(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 16 425 T2** 2008.06.19

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 499 605 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 16 425.0**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US03/11297**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 721 638.9**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2003/086309**
(86) PCT-Anmeldetag: **11.04.2003**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **23.10.2003**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **26.01.2005**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **19.09.2007**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **19.06.2008**

(51) Int Cl.[8]: ***C07D 333/74*** (2006.01)
A61K 31/38 (2006.01)
C07D 333/78 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
371946 P **11.04.2002** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR

(73) Patentinhaber:
SmithKline Beecham Corp., Philadelphia, Pa., US

(74) Vertreter:
HOFFMANN & EITLE, 81925 München

(72) Erfinder:
CALLAHAN, James F., King of Prussia, PA 19406, US; LI, Yue H., King of Prussia, PA 19406, US

(54) Bezeichnung: **NF-kappaB-INHIBITOREN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Gebiet der Erfindung

[0001] Diese Erfindung betrifft allgemein Aminothiophen-Verbindungen zur Inhibition der pathologischen Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-κB (nukleärer Faktor-κB). Solche Verbindungen sind insbesondere für die Behandlung von Erkrankungen nützlich, bei denen eine Aktivierung von NF-κB impliziert ist. Genauer gesagt können diese Verbindungen zur Inhibition der IKK-β (IκB-Kinase-β, auch bekannt als IKK-2)-Phosphorylierung von IκB (inhibitorisches Protein κB) verwendet werden, was einen darauf folgenden Abbau und eine Aktivierung von NF-κB-Dimeren verhindert. Solche Verbindungen sind nützlich bei der Behandlung einer Vielzahl von Erkrankungen, die mit einer NF-κB-Aktivierung assoziiert sind, einschließlich entzündlicher und Gewebsreparaturstörungen; insbesondere rheumathoider Arthritis, entzündlicher Verdauungstrakterkrankungen, Asthma und COPD (chronisch-obstruktive pulmonäre Erkrankung), Osteoarthritis; Osteoporose und fibrotischen Erkrankungen, Dermatose, einschließlich Psoriasis, Neurodermitis und Ultraviolett-Bestrahlungs(UV)-induzierten Hautschäden, Autoimmunerkrankungen einschließlich systemischem Lupus erythematosus, multipler Sklerose, Psoriasis-Artritis, ankylosierender Spondylitis, Gewebe- und Organabstoßung, Alzheimerscher Erkrankung, Schlaganfall, Atherosklerose, Restenose, Diabetes, Glomerulonephritis, Krebs, einschließlich Morbus Hodgkin, Cachexie, Entzündungen, die mit einem Infekt assoziiert sind, und bestimmter viraler Infekte, einschließlich dem erworbenen Immundefizienzsyndrom (AIDS), dem respiratorischen Distresssyndrom bei Erwachsenen und einer Ataxia Telangiectasia.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Kürzliche Fortschritte beim wissenschaftlichen Verständnis von Mediatoren, die an akuten und chronischen entzündlichen Erkrankungen und Krebs beteiligt sind, haben zu neuen Strategien bei der Suche nach effektiven Therapeutika geführt. Traditionelle Ansätze beinhalten eine direkte Zielintervention wie z.B. die Verwendung spezifischer Antikörper, von Rezeptorantagonisten oder Enzyminhibitoren. Kürzliche Durchbrüche bei der Aufklärung regulatorischer Mechanismen, die an der Transkription oder Translation einer Vielzahl von Mediatoren involviert sind, haben zu einem erhöhten Interesse an therapeutischen Ansätzen geführt, die auf das Niveau der Gentranskription gerichtet sind.

[0003] Nukleärer Faktor κB (NF-κB) gehört zu einer Familie eng verwandter dimerer Transkriptionsfaktorkomplexe, die aus verschiedenen Kombinationen der Rel/NF-κB-Familie von Polypeptiden bestehen. Die Familie besteht aus fünf individuellen Genprodukten bei Säugern, RelA (p65), NF-κB1 (p50/p105), NF-κB2 (p49/p100), c-Rel und RelB, die alle Hetero- oder Homodimere bilden können. Diese Proteine teilen sich eine hoch homologe 300-Aminosäuren „Rel Homologie-Domäne", die die DNA-Bindungs- und Dimerisierungsdomänen enthält. Am extremen C-Terminus der Rel-Homologiedomäne befindet sich die nukleäre Translokationssequenz, die bei dem Transport von NF-κB aus dem Cytoplasma in den Kern wichtig ist. Zusätzlich besitzen p65 und cRel starke Transaktivierungsdomänen an den C-terminalen Enden.

[0004] Die Aktivität von NF-κB wird durch seine Wechselwirkung mit einem Mitglied der Inhibitor IκB-Familie von Proteinen reguliert. Diese Wechselwirkung blockiert die nukleäre Lokalisierungssequenz auf den NF-κB-Proteinen effektiv und verhindert so eine Migration des Dimers zum Kern. Eine breite Varietät von Stimuli aktiviert NF-κB über etwas, das vermutlich multiple Signaltransduktionswege sind. Beinhaltet sind bakterielle Produkte (LPS), einige Viren (HIV-1, HTLV-1), entzündliche Cytokine (TNFα, IL-1), Umwelt- und Oxidationsstress und DNA-schädigende Mittel. Allen diesen Stimuli scheint jedoch die Phosphorylierung und der darauffolgende Abbau von IκB gemein zu sein. IκB wird an zwei N-terminalen Serinen durch die kürzlich identifizierten IκB-Kinasen (IKK-α und IKK-β) phosphoryliert. Ortsgerichtete Mutagenesestudien zeigen an, dass diese Phosphorylierungen für die darauffolgende Aktivierung von NF-κB kritisch sind, nämlich darin, dass, sobald die Phosphorylierung stattgefunden hat, das Protein für einen Abbau über den Ubiquitin-Proteasomenweg gekennzeichnet ist. Frei von IκB können die aktiven NF-κB-Komplexe sich in den Kern verlagern, wo sie in selektiver Weise an bevorzugte genspezifische Enhancersequenzen binden. In den Genen, die durch NF-κB reguliert werden, ist eine Zahl von Cytokinen und Chemokinen, Zelladhäsionsmolekülen, Akutphasenproteinen, immunregulatorischen Proteinen, Eicosanoid-verstoffwechselnden Enzymen und Anti-Apoptose-Genen beinhaltet.

[0005] Es ist wohl bekannt, dass NF-κB eine Schlüsselrolle bei der regulierten Expression einer großen Zahl pro-inflammatorischer Mediatoren einschließlich Cytokinen wie TNF, IL-1β, IL-6 und IL-8, Zelladhäsionsmolekülen wie ICAM und VCAM und der induzierbaren Stickoxidsynthase (iNOS) spielt. Es ist bekannt, dass solche Mediatoren eine Rolle bei dem Recruitment von Leukozyten an die Entzündungsstellen spielen und im Fall von

iNOS zu einer Organzerstörung bei einigen entzündlichen und Autoimmunerkrankungen führen können.

[0006] Die Wichtigkeit von NF-κB bei entzündlichen Störungen wird weiter durch Studien an Luftwegsentzündungen einschließlich Asthma verstärkt, wobei gezeigt wurde, dass NF-κB aktiviert wird. Diese Aktivierung kann den erhöhten Cytokin-Produktions- und Leukozyteninfiltrationscharakteristika dieser Störungen zu Grunde liegen. Zusätzlich ist bekannt, dass inhalierte Steroide die Luftwegshyperaktivität reduzieren und die entzündliche Reaktion im asthmatischen Luftweg unterdrücken. Im Licht der kürzlichen Feststellung im Hinblick auf die Glucocorticoidinhibition von NF-κB könnte man spekulieren, dass diese Wirkungen durch eine Inhibition von NF-κB vermittelt werden.

[0007] Weitere Beweise für eine Rolle von NF-κB in entzündlichen Störungen ergeben sich aus Studien der rheumathoiden Gelenkhaut. Obwohl NF-κB üblicherweise als inaktiver cytoplasmatischer Komplex vorliegt, haben kürzliche immunhistochemische Studien angedeutet, dass NF-κB in den Kernen vorliegt und daher in den Zellen aktiv ist, die die rheumathoide Gelenkhaut umfassen. Weiterhin wurde gezeigt, dass NE-κB in menschlichen Synovialzellen als Reaktion auf eine Stimulation mit TNF-α oder IL-1β aktiviert wird. Eine solche Verteilung kann der zu Grunde liegende Mechanismus für die erhöhte Cytokin- und Eikosanoid-Produktionseigenschaft dieses Gewebes sein. Siehe Roshak, A.K., et al., J. Biol. Chem., 271, 31496-31501 (1996). Die Expression von IKK-β wurde in Synoviocyten von Patienten mit rheumathoider Arthritis gezeigt und Gentransferstudien haben die zentrale Rolle von IKK-β bei der stimulierten entzündlichen Mediatorproduktion bei diesen Zellen demonstriert. Siehe Aupperele et al., J. Immunology 1999, 163:427-433 und Aupperle et al., J. Immunology 2001; 166:2705-11. In letzter Zeit wurde gezeigt, dass die intraartikuläre Verabreichung eines Wildtyp IKK-β-Adenoviruskonstrukts ein Anschwellen der Pfoten auslöst, während eine intraartikuläre Verabreichung von dominantnegativen IKK-β die Adjuvans-induzierte Arthritis bei der Ratte inhibierte. Siehe Tak et al., Arthritis and Rheumatism 2001; 44:1897-1907.

[0008] Die NF-κB/Rel- und IκB-Proteine spielen vermutlich auch eine Schlüsselrolle bei der neoplastischen Transformation und Metastase. Familienmitglieder sind mit Zelltransformationen in vitro und in vivo als Ergebnis der Überexpression, Genamplifikation, Genumanordnungen oder Translokationen assoziiert. Zusätzlich werden Umanordnungen und/oder Amplifikationen der Gene, die diese Proteine kodieren, bei 20 bis 25% bestimmter menschlicher Lymphoidtumoren beobachtet. Weiterhin wird NF-κB durch oncogene Ratten aktiviert, dem häufigsten Defekt bei menschlichen Tumoren, und eine Blockade der NF-κB-Aktivierung inhibiert die rasvermittelte Zelltransformation. Zusätzlich wurde über eine Rolle von NF-κB bei der Regulation der Apoptose berichtet, was die Rolle dieses Transkriptionsfaktors bei der Regulation der Tumorzellproliferation unterstützt. TNF, ionisierende Strahlung und DNA-schädigende Mittel aktivieren alle nachweislich NF-κB, was wiederum zu einer hoch regulierten Expression etlicher Antiapoptose-Proteine führt. Umgekehrt wurde gezeigt, dass die Inhibition von NF-κB das apoptotische Töten durch diese Mittel in etlichen Tumorzelltypen erhöht. Da dies vermutlich ein Hauptmechanismus der Tumorzellresistenz gegenüber einer Chemotherapie darstellt, könnten Inhibitoren der NF-κB-Aktivierung nützliche Chemotherapeutika entweder als Einzelmittel oder als eine Hilfstherapie sein. Kürzliche Berichte haben NF-κB als Inhibitor der Skelettzelldifferenzierung wie auch als Regulator des Cytokin-induzierten Muskelabbaus impliziert (Guttridge et al. Science; 2000; 289:2363-2365), was das Potential von NF-κB-Inhibitoren als neue Krebstherapeutika weiter unterstützt.

