

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : A61K 31/00</p>	<p>A2</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/07579</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 17. Februar 2000 (17.02.00)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/05426</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 29. Juli 1999 (29.07.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 198 35 325.1 5. August 1998 (05.08.98) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BAYER AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-51368 Leverkusen (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GEHLING, Matthias [DE/DE]; Am Hühnerbusch 23a, D-42799 Leichlingen (DE). BAUMGARTEN, Jörg [DE/DE]; Henselweg 13, D-42115 Wuppertal (DE). KRETSCHMER, Axel [DE/DE]; Am Acker 23, D-42113 Wuppertal (DE). ANTONICEK, Horst-Peter [DE/DE]; Brahmsstrasse 2A, D-51467 Bergisch Gladbach (DE). PROKSCH, Peter [DE/DE]; Guttenger Grund 12, D-97234 Reichenberg (DE). NUGROHO, Bambang, W. [ID/DE]; Zimmer 109, Zörnstrasse 2, D-97074 Würzburg (DE). BOHNENSTENGEL, Frank [DE/DE]; Toräckerweg 12, D-97084 Würzburg (DE).</p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER AKTIENGESELLSCHAFT; D-51368 Leverkusen (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, 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, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>	
<p>(54) Title: USE OF CYCLOPENTABENZOFURAN-DERIVATIVES FOR COMBATING NF-κB-DEPENDENT DISEASES</p> <p>(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON CYCLOPENTABENZOFURAN-DERIVATEN ZUR BEKÄMPFUNG VON NF-κB-ABHÄNGIGEN KRANKHEITEN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to the use of cyclopentabenzofuran derivatives for the preparation of a medicament for the treatment of nuclear factor κB-dependent diseases.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die Erfindung betrifft die Verwendung von Cyclopentabenzofuran-Derivaten zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Nuclear Faktor κB-abhängigen Krankheiten.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Verwendung von Cyclopentabenzofuran-Derivaten zur Bekämpfung von NF-κB abhängigen Krankheiten

5 Die Erfindung betrifft die Verwendung von Cyclopentabenzofuran-Derivaten zur Herstellung eines Arzneimittels zur Therapie von NF-κB abhängigen Krankheiten.

Extrakte aus der Pflanze *Aglaia elliptifolia* zeigen antileukämische Eigenschaften. Als erste wirksame Verbindung wurde ein Rocaglamid genanntes Dihydrocyclopentabenzofuranol-Derivat identifiziert (J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1982, 1150; US
10 4 539 414). Daraufhin erschienen mehrere Arbeiten über schließlich auch erfolgreiche Syntheseveruche. Erst 10 Jahre nach der Isolierung von Rocaglamid wurden seine insektiziden Eigenschaften beschrieben (Pestic. Sci 36, 53 (1992); Phytochemistry 32, 67 (1993)) und darauf in einer anderen Art, *Aglaia odorata*, noch drei, sich nur in
15 einem Substituenten unterscheidende Derivate gefunden (Phytochemistry 32, 307 (1993)).

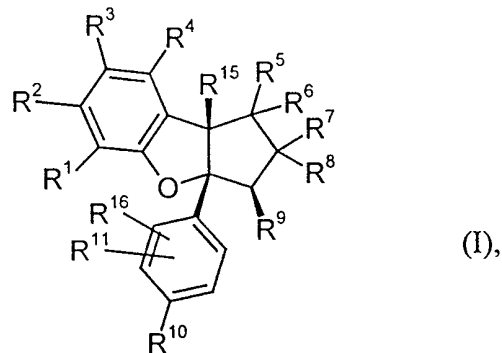
Später wurden z.B. aus der Art *Aglaia roxburghiana* erst vier anellierte Derivate des Rocaglamids isoliert (WO 96/04 284), dann zahlreiche weitere neue Derivate sowie deren pharmakologische Eigenschaften beschrieben (vgl. z.B. J. Nat. Prod 59, 650
20 (1996); Tetrahedron 52, 6931 (1996); Phytochemistry 44, 1455 (1997); Phytochemistry 45 1579 (1997); Z. Naturforsch., C: Biosci. 52, Tetrahedron 52, 17625 (1997); B.W. Nugroho, Dissertation, Bayer. Julius-Maximilian Univ. Würzburg, 1997, WO 97/08 161 A1, J. Nat. Prod. 61, 1482 (1998), Tetrahedron 53, 17625
25 (1997)).

Ein bedeutender Schritt bei vielen entzündlichen Prozessen ist die Translocation des Proteins „Nuclear Factor kappa B“, kurz NF-κB, in den Zellkern und die hierdurch verursachte Stimulierung der Expression der Gene, deren Produkt für entzündliche
30 Reaktionen verantwortlich sind (Trends Pharmacol. Sci. 18, 46 (1997)). Beispiels-

weise bei Asthma ist die nicht nützliche, übermäßige (nicht selbstbegrenzende) Produktion dieser Proteine für die Verstärkung und Aufrechterhaltung des entzündlichen Prozesses und die damit verbundenen unangenehmen bis lebensbedrohlichen Symptome dieser Krankheit verantwortlich. Weil die dem heutigen Stand der Technik entsprechende Langzeitbehandlung mit Glucocorticoiden mit einigen Nachteilen behaftet ist, wird NF- κ B als ein zwingendes Target gesehen für die Entwicklung von neuen entzündungshemmenden Wirkstoffen gegen Asthma.

Es wurde nun gefunden, daß die Cyclopentabenzofuran-Derivate der Formel (I)

10



in welcher

[A] R¹ für Wasserstoff steht,

15

R² für Methoxy steht,

R³ für Wasserstoff steht oder

20

R² und R³ gemeinsam für -OCH₂O- stehen,

R⁴ für Methoxy steht,

R⁵ für Hydroxy, OCHO oder Acetoxy steht,

R⁶ und R⁷ jeweils für Wasserstoff stehen oder

R⁵ und R⁶ gemeinsam für Sauerstoff (Oxo) oder Hydroxyimino stehen,

5

R⁸ für -COOR¹² oder -CONR¹³R¹⁴ steht, worin

R¹² und R¹³ für Wasserstoff oder Methyl stehen und

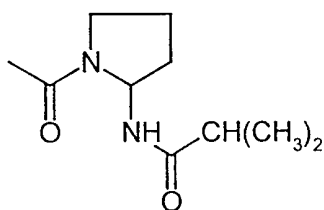
10

R¹⁴ für Wasserstoff, Methyl, 4-Hydroxybutyl oder 2-Tetrahydrofuryl steht,

oder

15

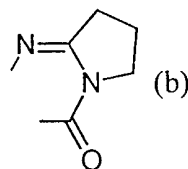
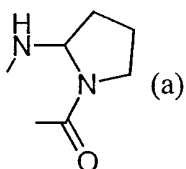
R⁸ für einen Rest der Formel



steht,

20

R⁵ und R⁸ gemeinsam für eine Gruppe der Formeln (a) oder (b)



stehen, wobei die dem N-Atom benachbarte Verknüpfungsstelle R^5 entspricht und darüber hinaus R^6 und R^7 gemeinsam für eine direkte Bindung stehen,

