 100mL of EtOAc. The organic phase was dried, concentrated and purified on a silica gel column (50% EtOAc/hexane) to provide g (55%) of desired product. Rf = 0.30 (1:1 Hexane:EtOAc), ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.98(s, 2H), 8.46(s, 1H), 8.34(s, 2H), 8.229s, 1H), 7.78(d, 2H), 7.70(d, 2H), 7.49(s, 1H), 7.32-7.41(m, 9H) Found: C, 61.78; H, 3.76; N, 7.68.

Exemplary Compound 17 was prepared as shown in Scheme I-D, below.



20

Scheme I-D

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Synthesis of (5-(2-naphthylloxy)-3-{N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl}phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 17**).

5-(naphthalene-2-yloxy)-isophthalic acid dimethylester. A solution of 5-hydroxyiso-
5 phthalic acid dimethylester (208mg, 1mmol) and 2 naphthaleneboronic acid (172mg,
1mmol), Cu (OAc)₂ (61mg, 0.5mmol), Et₃N (0.16ml, 1.2mmol) in 10ml
methylenechloride was refluxed for overnight. The reaction mixture was purified by
silica gel column eluted by 15% Teac in hexane to afford the product (76% yield).
¹H NMR (Acetone-d₆, 400 MHz) 8.25(s, 1H), 8.05(d, 1H), 7.97(d, 1H), 7.89(d, 1H),
10 7.73(s, 2H), 7.54(t, 1H), 7.51(t, 1H), 7.37(d, 1H), 4.01(s, 6H).

5-(naphthalene-2-yloxy)-isophthalic acid. A solution of LiOH (1.5mmol) in water
(1ml) was added to 5-(naphthalene-2-yloxy)-isophthalic acid dimethylester
(0.5mmol) suspended in 5ml EtOH. The mixture was stirred at room temperature.
15 The reaction was monitored by TLC until completion. 2.5ml 1 M HCl solution was
added and the precipitation was collected. The product was used in next step without
further purification.

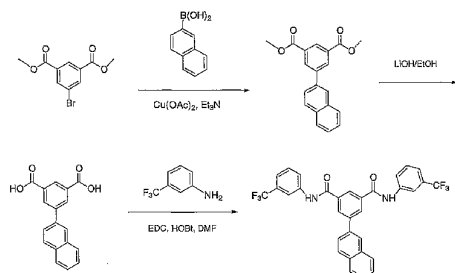
(5-(2-naphthylloxy)-3-{N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl}phenyl)-N-[3-
20 (trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 17**). A solution of EDC
(287mg, 1.5mmol) in 5ml DMF was slowly added to a mixture solution containing 5-
(naphthalene-2-yloxy)-isophthalic acid, HOBt(135mg, 1mmol), and 3-trifluoromethyl-
aniline (161mg, 1mmol) in 10 ml DMF at room temperature. After stirring overnight,
the reaction mixture was partitioned water and hexane. The resulting mixture was
25 extracted with 2 x 100mL of EtOAc. The organic phase was dried, concentrated and
purified on a silica gel column (20% EtOAc/hexane) to provide g (55%) of desired
product. R_f = 0.70 (4:1 Hex:EtAc). ¹H NMR (Acetone-d₆, 400 MHz) 9.87(s, 2H,
NH), 8.28(s, 1H), 8.149s, 2H), 7.93(d, 2H), 7.84(d, 1H), 7.80(s, 2H), 7.76(s, 1H),
7.70(d, 1H), 7.48(t, 2H), 7.40(t, 1H), 7.36(t, 1H), 7.309d, 2H), 7.229d, 1H). Found:
30 C, 64.88; H, 3.57; N, 4.68.

Exemplary Compound 18 was prepared according to Scheme I-E, below.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Synthesis of (5-(2-naphthyl)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 18**).



5

Scheme 1-E

5-(naphthalene-2-yl)-isophthalic acid dimethylester. A solution of 5-bromoisophthalic acid dimethylester (544mg, 2mmol), 2-naphthalenylboronic acid (342mg, 2mmol), Pd(OAc)₂ (8mg), tri-o-tolylphosphine (30mg) and 5ml Et₃N(5ml) in 10 ml DMF was stirred at 100°C for overnight. The reaction mixture was purified by silica gel column eluted by 20% EtAc in hexane to afford the product (75% yield). ¹H NMR (Acetone-d₆, 400 MHz), 8.55(s, 1H), 8.45(s, 2H), 8.17(d, 1H), 7.91(d, 1H), 7.88(d, 1H), 7.77(t, 1H), 7.67(t, 1H), 7.38(m, 2H), 4.03(s, 6H).

15

5-(naphthalene-2-yl)-isophthalic acid. A solution of LiOH (1.5mmol) in water (1ml) was added to 5-(naphthalene-2-yl)-isophthalic acid dimethylester (160mg, 0.5mmol) suspended in 5ml EtOH. The mixture was stirred at room temperature. The reaction was monitored by TLC until completion. 1.5ml 1 M HCl solution was added and the precipitation was collected. The product was used in next step without further purification.

20

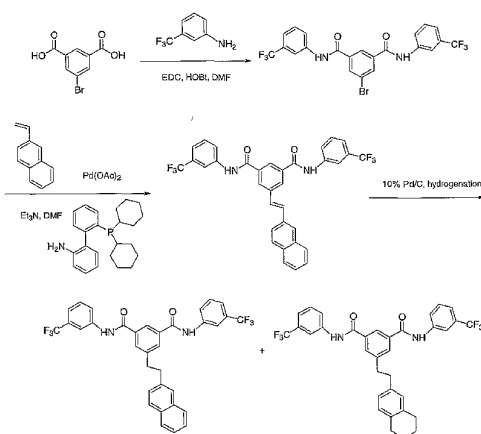
(5-(2-naphthyl)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 18**). A solution of EDCI

WO 02/059080

PCT/US02/02538

(287mg, 1.5mmol) in 5ml DMF was slowly added to a mixture solution containing the product from previous step (0.5mmol), HOBt (135mg, 1mmol), and 3-trifluoromethylaniline(161mg, 1mmol) in 10 ml DMF at room temperature. After stirring overnight, the reaction mixture was partitioned water and ethylacetate. The resulting mixture was extracted with 2 x 100mL of EtOAc. The organic phase was dried, concentrated and purified on a silica gel column (50% EtOAc/hexane) to provide g (55%) of desired product as white solid. Rf = 0.40 (3:1 Hex. EtOAc), ¹H NMR (Acetone-d₆, 400 MHz) 10.35(s, NH, 2H), 8.63(s, 2H), 8.57(s, 1H), 8.45(m, 3H), 8.15(d, 1H), 8.10(d, 1H), 8.03(d, 1H), 7.65(d, 1H), 7.61(t, 1H), 7.56(t, 1H), 7.52(d, 2). Found: C, 66.86; H, 3.64; N, 4.97.

Compounds 23-25 were prepared according to Scheme I-F, below.



Scheme I-F

Synthesis of (5-(2-(2-naphthyl)vinyl)-3-{N-[3-(trifluoromethyl) phenyl] carbamoyl})

WO 02/059080

PCT/US02/02538

phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 25**).

(3-bromo-5-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbonyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide A solution of EDC (573mg, 3mmol) in 5ml DMF was slowly
 5 added to a mixture of 5-bromoisophthalic acid (245mg, 1mmol), HOBt (270mg, 2mmol), and 3-trifluoromethylaniline (322mg, 2mmol) in 15 ml DMF at room temperature. After stirring overnight, the reaction mixture was partitioned water and ethyl acetate. The resulting mixture was extracted with 2 x 100mL of ethyl acetate and organic phase was dried, concentrated and purified on a silica gel column (20%
 10 hexane/hexane) to provide 975mg (92%) of desired product as white solid. R_f = 0.50 (5:1 Hex:EtAc). ^1H NMR (DMSO- d_6 + D $_2\text{O}$, 400 MHz) 10.6(s, 2H, NH), 8.64(s, 1H), 8.819s, 2H), 8.53(s, 2H), 8.22(d, 2H), 7.76(t, 2H), 7.62(d, 2H). Found: C, 49.56; H, 2.40; N, 5.29.

15 (5-(2-(2-naphthyl)vinyl)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbonyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 25**). A solution of (3-bromo-5-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl] carbonyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl] formamide (265mg, 0.5mmol) and 2-vinylnaphthalene (0.5mmol), Pd(OAc) $_2$ (7mg), 2-dicyclohexylphosphino-2'-(N,N-dimethylaminobiphenyl) (30mg), and
 20 Et $_3\text{N}$ (5ml) in 10ml DMF was heated at 100°C for overnight. The mixture then was poured to water and the precipitation was collected and recrystallized from methylenchloride to afford white solid product (76% yield). R_f = 0.60 (6:1 Hex:EtOAc). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) 10.81(s, 2H, NH), 8.5(s, 3H), 8.28(s, 2H), 8.15(d, 2H), 8.12(s, 1H), 7.979s, 2H), 7.93(t, 2H), 7.64(m, 4H), 7.529m, 4H) C,
 25 65.22; H, 3.93; N, 4.47. Found: C, 65.20; H, 3.67; N, 4.73.

Synthesis of (5-(2-(2-naphthyl)ethyl)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbonyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 24**) and
 30 (5-(2-(2-5,6,7,8-tetrahydronaphthyl)ethyl)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbonyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 23**). A solution of 5-(2-(2-naphthyl)vinyl)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbonyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary**

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Compound 25) (200mg) and catalytic amount of 10% Pd/C in 20 ml EtOH was subjected to hydrogenation with 50psi overnight. After filtering the catalyst and concentrating the solvent, the residue was purified by silica gel to afford both the titled compounds as white solids (total yield 97%).

- 5 **Exemplary Compound 24:** ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 9.88(s, 2H, NH), 8.30(s, 1H), 8.19(s, 2H), 8.06(s, 2H), 7.94(d, 2H), 7.71(d, 2H), 7.69(d, 1H), 7.61(s, 1H), 7.53(t, 2H), 7.35(m, 4H), 3.11(s, 4H). Found: C, 67.04; H, 4.06; N, 4.60.
- Exemplary Compound 23: ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.04(s, 2H, NH), 8.499s, 1H), 8.38(s, 2H), 8.13(m, 4H), 7.65(t, 2H), 7.55(d, 2H), 7.11(s, 1H), 7.01(d, 2H),
 10 3.18(t, 2H), 3.03(t, 2H), 2.75(m, 4H), 1.84(m, 4H). Found: C, 66.50, H, 4.81; N, 4.49.

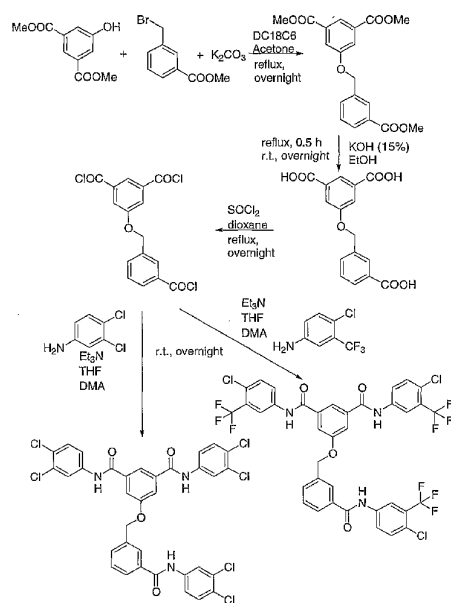
Exemplary Compounds 37 and 38 were prepared according to Scheme I-G, below.

- Dimethyl 5-[3-(methoxycarbonyl)benzyloxy]isophthalate. A mixture of 5-hydroxy-
 15 isophthalic acid dimethyl ester (3.47 g, 16.5 mmol), 3-bromomethylbenzoic acid methyl ester (3.44 g, 15 mmol), potassium carbonate (3.11 g, 22.5 mmol), and dicyclohexano-18-crown-6 (50 mg) in acetone (150 mL) was stirred and refluxed overnight, cooled to room temperature, and poured on ice-water (200 g). Precipitate formed was filtered, washed with water (5x50 mL), and air-dried to give 6.36 g
 20 (100%) of the triester: ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz), δ: 8.09 (d, J=7.0 Hz, 2H); 7.94 (d, J=8.0 Hz, 1H); 7.83-7.76 (m, 3H); 7.58 (t, J=7.5 Hz, 1H); 5.35 (s, 2H); 3.89 (s, 6H); 3.87 (s, 3H).

- 5-[3-(Carboxy)benzyloxy]isophthalic acid. A suspension of dimethyl 5-[3-(methoxycarbonyl)benzyloxy]isophthalate (6.36 g, 16.5 mmol) in the mixture of KOH (15% aq., 45 mL) and EtOH (100 mL) was refluxed for 0.5 h, then cooled to room temperature and stirred overnight. The formed solution was extracted with dichloromethane (50 mL). The aqueous layer was separated, acidified with HCl conc. (to pH 2), and bulky precipitate formed was filtered and air-dried. White
 25 microcrystals; yield 4.71 g (97%).
 30

WO 02/059080

PCT/US02/02538



Scheme I-G

5 5-[3-(Carboxy)benzyloxy]isophthalic acid trichloride. To a stirred suspension of 5-[3-(carboxy)benzyloxy]isophthalic acid (4.71 g, 14.9 mmol) in dioxane (50 mL) $SOCl_2$ (4.34 mL, 59.4 mmol) was added in one portion. The whole was stirred and refluxed overnight. Resulting clear solution was cooled to room temperature, little solid

10 formed was filtered off, and filtrate concentrated *in vacuo* to give 5.25 g (95%) of cream-white solid, which was used immediately for the syntheses of Compounds 37 and 38 by the method of Scheme I.

WO 02/059080

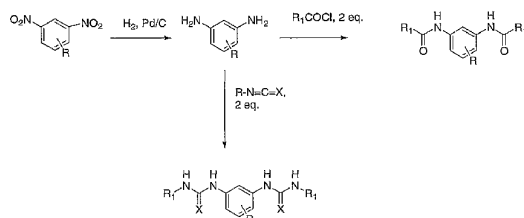
PCT/US02/02538

- Example 2 -

Synthesis of Exemplary Compounds 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 27, 31, 35, 36, 39, 40 and 44.

- 5 Exemplary Compounds 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 27, 31, 35, 36, 39, 40 and 44 were prepared from the appropriately substituted 1,3-dinitro aromatic precursors, as shown in Scheme II, below.

- 10 Synthesis of N-(5-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl]-3-[(3-(trifluoromethyl)phenyl)carbonyl-amino]phenyl)[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (**Exemplary Compound 12**):



15

Scheme II

- 20 2-[(3,5-dinitrophenyl)methyl]isindoline-1,3-dione. A solution of 3,5-dinitrobenzyl chloride (2.2g, 10 mmol) in DMA (40 mL) was treated with potassium phthalimide (1.9g, 10 mmol) and the mixture stirred 12 h. The mixture was then concentrated and the solid residue washed with ethyl acetate, dried, washed with water and dried to give 2.5g (76%) of essentially pure adduct as a white solid: ¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 5.06(s, 2H); 7.82-7.97(m, 4H); 8.62(s, 2H); 8.74(s, 1H).

25

WO 02/059080

PCT/US02/02538

N-(5-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl]-3-[(3-(trifluoromethyl)phenyl)carbonylamino]phenyl)[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide (Exemplary Compound 12). A solution of 2-[(3,5-dinitrophenyl)methyl]isindoline-1,3-dione (1.5g, 4.6 mmol) in CH₂Cl₂ (25 mL) was treated with 10% palladium/carbon (300mg) and the mixture shaken 1 h. under 50 psi H₂. The mixture was filtered and the filtrate treated with triethylamine (1.0g, 10 mmol) followed by 3-trifluoromethylbenzoyl chloride (2.0g, 9.6 mmol) and stirred 12 h. The reaction mixture was then concentrated and the product purified on silica using 1:1 hexane:ethyl acetate as eluent to give 2.1g (75%) of the compound of Example 12 as a white solid: ¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 4.80(s, 2H); 7.49(s, 2H); 7.78(t, J=8.0Hz, 2H); 7.86-7.91(m, 2H); 7.92-8.00(m, 4H); 8.26(d, J=8.0Hz, 2H); 8.29(s, 2H); 8.38(s, 1H); 10.56(s, 2H). Anal. Calcd for C₃₁H₁₉N₅O₄F₆: C, 60.89; H, 3.13; N, 6.87; Found: C, 60.84; H, 3.00; N, 6.91.

In a similar manner were prepared the following compounds:

[(3,5-dichlorophenyl)amino][[5-[(3,5-dichlorophenyl)amino]thioxomethyl]amino]-2-[4-(dimethylamino)phenylamino]phenylamino]methane-1-thione (Exemplary Compound 35). ¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 2.85(s, 6H); 6.73(d, 2H, J=8); 6.94-6.98(m, 3H); 7.06-7.08(m, 2H); 7.28(dt, 2H, J=2,4); 7.43(s, 1H); 7.53(s, 2H); 7.58(s, 2H); 9.50(s, 1H); 9.57(s, 1H); 9.83(s, 1H); 10.01(s, 1H). Anal. Calcd for C₂₈H₂₄N₆S₂Cl₄(0.25EtOAc): C, 51.79; H, 3.90; N, 12.50; S, 9.54. Found: C, 51.70; H, 4.02; N, 12.16; S, 9.37.

2-{[3,5-bis-[(3,5-dichlorophenyl)amino]thioxomethyl]amino}phenyl[methyl]isindoline-1,3-dione (Exemplary Compound 27). ¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 4.76(s, 2H); 7.16(s, 2H); 7.30(s, 2H); 7.54(s, 4H); 7.65(s, 1H); 7.85-7.95(m, 4H); 9.91(s, 2H); 10.20(s, 2H). Anal. Calcd for C₂₈H₁₉N₅S₂Cl₄O₂(1.0H₂O): C, 50.23; H, 3.05; N, 10.10; S, 9.25. Found: C, 49.90; H, 3.08; N, 10.04; S, 9.31.

2-{[3-amino-5-[(3,5-dichlorophenyl)amino]thioxomethyl]amino}phenyl[methyl]isindoline-1,3-dione (Exemplary Compound 31). ¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 4.60(s, 2H); 5.25(s, 2H); 6.31(s, 1H); 6.44(s, 1H); 6.57(s, 1H); 7.28(s, 2H); 7.58(s,

WO 02/059080

PCT/US02/02538

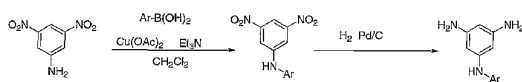
2H); 7.83-7.91(m, 4H); 9.75(s, 1H); 9.94(s, 1H). Anal. Calcd for $C_{22}H_{16}N_4S_1Cl_2O_2$: C, 56.06; H, 3.42; N, 11.89; S, 6.80; Cl, 15.04. Found: C, 55.78; H, 3.55; N, 11.74; S, 6.76; Cl, 15.30.

5 1,3-(3,5-Dichlorophenyl)-N-[5-(3,4-dichlorophenoxy)methyl]-phenyl]amide
(Exemplary Compound 6). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) 5.19(s, 2H); 7.06(q, 1H); 7.35(d, 1H); 7.55(d, 1H); 7.61(d, 2H); 7.89(t, 2H); 8.00(d, 4H); 8.32(t, 1H); 10.56(s, 2H). Anal. Calcd for: C, 51.54; H, 2.56; N, 4.45. Found: C, 51.28; H, 2.74; N, 4.35.

10

Amino-substituted dinitro aryl compounds were prepared from the corresponding dinitro aryl anilines by copper catalyzed coupling with aryl boronic acids (Scheme II-A), or from the corresponding dinitro aryl halides via palladium-catalyzed coupling with aryl halides (Scheme II-B). In either case, the obtained substituted aryl dinitro

15 intermediates were reduced to the corresponding diamines which were converted to the final products as described for Scheme I.