[0009] Etliche NF-κB-Inhibitoren werden von C. Wahl et al., J. Clin. Invest. 101(5), 1163-1174 (1998), R.W. Sullivan et al., J. Med. Chem. 41, 413-419 (1998), J. W. Pierce et al., J. Biol. Chem. 272, 21096-21103 (1997) beschrieben.

[0010] Von dem marinen natürlichen Produkt Hymenialdisin ist bekannt, dass es NF-κB inhibiert. Roshak, A., et al., JPET, 283, 955-961 (1997). Breton, J.J. und Chabot-Fletcher, M.C., JPET, 282, 459-466 (1997).

[0011] Zusätzlich wurden Patentanmeldungen im Hinblick auf Aminothiopheninhibitoren von IKK-2 eingereicht, siehe Callahan et al., WO 2002/030353; Baxter et al., WO 2001/058890; Faull et al., WO 2003/010158; Griffiths et al., WO 2003/010163; Fancelli et al., WO 2001/98290; Imidazolinhibitoren von IKK-2, siehe Callahan, et al., WO 2002/30423; Anilinophenylpyrimidininhibitoren von IKK-2, siehe Kois, et al., WO 2002/046171; β-Carbolininhibitoren von IKK-2, siehe Ritzeler, et al., WO 2001/068648, Ritzeler, et al., EP 1 134 221; Nielsch, et al. DE 198 07 993; Ritzeler, et al., EP 1 209 158; Indolinhibitoren von IKK-2, siehe Ritzeler, et al., WO 2001030774; Benzimidazolinhibitoren von IKK-2, siehe Ritzeler, et al., DE 199 28 424; Ritzeler et al, WO 2001/000610; Aminopyridininhibitoren von IKK-2, siehe Lowinger, et al., WO 2002/024679; Murata, et al., WO 2002/024693; Murata, et al., WO 2002/044153; Pyrazolachinazolininhibitoren von IKK-2, siehe Beaulieu, et al., WO 2002/028860; Burke et al., WO 2002/060386, Burke, et al., US 2003/0022898; Chinolininhibitoren von IKK-2, Browner, et al., WO 2002/041843, Browner, et al., US 2002/0161004 und Pyridylcyanoguanidininhibito-

ren von IKK-2, siehe Bjorkling, et al., WO 2002/094813, Binderup et al., WO 2002/094322 und Madsen, et al., WO 2002/94265. Die natürlichen Produkte Staurosporin, Quercetin, K252a und K252b sind nachweislich IKK-2-Inhibitoren, siehe Peet, G. W. und Li, J. J. Biol. Chem., 274, 32655-32661 (1999) und Wisniewski, D., et al., Analytical Biochem. 274, 220-228 (1999). Außerdem wurden synthetische Inhibitoren von IKK-2 beschrieben, siehe Burke, et al. J Biol. Chem., 278, 1450-1456 (2003) und Murata, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 13, 913-198 (2003) haben IKK-2-Inhibitoren beschrieben.

[0012] Das US Patent Nr. 3,963,750 beschreibt die Präparation bestimmter Aminothiophene.

Zusammenfassung der Erfindung

[0013] Die vorliegende Erfindung involviert neue Verbindungen und eine neue Verwendung der vorliegenden Verbindung zur Inhibition der Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-κB.

[0014] Es ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Verbindung zur Behandlung von Erkrankungen bereitzustellen, die therapeutisch durch Veränderung der Aktivität des Transkriptionsfaktors NF-κB modifiziert werden können.

[0015] Dementsprechend stellt diese Erfindung in dem ersten Aspekt eine pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine Verbindung gemäß Formel I, bereit.

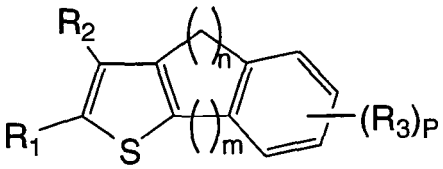
[0016] Gemäß einem anderen Aspekt stellt diese Erfindung die Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I für die Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Erkrankungen bereit, worin die Erkrankungspathologie therapeutisch durch Inhibition der Phosphorylierung und darauffolgenden Abbau von IκB durch IKK-β modifiziert werden kann.

[0017] In noch einem weiteren Aspekt stellt diese Erfindung die Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I für die Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Erkrankungen bereit, worin die Erkrankungspathologie therapeutisch durch eine Inhibition der pathologischen Aktivierung von NF-κB modifiziert werden kann.

[0018] In einem besonderen Aspekt stellt die Erfindung die Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung einer Vielzahl von Erkrankungen bereit, die mit einer NF-κB-Aktivierung assoziiert sind, einschließlich entzündlicher und Gewebsreparaturstörungen, insbesondere rheumathoider Arthritis, entzündlicher Verdauungstrakterkrankung, Asthma und COPD (chronisch obstruktive Lungenerkrankung), Osteoarthritis, Osteoporose und fibrotischen Erkrankungen, Dermatose, einschließlich Psoriasis, Neurodermitis und Ultraviolett-Bestrahlungs(UV)-induzierten Hautschäden, Autoimmunerkrankungen einschließlich systemischem Lupus erythematosus, multipler Sklerose, Psoriasis-Artritis, ankylosierender Spondylitis, Gewebe- und Organabstoßung, Alzheimerscher Erkrankung, Schlaganfall, Atherosklerose, Restenose, Diabetes, Glomerulonephritis, Krebs, einschließlich Morbus Hodgkin, Cachexie, Entzündungen, die mit einem Infekt assoziiert sind, und bestimmte virale Infekte, einschließlich dem erworbenen Immundefizienzsyndrom (AIDS), dem respiratorischen Distresssyndrom bei Erwachsenen und einer Ataxia Telangiectasia.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

[0019] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung werden aus Formel I wie unten beschrieben gewählt:

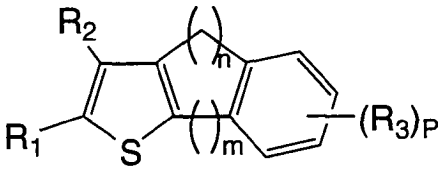


(I)

worin R_1 NR_4R_5 repräsentiert;
R_2 repräsentiert $CONH_2$ oder SO_2NH_2;
R_3 ist gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, CF_3, OCF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl, $(CH_2)_qNR_7R_8$, $O-(CH_2)_qNR_7R_8$, $(CH_2)_q$-Aryl, $O-(CH_2)_q$-Aryl, $(CH_2)_q$-Heteroaryl, $O-(CH_2)_q$-Heteroaryl,

$(CH_2)_q$-Heteroalkyl, O-$(CH_2)_q$-Heteroalkyl und NO_2;
R_4 repräsentiert H oder C_{1-4}-Alkyl;
R_5 repräsentiert H oder $CONHR_6$;
R_6 ist gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Wasserstoff, Alkyl und Aryl;
R_7 repräsentiert C_{1-4}-Alkyl;
R_8 repräsentiert C_{1-4}-Alkyl;
m ist 0, 1, 2, oder 3;
n ist 0, 1, 2, oder 3;
p ist 1, 2 oder 3; und
q ist 1, 2, 3 oder 4;
worin:
jedes Alkyl optional durch Substituenten substituiert ist, gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Aryl, OH, O-Alkyl, CO, Halogen, CF_3 und OCF_3;
jedes Aryl ist optional substituiert durch Substituenten, gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, OCF_3, CF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl und NO_2; und
jedes Heteroaryl ist optional substituiert durch Substituenten, gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, OCF_3, CF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl und NO_2;
oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

[0020] Bevorzugt wird:



(Ia)

worin:
R_1 repräsentiert NR_4R_5;
R_2 repräsentiert $CONH_2$;
R_3 ist gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, CF_3, OCF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl, $(CH_2)_qNR_7R_8$, O-$(CH_2)_qNR_7R_8$, $(CH_2)_q$-Aryl, O-$(CH_2)_q$-Aryl, $(CH_2)_q$-Heteroaryl, O-$(CH_2)_q$-Heteroaryl, $(CH_2)_q$-Heteroalkyl, O-$(CH_2)_q$-Heteroalkyl und NO_2;
R_4 repräsentiert H;
R_5 repräsentiert $CONHR_6$;
R_6 repräsentiert H;
R_7 repräsentiert C_{1-4}-Alkyl;
R_8 repräsentiert C_{1-4}-Alkyl;
m ist 0;
n ist 1 oder 2;
p ist 1 oder 2; und
q ist 1, 2, 3, oder 4;
worin
jedes Alkyl optional durch Substituenten substituiert ist, gewählt aus der Gruppe bestehend aus Aryl, OH, O-Alkyl, CO, Halogen, CF_3 und OCF_3;
jedes Aryl ist optional substituiert durch Substituenten, gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, OCF_3, CF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl und NO_2; und
jedes Heteroaryl ist optional substituiert durch Substituenten gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, OCF_3, CF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl und NO_2;
oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

[0021] Die vorliegende Erfindung beinhaltet alle Hydrate, Solvate und Komplexe der Verbindungen dieser Erfindung. Wenn ein chirales Zentrum oder eine andere Forme eines isomeren Zentrums in einer Verbindung der vorliegenden Erfindung vorliegt, sollen alle Formen eines solchen Isomers oder der Isomere, einschließlich Enantiomere und Diastereomere hiervon umfasst sein. Erfinderische Verbindungen, die ein chirales Zentrum enthalten, können als racemische Mischungen, als Enantiomer-angereicherte Mischung verwendet werden, oder die racemische Mischung kann unter Verwendung wohl bekannter Verfahren getrennt werden und ein individuelles Enantiomer kann allein verwendet werden. In den Fällen, in denen die Verbindungen ungesättigte Koh-

lenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen aufweisen, befinden sich sowohl die cis(Z)- als auch trans(E)-Isomere im Umfang der Erfindung. In den Fällen, in denen die Verbindungen in tautomeren Formen existieren können, wie z.B. Keto-Enol-Tautomere, soll jede tautomere Form als in dieser Erfindung mit eingeschlossen betrachtet werden, egal, ob sie im Gleichgewicht oder vorherrschend in einer Form existiert.

[0022] Diese Erfindung stellt die Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung einer Vielzahl von Erkrankungen bereit, die mit einer NF-κB-Aktivierung assoziiert sind, einschließlich entzündlichen und Gewebsreparaturstörungen; insbesondere rheumathoider Arthritis, entzündlicher Verdauungstrakterkrankung, Asthma und COPD (chronisch obstruktive Lungenerkrankung), Osteoarthritis, Osteoporose und fibrotischen Erkrankungen; Dermatose, einschließlich Psoriasis, Neurodermitis und Ultraviolett-Bestrahlungs(UV)-induzierten Hautschäden, Autoimmunerkrankungen einschließlich systemischem Lupus erythematosus, multipler Sklerose, Psoriasis-Artritis, ankylosierender Spondylitis, Gewebe- und Organabstoßung, Alzheimerscher Erkrankung, Schlaganfall, Atherosklerose, Restenose, Diabetes, Glomerulonephritis, Krebs, einschließlich Morbus Hodgkin, Cachexie, Entzündungen, die mit einem Infekt assoziiert sind, und bestimmte virale Infekte, einschließlich dem erworbenen Immundefizienzsyndrom (AIDS), dem respiratorischen Distresssyndrom bei Erwachsenen und einer Ataxia Telangiectasia.

