

(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2004-531516

(P2004-531516A)

(43) 公表日 平成16年10月14日(2004.10.14)

(51) Int.C1.⁷

CO7C 281/18
A61K 31/15
A61K 49/00
A61P 1/14
A61P 15/00

F 1

CO7C 281/18
A61K 31/15
A61K 49/00
A61P 1/14
A61P 15/00

テーマコード(参考)

4C085
4C206
4H006

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 35 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-579418 (P2002-579418)
(86) (22) 出願日 平成14年4月5日 (2002.4.5)
(85) 翻訳文提出日 平成15年10月6日 (2003.10.6)
(86) 國際出願番号 PCT/GB2002/001593
(87) 國際公開番号 WO2002/081430
(87) 國際公開日 平成14年10月17日 (2002.10.17)
(31) 優先権主張番号 0108631.3
(32) 優先日 平成13年4月5日 (2001.4.5)
(33) 優先権主張国 英国(GB)

(71) 出願人 502270947
メラキュア セラピューティクス エーピ
ー
スウェーデン、エス-756 43 ウッ
プサラ、ウレレーカースヴェーゲン 38
(74) 代理人 110000040
特許業務法人池内・佐藤アンドパートナー
ズ
(72) 発明者 ルンドステット、トルビヨルン
スウェーデン、エス-756 55 ウッ
プサラ、グラネリドスヴェーゲン 7ビ
(72) 発明者 アンデルセン、ペール
スウェーデン、エス-191 42 サル
ントウナ、ピルヴェーゲン 80

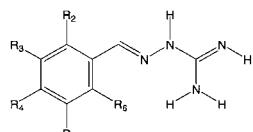
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】新規ベンジリデンアミノグアニジンおよびそれらのメラノコルチンレセプタリガンドとしての使用方法

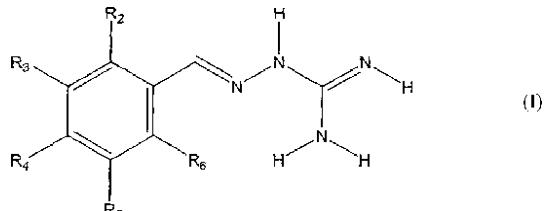
(57) 【要約】

本発明は、一般式

【化1】



式(1)



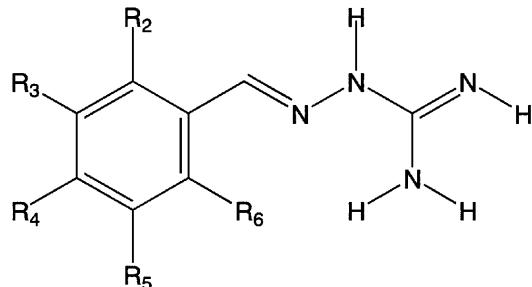
で表される新規ベンジリデンアミノグアニジンおよびそれらベンジリデンアミノグアニジンのメラノコルチンレセプターアゴニストまたはアンタゴニストとしての使用に関する。本発明は、さらに、MC1およびMC4メラノコルチンレセプターに対しアゴニストおよび/またはアンタゴニストとして選択性を示すベンジリデンアミノグアニジンに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一般式 (I) で表される化合物または薬理学的に活性なその塩。

【化 1】



10

式 (I)

式中、R₂は、ハロゲン、ヒドロキシ、メチル、メトキシまたはニトロ基から選択され、式中、R₃は、水素、ヒドロキシ、フルオロ、クロロまたはトリフルオロメチル基から選択され、

式中、R₄は、水素、ニトロ、ヨードまたはブロモ基から選択され、

20

式中、R₅は、水素、フルオロまたはエトキシ基から選択され、

式中、R₆は、水素、ニトロ、ブロモまたはメトキシ基から選択され、

かつ、

R₃、R₄、R₅、R₆のうち少なくとも一つは水素ではなく、

そして、R₄、R₅およびR₆が水素である場合は、R₂は、フルオロ、ブロモ、ヨード、ヒドロキシ、メチル、メトキシまたはニトロ基から選択され、

そして、R₄がニトロである場合は、R₂は、ハロゲン、メチルまたはメトキシ基から選択され、

そして、R₃がフルオロである場合は、R₂は、ハロゲン、メチル、メトキシまたはニトロ基から選択される。

30

【請求項 2】

R₆が水素である請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

R₅が水素である請求項 1 または 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

R₂がブロモまたはヨードである請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 5】

R₂がヨードである請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 6】

R₃がクロロである請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の化合物。

40

【請求項 7】

下記のうちいずれか一つの新規化合物または薬理学的に活性なその塩。

(化合物名)

N-(3-chloro-2-iodobenzylideneamino)guanidine

N-(3-Fluoro-2-Methyl-6-Nitrobenzylideneamino)guanidine

N-(2-chloro-3-Hydroxy-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine

N-(2,3-Dichloro-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine

N-(5-Ethoxy-2-Nitro-3-Trifluoromethylbenzylideneamino)guanidine

N-(2,6-Dibromobenzylideneamino)guanidine

N-(2-Bromo-4-iodobenzylideneamino)guanidine

50

N-(2,5-Difluorobenzylideneamino)guanidine
 N-(2,6-Dimethoxybenzylideneamino)guanidine
 N-(2,3-Dihydroxybenzylideneamino)guanidine
 N-(4-Bromo-2-iodobenzylideneamino)guanidine

【請求項 8】

標識または毒物をさらに含む請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 9】

前記標識が放射性の標識である請求項 8 に記載の化合物。

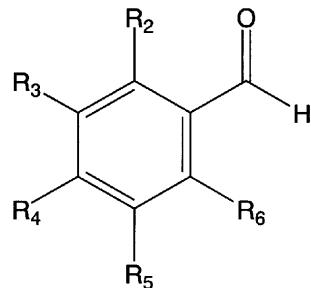
【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれかで定義される化合物を、一種類以上の補助剤 (adjuvants)、担体 (carriers) または賦形剤 (excipients) と共に含む薬学的組成物。 10

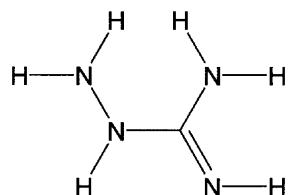
【請求項 11】

式 (II) で表される化合物を式 (III) で表される化合物またはその塩と反応させ、さらに必要に応じてその生成物の塩を形成させることを含む、請求項 1 に記載の化合物の製造方法。

【化 2】



式II



式III

20

式中、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆ は請求項 1 で定義した通りである。

【請求項 12】

30

薬剤として使用する請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 13】

メラノコルチン (melanocortin) レセプターおよび / もしくは - MSH またはそれらの関連系に関係する疾患 (diseases)、障害 (disorders) および / または病的状態 (pathological conditions) の治療用の、請求項 12 に記載の化合物。

【請求項 14】

メラノコルチンレセプターおよび / もしくは - MSH またはそれらの関連系に関係する疾患、障害および / または病的状態の in vivo 診断用の、請求項 12 に記載の化合物。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の化合物または請求項 10 に記載の組成物の有効量を患者に投与することを含む、前記患者のメラノコルチンレセプターおよび / もしくは - MSH またはそれらの関連系に関係する疾患、障害および / または病的状態の治療方法。 40

【請求項 16】

請求項 1 ~ 9 のいずれかで定義される化合物または請求項 10 に記載の組成物の使用または投与を含む、メラノコルチンレセプターおよび / もしくは - MSH またはそれらの関連系に関係する疾患、障害および / または病的状態の in vivo 診断方法。

【請求項 17】

メラノコルチンレセプターおよび / もしくは - MSH またはそれらの関連系に関係する疾患、障害および / または病的状態の治療用薬剤を製造するために、請求項 1 ~ 9 のいずれかで定義される化合物を使用する方法。