5 R^9 für Phenyl steht,

R^{10} für Methoxy steht,

R^{11} für Wasserstoff, Hydroxyl, Methoxy oder 2-Rhamnosyl steht, oder

10

R^{10} und R^{11} benachbart und gemeinsam für $-OCH_2O-$ stehen, oder

R^{15} für Hydroxy, Methoxy oder Ethoxy steht,

15 R^{16} für Wasserstoff, Hydroxy oder Methoxy steht,

[B] R^1 , R^3 und R^8 jeweils für Wasserstoff stehen,

R^2 und R^4 jeweils für Methoxy stehen,

20

R^5 für Hydroxy steht,

R^6 und R^7 jeweils für Wasserstoff stehen oder

25 R^5 und R^6 gemeinsam für Sauerstoff (Oxo-Gruppe) stehen,

R^9 für Phenyl steht,

R^{10} für Methoxy steht,

30

R^{11} für 2-Methoxy oder 2-Rhamnosyl steht, oder

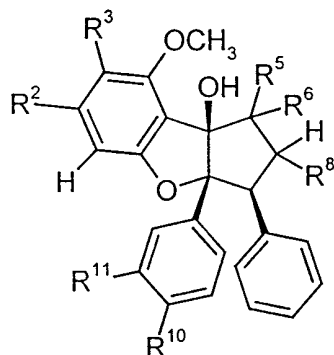
R^{10} und R^{11} benachbart und gemeinsam für $-OCH_2O-$ stehen,

5 geeignet sind als Inhibitoren der Nuclear Factor kappa B (NF- κ B)-vermittelten Genexpression zur Therapie pathophysiologischer Prozesse.

Die erfindungsgemäß verwendbaren Stoffe sind aus o.a. Literatur bekannt.

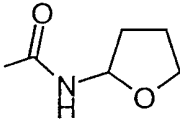
10 Beispiele für die erfindungsgemäß verwendbaren Stoffe der Formel (I) sind die Verbindungen (I-1) bis (I-45), die im folgenden aufgeführt sind.

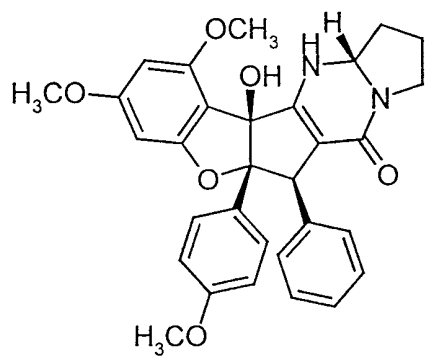
Tabelle 1



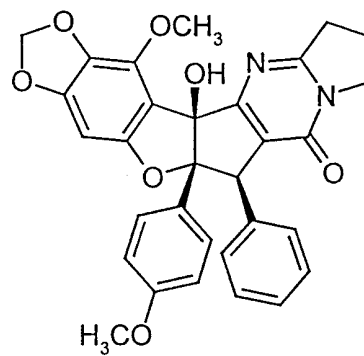
(I-n)

Nr. (n)	R ²	R ³	R ⁵	R ⁶	R ⁸	R ¹⁰	R ¹¹
1	OCH ₃	H	OH	H	CON(CH ₃) ₂	OCH ₃	H
2	OCH ₃	H	OH	H	CONHCH ₃	OCH ₃	H
3	OCH ₃	H	OH	H	CO ₂ CH ₃	OCH ₃	H
4	-OCH ₂ O-		OH	H	CON(CH ₃) ₂	OCH ₃	H
5	-OCH ₂ O-		OH	H	CON(CH ₃) ₂	OCH ₃	OCH ₃
6	OCH ₃	H	OH	H	CONH ₂	OCH ₃	H
7	OCH ₃	H	OH	H	CO ₂ H	OCH ₃	H
8	OCH ₃	H	OH	H	CON(CH ₃) ₂	OCH ₃	OH
9	OCH ₃	H	OCOCH ₃	H	CON(CH ₃) ₂	OCH ₃	OH
10	OCH ₃	H	OH	H	CONH(CH ₂) ₄ OH	OCH ₃	H
11	OCH ₃	H	OCOCH ₃	H	CONH(CH ₂) ₄ OH	OCH ₃	H
12	OCH ₃	H	OH	H		OCH ₃	H

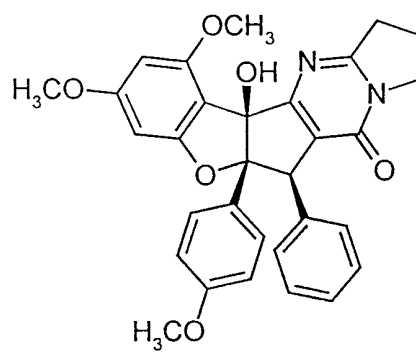
Nr. (n)	R ²	R ³	R ⁵	R ⁶	R ⁸	R ¹⁰	R ¹¹
13	OCH ₃	H	OH	H		OCH ₃	H
14	OCH ₃	H	OCOCH ₃	H	CONHCH ₃	OCH ₃	OH
15	OCH ₃	H	OH	H	CONH ₂	OCH ₃	OH
16	OCH ₃	H	OCOCH ₃	H	CO ₂ CH ₃	OCH ₃	OH
17	OCH ₃	H	OH	H	H	OCH ₃	OCH ₃
18	OCH ₃	H	OH	H	H	OCH ₃	O-Rham- nosyl
19	OCH ₃	H	OH	H	CON(CH ₃) ₂	OCH ₃	OCH ₃
20	OCH ₃	H	OH	H	CONHCH ₃	OCH ₃	OH
21	OCH ₃	H	OH	H	CONHCH ₃	OCH ₃	OH
22	OCH ₃	H	=NOH		CO ₂ CH ₃	OCH ₃	OCH ₃
23	OCH ₃	H	OH	H	CO ₂ CH ₃	-OCH ₂ O-	
24	OCH ₃	H	OH	H	H	-OCH ₂ O-	
25	OCH ₃	H	=O		H	-OCH ₂ O-	
26	OCH ₃	H	OCHO	H	CO ₂ CH ₃	-OCH ₂ O-	