[0023] Bevorzugte Verbindungen, die in der vorliegenden Erfindung nützlich sind, beinhalten: 2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Ureido-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Acetylamino-4H-indeno[1,2b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Amino-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Acetylamino-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Ureido-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Amino-8-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 8-Methoxy-2-Ureido-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Amino-7-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Acetylamino-7-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Amino-7-brom-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Acetylamino-7-brom-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; und 7-Brom-2-Ureido-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

[0024] Die Bedeutung von jedem Substituenten bei jedem Auftreten in Formel I oder irgendeiner Subformel davon ist unabhängig von seiner Bedeutung oder irgendeiner Bedeutung eines anderen Substituenten bei jedem anderen Auftreten, wenn nicht anders angegeben.

[0025] Wie hier verwendet bedeutet „Alkyl" eine optional substituierte Kohlenwasserstoffgruppe, verbunden durch Einzel-Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen und mit 1 bis 6 miteinander verbundenen Kohlenstoffatomen. Die Alkyl-Kohlenwasserstoffgruppe kann linear, verzweigt oder cyclisch, gesättigt oder ungesättigt sein. Die Substituenten an dem optional substituierten Alkyl werden aus der Gruppe gewählt, bestehend aus Aryl, OH, O-Alkyl, CO, Halogen, CF_3 und OCF_3.

[0026] Wie hier verwendet, bezieht sich „Aryl" auf eine optional substituierte aromatische Gruppe mit mindestens einem Ring mit einem konjugierten pi-Elektronensystem, enthaltend bis zu 2 konjugierte oder kondensierte Ringsysteme. Aryl beinhaltet carbocyclische Aryl- und Biarylgruppen, die alle optional substituiert sein können. Die Substituenten werden aus der Gruppe gewählt, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, OCF_3, CF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl und NO_2.

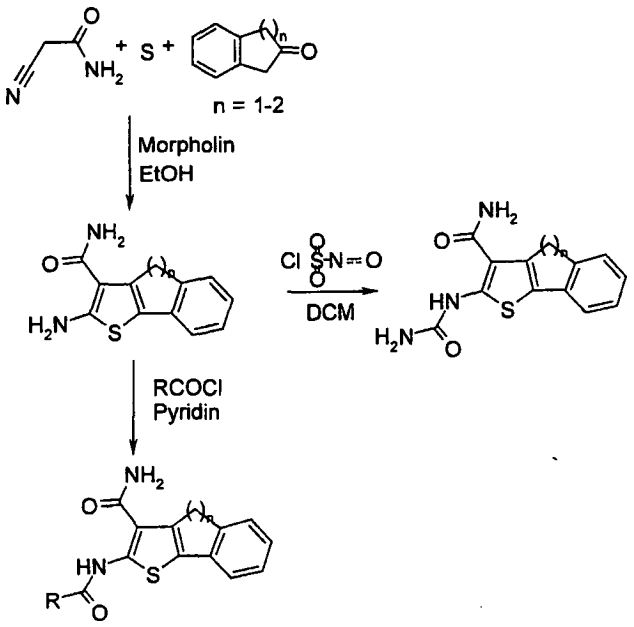
[0027] Wie hier verwendet bezieht sich „Heteroaryl" auf eine optional substituierte aromatische Gruppe mit mindestens einem Ring mit einem konjugierten pi-Elektronensystem, enthaltend bis zu 2 konjugierte oder kondensierte Ringsysteme und 1 bis 3 Heteroatome, gewählt aus O, S und N. Heteroaryl beinhaltet carbocyclisches Heteroaryl-, Aryl-Heteroaryl- und Biheteroarylarylgruppen, die alle optional substituiert sein können. Ein bevorzugtes Aryl beinhaltet Phenyl und Naphthyl. Ein noch bevorzugteres Aryl beinhaltet Phenyl. Bevorzugte Substituenten werden aus der Gruppe gewählt, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, OCF_3, CF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl und NO_2. Beispiele für Heteroarylringe beinhalten Pyrrol, Furan, Thiophen, Indol, Isoindol, Benzofuran, Isobenzofuran, Benzothiophen, Pyridin, Chinolin, Isochinolin, Chinolizin, Pyrazol, Imidazol, Isoxazol, Oxazol, Isothiazol, Thiazol, Pyridazin, Pyrimidin, und Pyrazin.

[0028] Wie hier verwendet bezieht sich „Heteroalkyl" auf einen optional substituierten Ring, der kein konjugiertes pi-Elektronensystem enthält, mit bis zu 1 bis 3 Heteroatomen, gewählt aus O, S und N. Beispiele für Heteroalkylringe sind Piperidin, Piperazin, Morpholin, Tetrahydrofuran, Tetrahydopyran und Tetrahydrothiophen.

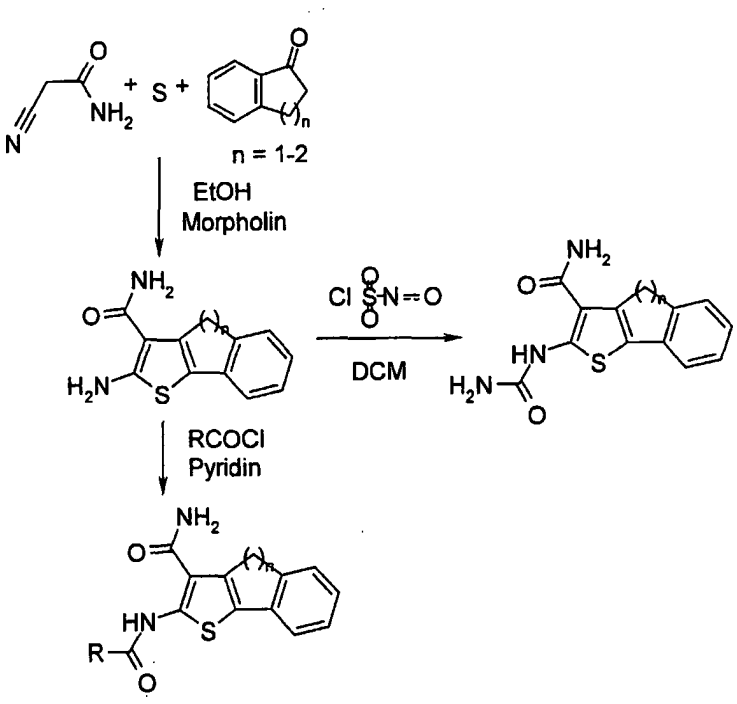
[0029] Wie hier verwendet bezieht sich „Halogen" auf F, Cl, Br und I.

[0030] Die allgemeine Herstellung von Aminothiophenanaloga ist in den Schemata 1 und 2 dargestellt.

Schema 1



Schema 2



[0031] Morpholin wird einer gerührten Lösung aus Cyanoacetamid, Schwefel und cyclischem Keton in absolutem Ethanol zugefügt. Die resultierende Lösung wird bei Raumtemperatur oder bis zu 60°C über Nacht gerührt. Dann wird das Lösungsmittel in Vakuum entfernt und der Rest wird in Ethylacetat aufgenommen, mit Wasser und Sole gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, gefiltert und im Vakuum konzentriert, um einen dunkelbraunen Feststoff zu ergeben. Das Produkt wird dann üblicherweise durch eine Chromatographie gereinigt, um das gewünschte Produkt zu ergeben.

[0032] Diese Erfindung stellt eine pharmazeutische Zusammensetzung bereit, die eine Verbindung gemäß Formel I und einen pharmazeutisch annehmbaren Träger, ein Verdünnungsmittel oder ein Exzipiens umfasst.

Dementsprechend können die Verbindungen der Formel I für die Herstellung eines Medikaments verwendet werden. Pharmazeutische Zusammensetzungen der Verbindungen der Formel I, die wie hier beschrieben hergestellt wurden, können als Lösungen oder lyophilisierte Pulver für die parenterale Verabreichung formuliert werden. Die Pulver können durch Zugabe eines geeigneten Verdünnungsmittels oder eines anderen pharmazeutisch annehmbaren Trägers vor der Verwendung rekonstituiert werden. Die flüssige Formulierung kann eine gepufferte, isotonische, wässrige Lösung sein. Beispiele für geeignete Verdünnungsmittel sind eine normale isotonische Salzlösung, Standard 5% Dextrose in Wasser oder gepufferte Natrium- oder Ammoniumacetatlösung. Eine solche Formulierung ist insbesondere für die parenterale Verabreichung geeignet, kann jedoch auch für die orale Verabreichung verwendet werden oder in einem Messdosisinhalator oder Zerstäuber für die Einatmung enthalten sein. Es kann wünschenswert sein, Exzipientien wie z.B. Polyvinylpyrrolidon, Gelatine, Hydroxycellulose, Akazin, Polyethylenglycol, Mannit, Natriumchlorid oder Natriumcitrat hinzuzufügen.

[0033] Alternativ können diese Verbindungen verkapselt, tablettiert oder als Emulsion oder Sirup für die orale Verabreichung hergestellt sein. Pharmazeutisch annehmbare feste oder flüssige Träger können hinzugefügt werden, um die Zusammensetzung zu verstärken oder zu stabilisieren oder um die Präparation der Zusammensetzung zu erleichtern. Feste Träger beinhalten Stärke, Lactose, Calciumsulphatdihydrat, Terra alba, Magnesiumstearat oder Stearinsäure, Talk, Pektin, Akazin, Agar oder Gelatine. Flüssige Träger beinhalten Sirup, Erdnussöl, Olivenöl, Salzlösung und Wasser. Der Träger kann auch ein Material für eine verzögerte Freisetzung beinhalten wie z.B. Glycerylmonostearat oder Glyceryldistearat, allein oder mit einem Wachs. Die Menge des festen Trägers variiert, wird jedoch vorzugsweise zwischen ungefähr 20 mg bis ungefähr 1 g pro Dosierungseinheit liegen. Die pharmazeutischen Präparationen werden folgend den konventionellen Techniken der Pharmazie hergestellt und beinhalten ein Mahlen, Mischen, Granulieren und Komprimieren, falls nötig, für die Tablettenform; oder ein Mahlen, Mischen und Befüllen für harte Gelatinekapselformen. Wenn ein flüssiger Träger verwendet wird, wird sich die Präparation in Form eines Sirups, Elixiers, einer Emulsion oder einer wässrigen oder nicht wässrigen Suspension befinden. Eine solche flüssige Formulierung kann direkt p.o. verabreicht werden oder in eine weiche Gelatinekapsel eingefüllt werden.

[0034] Typische Zusammensetzungen für die Inhalation befinden sich in Form eines Trockenpulvers, einer Lösung, einer Suspension oder Emulsion. Die Verabreichung kann beispielsweise durch einen Trockenpulverinhalator (wie z.B. einen Einheitsdosis- oder Multidosisinhalator, beispielsweise wie beschrieben im US Patent 5,590,645) oder durch Zerstäubung oder in Form eines unter Druck stehenden Aerosols geschehen.