20

Scheme II-A

Synthesis of [(3,5-dichlorophenyl)amino]([3-((3,5-dichlorophenyl)amino)thioxomethyl)amino]-5-[(4-bromophenyl)amino]phenyl]amino}methane-1-thione

25 (Exemplary Compound 11).

(3,5-dinitrophenyl)(4-bromophenyl)amine. To a stirred mixture of dinitroaniline (1.3g, 7.1 mmol), copper acetate (1.29g, 7.1 mmol) and triethylamine (2.2g, 21 mmol) in CH_2Cl_2 (50 mL) was added 4-bromophenylboronic acid (5.8g, 21 mmol) in 1g

WO 02/059080

PCT/US02/02538

portions over 4 h. and the mixture then stirred overnight. The reaction mixture was then concentrated and the product purified on silica gel using 3:1 hexane:ethyl acetate as eluent to give 0.80g (33%) of the amino-substituted aromatic compound as an orange solid: Low resolution MS Calcd for $C_{12}H_8N_3O_4Br$: 338. Found: 338.

5 (3,5-diaminophenyl)(4-bromophenyl)amine. To a solution of (3,5-dinitrophenyl) (4-bromophenyl)amine (0.34g, 1.0 mmol) in ethanol (10 mL) was added indium (2.0g, 17 mmol) followed by saturated ammonium chloride solution (3 mL) and the mixture stirred 12 h. At this time, TLC showed the reaction complete. The reaction mixture
10 was then filtered through celite, concentrated and the residue dissolved in 50 mL CH_2Cl_2 . The organic solution was washed with 50 mL water followed by 50 mL brine, dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated to give 0.26g (93%) of a brown oil, R_f 0.1 (1:1 hexane:ethyl acetate), which was carried directly to the next step.

15 [(3,5-dichlorophenyl)amino]{[3-([(3,5-dichlorophenyl)amino]thioxomethyl)amino]-5-[(4-bromophenyl)amino]phenyl]amino}methane-1-thione, (Exemplary Compound 11). To a solution of (3,5-diaminophenyl)(4-bromophenyl)amine (0.25g, 0.90 mmol) in CH_2Cl_2 (5 mL) was added 3,5-dichlorophenylisothiocyanate (0.39g, 1.9 mmol) and the mixture stirred overnight. The solid precipitate was filtered,
20 washed with cold CH_2Cl_2 and dried to give 0.28g (45%) of the compound of example 11 as a white solid: ^1H NMR 400 MHz (DMSO) δ 6.97(s, 1H); 7.02(s, 2H); 7.09(d, J=8.5Hz, 2H); 7.31(s, 2H); 7.35(d, J=8.5Hz, 2H); 7.57(s, 4H); 8.54(s, 1H); 9.92(s, 2H); 10.20(s, 2H). Anal. Calcd for $C_{26}H_{16}N_5S_2Cl_4Br$ (0.1H₂O): C, 45.38; H, 2.67; N, 25 10.18; S, 9.32. Found: C, 44.99; H, 2.68; N, 9.97; S, 9.31.

The Exemplary Compounds 36, 39, 40, and 44 were prepared by this method:

30 Exemplary Compound 36: [(3,5-dichlorophenyl)amino]{[3-([(3,5-dichlorophenyl)amino]thio-methyl)amino]-4-[(4-chlorophenyl)amino]phenyl]amino}methane-1-thione: ^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.28(br, NH, 1H), 8.21(br, NH, 2H), 7.89(br, NH, 1H), 7.72(s, 1H), 7.36(s, 2H), 7.12-7.21(m, 7H), 7.01(d, 1H), 6.84(d, 2H), 6.0(s,

WO 02/059080

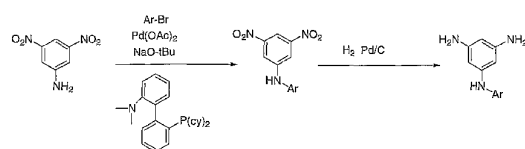
PCT/US02/02538

1H). Anal: Calcd for: C, 48.65; H, 2.83; N, 10.91; S, 9.99; Cl, 27.62. Found: C, 48.91; H, 3.11; N, 10.43; S, 9.24; Cl, 27.01.

Exemplary Compound 39: [(3,5-dichlorophenyl)amino]{{3-(([(3,5-dichlorophenyl)amino]thioxo-methyl)amino)-4-(3,5-dimethylpyrazolyl)phenyl}amino}methane-1-thione: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.65(s, NH, 1H), 8.72(s, NH, 1H), 8.42(s, NH, 1H), 8.26(s, NH, 1H), 7.53(s, 2H), 7.27(d, 1H), 7.25(s, 1H), 7.21(s, 5H), 7.09(d, 1H), 6.97(s, 1H), 2.25(s, 3H), 2.12(s, 3H). Anal: Calcd for: C, 48.34; H, 3.44; N, 13.53; S, 10.32. Found: C, 48.40; H, 3.44; N, 13.77; S, 10.41.

Exemplary Compound 40: [(3,5-dichlorophenyl)amino]{{3-(([(3,5-dichlorophenyl)amino]thioxomethyl)amino)-4-(4-phenoxyphenyl)amino}phenyl}amino}methane-1-thione: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 8.24(s, NH, 1H), 8.15(s, NH, 1H), 8.10(s, NH, 1H), 7.93(s, NH, 1H), 7.56(d, 1H), 7.38(d, 2H), 7.26-7.36(m, 5H), 7.21(d, 2H), 7.11(s, 1H), 7.05(d, 1H), 7.02(s, 1H), 6.97(s, 1H), 6.94(s, 4H), 5.95(s, NH, 1H). Anal: Calcd for: C, 54.11; H, 3.43; N, 9.86; S, 9.03. Found: C, 54.47; H, 3.67; N, 9.58; S, 8.63.

Exemplary Compound 44: [(3,5-dichlorophenyl)amino]{{5-(([(3,5-dichlorophenyl)amino]thioxomethylamino)-2-piperidylphenyl)amino}methane-1-thione: ¹H NMR (Acetone-d₆, 400 MHz) 9.35 (br, NH, 1H), 9.02(br, NH, 3H), 7.67(s, 2H), 7.65(s, 2H), 7.53(s, 1H), 7.23(d, 1H), 7.22(s, 1H), 7.21(s, 1H), 6.93(d, 1H), 2.06(m, 4H), 1.97(m, 6H). Anal: Calcd for: C, 49.50; H, 3.95; N, 11.54; S, 10.57; Cl, 23.38. Found: C, 49.15; H, 3.80; N, 11.75; S, 10.67; Cl, 23.56.



Scheme H-B

WO 02/059080

PCT/US02/02538

- (3,5-dinitrophenyl)-2-pyridylamine. To a mixture of 3,5-dinitroaniline (1.3g, 7.1 mmol), 2-bromopyridine (1.1g, 7.1 mmol), palladium acetate (0.13g, 0.57 mmol) and 2-dicyclohexylphosphino-2'-(N,N-dimethylamino)biphenyl (0.28g, 0.71 mmol) in toluene (20 mL) was added solid sodium *tert*-butoxide (0.75g, 7.8 mmol) and the mixture heated at reflux temperature for 3 d. The reaction mixture was then concentrated and the product purified on silica gel using 2:1 hexane:ethyl acetate as eluent to give 0.30g (16%) of pyridyl substituted compound as a red solid: Low resolution MS Calcd for $C_{11}H_8N_4O_4$: 260. Found: 260.
- 10 [3,5-dichlorophenyl]amino[[3-[[3,5-dichlorophenyl]amino]thioxomethyl
- amino]-5-(2-pyridylamino)phenyl]amino]methane-1-thione (Exemplary Compound 13). (3,5-dinitrophenyl)-2-pyridylamine was reduced to the diamino compound and reacted with two equivalents of 3,5-dichloroisothiocyanate, as described previously, to yield the Exemplary Compound 13: ^1H NMR 400 MHz (DMSO) δ 6.73-6.79(m, 1H); 6.89(d, $J=8.4$ Hz, 1H); 7.11(s, 1H); 7.30(s, 2H); 7.53-7.69(m, 7H); 8.11(d, $J=3.9$ Hz, 1H); 9.24(s, 1H); 9.83(s, 2H); 10.24(s, 2H). Anal. Calcd for $C_{23}H_{18}N_6S_2Cl_4$: C, 49.35; H, 2.98; N, 13.81; S, 10.54; Cl, 23.31. Found: C, 49.34; H, 3.19; N, 13.88; S, 10.30; Cl, 23.30.
- 15 Sequential reaction of the diamino aryl intermediate with 3,5-dichlorobenzoyl chloride followed by 3,5-dichloroisothiocyanate provided Exemplary Compound 10: Synthesis of (3,5-dichlorophenyl)-N-[5-[[3,5-dichlorophenyl]amino]thioxomethylamino]-3-[[3-(trifluoromethyl)phenyl]amino]phenyl]formamide (Exemplary Compound 10).
- 25 N-(3-amino-5-[[3-(trifluoromethyl)phenyl]amino]phenyl)(3,5-dichlorophenyl)formamide. A solution of (3,5-dinitrophenyl)[3-(trifluoromethyl)phenyl]amine, prepared as previously described via boronic acid coupling (0.50g, 1.5 mmol) in CH_2Cl_2 (7 mL) was treated with 10% palladium/carbon (100mg) and the mixture shaken 1 h. under 50 psi H_2 . The solution was filtered and the filtrate treated with triethylamine (0.15g, 1.5 mmol) followed by 3,5-dichlorobenzoyl chloride (0.29g, 1.4 mmol) and stirred overnight. The reaction mixture was then concentrated and the
- 30

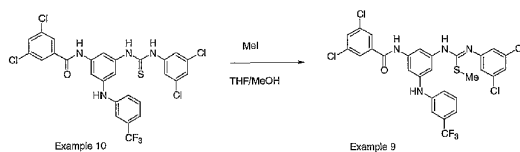
WO 02/059080

PCT/US02/02538

product purified on silica gel using 2:1 hexane:ethyl acetate as eluent to give 0.54g (80%) of the desired product as a white solid: ¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 5.17(s, 2H); 6.16(s, 1H); 6.69(s, 1H); 6.82(s, 1H); 7.05(t, J = 8Hz, 1H); 7.26-7.44(m, 4H); 7.94(s, 2H); 8.30(s, 1H); 10.08(s, 1H).

5
 (3,5-dichlorophenyl)-N-[5-({(3,5-dichlorophenyl)amino}thiomethyl)amino]-3-({[3-(trifluoromethyl)phenyl]amino}phenyl)formamide (Exemplary Compound 10). To a solution of N-(3-amino-5-([3-(trifluoromethyl)phenyl]amino)phenyl)(3,5-dichlorophenyl)formamide (0.54g, 1.2 mmol), in DMA (10 mL) was added 3,5-dichlorophenylisothiocyanate (0.30g, 1.5 mmol) and the mixture stirred overnight. The reaction mixture was then concentrated and the product purified on silica gel using 2:1 hexane:ethyl acetate as eluent to give 0.70g (89%) of Exemplary Compound 10 as an off white solid: ¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 7.10-7.16(m, 2H); 7.31-7.34(m, 1H); 7.35-7.39(m, 2H); 7.39-7.45(m, 2H); 7.47(s, 1H); 7.65(d, J=2.0Hz, 2H); 7.87-7.89(m, 1H); 7.97(d, J=2.0Hz, 2H); 8.74(s, 1H); 10.02(s, 1H); 10.22(s, 1H); 10.44(s, 1H). Anal. Calcd for C₂₇H₁₇N₄SCl₄O₃F₃: C, 50.33; H, 2.66; N, 8.70; S, 4.98; Cl, 22.01. Found: C, 50.10; H, 2.75; N, 8.60; S, 5.00; Cl, 22.21.

Exemplary Compound 9 was prepared from Exemplary Compound 10 as shown in Scheme II-C:



Scheme II-C

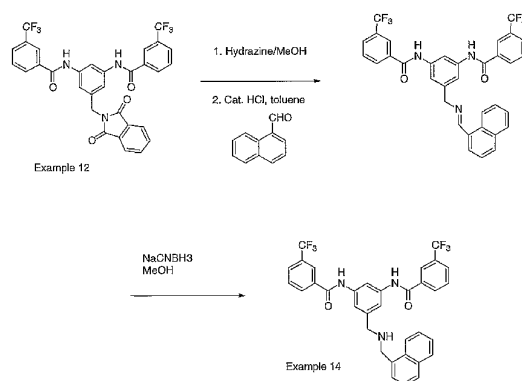
N-(5-({[2-aza-2-(3,5-dichlorophenyl)-1-methylthiovinyl]amino}-3-({[3-(trifluoromethyl)phenyl]amino}phenyl)(3,5-dichlorophenyl)formamide (Exemplary Compound 9).

WO 02/059080

PCT/US02/02538

A solution of Example 10 (0.50g, 0.78 mmol) in THF (3 mL) was diluted with 7 mL ethanol, treated with iodomethane (0.55g, 3.9 mmol) and stirred overnight. The reaction mixture was then concentrated and the product purified on silica gel using 3:1 hexane:ethyl acetate as eluent to give 0.43g (85%) of the Exemplary Compound 9 as a white solid: $^1\text{H NMR}$ 400 MHz (DMSO) δ 2.41-2.47(m, 3H); 6.88(s, 2H); 7.06-7.20(m, 2H); 7.27-7.57(m, 5H); 7.79(s, 1H); 7.87(s, 1H); 7.93-7.99(m, 2H); 8.62(s, 1H); 9.03(s, 1H); 10.34(s, 1H). Anal. Calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{S}_7\text{Cl}_4\text{O}_4\text{F}_3$: C, 51.08; H, 2.91; N, 8.51; S, 4.87; Cl, 21.54. Found: C, 51.21; H, 3.09; N, 8.49; S, 4.73; Cl, 21.60.

Exemplary Compound 14 was prepared from Exemplary Compound 12 as shown in Scheme II-D, below.



15

Scheme II-D

N-(5-(2-aza-3-naphthylprop-2-enyl)-3-([3-(trifluoromethyl)phenyl] carbonylamino)-phenyl)[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide. To a solution of Exemplary Compound 12 (2.0g, 3.3 mmol) in methanol (25 mL) was added hydrazine (1.0g, 33

WO 02/059080

PCT/US02/02538

mmol) and the mixture heated at reflux temperature overnight. The mixture was then cooled and filtered and the filtrate concentrated to a brown solid residue. The residue was placed in a solution of 1-naphthaldehyde (0.56g, 3.6 mmol) in 60 mL toluene, heated to 80 °C, treated with 3 drops concentrated HCl and then heated at reflux temperature for 12 h using a Dean-Stark trap to collect water evolved from the reaction. The reaction mixture was then concentrated and the product purified by recrystallization in hexane/ethyl acetate to give 0.35g (18%) of the imine as a light yellow solid: ¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 4.96(s, 2H); 7.57-7.68(m, 6H); 7.79(dd, J=7.5, 8.0Hz, 1H); 7.97(d, J=7.5Hz, 1H); 8.00-8.10(m, 4H); 8.28(d, J=8.0Hz, 1H); 8.30-8.35(m, 4H); 9.15(d, J=8.5Hz, 1H); 9.23(s, 1H); 10.58(s, 2H). Anal. Calcd for C₃₄H₂₃N₃O₂F₆: C, 65.91; H, 3.74; N, 6.78; Found: C, 65.82; H, 3.91; N, 6.80.

N-(5-((naphthylmethyl)amino)methyl)-3-((3-(trifluoromethyl)phenyl)carbonylamino)phenyl)-3-(trifluoromethyl)phenylformamide (Exemplary Compound 14).

To a solution of the imine from the previous step (40mg, 0.06 mmol) in ethanol (3 mL) was added sodium cyanoborohydride (10mg, 0.1 mmol) and the mixture stirred overnight. The reaction mixture was then concentrated and the product purified on silica gel using 2:1 hexane:ethyl acetate as eluent to give 30mg (75%) of Exemplary Compound 14 as a white solid: ¹H NMR 400 MHz (DMSO) δ 3.78(s, 2H); 4.19(s, 2H); 7.26(s, 1H); 7.34-7.50(m, 8H); 7.66(d, J=8.0Hz, 2H); 7.74(d, J=8.0Hz, 1H); 7.83(d, J=8.0Hz, 1H); 7.89(d, J=8.0Hz, 2H); 8.02(s, 2H); 8.05(d, J=8.0Hz, 1H); 8.53(s, 2H). Anal. Calcd for C₃₄H₂₃N₃O₂F₆: C, 65.70; H, 4.05; N, 6.76; Found: C, 65.79; H, 3.78; N, 6.70.

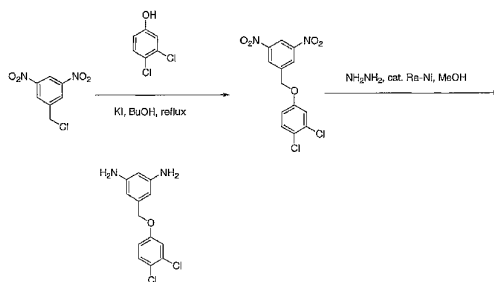
The intermediate diamine for Exemplary Compound 6 was prepared according to Scheme II-E, below:

5-(3,4-dichlorophenoxymethyl)-1,3-dinitrobenzene. 0.5 mmole 3,4-Dichloro-phenol and 1 mmole KI were added to a solution of 0.5 mmole 1-Chloromethyl-3,5-dinitrobenzene in 2.5 ml 1-Butanol. The mixture was stirred under reflux overnight. After evaporation the 1-Butanol, the residue was washed with 2x10 ml 1N HCl and 2X10 ml EtOAc, and dried. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 5.44(s, 2H); 7.14(d, 1H);

WO 02/059080

PCT/US02/02538

7.43(s, 1H); 7.58(d, 1H); 8.73(s, 2H); 8.81(s, 1H).



Scheme II-E

5

5-(3,4-dichlorophenoxymethyl)benzene-1,3-diamine. 5-(3,4-dichlorophenoxymethyl)-1,3-dinitrobenzene in 5 ml MeOH was added to a solution of 10 ml 2.5 mmole hydrazine monohydrate and catalytic amount of Ra-Ni. The mixture was stirred under reflux for 30 min and then cooled to room temperature. GC-MS gave the peak of reduced product. The solution was filtered through Celite and MeOH was evaporated with rotaevaporation. The residue was used directly for next step without further purification.

10

- Example 3 -

15

Synthesis of Exemplary Compounds 1, 5, and 4.

Exemplary Compound 1 was synthesized by the method of Scheme III-A, below.

Synthesis of 3-(3,5-Bis-[3-(3,5-dichloro-phenyl)-ureido]-phenyl)-propionic acid methyl ester (**Exemplary Compound 1**).

20

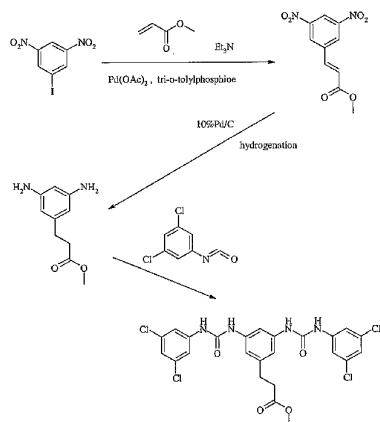
3-(3,5-dinitrophenyl)acrylic acid methyl ester. A solution of 5-iododinitrobenzene

WO 02/059080

PCT/US02/02538

(10mmol) and acrylate methylester (50mmol), Pd(OAc)₂ (80mg), tri-*o*-tolylphosphine (300mg) and 30ml Et₃N was stirred at 80°C for overnight. The reaction mixture was purified by silica gel column eluted by 30% EtAc in hexane to afford the product (56% yield) as white solid. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) 9.04(s,

5 1H), 8.67(s, 2H), 7.71(d, 1H), 6.77(d, 1H), 3.89(s, 3H).