40

50

【請求項 18】

メラノコルチンレセプターおよび／もしくは - MSHまたはそれらの関連系に関係する疾患、障害および／または病的状態の *in vivo* 診断用薬剤を製造するために、請求項 1～9 のいずれかで定義される化合物を使用する方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、新規ベンジリデンアミノグアニジンに関する。より具体的には、本発明は、メラノコルチンレセプターに働くベンジリデンアミノグアニジンおよびそれらのメラノコルチンレセプター-アゴニストまたはアンタゴニストとしての使用方法に関する。さらに、本発明は、MC1およびMC4メラノコルチンレセプターに対しアゴニストおよび／またはアンタゴニストとして選択性を示すそれら新規ベンジリデンアミノグアニジンに関する。

10

【背景技術】**【0002】**

従来技術において、メラノコルチン (MC) レセプターに対し高度に特異的な結合を示す大分子量の直鎖状および環状ペプチドが多数知られている。これらペプチドの作動的 (agonistic) および／または拮抗的 (antagonistic) 特性もまた公知である。例えば、Dooley, Gritten および Houghten による "Melanocortin Receptor ligands and methods of using same" (WO 99/21571) をご参照いただきたい。メラノコルチンレセプターに対し活性を示す小分子を含む二件の特許出願 (WO 99/55679 および WO 99/64002) が公開されている。しかしながら、本出願の化合物は、これまでに公開されたメラノコルチニアゴニストとは構造が異なり、そして、それゆえに、予期せぬ効果が観測される。

20

【0003】

この技術分野でこれまでに知られているのは、キサンタンオキシダーゼ／キサンタンデヒドロゲナーゼ酵素に対する活性が証明されているヒドロキシグアニジン (例えば WO98/23267) である。他の当業者公知の化合物は、抗鬱効果を示しているベンジリデンアミノグアニジン (US 4060640) である。その他の当業者公知の薬理学的活性グアニジンの例は、特許 US3982020 および GB1223491 に述べられている。その他の適用領域もまた当業者公知であり、そして、特許 DE1165013 および US3941825 に述べられている。グアナベンズは、抗高血圧薬として当業者周知の化合物である (US Pharmacopeia, 1999, The United States Pharmacopeial Convention, Inc, ISBN 1-889788-03-1)。グアナベンズは構造的に本発明の化合物と同様に見えるであろうが、メラノコルチンレセプターに対し親和性を示さない。したがって、本発明のベンジリデンアミノグアニジン化合物がメラノコルチンレセプターに対しアゴニストおよび／またはアンタゴニストとして親和性を示すということは大変驚くべきことである。

30

【発明の開示】**【発明が解決しようとする課題】****【0004】**

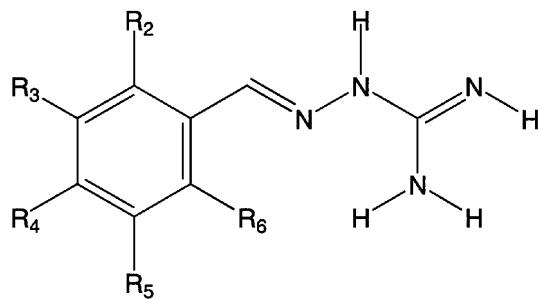
したがって、本発明の一面は、メラノコルチンレセプターに対し活性を示し、そして、経口投与後に吸収されても良く、かつ、血液脳関門を通じて十分に浸透しても良い低分子量化合物を提供することである。

40

【課題を解決するための手段】**【0005】**

一面では、本発明は、一般式 (I) で表される新規化合物を提供する。

【0006】**【化3】**



式 (I)

10

式中、R₂は、ハロゲン、ヒドロキシ、メチル、メトキシまたはニトロ基から選択され、式中、R₃は、水素、ヒドロキシ、フルオロ、クロロまたはトリフルオロメチル基から選択され、

式中、R₄は、水素、ニトロ、ヨードまたはブロモ基から選択され、

式中、R₅は、水素、フルオロまたはエトキシ基から選択され、

式中、R₆は、水素、ニトロ、ブロモまたはメトキシ基から選択され、

かつ、

R₃、R₄、R₅、R₆のうち少なくとも一つは水素ではなく、

20

そして、R₄、R₅およびR₆が水素である場合は、R₂は、フルオロ、ブロモ、ヨード、ヒドロキシ、メチル、メトキシまたはニトロ基から選択され、

そして、R₄がニトロである場合は、R₂は、ハロゲン、メチルまたはメトキシ基から選択され、

そして、R₃がフルオロである場合は、R₂は、ハロゲン、メチル、メトキシまたはニトロ基から選択される。

本発明は、式Iの化合物の薬理学的に活性な塩にも及ぶ。

【発明を実施するための最良の形態】

【0007】

本文では、「ハロゲン」という用語は、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードを表す。

30

【0008】

好ましくは、R₆は水素である。

【0009】

好ましくは、R₅は水素である。

【0010】

好ましくは、R₂はハロゲンであり、より好ましくはブロモまたはヨードであり、そして、最適には、R₂はヨードである。

【0011】

好ましくは、R₃はクロロである。

【0012】

本発明では、下記新規化合物群およびそれらの化合物の使用方法を提供する。

40

【0013】

【数1】

番号	化合物名	塩	M.p.
1:1	N-(3-Chloro-2-Iodobenzylideneamino)guanidine	AcOH	231-232.5
1:2	N-(3-Fluoro-2-Methyl-6-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	189-191
1:3	N-(2-Chloro-3-Hydroxy-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	(分解)
1:4	N-(2,3-Dichloro-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	258-262 (昇華)
1:5	N-(5-Ethoxy-2-Nitro-3-Trifluoromethylbenzylideneamino)guanidine	HCl	92-98
1:6	N-(2,6-Dibromobenzylideneamino)guanidine	HCl	178-183
1:9	N-(2-Bromo-4-Iodobenzylideneamino)guanidine	HCl	236-239
1:10	N-(2,5-Difluorobenzylideneamino)guanidine	AcOH	211-212
1:11	N-(2,6-Dimethoxybenzylideneamino)guanidine	AcOH	158-160
1:12	N-(2,3-Dihydroxybenzylideneamino)guanidine	AcOH	223-224.5
1:13	N-(4-Bromo-2-iodobenzylideneamino)guanidine	AcOH	202-207

M.p. = 融点 (°C)

10

20

【 0 0 1 4 】

我々にとって驚くべきことに、上記化合物群はメラノコルチンレセプターに対し活性を示した。

【 0 0 1 5 】

本発明は、新規ベンジリデンアミノグアニジン、およびメラノコルチンレセプターに対し活性を有するベンジリデンアミノグアニジンの使用に関する。本発明の化合物をメラノコルチン系で生物学的に試験したところ、驚くべきことに、メラノコルチンレセプターに結合可能であることを示し、かつ、機能的アッセイにおいて活性を示した。

【 0 0 1 6 】

本発明の化合物は、特定の一つのMC-レセプターまたはいくつかのMC-レセプター、例えばMC1、MC3、MC4および/またはMC5レセプターのアゴニストまたはアンタゴニストであっても良い。

【 0 0 1 7 】

単一のポリペプチドにより構成されるG-プロテイン結合レセプターのクラスに属するMC-レセプターは、7の膜貫通ドメインを形成する。そのようなレセプターの、MC1、MC2、MC3、MC4およびMC5と名付けられた5つのタイプがこれまでに記述されている。これらMCレセプターのシグナリングは、主としてcAMPを通じて仲介されるが、他の信号伝達経路も知られている。それらは身体中に別々に分配される。

【 0 0 1 8 】

MC-レセプターは、種々の生理的活動と結びついており、それらは、別々のMC-レセプターの亜型により仲介されると考えられている。しかしながら、多くのケースでは、どの亜型が特定の効果の原因であるのか完全に明らかではない。

【 0 0 1 9 】

本発明が提供する化合物のいくつかは、メラノコルチン関連系の調節に使用可能であり、そして、それゆえに、メラノコルチンレセプターおよび関連系、例えばメラニン細胞刺激ホルモンと結びついた、薬物乱用、摂食障害、免疫調節剤作用、苦痛、皮膚および性的機能/機能不全等の疾患の治療に使用される。

【 0 0 2 0 】

MSH-ペプチドは、モチベーション、学習、記憶、行動、炎症、体温、苦痛知覚、血圧、心拍数、血管緊張、脳血流量、神経成長、胎盤発生、アルドステロン合成および放出(relea