[0035] Trockenpulverzusammensetzungen verwenden typischerweise einen Träger wie Lactose, Trehalose oder Stärke. Zusammensetzungen für die Zerstäubung verwenden typischerweise Wasser als Vehikel. Unter Druck stehende Aerosols verwenden typischerweise ein Treibmittel wie z.B. Dichlordifluormethan, Trichlorfluormethan oder, noch bevorzugter, 1,1,1,2-Tetrafluorethan, 1,1,1,2,3,3,3-Heptafluor-n-propan oder Mischungen daraus. Unter Druck stehende Aerosolformulierungen können sich in Form einer Lösung befinden (unter Umständen unter Verwendung eines löslich machenden Mittels wie Ethanol) oder einer Suspension, die frei von Exzipientien sein können oder Exzipientien einschließlich Tensiden und/oder Co-Lösungsmitteln (z.B. Ethanol) verwenden. Bei Trockenpulverzusammensetzungen und Suspensionsaerosolzusammensetzungen wird sich der Wirkstoff vorzugsweise in einer Größe befinden, die für die Inhalation geeignet ist (typischerweise mit einem mittleren Massendurchmesser (MMD) von weniger als 20 µm, z.B. 1 bis 10, insbesondere 1 bis 5 µm). Eine Größenreduktion des Wirkstoffs kann nötig sein, beispielsweise durch Mikronisierung.

[0036] Unter Druck stehende Aerosolzusammensetzung werden allgemein in Behälter gefüllt, die mit einem Ventil ausgestattet sind, insbesondere einem Messventil. Die Behälter können optional mit einem Kunststoffmaterial beschichtet sein, beispielsweise einem Fluorkohlenstoffpolymer wie beschrieben in WO 96/32150. Die Behälter werden mit einem Betätigungselement ausgestattet sein, das für die buccale Zufuhr angepasst ist.

[0037] Typische Zusammensetzungen für die Zufuhr an die Nase beinhalten die oben erwähnten für die Inhalation und beinhalten weiterhin nicht unter Druck stehende Zusammensetzungen in Form einer Lösung oder Suspension in einem inerten Vehikel wie z.B. Wasser, optional in Kombination mit konventionellen Exzipientien wie z.B. Puffer, Antimikrobiotika, die Tonizität modifizierende Mittel und die Viskosität modifizierende Mittel, die durch eine Nasenpumpe verabreicht werden können.

[0038] Für die rektale Verabreichung können die Verbindungen dieser Erfindung auch mit Exzipientien wie Kakaobutter, Glycerin, Gelatine oder Polyethylenglycolen kombiniert werden und in ein Suppositorium geformt werden.

[0039] Die vorliegende Erfindung beinhaltet die topische, inhalierte und intra-Kolon-Verabreichung der Verbindungen der Formel I. Unter topischer Verabreichung wird eine nicht systemische Verabreichung verstanden, einschließlich der Anwendung einer Verbindung der Erfindung extern auf die Epidermis, die Buccalhöhle und eine Einträufelung einer solchen Verbindung in das Ohr, das Auge und die Nase, wobei die Verbindung nicht signifikant in den Blutstrom eintritt. Unter systemischer Verabreichung wird eine orale, intravenöse, intraperitoneale und intramuskuläre Verabreichung verstanden. Die Menge einer Verbindung der Erfindung (hiernach bezeichnet als Wirkstoff), die für eine therapeutische oder prophylaktische Wirkung bei topischer Verabreichung benötigt wird, wird natürlich je nach der gewählten Verbindung, Natur und Schwere der zu behandelnden Bedingung und dem Tier, das die Behandlung durchläuft, variieren und befindet sich schlussendlich in der Entscheidung des behandelnden Arztes.

[0040] Während es möglich ist, dass ein Wirkstoff allein als Rohchemikalie verabreicht wird, wird es bevorzugt, ihn als pharmazeutische Formulierung zu präsentieren. Der Wirkstoff kann für die topische Verabreichung 0,01 bis 5,0 Gew.-% der Formulierung umfassen.

[0041] Die topischen Formulierungen der vorliegenden Erfindung und zwar sowohl für die veterinärmedizinische als auch für die humanmedizinische Verwendung, umfassen einen Wirkstoff zusammen mit ein oder mehr annehmbaren Trägern und optional irgendwelchen anderen therapeutischen Wirkstoffen. Der Träger muss in dem Sinn „annehmbar" sein, dass er mit den anderen Bestandteilen der Formulierung kompatibel ist und sich auf den Empfänger nicht nachteilig auswirkt.

[0042] Für die topische Verabreichung geeignete Formulierungen beinhalten flüssige oder halbflüssige Präparationen, die für eine Penetration durch die Haut zu der Stelle geeignet sind, an der die Behandlung benötigt wird, wie beispielsweise Einreibemittel, Lotionen, Cremes, Salben oder Pasten, und Tropfen, die für die Verabreichung an das Auge, das Ohr oder die Nase geeignet sind.

[0043] Die Tropfen gemäß der vorliegenden Erfindung können sterile wässrige oder ölige Lösungen oder Suspensionen umfassen und können durch Lösung des Wirkstoffs in einer geeigneten wässrigen Lösung eines bakteriziden und/oder fungiziden Mittels und/oder jedes anderen geeigneten Konservierungsmittels hergestellt werden und beinhalten vorzugsweise ein Tensid. Die resultierende Lösung kann dann durch Filtration geklärt werden, in einen geeigneten Behälter übertragen werden, der dann versiegelt und durch Autoklavieren sterilisiert wird oder indem sie für eine halbe Stunde bei 90 bis 100°C gehalten wird. Alternativ kann die Lösung durch Filtration sterilisiert und in den Behälter durch ein aseptisches Verfahren übertragen werden. Beispiele für bakterizide und fungizide Mittel, die für den Einschluss in die Tropfen geeignet sind, sind Phenylquecksilbernitrat oder -Acetat (0,002%), Benzalkoniumchlorid (0,01%) und Chlorhexidinacetat (0,01%). Geeignete Lösungsmittel für die Herstellung einer öligen Lösung beinhalten Glycerin, verdünnten Alkohol und Propylenglycol.

[0044] Die Lotionen gemäß der vorliegenden Erfindung beinhalten diejenigen, die für die Anwendung an Haut oder Auge geeignet sind. Eine Augenlotion kann eine sterile wässrige Lösung umfassen, optional umfassend ein Bakterizid, und kann durch ähnliche Verfahren wie diejenigen für die Herstellung von Tropfen hergestellt werden. Lotionen oder Einreibemittel für die Anwendung auf die Haut können auch ein Mittel zur Beschleunigung des Trocknens und zur Kühlung der Haut beinhalten wie z.B. einen Alkohol oder Aceton und/oder einen Anfeuchter wie z.B. Glycerin oder ein Öl wie Castoröl oder Arachisöl.

[0045] Cremes, Salben oder Pasten gemäß der vorliegenden Erfindung sind halbfeste Formulierungen des Wirkstoffs für die externe Anwendung. Sie können durch Vermischen des Wirkstoffs in fein verteilter oder pulverförmiger Form, allein oder in Lösung oder in Suspension in einem wässrigen oder nicht wässrigen Fluid mit Hilfe einer geeigneten Ausrüstung, auf fettiger oder nicht fettiger Basis hergestellt werden. Die Basis kann Kohlenwasserstoffe wie hartes, weiches oder flüssiges Paraffin, Glycerin, Bienenwachs, metallische Seifen, Schleime, ein Öl von natürlichem Ursprung wie Mandel-, Mais-, Arachis-, Castor- oder Olivenöl, Wollfett oder seine Derivate oder eine Fettsäure wie Stearin- oder Ölsäure, zusammen mit einem Alkohol wie Propylenglycol oder Macrogolen umfassen. Die Formulierung kann jedes geeignete Tensid wie z.B. ein anionisches, kationisches oder nicht ionisches Tensid wie Sorbitanester oder Polyoxyethylenderivate davon beinhalten. Suspendiermittel wie natürliche Gummis, Cellulosederivate oder anorganische Materialien wie z.B. kieselartige Silicas und andere Bestandteile wie Lanolin können ebenfalls beinhaltet sein.

[0046] Die Verbindungen der Formel I sind als Inhibitoren der IKK-β-Kinasephosphorylierung von IκB nützlich und sind als solche Inhibitoren der NF-κB-Aktivierung. Die vorliegende Erfindung verwendet Zusammensetzungen und Formulierungen der Verbindungen, beinhaltend pharmazeutische Zusammensetzungen und For-

mulierungen der Verbindungen.

[0047] Die vorliegende Erfindung stellt insbesondere die Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Erkrankungen bereit, die mit einer ungeeigneten NF-κB-Aktivierung assoziiert sind, wobei die Verwendung die Verabreichung an ein Tier, insbesondere einen Säuger, insbesondere einen Menschen, der dessen bedarf, von ein oder mehreren Verbindungen der Formel I umfasst. Die vorliegende Erfindung stellt insbesondere die Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung der Behandlung entzündlicher und Gewebsreparatur-Störungen bereit, insbesondere rheumathoider Arthritis, entzündlicher Verdauungstrakterkrankung, Asthma und COPD (chronisch obstruktive Lungenerkrankung), Osteoarthritis, Osteoporose und fibrotischen Erkrankungen, Dermatose, einschließlich Psoriasis, Neurodermitis und Ultraviolett-Bestrahlungs(UV)-induzierten Hautschäden, Autoimmunerkrankungen einschließlich systemischem Lupus erythematosus, multipler Sklerose, Psoriasis-Artritis, ankylosierender Spondylitis, Gewebe- und Organabstoßung, Alzheimerscher Erkrankung, Schlaganfall, Atherosklerose, Restenose, Diabetes, Glomerulonephritis, Krebs, einschließlich Morbus Hodgkin, Cachexie, Entzündungen, die mit einem Infekt assoziiert sind, und bestimmte virale Infekte, einschließlich dem erworbenen Immundefizienzsyndrom (AIDS), dem respiratorischen Distresssyndrom bei Erwachsenen und einer Ataxia Telangiectasia.

[0048] Für die akute Therapie ist eine parenterale Verabreichung von ein oder mehreren Verbindungen der Formel I nützlich. Eine intravenöse Infusion der Verbindung in 5% Dextrose in Wasser oder normaler Salzlösung oder eine ähnliche Formulierung mit geeigneten Exzipientien ist besonders effektiv, obwohl auch eine intramuskuläre Bolusinjektion nützlich ist. Typischerweise wird die parenterale Dosis bei ungefähr 0,01 bis ungefähr 50 mg/kg; vorzugsweise zwischen 0,1 und 20 mg/kg liegen, auf eine Weise, um die Konzentration des Arzneimittels im Plasma bei einer effektiven Konzentration zur Inhibition von IKK-β zu halten und daher eine Aktivierung von NF-κB zu erhalten. Die Verbindungen werden ein bis vier mal täglich auf einem Niveau verabreicht, um eine gesamte tägliche Dosis von 0,4 bis ungefähr 80 mg/kg/Tag zu erreichen. Die präzise Menge der verwendeten Verbindungen gemäß der vorliegenden Erfindung, die therapeutisch effektiv ist, und der Weg, auf dem die Verbindung am besten verabreicht wird, wird von dem üblichen Fachmann auf dem Gebiet durch Vergleich des Blutniveaus des Mittels mit der benötigten Konzentration für eine therapeutische Wirkung einfach bestimmt.