Scheme III-A

- 3-[3,5-Bis-[3-(3,5-dichlorophenyl)-ureido]-phenyl]propionic acid methyl ester
 10 **(Exemplary Compound 1)**. A solution containing 3-(3,5-dinitrophenyl)acrylic acid methyl ester (2mmol) and catalytic amount of 10% Pd/C in 20 ml methylene chloride was subjected to hydrogenation under 50 psi for 20 minutes. The palladium catalyst was filtered. Then, dichlorophenyliso-cyanate (4 mmol) was added to the filtrate and the mixture was stirred overnight at room temperature. The precipitation was
 15 collected by filtration and washed twice by methelenchloride. The crude product was recrystallized from acetone to afford pure product (91% yield) as white solid. Rf =

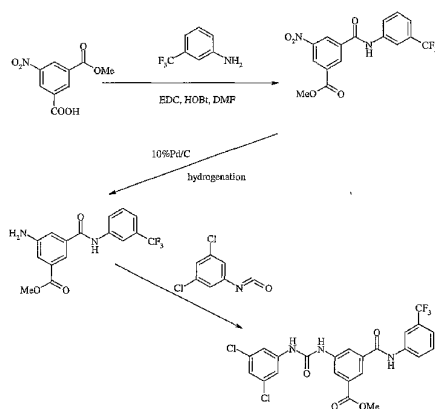
WO 02/059080

PCT/US02/02538

0.60 (2:1 Hexane :EtAc). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) 8.96(s, 2H), 8.88(s, 2H), 7.53(s, 5H), 7.16(s, 2H), 6.98(s, 2H), 3.60(s, 3H), 2.79(t, 2H), 2.62(t, 2H). Found: C, 50.45; H, 3.67; N, 9.98.

Exemplary Compound 5 was prepared according to Scheme III-B, below: Synthesis
5 of 3-{3,5-Bis-[3-(3,5-dichlorophenyl)ureido]-phenyl}propionic acid methyl ester
(Exemplary Compound 5).

3-(3,5-dinitrophenyl)acrylic acid methyl ester. A solution of 5-iododinitrobenzene
(10mmol) and acrylate methylester (50mmol), Pd(OAc) $_2$ (80mg), tri-*o*-
tolylphosphine (300mg) and 30ml Et $_3$ N was stirred at 80°C for overnight. The
1.0 reaction mixture was purified by silica gel column eluted by 30% EtAc in hexane to
afford the product (56% yield) as white solid. ^1H NMR (CDCl $_3$, 400 MHz) 9.04(s,
1H), 8.67(s, 2H), 7.71(d, 1H), 6.77(d, 1H), 3.89(s, 3H).



Scheme III-B

WO 02/059080

PCT/US02/02538

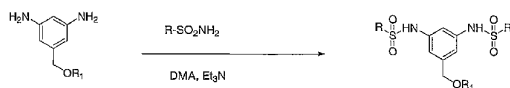
3-[3,5-Bis-[3-(3,5-dichlorophenyl)ureido]-phenyl]propionic acid methyl ester

(Exemplary Compound 5). A solution containing 3-(3,5-dinitrophenyl)acrylic acid methyl ester (2mmol) and catalytic amount of 10% Pd/C in 20 ml methylenechloride was subjected to hydrogenation under 50psi for 20 minutes. The palladium catalyst was filtered. Then dichlorophenylisocyanate (4mmol) was added to the filtrate and the mixture was stirred overnight at room temperature. The precipitation was collected by filtration and washed twice by methelenchloride. The crude product was recrystallized from acetone to afford pure product (91% yield) as white solid. Rf = 0.60 (2:1 Hexane :EtAc). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 8.96(s, 2H), 8.88(s, 2H), 7.53(s, 5H), 7.16(s, 2H), 6.98(s, 2H), 3.60(s, 3H), 2.79(t, 2H), 2.62(t, 2H). Found: C, 50.45; H, 3.67; N, 9.98.

Exemplary Compound 4 was prepared from Exemplary Compound 5: 16-[3-[3-(3,5-Dichloro-phenyl)-ureido]-5-(3-trifluoromethyl-phenylcarbamoyl)-benzoylamino]hexyl carbamic acid tert-butyl ester: ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 10.71(s, 1H, NH), 9.28(s, 1H, NH), 9.16(s, 1H, NH), 8.54(s, 1H, NH), 8.26(s, 1H), 8.14(s, 1H), 8.10(m, 3H), 7.68(t, 1H), 7.55(s, 2H), 7.47(d, 1H), 7.18(s, 1H), 6.75(s, 1H), 3.26(t, 2H), 2.91(t, 2H), 1.32-1.57(m, 17H). Anal: Calcd for: C, 54.55; H, 4.99; N, 9.64. Found: C, 54.34; H, 4.89; N, 9.88.

- Example 4 -Synthesis of Exemplary Compounds 7, 29, and 30.

Exemplary Compound 7 was prepared according to Scheme IV-A, below.



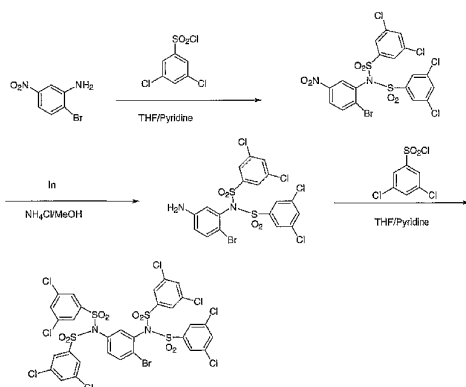
Scheme IV-A

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Synthesis of 1,3-(1-Naphthalene)-N-[5-(3,4-dichloro-phenoxy)methyl]-phenyl]-sulfonamide (**Exemplary Compound 7**). 5-(3,4-dichlorophenoxy)methyl benzene-1,3-diamine (prepared according to the method of Scheme II-E) was dissolved in 5 ml DMA. 2 mmole TEA and 1 mmole naphthalene-1-sulfonyl chloride were added to the solution. The mixture was stirred at room temperature overnight and poured into ice water after GC-MS gave the disappearance of start material. The precipitate was filtered and re-crystallized from hexane/ethyl acetate. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 4.82(s, 2H); 6.60(s, 2H); 6.79(q, 1H); 6.90(s, 1H); 7.10(d, 1H); 7.47(q, 3H); 7.66(m, 4H); 8.05(t, 4H); 8.17(d, 2H); 8.62(d, 2H); 10.76(s, 2H). Calcd for: C, 58.15; H, 3.84; N, 4.11; S, 9.41. Found: C, 57.98; H, 3.76; N, 4.23; S, 9.23.

Synthesis of Exemplary Compounds 29 and 30 was conducted according to Scheme IV-B, below: Synthesis of bis[(3,5-dichlorophenyl)sulfonyl](3-{bis(3,5-dichlorophenyl) sulfonyl} amino)-4-bromophenyl)amine (**Exemplary Compound 30**).



Scheme IV-B

3-{Bis[(3,5-dichlorophenyl)sulfonyl]amino)-4-bromonitrobenzene. In a solution of

WO 02/059080

PCT/US02/02538

0.5 mmole 2-bromo-5-nitro-phenylamine in 4 ml mixture of THF:Pyridine (1:1), 1.2 mmole 3,5-dichloro-benzenesulfonyl chloride in 1 ml THF was added. The mixture was stirred under reflux overnight. The precipitate formed after cooling to room temperature was filtered and washed with ethyl acetate. GC-MS identified the material as the desired product.

3-[Bis[(3,5-dichlorophenyl)sulfonyl]amino]-4-bromoaniline. The precipitate from step 1 was dissolved in 2 ml MeOH and 0.6 ml saturated NH₄Cl and 0.4 g indium powder were added in. The mixture was stirred under reflux overnight. The reaction completion was judged by GC-MS and the cooled reaction mixture was diluted with H₂O and filtered through Celite. The aqueous filtrate was extracted with ethyl acetate (3X10 ml). The combined organic layers were dried (MgSO₄) and concentrated in vacuo. The crude product was used directly for next step.

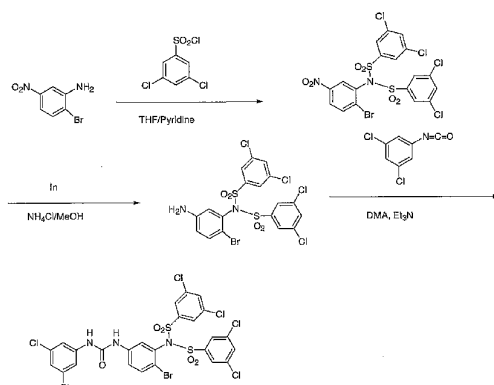
15 Bis[(3,5-dichlorophenyl)sulfonyl](3-[bis[(3,5-dichlorophenyl)sulfonyl]amino)-4-bromophenyl]amine. (Exemplary Compound 30). The compound from step 2 was dissolved in 5 ml dimethylacetamide (DMA). 2 mmole triethylamine and 1 mmole 3,5-dichloro-benzenesulfonyl chloride were added to the solution. The mixture was stirred at room temperature overnight and poured into ice water after GC-MS indicated the disappearance of start material. The precipitate was filtered and re-crystallized from hexane/ethyl acetate to provide the compound of example 30: ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 7.19(d, 1H); 7.55(q, 1H); 7.89(d, 4H); 7.94(d, 4H); 8.03(d, 1H); 8.16(m, 4H).
Anal: Calcd for: C, 36.01; H, 1.79; N, 2.62; S, 12.02. Found: C, 36.24; H, 1.91; N, 2.81; S, 12.17.

20 N-(3-[bis[(3,5-dichlorophenyl)sulfonyl]amino]-4-bromophenyl)-(3,5-dichlorophenyl)aminoformamide (Exemplary Compound 29). The same procedure as described for Example 30 was used for producing Example 29 except that 1,3-dichloro-5-isocyanato-benzene was used on the third step according to Scheme IV-C, below.
Exemplary Compound 29: ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 7.11(t, 1H); 7.40(q, 1H); 7.67(m, 3H); 7.82(d, 1H); 7.93(d, 4H); 8.15(t, 2H); 9.19(s, 1H); 9.32(s, 1H). Anal:

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Calcd for: C, 38.31; H, 1.98; N, 5.15; S, 7.87. Found: C, 38.45; H, 2.02; N, 5.37; S, 8.10.



5

Scheme IV-C

- Example 5 -

10 Synthesis of Exemplary Compound 8.

Exemplary Compound 8 was prepared according to Scheme V, below.

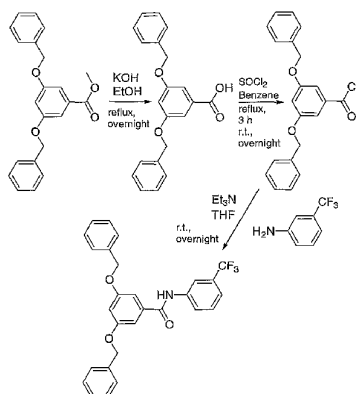
15 3,5-Bis(Benzyloxy)benzoic acid. The title compound was prepared according to the procedure of Scheme I-A, starting from methyl 3,5-bis(benzyloxy)benzoate (1.74 g, 5 mmol). White solid, yield 1.44 g (86%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ: 7.47-7.30 (m, 10H); 7.15 (s, 2H); 6.92 (s, 1H); 5.15 (s, 2H).

3,5-Bis(Benzyloxy)benzoic acid chloride. The title compound was prepared according to the procedure of Scheme I-A, starting from acid 3,5-bis(Benzyloxy)benzoic acid

WO 02/059080

PCT/US02/02538

(1.32 g, 4.0 mmol). Off-white solid, yield 1.38 g (99%). Used immediately for preparation of Exemplary Compound 8.



Scheme V

3,5-Di(benzyloxy)-3'-(trifluoromethyl)benzanilide (Exemplary Compound 8).

The title compound was prepared according to the procedure of Scheme I-A, starting from 3,5-bis(benzyloxy)benzoic acid chloride and 3-(trifluoromethyl)aniline in THF solution. White solid, yield 0.250 g (69%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 10.47 (s, 1H); 8.24 (s, 1H); 8.06 (d, *J*=8.3 Hz, 1H); 7.60 (t, *J*=8.0 Hz, 1H); 7.51-7.32 (m, 11H); 7.25 (s, 2H); 6.95 (s, 1H); 5.18 (s, 4H). Anal. Calcd. for C₂₈H₂₂F₃NO₃: 70.43; H, 4.64; N, 2.93. Found: C, 70.58; H, 4.67; N, 2.91.

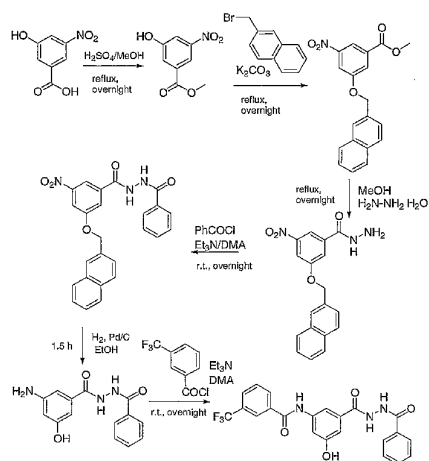
- Example 6 -

Synthesis of Exemplary Compound 15.

Exemplary Compound 15 was prepared according to Scheme VI, below.

WO 02/059080

PCT/US02/02538



Scheme VI

5 Methyl 3-hydroxy-5-nitrobenzoate. A solution of 3-hydroxy-5-nitrobenzoic acid (2.00 g, 11 mmol) and concentrated sulfuric acid (0.5 mL) in MeOH (15 mL) was refluxed overnight, cooled to room temperature, and poured into mixture of Na₂CO₃ (saturated solution, 25 mL), water (150 mL), and ice (50 g). Resulting precipitate was filtered, washed with water (3x30 mL), and air-dried. Yellow microcrystals, yield 1.37 g (63%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 10.94 (s, 1H); 8.09 (s, 1H); 7.78 (s, 1H);
 10 7.71 (s, 1H); 3.90 (s, 3H).

15 Methyl 3-(2-naphthylmethoxy)-5-nitrobenzoate. Methyl 3-hydroxy-5-nitrobenzoate (0.685 g, 3.5 mmol) was dissolved in acetone (75 mL). Potassium carbonate (1.43 g, 10.4 mmol) and 2-bromomethylnaphthalene (0.77 g, 3.5 mmol) were added. After stirring under reflux for 5 h, the mixture was cooled to room temperature and poured into basic (NaOH, pH 10-11) water. After 1 h, precipitated solid was filtered, washed

WO 02/059080

PCT/US02/02538

with water (3x25 mL), and air-dried. Off-white crystals, yield 0.970 g (82%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ: 8.24 (s, 1H); 8.14 (s, 1H); 8.05 (s, 1H); 7.99-7.90 (m, 4 H); 7.63 (d, *J*=7.5 Hz, 1H); 7.57-7.50 (m, 2H); 5.51 (s, 2H); 3.92 (s, 3H).

- 5 3-[(2-Naphthyl)methoxy]-5-nitrobenzhydrazide. A solution of methyl 3-[(2-naphthyl)methoxy]-5-nitrobenzoate (0.97 g, 2.87 mmol) and hydrazine hydrate (0.56 mL, 11.5 mmol) in MeOH (50 mL) was stirred under reflux overnight. Formation of solid hydrazide from a boiling mixture was observed in the morning. Mixture was cooled, solid filtered and air-dried. Greenish-white plates, yield 0.60 g (62%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ: 10.15 (br.s, 1H); 8.27 (s, 1H); 8.05-7.91 (m, 6 H); 7.63 (d, *J*=7.5 Hz, 1H); 7.59-7.52 (m, 2H); 5.48 (s, 2H); 4.66 (br.s, 2H).
- 10

- 1-[3-[(2-Naphthyl)methoxy]-5-nitrobenzoyl]-2-benzoylhydrazine. To a stirred solution of 3-[(2-naphthyl)methoxy]-5-nitrobenzhydrazide (0.30 g, 0.89 mmol) and triethylamine (0.14 mL, 0.98 mmol) in DMA (25 mL) at room temperature was added benzoyl bromide (0.11 mL, 0.89 mmol), and stirring was continued overnight. Yellowish solution was poured onto ice-water (50 g) and set aside for 24 h. Precipitate formed was filtered, washed with water, and air-dried. Off-white solid, yield 0.34 g (87%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ: 10.92 (s, 1H); 10.66 (s, 1H); 8.12-7.89 (m, 8 H); 7.67-7.50 (m, 6H); 5.53 (s, 2H).
- 15
- 20

- 1-(3-hydroxy-5-aminobenzoyl)-2-benzoylhydrazine. A mixture of 1-[3-[(2-naphthyl)methoxy]-5-nitrobenzoyl]-2-benzoylhydrazine (0.34 g, 0.77 mmol), Pd/C (10%, 0.35 g), EtOH (10 mL), and DMF (10 mL) was hydrogenated in Parr apparatus (H₂ pressure - 30 psi) at room temperature for 1.5 h. Catalyst was filtered off, and filtrate concentrated *in vacuo* to give a slurry of white needles, which were filtered and washed with EtOH (3x25 mL). Yield 0.20 g (96%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ: 10.37 (s, 1H); 10.12 (s, 1H); 9.20 (s, 1H); 7.91 (d, *J*=7.0 Hz, 2H); 7.62-7.48 (m, 3H); 6.54 (s, 1H); 5.46 (s, 1H); 6.19 (s, 1H); 5.18 (br.s, 2H).
- 25

- 30 1-Benzoyl-2-[3-[(3-trifluoromethyl)phenyl]carbonylamino-5-hydroxy]benzoylhydrazine (Exemplary Compound 15). The title compound was

WO 02/059080

PCT/US02/02538

prepared according to the method of Scheme I, from 3-(trifluoromethyl)benzoyl chloride and the above amine in DMA solution. White solid, yield 0.175 g (59%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ: 10.55 (s, 1H); 10.48 (s, 1H); 10.41 (s, 1H); 9.88 (s, 1H); 8.32 (s, 1H); 8.28 (d, J=7.5 Hz, 1H); 7.98 (d, J=8.0 Hz, 1H); 7.93 (d, J=8.0 Hz, 2H); 7.80 (t, J=8.0 Hz, 1H); 7.69 (s, 1H); 7.66-7.48 (m, 3H); 7.08 (s, 1H). Anal: Calcd. for C₂₂H₁₆F₃N₃O₄·(0.4 H₂O): C, 58.64; H, 3.76; N, 9.33. Found: C, 58.62; H, 3.75; N, 9.31.

- Example 7 -

10

Synthesis of Exemplary Compounds 33 and 34.

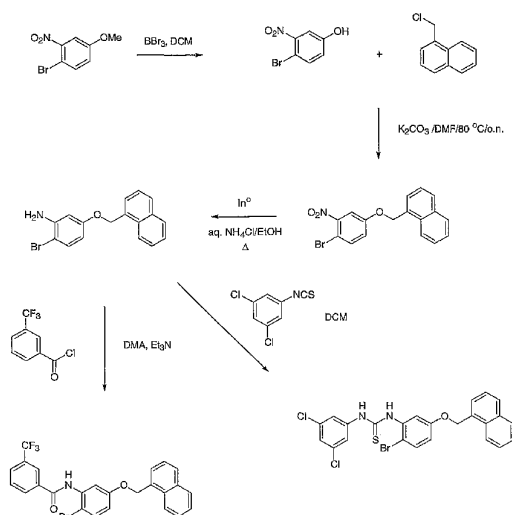
Exemplary Compounds 33 and 34 were prepared according to Scheme VII, below.

4-Bromo-3-nitrophenol. To a stirred solution of 1-bromo-4-methoxy-2-nitrobenzene (2.32 g, 10 mmol) in 75 mL of dichloromethane at 0 °C was added BBr₃ solution (1 M in DCM, 12 mL, 12 mmol) dropwise. The solution was allowed to warm to room temperature and stirred for 16 h. GC/MS showed starting material still left so another 12 mL of BBr₃ solution was added and the reaction mixture refluxed for 4 h. The reaction mixture was cooled in ice and quenched with water. After washing successively with saturated NaHCO₃(aq) and brine, the organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated. The resulting yellow solid was flash chromatographed (25% EtOAc/hexane) to give 1.5 g of product in (69%) yield as a pale yellow solid: MS (EI) m/z 218 (M⁺).

1-Bromo-4-(2-naphthylmethoxy)-2-nitrobenzene. A solution of 4-bromo-3-nitrophenol (1.5 g, 6.9 mmol), 1-(chloromethyl)naphthylene (1.34 g, 7.6 mmol) and K₂CO₃ (1.05 g, 7.6 mmol) in 50 mL of dry DMF was heated to 80 °C for 16h. under nitrogen. The mixture was cooled, filtered and evaporated. The residue was taken up in ethyl acetate (~75 mL) and washed successively with water and brine. The organic phase was dried with MgSO₄, filtered and evaporated. Flash chromatography (20%EtOAc/hexane) gave 2.0 g of product in (81%) yield as a pale yellow solid: MS (EI) m/z 358 (M⁺).

WO 02/059080

PCT/US02/02538



Scheme VII

2-Bromo-5-(2-naphthylmethoxy)phenylamine To a solution of nitroether (1.0 g, 2.8 mmol) in 10 mL of absolute ethanol was added saturated $\text{NH}_4\text{Cl}_{(\text{aq})}$ (3 mL) and indium powder (2.0 g, 17.4 mmol). The mixture was vigorously stirred under reflux for 4h. The reaction mixture was filtered hot through Celite and the Celite washed generously with ethyl acetate. The organic phase was washed with water, brine, dried with MgSO_4 , filtered and evaporated. The residue was flash chromatographed (25%EtOAc/hexane) to give 0.7 g of product in (76%) yield as a pale yellow solid. MS (EI) m/z 328 (M^+).

N-[2-bromo-5-(naphthylmethoxy)phenyl][3-(trifluoromethyl)phenyl] formamide (Exemplary Compound 34). 2-Bromo-5-(2-naphthylmethoxy)phenylamine (100 mg,

WO 02/059080

PCT/US02/02538

0.3 mmol) and 3-(trifluoromethyl)benzoyl chloride (63 mg, 0.3 mmol) in 10 mL of dimethyl acetamide containing triethylamine (0.5 mL, 3.6 mmol); stirred for 16 h., was obtained 5.2 mg of Exemplary Compound 34 as white needles after recrystallization from ethyl acetate/hexane: mp 125-127 °C. ¹H NMR (400 MHz, Me₂SO-*d*₆) δ 5.59 (s, 2H); 7.05-8.33 (m, 14H); 10.35 (s, 1H). Anal. Calcd for C₂₅H₁₇BrF₃NO₂: C, 60.02; H, 3.42; N, 2.80. Found: C, 60.15; H, 3.52; N, 2.73.

[3,5-Dichlorophenyl]amino][2-bromo-5-(naphthylmethoxy)phenyl]amino]methane-1-thione (**Exemplary Compound 33**). A solution of 2-bromo-5-(2-naphthylmethoxy) phenylamine (100 mg, 0.3 mmol) and 3,5-dichlorophenylisothiocyanate (60 mg, 0.3 mmol) in 10 mL of dichloromethane was stirred at room temperature for 16 h. The reaction mixture was evaporated to dryness and the residue recrystallized from ethyl acetate/hexane to give 60 mg of product in (38%) yield as a white solid: mp 149-151 °C. ¹H NMR (400 MHz, Me₂SO-*d*₆) δ 5.56 (s, 2H); 7.02 (dd, 1H, *J* = 3.0, 8.9); 7.29 (d, 1H, *J* = 3.0); 7.35 (t, 1H, *J* = 1.8); 7.49-7.69 (m, 7H); 7.93-7.99 (m, 2H); 8.07-8.10 (m, 1H); 9.78 (s, 1H); 10.10 (s, 1H). Anal. Calcd for C₂₄H₁₇BrCl₂N₂OS: C, 54.16; H, 3.22; N, 5.26; S, 6.02; Cl, 13.32; Br, 15.01. Found: C, 54.17; H, 3.32; N, 5.28; S, 6.10; Cl, 13.31; Br, 15.00.

- Example 8 -

Preparation of Exemplary Compounds 45 and 46.

Exemplary Compounds 45 and 46 were prepared according to Scheme VIII, below.

3-[3,5-Dichlorophenoxy)methyl]-4-methoxyphenylamine hydrochloride. A mixture of 2-bromomethyl-1-methoxy-4-nitrobenzene (2.46 g, 0.01 M), 3,5-dichlorophenol (1.79 g, 0.011 M), and potassium carbonate (2.07 g, 0.015 M) in acetone (150 mL) was intensively stirred for 5 min, then dicyclohexano-18-crown-6 (80 mg) was added, and the whole was brought to reflux under continued stirring. After 4 h, the mixture was cooled to r.t., and stirring was continued for overnight. The solvent was evaporated *in vacuo*. A yellowish-white solid was triturated with water (200 mL) and stirred for 30 min. Liquids were removed from the flask using reversed filtration, and

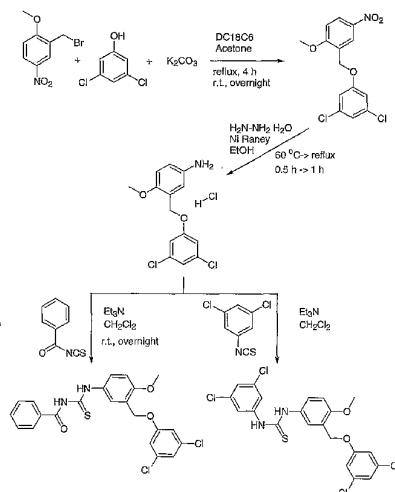
WO 02/059080

PCT/US02/02538

the resulting solid was diluted with EtOH (75 mL). To this suspension was added wet Ni Raney (2.0 g), and the whole was heated up to 60 °C. A solution of hydrazine monohydrate (100%, 2.0 mL) in EtOH (5 mL) was added dropwise within 30 min under continued stirring. As soon as the mixture cleared, the whole was brought to

5 reflux and kept under stirring for 1 h. The solution was cooled to room temperature, decanted from catalyst, and concentrated *in vacuo*. Oily residue was dissolved in MeOH (30 mL) and treated with HCl conc. (12 mL). The formed suspension was kept in the freezer overnight and then filtered. Microcrystals, yield 1.55 g. Filtrate was concentrated *in vacuo*, and the formed precipitate filtered to give additional amount of

10 product (0.410 g). Total yield of the title compound was 1.960 g (59%).



Scheme VIII

15

WO 02/059080

PCT/US02/02538

1-[3-(3,5-Dichlorophenoxy)methyl-4-methoxyphenyl]-3-benzoylthiourea
(Exemplary Compound 46). A suspension of the above amine hydrochloride (0.167 g, 0.5 mmol) in dichloromethane (30 mL) was treated with triethylamine (0.076 mL, 0.55 mmol) at room temperature, stirred shortly (10 min), then benzoylisothiocyanate (0.067 mL, 0.5 mmol) was added to the formed solution in one portion. Stirring was continued overnight. Water (50 mL) was added to the mixture, and after extraction and separation of organic layer the solvent was evaporated *in vacuo* to give a solid, which was triturated with a mixture diethyl ether:hexanes and filtered. Yield 0.130 g (56%). Yellow crystals, m.p. 167-169 °C. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ: 12.45 (s, 1H); 11.53 (s, 1H); 7.98 (d, J=8.5 Hz, 2H); 7.69-7.61 (m, 3H); 7.56-7.51 (m, 2H); 7.18-7.09 (m, 4H); 5.12 (s, 2H); 3.86 (s, 3H). Anal. Calcd. for C₂₂H₁₈Cl₂N₂O₃S: C, 57.27; H, 3.93; N, 6.07. Found: C, 56.90; H, 4.01; N, 6.13.

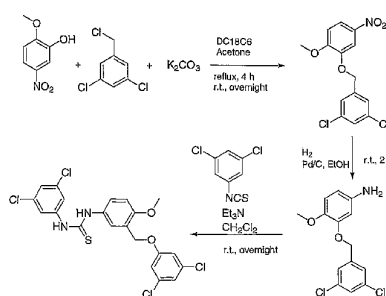
1-[3-(3,5-Dichlorophenoxy)methyl-4-methoxyphenyl]-3-(3,5-dichlorophenyl)thiourea (Exemplary Compound 45). A suspension of the amine hydrochloride from Step 1 (0.167 g, 0.5 mmol) in dichloromethane (30 mL) was treated with triethylamine (0.076 mL, 0.55 mmol) at room temperature, stirred shortly (10 min), then 3,5-dichlorophenylisothiocyanate (0.102 g, 0.5 mmol) was added to the formed solution in one portion. Stirring was continued overnight. Water (50 mL) was added to the mixture, and after extraction and separation of organic layer the solvent was evaporated *in vacuo* to give a solid, which was triturated with a mixture diethyl ether:hexanes and filtered. Yield 0.145 g (57%). Pink microcrystals, m.p. 172-173 °C (dec.). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ: 9.97 (s, 1H); 9.85 (s, 1H); 7.60 (s, 2H); 7.40-7.35 (m, 2H); 7.30 (s, 1H); 7.14 (s, 1H); 7.11 (s, 2H); 7.09-7.04 (m, 1H); 5.10 (s, 2H); 3.83 (s, 3H). Anal. Calcd. for C₂₁H₁₆Cl₄N₂O₂S: C, 50.22; H, 3.21; N, 5.58. Found: C, 50.29; H, 3.29; N, 5.49.

- Example 9 -

Preparation of Exemplary Compound 28.
Exemplary Compound 28 was prepared according to Scheme IX, below.

WO 02/059080

PCT/US02/02538



Scheme IX

- 5 3-[(3,5-Dichlorophenyl)methoxy]-4-methoxyphenylamine. The title compound was prepared according to the method of Scheme VIII, starting from 3-nitro-5-methoxyphenol and 3,5-dichlorobenzylchloride.

- 10 1-[(3,5-Dichlorophenyl)-3-[(3,5-dichlorobenzyl)oxy]-4-methoxyphenyl]urea
 (Exemplary Compound 28). To a stirred solution of 3-[(3,5-dichlorophenyl)methoxy]-4-methoxyphenylamine (0.596 g, 2 mmol) in dichloromethane (30 mL) was added 3,5-dichlorophenylisothiocyanate (0.408 g, 2 mmol) in one portion. Stirring was continued overnight. Water (100 mL) was added to the mixture, and after extraction and separation of organic layer the solvent was
 15 evaporated *in vacuo* to give a solid, which was triturated with a mixture diethyl ether:hexanes and filtered. Yield 0.273 g (27%). White micro-crystals, m.p. 154–155°C (dec.); ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 9.67 (s, 1H); 9.74 (s, 1H); 7.59 (s, 2H); 7.53 (s, 1H); 7.48 (s, 2H); 7.30 (s, 1H); 7.11 (s, 1H); 7.00 (d, J=8.5 Hz, 1H); 6.92 (dd, J=9.0 and 2.5 Hz, 1H); 5.10 (s, 2H); 3.79 (s, 3H). Anal: Calcd for: C, 50.22; H, 3.21; N, 5.58. Found: C, 50.50; H, 3.45; N, 5.56.
- 20

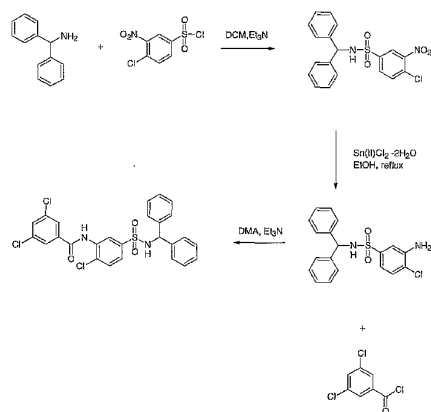
WO 02/059080

PCT/US02/02538

- Example 10 -Preparation of Exemplary Compound 52.

Exemplary Compound 52 was prepared according to Scheme X, below.

5



Scheme X

10 (Diphenylmethyl)((4-chloro-3-nitrophenyl)sulfonyl)amine. To a stirred solution of aminodiphenylmethane (1.9 g, 11 mmol) and 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonyl chloride (2.56 g, 10 mmol) in 75 mL of dichloromethane was added triethylamine (2 mL, 14.4 mmol). The solution was stirred for 16 h. The reaction mixture was washed successively with 1M HCl and brine. The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and evaporated. The resulting yellow solid was recrystallized from ethyl acetate/hexane to give 2.98 g of product in (74%) yield as pale yellow crystals: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.34 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz), 5.73 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz), 7.11-7.14 (m, 4H), 7.23-7.26 (m, 6H), 7.43 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 7.67 (dd, 1H, $J = 2.0, 8.5$

15

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Hz), 7.93 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz).

5 [(3-Amino-4-chlorophenyl)sulfonyl](diphenylmethyl)amine A solution of the nitro compound from Step 1 (2.0 g, 5 mmol) and Sn(II)Cl_2 dihydrate (5.5 g, 24.4 mmol) in 50 mL of absolute ethanol was refluxed under nitrogen for 1 h. The reaction mixture was poured onto ice, neutralized with solid NaHCO_3 and extracted with ethyl acetate. The organic phase was washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered and evaporated to give 1.7 g of product (92%) as a white crystalline solid which was carried on without further purification. MS (EI) m/z 372 (M^+).

10

(3,5-Dichlorophenyl)-N-(5-([(diphenylmethyl)amino]sulfonyl)-2-chlorophenyl)formamide (Exemplary Compound 52) . To a stirred solution of (570 mg, 1.53 mmol) and 3,5-dichlorobenzoyl chloride (340 mg, 1.62 mmol) in 10 mL of dimethyl acetamide was added triethylamine (1mL, 7.17 mmol). The solution was stirred at 15 room temperature for 16 h. The reaction mixture was then poured onto ice and the precipitate that resulted on standing was collected by filtration. Washed generously with water and after drying, the solid was recrystallized from ethyl acetate/hexane to give 600 mg of product in (71%) yield as pale orange crystals: mp 196-198 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.21 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz); 5.69 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz); 7.14-7.24 (m, 10H); 7.33-7.39 (m, 2H); 7.61 (t, 1H, $J = 1.8$ Hz); 7.75 (d, 2H, $J = 1.8$ Hz); 20 8.22 (bs, 1H); 8.84 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz). Anal. Calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$: C, 57.21; H, 3.51; N, 5.13; Cl, 19.48; S, 5.87. Found: C, 57.39; H, 3.54; N, 5.16; Cl, 19.40; S, 5.74.

- Example 11 -

25

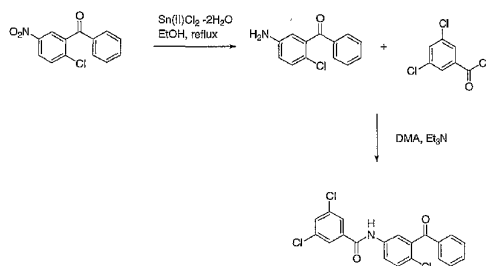
Synthesis of Exemplary Compound 51.

Exemplary Compound 51 was prepared as described in Scheme XI, below.

3-Amino-6-chlorophenyl phenyl ketone. From 2-chloro-5-nitrophenyl phenyl ketone 30 (5.5 g, 21.0 mmol) and Sn(II)Cl_2 dihydrate (23.7 g, 107 mmol) in 200 mL of absolute ethanol refluxed for 2 h., was obtained 4.9 g of product in (100%) yield as an orange oil. This material was used without further purification. MS (EI) m/z 231 (M^+).

WO 02/059080

PCT/US02/02538



Scheme XI

- (3,5-Dichlorophenyl)-N-[4-chloro-3-(phenylcarbonyl)phenyl]formamide
 5 (Exemplary Compound 51) was prepared using the same experimental conditions used to prepare Exemplary Compound 52 (Scheme XI, above). From 3-amino-6-chlorophenyl phenyl ketone (1.62 g, 7 mmol) and 3,5-dichlorobenzoyl chloride (1.5 g, 7.2 mmol) in 25 mL of dimethyl acetamide containing triethylamine (2 mL, 14.4 mmol) stirred for 16 h., was obtained 2.1 g of product (74% yield) as fluffy white
 10 needles after recrystallization from ethyl acetate/hexane: mp 171-173 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.64 (m, 6H); 7.73 (d, 2H, *J* = 1.9 Hz); 7.82-7.85 (m, 3H); 7.95 (bs, 1H). Anal. Calcd for C₂₀H₁₃Cl₃NO₂: C, 59.36; H, 2.99; N, 3.46; Cl, 26.28. Found: C, 59.55; H, 3.06; N, 3.50; Cl, 26.11.

15 - Example 12 -

Preparation of Exemplary Compound 50.

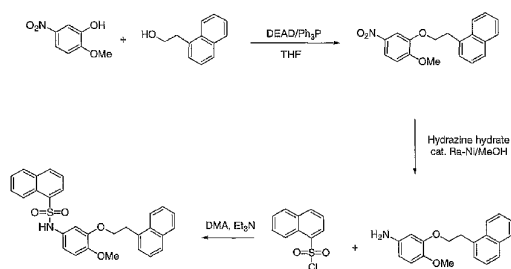
Exemplary Compound 50 was prepared according to Scheme XII, below.

- 20 1-Methoxy-2-(2-naphthylethoxy)-4-nitrobenzene To a stirred and cooled (in ice) solution of Ph₃P (9.3 g, 35.5 mmol) and 1-naphthyleneethanol (6.1 g, 35.5 mmol) in 250 mL of THF was added a solution of DEAD (6.18 g, 35.5 mmol) in 50 mL of THF dropwise. The solution was stirred for 0.5 h. and a solution of 2-methoxy-5-

WO 02/059080

PCT/US02/02538

nitrophenol (5.0 g, 29.6 mmol) in 50 mL of THF was added dropwise. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred for 48 h. The reaction mixture was evaporated to a brown oil which was taken up in ether (200 mL) and hexane added until a slight cloudiness persisted. Allowed this mixture to sit at room temperature until crystallization occurred and refrigerated overnight. The resulting solid was filtered, washed with ether/hexane (1:2) and dried to give ~18 g of a light brown solid. GC/MS showed this solid to contain only product and triphenylphosphine oxide. The solid was dissolved in ~150 mL of hot ethyl acetate and after cooling to room temperature, suction filtered through silica gel (~300 g) eluting with ethyl acetate/ hexane (1:5). After collecting ~1 L of solvent, evaporation gave 4.80 g of product in (50%) yield as pale yellow powder: MS (EI) m/z 323 (M^+).



15

Scheme XII

4-Methoxy-3-(2-naphthylethoxy)phenylamine A solution of the above nitro compound (2.0 g, 6.18 mmol) and hydrazine hydrate (1.5 mL, 30.9 mmol) in 100 mL of methanol was warmed to near reflux. A spatula tip full of Raney nickel catalyst (50% slurry in water) was added and the solution immediately frothed. The mixture was brought to reflux for 0.5 h. As the reaction proceeds the color changes from yellow to colorless. The reaction mixture was cooled, filtered through Celite and evaporated. The resulting residue was redissolved in ethyl acetate, washed with brine,

20

WO 02/059080

PCT/US02/02538

dried over MgSO_4 , filtered and evaporated to give 1.5 g of product (88%) as a pale brown oil which crystallized on standing. This solid was carried on without further purification: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.38 (bs, 2H), 3.64 (t, 2H, $J = 8.0$ Hz), 3.79 (s, 3H), 4.29 (t, 2H, $J = 8.0$ Hz), 6.22-6.28 (m, 2H), 6.73 (d, 1H, $J = 8.0$), 7.40-7.54 (m, 4H), 7.74-7.77 (m, 1H), 7.86-7.88 (m, 1H), 8.11 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz); MS (EI) m/z 293 (M^+).

[4-Methoxy-3-(2-naphthylethoxy)phenyl](naphthylsulfonyl)amine (Exemplary Compound 50). To a stirred solution of the aniline from Step 2 (250 mg, 0.85 mmol) and 1-naphthylsulfonyl chloride (190 mg, 0.85 mmol) in 10 mL of dimethyl acetamide was added triethylamine (1 mL, 7.17 mmol). The solution was stirred at room temperature for 16 h. The reaction mixture was then poured onto ice. The resulting oil was extracted with ethyl acetate and washed successively with 1M HCl, saturated $\text{NaHCO}_3(\text{aq})$ and brine. The organic phase was dried with MgSO_4 , filtered and evaporated to give a white foam. This foam was crystallized from ether/hexane with vigorous stirring. The resulting solid was recrystallized from ethyl acetate/hexane to give 330 mg of product in (80%) yield as beige crystals: mp 127-131 $^\circ\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 3.36 (t, 2H, $J = 7.1$); 3.57 (s, 3H); 3.92 (t, 2H, $J = 7.1$); 6.48-6.50 (m, 2H); 6.70-6.72 (m, 1H); 7.34-8.07 (m, 13H); 8.68 (d, 1H, $J = 8.6$); 10.21 (s, 1H). Anal. Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{S}$: C, 72.03; H, 5.21; N, 2.90; S, 6.63. Found: C, 71.93; H, 5.23; N, 2.88; S, 6.62.

- Example 13 -

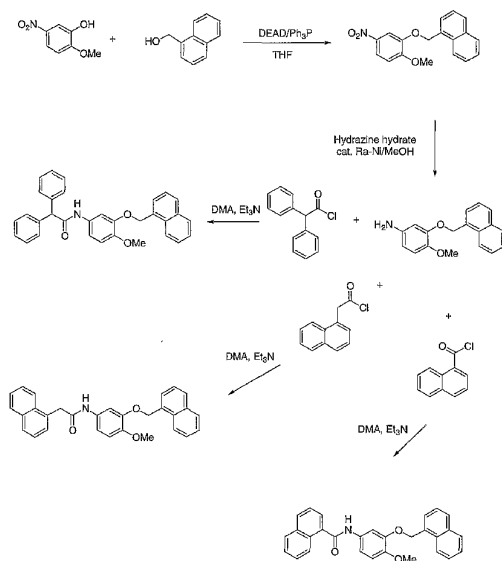
Preparation of Exemplary Compounds 47, 48, and 49. Exemplary Compounds 47, 48 and 49 were prepared according to Scheme XIII, below.

1-Methoxy-2-(naphthylethoxy)-4-nitrobenzene. Nitroether was prepared using the same experimental conditions described in Scheme XII. From 2-methoxy-5-nitrophenol (5.0 g, 29.6 mmol), 1-naphthylmethanol (5.62 g, 35.5 mmol), Ph_3P (9.3 g, 35.5 mmol) and DEAD (6.18 g, 35.5 mmol) in 250 mL of THF stirred at room

WO 02/059080

PCT/US02/02538

temperature for 48 h., was isolated 10.4 g of crude product. This solid was recrystallized from ethyl acetate to give 3.8 g of product in (42%) yield as light yellow needles. MS (EI) m/z 309 (M^+).



5

Scheme XIII

4-Methoxy-3-(2-naphthylethoxy)phenylamine was prepared using the same experimental conditions described in Scheme XII. From 1-methoxy-2-(naphthylmethoxy)-4-nitrobenzene (3.8 g, 12.3 mmol), hydrazine hydrate (3.1 g, 61.4 mmol) and a catalytic amount of Raney nickel in 100 mL of methanol refluxed for 0.5

10

WO 02/059080

PCT/US02/02538

h., was obtained 3.5 g of product in (100%) yield as a brown oil that crystallized on standing. MS (EI) m/z 279 (M^+).

N-[4-methoxy-3-(naphthylmethoxy)phenyl]-2,2-diphenylethanamide (Exemplary Compound 49) was prepared using the same experimental conditions used to prepare Example 52 (Scheme X). From 4-methoxy-3-(2-naphthylethoxy)phenylamine (350 mg, 1.25 mmol) and diphenylacetyl chloride (290 mg, 1.25 mmol) in 10 mL of dimethyl acetamide containing triethylamine (1 mL, 7.17 mmol) stirred at room temperature for 16 h., was obtained 375 mg of product in (64%) yield as a white solid after recrystallization from ethyl acetate/hexane: mp 170-172 °C. ^1H NMR (400 MHz, $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 3.69 (s, 3H); 5.13 (s, 1H); 5.46 (s, 2H); 6.93 (d, 1H, $J = 8.7$); 7.20-7.37 (m, 10H); 7.50-7.65 (m, 5H); 7.94-8.09 (m, 3H); 10.28 (s, 1H). Anal. Calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{27}\text{NO}_3$: C, 81.16; H, 5.75; N, 2.96. Found: C, 80.95; H, 5.76; N, 3.03.

N-[4-methoxy-3-(naphthylmethoxy)phenyl]-2-naphthylethanamide (Exemplary Compound 48) was prepared using the same experimental conditions used to prepare Exemplary Compound 52 (Scheme X, above). From 4-methoxy-3-(2-naphthylethoxy)phenylamine (350 mg, 1.25 mmol) and 1-naphthylacetyl chloride (260 mg, 1.25 mmol) in 10 mL of dimethyl acetamide containing triethylamine (1 mL, 7.17 mmol) stirred at room temperature for 16 h., was obtained 370 mg of product in (66%) yield as off white needles after recrystallization from ethyl acetate/hexane: mp 161-163 °C. ^1H NMR (400 MHz, $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$) δ 3.69 (s, 3H); 4.11 (s, 2H); 5.45 (s, 2H); 6.93 (d, 1H, $J = 8.8$); 7.18 (dd, 1H, $J = 2.3, 8.7$); 7.46-7.64 (m, 9H); 7.82-8.15 (m, 6H); 10.20 (s, 1H). Anal. Calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{NO}_3$: C, 80.51; H, 5.63; N, 3.13. Found: C, 80.38; H, 5.70; N, 3.12.

N-[4-methoxy-3-(naphthylmethoxy)phenyl]naphthylformamide (Exemplary Compound 47) was prepared using the same experimental conditions used to prepare Exemplary Compound 52 (Scheme X, above). From 4-methoxy-3-(2-naphthylethoxy)phenylamine (350 mg, 1.25 mmol) and 1-naphthoyl chloride (240 mg, 1.25 mmol) in 10 mL of dimethyl acetamide containing triethylamine (1 mL, 7.17 mmol) stirred at room temperature for 16 h., was obtained 280 mg of product in

WO 02/059080

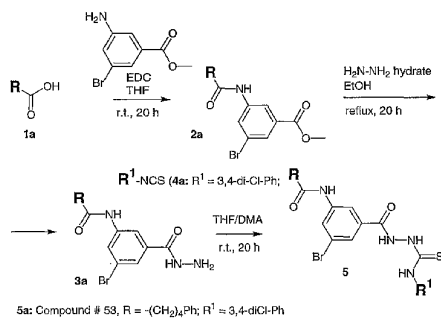
PCT/US02/02538

(52%) yield as white needles after recrystallization from ethyl acetate/hexane: mp 161-163 °C. ¹H NMR (400 MHz, Me₂SO-*d*₆) δ 3.74 (s, 3H); 5.52 (s, 2H); 7.01 (d, 1H, *J* = 8.8); 7.43 (dd, 1H, *J* = 2.3, 8.7); 7.51-7.74 (m, 9H); 7.94-8.21 (m, 6H); 10.43 (s, 1H). Anal. Calcd for C₂₉H₂₃NO₃: C, 80.35; H, 5.35; N, 3.23. Found: C, 80.25; H, 5.39; N, 3.19.

- Example 14 -

Preparation of Exemplary Compound 53

Exemplary Compound 53 was prepared according to the procedure of Scheme XIV, below:



Scheme XIV

3-(Acylamino)-5-bromobenzoic acid methyl ester (**2a** Scheme XIV). A mixture of the corresponding acid **1a** (5 mmol), methyl 3-amino-5-bromobenzoate (5 mmol), and 1-[3-(dimethylamino)propyl]-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC, 5.7 mmol) in dry THF (30 mL) is stirred at room temperature for 20 h. The whole is poured onto ice-water mixture (100 g) and left stand aside for 2 h. The product is extracted with methylene chloride (75 mL). The organic layer is separated, dried (Na₂SO₄ ahyd.),

WO 02/059080

PCT/US02/02538

and solvents evaporated in vacuum. Depending on the appearance of the product, it is used as is (solid) or further subjected to column chromatography (oil), using silica gel and EtOAc:hexanes 1:2 eluting system.

- 5 3-(Acylamino)-5-bromobenzoic acid hydrazide (3a, Scheme XIV) . A solution of the corresponding ester **2a** (5 mmol) and hydrazine hydrate (8 mL) in the mixture of propanol-2 or ethanol (100 mL) and water (1 mL) is stirred and refluxed for 20 h. Solvent evaporated in vacuum to produce yellowish-white solid, which is triturated with a minimum amount of ethanol (5-8 mL), filtered, and air-dried.

- 10 1-{3-[(5-Phenyl)valeroylamino]-5-bromobenzoyl}-4-(3,4-dichlorophenyl)thiosemicarbazide (Exemplary **Compound 53; 5a** in Scheme XIV). To a stirred solution of hydrazide **3a** (0.3 mmol) in the mixture of THF (4 mL) and DMA (1 mL) is added a solution of isothiocyanate **4a** (0.043 mL, 0.3 mmol) in THF (1 mL) in one
15 portion. The whole is stirred for 18 h, poured onto ice-water. The residue formed is filtered and then recrystallized from aq. EtOH to give **Compound 53**.

- Example 15 -

- 20 Measuring the Inhibition of Rotamase (prolyl peptidyl cis-trans isomerase) Activity:
A number of substrates for rotamase are known in the art or can be derived from those known. Typically, the substrate contacts a sample containing a protein with rotamase activity and the conversion of the substrate is detected after a period of time. The method for detecting conversion of the substrate will vary with the particular substrate
25 chosen. One method has been termed the K_i test (See Harding, *et al.*, *Nature*, 341: 758-760 (1989); and Holt *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 115:9923-9938). The *cis-trans* isomerization of an alanine-proline bond in a model substrate, N-succinyl-Ala-Ala-Pro-Phe-p-nitroanilide, is monitored spectrophotometrically in a chymotrypsin-coupled assay. The action of chymotrypsin releases p-nitroaniline from only the *trans*
30 form of the substrate. The amount of p-nitroaniline can be monitored in a spectrophotometer, for example. Other methods of detecting the presence of p-nitroaniline can also be used. The inhibition of this reaction caused by different concentrations of

WO 02/059080

PCT/US02/02538

inhibitor is determined and the data are analyzed as a change in first-order rate constant as a function of inhibitor concentration, which yields the K_i value.

- The following were added to a plastic cuvette: 950 μ L of ice cold assay buffer (25 mM HEPES, pH 7.8, 100 mM NaCl), 10 μ L of CyP A (2.5 μ M in 10 mM Tris-Cl pH 7.5, 100 mM NaCl, 1 mM dithiothreitol), 25 μ L of chymotrypsin (50 mg/ml in 1 mM HCl), and 10 μ L of test compound, at various concentrations, in dimethyl sulfoxide. The reaction was initiated by the addition of 5 μ L of substrate (succinyl-Ala-Phe-Pro-Phe-para-nitroanilide, 5 mg/mL in 470 mM LiCl in trifluoroethanol). The absorbance at 390 nm versus time was monitored for 90 seconds using a spectrophotometer and the rate constants were determined from the absorbance versus time data files.

The IC_{50} values which were obtained for representative compounds are given in the following Table A, and refer to the concentration that inhibits 50% of the rotamase activity in a sample.

15

Table A

Compound #	IC_{50} (nM)	Compound #	IC_{50} (nM)
13	456	37	1,200
15	18,700	38	736
20	153	41	1,370
21	490	42	230*
25	297	43	377*
26	909	44	374*
27	214*	45	609*
28	914*	46	3,770*
29	10,000*	47	1,220*
31	1,580 / 3,530*	48	1,190*
32	164 / 102*	49	1,020*
33	707*	50	978*
34	11,700 / 12,000*	51	1,550*
35	1,310*	52	861*
36	609*		

WO 02/059080

PCT/US02/02538

The lower the value, the more active the compound is at binding or interacting with CyP. The Cyclophilin utilized was a human recombinant CyPA, [Yoo et al., *J. Mol. Biol.*, 269 (1997) 780-95]. An asterisk indicates that the compound was evaluated using a recombinant rat CyPA-GST fusion protein: CypA was amplified from rat brain cDNA using standard PCR methods, primed with the following sequences: 5' CCC CCC GGG AGT CAA CCC CAC CGT GTT CTT CGA 3' and 5' GGA GAT CTA GAG TTG TCC ACA GTC GGA GAT GGT 3'. The resulting fragment (573 base pairs) was cloned into pCRII and amplified. The CyP sequence was cut out with SmaI and EcoRI and cloned into the SmaI/EcoRI sites in pGEX2TK (Pharmacia). This plasmid was transformed into BL21 *E. coli* cells for expression of the GST-CyPA fusion protein.

- Example 16 -

Semiautomated Assay of Rotamase Activity Inhibition: Rotamase inhibition was determined using a semiautomated microtiter plate assay modification of the above described assay [see Killert et al., *Clin. Chem.* 44, 502-508 (1998)]. All dilutions of CyPA, peptide substrate, and chymotrypsin were made in 35 mM ice-cold HEPES buffer. Fifty μ L of CyPA solution is added to 50 μ L of the peptide substrate solution (Phe-Pro-Phe p-nitroanilide, 0.16 mg/ml) in a glass microtiter well plate (the concentration of human recombinant CyP being adjusted so that the reaction rate is increased by a factor of 3 as compared to an uncatalyzed control reaction wherein the peptide substrate is degraded by chymotrypsin alone, in the absence of CyPA and test compound). Using a Beckman Multitek™ 96 automated 96-channel pipettor, 5 μ L of test compound solution, or a DMSO blank, were added to each well for a 30 minute preincubation at 4°C. One hundred μ L of chymotrypsin solution (1 mg/mL) were added to each well and the absorbance at 390 nm versus time was monitored for 9-10 minutes using a BioRad Ultramark plate reader maintained at 4°C and the rate constants were determined from the absorbance versus time data files.

IC₅₀ values which were obtained for representative compounds are presented in the following Table B. The cyclophilin utilized was a human recombinant CyPA. An asterisk indicates that the compound was evaluated using a recombinant rat CyPA-

WO 02/059080

PCT/US02/02538

GST fusion protein (see *supra*, Example 15).

Table B

Compound #	IC ₅₀ (nM)	Compound #	IC ₅₀ (nM)
1	2,940	18	1,320
2	15,900	19	2,800
3	3,420	20	499
4	833	21	1,730
5	1,300	22	4,710
6	3,790	23	7,850
7	2,110	24	7,170
8	4,760	25	2,030
9	1,580	26	2,540
10	933	30	10,000
11	807	31	6,940*
12	7,710	32	51.5 / 91.7*
13	1,370	34	9,720*
14	15,100	35	353*
15	9,100	39	1,120
16	n.d.	40	719
17	1,980	43	287*
		53	392

5 While CyP A was used in these examples, other CyP proteins can be substituted. Similar methods can be used with other immunophilins, such as the FKBP, to demonstrate the presence or absence of FKBP binding activity.

Measuring the Neuroactivity of the Compounds of the Invention

10

As noted above, a number of methods can be used to assay for the bioactivity of the compounds of the invention. These assays can be *in vivo* or *in vitro* methods. The examples below illustrate assays for the ability of the compounds to protect

WO 02/059080

PCT/US02/02538

neuronal cells from toxic treatments and the ability of the compounds to elicit neuronal cell growth, regeneration, or neurite extension.

- Example 17 -

5

Immunostaining and Neurite Outgrowth Quantitation in Dorsal Root Ganglia

Preparations: Dorsal root ganglia (DRG) from adult mice can be isolated by micro-dissection. The spinal cord with attached DRGs from an adult mouse (15-20g) is removed. Spinal nerves are cut away using micro-dissection scissors and any excess material is trimmed until the DRG is free. Using sharp micro-dissecting scissors, a transverse cut is made in the peripheral nerve, leaving 1-2 mm attached, and the explant placed into Petri dish and covered with plating media. When finished collecting all DRGs, the spinal nerve is trimmed to about 1mm in length. The explant is then embedded in 30 µl of reduced growth factor Matrigel on a circular coverslip, and placed in a 35 mm culture dish. The sensory ganglion explant is then covered with 2 ml of media. Compounds, drugs or control solutions are added from 10X stocks, and incubated at 37°C, 5% CO₂, 95% humidity for 48 hrs. Cultures are washed twice with PBS, and fixed with 10% formalin for 30 minutes. Fixed cultures are rinsed twice with PBS and stored in PBS under refrigeration pending staining and analysis.

For staining, cultures are incubated in Block Buffer (5% Horse Serum, 5% Goat Serum, 1% Triton X, PBS pH=7.4) overnight, while rotating, at a temperature of 4°C. A primary antibody against beta tubulin (Sigma Chemical Co.) is diluted in Block Buffer and cultures are incubated overnight at 4°C. Preparations are washed 5 times with PBS and a secondary antibody (Alexa 488 Goat Anti-Mouse), diluted in block buffer, is applied overnight at 4°C. Preparations are washed 5 times with PBS and left overnight at 4°C. Cultures are coverslipped and total neurite length from the end of the attached spinal nerve is measured using commercially available microscopic image analysis software. Lengths of all neurites are quantitated and compared to those present in vehicle-treated control DRGs. Compounds of this invention elicit a significant increase in the number and/or average length of neurites as compared to vehicle-treated control preparations.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

- Example 18 -

Neuroprotection Assay in Spinal Cord Slice Preparations: All cultures were derived from postnatal day 8 (P8) Sprague-Dawley rat lumbar spinal cord slices of 325 micrometer thickness, prepared using a commercially available McIlwain tissue chopper. Each experiment consisted of two 6-well plates with 5 slices from 4 different animals per well. Media changes were performed every 3 to 4 days. Cultures were treated with THA [L(-)-threo-3-hydroxyaspartic acid; Tocris Cookson Inc., Ballwin, Missouri] at 200 μ M + compound (10 μ M) after one week in culture. The control was an untreated sample with 0.1% DMSO as vehicle. The THA control was a THA treated sample with 0.1% DMSO as vehicle. Two wells were used per condition. One media change with new THA and compounds was performed. The experiment was stopped 6 to 8 days following drug treatment (13-15 total days in vitro, DIV) as dictated by visual assessment of lesion, by fixation with 4% paraformaldehyde/0.1 M phosphate buffer for 30 minutes.

Slices were permeabilized with 100% cold methanol for 10 minutes, subsequently washed 3x in 0.1M phosphate buffer and transferred to staining wells. The slices were blocked with 10% horse serum/0.05M tris buffered saline. Primary antibody incubation was conducted overnight at 4°C with anti-neurofilament H (non-phosphorylated) (SMI-32) antibody 1:5000 in 2% HS/TBS. The Vectastain ABC Elite Kit with rat absorbed anti-mouse secondary antibody was used with diaminobenzidine (DAB) as a chromogen to stain the slices. The slices were mounted onto a slide and coverslips were sealed with DPX mounting solution.

Quantification of surviving neurons was performed on a Zeiss Axiovert microscope. Neuronal survival was determined by observing an intact neuronal cell body with processes located ventrally of the central canal in each hemisphere. This correlated to laminae VII, VIII and IX. Each hemisphere was counted individually. The statistics were performed with StatView™ software on a minimum of three different experiments per condition and significance was determined as compared to THA control. The percent of protection was determined from the average number of living neurons by the following equation: (drug treatment condition – THA control)/(Untreated control-THA control).

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Untreated control cultures displayed an average of 26.4 ± 4.2 (mean $\pm$ standard error) SMI-32 immunoreactive neurons per ventral hemisphere of the spinal cord slices at the end of the culturing interval, while THA-treated control cultures displayed a significantly reduced number of 18.97 ± 2.04 cells. Addition of Exemplary
5 Compound 43 to THA-treated cultures caused a complete protection from THA-induced cell death (28.14 ± 2.4 cells/ventral hemisphere). Other compounds of this invention are equally expected to elicit a significant increase in the numbers of surviving neurons as compared to control cultures.

10

- Example 19 -

Inhibition of Mitochondrial Permeability Transition in a Spectrophotometric Large Amplitude Mitochondrial Swelling Assay: Fresh rat liver mitochondria are prepared from male Sprague-Dawley rats as described by Broekemeier, *et al.*, *J. Biol.*
15 *Chem.* 260:105-113 (1985). Incubations are conducted at room temperature in an assay buffer containing 10 mM sodium succinate, 3 mM Hepes (pH 7.4), 5 μ M rotenone, 0.5 μ g/ml oligomycin, 10 μ M CaCl_2 , and mannitol/sucrose at a ratio of 3:1 to yield an osmotic strength of 300 mosmoles. Five μ l of the isolated mitochondria preparation and 5 μ l of compound or vehicle solution are added at various
20 concentrations and optical density (OD) is read at 540 nm for one minute to obtain a baseline reading. Ten μ l of ruthenium red solution is added to yield a final concentration of 1 μ M, and OD₅₄₀ is monitored for an additional minute. Twenty-five μ l of fluoro-carbonyl cyanide solution is added to yield a final concentration of 4 μ M, and OD₅₄₀ is monitored for an additional 4-5 minutes. Mitochondrial permeability
25 transition is manifested as a progressive drop in net absorbance as the mitochondria swell. The ability of the compounds of the invention to inhibit mitochondrial permeability transition and swelling can be expressed as IC₅₀ values. Compounds of this invention significantly inhibit the progressive drop of net absorbance at OD₅₄₀, and inhibit the mitochondrial permeability transition in a dose-dependent manner.

30

- Example 20 -

In Vivo Protective Effects in an Animal Model of Cerebral Stroke: Male Sprague Dawley rats, weighing 260 – 290g, are used in determining the protective effects of the compounds of the invention against ischemia-induced brain damage. The compounds are dissolved in 50 mM Hepes buffered saline or another physiologically acceptable vehicle, and the pH is adjusted to 7.4 before administration. The compound is administered intravenously 60 min following experimental medial cerebral artery occlusion (MCAO) at a bolus dose of, e.g., 100 mg/kg immediately followed by an infusion dose of 20 mg/kg/hr for 4 hours. The intraluminal filament model of transient MCAO is well established in the art [see, e.g., Lu, *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.* 408: 233-239 (2000)]. Briefly, under 1.5% halothane anesthesia, the rat common carotid artery is exposed at the level of external and internal carotid artery bifurcation. The external carotid artery (ECA) and its branches are cauterized and cut. A piece of 3-0 monofilament nylon suture with a blunted tip is introduced into the internal carotid artery (ICA) via the proximal end of the ECA stump. The suture is advanced through the carotid canal to the origin of the MCA where it blocks the blood flow to its entire territory. At the end of the 2 hour occlusion period, the rat is re-anesthetized and the suture is carefully pulled back to the ECA stump to allow reperfusion. During the surgery, the animal's body temperature is maintained at 37.0°C via a heating blanket. The experimental animals are sacrificed following 22 hr of reperfusion. The brains are removed and cut into seven 2-mm thick coronal slices, stained with 1% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC), and subsequently imaged using a computer-assisted digital imaging analysis system. The ischemic injury is quantified based on the volume of the infarct tissue completely lacking TTC staining. The total infarct volume and the infarct volumes of the cortical and subcortical regions of each rat are used for statistical analysis. A one-factor analysis of variance can be used for comparison of treatment effects. The difference between groups is considered statistically significant at $p < 0.05$. Administration of compounds of this invention leads to a significant reduction in infarct volume as compared to vehicle-treated animals.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

- Example 21 -

In Vivo Protective Effects in an Animal Model of Myocardial Infarction: The surgical procedures and protocol for inducing experimental myocardial infarction is itself well-established in the art [see, e.g., Kukreja, *et al.*, *Mol. Cell. Biochem.*, 195: 123-131 (1999)]. Briefly, male Sprague-Dawley rats (225-300g) are anaesthetized with 65mg/kg sodium pentobarbital i.p., Following tracheotomy, animals are mechanically ventilated using 35% O₂/65% N₂ at 50 strokes/min. and a stroke volume of 2 ml, and maintained at 37.0°C using a heating blanket. Electrocardiographic leads are attached to subcutaneous electrodes to monitor either limb leads I, II or III. The right carotid artery is cannulated and connected to a pressure transducer to monitor arterial pressure throughout the experiment, and the right jugular vein is cannulated to allow intravenous administration of compounds of the invention. The compounds are dissolved in 50 mM Hepes buffered saline or another physiologically acceptable vehicle, and the pH is adjusted to 7.4 before administration. The compound is administered intravenously 20 min prior to experimental coronary artery occlusion at a bolus dose of, e.g., 100 mg/kg, immediately followed by an infusion dose of 20 mg/kg/hr for 140 minutes. A left thoracotomy is performed at the fourth intercostal space and the heart exposed. A 5-0 silk suture with a traumatic needle is then passed around the left coronary artery midway between the atrioventricular groove and the apex, and the ends of the suture thread are passed through a piece of vinyl tubing to form a snare. The coronary artery is transiently occluded by tightening and fixing the snare. Myocardial ischemia can be confirmed visually by regional cyanosis of the exposed heart, hypokinetic movement of the heart muscle, or by ST segment elevation/depression or T wave inversion on the electrocardiogram. The snare is released after 30 minutes and reperfusion is visually confirmed by hyperemia over the previously cyanotic area of the heart muscle, and by hemodynamic improvement in blood pressure. Following 90 minutes of reperfusion, the snare is again tightened and approximately 1 ml of Evan's blue dye is injected as a bolus vial the jugular vein catheter. The animals are sacrificed immediately, the hearts are removed, frozen, and cut from apex to base into 6-8 transverse 2 mm-thick slabs. The area at risk is determined by the absence of Evan's blue staining. The slices are then incubated in

WO 02/059080

PCT/US02/02538

1% TTC solution for visualization of viable tissue. The infarct volume and area at risk are quantitated using a commercially available image analysis system. Administration of compounds of this invention leads to a significant dose-dependent reduction in infarct volume as compared to animals treated with vehicle alone.

5

- Example 22 -

In Vivo Reinnervation of the Denervated Striatum by Nigrostriatal

Dopaminergic Fibers: The MPTP-lesioned mouse model of Parkinson's disease was utilized to demonstrate *in vivo* efficacy of the compounds of this invention. MPTP (N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) is a systemically available neurotoxin specific to nigrostriatal dopaminergic neurons, i.e. to the cells that degenerate in human Parkinson's disease. Administration of MPTP to mice leads to a selective partial destruction of the mesotelencephalic dopaminergic projection, and to a loss of dopamine and dopaminergic fibres in the corpus striatum, which is the main forebrain target of midbrain dopaminergic neurons.

Young adult male CD1 albino mice (Harlan - Sprague Dawley; 22-25g) were dosed i.p. with the dopamine cell-specific neurotoxin N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP hydrochloride, calculated as 34 mg/kg free base), dissolved in saline at a concentration of 3.4 mg/ml free base once daily on days one to five.

Experimental compounds were administered once daily on days 1-5 (10 mg/kg in Intralipid vehicle, s.c.), one hour prior to MPTP-administration.

On day seven, animals were perfused transcardially with 10% neutral buffered formalin. Sagittal sections of striatal tissue were cut at 20 μ m thickness on a freezing microtome and processed for free-floating tyrosine hydroxylase immunocytochemistry using a polyclonal TH antibody (Pel Freeze, 1:2500 under refrigeration for 4 nights), further processed using the avidin:biotin peroxidase method (Vector Elite kit), and visualized with Diamino benzidine (DAB-HCl, Polysciences).

Blinded analysis of TH fiber density in the central striatum was performed at 630X magnification. For each mouse striatum, five representative 100 μ m x 100 μ m

WO 02/059080

PCT/US02/02538

fields in the central striatum were photographed using a digital video camera. The percentage of sample field covered by TH positive processes and terminals was calculated using an image analysis program ("Simple," Compix Inc., Pittsburgh, PA). The mean striatal innervation density was calculated for each group. The magnitude of striatal deafferentation due to the MPTP lesion was assessed by dividing the observed striatal innervation values obtained in MPTP/vehicle treated cases by the mean striatal innervation density in the Vehicle/Vehicle group and expressed as %loss. The relative efficacy of the compounds of this invention was expressed as % protection of striatal innervation density, i.e., the degree to which the density of TH positive fibres in the striatum of lesioned/compound-treated animals exceeded the loss observed in lesioned-alone animals.

Experimental animals treated with Exemplary Compound 42 of this invention according to the above protocol displayed a 44.1 % protection of striatal tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibres. Treatment with Exemplary Compound 44 resulted in a 25.1 % protection of striatal tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibres relative to control animals.

In order to assess the capacity of the compounds of this invention to induce regeneration of MPTP-lesioned nigrostriatal dopaminergic fibers, mice were treated with MPTP once daily on days 1-5, and Exemplary Compound 42 was administered once daily on days 8-12. Mice were perfused on day 18 and brain tissue was processed and analyzed as described above. The density of TH positive fibres in the striatum of lesioned/compound-treated animals exceeded the loss observed in lesioned-only animals by 88%.

Administration of other compounds of this invention is expected to lead to a significant protection of striatal dopaminergic innervation density from neurotoxin-induced lesion.

- Example 23 -

In Vivo Hair Generation: Experimental methods useful in assessing the ability of the present compounds to protect from cancer chemotherapy-induced alopecia are themselves established in the art. [See, e.g., Maurer, *et al. Am. J. Pathol.* 150(4):1433-

WO 02/059080

PCT/US02/02538

41 (1997)]. In addition, a useful experimental model for assessing the ability of compounds to induce hair growth in bald human scalp from subjects with male pattern baldness has been reported. [Sintov, *et al.*, *Int. J. Pharm.* 194:125-134 (2000)]. Simple procedures for the assessment of hair revitalizing properties of experimental compounds have been disclosed previously by the inventors. See, e.g., U.S. Patent 6,194,440 B1. These and other publications referenced herein can be relied upon to assess the hair growth-promoting and hair loss-retarding properties of compounds of Formula I. The following procedure illustrates:

Mice of the C57Bl/6 strain, aged 7-8 weeks, are housed individually. Under light ether anaesthesia, an area of about 2 cm by 2 cm of the lower back/hindquarter region is shaved to remove all existing hair. Care is taken to avoid scrapes, cuts or abrasions of the skin. A pinkish color of the skin confirms that all animals are in the telogen phase of the hair growth cycle. Groups of 10 animals are treated topically with 20% propylene glycol vehicle, or with compounds of the invention at concentrations ranging from 0.1 μ M to 100 μ M per milliliter vehicle. Compounds are topically administered three times per week, and hair growth is assessed weekly by a blinded observer on a scale of 0 (no growth) to 5 (complete hair growth over shaved area). The compounds of the invention induce the growth of hair in a dose-dependent manner, and significantly shorten the time elapsed until the shaved area is covered by hair as compared to the shaved area of vehicle-treated animals.

As noted above, the specific examples recited above should not be interpreted as a limitation to the scope of the invention. Instead, they are merely exemplary embodiments one skilled in the art would understand from the entire disclosure of this invention. The invention being thus described, it will be obvious that the same may be varied in many ways. Such variations are not to be regarded as a departure from the spirit and scope of the invention and all such modifications are included to be within the scope of the following claims.

30

REFERENCES CITED

Each of the references cited below or in the text above can be relied on to make and use any aspect of this invention. While particular uses and references are discussed above, this should not be taken as a limitation on the use of any particular reference. All the references are specifically included into this text by reference, in their entirety.

- Apfel, *et al.*, *Brain Res.* 634: 7-12 (1994);
- 10 Ausubel, *et al.*, eds., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y., (and supplements through December 2000);
- Bell, *et al.*, *Biochem. Pharmacol.* 48:495-503 (1994);
- Berriman and Fairlamb, *Biochem. J.* 334:437-445 (1998);
- Broekmeier, *et al.*, *J. Biol. Chem.* 264: 7826-7830 (1989);
- 15 Coligan, *et al.*, eds., *Current Protocols in Immunology*, John Wiley and Sons, N.Y., (and supplements through December 2000);
- Enna, *et al.*, eds., *Current Protocols in Pharmacology*, John Wiley & Sons, N.Y., (and supplements through December 2000);
- Fingl, *et al.*, in *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Ch. 1, (1975);
- 20 Fischer, *et al.*, *Biomed. Biochem. Acta* 43: 1101-1112 (1984);
- Friedman *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90:6815-6819 (1993);
- Gash, *et al.*, *Nature* 380: 252-255 (1996);
- Gerlach, *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.-Mol. Pharmacol.* 208: 273-286 (1991);
- Gold, *et al.*, *Exp. Neurol.* 147: 269-278 (1997);
- 25 Gold, *Mol. Neurobiol.* 15: 285-306 (1997);
- Griffiths and Halestrap, *J. Mol. Cell Cardiol.* 25: 1461-1469 (1993);
- Hamilton and Steiner, *J. Med. Chem.* 41: 5119-5143 (1998);
- Hamilton, *et al.*, *Bioorgan. Med.Chem.Lett.* 7: 1785-1790 (1997);
- Handschumacher, *et al.*, *Science* 226:544 (1984);
- 30 Harding, *et al.*, *Nature*, 341:758-760 (1989);
- Harrison, *et al.*, *Biochem.* 29: 3813-3816 (1990);

WO 02/059080

PCT/US02/02538

- Hoffer, *et al.*, *J. Neural Transm. [Suppl.]* 49: 1-10 (1997);
Holt, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Letters*, 4: 315-320 (1994);
Hsu, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 112: 6745-6747 (1990);
Iwabuchi, *et al.*, *J. Dermatol. Sci.* 9: 64-69 (1995);
5 Jiang, *et al.*, *J. Invest. Dermatol.*, 104 523-525 (1995);
Justice, *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 171: 445-450 (1990);
Khattab, *et al.*, *Exp. Parasitol.* 90:103-109 (1998);
Kofron, *et al.*, *Biochem.* 30: 6127-6134 (1991);
Kofron, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 114: 2670-2675 (1992);
10 Kukreja, *et al.*, *Mol. Cell. Biochem.*, 195: 123-131 (1999);
Küllertz, *et al.*, *Clin. Chem.* 44: 502-508 (1998);
Lang, *et al.*, *Nature* 329: 268-270 (1987);
Leducq, *et al.*, *Biochem. J.* 336: 501-506 (1998);
Lemasters, *et al.*, *Mol. Cell. Biochem.* 174: 159-165 (1997);
15 Li, *et al.*, *J. Med. Chem.* 43: 1770-9 (2000);
Lu, *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.* 408: 233-239 (2000);
Lyons, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91:3191-3195 (1994);
Marchetti, *et al.*, *J. Exp. Med.* 184: 1155-1160 (1996);
Matsumoto, *et al.*, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 19: 736-41 (1999);
20 Maurer, *et al.*, *Am. J. Pathol.* 150(4):1433-41 (1997);
McLauchlan, *et al.*, *Parasitology* 121:661-70 (2000);
McMahon, *et al.*, *Curr. Opin. Neurobiol.* 5: 616-624 (1995);
Mucke, *et al.*, *Biochem.* 31: 7848-7854 (1992);
Palacios, *J. Immunol.* 128:337 (1982);
25 Paus, *et al.*, *Am. J. Pathol.* 144: 719-34 (1994);
Perkins, *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 843-848 (1998)
Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition (1990);
Schonbrunner, *et al.*, *J. Biol. Chem.* 266: 3630-3635 (1991);
30 Sintov, *et al.*, *Int. J. Pharm.* 194:125-134 (2000);
Snyder, *Nat. Med.* 1:32-37 (1995);
Steiner, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94: 2019-2024 (1997);

WO 02/059080

PCT/US02/02538

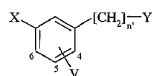
- Streblow, *et al.*, *Virology* 245: 197-202 (1998);
Wang, *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 282: 1084-1093 (1997);
Yamamoto, *et al.*, *J. Invest. Dermatol.* 102 (1994) 160-164;
Yoo, *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 269: 780-795 (1997);
5 Zahner and Schultheiss, *J. Helminthol.* 61:282-90 (1987);
Zamzami, *et al.*, *FEBS Lett.* 384: 53-57 (1996).

WO 02/059080

PCT/US02/02538

We claim:

1. A compound of the following Formula I:



Formula I

and pharmaceutically acceptable derivatives thereof;

where V is attached at position 4, 5, or 6, and is selected from the group consisting of C₁-C₄ alkyloxy, C₁-C₄ alkyl, C₂-C₄ alkenyloxy which is optionally substituted with Q, C₁-C₄ alkoxycarbonyl, C₁-C₆ alkylcarbamoyl which is optionally substituted with amino or C₁-C₄ alkoxycarbonylamino; di-(C₁-C₄ alkyl)carbamoyl, C₁-C₄ alkanoyl, Q-substituted C₁-C₆ alkyl, alkenyl, or alkynyl, CO—W, and —(CH₂)_n—W;

wherein W is Q, —Z'—(CH₂)_m—Q, —N=CH—(CH₂)_n—Q,

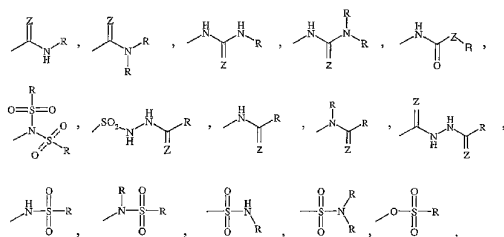
COOCH₃, COCH₃, hydroxyl, mercaptyl, amino, nitro, halo, carboxy, trifluoromethyl, or C₆ alkylamino substituted with amino or C₁-C₄ alkoxycarbonylamino;

n and m are independently 0-4;

n' is 0-3;

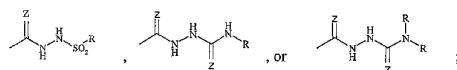
Z' is O, S, NH, or NR;

where X and Y are the same or different, and may independently be:

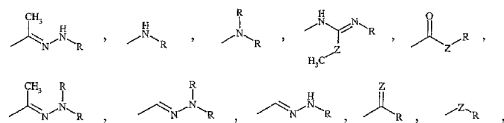


WO 02/059080

PCT/US02/02538



and where Y may further be: Q,



or C₁-C₆ straight or branched chain alkyl, alkenyl, or alkynyl which is substituted at one or several positions with Q, and which further is optionally substituted at one or several positions by hydroxyl,

mercaptyl, or carbonyl oxygen;

wherein Z is O or S;

and wherein R may independently be:

Q,

or C₁-C₆ straight or branched chain lower alkyl, alkenyl or alkynyl which is substituted at one or several positions with Q,

and which further is optionally substituted in one or several

positions by hydroxyl, mercaptyl, or carbonyl oxygen, and

wherein one or more of the carbon atoms are optionally

replaced with O, N, NH, S, SO, or SO₂;

and wherein Q is a mono-, bi-, or tricyclic, carbo- or heterocyclic ring which is saturated, partially saturated, or aromatic, and wherein the individual ring sizes are 5-

6 members, and wherein each heterocyclic ring, if

present, contains 1-4 heteroatoms independently

selected from the group consisting of O, N, and S in any chemically stable order and oxidation state,

and wherein Q is optionally substituted in one or several positions with:

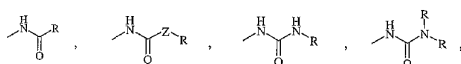
WO 02/059080

PCT/US02/02538

halo; hydroxyl; mercaptyl; nitro; trifluoromethyl;
 aminocarbonyl; arylaminocarbonyl in which the aryl is
 optionally halogenated and optionally substituted with
 trifluoromethyl or cyano; C₁-C₄ alkylsulfonyl; C₁-C₄
 alkylthio; oxo; cyano; carboxy; C₁ - C₆ alkyl or
 alkenyl; C₁ - C₄ alkoxy; C₁-C₃ alkoxycarbonyl; C₁ - C₄
 alkenyloxy; phenoxy; phenyl; cyanophenyl; benzyloxy;
 benzyl; amino; C₁-C₄ alkylamino; di-(C₁-C₄)
 alkylamino; C₁-C₄ alkylcarbamoyl; di(C₁-
 C₄)alkylcarbamoyl;
 or a combination thereof;

provided that:

when X and Y are



or a combination thereof, and

n' is 0, and
 n is 0, and

V is halo, hydroxyl, nitro, trifluoromethyl, C₁-C₄ alkoxy or -
 alkenyloxy, phenoxy, benzyloxy, amino, or Q,

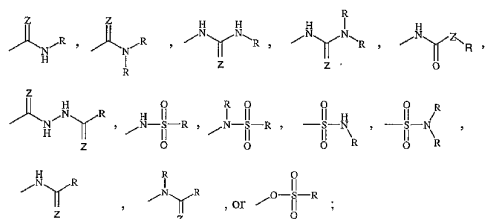
then R is not Q, or C₁-C₃ branched or straight chain alkyl
 substituted with Q.

2. A compound according to claim 1,
 wherein V is selected from the group consisting of C₁-C₄ alkyloxy, C₂-C₄
 alkenyloxy which is optionally substituted with Q, C₁-C₄ alkoxycarbonyl, C₁-
 C₆ alkylcarbamoyl which is optionally substituted with amino or C₁-C₄
 alkoxycarbonylamino; di-(C₁-C₄ alkyl)carbamoyl, C₁-C₄ alkanoyl, Q-
 substituted C₁-C₆ straight or branched chain alkyl, alkenyl, or alkynyl,
 —CO—W, and —(CH₂)_n—W;

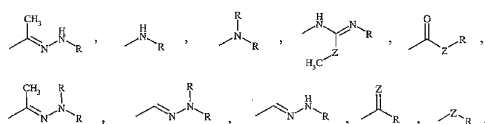
WO 02/059080

PCT/US02/02538

X and Y are independently:



and where Y may further be: Q,



or C₁-C₆ straight or branched chain alkyl, alkenyl, or alkynyl which is substituted at one or several positions with Q, and which further is optionally substituted at one or several positions by hydroxyl, mercaptyl, or carbonyl oxygen;

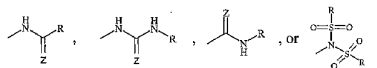
and wherein Q is a mono-, bi-, or tricyclic, carbo- or heterocyclic ring, which is saturated, partially saturated, or aromatic, and wherein the individual ring sizes are 5-6 members, and wherein each heterocyclic ring, if present, contains 1-6 heteroatoms independently selected from the group consisting of O, N, or S in any chemically stable order and oxidation state, and wherein Q is optionally substituted in one or several positions with: halo; hydroxyl; mercaptyl; nitro; trifluoromethyl; acetyl; aminocarbonyl; arylaminocarbonyl which is optionally halogenated and optionally substituted with trifluoromethyl or cyano; methylsulfonyl; methylthio; oxo; cyano; carboxy; C₁-C₆ straight or branched chain alkyl or alkenyl; C₁-C₄ alkoxy; C₁-C₄ alkenyloxy; phenoxy; phenyl; cyanophenyl; benzyloxy; benzyl; amino; C₁-C₄

WO 02/059080

PCT/US02/02538

alkylamino; di-(C₁-C₄) alkylamino; or a combination thereof.

3. A compound according to claim 1, wherein V is $-(CH_2)_n-W$, n is 0, and W is halo.
4. A compound according to claim 1, wherein V is attached at position 5.
5. The compound of claim 4, wherein V is $-(CH_2)_n-W$; and W is $-Z'-(CH_2)_m-Q$.
6. The compound of claim 5, wherein n is 1, m is 0, and Z' is O.
7. The compound of claim 5, wherein n is 0, m is 1, and Z' is O.
8. The compound of claim 5, wherein n and m are 0, and Z' is NH.
9. The compound of claim 4, wherein V is Q-substituted C₁-C₆ straight or branched chain alkyl, or Q-substituted C₂-C₆ straight or branched chain alkenyl.
10. A compound according to claim 1, wherein n' is 0, and X and Y are independently



11. The compound of claim 10, wherein each R is independently Q, or Q-substituted C₁-C₆ alkyl.
12. The compound of claim 11, wherein V is attached at position 5.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

13. The compound of claim 12, wherein V is $-(CH_2)_n-W$;
and W is $-Z'-(CH_2)_m-Q$.
14. The compound of claim 13, wherein n is 1, m is 0, and Z' is O.
15. The compound of claim 13, wherein n is 0, m is 1, and Z' is O.
16. The compound of claim 13, wherein n and m are 0, and Z' is NH.
17. The compound of claim 12, wherein V is Q-substituted C_1-C_6 straight or branched chain alkyl, or Q-substituted C_2-C_6 straight or branched chain alkenyl.
18. A compound according to claim 1, wherein the compound is selected from the group consisting of
Compound 1: 3-{3,5-Bis-[3-(3,5-dichlorophenyl)-ureido]-phenyl}propionic acid methyl ester;
Compound 2: 5-Hydroxy-N,N'-bis-(3-trifluoromethyl-phenyl)-isophthalamide;
Compound 3: 5-Naphthalen-1-yl-N,N'-bis-(3-trifluoromethyl-phenyl)isophthalamide;
Compound 4: {6-[3-[3-(3,5-Dichloro-phenyl)-ureido]-5-(3-trifluoromethyl-phenyl)carbonyl]-benzoylamino}hexyl}carbamic acid tert-butyl ester;
Compound 5: 3-{3,5-Bis-[3-(3,5-dichlorophenyl)ureido]-phenyl} methyl ester;
Compound 6: 1,3-(3,5-Dichlorophenyl)-N-[5-(3,4-dichlorophenoxy methyl)phenyl]amide;
Compound 7: 1,3-(1-Naphthalene)-N-[5-(3,4-dichloro-phenoxy)methyl)-phenyl]-sulfonamide;
Compound 8: 3,5-Di(benzyloxy)-3'-(trifluoromethyl)benzanilid;
Compound 9: N-(5-[[2-aza-2-(3,5-dichlorophenyl)-1-methylthiovinyl] amino]-3-[[3-(trifluoromethyl)phenyl]amino]phenyl)(3,5-dichlorophenyl) formamide;
Compound 10: (3,5-dichlorophenyl)-N-[5-[[3-(3,5-dichlorophenyl)amino]

thioxomethyl]amino)-3-([3-(trifluoromethyl)phenyl]amino)phenyl]
formamide;

Compound 11: [(3,5-dichlorophenyl)amino]{[3-([3-(3,5-dichlorophenyl)
amino]thioxomethylamino)-5-[(4-bromophenyl)amino]phenyl]
amino}methane-1-thione;

Compound 12: N-(5-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl]-3-([3-
(trifluoromethyl)phenyl] carbonylamino)phenyl)[3-(trifluoromethyl)
phenyl]formamide;

Compound 13: [(3,5-dichlorophenyl)amino]{[3-([3-(3,5-dichlorophenyl)
amino]thioxomethyl] amino)-5-(2-pyridylamino)phenyl]amino}methane-1-
thione;

Compound 14: N-(5-([(naphthylmethyl)amino]methyl)-3-([3-
(trifluoromethyl)phenyl]carbonyl-amino)phenyl)[3-(trifluoromethyl)
phenyl]formamide;

Compound 15: 1-Benzoyl-2-[3-([3-(trifluoromethyl)phenyl]carbonylamino-5-
hydroxy)benzoylhydrazine];

Compound 16: (3-(2-(4-pyridyl)vinyl)-5-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]
carbamoyl] phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide).

Compound 16: (3-(2-(4-pyridyl)vinyl)-5-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]
carbamoyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;

Compound 17: (5-(2-naphthylloxy)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]
carbamoyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;

Compound 17: (5-(2-naphthylloxy)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]
carbamoyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;

Compound 18: (5-(2-naphthyl)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]
carbamoyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;

Compound 18: (5-(2-naphthyl)-3-[N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]
carbamoyl]phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;

Compound 19: 1-[(3,4-dichlorophenyl)oxymethyl]-3,5-bis-[(2-(3,4-
dichlorophenyl)ethyl] aminocarbonyl]benzene;

Compound 20: 1-[(3,4-dichlorophenyl)oxymethyl]-3,5-bis-[(3,5-
dichlorophenyl)aminocarbonyl] benzene;

WO 02/059080

PCT/US02/02538

Compound 21: 1-[4-(2-cyanophenyl)benzyl]oxy-3,5-bis[(3,4-dichlorophenyl)ethyl] aminocarbonyl benzene;
Compound 22: 1-[4-(2-cyanophenyl)benzyl]oxy-3,5-bis[(3-cyanophenyl)aminocarbonyl] benzene;
Compound 23: (5-(2-(2-5,6,7,8-tetrahydronaphthyl)ethyl)-3-{N-[3-(trifluoromethyl)phenyl] carbamoyl} phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;
Compound 23: (5-(2-(2-5,6,7,8-tetrahydronaphthyl)ethyl)-3-{N-[3-(trifluoromethyl)phenyl] carbamoyl} phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;
Compound 24: (5-(2-(2-naphthyl)ethyl)-3-{N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl} phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;
Compound 24: (5-(2-(2-naphthyl)ethyl)-3-{N-[3-(trifluoromethyl)phenyl] carbamoyl} phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;
Compound 25: (5-(2-(2-naphthyl)vinyl)-3-{N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl} phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;
Compound 25: (5-(2-(2-naphthyl)vinyl)-3-{N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoyl} phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]formamide;
Compound 26: (3-bromo-5-{N-[3-(trifluoromethyl)phenyl] carbamoyl} phenyl)-N-[3-(trifluoromethyl) phenyl]formamide;
Compound 27: 2-{[3,5-bis({[(3,5-dichlorophenyl)amino] thioxomethyl)amino)phenyl]methyl} iso-indoline-1,3-dione;
Compound 28: 1-(3,5-Dichlorophenyl)-3-[3-(3,5-dichlorobenzoyloxy)-4-methoxyphenyl]urea;
Compound 29: N-(3-{bis[(3,5-dichlorophenyl)sulfonyl]amino}-4-bromophenyl)[(3,5-dichlorophenyl) amino]formamide;
Compound 30: Bis[(3,5-dichlorophenyl)sulfonyl](3-{bis[(3,5-dichlorophenyl)sulfonyl] amino}-4-bromophenyl)amine;
Compound 31: 2-{[3-amino-5-{[(3,5-dichlorophenyl)amino] thioxomethyl)amino)phenyl]methyl} isoindoline-1,3-dione;
Compound 32: 1-(3,4-dichlorobenzoyloxy)-3,5-bis-[(3,4,5-trichlorophenyl) aminocarbonyl] benzene;

Compound 33: [(3,5-Dichlorophenyl)amino] {[2-bromo-5-(naphthylmethoxy)phenyl]amino} methane-1-thione;
Compound 34: N-[2-bromo-5-(naphthylmethoxy)phenyl][3-(trifluoromethyl)phenyl] formamide;
Compound 35: [(3,5-dichlorophenyl)amino] {[5-({[(3,5-dichlorophenyl)amino]thioxomethylamino)-2-{{4-(dimethylamino)phenyl} amino} phenyl]amino} methane-1-thione;
Compound 36: [(3,5-dichlorophenyl)amino] {[3-({[(3,5-dichlorophenyl)amino] thioxo- methyl) amino)-4-{{4-chlorophenyl}amino} phenyl] amino} methane-1-thione;
Compound 37: 3-{{[(3-Trifluoromethyl-4-chlorophenyl)aminocarbonyl] benzyloxy}-1,5-bis-[(3-trifluoromethyl-4-chlorophenyl)aminocarbonyl] benzene;
Compound 38: 3-{{[(3,4-dichlorophenyl)aminocarbonyl]benzyloxy}-1,5-bis-[(3,4-dichloro- phenyl)aminocarbonyl]benzene;
Compound 39: [(3,5-dichlorophenyl)amino] {[3-({[(3,5-dichlorophenyl)amino]thioxo-methyl) amino)-4-(3,5-dimethylpyrazolyl)phenyl] amino} methane-1-thione;
Compound 40: [(3,5-dichlorophenyl)amino] {[3-({[(3,5-dichlorophenyl)amino]thioxomethyl) amino)-4-{{4-phenoxyphenyl} amino}phenyl] amino} methane-1-thione;
Compound 41: {2-bromo-5-[N-(3-nitrophenyl)carbonyl]phenyl}-N-(3-nitrophenyl) formamide;
Compound 42: 1,3-Bis[(3-trifluoromethylphenyl)aminocarbonyl]-5-[(2-naphthyl) methoxy] benzene;
Compound 43: 1,3-Bis-[3,4-dichlorophenyl)aminocarbonyl]-5-(benzyloxy)benzene;
Compound 44: [(3,5-dichlorophenyl)amino] {[5-({[(3,5-dichlorophenyl)amino] thioxomethylamino)-2-piperidylphenyl]amino} methane-1-thione;
Compound 45: 1-[3-(3,5-Dichlorophenoxy)methyl-4-methoxyphenyl]-3-(3,5-dichlorophenyl) thiourea;
Compound 46: 1-[3-(3,5-Dichlorophenoxy)methyl-4-methoxyphenyl]-3-

WO 02/059080

PCT/US02/02538

benzoylthiourea;

Compound 47: N-[4-methoxy-3-(naphthylmethoxy)phenyl]
naphthylformamide;Compound 48: N-[4-methoxy-3-(naphthylmethoxy)phenyl]-2-
naphthylethanamide;Compound 49: N-[4-methoxy-3-(naphthylmethoxy)phenyl]-2,2-
diphenylethanamide;Compound 50: [4-Methoxy-3-(2-naphthylethoxy)phenyl]
(naphthylsulfonyl)amine;Compound 51: (3,5-Dichlorophenyl)-N-[4-chloro-3-(phenylcarbonyl)
phenyl]formamide;Compound 52: (3,5-Dichlorophenyl)-N-(5-[[[(diphenylmethyl)amino]
sulfonyl]-2-chlorophenyl] formamide; andCompound 53: 1-{3-[(5-Phenyl)valeroylamino]-5-bromobenzoyl}-4-(3,4-
dichlorophenyl) thiosemicarbazide.

19. A pharmaceutical composition, comprising:
 - (i) a compound of Formula I as defined in claim 1, and
 - (ii) a pharmaceutically acceptable carrier, diluent, or excipient.
20. The pharmaceutical composition of claim 19, further comprising an additional agent selected from the group consisting of hair growth-promoting agents, hair loss-retarding agents, antibiotic agents, antidandruff agents, anti-inflammatory agents, pediculicides, antipruriginous agents, anaesthetic agents, keratolytic agents, antiseborrheic agents, antiacne agents, and hair dyes.
21. A method of using a compound to bind a cyclophilin-type immunophilin protein, comprising: contacting the compound with a cyclophilin-type immunophilin, wherein the compound is of Formula I as defined in claim 1.
22. The method of claim 21, wherein contacting the compound with a cyclophilin-type immunophilin occurs *in vitro*.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

23. The method of claim 21, wherein contacting the compound with a cyclophilin-type immunophilin occurs *in vivo*.
24. The method of claim 23, wherein contacting the compound with a cyclophilin-type immunophilin occurs after administration to an animal.
25. The method of claim 22, wherein contacting the compound with a cyclophilin-type immunophilin occurs within a cell.
26. The method of claim 22, wherein contacting the compound with a cyclophilin-type immunophilin occurs in a cell-free preparation.
27. A complex of a compound of Formula I of claim 1, and a cyclophilin-type immunophilin.
28. The complex of claim 27, wherein the cyclophilin-type immunophilin is human.
29. A method of using a compound of Formula I of claim 1, comprising:
administering a pharmaceutically effective amount of the compound to an animal.
30. The method of claim 29, wherein the animal is diagnosed with, is predisposed to, or is suspected of having a neurological disorder.
31. A method of treating a neurological disorder in a patient, comprising
administering to said patient a therapeutically effective amount of a compound of Formula I of claim 1, or of a pharmaceutically acceptable derivative thereof, wherein the neurological disorder is a neurodegenerative disorder; neuropathic disorder; neurovascular disorder; traumatic injury of the brain,

WO 02/059080

PCT/US02/02538

spinal cord, or peripheral nervous system; demyelinating disease of the central or peripheral nervous system; metabolic or hereditary metabolic disorder of the central or peripheral nervous system; or toxin-induced- or nutritionally related disorder of the central or peripheral nervous system.

32. The method of claim 31, wherein the neurodegenerative disorder is Parkinson's disease, Alzheimer's disease, amyotrophic lateral sclerosis (ALS), Huntington's disease, cerebellar ataxia, or multisystem atrophy.
33. The method of claim 31, wherein the demyelinating disease is multiple sclerosis, Guillain-Barré syndrome, or chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy.
34. The method of claim 31, wherein the neurovascular disorder is global cerebral ischemia, spinal cord ischemia, ischemic stroke, cardiogenic cerebral embolism, hemorrhagic stroke, lacunar infarction, or a multiple infarct syndrome.
35. The method of claim 31, wherein the traumatic injury of the central or peripheral nervous system is concussion injury; contusion injury; diffuse axonal injury; edema; hematoma associated with craniocerebral or spinal trauma; axonal or nerve sheath damage associated with laceration, compression, stretch, or avulsion of peripheral nerves or plexi; or neural tissue damage caused during surgery.
36. The method of claim 35 wherein the surgery is prostate surgery, and the neural tissue damage is to the major pelvic ganglion or to the cavernous nerve.
37. The method of claim 31, wherein the neuropathic disorder is diabetic neuropathy, uremic neuropathy, neuropathy related to drug therapy, or neuropathy associated with viral infection.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

38. The method of claim 31, wherein the metabolic disorder is status epilepticus, hypoglycemic coma, or Wilson's disease.
39. A method of preventing a neurological disorder, comprising administering to an animal a pharmaceutically effective amount of a compound of Formula I of claim 1, or of a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
40. A method of stimulating hair growth, preventing hair loss, or retarding hair loss in a mammal, comprising administering to said mammal an effective amount of a compound of Formula I of claim 1, or of a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
41. The method of claim 40, wherein said mammal is undergoing therapy with a cancer chemotherapeutic agent.
42. The method of claim 41, wherein said cancer chemotherapeutic agent is cisplatin, carboplatin, cyclophosphamide, dactinomycin, etoposide, hexamethelamine, ifosfamide, taxol, vincristine, bleomycin, or 5-fluorouracil.
43. The method of claim 40, wherein said mammal is undergoing radiation therapy.
44. The method of claim 40, wherein said mammal is suffering from alopecia areata, androgenetic alopecia/male pattern baldness, anagen effluvium, trichotillomania, traction alopecia, or telogen effluvium.
45. The method of claim 40, wherein said mammal is undergoing therapy with methotrexate, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, or beta blockers.
46. A method of blocking the permeability transition pore in mitochondria, comprising: contacting said mitochondria with a compound of Formula I of

WO 02/059080

PCT/US02/02538

claim 1, or with a pharmaceutically acceptable derivative thereof.

47. A method of inhibiting breakdown of mitochondrial metabolism in cells which undergo oxidative stress, comprising: contacting said cells with a compound of Formula I of claim 1, or with a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
48. A method of preventing or delaying cell death in a cell subjected to calcium overload, comprising: contacting said cell with a compound of Formula I of claim 1, or with a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
49. A method of preventing, mitigating, or delaying excitotoxic or hypoglycemic injury to cells, tissues, or organs, comprising: contacting said cells, tissues, or organs with a compound of Formula I of claim 1, or with a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
50. A method of inhibiting breakdown of energy metabolism and cell death of mammalian cells following physiological induction of programmed cell death, comprising: contacting said cells with a compound of Formula I of claim 1, or with a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
51. A method of preventing or delaying death of cultured cells in large scale or commercial scale cell culture, comprising: contacting said cells with a compound of Formula I of claim 1, or with a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
52. A method of treating or preventing ischemic injury or ischemia/reperfusion injury in a mammal, comprising administering to said mammal an effective amount of a compound of Formula I of claim 1, or of a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
53. The method of claim 52, wherein said ischemic injury or ischemia/reperfusion

WO 02/059080

PCT/US02/02538

injury is mesenteric infarction, bowel ischemia, hepatic infarction, renal infarction, splenic infarction, or ischemic heart disease.

54. The method of claim 53, wherein said ischemic heart disease is congestive heart failure, myocardial ischemia, or coronary heart disease.
55. A method of treating an ophthalmic disorder in a mammal, comprising administering to said mammal a therapeutically effective amount of a compound of Formula I of claim 1, or of a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
56. The method of claim 55, wherein said ophthalmic disorder is glaucoma, ischemic retinopathy, vascular retinopathy, or degeneration of the photoreceptor cell layer.
57. A method of treating Reye's syndrome in a patient, comprising administering to said patient a therapeutically effective amount of a compound of Formula I of claim 1, or of a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
58. A method of preventing or reducing tissue damage of organs used in organ transplantation surgery, comprising contacting said organs with a compound of Formula I of claim 1, or with a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
59. A method of treating an infection or infestation with pathogenic protozoan or helminthic parasites, comprising contacting said parasites with a compound of Formula I of claim 1.
60. A method of treating an infection with pathogenic protozoan or helminthic parasites in an animal, comprising administering to said animal a therapeutically effective amount of a compound of Formula I of claim 1, or with a pharmaceutically acceptable derivative thereof.

WO 02/059080

PCT/US02/02538

61. The method of claim 60, wherein said infection is malaria, river blindness, lymphatic filariasis, intestinal roundworm infection, tapeworm infection, pinworm infection, toxoplasmosis, leishmaniasis, trypanosomiasis, or bilharzia.
62. A method for treating a viral infection in a mammal, comprising:
administering to said mammal a therapeutically effective amount of a compound of Formula I of claim 1, or of a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
63. The method of claim 62, wherein said viral infection is an infection with a human immunodeficiency virus.

【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
1 August 2002 (01.08.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/059080 A3(51) International Patent Classification: C07C 275/42,
235/56, A61K 31/166, 31/17, 31/18, 31/435, A61P 25/00,
17/00, 33/00, 31/00, 27/00, 9/00, C07C 233/66, 235/42,
31/21(74) Agents: SAUER, Hansjorg et al.; Guilford Pharmaceu-
ticals Inc., 6611 Tributary Street, Baltimore, MD 21224
(US).

(21) International Application Number: PCT/US0202538

(81) Designated States (national): AF, AG, AI, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI,
GM, 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, MY, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG,
SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) International Filing Date: 25 January 2002 (25.01.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 25 January 2001 (25.01.2001) US
60/263,703 21 May 2001 (21.05.2001) US
60/291,965(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR,
GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent
(BF, BJ, CI, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,
NE, SN, TD, TG).(71) Applicant (for all designated States except US): GUIL-
FORD PHARMACEUTICALS INC. [US/US]; 6611
Tributary Street, Baltimore, MD 21224 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): WU, Yong-Qian
[US/US]; 6510 Barley Corn Row, Columbia, MD 21044
(US). BELYAKOV, Sergei [UA/US]; 9500 Midaro Court,
Baltimore, MD 21236 (US). HAMILTON, Gregory
[US/US]; 6501 Frederick Road, Catonsville, MD 21228
(US). LIMBURG, David [US/US]; 3619 Double Rock
Lane, Baltimore, MD 21234 (US). STEINER, Joseph
[US/US]; 3179 Jupiter Island Court, Mt. Airy, MD
21771 (US). VAAL, Mark [US/US]; 6 Hintlock Court,
Baltimore, MD 21128 (US). WEI, Ling [CA/US]; 1312
Burleigh Court, Lutherville, MD 21093 (US). WILKIN-
SON, Douglas [US/US]; 2051 Harman Avenue, Baltimore,
MD 21230 (US).

Published:

— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments(88) Date of publication of the international search report:
19 December 2002For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/059080 A3

(54) Title: TRISUBSTITUTED CARBOCYCLIC CYCLOPHILIN BINDING COMPOUNDS AND THEIR USE

(57) Abstract: The present invention relates to novel, non-peptidic small organic compounds having an affinity for cyclophilin (CyP)-type immunophilin proteins, and to pharmaceutical compositions comprising one or more of the said compounds. The invention further relates to the uses of these compounds and compositions for binding CyP-type proteins, inhibiting their peptidyl-prolyl isomerase activity, and for research, development, and therapeutic applications in a variety of medical disorders.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 02/02538	
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07C275/42 C07C235/56 A61K31/166 A61K31/17 A61K31/18 A61K31/435 A61P25/00 A61P17/00 A61P33/00 A61P31/00 A61P27/00 A61P9/00 C07C233/66 C07C235/42 C07C311/21 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 C07C C07D 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) BEILSTEIN Data, EPO-Internal, PAJ, WPI Data, CHEM ABS Data			
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	
X	US 5 741 819 A (ILLIG CARL R ET AL) 21 April 1998 (1998-04-21) column 3, line 56 -column 4, line 10 column 8, line 38 - line 41 examples	1-63	
P, X	WO 01 17953 A (GUILFORD PHARM INC) 15 March 2001 (2001-03-15) page 12, compounds 4,7 -/-	1-63	
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ 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 throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (see specification) *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 *Z* document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report	
16 October 2002		29/10/2002	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 6818 Patentamt 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2940, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer O'Sullivan, P	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1999)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT					In tional Application No PCT/US 02/02538
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
IPC 7	C07C335/32	C07C335/20	C07C243/38	C07C255/54	C07C335/18
	C07C311/48	C07C233/76	C07C233/75	C07D295/12	C07C233/29
	C07C337/06	C07D209/48	C07D213/74	C07D213/56	C07D231/12
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)					
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)					
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT					
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages				Relevant to claim No.
X	DATABASE CROSSFIRE BEILSTEIN 'Online! Beilstein Institut zur Förderung der Chemischen Wissenschaften, Frankfurt am Main, DE; Database accession no. 2769377 XP002216926 abstract & ISHIKAWA ET AL: KOGYO KAGAKU ZASSHI, vol. 71, 1968, pages 519-20, NIPPON KAGAKUKAI, TOKYO, JP ISSN: 0023-2734 --- -/-				1
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ 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 throw 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 ** 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. *Z* document member of the same patent family					
Date of the actual completion of the international search			Date of mailing of the international search report		
16 October 2002					
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 5618 Patentplan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3015			Authorized officer O'Sullivan, P		

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1999)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Inv. Application No. PCT/US 02/02538
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 CROSSFIRE BEILSTEIN 'Online! Beilstein Institut zur Förderung der Chemischen Wissenschaften, Frankfurt am Main, DE; Database accession no. 469096 XP002216927 abstract & HOPFF; KAEPELI: CHEMIA (BUENOS AIRES), vol. 19, 1965, pages 228-232, ----	1
X	DATABASE CROSSFIRE BEILSTEIN 'Online! Beilstein Institut zur Förderung der Chemischen Wissenschaften, Frankfurt am Main, DE; Database accession no. 7503934 XP002216928 abstract & KRAFT, ARNO: JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, CHEMICAL COMMUNICATIONS., no. 1, 1996, pages 77-80, CHEMICAL SOCIETY, LETCHWORTH., GB ISSN: 0022-4936 ----	1
X	DATABASE CROSSFIRE BEILSTEIN 'Online! Beilstein Institut zur Förderung der Chemischen Wissenschaften, Frankfurt am Main, DE; Database accession no. 2164585 XP002216929 abstract & TALLEC: ANNALES DE CHIMIE., vol. 3, no. 14, 1968, pages 347-357, Paris ----	1
X	DATABASE CROSSFIRE BEILSTEIN 'Online! Beilstein Institut zur Förderung der Chemischen Wissenschaften, Frankfurt am Main, DE; Database accession no. 2777922 XP002216930 abstract & ISHIKAWA ET AL: KOGYO KAGAKU ZASSHI, vol. 71, 1968, pages 519-520, NIPPON KAGAKUKAI, TOKYO, JP ISSN: 0023-2734 ----	1
X	DATABASE CROSSFIRE BEILSTEIN 'Online! Beilstein Institut zur Förderung der Chemischen Wissenschaften, Frankfurt am Main, DE; Database accession no. 2685041 XP002216931 abstract & ALEKSANDROW: ORG. POLUPROD. KRASITELI., vol. 1, 1959, pages 196-206, ----- -/-	1

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 02/02538
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 CROSSFIRE BEILSTEIN 'Online! Beilstein Institut zur Förderung der Chemischen Wissenschaften, Frankfurt am Main, DE; Database accession no. 2798758 XP002216932 abstract & ALEKSANDROW: ORG. POLUPROD. KRASITELI., vol. 1, 1959, pages 196-206, -----	1
X	CH 459 172 A (WANDER AG DR A) 15 July 1968 (1968-07-15) table 1 -----	1
X	US 2 593 563 A (HUFFMAN MAX N) 22 April 1952 (1952-04-22) example 11 -----	1
A	WO 98 37882 A (GUILFORD PHARM INC) 3 September 1998 (1998-09-03) page 1, line 5 - line 11 page 5, line 12 -page 9, line 25 -----	1-63
A	WO 99 62511 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO) 9 December 1999 (1999-12-09) page 4, line 20 -page 8, line 13 examples -----	1-63
A	US 6 054 452 A (BURAK ERIC S ET AL) 25 April 2000 (2000-04-25) column 2, line 57 -column 3, line 3 table 1 -----	1-63
A	US 3 876 797 A (BIEL JOHN HANS ET AL) 8 April 1975 (1975-04-08) column 1, line 36 -column 2, line 26 examples 7-9 -----	1-63

Form PCT/ISA210 (continuation of second sheet) (July 1992)

national application No.
PCT/US 02/02538

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

2. ☒ Claims Nos.: 21-26, 46, 47
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. ☐ Claims Nos.: _____ because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ 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. ☐ 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.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US 02 02538

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 21-26, 46, 47

The initial phase of the search revealed a very large number of documents relevant to the issue of novelty. So many documents were retrieved that it is impossible to determine which parts of the claim(s) may be said to define subject-matter for which protection might legitimately be sought (Article 6 PCT). For these reasons, a meaningful search over the whole breadth of the claim(s) is impossible. Consequently, the search has been restricted to the use of the compounds as therapeutic agents for the treatment of well-defined conditions as defined in the claims (ie modes of action, such as "blocking the permeability transition pore in mitochondria", claim 46, have not been searched). Claims 21-26, 46, and 47 have therefore not been searched. Many novelty destroying compounds for present claim 1 have been found - some representative examples have been cited in the Search Report. Disclaiming these compounds would serve no purpose as they only represent a small fraction of the prior art.

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 SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.
PCT/US 02/02538

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
US 5741819	A	21-04-1998	AU	722384 B2		03-08-2000
			AU	6273696 A		30-12-1996
			BR	9609216 A		27-07-1999
			CA	2223727 A1		19-12-1996
			CZ	9703813 A3		17-06-1998
			EP	0831800 A1		01-04-1998
			HU	9901086 A2		30-08-1999
			JP	11508242 T		21-07-1999
			NO	975740 A		26-01-1998
			NZ	311410 A		28-07-2000
			PL	323473 A1		30-03-1998
			WO	9640100 A1		19-12-1996
WO 0117953	A	15-03-2001	AU	7353300 A		10-04-2001
			EP	1214293 A1		19-06-2002
			WO	0117953 A1		15-03-2001
CH 459172	A	15-07-1968	NONE			
US 2593563	A	22-04-1952	NONE			
WO 9837882	A	03-09-1998	AU	6181698 A		18-09-1998
			EP	1001762 A1		24-05-2000
			JP	2001513772 T		04-09-2001
			WO	9837882 A1		03-09-1998
			US	6242468 B1		05-06-2001
			ZA	9800825 A		19-10-1998
WO 9962511	A	09-12-1999	AU	743199 B2		24-01-2002
			AU	4197599 A		20-12-1999
			CA	2333997 A1		09-12-1999
			EP	1087763 A1		04-04-2001
			JP	2002516857 T		11-06-2002
			WO	9962511 A1		09-12-1999
			US	6096762 A		01-08-2000
			US	6239146 B1		29-05-2001
US 6054452	A	25-04-2000	US	5846979 A		08-12-1998
			US	6251892 B1		26-06-2001
			US	2001036942 A1		01-11-2001
			AU	723374 B2		24-08-2000
			AU	6181598 A		18-09-1998
			CA	2229707 A1		28-08-1998
			CN	1249681 T		05-04-2000
			EP	0993299 A1		19-04-2000
			HU	0001461 A2		28-04-2001
			JP	10310581 A		24-11-1998
			TW	458976 B		11-10-2001
			WO	9837885 A1		03-09-1998
			ZA	9801474 A		08-06-1998
US 3876797	A	08-04-1975	AU	476015 B		09-09-1976
			AU	3648871 A		07-06-1973
			CA	961046 A1		14-01-1975
			CH	547782 A		11-04-1974
			CH	547780 A		11-04-1974
			DE	2160973 A1		22-06-1972
			FR	2117953 A5		28-07-1972

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.
PCT/US 02/02538

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 3876797	A	GB 1365702	04-09-1974
		JP 58050983	14-11-1983
		SE 374359	03-03-1975
		US 3801624	02-04-1974
		US 3864386	04-02-1975
		US 3869492	04-03-1975
		US 3876798	08-04-1975

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1999)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

F I

テーマコード (参考)

4H006

A 6 1 K 31/27
 A 6 1 K 31/275
 A 6 1 K 31/4035
 A 6 1 K 31/4152
 A 6 1 K 31/4409
 A 6 1 K 31/4453
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 P 1/16
 A 6 1 P 3/10
 A 6 1 P 9/04
 A 6 1 P 9/10
 A 6 1 P 13/00
 A 6 1 P 13/12
 A 6 1 P 17/14
 A 6 1 P 21/04
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 25/02
 A 6 1 P 25/08
 A 6 1 P 25/14
 A 6 1 P 25/16
 A 6 1 P 25/18
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 27/02
 A 6 1 P 27/06
 A 6 1 P 31/08
 A 6 1 P 31/12
 A 6 1 P 31/18
 A 6 1 P 33/00
 A 6 1 P 33/06
 A 6 1 P 33/10
 A 6 1 P 33/12
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 39/04
 A 6 1 P 43/00
 C 0 7 C 233/75
 C 0 7 C 233/80
 C 0 7 C 235/84
 C 0 7 C 255/55
 C 0 7 C 311/16
 C 0 7 C 311/21
 C 0 7 C 311/39
 C 0 7 C 335/20
 C 0 7 C 335/22
 C 0 7 C 335/32
 C 0 7 C 337/06
 C 0 7 C 381/00
 C 0 7 D 209/48

A 6 1 K 31/27
 A 6 1 K 31/275
 A 6 1 K 31/4035
 A 6 1 K 31/4152
 A 6 1 K 31/4409
 A 6 1 K 31/4453
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 P 1/16
 A 6 1 P 3/10
 A 6 1 P 9/04
 A 6 1 P 9/10
 A 6 1 P 13/00
 A 6 1 P 13/12
 A 6 1 P 17/14
 A 6 1 P 21/04
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 25/02
 A 6 1 P 25/08
 A 6 1 P 25/14
 A 6 1 P 25/16
 A 6 1 P 25/18
 A 6 1 P 25/28
 A 6 1 P 27/02
 A 6 1 P 27/06
 A 6 1 P 31/08
 A 6 1 P 31/12
 A 6 1 P 31/18
 A 6 1 P 33/00
 A 6 1 P 33/06
 A 6 1 P 33/10
 A 6 1 P 33/12
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 39/04
 A 6 1 P 43/00
 A 6 1 P 43/00
 C 0 7 C 233/75
 C 0 7 C 233/80
 C 0 7 C 235/84
 C 0 7 C 255/55
 C 0 7 C 311/16
 C 0 7 C 311/21
 C 0 7 C 311/39
 C 0 7 C 335/20
 C 0 7 C 335/22
 C 0 7 C 335/32
 C 0 7 C 337/06
 C 0 7 C 381/00
 C 0 7 C 381/00

1 0 5

1 1 1

C O 7 D 213/56	C O 7 D 213/56	
C O 7 D 213/74	C O 7 D 213/74	
C O 7 D 231/12	C O 7 D 231/12	E
C O 7 D 295/12	C O 7 D 295/12	Z
	C O 7 D 209/48	Z

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

(72)発明者 グレゴリー・ハミルトン
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 2 8, カートンスビル, フレデリックロード, 6 5 0 1

(72)発明者 デイビッド・リムバーク
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 3 4, バルチモア, ダブルロックレーン, 3 6 1 9

(72)発明者 ヨセフ・スタイナー
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 7 7 1, マウントエアリー, ジュピターアイランドコート, 3 1 7 9

(72)発明者 マーク・パール
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 1 2 8, バルチモア, フリントロックコート, 6

(72)発明者 リング・ウェイ
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 0 9 3, ルータービル, バーレイコート, 1 3 1 2

(72)発明者 ダグラス・ウィルキンソン
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 3 0, バルチモア, ハルマンアベニュー, 2 0 5 1

F ターム(参考) 4C055 AA01 BA01 BA02 BA52 BB04 BB10 CA01 DA01 DA06 DA34
DB04 DB07

4C084 AA19 MA02 NA14 ZA012 ZA022 ZA162 ZA182 ZA202 ZA332 ZA362
ZA402 ZA812 ZA922 ZA942 ZB112 ZB212 ZB262 ZB332 ZB352 ZB372
ZB382 ZC022 ZC352 ZC552

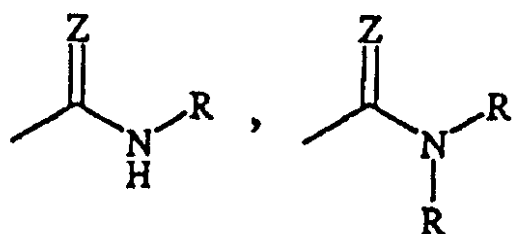
4C086 AA01 AA02 AA03 BC11 BC17 BC21 BC36 MA01 MA02 MA04
NA14 ZA01 ZA02 ZA16 ZA18 ZA20 ZA33 ZA36 ZA40 ZA81
ZA92 ZA94 ZB11 ZB21 ZB26 ZB33 ZB35 ZB37 ZB38 ZC02
ZC35 ZC55

4C204 BB01 CB04 DB30 EB03 FB16 GB01

4C206 AA01 AA02 AA03 GA07 GA31 HA14 HA22 HA30 JA13 JA74
MA01 MA02 MA04 NA14 ZA01 ZA02 ZA16 ZA18 ZA20 ZA33
ZA36 ZA40 ZA81 ZA92 ZA94 ZB11 ZB21 ZB26 ZB33 ZB35
ZB37 ZB38 ZC02 ZC35 ZC55

4H006 AA01 AA03 AB20 BJ20 BJ30 BJ50 BM10 BM30 BM71 BM72
BP30 BP60 BU32 BV25 BV72 BV74 RA04 RA20 RA22 RA24
TA02 TA04

【要約の続き】



等

でZはO又はSでn'は0-3である。