30

40

50

se)、チロキシン放出、精子形成、卵巣肥大(ovarian weight)、プロラクチンおよびFSH分泌、女性における子宮出血、皮脂およびフェロモン分泌、血中グルコースレベル、子宮内における胎児の成長、およびその他の分娩に関わる事象等の多くの異なるプロセスに影響を与えることが可能であり(Eberle, AN: The melanotropins: Chemistry, physiology and mechanisms of action. Basel: Karger, Switzerland. 1988, ISBN 3-8055-4678-5; Gruber, and Callahan, Am. J. Physiol. 1989, 257, R681-R694; De Wildt et al., J. Cardiovascular Pharmacology. 1995, 25, 898-905)、かつ、ナトリウム排泄増加を引き起こす(Lin et al., Hypertension. 1987, 10, 619-627)ことが、長く知られている。

【0021】

本発明の化合物のいくつかは、cAMP等の第二メッセンジャー構成要素のin vivo形成の阻害または刺激に有用である。そのような阻害/刺激は、in vitroでの細胞または破壊細胞系において、例えば分析または診断目的に使用できる。

【0022】

分析および診断目的のために、本発明の化合物は、1個またはそれ以上の放射活性標識またはガンマもしくはポジトロン放射性同位体を含む放射活性形態で使用しても良く、MCレセプターの定量および組織局在化のために、解離/結合定数の分析のために、そしてシンチグラフィー、陽電子放出断層撮影法(PET)もしくは単一光子放射形コンピュータ断層撮影法(SPECT)を用いたin vivo結合のイメージングのために、または疾患の診断および悪性細胞がMCレセプターを含む全ての悪性腫瘍の治療のために結合する放射性リガンドとして使用できる。

【0023】

その他、本発明の化合物は、個々の化合物を検出可能にするために、任意の他のタイプの標識、例えば蛍光、ビオチン、またはガンマ線放射、光量子放射(light photons)もしくは生化学的方法、もしくは光もしくは紫外光(後者は、光親和性手法によりMCレセプターの共有結合標識に有用な化合物を得るために)により活性化された標識で標識しても良い。

【0024】

式(I)の化合物のうちいくつか、または薬理学的に許容可能なその塩は、毒物(すなわち、ドキソルビシン、リシン、ジフェリアトキシンまたはその他)で標識してMCレセプターを含む悪性細胞への的確な輸送(targeted delivery)に使用しても良く、または、悪性腫瘍およびその他MCレセプターが発現する疾患の治療のために、免疫系を刺激するための、内因性免疫系活性化に好適な化合物(例として、T-細胞抗原例えばCD3またはその他に結合するのに適した、モノクローナル抗体またはその他の化合物)で標識しても良い。このようにして形成したハイブリッド化合物は、悪性黒色腫細胞またはMC1-レセプターを含む悪性細胞の方に細胞毒性細胞を誘導し、そして腫瘍成長を阻害するであろう。

【0025】

式(I)の化合物または薬理学的に許容可能なその塩は、抗体に対し、化学的に、共有または非共有結合により結合していても良い。

【0026】

本発明の化合物は、動物、特に人間の疾患(diseases)、障害(disorders)および/または病的状態(pathological conditions)の治療および診断のために使用しても良い。

【0027】

本発明は、動物または人間への投与に基づき本発明の化合物へと変換されるプロドラッグにも関する。式(I)の化合物のプロドラッグおよびそれらの薬理学的に活性な塩は、本発明の化合物について本明細書に記述していることおよび下記実施例に開示していることと同じ目的のために使用しても良い。

【0028】

本発明の化合物は、任意の望ましい構造を持つ他の一個のまたは何個かの分子に対し共有的にまたは非共有的に結合していても良い。そのように形成された修飾化合物または錯体は、本発明の化合物について本明細書に記述していることおよび下記実施例に開示してい

10

20

30

40

50

ることと同じ目的のために使用しても良い。本発明の特に重要な実施形態では、放射性に標識した分子が式(I)の化合物または薬理学的に許容可能なその塩に共有結合し、式(I)の化合物または薬理学的に許容可能なその塩を放射性に標識している。

【0029】

本発明は、製造のための方法、および、本発明の化合物の一種類またはそれ以上を含む薬学的調製物、およびそれらの、メラニン細胞刺激ホルモンレセプターに関連している種々の医学的および獣医学的業務への使用にも関する。

【0030】

(製造方法)

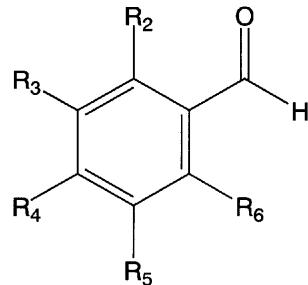
本発明は、さらに、式(I)の化合物の製造方法を提供する。この化合物は、下記の一般的方法で製造することができる。

【0031】

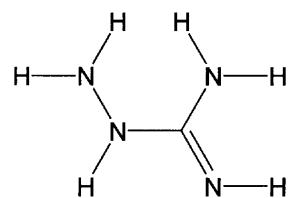
(方法1)

【0032】

【化4】



式II



式III

10

20

30

40

50

【0033】

式IIの化合物(式中、R₂、R₃、R₄、R₅およびR₆は前記の定義の通り)をアミノグアニジン(III)またはその塩と反応させて、式(I)の化合物を得る。

【0034】

一般式IIのベンズアルデヒド出発原料の多くは市販ルートで入手可能であり、それらおよびその他は、当該技術分野で周知の任意の一般的方法で製造しても良い。

【0035】

(実施例)

下記実施例は、本発明を例示することを意図し、指定した化合物は意図した目的のために特に有用であるが、本発明の範囲を限定することを意図しない。これらの化合物は、ナンバーコードa:bで指定しており、ここで、aはその化合物の製造について述べている実施例番号を意味し、そして、bは、その実施例にしたがって製造された化合物の順序を表す。したがって、実施例1:2は、実施例1にしたがって製造された2番目の化合物を意味する。

【0036】

化合物の構造は、IR、NMR、MSおよび元素分析で確認した。融点を示している場合、それらは未補正値である。

【実施例1】

【0037】

(化合物1:1の製造)

N-(3-Chloro-2-iodobenzylideneamino)guanidine

3-クロロ-2-ヨード-ベンズアルデヒド(0.32 g, 1.2 mmol)、アミノグアニジン重炭酸塩(0.15 g, 1.1 mmol)および酢酸(3 ml)を5分間加熱還流させた。その反応混合物を

50

室温に冷却し、そして、その溶液をエバボレートした。その残渣に50 mlのエーテルを加え、そして、その溶液を20分間攪拌した。その溶媒をデカンテーションし、そして、その後、20 mlのアセトニトリルを加えた。その溶液をさらに30分間攪拌し、そして、その後、前記溶液を濾過し、標題化合物1:1を収量0.18 g (42%)で得た。融点は231-232.5であった。

【0038】

(化合物1:2~1:13の製造)

化合物1:2~1:13を、実質的に1:1と同じアプローチを用いて、方法1により製造した。化合物を、それらのデータとともに以下に示す。

【0039】

【数2】

番号	化合物名	塩	M.p.
1:1	N-(3-Chloro-2-Iodobenzylideneamino)guanidine	AcOH	231-232.5
1:2	N-(3-Fluoro-2-Methyl-6-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	189-191
1:3	N-(2-Chloro-3-Hydroxy-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	(分解)
1:4	N-(2,3-Dichloro-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	258-262 (昇華)
1:5	N-(5-Ethoxy-2-Nitro-3-Trifluoromethylbenzylideneamino)guanidine	HCl	92-98
1:6	N-(2,6-Dibromobenzylideneamino)guanidine	HCl	178-183
1:9	N-(2-Bromo-4-Iodobenzylideneamino)guanidine	HCl	236-239
1:10	N-(2,5-Difluorobenzylideneamino)guanidine	AcOH	211-212
1:11	N-(2,6-Dimethoxybenzylideneamino)guanidine	AcOH	158-160
1:12	N-(2,3-Dihydroxybenzylideneamino)guanidine	AcOH	223-224.5
1:13	N-(4-Bromo-2-iodobenzylideneamino)guanidine	AcOH	202-207