[0049] Die Verbindungen der Formel I können auch oral an den Patienten verabreicht werden, auf eine Weise, dass die Konzentration des Arzneimittels genügt, um IKK-β zu inhibieren und dadurch die Aktivierung von NF-κB oder um irgendwelche andere therapeutischen Indikationen wie hier offenbart zu erreichen. Typischerweise wird eine pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend die Verbindung in einer oralen Dosis zwischen ungefähr 0,1 bis ungefähr 50 mg/kg auf eine Weise verabreicht, die mit dem Zustand des Patienten konsistent ist. Vorzugsweise würde die orale Dosis bei ungefähr 0,5 bis ungefähr 20 mg/kg liegen.

[0050] Die Verbindungen der Formel I können auch topisch an den Patienten auf eine Weise verabreicht werden, dass die Konzentration des Arzneimittels genügt, um IKK-β und daher die Aktivierung von NF-κB zu inhibieren oder um irgendeine andere therapeutische Indikation wie hier offenbart zu erreichen. Typischerweise wird eine pharmazeutische Zusammensetzung, die die Verbindung enthält, in einer topischen Formulierung mit ungefähr 0,01 bis ungefähr 5% G/G verabreicht.

[0051] Es werden keine nicht annehmbaren toxikologischen Wirkungen erwartet, wenn die Verbindungen der vorliegenden Erfindung gemäß der vorliegenden Erfindung verabreicht werden.

[0052] Die Fähigkeit der hier beschriebenen Verbindungen, die Aktivierung von NF-κB zu inhibieren, wird deutlich durch ihre Fähigkeit zur Inhibition der Phosphorylierung des N-terminalen Fragments von IκB-α durch IKK-β belegt (siehe Tabelle 1 für die Beispiele). Diese Verbindungen blockieren auch den Abbau von IκB-α und die nukleäre Translokation von NF-κB in menschlichen Monocyten und anderen Säugerzellen bei Aktivierung der Zellen mit proentzündlichen Stimuli (z.B. TNF-α, LPS usw.). Zusätzlich inhibieren diese Verbindungen die pro-inflammatorische Mediatorproduktion von LPS-stimulierten menschlichen Monocyten und stimulierten menschlichen primären Gelenkhautfibroplasten. Die Nützlichkeit der gegenwärtigen NF-κB-Inhibitoren bei der Therapie von Erkrankungen wird, basierend auf der Wichtigkeit der NF-κB-Aktivierung bei einer Vielzahl von Erkrankungen, vorausgesetzt.

[0053] NF-κB spielt eine Schlüsselrolle bei der regulierten Expression einer großen Zahl pro-inflammatorischer Mediatoren einschließlich von Cytokinen wie TNF, IL-1β, IL-6 und IL-8 (Mukaida et al., 1990; Liberman and Baltimore, 1990; Matsusaka et al., 1993), Zelladhäsionsmolekülen wie z.B. ICAM und VCAM (Marui et al.,

1993; Kawai et al., 1995; Ledebur and Parks, 1995), und der induzierbaren Stickoxidsynthase (iNOS) (Xie et al., 1994; Adcock et al., 1994). (Vollständige Referenzzitate befinden sich am Ende dieses Abschnitts). Solche Mediatoren spielen bekanntlich eine Rolle bei der Attraktion von Leukozyten an Entzündungsstellen und können im Fall von iNOS zu einer Organzerstörung bei einigen entzündlichen und Autoimmunerkrankungen führen (McCartney-Francis et al., 1993; Kleemann et al., 1993).

[0054] Beweise für eine wichtige Rolle von NF-κB bei entzündlichen Störungen werden durch Studien von Asthmapatienten erhalten. Bronchialbiopsien, die bei mild atopischen Asthmatikern genommen werden, zeigen einen signifikanten Anstieg der Zahl von Zellen in der Submucosa, die sich für aktivierte NF-κB, Gesamt-NF-κB und NF-κB-regulierte Cytokine anfärben wie z.B. GM-CSF und TNFα im Vergleich mit Biopsien von normalen nicht atopischen Kontrollen (Wilson et al., 1998). Weiterhin ist der Prozentsatz an Gefäßen erhöht, die eine NF-κB-Immunreaktivität exprimieren, wie auch die IL-8-Immunreaktivität im Epithel der Biopsieproben (Wilson et al., 1998). Als solches würde vorhergesagt werden, dass eine Inhibition der IL-8-Produktion durch Inhibition von NF-κB, wie von diesen Verbindungen demonstriert, für Luftwegsentzündungen günstig sein sollte.

[0055] Kürzliche Studien legen nahe, dass NF-κB auch eine kritische Rolle bei der Pathogenese der entzündlichen Verdauungstrakterkrankungen (IBD) spielen kann. Aktiviertes NF-κB wird bei Biopsieproben aus dem Colon von Patienten mit Morbus Crohn und Colitis ulcerosa beobachtet (Ardite et al., 1998; Rogler et al., 1998; Schreiber et al., 1998). Die Aktivierung wird in der entzündeten Mucosa, jedoch nicht in der nicht entzündeten Mucosa deutlich (Ardite et al., 1998; Rogler et al., 1998) und ist mit einer erhöhten IL-8-mRNA-Expression an denselben Stellen assoziiert (Ardite et al., 1998). Weiterhin inhibiert eine Corticosteroid-Behandlung die intestinale NF-κB-Aktivierung stark und reduziert die Colon-Entzündung (Ardite et al., 1998; Schreiber et al., 1998). Wiederum würde vorhergesagt werden, dass eine Inhibition der IL-8-Produktion durch die Inhibition von NF-κB, wie durch diese Verbindungen demonstriert, für die entzündliche Verdauungstrakterkrankung günstig sein sollte.

[0056] Tiermodelle einer gastrointestinalen Entzündung stellen weitere Beweise für NF-κB als Schlüsselregulator der Colon-Entzündung bereit. Eine erhöhte NF-κB-Aktivität wird in Lamina propria-Macrophagen bei einer 2,4,6-Trinitrobenzolsulfonsäure(TNBS)-induzierten Colitis bei Mäusen beobachtet, wobei p65 eine Hauptkomponente der aktivierten Komplexe ist (Neurath et al., 1996; Neurath und Pettersson, 1997). Eine lokale Verabreichung von p65-Antisense hebt die Zeichen der etablierten Colitis bei den behandelten Tieren ohne Zeichen einer Toxizität auf (Neurath et al, 1996; Neurath und Pettersson, 1997). Also solches würde man vorhersagen, dass kleine Molekülinhibitoren von NF-κB bei der Behandlung von IBD nützlich sein würden.

[0057] Weitere Beweise für eine Rolle von NF-κB bei entzündlichen Störungen ergeben sich aus Studien der rheumathoiden Gelenkhaut. Obwohl NF-κB üblicherweise als inaktiver cytoplasmatischer Komplex vorliegt, haben kürzliche immunhistochemische Studien angezeigt, dass NF-κB in den Kernen vorliegt und daher aktiv ist bei den Zellen, die die menschliche rheumathoide Gelenkhaut umfassen (Handel et al., 1995; Marok at al., 1996; Sioud et al., 1998) wie auch bei Tiermodellen der Erkrankung (Tsao et al., 1997). Die Färbung ist mit Typ A-Synoviocyten und dem vaskulären Endothel assoziiert (Marok et al. 1996). Weiterhin wird eine konstitutive Aktivierung von NF-κB bei kultivierten Synoviocyten beobachtet (Roshak et al., 1996; Miyazawa et al., 1998) wie auch bei Gelenkhautzellkulturen, die mit IL-1β oder TNFα stimuliert werden (Roshak et al., 1996; Fujisawa et al., 1996; Roshak et al., 1997). So kann die Aktivierung von NF-κB der erhöhten Cytokinproduktion zu Grunde liegen wie auch den Leukozyteninfiltrationscharakteristika der entzündeten Gelenkhaut. Die Fähigkeit dieser Verbindungen, NF-κB und dadurch die Produktion pro-entzündlicher Mediatoren (z.B. von Cytokinen und Prostanoiden) durch diese Zellen zu inhibieren, sollte demnach von Nutzen bei rheumathoider Arthritis sein.

Biologische Assays:

[0058] Die Verbindungen dieser Erfindung können in einem von etlichen biologischen Assays überprüft werden, um die Konzentration der Verbindung zu bestimmen, die benötigt wird, um einen gegebenen pharmakologischen Effekt zu erreichen.

[0059] Die NF-κB-Aktivität kann auch in elektrophoretischen Mobilitäts-Shiftassays (EMSA) gemessen werden, um die Gegenwart von NF-κB-Protein im Kern zu bewerten. Die Zellen von Interesse werden auf eine Dichte von 1×10^6 Zellen/mL kultiviert. Die Zellen werden durch Zentrifugation geerntet, in PBS ohne Ca^{2+} und Mg^{2+} gewaschen und in PBS mit Ca^{2+} und Mg^{2+} bei 1×10^7 Zellen/mL resuspendiert. Um die Wirkung der Verbindung auf die Aktivierung von NF-κB zu überprüfen, werden die Zellsuspensionen mit verschiedenen Konzentrationen von Arzneimittel oder Vehikel (DMSO, 0,1%) 30 Minuten bei 37°C vor einer Stimulierung mit

TNF-α (5,0 ng/mL) für zusätzliche 15 Minuten behandelt. Zelluläre und nukleäre Extrakte werden wie folgt hergestellt. Kurz gefasst werden zum Ende der Inkubationsperiode die Zellen (1 × 10^7 Zellen) 2 × in PBS ohne Ca^{2+} und Mg^{2+} gewaschen. Die resultierenden Zellpellets werden in 20 µL Puffer A (10 mM Hepes (pH 7,9), 10 mM KCl, 1,5 mM $MgCl_2$, 0,5 mM Dithiothreitol (DTT) und 0,1% NP-40) resuspendiert und 10 Minuten auf Eis inkubiert. Die Kerne werden durch Mikrozentrifugation bei 3500 UpM für 10 Minuten bei 4°C pelletisiert. Der resultierende Überstand wird als zellulärer Extrakt gesammelt und das nukleäre Pellet in 15 µL Puffer C (20 mM Hepes (pH 7,9), 0,42 M NaCl, 1,5 mM $MgCl_2$, 25% Glycerol, 0,2 mM EDTA, 0,5 mM DTT und 0,5 mM Phenylmethylsulphylfluorid (PMSF)) resuspendiert. Die Suspensionen werden vorsichtig 20 Minuten bei 4°C gemischt, dann bei 14000 UpM für 10 Minuten bei 4°C mikrozentrifugiert. Der Überstand wird gesammelt und auf 60 µL mit Puffer D (20 mM Hepes (pH 7,9), 50 mM KCl, 20% Glycerol, 0,2 mM EDTA, 0,5 mM DTT und 0,5 mM PMSF) verdünnt. Alle Proben werden bei –80°C bis zur Analyse gelagert. Die Proteinkonzentration der Extrakte wird gemäß dem Verfahren von Bradford (Bradford 1976) mit BioRad-Reagentien bestimmt.