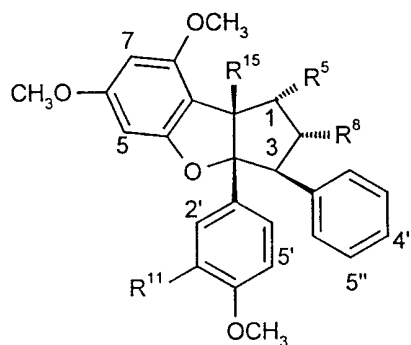
(I-27)



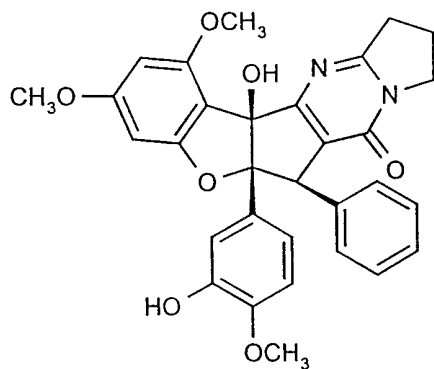
(I-28)



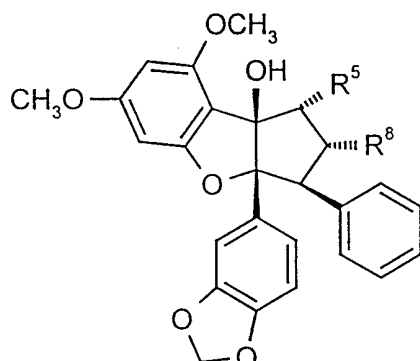
(I-29)

Tabelle 2

Nr.	R ⁵	R ⁸	R ¹¹	R ¹⁵
30	OCOCH ₃	CON(CH ₃) ₂	H	OH
31	OCOCH ₃	CONHCH ₃	H	OH
32	OCOCH ₃	CONH ₂	H	OH
33	OH	COOCH ₃	OH	OH
34	OH	COOCH ₃	OCH ₃	OH
35	OCOCH ₃	COOCH ₃	H	OH
36	OCHO	COOCH ₃	H	OH
37	OCHO	COOCH ₃	OH	OH



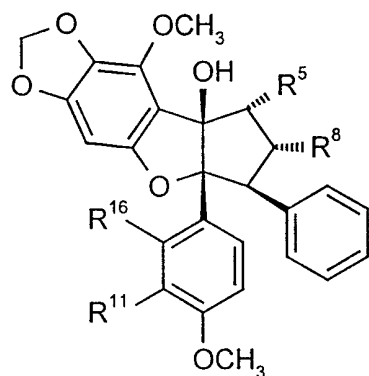
I-38

Tabelle 3

Nr.	R ⁵	R ⁸
39*	=O (R ⁵ /R ⁶)	H
40	OCOCH ₃	COOCH ₃

5

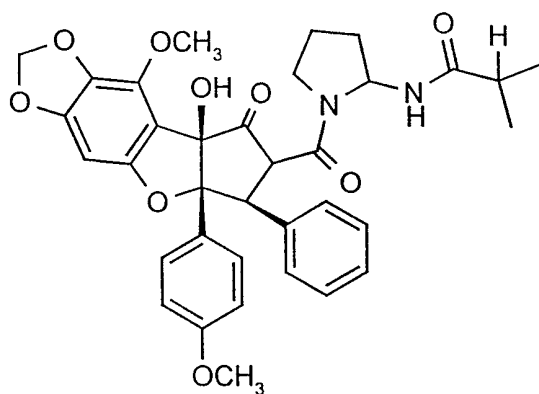
*) Cui et al., Tetrahedron 53, 17625 (1997)

Tabelle 4

Nr.	R ⁵	R ⁸	R ¹¹	R ¹⁶
41	OH	CON(CH ₃) ₂	OCH ₃	OH
42	OH	COOCH ₃	H	H
43	OCOCH ₃	COOCH ₃	H	H
44*	OH	COOCH ₃	OCH ₃	H

5

*) Brader et al., J. Nat. Prod. 61, 1482 (1998).



I-45

10 Von den obengenannten Stoffen der allgemeinen Formel (I) sind die Verbindungen I-1, I-2, I-3, I-4, I-5, I-6, I-8, I-10, I-12, I-13, I-15, I-19, I-20, I-22, I-26, I-28, I-32, I-33, I-42 bevorzugt.

Die erfindungsgemäß verwendbaren Stoffe sind niedermolekulare Inhibitoren, die selektiv Nuclear Factor kappa B (NF-κB)-vermittelte pathophysiologische Prozesse hemmen. NF-κB-vermittelte Prozesse treten bei Entzündungskrankheiten, immunologischen Erkrankungen, septischem Schock, Transplantatabstoßung, Strahlungsschäden, Reperfusionverletzungen nach Ischämie, Thrombosen oder bei komplexen, chronisch-entzündlichen Erkrankungen wie Arteriosklerose auf.

Zur pharmakologischen Wirkung von Inhibitoren des Nuclear Factor kappa B

10

Nuclear Factor kappa B (NF-κB) ist ein in vielen Gewebezellen und insbesondere in Blutzellen vorkommender dimerer Proteinkomplex. NF-κB nimmt eine besondere Rolle zur Steuerung der Expression von Genen ein, die in ihrer Promotorsequenz eine NF-κB Bindesequenz aufweisen (5'-GGGpuNNPyPyCC-3'). Insofern ist NF-κB ein Transkriptionsfaktor. Die physiologische Aktivität von NF-κB zur Kontrolle der Genexpression unterliegt jedoch einem Regulationsprinzip, bei dem NF-κB aus einem Komplex mit dem Protein IκB freigesetzt wird, um als Transkriptionsfaktor in den Zellkern zur Genaktivierung zu translozieren. Das Regulationsprinzip zur Freisetzung von aktivem NF-κB aus einem Komplex mit dem Protein IκB ist noch nicht in Einzelheiten bekannt.

20

Ebenso ist nicht bekannt, wie die Bildung von homodimeren und heterodimeren NF-κB Proteinkomplexen erfolgt. NF-κB wirkt als dimerer Transkriptionsfaktor auf die Genaktivierung ein. Die Dimerisierung kann unter den strukturell verwandten Transkriptionsfaktoren Rel A, Rel B, c-Rel, p50 oder p52 erfolgen, die eine Familie von Transkriptionsfaktorproteinen bilden. Auch kann in der Dimerisierung der Untereinheiten zum NF-κB bereits ein Regulationsprinzip zur Steuerung der später näher beschriebenen Gene liegen, das noch nicht bekannt ist.

25

Ein entscheidendes Merkmal von NF- κ B gegenüber anderen Transkriptionsfaktoren ist, daß NF- κ B ein primärer Transkriptionsfaktor ist. Primäre Transkriptionsfaktoren sind in inaktiver (meist komplexgebundener) Form bereits in der Zelle vorhanden und werden nach einem entsprechenden Stimulus freigesetzt, um ihre Wirkung sehr schnell entfalten zu können. Primäre Transkriptionsfaktoren werden nicht erst durch die Aktivierung des zugehörigen Gens und anschließende Transkription und Translation gebildet.