M.p.=融点(℃)

10

20

30

【実施例2】

【0040】

本実施例は、式(I)の化合物の効力およびそれらの治療的活性な酸付加塩を例示する。

【0041】

(試験1.MC1-レセプターへの親和性)

この結合アッセイは、 ^{125}I -NDP-MSHをリガンドとして用い、本質的にLunec et al., Melanoma Res. 1992; 2; 5-12の記述通りに行った。

【0042】

(試験2.MC3-レセプター、MC4-レセプターおよびMC5-レセプターへの親和性)

この結合アッセイは、 ^{125}I -NDP-MSHをリガンドとして用い、本質的にSzardenings et al., J. Biol. Chem. 1997; 272; 27943-27948 および Schioeth et al., FEBS Lett. 1997; 410; 223-228の記述通りに行った。

【0043】

本質的に、異なるメラノコルチニンレセプターに対する前記化合物群の親和性は、組換え型のヒトMC3、MC4またはMC5レセプターに感染した昆虫細胞(Sf9)またはCOS細胞を用いて測定した。MC1レセプターに対する親和性の測定には、(マウス)MC1レセプターを内因的に発現するB16マウス黒色腫細胞を使用した。

【0044】

前記化合物群は、異なる濃度において、それらの、各レセプターから ^{125}I -標識NDP-MSH

40

50

を置換する能力を試験した。インキュベーションは、50,000 細胞/ウェル (Sf9 または COS 細胞) から200,000 細胞/ウェル (マウス黒色腫細胞) までを用い、96ウェルプレートで行った。

【0045】

前記試験化合物または標準 (NDP-MSH) は、適切な濃度 (一般的には 10^{-4} M と 10^{-12} M の間) で、標識したトレーサー (約 50,000 cpm/ウェル) と共に加え、そして2時間インキュベートした (Sf9細胞については室温で、そしてCOS細胞およびマウス黒色腫細胞については +37 度)。

【0046】

インキュベーション後、前記細胞を2回洗浄して過剰のトレーサーおよび化合物を除き、そして、前記細胞を0.1 M NaOHで溶解させた。その溶解物をガンマカウンターでカウントし、結合を計算し、そして親和性を決定した。

【0047】

【表1】

MC-レセプターに対する親和性

化合物	Ki (μ M)			
	MC1	MC3	MC4	MC5
1:1	0.5	5.8	0.01	4.9
1:4	3.6	10.1	12.2	10.7
1:6	0.8	22.7	0.1	29.6

グアナベンズ nb nb nb nb

nb = 非結合、すなわち親和性なし

【実施例3】

【0048】

(食物摂取における in vivo効果)

化合物群を、ラットの食物摂取および体重に対するそれらの効果について試験した。

【0049】

化合物群の「拮抗効果」すなわち食物摂取の減少を調べるために、夜間プロトコール (nocturnal protocol) を用いた。

【0050】

Sprague-Dawleyの雄のラットを用い、その脳室内に (intracerebroventricularly) カニューレを挿入した。ステンレス針ガイドカニューレを側脳室に配置し、そして、頭蓋骨内に固定した。動物は、実験を行うに先立ち1週間新環境に順応させた。実験を行った後、前記ラットを殺し、そして、前記カニューレの配置をチェックした。

【0051】

(夜間プロトコール)

ラットは、上述の通りにカニューレ挿入した。それらは、予備的飢餓なしに用い、そして、化合物群は、午後5時に、全体積5 μ lで投与した。使用した化合物群の用量は、0.25から50 nmolesの間であった。食物摂取は、投与の3、15および24時間後に測定し、そして、体重は24時間時に記録した。比較のために、周知のMC4レセプターアゴニストであるメラノタントII (Melanotan II (MTII)) を用量1 n moleで使用した。

【実施例4】

【0052】

(抗炎症効果)

10

20

30

40

50

{対照}

雌のBALB/cマウス達（体重20～22g）を、剃毛した腹部を30μlの0.5%2,4-ジニトロフルオロベンゼン（DNFB）で処理して銳敏化させた（sensitized）。4日後、それらの足に10μlの0.3%DNFBでチャレンジした（challenged）。チャレンジしなかったマウスの足を対照として供した。最終のチャレンジから24時間後、足重量の相違を、炎症（足のむくみ）の指標として測定した。

【0053】

{アルファ-MSHおよびプレドニゾロン対照}

マウス達を対照として処理したが、さらに - MSH (0.5 mg/kg)またはプレドニゾロン (20 mg/kg)を、銳敏化（第0日）の2時間前に腹膜腔内へ(i.p.)注入し、そして、それに等しい用量を、銳敏化後に連續して4日間、繰り返し投与した。足のむくみの阻害は、上述と同様に測定した。

【0054】

{新規化合物群の研究}

マウス達を対照として処理したが、さらに種々の用量（0.05, 0.15または0.25, 0.375, 0.5, 0.75ならびに後の研究ではさらに1.5, 3および時折6 mg/kg）の各化合物を、銳敏化（第0日）の2時間前に腹膜腔内へ(i.p.)注入し、そして、それに等しい用量を、銳敏化後に連續して4日間、繰り返し投与した。足のむくみの阻害は、上述と同様に測定した。

【0055】

全ての実験には、それぞれ少なくとも10匹のマウスを含む群を用いた。

【0056】

血液分析は、QBC（登録商標）Autoread（商標）Plus & QBC（登録商標）Accutube System (Becton Dickinson)を用いて行った。全てのケースにおいて、血液試料は最終のチャレンジから24時間後に採集した。

【実施例5】

【0057】

（カプセルを含む製剤の実施例）

		カプセル毎	
活性成分、塩として		5 mg	30
ラクトース		250 mg	
デンプン		120 mg	
<u>ステアリン酸マグネシウム</u>		5 mg	
全量	上限	385 mg	

より多量の活性成分が必要な場合、ラクトースの使用量を減らしても良い。

【0058】

（好適な錠剤である製剤の実施例）

10

20

30

40

錠剤毎

活性成分、塩として	5 mg	
ポテトスター ^チ	90 mg	
コロイドシリカ	10 mg	
タルク	20 mg	
ステアリン酸マグネシウム	2 mg	
<u>ゼラチン5%水溶液</u>	<u>25 mg</u>	10
全量	上限	385 mg

【 0 0 5 9 】

注射による非経口投与のための溶液は、前記作用物質の水溶性で薬学的に許容可能な酸付加塩の水溶液として、好ましくは0.1重量%から約5重量%濃度で調製できる。それら溶液は、安定剤および／または緩衝剤を含んでいても良い。

【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
17 October 2002 (17.10.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/081430 A2(51) International Patent Classification⁵: C07C 281/18,
A61K 31/155, A61P 29/00SKOTTNER, Anna [SI/SEI]; Lebov. 3, S-178 32 Ilkerö
(SE).

(21) International Application Number: PCT/GB02/01593

(74) Agent: FRANK B. DEHN & CO., 179 Queen Victoria
Street, London EC4V 4JL (GB).

(22) International Filing Date: 5 April 2002 (05.04.2002)

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AT
(utility model), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA,
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, CZ (utility model), DE, DE
(utility model), DK, DK (utility model), DM, DZ, IC, BE,
EE (utility model), ES, FI, FI (utility model), 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, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SK (utility model), SI, T1, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0108631.3 5 April 2001 (05.04.2001) GB(71) Applicant (for all designated States except US):
MELACURE THERAPEUTICS AB [SE/SE]; Ulleråk-
ersvägen 38, S-756 43 Uppsala (SE).(71) Applicant (for MW only): TOWLER, Philip, Dean
[GB/GB]; Frank B. Dehn & Co., 179 Queen Victoria
Street, London EC4V 4EL (GB).