[0060] Die Wirkung der Verbindungen auf die Transkriptionsfaktoraktivierung wird in einem elektrophoretischen Mobilitäts-Shiftassay (EMSA) unter Verwendung von nukleären Extrakten von behandelten Zellen wie oben beschrieben bewertet. Die doppelsträngigen NF-κB-Konsensus-Oligonukleotide (5'-AGTTGAGGGGACTTTCCCAGGC-3') werden mit T_4-Polynukleotidkinase und [g-^{32}P]ATP markiert. Die Bindungsmischung (25 µL) enthält 10 mM Hepes-NaOH (pH 7,9), 4 mM Tris-HCl (pH 7,9), 60 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM Dithiotreitol, 10% Glycerol, 0,3 mg/mL Rinderserumalbumin und 1 µg Poly(dI-dC)·poly(dI-dC). Die Bindungsmischungen (10 µg nukleäres Extraktprotein) werden 20 Minuten bei Raumtemperatur mit 0,5 ng ^{32}P-markiertem Oligonukleotid (50.000-100.000 cpm) in Gegenwart oder Abwesenheit von nicht markiertem Kompetitor inkubiert, woraufhin die Mischung auf ein 4% Polyacrylamidgel, hergestellt in 1 × Trisborat/EDTA geladen und bei 200 V für 2 Stunden elektrophoretisch aufgeschlossen wird. Folgend auf die Elektrophorese werden die Gels getrocknet und belichtet, um den Nachweis der Bindungsreaktion aufzunehmen.

[0061] Die Wirkung der Verbindungen auf die Phosphorylierung von IκB kann in einem Western Blot überwacht werden. Zelluläre Extrakte werden einer Natriumdodecylsulphatpolyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) auf 10% Gels (BioRad, Hercules, CA) unterworfen und die Proteine auf Nitrocellulosesheets (Hybond^{Tm}-ECL, Amersham Corp., Arlington Heights, IL) übertragen. Immunoblot-Assays werden unter Verwendung eines polyklonalen Kaninchenantikörpers durchgeführt, der gegen IκBα oder IκBβ gerichtet ist, gefolgt von einem Peroxidase-konjugierten Esel-anti-Kaninchen-sekundären Antikörper (Amersham Corp., Arlington Heights, IL). Immunreaktive Banden werden unter Verwendung des Enhanced Chemiluminescence(ECL)-Assaysystems nachgewiesen (Amersham Corp., Arlington Heights, IL).

[0062] Die Assays im Hinblick auf die IκB-Kinasen werden wie folgt durchgeführt: IKK-α wurde als Hexa-Histidin-Tag-Protein in Baculovirusinfizierten Insektenzellen exprimiert und über eine Ni-NTA-Affinitätssäule gereinigt. Die Kinaseaktivität wurde unter Verwendung von 50 ng gereinigtem Protein in Assaypuffer (20 mM Hepes, pH 7,7, 2 mM $MgCl_2$, 1 mM $MnCl_2$, 10 mM β-Glycerophosphat, 10 mM NaF, 10 mM PNPP, 0,3 mM Na_3VO_4, 1 mM Benzamidin, 2 µM PMSF, 10 µg/ml Aprotinin, 1 µg/mL Leupeptin, 1 µg/mL Pepstatin, 1 mM DTT), enthaltend verschiedene Konzentrationen der Verbindung oder DMSO-Vehikel und ATP wie angegeben (Pharmacia Biotech Inc., Piscataway, NJ) überprüft. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 200 ng IκB-GST (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA) in einem Gesamtvolumen von 50 µL begonnen. Man ließ die Reaktion für eine Stunde bei 30°C fortschreiten, woraufhin die Reaktion durch Zugabe von EDTA auf eine Endkonzentration von 20 mM beendet wurde. Die Kinaseaktivität wurde durch einen Dissoziationsverstärkten Lanthanid-Fluoreszenz-Immunassay (Wallac Oy, Turku, Finnland) und Verwendung eines Phospho-IκB-α (Ser32)-Antikörpers (New England Biolabs, Inc., Beverly, MA) und eines Eu^{3+}-markierten Anti-Kaninchen-IgGs (Wallac Oy, Turku, Finnland) bestimmt. Die Platten wurden in einem VICTOR 1420 Multilabel Counter (Wallac) abgelesen, wobei ein Standard Europium-Protokoll verwendet wurde (Anregung 340 nm, Emission 615 nm; Fluoreszenz für 400 µs nach einer 400 µs Verzögerung gemessen). Die Daten werden als Fluoreszenz (cps)-Einheiten ausgedrückt.

[0063] BKK-β wurde als GST-tagged Protein exprimiert und seine Aktivität in einem Scintillationsproximitätsassay mit 96 Vertiefungen (SPA) bewertet. Kurz gefasst wurde IKK-β in einem Assaypuffer wie oben beschrieben (20 nM final) mit verschiedenen Konzentrationen von Verbindung oder DMSO-Vehikel, 240 nM ATP und 200 nCi[γ-^{33}P]-ATP (10 mCi/mL, 2000 Ci/mmol; NEN Life Science Products, Boston, MA) verdünnt. Die Reaktion wurde durch Zugabe eines biotinylierten Peptids, umfassend die Aminosäuren 15-46 von IκB-α (American Peptide) auf eine Endkonzentration von 2,4 µM begonnen, in einem Gesamtvolumen von 50 µL. Die Probe inkubierte eine Stunde bei 30°C, gefolgt von Zugabe von 150 µL Stopppuffer (PBS w/o Ca^{2+}, Mg^{2+}, 0,1% Triton X-100 (V/V), 10 mM EDTA), enthaltend 0,2 mg Streptavidin-beschichtete SPA PVT-Kügelchen (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). Die Probe wurde gemischt, 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert,

zentrifugiert (1000 xg, 2 Minuten) und auf einem Hewlett-Packard TopCount gemessen.

[0064] Zusätzlich wird die IKK-β- oder IKK-α-Aktivität durch Phosphorylierung von rekombinantem GST-IκBα unter Verwendung eines zeitaufgelösten Fluoreszenzresonanzenergietransfers (TR-FRET) in Mikrotiterplatten mit 384 Vertiefungen gemessen. Kurz gefasst wird IKK-β oder IKK-α in Assaypuffer (50 mM HEPES, pH 7,4, enthaltend 10 mM Magnesiumchlorid, 1 mM CHAPS, 1 mM DTT und 0,01% G/V BSA) auf eine 5 nM Endkonzentration verdünnt. Dies wird zu verschiedenen Konzentrationen der Verbindung oder des DMSO-Vehikels zugefügt und die Reaktion durch Zugabe von 25 nM GST-IκBα und 1 μM ATP in Assaypuffer auf ein Volumen von 30 μL begonnen. Nach 30-minütiger Inkubation bei Umgebungstemperatur wurde die Reaktion durch Zugabe von 50 mM pH 7,4 EDTA (15 μL) beendet. Der Nachweis des phosphorylierten Produkts wurde durch Zugabe eines LANCE Europiumchelat-markierten spezifischen Antiphosphoserin-monoklonalen Antikörpers bei 0,5 nM Endkonzentration (Cell signalling Technology via Perkin Elmer) und Allophycocyanin-markiertem Anti-GST-Antikörper bei 10 nM Endkonzentration (Prozyme) erreicht, um ein Endvolumen von 60 μL ergeben. Nach weiterer Inkubation bei Umgebungstemperatur für mindestens 30 Minuten wurde das Signal auf einem Perkin Elmer Discovery Fluorimeter abgelesen.

[0065] Die Wirkung von IKK-β-Inhibitoren auf die primäre Synovialfibroplastmediatorproduktion wurde wie folgt bewertet: Primäre Kulturen von menschlichem RSF wurden durch enzymatischen Verdau von Gelenkhaut, erhalten von erwachsenen Patienten mit rheumathoider Arthritis wie vorher beschrieben (Roshak et al., 1996b), erhalten. Die Zellen wurden in Earl's Minimal Essential Medium (EMEM) bei 37°C und 5% CO_2 kultiviert, das 10% fötales Rinderserum (FBS), 100 Einheiten/ml Penicillin und 100 μg/Streptomycin (GIBCO, Grand Island, NY) enthielt. Die Kulturen wurden in den Passagen 4 bis 9 verwendet, um eine einheitlichere B-Fibroblastenpopulation zu erhalten. Für einige Studien wurden die Fibroblasten mit 5×10^4 Zellen pro ml in 16 mm (Durchmesser) Platten mit 24 Vertiefungen (Costar, Cambridge, MA) ausplattiert. Die Zellen (70-80% Konfluenz) wurden gegenüber IL-1β (ing/mL) (Genzyme, Cambridge, MA) für die festgelegte Zeit ausgesetzt. Arzneimittel in DMSO-Vehikel (1%) wurden den Zellkulturen 15 Minuten vor der Zugabe von IL-1 zugefügt. Die Studien wurden 3 bis 4 mal unter Verwendung von Synovialzellen von unterschiedlichen Spendern durchgeführt. Zelluläre RSF-Extrakte wurden aus den wie oben beschrieben behandelten Zellen hergestellt. Kurz gefasst wurde menschliche RSF durch Trypsin/EDTA entfernt, gewaschen und durch Zentrifugation geerntet. Zelluläre Extrakte wurden wie früher beschrieben hergestellt (Dignam et al., 1983; Osborn et al., 1989). Kurz gefasst wurden nach Abschluss der Inkubationszeitspanne die Zellen (1×10^7 Zellen) 2 × in PBS ohne Ca^{2+} und Mg^{2+} gewaschen. Die resultierenden Zellpellets wurden in 2 μL Puffer A resuspendiert (10 mM Hepes (ph 7,9), 10 mM KCl, 1,5 mM $MgCl_2$, 0,5 mM).

[0066] Die Wirkung der IKK-β-Inhibition auf die menschliche Monozytenstimulierte Eicosanoid- und Cytokin-Produktion wurde wie folgt bewertet: Die Monozyten wurden aus mit Heparin behandeltem Gesamtblut durch eine Doppelgradientenzentrifugation wie früher beschrieben isoliert. Isolierte Monozyten-angereichterte PBMCs wurden dann an Kulturplatten mit 24 Vertiefungen mit 2×10^6 Zellen pro ml in RPMI 1640, 10% FBS (Hyclone, Logan, Utah) für 2 Stunden angehaftet, um die Monozytenpopulation weiter anzureichern. Die Medien wurden dann entfernt, die Zellen einmal mit RPMI 1640 gewaschen und 1 ml RPMI 1640 10% FBS wurde den Vertiefungen zugefügt. Die Testverbindungen wurden den Vertiefungen mit einer endgültigen Vehikelkonzentration von 0,05% DMSO zugefügt. Die Monozyten wurden durch die Zugabe von 200 ng/mL Endotoxin (LPS; E. coll Serotyp 026:B6) (Sigma, St. Louis, MO) aktiviert und 24 Stunden inkubiert. Zellfreie Überstände wurden durch ELISA im Hinblik auf TNF-α (EIA entwickelt bei SB), PGE_2 (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI) und IL-8 und IL-6 (Biosource International Camarillo CA) analysiert. Die Lebensfähigkeit der Zellen wurde durch einen Trypan-Blauausschluss bestimmt.