Diese Eigenschaft des NF- κ B, die Ausbildung homodimerer oder heterodimerer Rel-Proteine sowie die Ausbildung eines inaktiven Proteinkomplexes mit einem I κ B Protein, bieten ganz andere Angriffspunkte für pharmakologisch wirksame Substanzen, als die Angriffspunkte der de novo Biosynthese von Transkriptionsfaktoren. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß die Gene zur Bildung von NF- κ B (Gene der Rel Familie) und die Gene zur Bildung der I κ B Proteine (Genfamilie umfassend die Gene für I κ B- α , I κ B- β , p105/I κ B- γ , p100/I κ B- δ , I κ B- ϵ u.a.) ihrerseits natürlich auch einer Regulation unterliegen, die Angriffspunkte für pharmazeutisch wirksame Substanzen darstellen können. So ist bekannt, daß die Expression der konstitutiv gebildeten I κ B Proteine p105 und p100 durch Stimuli erhöht wird, die auch NF- κ B aktivieren, wie z.B. Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) oder Phorbolmyristatacetat (PMA).

Ein Regulationsmechanismus ist in der Literatur beschrieben, in dem gezeigt wird, daß die Überexpression von I κ B aktives NF- κ B bindet und damit inaktiviert. Dies gilt auch, wenn das NF- κ B bereits eine Komplexbindung mit der DNA eingegangen ist (P.A. Baeuerle, T. Henkel, *Annu. Rev. Immunol.* 12, 141-179, 1994). Daraus kann geschlossen werden, daß es mehrere spezifische Angriffspunkte in der biochemischen Funktion von NF- κ B und I κ B Proteinen gibt, die es ermöglichen sollten, eine ungewünschte, pathophysiologische, NF- κ B-abhängige Genaktivierung selektiv zu hemmen.

Eine chemische Verbindung, die selektiv die Funktion von NF- κ B hemmt oder die Funktion von I κ B Proteinen oder I κ B Genen verstärkt, sollte als Pharmazeutikum zur Unterdrückung von NF- κ B-vermittelten Krankheitsprozessen Verwendung finden können.

5

Primär kann NF- κ B alle pathophysiologischen Prozesse fördern, an denen Gene beteiligt sind, die in ihrem Promotor die NF- κ B Bindesequenz aufweisen. Namentlich sind dies Gene, die bei immunologischen Komplikationen, bei Entzündungskrankheiten, Autoimmunerkrankungen, septischem Schock, Transplantatabstoßung, Thrombosen oder aber auch bei chronisch-entzündlichen Krankheiten wie Arteriosklerose, Arthritis, Rheuma und Psoriasis eine entscheidende ursächliche Rolle spielen.

10

NF- κ B Bindesequenzen enthalten z.B. die Promotoren von Rezeptoren lymphoider Zellen (T-Zellrezeptoren), von MHC I- und MHC II-Genen, von Zelladhäsionsmolekülen (ELAM-1, VCAM-1, ICAM-1), von Zytokinen und Wachstumsfaktoren (siehe auch nachfolgende Tabelle). Weiterhin finden sich NF- κ B Bindesequenzen in den Promotoren von Akutphasenproteinen (Angiotensinogen, Komplementfaktoren u.a.).

15

Eine chronisch erhöhte oder akut überschießende Aktivierung der genannten Gene führt zu vielfältigen pathophysiologischen Prozessen und Syndromen.

20

So ist die schnelle und überschießende Produktion von Zytokinen der Entzündungsreaktion (TNF α , Interleukin-2, Interleukin-6, Interleukin-8 u.a.) und der Adhäsionsmoleküle (ELAM-1, ICAM-1, VCAM-1) in Leukozyten, insbesondere in Makrophagen und auch in Endothelzellen, ein ursächliches Merkmal für oft tödlich verlaufende Prozesse bei septischem Schock; oder führt bei Strahlungsschäden und bei Transplantatabstoßung zu erheblichen Komplikationen. Hemmstoffe, die die NF- κ B-vermittelte Genexpression verhindern, greifen bei einigen Krankheiten sehr früh in die Ausprägung pathophysiologischer Veränderungen ein und können daher ein sehr

25

30

wirkungsvolles therapeutisches Prinzip darstellen. Ein Beispiel sind auch NF- κ B Inhibitoren für Krankheiten, die auf eine Überexpression von Akutphasenproteinen zurückzuführen sind. Eine ungewünschte Überexpression von Akutphasenproteinen kann eine komplexe Allgemeinreaktion hervorrufen, bei der Gewebeschäden verschiedenster Art, Fieber und lokale Symptome wie Entzündungen und Nekrosen auftreten können. Meist ist das Blutbild verändert. NF- κ B induziert zum Beispiel stark das Serum Amyloid A Vorläuferprotein in der Leber im Zuge einer Induktion von Akutphasenproteinen.

10 Beispielsweise kann die NF- κ B-vermittelte Genexpression des Interleukin-2-(Il-2)Gens gehemmt werden.

Interleukin-2 ist ein Cytokin das u.a. als hämatopoetischer Wachstumsfaktor eine zentrale Rolle bei diversen entzündlichen Prozessen spielt (Annu. Rev. Immunol 15 1994, 12:141-79). Der Promotor des Interleukin-2 Gens ist NF- κ B abhängig. Eine Inhibition der NF- κ B Stimulierung eröffnet somit die Möglichkeit, ein Überschießen der Il-2 Produktion zu verhindern und somit entzündliche Prozesse zu therapieren.

Bei anderen Krankheitsbildern wie Gewebeschädigung nach Reperfusion oder Leberzirrhose können Hemmstoffe der NF- κ B-vermittelten Genexpression ebenfalls einen bedeutenden Therapiefortschritt darstellen. Es gibt Evidenzen, daß durch Oxidationsreaktionen, die zu oxidativem Streß nach Reperfusion von ischämischem Gewebe führen, NF- κ B-gesteuerte Gene induziert werden. Auf diese Weise wird eine Überexpression von Zytokinen und Zelladhäsionsmolekülen im ischämischen Gewebe eine übermäßige Rekrutierung von infiltrierenden Lymphozyten ausgelöst. Die rekrutierten Lymphozyten tragen ursächlich zur Gewebeschädigung bei.

Ebenso ist die Beteiligung der NF- κ B-gesteuerten Genexpression bei mehreren neurodegenerativen Erkrankungen evident. Insbesondere bei Nervenkrankheiten, bei denen der Redoxzustand von Zellen des neuronalen Gewebes gestört ist, wird der selektiven Hemmung von Genen mit NF- κ B Bindesequenz ein therapeutischer

Nutzen beigemessen. Ein gestörter Redoxzustand neuronaler Zellen wird bei amyotropher Lateralsklerose und bei Down-Syndrom angenommen.