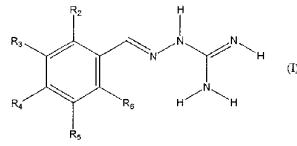
(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): LUNDSTEDT,
Torbjörn [SE/SE]; Graneldsvägen 7B, S-756 55 Uppsala
(SE). ANDERSSON, Per [SE/SE]; Spinrocksvägen 5,
S-756 48 Uppsala (SE). BOMAN, Arne [SU/SU]; Gustaf
Kjellbergs Väg 4, S-756 43 Uppsala (SE). SEIFERT,
Elisabeth [SE/SE]; Ruyav. 17, S-756 48 Uppsala (SE).

Published:

without international search report and to be republished
upon receipt of that report
For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guide-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.(54) Title: NOVEL BENZYLIDENEAMINO GUANIDINES AND THEIR USES AS LIGANDS TO THE MELANOCORTIN
RECEPTORS

WO 02/081430 A2



(57) Abstract: The present invention relates to novel benzylideneamino guanidines of general formula and to the use of these benzylideneamino guanidines as melanocortin receptor agonists or antagonists. The invention further relates to benzylideneamino guanidines which show selectivity to the MC1 and MC4 melanocortin receptors as agonists and/or antagonists.

NOVEL BENZYLIDENEAMINO GUANIDINES AND THEIR USES**AS LIGANDS TO THE MELANOCORTIN RECEPTORS**

The present invention relates to novel benzylideneamino guanidines. More particularly, it
5 relates to benzylideneamino guanidines that act on melanocortin receptors and to their uses
as melanocortin receptor agonists or antagonists. It further relates to these novel
benzylideneamino guanidines which show selectivity to the MC1 and MC4 melanocortin
receptors as agonists and/or antagonists.

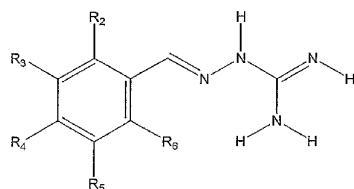
10 A number of large linear and cyclic peptides are known in the art which show high specific
binding to melanocortin (MC) receptors. The agonistic and/or antagonistic properties of
these peptides are also known. See for example "Melanocortin Receptor ligands and
methods of using same" by Dooley, Girten and Houghten (WO 99/21571). Two patent
applications (WO 99/5679 and WO 99/64002) have been published which include small
15 molecules showing activity on the melanocortin receptors. However, the compounds in the
present application are structurally different from the previously published melanocortin
agonists, and hence the observed effects are unexpected.

Previously known in the art are hydroxyguanidines (e.g. WO98/23267), which have
20 proven activity against xanthine oxidase/xanthine dehydrogenase enzymes. Other
compounds known in the art are benzylideneamino guanidines which have shown anti-
depressive effects (US 4060640). Other examples of pharmacologically active guanidines
known in the art are described in patent US3982020 and GB1223491. Other application
areas are also known in the art and are described in patents DE1165013, and US3941825.
25 Guanabenz is a compound which is well known in the art as an antihypertensive drug (US
Pharmacopeia, 1999, The United States Pharmacopeial Convention, Inc, ISBN 1-889788-
03-1). Whilst Guanabenz might appear to be structurally similar to the compounds in the
present invention, it shows no affinity to the melanocortin receptors. Therefore it is very

surprising that the benzylideneamino guanidine compounds in the present invention show affinity to the melanocortin receptors as agonist and/or antagonists.

One aspect of the present invention is therefore to provide low molecular weight 5 compounds showing activity on melanocortin receptors and which may be taken up after per oral administration and which may penetrate well through the blood brain barrier.

In one aspect, the present invention provides novel compounds of the general formula (I):



Formula (I)

10

wherein R₂ is selected from halogen, hydroxy, methyl, methoxy or nitro group;

wherein R₃ is selected from a hydrogen, hydroxy, fluoro, chloro or trifluoromethyl group;

15 wherein R₄ is selected from a hydrogen, nitro, iodo or bromo group;

wherein R₅ is selected from a hydrogen, fluoro or ethoxy group;

wherein R₆ is selected from a hydrogen, nitro, bromo or methoxy group;

20

and provided that

at least one of R₃, R₄, R₅ is not a hydrogen;

WO 02/081430

- 3 -

PCT/GB02/01593

and when R_4 , R_5 and R_6 are hydrogen, then R_2 is selected from a fluoro, bromo, iodo, hydroxy, methyl, methoxy or nitro group;

and when R_4 is a nitro group, then R_2 is selected from a halogen, methyl or methoxy group;

and when R_3 is a fluoro group, then R_2 is selected from a halogen, methyl, methoxy or nitro group;

10 The invention also extends to the pharmacologically active salts of compounds of formula I.

In the present context, the term "halogen" refers to fluoro, chloro, bromo or iodo.

15 Preferably, R_6 is hydrogen.

Preferably, R_5 is hydrogen.

Preferably R_2 is a halogen, more preferably bromo or iodo, and most preferably R_2 is iodo.

20 Preferably R_3 is chloro.

In the present invention the following novel compounds and uses of these compounds are provided:

25

No.	Name	Salt	M.p.
1:1	N-(3-Chloro-2-Iodobenzylideneamino)guanidine	AcOH	231-232.5
1:2	N-(3-Fluoro-2-Methyl-6-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	189-191
1:3	N-(2-Chloro-3-Hydroxy-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	(decomp.)
1:4	N-(2,3-Dichloro-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	258-262 (sublim.)
1:5	N-(5-Ethoxy-2-Nitro-3-Trifluoromethylbenzylideneamino)guanidine	HCl	92-98
1:6	N-(2,6-Dibromo-4-Iodobenzylideneamino)guanidine	HCl	178-183
1:9	N-(2-Bromo-4-Iodobenzylideneamino)guanidine	HCl	236-239
1:10	N-(2,5-Difluorobenzylideneamino)guanidine	AcOH	211-212
1:11	N-(2,6-Dimethoxybenzylideneamino)guanidine	AcOH	158-166
1:12	N-(2,3-Dihydroxybenzylideneamino)guanidine	AcOH	223-224.5
1:13	N-(4-Bromo-2-iodobenzylideneamino)guanidine	AcOH	202-207

M.p. = Melting point in °C.

To our surprise the above compounds showed activity against the melanocortin receptors.

- 5 The present invention relates to novel benzylideneamino guanidines and the use of benzylideneamino guanidines with activity on the melanocortin receptors. The compounds of the present invention have been biologically tested in the melanocortin system and have surprisingly been shown to be capable of binding to melanocortin receptors as well as showing activity in functional assays.

10

The compounds of the present invention may either be agonists or antagonists of a specific MC-receptor or of a number of MC-receptors, e.g. MC1, MC3, MC4 or/and MC5 receptors.

15

The MC-receptors belong to the class of G-protein coupled receptors which are all built from a single polypeptide forming 7 transmembrane domains. Five such receptors types, termed MC1, MC2, MC3, MC4 and MC5, have been described. The MC receptor's signalling is mainly mediated via cAMP but also other signal transduction pathways are known. They are distinctly distributed in the body.

20

MC-receptors are linked to a variety of physiological actions that are thought to be mediated by distinct subtypes of the MC-receptors. In many cases, however, it is not entirely clear which of the subtypes is responsible for the effect.

Some of the compounds provided in the present invention can be used for modulating melanocortin related systems and therefore used for the treatment of diseases such as drug abuse, feeding disorders, immunomodulatory action, pain, skin and sexual function/dysfunctions associated with the melanocortin receptors or related systems, e.g. the melanocyte stimulating hormones.

It has long been known that MSH-peptides may affect many different processes such as motivation, learning, memory, behaviour, inflammation, body temperature, pain perception, blood pressure, heart rate, vascular tone, brain blood flow, nerve growth, placental development, aldosterone synthesis and release, thyroxin release, spermatogenesis, ovarian weight, prolactin and FSH secretion, uterine bleeding in women, sebum and pheromone secretion, blood glucose levels, intrauterine foetal growth, as well as other events surrounding parturition (Eberle, AN: The melanotropins: Chemistry, physiology and mechanisms of action. Basel: Karger, Switzerland. 1988, ISBN 3-8055-4678-5; Gruber, and Callahan, Am. J. Physiol. 1989, 257, R681-R694; De Wildt et al., J. Cardiovascular Pharmacology. 1995, 25, 898-905), as well as inducing natriuresis (Lin et al., Hypertension. 1987, 10, 619-627).