[0067] Die Wirkung der IKK-β-Inhibitoren auf eine Phorbol-Ester-induzierte Entzündung wurde wie folgt bewertet: Die durch die kutane Anwendung von Phorbol-Ester (PMA) auf die externen Pinnae von Balb/c-Mäusen induzierte entzündliche Reaktion hat sich als nützliches Modell zur Untersuchung einer multifaktoriellen entzündlichen Zellinfiltration und einer entzündlichen Veränderung der Epidermis erwiesen. Die intensive entzündliche Läsion wurde durch eine neutrophile Infiltration dominiert, die einfach durch eine Messung der Gewebskonzentration der Myeloperoxidase, einem azuriphilen granulären Enzym, das in Neutrophilen vorliegt, quantifiziert werden kann. Zusätzlich kann die Gesamtintensität der entzündlichen Reaktion durch Bestimmung der Ohrdicke gemessen werden. Balb/c-Mäuse (n = 6/Gruppe) wurden mit Arzneimittel oder einem Vehikel behandelt, gefolgt von PMA (4 μg/Ohr). Die Mäuse wurden 4 Stunden später geopfert, die Ohrdicke bestimmt und die NF-κB-Aktivierung durch IκBα-Western oder EMSA-Analyse überwacht.

[0068] Die Wirkung von IκB-Inhibitoren auf ein Ratten-Carrageen-induziertes Pfotenödem wurde wie folgt bewertet: Männliche Louis-Ratten (Charles River-Raleigh, NC) wurden in Käfigen gehalten und man ermöglichte

ihnen freien Zugang zu Nahrungsmitteln und Wasser und sie wogen zwischen 200 und 275 g für jedes Experiment. Verbindung oder Vehikel (0,5% Tragacanth (p.o.) oder 10% DMSO, 5% DMA, 30% Cremophor (i.p.)) wurden 30 Minuten bis eine Stunde vor der Carrageen-Injektion verabreicht. Das ödem wurde durch Injektion von 1% Carrageen in sterilem dH_2O (0,05 ml/Pfote) in die plantare Oberfläche der rechten Hinterpfote induziert. Die Pfotendicke wurde vor der Verabreichung der Verbindung oder des Vehikels und wiederum nach 3 Stunden gemessen, um eine Veränderung des Pfotenvolumens zu bestimmen. Die Ratten wurden durch CO_2-Inhalation euthanasiert und die rechte Hinterpfote wurde entfernt, sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren und bei –80°C für die Analyse gelagert.

[0069] Um die Wirkungen eines IKK-2-Inhibitors bei der Mauscollageninduzierten Arthritis(CIA)-Modell zu bestimmen, wurden 12 männliche DBA/1-Mäuse (20-22 g) pro Behandlungsgruppe am Tag 0 mit einer Gesamtheit von 100 µL kompletten Freund's Adjuvans (CFA) enthaltend 200 µg bovines Typ 2-Collagen immunisiert. Am Tag 21 wurden die Mäuse mit 100 µL Phosphatgepufferter Salzlösung (PBS), enthaltend 200 µg bovines Typ 2-Collagen Antigen-ausgesetzt (die 100 mL Collagen/CFA oder Collagen/PBS wurden subkutan in den Schwanz injiziert). Der IKK2-Inhibitor im Vehikel oder Vehikel allein wurde 2 × täglich von den Tagen 1 bis 40 intraperitoneal verabreicht (die Erkrankungssysteme werden beginnend an den Tagen 25 bis 28 deutlich). Zwei zusätzliche Behandlungsgruppen beinhalteten die positive Kontrolle Etanercept (Enbrel) (4 mg/kg, intraperitoneal, jeden 2. Tag) und das Etanercept-Vehikel (PBS). Die Mäuse wurden täglich bis zum Tag 50 in Hinblick auf klinische Symptome (siehe unten) bewertet und die Pfotendicken wurden gemessen. Zusätzlich zu den 12 Mäusen pro Behandlungsgruppe, die während des Experiments überwacht wurden, wurden an etlichen Zeitpunkten während des Verlaufs der Erkrankung Satellitenmäuse (3 bis 5 pro Behandlungsgruppe), die wie oben beschrieben behandelt wurden, verwendet, um die Cytokin/Chemokin-Niveaus zu messen, wie auch die p65-Niveaus in der Pfote, die ex vivo Antigen-Recall-Reaktion durch Drainage der Lymphknoten-Zellen/Splenocyten und histologische Veränderungen im Gelenk.

Induktion der Arthritis

[0070] AIA wird durch eine einzelne Injektion von 0,75 mg Mycobacterium butyricum (Difco, Detroit MI), suspendiert in Paraffinöl, in die Basis des Schwanzes von männlichen Lewis-Ratten in einem Alter von 6 bis 8 Wochen (160-180 g) induziert. Die Hinterpfotenvolumina werden durch ein Wasserersatzverfahren am Tag 16 und/oder Tag 20 gemessen. Die Testverbindungen wurden in einem geeigneten Vehikel homogenisiert und durch einen geeigneten Weg verabreicht. Den Kontrolltieren wird Vehikel allein verabreicht. Zwei Dosierungsprotokolle werden allgemein verwendet: Eine prophylaktische Dosierung, die am Tag der Adjuvansinjektion begonnen wird, und eine therapeutische Verabreichung, die am Tag 10 begonnen wird, sobald die Entzündung etabliert ist.

Klinische Einteilung

[0071] Jede Pfote wurde einer Bewertung im Bereich von 0 bis 4 zugeordnet, basierend auf den folgenden Kriterien:
0 = keine Entzündung
1 = ein geschwollener Zeh
2 = etliche geschwollene Zehen, leichtes Pfotenanschwellen
3 = etliche geschwollene Zehen, moderates Pfotenanschwellen
4 = alle Zehen geschwollen, deutliches Pfotenanschwellen

Beispiele und Experimenteller Teil

Allgemeines

[0072] Kernmagnetresonanzspektren wurden bei entweder 250, 300 oder 400 MHz unter Verwendung von jeweils einem Bruker AM 250, Bruker ARX 300 oder Bruker AC 400 Spektrometer aufgezeichnet. $CDCl_3$ ist Deuteriochloroform, DMSO-d_6 ist Hexadeuteriodimethylsulfoxid und CD_3OD ist Tetradeuteriomethanol. Die chemischen Shifts werden in Teilen pro Million (d) Downfield vom internen Standard Tetramethylsilan berichtet. Abkürzungen für die NMR-Daten sind wie folgt: s = Singlett, d = Doublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, dd = Doublett von Doubletts, dt = Doublett von Tripletts, app = anscheinend, br = breit. J zeigt die NMR-Kopplungskonstante, gemessen in Hz an. Kontinuierliche Welleninfrarot(IR)-Spektren wurden auf einem Perkin-Elmer 683 Infrarotspektrometer aufgezeichnet und die Fourier Transforminfrarot(FTIR)-Spektren wurden auf einem Nicolet Impact 400 D-Infrarotspektrometer aufgezeichnet. Die IR- und FTIR-Spektren wurden im Transmissionsmodus aufgezeichnet und die Bandenpositionen in den inversen Wellenzahlen (cm^{-1}) ange-

geben. Die Massenspektren wurden auf entweder VG 70 FE, PE Syx API III oder VG ZAB HF unter Verwendung von Fast Atom Bombardment(FAB)- oder Electrospray(ES)-Ionisierungstechniken aufgenommen. Die Elementaranalysen wurden unter Verwendung eines Perkin-Elmer 240C-Elementaranalysators erhalten. Die Schmelzpunkte wurden auf einem Thomas-Hoover-Schmelzpunktapparat genommen und sind nicht korrigiert. Alle Temperaturen werden in °C angegeben.

[0073] Analtech Silica Gel GF und E. Merck Silica Gel 60 F-254-Dünnschichtplatten wurden für die Dünnschichtchromatographie verwendet. Sowohl Flash- als auch Schwerkraftchromatographie wurden auf einem E. Merck Kieselgel 60 (230-400 mesh)-Silicagel durchgeführt.

[0074] Wo angegeben, wurden bestimmte Materialien von Aldrich Chemical Co., Milwaukee, Wisconsin, TCI America, Portland, OR erworben.

[0075] Die obige Beschreibung offenbart die Erfindung vollständig einschließlich ihrer bevorzugten Ausführungsformen. Modifikationen und Verbesserungen der Ausführungsformen, die hier spezifisch offenbart sind, liegen im Umfang der folgenden Ansprüche. Ohne weitere Ausführungen wird angenommen, dass ein Fachmann auf dem Gebiet unter Verwendung der vorstehenden Beschreibung die vorliegende Erfindung in ihrem gesamten Ausmaß verwenden kann. Daher sollen die hier dargestellten Beispiele nur als illustrativ und nicht als den Umfang der vorliegenden Erfindung auf irgendeine Weise begrenzend ausgelegt werden. Die erfindungsgemäßen Ausführungsformen, worin ein exklusiver Besitz oder ein Privileg beansprucht wird, werden wie folgt definiert:

Beispiel 1

2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamidtrifluoracetat

[0076] Morpholin (1 mL) wurde tröpfchenweise zu einer gerührten Lösung aus Cyanoacetamid (0.84 g, 0.01 mol), Schwefel (0,36, 0,012 mol) und 2-Indanon (1,32 g, 0,01 mol) in absolutem Ethanol (5 ml) zugefügt. Die resultierende Lösung wurde über Nacht bei 60°C gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt und der Rest in Ethylacetat (10 mL) aufgenommen, mit Wasser (2 × 10 mL) und Sole (10 mL) gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulphat getrocknet, gefiltert und im Vakuum konzentriert, um einen dunkelbraunen Feststoff zu ergeben. Das Produkt wurde dann auf einer Gilson präparativen HPLC (YMC HPLC-Säule, 50 × 20 mm I.D., s-5 µm, 120 Å; Gradientenelution, 0,1% TFA in Acetonitril: 0,1% wässriges TFA, 10:90 bis 90:10, 10 min) zum Erhalt der Titelverbindung als braunen Feststoff (100 mg, 0,435 mmol, 4,3% Ertrag) gereinigt. ESMS m/z: 231 $[M+H]^+$.

Beispiel 2

2-Ureido-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0077] Chlorsulfonylisocyanat (0,025 g, 0,17 mL) wurde tröpfchenweise zu einer gerührten Lösung von 2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamidtrifluoracetat (0,040 g, 0,17 mmol) in trockenem Dichlormethan (2 mL) zugefügt. Die resultierende Reaktionsmischung wurde unter Stickstoff 30 Minuten gerührt. Wasser (0,5 mL) wurde dann der Reaktionsmischung zugefügt und man ließ die Reaktionsmischung zusätzliche 10 Minuten rühren, bevor das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt wurde. Der Rest wurde dann auf einer Gilson präparativen HPLC (YMC HPLC-Säule, 50 × 20 mL I.D., s-5 µm, 120 Å; Gradientenelution, 0,1% TFA in Acetonitril: 0,1% wässriges TFA, 10:90 bis 90:10, 10 min) gereinigt, um die Titelverbindung als braunen Feststoff zu ergeben (0,020 g, 0,435 mmol, 43,5% Ertrag). ESMS m/z: 274 $[M+H]^+$.