5 Es ist bekannt, daß NF- κ B ein häufig anzutreffender Transkriptionsfaktor in neuronalem Gewebe ist und daß NF- κ B im Gehirn ein Redoxpotential-gesteuerter Transkriptionsfaktor ist (P.A. Bauerle, T. Henkel, Annu. Rev. Immunol. 12, 141-179, 1994). Eine Aufstellung der Gene, die durch NF- κ B induziert werden ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Tabelle 2

Gene, die durch NF- κ B induziert werden (P.A. Bauerle, T. Henkel, Annu. Rev. Immunol. 12, 141-179, 1994)

5

Immunorezeptoren	Immunoglobulin κ light chain T cell receptor β T cell receptor α chain (human) Major histocompatibility complex class I (H-2K) β_2 -Microglobulin Invariant chain I Tissue factor-1
Zelladhäsionsmoleküle	Endothelial leukocyte adhesion molecule 1 (ELAM-1) Vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) Intercellular cell adhesion molecule 1 (ICAM-1)*
Zytokine und Wachstumsfaktoren	β -Interferon Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) Macrophage colony-stimulating actor (M-CSF) Melanoma growth stimulating activity (gro α - γ /MGSA) Interleukin-2 Interleukin-6 Interleukin-8 TNF α Lymphotoxin (TNF- β) Proenkephalin MPC-1/JE*
Akutphasenproteine	Angiotensinogen Serum amyloid A precursor Complement factor B Complement factor c4 Urokinase-type plasminogen activator*

*Die Bindung von NF- κ B an den Promotor des genannten Gens ist noch nicht schlüssig experimentell nachgewiesen.

- Neben den bereits genannten Genen, deren Aktivität mit der Freisetzung des NF- κ B gesteuert wird und die besonders bei Entzündungsprozessen, septischem Schock und Transplantatabstoßung eine Rolle spielen, seien auch noch NF- κ B-gesteuerte Gene in
- 5 Viren erwähnt und solche, die oncogene zelluläre Veränderungen hervorrufen (Oncogene wie c-myc, c-rel, Melanoma Growth Stimulating Activity MGSA). Auch bei diesen Genen stellt eine selektive Hemmung der NF- κ B Bindung ein vielversprechendes, therapeutisch nutzbares Konzept dar. Die Genexpression lymphotropher Viren wie HIV, HTLV und Epstein-Barr Virus wird entweder direkt oder
- 10 durch NF- κ B aktiviert oder in der infizierten Wirtszelle wird NF- κ B induziert, was der Virusreplikation förderlich ist. Neben HIV wirkt NF- κ B positiv auf die Genexpression im Zytomegalievirus (CMV) und Adenovirus. Auch hier sind antivirale Effekte mit NF- κ B Inhibitoren denkbar.
- 15 Die Verwendung der erfindungsgemäß verwendbaren Stoffe geht aus den nachfolgenden Beispielen hervor.

Anwendungsbeispiele

Beispiel A

5 **Hemmung der NF- κ B-vermittelten Genexpression des Tumor Nekrose Faktor- α (TNF α) Gens in menschlichen Monozyten**

Der Promotor des humanen TNF α Gens enthält drei NF- κ B Bindesequenzen, die als k1, k2 und k3 bezeichnet werden. Die NF- κ B Bindesequenzen finden sich im Promotor des TNF α Gens an den Nukleotid-Positionen k1 = -587 bis -577, k2 = -210 bis
10 -202 und k3 = -98 bis -87 und diese DNA Sequenzen binden spezifisch NF- κ B (A.E. Goldfield et al., Proc. Natl. Acad. Scri. USA 87, 9769-9773, 1990). Lipopolysaccharid oder Phorbolster (wie z.B. Phorbolmyristataacetat) induzieren die NF- κ B Freisetzung (M.J. Lenardo et al., Cell 58, 227-229, 1989).

15 Daher wird zum Nachweis der Inhibition der NF- κ B-vermittelten TNF α Genexpression durch die hier beschriebenen Substanzen folgender biologischer Test durchgeführt.

Mononukleare Zellen aus Spenderblut werden mit Vacutainer CPT^(TM) Röhrchen
20 (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ. 07417-1885) isoliert, entsprechend den Vorschriften des Herstellers. Die Vacutainer CPT Röhrchen enthalten 1,0 ml phosphatgepufferte Saline mit 120 USP Einheiten Natriumheparin über 3,0 g eines Polyestergerls, das 2,0 ml einer Ficoll-Lösung überschichtet. Nach der Zentrifugation des Spenderbluts werden die Monozyten aus einer Zone oberhalb des Polyestergerls
25 genommen und mit einer Zelldichte von 250×10^5 Zellen pro well in 96-well Mikrotiterplatten für die Zellkultur ausgesät.

Die Zellen werden 4-6 Stunden in Medium RPMI-1640 (Gibco BRL, Life Technologies GmbH, Dieselstr. 5, 76344 Eggenstein) inkubiert. Anschließend wird
30 der Kulturüberstand abgesaugt, es wird erneut Medium RPMI-1640 hinzugefügt und

die zu testenden Substanzen werden in Konzentrationen üblicherweise zwischen 0 μM (Negativ-Kontrolle) und 20 μM zugesetzt. Direkt anschließend wird bakterielles Lipopolysaccharid (LPS), Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Grünwalder Weg 30, 82039 Deisenhofen, Best.-Nr.: L 4391, in einer Konzentration von 125 ng/ml zur Stimulierung der NF- κ B-vermittelten TNF α Genexpression zugegeben. Nach einer weiteren Inkubation von 18 Stunden bei 37°C in 5 % CO₂ Atmosphäre wird aus den Mikrotiterplatten Kulturüberstand entnommen und darin der TNF α Gehalt quantitativ bestimmt mit kommerziell verfügbaren enzymgebundenen Immunosorbentassays (ELISA).

10

TNF α ELISA zur Konzentrationsbestimmung werden z.B. von Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Grünwalder Weg 30, 82039 Deisenhofen unter der Bezeichnung Human TNF α ELISA Kit, Best.-Nr.: CKH-200A, vertrieben. Entsprechend der Gebrauchsanweisung des Herstellers wird die Konzentration des gebildeten TNF α im Kulturüberstand der Monozytenkultur nach LPS Stimulation mit und ohne Inhibitor-substanz quantitativ bestimmt.

15

Die Ergebnisse der TNF α -Konzentrationsbestimmung werden in einem x-y-Achsendiagramm gegeneinander aufgetragen. Der Graph der y-Koordinaten (TNF α -Konzentration im Kulturüberstand) und der x-Koordinaten (Konzentration des eingesetzten Inhibitors) erlaubt es, die Hemmung der NF- κ B-vermittelten TNF α Synthese in Abhängigkeit von der Konzentration der Inhibitor-substanz abzulesen. Auf diese Weise kann diejenige Wirkstoffkonzentration des zugesetzten Inhibitors aus dem Diagramm abgelesen werden, die z.B. die TNF α Synthese um 50 % hemmt. Diese Wirkstoffkonzentration, die eine 50 %-ige Hemmung hervorruft, wird effektive Hemmstoffkonzentration für 50 %-Hemmung (IC₅₀) genannt.

20

25

Beispielsweise betragen die Konzentrationen der halbmaximalen TNF α Syntheseinhibition (IC₅₀) der Verbindung I-2 (aus Tabelle 1) 0,3 μM , bei Verbindung I-15

1,0 μ M und bei Verbindung I-21 0,5 μ m. Die Verbindungen stellen damit potente Inhibitoren der NF- κ B-vermittelten TNF α Synthese dar.

Beispiel B

5 **Hemmung der NF- κ B-vermittelten Genexpression des menschlichen Tissue-Factor Gens in Monozyten**

Tissue Factor ist ein membranständiges Protein, das den primären Initiator der Blut-Koagulationskaskade darstellt und eine Schlüsselfunktion bei Herzkreislaufferkrankungen wie unstabiler Angina pectoris, akuten Implikationen nach Plaque-Ruptur, Gefäßocclusionen verschiedener Ätiologie, arteriosklerotischen Prozessen und anderen Krankheiten wie septischem Schock oder Krebs einnimmt. Das Tissue Factor Gen wird insbesondere in Monozyten und Endothelzellen durch NF- κ B-Aktivierung induziert. Der Promotor des humanen Tissue Factor Gens enthält eine
10 NF- κ B Bindestelle, die entscheidend zur Aktivierung des Promotors beiträgt (P. Oeth et al. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 17, 365-374, 1997).
15

Daher wurde zum weiteren Nachweis der Hemmung der NF- κ B-vermittelten Genexpression durch die erfindungsgemäßen Inhibitoren folgender biologisch Test
20 durchgeführt:

Das Promotor-Fragment des humanen Tissue Factor Gens, das die NF- κ B Binde-sequenz enthält, wurde mit Oligonukleotid-Primern der Sequenz 5'-TCC CTC GAG ATC TCC CAG AGG CAA ACT GCC AGA T-3' (5'-Primer der Position -925) und
25 5'-TCC TCG AGC CAT GGC TAC CAG TTG GGC GGC GAG ATC-3' (3'-Primer enthaltend das ATG-Startcodon der kodierenden Sequenz des Tissue-Factor Gens) durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) kloniert und durch eine NcoI-/ XhoI-Klonierung mit dem Luciferase Startcodon im Plasmid pGL3-Basic Vector (Promega Corp. 2800 Woods Hollow Road, Madison, WI 53711-5399 USA) fusioniert.
30 Dadurch wird die Expression der Luciferase im so entstandenen rekombinanten

Plasmid durch den humanen Tissue Factor Promoter reguliert. Dieses Expressionskonstrukt wurde zur Analyse der DNA-Sequenzierung unterworfen und in die Monocytenzelllinie RAW 264.7 (American Type Culture Collection 12301 Parklane Drive, Rockville, Maryland 20852, USA) transfiziert. Die Transfektion, Selektion und Klon-Analyse erfolgte nach Standardmethoden, wie sie beschrieben sind (siehe
5 Transfection of Mammalian Cells in Culture, L.G. Davis et al. Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier Sci. Publishing Co., New York 1986). Nach der Selektion von RAW-Klonen, die das Expressionskonstrukt stabil im Genom integriert hatten, wurde eine dieser Transfektanten, genannt RAW-A3, für den Test
10 der Inhibitoren ausgewählt.

Testdurchführung:

In 12-well Mikrotiterplatten werden in jede Vertiefung 106 RAW-A3 Zellen ausgesät. Schrittweise wird die Serum-Konzentration in drei Tagen im RPMI
15 Medium von 10 % fötalem Kälberserum auf 0,5 % und 0,1 % Serum-Anteil abgesenkt, um die serum-abhängige Tissue Factor Promotor Aktivierung auf ein Minimum zu senken. Nach 24 Stunden Kultur in Medium mit 0,1 % Serum wird der NF- κ B Inhibitor zugesetzt und anschließend Serum bis zu einer Konzentration von
20 15 % im Medium zur Promotor-Induktion zugesetzt.

Nach weiteren 6 Stunden wird der Kulturüberstand abgesaugt und die Zellen werden zur Messung der Luciferase-Aktivität gemäß der Vorschrift des „Luciferase Assay System“ (Technical Bulletin der Fa. Promega, 2800 Woods Hollow Road, Madison, WI 53711-5399 USA, Produkte E4030, E1483, E1501) verarbeitet. Das Zelllysat
25 wird mit dem Luciferase Assay Substrat inkubiert und in einem Luminometer zur Messung des emittierten Lichts vermessen. Bei einer Auftragung in einem x-y-Achsendiagramm mit dem jeweils emittierten Licht (angegeben in relative light units) als y-Koordinate und den Inhibitorkonzentrationen als x-Koordinaten ergibt sich ein Graph für $f(x)$, bei dem der halbmaximale y-Wert einer Inhibitor-
30 konzentration x zuzuordnen ist, die der Hemmkonzentration IC_{50} in diesem Test entspricht.

Zum Beispiel beträgt der IC_{50} -Wert der Verbindung I-2 (aus Tabelle 1) $0,4 \mu\text{M}$ und der Verbindung I-21 $4,0 \mu\text{M}$. Die NF- κ B-vermittelte Expression der Luciferase durch die erfindungsgemäßen Inhibitoren mit einer Konzentration im unteren mikromolaren oder im submikromolaren Bereich weist auf die hohe Wirksamkeit der Hemmung einer NF- κ B-vermittelten Genexpression hin.

Beispiel C

Hemmung der NF- κ B-vermittelten Genexpression des Tumor Nekrose Faktor- α (TNF α) Gens in menschlichen Monozyten in Abhängigkeit von drei verschiedenen TNF α Synthesestimuli

Die NF- κ B-vermittelte Induktion der TNF α -Synthese ist unabhängig von den unterschiedlichen Stimuli, die durch LPS, opsonisiertem Zymosan oder Phorbolmyristataacetat (PMA) für die Aktivierung des TNF α Promotors eingesetzt werden (A. Baldwin, Annual Rev. Immunology 14, 649, 1996). Daher sollte der Einsatz der erfindungsgemäßen Inhibitoren auch zu einer vergleichbar starken Hemmung der TNF α Synthese führen unabhängig von der Art der Stimulierung der TNF α Synthese.

20

Die Tests für diesen Nachweis der stimulusunabhängigen Hemmung der TNF α Synthese erfolgten von der Art der Testdurchführung genauso wie es unter Beispiel A beschrieben ist mit dem Unterschied, daß neben LPS als Stimulus auch Zellkulturansätze mit 100 nM PMA oder mit $100 \mu\text{g/ml}$ opsonisiertem Zymosan stimuliert wurden. Zymosan und Phorbolmyristataacetat (PMA) können von der Firma Sigma, Grünwalder Weg 30, 82041 Deisenhofen, Deutschland unter den Bestell-Nrn. Z4250 und P8139 bezogen werden. Zymosan wird in humanem Serum opsonisiert.

Die erfindungsgemäßen NF- κ B-Inhibitoren hemmen unabhängig vom Stimulus mit IC_{50} Werten im submikromolaren Bereich in vergleichbarer Weise die TNF α

30

Synthese in humanen Monozyten wie es im Beispiel A gezeigt wurde. So ist für Verbindung I-2 der IC_{50} -Wert nach PMA-Stimulus $0,4 \mu\text{M}$ und nach Zymosan-Stimulus $0,4 \mu\text{M}$.

5 **Beispiel D**

Hemmung der NF- κ B vermittelten Genexpression des Adhäsionsproteins ELAM-1 an humanen Nabelschnurendothelzellen (HUVEC)

Die Rekrutierung von Leukozyten aus der Blutzirkulation in den extravaskulären
10 Raum ist essentiell bei inflammatorischen Antworten und bei der Reparatur von
Gewebeschäden. Der Prozeß der Leukozyteneinwanderung beinhaltet mehrere hinter-
einander geschaltete Schritte. Die initiale Interaktion zwischen Leukozyten und dem
Endothel der Blutgefäße wird durch TNF und Il-1 abhängige Expression des
Adhäsionsproteins ELAM-1 am Endothel vermittelt. Sie vermittelt das sogenannte
15 Rolling der Leukozyten entlang der Blutgefäßwand. Die transkriptionale Regulation
der ELAM-1 Expression ist abhängig sowohl von der Nuclear Faktor- κ B (NF- κ B)
Aktivierung und Bindung am ELAM-1 Promotor als auch von der "AP-1 binding
site." MA. Read et al., J. Biol. Chem. Vol. 272, 2753-2761, (1997).

20 Der Einfluß von Verbindung I-2 auf die Expression von ELAM-1 wurde in zwei
unterschiedlichen Testansätzen überprüft. Es wurde in einem funktionellen Ansatz
die Adhäsion von humanen Neutrophilen an TNF- α stimulierten HUVEC-Zellen
gemessen. Die Expression von ELAM-1 an der Oberfläche der HEVECs wurde mit
einem fluoreszenz-markierten ELAM-1 spezifischen monoklonalen Antikörper
25 mittels FACS-(Cell Sorting) Analyse bestimmt.

Versuchsdurchführung: ELAM-1 abhängige Neutrophilen-Adhäsion an Endothelzellen

5 Die Neutrophilen wurden aus menschlichem Blut (100 ml) isoliert. Dazu wurde in einem Zentrifugenbecher 3,5 ml Polyprep vorgelegt und mit 5 ml Blut vorsichtig überschichtet. Nach 30 Minuten Zentrifugieren bei 2100 min^{-1} wurde die Neutrophilenbande in der Mitte des Zentrifugenbechers abgesaugt. Nach 1:2 Verdünnungen in Endothelial Cell Basal Medium (EBM) Fa. Clonetics wurde wiederum 20 Minuten bei 1000 min^{-1} zentrifugiert und anschließend zu einer Zellkonzentration von 10 10^6 Zellen/ml aufgenommen.

15 Die Nabelschnur-Endothelzellen wurden in 96 Well-Mikrotiterplatten in EBM + 10 % FCS zur Konfluenz angezogen. Bei Versuchsbeginn wurde das Medium gegen EBM ohne FCS ausgetauscht und anschließend die Versuchssubstanzen eingesetzt. Nach 20 Minuten wurden die HUVECs mit 10 nM TNF- α stimuliert. Nach 4 Stunden Inkubation wurden gegen 200 μl /Well der Neutrophilensuspension ausgetauscht. Die Neutrophilen wurden vorher 20 Minuten mit einer 25 μM BCECP-Fluoreszenzfarbstofflösung markiert. Nach 30 Minuten Inkubation wurde die BCECP-Neutrophilen-Lösung mit überschüssigen Neutrophilen abgezogen und gegen 200 μl /Well 0,5 %iger NaOH-Lösung ausgetauscht. Die 20 Fluoreszenz der anhaftenden Neutrophilen wurde anschließend im Fluoreszenzphotometer gemessen.

25 Sowohl die Adhäsion der Neutrophilen an TNF- α stimulierten HUVECs, als auch die Expression von ELAM-1 an der Zelloberfläche konnte durch die Verbindungen zu 50 % inhibiert werden. Die maximale Inhibition der Zelladhäsion wurde mit 10 nM für Verbindung I-2 bestimmt. Die maximale 50 %ige Hemmung der ELAM-1 Expression steht in guter Übereinstimmung mit der gleichzeitig NF- κB und AP-1 abhängigen Regulation des ELAM-1-Promotors.

Versuchsdurchführung: Quantitative Messung der TNF-induzierten Expression von ELAM-1 in HUVECs:

5 Nabelschnur-Endothelzellen (HUVEC) wurden wie oben beschrieben kultiviert und in Gegenwart oder Abwesenheit von 10 ng/ml TNF in Gegenwart oder Abwesenheit von Testsubstanzen für 4 Stunden inkubiert. Die Zellen wurden aus den Mikrotiterplatten durch Inkubation mit 5 mM EDTA in PBS herausgelöst, für 5 Minuten bei 1000 min⁻¹ zentrifugiert, und in 100 µl PBS plus 1 % Rinderserum Albumin (BSA, Fa. Sigma-Aldrich GmbH, Best. Nr. A7906) in einem Anti-ELAM 1 Antikörper (monoklonaler Antikörper, Fa. Becton and Dickinson, 10 Erembodegem, Belgien, Best. Nr. 550 023, 30 µg/ml) bei RT inkubiert. Nach 15 Minuten wurden die Zellen erneut zentrifugiert, der Überstand wurde verworfen und die Zellen wurden in PBS plus 1 % BSA gewaschen. Nach erneuter Zentrifugation wurde das erhaltene Zellpellet in PBS plus 1 % BAS und einem Ziege-anti-Maus 15 Antikörper (Fa. Dianova, Raboisen 5, Hamburg, Best. Nr. 115-096-062; 30 µg/ml) für die Dauer von 15 Minuten inkubiert. Nach erneutem Zentrifugieren und Waschen wurden die Zellen in 1 ml PBS plus 1 % BSA aufgenommen und in einem Flow-Cytometer (Fa. Becton and Dickinson) bei 488 nm vermessen. Gemessen wird mit diesem Verfahren die Intensität der Fluoreszenz in Abhängigkeit von gebundenem 20 anti-ELAM-1-Antikörper pro Zelle- Für jeden Wert wurden 5000 Zellen vermessen.

HUVECs, die mit TNF für 4 Stunden stimuliert wurden, zeigten nach Inkubation mit anti-ELAM-1-Antikörpern deutlich stärkere Fluoreszenzsignale als Zellen, die demgegenüber nicht mit TNF inkubiert wurden. Die Verbindung I-2 vermochte diese 25 induzierte Expression von ELAM-1 in einem Konzentrationsbereich zwischen 0,05 µM und 5 µM signifikant zu inhibieren, die Expression von ELAM-1 wurde allerdings bei keiner der untersuchten Konzentrationen vollständig inhibiert.

Beispiel E

Hemmung der Interleukin-2-Synthese

5 Zur Testung der Hemmwirkung von Cyclopentabenzol-Derivaten auf die Interleukin-2-Synthese wurde eine Reporterzelllinie benutzt, die den Interleukin-2-Promotor gekoppelt an das Luciferasegen enthält. Der Promotor enthält die DNA-Sequenz von -480 bis +4. Der eingesetzte Vektor ist pGL3; die Ausgangszelllinie, in die das gesamte Konstrukt stabil transfiziert wurde, ist SS-1. Das Kulturmedium für diese Zelle war RPMI 1640 (Gibco, Rockville). Es enthielt zusätzlich: 100 µg/ml Streptomycin, 100 U/ml Penicillin, 2 mM L-Glutamin, 10 % Hitze-inaktiviertes FBS und 800 µg/ml G418 Sulfat.

Testdurchführung

15 Die Reporter-Testzelllinie wurde in Phenolrot-freies RPMI mit den Zusätzen zu 1×10^6 Zellen pro Well in 96-Well-Platten ausgesät und mit Phorbol 12-myristat 13-Acetat (PMA; 5 ng/ml) und Ionomycin (10 M; 0,4 µg/ml) für 24 Stunden bei 37°C in einer Atmosphäre von 5 % CO₂, 95 % Luft inkubiert. Die Testsubstanzen wurden gleichzeitig mit PMA zugesetzt.

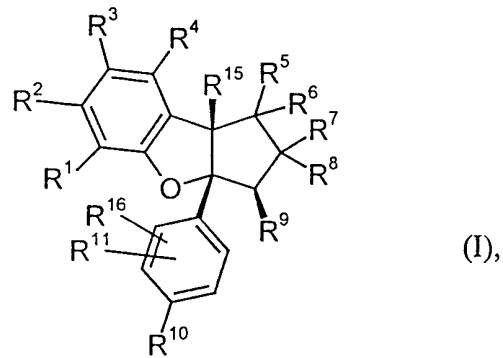
20

Messung der Luciferaseaktivität:

25 Zur Generierung der Lumineszenz wurde LucLite™ Lösung (Packard, Meriden, CT) zu einer Konzentration von 100 µl/Well zugesetzt und sofort nach Zugabe die Lumineszenz im Luminometer (Luminoskan, Labsystems) gemessen.

Patentansprüche

1. Verwendung von Cyclopentabenzofuran-Derivaten der Formel (I)



5

in welcher

[A] R¹ für Wasserstoff steht,

10 R² für Methoxy steht,

R³ für Wasserstoff steht oder

R² und R³ gemeinsam für -OCH₂O- stehen,

15

R⁴ für Methoxy steht,

R⁵ für Hydroxy, OCHO oder Acetoxy steht,

20

R⁶ und R⁷ jeweils für Wasserstoff stehen oder

R⁵ und R⁶ gemeinsam für Sauerstoff (Oxo) oder Hydroxyimino stehen,

R⁸ für -COOR¹² oder -CONR¹³R¹⁴ steht, worin

R¹² und R¹³ für Wasserstoff oder Methyl stehen und

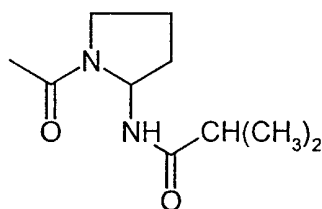
R¹⁴ für Wasserstoff, Methyl, 4-Hydroxybutyl oder 2-Tetrahydrofuryl steht oder

5

oder

R⁸ für einen Rest der Formel

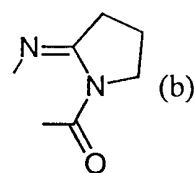
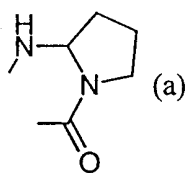
10



steht,

R⁵ und R⁸ gemeinsam für eine Gruppe der Formeln (a) oder (b)

15



stehen, wobei die dem N-Atom benachbarte Verknüpfungsstelle R⁵ entspricht und darüber hinaus R⁶ und R⁷ gemeinsam für eine direkte Bindung stehen,

20

R⁹ für Phenyl steht,

R¹⁰ für Methoxy steht,

R¹¹ für Wasserstoff, Hydroxy, 2-Methoxy oder 2-Rhamnosyl steht,
oder

5 R¹⁰ und R¹¹ benachbart und gemeinsam für -OCH₂O- stehen, oder

R¹⁵ für Hydroxy, Methoxy oder Ethoxy steht,

R¹⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Methoxy steht,

10

[B] R¹, R³ und R⁸ jeweils für Wasserstoff stehen,

R² und R⁴ jeweils für Methoxy stehen,

15

R⁵ für Hydroxy steht,

R⁶ und R⁷ jeweils für Wasserstoff stehen oder

R⁵ und R⁶ gemeinsam für Sauerstoff (Oxo-Gruppe) stehen,

20

R⁹ für Phenyl steht,

R¹⁰ für Methoxy steht,

25

R¹¹ für 2-Methoxy oder 2-Rhamnosyl steht, oder

R¹⁰ und R¹¹ benachbart und gemeinsam für -OCH₂O- stehen,

zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Nuclear Faktor
κB-abhängigen Krankheiten.

30

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Arzneimittel zur Behandlung von Entzündungskrankheiten, immunologischen Erkrankungen, septischem Schock, Transplantatabstoßung, Strahlungsschäden, Reperfusionverletzungen nach Ischämie, Thrombosen oder komplexen, chronisch-entzündlichen Erkrankungen wie Arteriosklerose hergestellt wird.
- 5