20 Some of the compounds of the invention are useful for inhibiting or stimulating the *in vivo* formation of second messenger elements such as cAMP. Such inhibition/stimulation may be used in cells or crushed cell systems *in vitro*, e.g. for analytical or diagnostic purposes.

For analytical and diagnostic purposes the compounds of the invention may be used in radioactive form where they comprise one or more radioactive labels or gamma or positron emitting isotopes, to be used in radioligand binding for the quantification as well as tissue localisation of MC-receptors, for analysis of dissociation/association constants, and for imaging of *in vivo* binding by the use of scintigraphy, positron emission tomography (PET) or single photon emission computed tomography (SPECT), or for the diagnosis of 25 disease and treatment of any malignancy where the malignant cells contain MC receptors.

Alternatively the compounds of the invention can be labelled with any other type of label that allows detection of the respective compound, e.g. fluorescence, biotin, or labels activated by gamma-irradiation, light photons or biochemical processes, or by light or UV-light (the latter in order to obtain a compound useful for covalent labelling of MC receptors by a photoaffinity technique).

Some of the compounds of formula (I) or the pharmacologically acceptable salts thereof may also be tagged with a toxic agent (i.e. doxorubicin, ricin, diphtheria toxin or other) and used for targeted delivery to malignant cells bearing MC receptors, or tagged with a compound capable of activating the endogenous immune system for triggering the immune system (for example a compound, monoclonal antibody or other, capable of binding to a T-cell antigen, e.g. CD3 or other) for treatment of malignancies and other MC receptor expressing diseases. The thus formed hybrid compound will direct cytotoxic cells to the malignant melanoma cells or the MC1-receptor bearing malignant cells and inhibit the tumor growth.

Compounds of formula (I) or a pharmacologically acceptable salt thereof may be attached to the antibody chemically by covalent or non-covalent bond(s).

Compounds of the invention may be used for the treatment and diagnosis of diseases, disorders and/or pathological conditions in an animal, in particular in man.

The present invention also relates to a pro-drug which, upon administration to an animal or a human, is converted to a compound of the invention. Pro-drugs of the compounds of formula (I) and their pharmacologically acceptable salts may be used for the same purposes as described in this specification for the compounds of the invention as well as is disclosed in the examples given below.

The compounds of the present invention may be bound covalently or non-covalently to one or several of other molecule(s) of any desired structure(s); the thus formed modified compound or complex may be used for the same purposes as described in this specification for the compounds of the invention as well as is disclosed in the examples given below. In

a particularly important embodiment of the invention, a radioactively-labelled molecule is covalently bound to a compound of formula (I) or a pharmacologically acceptable salt thereof so as to make a compound of formula (I) or a pharmacologically acceptable salt thereof radioactively labelled.

5

The invention also relates to methods for the manufacture and pharmaceutical preparations comprising one or more of the compounds of the invention, as well as to their uses for various medical and veterinary practices related to melanocyte stimulating hormone receptors.

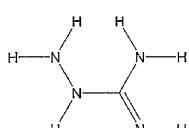
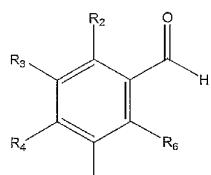
10

Methods of Preparation

The invention further provides processes for the preparation of the compounds of formula (I). The compounds may be prepared by the following general method:

Method 1.

15



A compound of formula II wherein R₂, R₃, R₄, R₅ and R₆ are as previously defined, is reacted with aminoguanidine (III) or a salt thereof and a compound of formula (I) is obtained.

20

Many of the benzaldehyde starting materials of the general formula II are commercially available and these and others may also be prepared by any conventional method well known in the art.

Examples

The following examples are intended to illustrate but not to limit the scope of the invention, although the compounds named are of particular interest for the intended purposes. These compounds have been designated by a number code, **a:b**, where **a** means 5 the number of example, wherein the preparation of the compound is described, and **b** refers to the order of the compound prepared according to that example. Thus Example 1:2 means the second compound prepared according to Example 1.

The structures of the compounds were confirmed by IR, NMR, MS and elementary 10 analysis. When melting points are given, these are uncorrected.

EXAMPLE 1**Preparation of compound 1:1**

15

N-(3-Chloro-2-Iodobenzylideneamino)guanidine

A solution of 3-Chloro-2-Iodo-benzaldehyde (0.32 g, 1.2 mmol), aminoguanidine bicarbonate (0.15 g, 1.1 mmol) and acetic acid (3 ml) was heated at reflux for 5 min. The reaction mixture was cooled down to room temperature and the solution was evaporated. 20 To the residue 50 ml of ether was added and the solution was stirred for 20 min. The solvent was decanted and thereafter 20 ml of acetonitrile was added. The solution was stirred for another 30 minutes and thereafter the solution was filtered, giving the title compound 1:1 with a yield of 0.18 g (42 %) M.p. 231-232.5°C.

25 **Preparation of compounds 1:2 – 1:13**

Compounds 1:2 – 1:13 were prepared using essentially the same approach as for 1:1 by using Method 1. Compounds with their data was as follows:

No.	Name	Salt	M.p.
1:1	N-(3-Chloro-2-Iodobenzylideneamino)guanidine	AcOH	231-232.5
1:2	N-(3-Fluoro-2-Methyl-6-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	189-191

1:3	N-(2-Chloro-3-Hydroxy-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	(decomp.)
1:4	N-(2,3-Dichloro-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine	HCl	258-262 (sublim.)
1:5	N-(5-Ethoxy-2-Nitro-3-Trifluoromethylbenzylideneamino)guanidine	HCl	92-98
1:6	N-(2,6-Dibromobenzylideneamino)guanidine	HCl	178-183
1:9	N-(2-Bromo-4-Iodobenzylideneamino)guanidine	HCl	236-239
1:10	N-(2,5-Difluorobenzylideneamino)guanidine	AcOH	211-212
1:11	N-(2,6-Dimethoxybenzylideneamino)guanidine	AcOH	158-160
1:12	N-(2,3-Dihydroxybenzylideneamino)guanidine	AcOH	223-224.5
1:13	N-(4-Bromo-2-iodobenzylideneamino)guanidine	AcOH	202-207

M.p. = Melting point in °C.

EXAMPLE 2

This example illustrates the potency of compounds of formula (I) and their therapeutically active acid addition salts.

5

Test 1. Affinity for the MC1-receptor

The binding assay was carried out essentially as described by Lunec et al., *Melanoma Res.* 1992; 2; 5-12 using ^{125}I -NDP- α MSH as ligand.

10

Test 2. Affinity for the MC3-receptors, the MC4-receptors and the MC5-receptors

The binding assays were carried out essentially as described by Szardenings et al., *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 27943-27948 and Schiøth et al., *FEBS Lett.* 1997; 410: 223-228 using 15 ^{125}I -NDP- α MSH as ligand.

20

Essentially, the affinity of the compounds for the different melanocortin receptors were determined by using either insect cells (Sf9) or COS cells, which were transfected with recombinant human MC3, MC4 or MC5 receptors. For the determination of the affinity for the MC1 receptor, B16 mouse melanoma cells were used, which endogenously express the (mouse) MC1 receptor.

The compounds were tested at different concentrations for their ability to displace a ^{125}I -labelled NDP-MSH from the respective receptor. Incubation was performed in 96-well

plates, using 50,000 cells/well (Sf9 or COS cells) up to 200,000 cells/well (mouse melanoma cells).

The test compound or standard (NDP-MSH) was added in an appropriate concentration 5 (generally between 10^{-4} M and 10^{-12} M) together with labelled tracer (approx. 50,000 cpm/well) and incubated for 2 hours (at room temperature for Sf9 cells and at +37°C for COS cells and mouse melanoma cells).

After the incubation, the cells were washed twice to get rid of the excess tracer and 10 compound, and the cells were lysed with 0.1 M NaOH. The lysate was counted in a gamma-counter, binding was calculated and the affinity determined.

Table 1. Affinity for MC-receptors.

Compound	Ki (μM)			
	MC1	MC3	MC4	MC5
1:1	0.5	5.8	0.01	4.9
1:4	3.6	10.1	12.2	10.7
1:6	0.8	22.7	0.1	29.6

Guanobenz

nb = non-binding, i.e. no affinity.

15

EXAMPLE 3

In vivo effects on food intake

20 Compounds have been tested for their effects on food intake and body weight in rats. In order to investigate the *agonistic* effect, i.e. decrease in food intake, of compounds, the nocturnal protocol was used.

Sprague-Dawley, male rats were used, which were cannulated intracerebroventricularly. 25 Stainless steel guide cannulae were placed in the lateral ventricle and fixed in the skull. Animals were acclimatized for a week before the experiments took place. After the experiments were done, the rats were killed and placement of the cannulae were checked.

Nocturnal protocol:

Rats were cannulated as described above. They were used without prior starvation, and compounds were administered at 5 pm in a total volume of 5 μ l. Doses of compounds used were in between 0.25 to 50 nmole. Food intake was measured at 3, 15 and 24 hours after dosing, and body weight was recorded at 24 hours. For comparison, the well-known MC4 receptor agonist, Melanotan II (MTII) was used, at a dose of 1 nmole.

EXAMPLE 410 **Anti inflammatory effects***Control*

Female BALB/c mice (weight 20-22 g) were sensitized by treatment of the shaved abdomen with 30 μ l of 0.5% 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB). After 4 days they were challenged with 10 μ l of 0.3 % DNFB to the paw. The unchallenged mice paws served as a control. Twenty-four hours after the last challenge, the differences in paws weight were determined as an indicator of the inflammation (paw edema).

alpha-MSH and prednisolone controls

20 Mice were treated as the control but were additionally injected i.p. with α -MSH (0.5 mg/kg) or prednisolone (20 mg/kg) two hours before sensitization (day 0) and the same dose was administered repeatedly after sensitization during four consecutive days. The paw edema inhibition was measured as described above.

25 *Study of new compounds*

Mice were treated as the control but were additionally injected i.p. with various doses (0.05, 0.15 or 0.25, 0.375, 0.5, 0.75 and in later studies also 1.5, 3 and occasionally 6 mg/kg) of each compound two hours before sensitization (day 0) and the same dose was administered repeatedly after sensitization during four consecutive days. The paw edema inhibition as described above.

30 Groups containing at least 10 mice each were used for all experiments.

Blood analysis was carried out using the QBC® Autoread™ Plus & QBC® Accutube System (Becton Dickinson). In all cases blood samples were collected twenty-four hours after the last challenge.

EXAMPLE 5

5 Example of a preparation comprising a capsule

Per capsule		
Active ingredient, as salt	5 mg	
Lactose	250 mg	
10 Starch	120 mg	
Magnesium stearate	5 mg	
<hr/>		
Total	up to	385 mg

In cases higher amounts of active ingredient are required, the amount of lactose used
15 may be reduced.

Example of a suitable tablet formulation.

Per tablet		
Active ingredient, as salt	5 mg	
20 Potato starch	90 mg	
Colloidal Silica	10 mg	
Talc	20 mg	
Magnesium stearate	2 mg	
5 % aqueous solution of gelatine	25 mg	
<hr/>		
Total	up to	385 mg

WO 02/081430

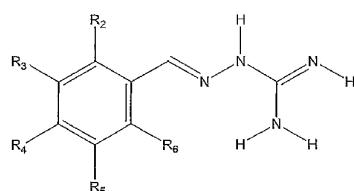
- 13 -

PCT/GB02/01593

A solution for parenteral administration by injection can be prepared in an aqueous solution of a water-soluble pharmaceutically acceptable acid addition salt of the active substance preferably in a concentration of 0.1 % to about 5 % by weight. These solutions may also contain stabilising agents and/or buffering agents.

Claims:

1. A compound of general formula (I):



Formula (I)

5 wherein R₂ is selected from a halogen, hydroxy, methyl, methoxy or nitro group;

wherein R₃ is selected from a hydrogen, hydroxy, fluoro, chloro or trifluoromethyl group;

10 wherein R₄ is selected from a hydrogen, nitro, iodo or bromo group;

wherein R₅ is selected from a hydrogen, fluoro or ethoxy group;

15 wherein R₆ is selected from a hydrogen, nitro, bromo or methoxy group;

and provided that

at least one of R₃, R₄, R₅, R₆ is not a hydrogen;

20 and when R₄, R₅, and R₆ are hydrogen, then R₂ is selected from fluoro, bromo, iodo, hydroxy, methyl, methoxy or nitro group,

and when R_4 is nitro, then R_2 is selected from a halogen, methyl or methoxy group,

5 and when R_3 is a fluoro, then R_2 is selected from a halogen, methyl, methoxy or nitro group,

or a pharmacologically active salt thereof.

2. A compound as claimed in claim 1 wherein R_6 is hydrogen.

10 3. A compound according to any of the previous claims wherein R_5 is hydrogen.

4. A compound according to any of the previous claims wherein R_2 is bromo or iodo.

15 5. A compound according to claim 4 wherein R_2 is iodo.

6. A compound according to any of the previous claims wherein R_3 is chloro.

7. A novel compound being any one of the following:

Name
N-(3-Chloro-2-iodobenzylideneamino)guanidine
N-(3-Fluoro-2-Methyl-6-Nitrobenzylideneamino)guanidine
N-(2-Chloro-3-Hydroxy-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine
N-(2,3-Dichloro-4-Nitrobenzylideneamino)guanidine
N-(5-Ethoxy-2-Nitro-3-Trifluoromethylbenzylideneamino)guanidine
N-(2,6-Dibromobenzylideneamino)guanidine
N-(2-Bromo-4-iodobenzylideneamino)guanidine
N-(2,5-Difluorobenzylideneamino)guanidine
N-(2,6-Dimethoxybenzylideneamino)guanidine
N-(2,3-Dihydroxybenzylideneamino)guanidine
N-(4-Bromo-2-iodobenzylideneamino)guanidine

20

or a pharmacologically active salt thereof.

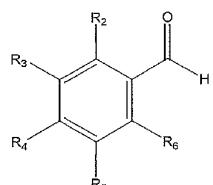
8. A compound as claimed in any of the previous claims which additionally comprises a label or a toxic agent.

9. A compound as claimed in claim 8 wherein said label is a radioactive label.

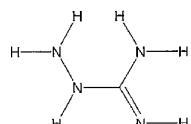
5

10. A pharmaceutical composition comprising a compound as defined in any one of claims 1 to 9, together with one or more adjuvants, carriers or excipients.

11. A process for the production of a compound as claimed in claim 1 which comprises 10 reacting a compound of formula (II) with a compound of formula (III) or a salt thereof



Formula II



Formula III

wherein R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ are as defined in claim 1, followed by formation if desired of a salt thereof.

15

12. A compound as claimed in any one of claims 1 to 9 for use as a medicament.

20

13. A compound according to claim 12 for the treatment of diseases, disorders and/or pathological conditions related to the melanocortin receptors and/or α -MSH or related systems.

14. A compound according to claim 12 for the *in vivo* diagnosis of diseases, disorders and/or pathological conditions related to the melanocortin receptors and/or α -MSH or related systems.

15. A method of treating diseases, disorders and/or pathological conditions related to the melanocortin receptors and/or α -MSH or related systems in a subject which comprises administering to said subject an effective amount of a compound according to any one of claims 1 to 9 or a composition as claimed in claim 10.
16. A method of *in vivo* diagnosis of diseases, disorders and/or pathological conditions related to the melanocortin receptors and/or α -MSH or related systems comprising the use or administration of a compound as defined in any one of claims 1 to 9 or a composition as claimed in claim 10.
17. Use of a compound as defined in any one of claims 1 to 9 for the manufacture of a medicament for treating diseases, disorders and/or pathological conditions related to the melanocortin receptors and/or α -MSH or related systems.
- 15
18. Use of a compound as defined in any one of claims 1 to 9 for the manufacture of a medicament for the *in vivo* diagnosis of diseases, disorders and/or pathological conditions, related to the melanocortin receptors and/or α -MSH or related systems.

【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
17 October 2002 (17.10.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/081430 A3

(51) International Patent Classification: C07C 281/18, A61K 31/155, A61P 29/00

(74) Agent: FRANK B. Dehn & Co., 179 Queen Victoria Street, London EC4V 4EL (GB).

(21) International Application Number: PCT/GB02/01593

(81) Designated States (national): AI, AG, AL, AM, AT (utility model), AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CI, CN, CO, CR, CU, CZ (utility model), CZ, DE (utility model), DE, DK (utility model), DK, DM, DZ, EC, BE (utility model), EL, ES, FI (utility model), FI, GR, GD, GH, GL, 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, PL, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK (utility model), SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) International Filing Date: 5 April 2002 (05.04.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 01/08631.3 5 April 2001 (05.04.2001) GB

(71) Applicant (for all designated States except US): MELACURE THERAPEUTICS AB (SE/SE); Ulleråkersvägen 38, S-756 43 Uppsala (SE).

(71) Applicant (for MW only): TOWLER, Philip, Dean [GB/GB]; Frank B. Dehn & Co., 179 Queen Victoria Street, London EC4V 4EL (GB).

(72) Inventors: and

(75) Inventors/Applicants (for US only): LUNDSTEDT, Torbjörn [SE/SE]; Granericvägen 7B, S-756 55 Uppsala (SE); ANDERSSON, Per [SE/SE]; Pilvägen 80, S-191 42 Sollentuna (SE); BOMAN, Arne [SE/SE]; Gustaf Kielbergs Väg 4, S-756 43 Uppsala (SE); SEIFFERT, Elisabeth [SE/SE]; Rotyxv. 17, S-756 48 Uppsala (SE); SKOTTNER, Anna [SE/SE]; Ljohov, 3, S-178 32 Flerö (SE).

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CL, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SI, TR), OAPI patent (BJ, BI, CH, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

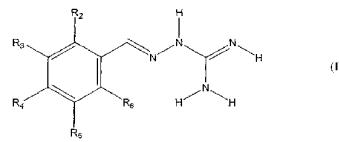
(85) Published: — with international search report

(88) Date of publication of the international search report: 14 August 2003

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.

(54) Title: NOVEL BENZYLIDENEAMINO GUANIDINES AND THEIR USES AS LIGANDS TO THE MELANOCORTIN RECEPTORS

WO 02/081430 A3



(57) Abstract: The present invention relates to novel benzylideneamino guanidines of general formula and to the use of these benzylideneamino guanidines as melanocortin receptor agonists or antagonists. The invention further relates to benzylideneamino guanidines which show selectivity to the MC1 and MC4 melanocortin receptors as agonists and/or antagonists.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		PCT/GB 02/01593
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07C281/18 A61K31/155 A61P29/00		
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 A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, 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.
P, X	WO 01 25192 A (PETT CHRISTOPHER PHINEAS ;SEHENIKHINA VALENTINA (LV); KALVINS IVAR) 12 April 2001 (2001-04-12) claims; examples ---	1-18
P, X	WO 02 11715 A (LUNDSTEDT TORBJORN ;SEIFERT ELISABETH (SE); SKOTTNER ANNA (SE); M) 14 February 2002 (2002-02-14) claims; examples ---	1-18
P, X	WO 02 12178 A (PETT CHRISTOPHER PHINEAS ;KALVINS IVARS (LV); ANDRIANOV VICTOR (LV) 14 February 2002 (2002-02-14) page 26 -page 28; claims ---	1-18
X	US 2 584 784 A (BISWELL CHARLES B) 5 February 1952 (1952-02-05) column 3 ---	1-18
		-/-
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
<p>* Special categories of cited documents :</p> <p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier document not published on or after the international filing date</p> <p>*L* document which may throw doubts on priority (claims) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>*C* document referring to a oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>*R* document member of the same patent family</p> <p>*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but which understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>*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</p> <p>*Y* document which may throw doubts on priority or which 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</p>		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
17 April 2003	06/05/2003	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5813 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-2016	Authorized officer Sánchez García, J.M.	

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		PCT/GB 02/01593
C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 11 65 013 B (VISMARA FRANCESCO SPA) 12 March 1964 (1964-03-12) column 3 -column 5; claims -----	1-18
X	US 3 941 825 A (TOMCUCIĆ ANDREW STEPHEN) 2 March 1976 (1976-03-02) column 3 -column 9; claims -----	1-18
X	US 4 060 640 A (KODAMA JIRO K ET AL) 29 November 1977 (1977-11-29) column 5 -column 6; claims -----	1-18
X	US 3 896 232 A (HOULIHAN WILLIAM J ET AL) 22 July 1975 (1975-07-22) column 3 -column 6 -----	1-18
X	US 3 982 020 A (HOULIHAN WILLIAM J ET AL) 21 September 1976 (1976-09-21) column 5 -column 6 -----	1-18
X	GB 1 223 491 A (AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION) 24 February 1971 (1971-02-24) page 5 -----	1-18
X	HOLZER W ET AL: "On the Structure of Guanylhydrazones Derived from Aromatic Aldehydes" MONATSHEFE FÜR CHEMIE, SPRINGER VERLAG. WIEN, AT. vol. 123, 1992, pages 1163-1173, XP002155881 ISSN: 0026-9247 page 1164 -page 1166 -----	1-18

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

page 2 of 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				PCT/GB 02/01593
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
WO 0125192	A 12-04-2001	AU 7802700 A WO 0125192 A1	10-05-2001 12-04-2001	
WO 0211715	A 14-02-2002	AU 7652201 A WO 0211715 A2	18-02-2002 14-02-2002	
WO 0212178	A 14-02-2002	AU 7653901 A WO 0212178 A1	18-02-2002 14-02-2002	
US 2584784	A 05-02-1952	NONE		
DE 1165013	B 12-03-1964	NONE		
US 3941825	A 02-03-1976	US 3901944 A US 3992446 A	26-08-1975 16-11-1976	
US 4060640	A 29-11-1977	US 3975533 A US 3658993 A	17-08-1976 25-04-1972	
US 3896232	A 22-07-1975	NONE		
US 3982020	A 21-09-1976	NONE		
GB 1223491	A 24-02-1971	BE 722136 A CA 958018 A1 CA 921829 A1 CH 524577 A CH 560188 A5 DE 1802394 A1 DK 128350 B FI 49958 B FR 8343 M GB 1223492 A IE 32417 B1 IE 32853 B1 IL 30782 A IN 117863 A1 IN 141035 A1 IT 1062053 B NL 6814608 A ,B, SE 381041 B ES 359087 A1 IE 32852 B1 PH 10262 A	10-04-1969 19-11-1974 27-02-1973 30-06-1972 27-03-1975 08-05-1969 16-04-1974 31-07-1975 21-12-1970 24-02-1971 25-07-1973 28-12-1973 30-08-1972 16-08-1975 15-01-1977 25-06-1983 15-04-1969 24-11-1975 16-08-1970 28-12-1973 20-10-1976	

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

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 25/04	A 6 1 P 25/04	
A 6 1 P 25/30	A 6 1 P 25/30	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 1 1

(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 ボマン、アーネ

スウェーデン、エス - 7 5 6 4 3 ウップサラ、グスタフ キエルベルグス ピエーグ 4

(72)発明者 セイフェルト、エリザベス

スウェーデン、エス - 7 5 6 4 8 ウップサラ、ロティクスヴィ . 1 7

(72)発明者 スコットナー、アンナ

スウェーデン、エス - 1 7 8 3 2 エケロー、ロボフ . 3

F ターム(参考) 4C085 KA26 LL18

4C206 AA01	AA02	AA03	AA04	HA05	MA04	MA37	MA55	MA57	MA72
MA86	NA14	ZA08	ZA66	ZA89	ZB07	ZB11	ZB26	ZC37	ZC42
ZC78									
4H006 AA01 AA02 AB20									