Beispiel 3

2-Acetylamino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0078] Acetylchlorid (0,039 g, 0,5 mmol) wurde tröpfchenweise zu einer gerührten Lösung aus 2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid (0,115 g, 0,5 mmol) in trockenem Pyridin (3 mL) bei Raumtemperatur zugefügt. Die resultierende Reaktionsmischung wurde unter Stickstoff 2 Stunden gerührt. Ethylether (20 mL) wurde dann der Reaktionsmischung zugefügt. Man ließ die Reaktionsmischung zusätzliche 10 Minuten rühren. Die Reaktionsmischung wurde dann gefiltert, mit überschüssigem Ethylether gewaschen, an Luft getrocknet, um die Titelverbindung als hellbraunen Feststoff zu ergeben (0,082 g, 0,435 mmol, 60,3% Ertrag). ESMS m/z: 273 $[M+H]^+$.

Beispiel 4

2-Amino-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0079] Die Titelverbindung wurde durch dasselbe Verfahren wie in Beispiel 1 hergestellt, außer dass 2-Indanon durch Beta-tetralon ersetzt wurde, um die obige Titelverbindung als braunen Feststoff zu ergeben. ESMS m/z: 245 $[M+H]^+$.

Beispiel 5

2-Acetylamino-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0080] Die Titelverbindung wurde durch dasselbe Verfahren wie in Beispiel 3 hergestellt, außer dass 2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid durch 2-Amino-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid ersetzt wurde, um die obige Titelverbindung als braunen Feststoff zu ergeben. ESMS m/z: 287 $[M+H]^+$.

Beispiel 6

2-Ureido-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0081] Die Titelverbindung wurde durch dasselbe Verfahren wie in Beispiel 2 hergestellt, außer dass 2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid durch 2-Amino-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b)thiophen-3-carbonsäureamid ersetzt wurde, um die obige Titelverbindung als braunen Feststoff zu ergeben. ESMS m/z: 288 $[M+H]^+$.

Beispiel 7

2-Amino-8-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureaamidtrifluoracetat

[0082] Die Titelverbindung wurde durch dasselbe Verfahren wie in Beispiel 1 hergestellt, außer dass 2-Indanon durch 7-Methoxy-2-tetralon ersetzt wurde, um die obige Titelverbindung als hellgrauen Feststoff zu ergeben. ESMS m/z: 275 $[M+H]^+$.

Beispiel 8

8-Methoxy-2-ureido-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0083] Die Titelverbindung wurde durch dasselbe Verfahren wie in Beispiel 2 hergestellt, außer dass 2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid durch 2-Amino-8-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäreamid ersetzt wurde, um die obige Titelverbindung als braunen Feststoff zu ergeben. ESMS m/z: 318 $[M+H]^+$.

Beispiel 9

2-Amino-7-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0084] Morpholin (0,57 mL) wurde tröpfchenweise zu einer gerührten Lösung aus Cyanoacetamid (0,48 g, 5,7 mmol), Schwefel (0,20, 6,24 mmol) und 6-Methoxy-2-tetralon (1,00 g, 5,7 mmol) in absolutem Ethanol (3 mL) zugefügt. Die resultierende Lösung wurde über Nacht bei 70°C gerührt. Das Lösungsmittel wurde dann im Vakuum entfernt und der Rest in Ethylacetat (10 mL) aufgenommen, mit Wasser (2 × 10 mL) und Sole (10 mL) gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulphat getrocknet, gefiltert und im Vakuum konzentriert, um ein dunkelbraunes Öl zu ergeben. Das restliche Öl wurde durch Flashchromatographie (Silicagel, 75% Athylacetat/Hexan) gereinigt, um die Titelverbindung als hellgrauen Feststoff (0,12 g, 0,437 mmol, 7,6% Ertrag) zu ergeben. ESMS m/z: 318 $[M+H]^+$.

Beispiel 10

2-Acetylamino-7-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0085] Die Titelverbindung wurde durch dasselbe Verfahren wie in Beispiel 3 hergestellt, außer dass 2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid durch 2-Amino-7-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid ersetzt wurde, um die obige Titelverbindung als hellgrauen Feststoff zu ergeben. ESMS m/z: 317 $[M+H]^+$.

Beispiel 11

2-Amino-7-brom-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0086] Die Titelverbindung wurde durch dasselbe Verfahren wie in Beispiel 9 hergestellt, außer dass 6-Methoxy-2-tetralon durch 6-Brom-2-tetralon ersetzt wurde, um die obige Titelverbindung als hellgrauen Feststoff zu ergeben. ESMS m/z: 324 $[M+H]^+$.

Beispiel 12

2-Acetylamino-7-brom-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0087] Die Titelverbindung wurde durch dasselbe Verfahren wie in Beispiel 3 hergestellt, außer dass 2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid durch 2-Amino-7-brom-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid ersetzt wurde, um die obige Titelverbindung als hellgrauen Feststoff zu ergeben. ESMS m/z: 366 $[M+H]^+$.

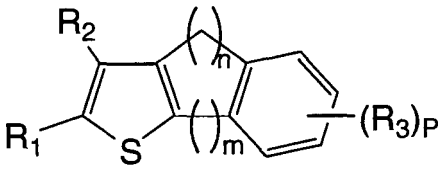
Beispiel 13

7-Brom-2-ureido-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid

[0088] Die Titelverbindung wurde durch dasselbe Verfahren wie in Beispiel 2 hergestellt, außer dass 2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid durch 2-Amino-7-brom-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamidtrifluoracetat ersetzt wurde, um die obige Titelverbindung als braunen Feststoff zu ergeben. ESMS m/z: 367 $[M+H]^+$.

Patentansprüche

1. Verbindung der Formel (I):

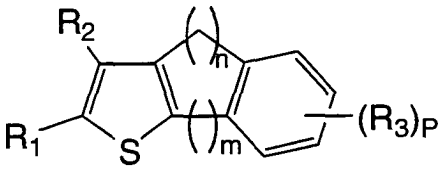


(I)

worin R_1 NR_4R_5 repräsentiert;
R_2 repräsentiert $CONH_2$ oder SO_2NH_2;
R_3 ist gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, CF_3, OCF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl, $(CH_2)_qNR_7R_8$, $O\text{-}(CH_2)_qNR_7R_8$ $(CH_2)_q$-Aryl, $O\text{-}(CH_2)_q$-Aryl, $(CH_2)_q$-Heteroaryl, $O\text{-}(CH_2)_q$-Heteroaryl, $(CH_2)_q$-Heteroalkyl, $O\text{-}(CH_2)_q$-Heteroalkyl und NO_2;
R_4 repräsentiert H oder C_{1-4}-Alkyl;
R_5 repräsentiert H oder $CONHR_6$;
R_6 ist gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Wasserstoff, Alkyl und Aryl;
R_7 repräsentiert C_{1-4}-Alkyl;
R_8 repräsentiert C_{1-4}-Alkyl;
m ist 0, 1, 2, oder 3;
n ist 0, 1, 2, oder 3;
p ist 1, 2 oder 3; und

q ist 1, 2, 3 oder 4;
worin:
jedes Alkyl optional durch Substituenten substituiert ist, gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Aryl, OH, O-Alkyl, CO, Halogen, CF_3 und OCF_3;
jedes Aryl ist optional substituiert durch Substituenten, gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, OCF_3, CF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl und NO_2; und
jedes Heteroaryl ist optional substituiert durch Substituenten, gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, OCF_3, CF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl und NO_2;
oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

2. Verbindung der Formel (Ia):



(Ia)

worin:
R_1 repräsentiert NR_4R_5;
R_2 repräsentiert $CONH_2$;
R_3 ist gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, CF_3, OCF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl, $(CH_2)_qNR_7R_8$, $O-(CH_2)_qNR_7R_8$, $(CH_2)_q$-Aryl, $O-(CH_2)_q$-Aryl, $(CH_2)_q$-Heteroaryl, $O-(CH_2)_q$-Heteroaryl, $(CH_2)_q$-Heteroalkyl, $O-(CH_2)_q$-Heteroalkyl und NO_2;
R_4 repräsentiert H;
R_5 repräsentiert $CONHR_6$;
R_6 repräsentiert H;
R_7 repräsentiert C_{1-4}-Alkyl;
R_8 repräsentiert C_{1-4}-Alkyl;
m ist 0;
n ist 1 oder 2;
p ist 1 oder 2; und
q ist 1, 2, 3, oder 4;
worin
jedes Alkyl optional durch Substituenten substituiert ist, gewählt aus der Gruppe bestehend aus Aryl, OH, O-Alkyl, CO, Halogen, CF_3 und OCF3;
jedes Aryl ist optional substituiert durch Substituenten, gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, OCF_3, CF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl und NO_2; und
jedes Heteroaryl ist optional substituiert durch Substituenten gewählt aus der Gruppe, bestehend aus Halogen, C_{1-4}-Alkyl, NH_2, OCF_3, CF_3, O-Alkyl, S-Alkyl, CN, CHO, SO_2-Alkyl und NO_2;
oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

3. Verbindung gemäß Anspruch 1, wobei die Verbindung gewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus: 2-Amino-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Ureido-4H-indeno[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Acetylamino-4H-indeno[1,2b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Amino-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Acetylamino-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Ureido-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Amino-8-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 8-Methoxy-2-ureido-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Amino-7-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Acetylamino-7-methoxy-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Amino-7-brom-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; 2-Acetylamino-7-brom-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; und 7-Brom-2-ureido-4,5-dihydro-naphtho[1,2-b]thiophen-3-carbonsäureamid; oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

4. Verwendung einer Verbindung gemäß Anspruch 1 für die Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung einer Erkrankung, charakterisiert durch eine pathologische NF-κB-Aktivierung.

5. Verwendung gemäß Anspruch 4, wobei die Erkrankung eine entzündliche oder Gewebsreparatur-Stö-

rung ist.

6. Verwendung gemäß Anspruch 4, wobei die Erkrankung gewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus rheumathoider Arthritis, entzündlicher Verdauungstrakterkrankung, Asthma und COPD (chronisch obstruktive Lungenerkrankung), Osteoarthritis, Osteoporose und fibrotischen Erkrankungen, Dermatose, einschließlich Psoriasis, Neurodermitis und Ultraviolett-Bestrahlungs(UV)-induzierten Hautschäden, Autoimmunerkrankungen einschließlich systemischem Lupus erythematosus, multipler Sklerose, Psoriasis-Artritis, ankylosierender Spondylitis, Gewebe- und Organabstoßung, Alzheimerscher Erkrankung, Schlaganfall, Atherosklerose, Restenose, Diabetes, Glomerulonephritis, Krebs, einschließlich Morbus Hodgkin, Cachexie, Entzündungen, die mit einem Infekt assoziiert sind, und bestimmte virale Infekte, einschließlich dem erworbenen Immundefizienzsyndrom (AIDS), dem respiratorischen Distresssyndrom bei Erwachsenen und einer Ataxia Telangiectasia.

7. Verbindung gemäß Anspruch 1 zur Verwendung in der Therapie.

8. Pharmazeutische Zusammensetzung, die eine Verbindung gemäß Anspruch 1 und einen pharmazeutisch annehmbaren Träger, ein Verdünnungsmittel oder ein Exzipiens umfasst.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen