

71.913/SZE

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

KIVONAT

**PROSZTAGLANDIN (PGE₂) RECEPTOR-4 (EP₄) SZELEKTÍV
AGONISTA HATÓANYAGOK ALKALMAZÁSA AKUT ÉS
KRÓNIKUS VESEELÉGTELENSÉG KEZELÉSÉRE**

alkalmas gyógyszerként a veseelégtelenség kezelésére

A jelen találmány tárgya ~~eljárások és~~ gyógyszer-
készítmények akut vagy krónikus veseelégtelenség vagy a
veseműködés zavara, vagy ezek által előidézett kóros állapot
kezelésére, amelyek ~~eljárások szerint~~ EP₄ receptor-szelektív
prosztaglandin agonista ~~hatóanyagokat adagolunk~~ *hatóanyagként.*

Készítő: Ábrahám

Felíró: Ábrahám

71.913/SZE

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

**PROSZTAGLANDIN (PGE₂) RECEPTOR-4 (EP₄) SZELEKTÍV
AGONISTA HATÓANYAGOK ALKALMAZÁSA AKUT ÉS
KRÓNIKUS VESEELÉGTELENSÉG KEZELÉSÉRE***alkalmas gyógyszerkészítmény előállítására.*

A jelen találmány tárgya eljárások receptor-szelektív prosztaglandin (PGE₂) agonista (a receptor működését serkentő) hatóanyagokat tartalmazó gyógyászati készítmények vesebetegségek kezelésére, mint például krónikus és akut veseelégtelenség vagy a veseműködés zavara, állatokban, különösképpen emberben. Közelebbről, a jelen találmány tárgya olyan eljárások és gyógyászati készítmények, amelyek 4-típusú (EP₄) receptor-szelektív prosztaglandin (PGE₂) agonista hatóanyagot tartalmaznak.

A természetben előforduló prosztaglandinok a biológiailag aktív hatóanyagok több csoportját alkotják, többek között PGB, PGE, PGF, PGG, PGH és PGI. Jól dokumentált tény, hogy a prosztaglandinok a test sokféle szervében és rendszerében hatást fejtenek ki.

A vesében a prosztaglandinok módosítják a véráramot, továbbá vérkeringési és tubuláris (a vese csöves elemei) hatásokon keresztül a vizelet képződésre is befolyással lehetnek. Klinikai vizsgálatokban a PGE₁-et alkalmazták krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegeknél a kreatinin kiürülés javítására, veseátültetési betegeknél a beültetett szerv kilökődési reakciójának és a ciklosporin toxicitásának megelőzésére, diabétikus (cukorbetegség szövődményeként fellépő) vesebetegségben szenvedő betegeknél az albumin

vizeletben való kiürülési sebességének, és az N-acetil- β -D-glükózaminidáz szint csökkentése céljából, valamint egészséges önkénteseknél a karbamid kiürülés javítására. A PGE₁ intravénás adagolását alkalmazták sebészeti beavatkozásoknál is, veseelégtelenség megelőzésére.

A vese működési zavara és/vagy a veseelégtelenség a szervezetben számos különböző módon nyilvánul meg. A következő tünetek bármelyike külön-külön, vagy azok kombinációja jelezheti egy beteg veseműködésének zavarát vagy a veseelégtelenséget: a kreatininnak a normálisnál alacsonyabb kiürülése; a szabad víz normálisnál alacsonyabb kiürülése; a karbamid és/vagy nitrogén és/vagy kálium és/vagy kreatinin vérszintjének a normálisnál magasabb értéke; a vese enzimjeinek, úgymint a gamma glutamil szintáz, az foszfátidáz, a N-acetil-béta-D-glükózaminidáz, vagy a béta-2-mikroglobulin megváltozott aktivitása; a vizelet megváltozott ozmolalitása vagy térfogata; mikroalbuminuria vagy makroalbuminuria (a fehérjevizelés különböző formái) megjelenése, vagy normális érték fölé emelkedése; vagy dialízis szükségessége. A veseműködés zavarának vagy a veseelégtelenségnek a sikeres megelőzése azt jelenti, hogy a fentebb felsorolt tünetek egyáltalán nem jelennek meg, vagy azok kevésbé súlyosak, ha a veseműködés zavara vagy veseelégtelenség kockázatát viselő betegek kisebb hányadánál fordulnak elő; vagy ha a beteg ezekből a tünetekből a normálisnál gyorsabban épül fel.

Sok éve felismerték, hogy a kontrasztanyagok befecskendezésének egyik szövődménye lehet akut veseelégtelenség. Becslések szerint kontrasztanyagok által közvetlenül kiváltott akut veseelégtelenség az esetek 10-15%-ában következik be, ugyanakkor a kontrasztanyaggal kapcsolatos vesebetegség be-

következési valószínűsége, ami a szérum kreatinin koncentráció klinikailag jelentős növekedését jelenti, eléri a 22%-ot is. Lásd Porter, Am. J. Cardiol., 64: 22E-26E (1989). Az 5,807,895 számú egyesült államokbeli szabadalmi bejelentésben eljárást írnak le kontraszt anyagokat alkalmazó orvosi eljárások által okozott veseműködési zavarok vagy veseelégtelenség megelőzésére intravénás PGE_1 , PGE_2 vagy PGI_2 , vagy származékaik, illetve azok gyógyászatilag elfogadható sói injekciójának alkalmazásával.

A krónikus veseelégtelenség (chronic renal failure, CRF) annak következtében alakul ki, hogy először fokozatosan egyre nagyobb mértékben, később állandó jelleggel csökken a glomeruláris (a vese érgomolyaiban végbemenő) szűrési sebesség (glomerular filtration rate, GRF), ami a nefronok (a veseműködést biztosító sejtek) számának csökkenésével kapcsolatos. Amikor a GFR folyamatos csökkenése a normális érték (5-10 ml/perc) 10%-a alá csökken, a beteg a veseelégtelenség végső állapota felé halad (end-stage renal disease, ESRD). R. A. Lafayette, R. D. Perrone és A. S. Levey: "A veseműködés laboratóriumi értékelése", a **Vesebetegségek** (Szerk.: R. W. Schrier és C. W. Gottschalk, Little, Brown and Company, Inc. [1997]) c. kiadvány 6. kötetének 307-354. oldalán. Ebben a szakaszban, ha a betegnél valamilyen kezeléssel (vagyis állandó hemodialízissel, folyamatos peri-toneális dialízissel vagy veseátültetéssel) nem helyettesítik a vese működését, a veseelégtelenség előrehaladása gyorsan halálossá válik. Az a vélemény alakult ki, hogy az ESRD előrehaladásának késleltetésére vagy megállítására szolgáló kezelések képezik az alapját a krónikus vesebetegség kezelésének. Kimutatták, hogy a vese szövetei növekedésének és regenerálásának

szabályozásában sokféle növekedési és diffe-renciálódási tényező vesz részt, mint például az epidermális növekedési tényező (epidermal growth factor, EGF), α - és β -transzformációs növekedési tényezők (transforming growth factor- α és - β , TGF- α és - β), 1. típusú inzulinszerű növekedési tényező (insulin like growth factor-1, IGF-1), fibroblaszt növekedési tényező (FGF), platelet eredetű növekedési tényező (platelet derived growth factor, PDGF), és a csont szerkezet-képző fehérje (bone morphogenetic protein, BMP). M. R. Hammerman és S. B. Miller, "Növekedési tényezők terápiás alkalmazása veseelégtelenség kezelésére", J. Am. Soc. Nephrol., 5: 1-11 (1994); és R. C. Harris, "Növekedési tényezők és citokinek az akut veseelégtelenségben", Adv. Renal. Repl. Ther., 4: 43-53 (1997).

Az epidermális növekedési tényező (EGF) fokozza a vese tubulusok (csőszerű sejtek) regenerálódását és kijavítását, és gyorsítja a veseműködés helyreállítását iszkémia (vértelenség) utáni akut veseelégtelenség esetén. H. D. Humes, D. A. Cieslinski, T. Coimbra, J. M. Messana és C. Galvao, J. Clin. Invest., 84,: 1757-1761 (1989). Az 1. típusú inzulinszerű növekedési tényező (IGF-1) patkányokban gyorsítja az iszkémiás akut tubuláris nekrozisból (szöveti elhalás) való felépülést. S. B. Miller, D. R. Martin, J. Kissane, és M. R. Hammerman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:11876-11880 (1994). A hepatocita (májsejt) növekedési tényező patkányokban gyorsítja az akut iszkémiás vesekárosodásból való felépülést. S. B. Miller, D. R. Martin., J. Kissane és M. R. Hammerman, Am. J. Physiol., 266: 129-134 (1994). Az 1. típusú csontképző fehérje (7. típusú csont szerkezetképző fehérje, BMP-7) patkányokban iszkémiás akut veseelégtelenség esetén csökkenti a károsodás

súlyosságát. S. Vukicevic, V. Basic, D. Rogic, N. Basic, M. S. Shih. A. Shepard, D. Jin és mások, J. Clinl Invest., 102: 202-214 (1998).

A "prostaglandin" kifejezés jelentése olyan vegyületek, amelyek a PGD_1 , PGD_2 , PGE_2 , PGE_1 és PGF_2 természetes prostaglandinok származékai. Ezek a vegyületek kötődnek a prostaglandin receptorokhoz. Kötődésük szokásos tesztekkel könnyen meghatározható (például S. An és mások, Az emberi prostaglandin E_2 receptor EP_2 típusának klónozása és expresszálása, Biochemical and Biophysical Research Communications, 197(1): 263-270 [1993]). Ezek a vegyületek önmagukban ismert eljárásokkal állíthatók elő. Lásd például, Goodman és Gilmanm **The Pharmacological Basis of Therapeutics**, 8. kiadás, Pergamon Press, 601-604. oldal (1990).

A prostaglandinok a prosztánsav alapvegyülettel rokon aliciklusos (csak szénatomból felépülő gyűrűt tartalmazó) vegyületek. Az alap prostaglandin szénatomjait folyamatosan számozzuk, a karboxil-csoport szénatomjától kezdve a ciklopentil gyűrű szénatomjain keresztül a szomszédos oldallánc láncvégi szénatomjáig. A szomszédos oldalláncok normális esetben *transz* térállásúak. A prostaglandinok E típusába tartozó vegyületekben a ciklopentil gyűrű C-9 szénatomján oxocsoport van, a PGE_2 pedig a C_{13} - C_{14} szénatomok között *transz*, a C_5 - C_6 szénatomok között pedig *cisz* konfigurációjú kettőskötést tartalmaz. A PGE_2 kezelésnek azonban súlyos mellékhatásai vannak. W. S. S. Jee és Y. F. Ma, Bone, 21: 297-304 (1997).

Az alábbiakban számos prostaglandin származékot írunk le, illetve hivatkozunk rájuk. A szakember számára azonban további prostaglandin származékok is ismertek.

A 4,177,346 számú egyesült államokbeli szabadalmi bejelentésben leírnak proszttaglandinszerű kémiai szerkezetű, 1,5-helyzetben helyettesített 2-pirrolidon származékokat, melyek értágító, vérnyomáscsökkentő és szekréció (kiválasztás) gátló hatással rendelkeznek.

A WO 99/02164 számú nemzetközi szabadalmi bejelentésben eljárásokat és gyógyászati készítményeket írnak le impotencia és merevedési zavarok kezelésére, amelyekben szelektív EP₂ vagy EP₄ prosztanoid receptor agonista proszttaglandin származékokat alkalmaznak.

A 4,112,236 számú egyesült államokbeli szabadalmi bejelentésben leírnak bizonyos, veseér tágító hatású interfenilén 8-aza-9-dioxotia-11,12-szekoproszttaglandin származékokat, amelyek hatásosak a veseműködés zavarairaival kezelt betegeknél. A 4,033,996 számú egyesült államokbeli szabadalmi bejelentésben leírnak bizonyos, veseér tágítóként hatásos 8-aza-9-oxo (és dioxo)-tia-11,12-szekoproszttaglandin származékokat, amelyek hatásosak a vérrög képződés megelőzésére, a növekedési hormon felszabadulás serkentésére, valamint az immunválasz szabályozására.

Bizonyos 11,12-szekoproszttaglandin vegyületeket és származékaikat, amelyeknek számos terápiás alkalmazásuk van, többek között veseér tágítás, leírnak többek között a következő szabadalmakban és közleményekben: 1 478 281 és 1 479 156 számú nagy-britanniabeli; 3,987,091; 3,991,087; 3,991,106; 4,055,596; 4,066,692 és 4,175,203 számú egyesült államokbeli szabadalmi bejelentések; J. B. Bicking és mások, J. Med. Chem., 1977, 20. kötet, 1. szám, 35-43. oldal; J. H. Jones és mások, J. Med. Chem., 1977, 20. kötet 1. szám, 44-48. oldal; J. B. Bicking és mások, J. Med. Chem., 1983, 26. kötet 335-341. oldal,

továbbá J. B. Bicking és mások, J. Med. Chem., 1983, 26. kötet, 342-348. oldal.

Az EP 0 911 321 számú európai valamint a WO 99/19300, WO 98/28264 és WO 98/58911 számú nemzetközi szabadalmi bejelentésekben leírnak bizonyos prosztaglandin agonista vegyületeket többféle csontrendszeri rendellenesség, többek között csontritkulás, valamint vese regenerálás kezelésére.

Íly módon, folyamatos az igény és folyamatos a kutatás a veseelégtelenség vagy működési zavarok kezelése területén hatásos terápiás eljárások iránt. Közelebbről, igény mutatkozik olyan receptor-szelektív prosztaglandin kezelésekre, amelyeknél nem lépnek fel a nemszelektív hatóanyagok esetén tapasztalt mellékhatások.

A jelen találmány tárgya különösképpen eljárások akut vagy krónikus veseelégtelenség vagy a veseműködés zavarai, vagy az ezáltal előidézett kóros állapot kezelésére emlősökben, amely kezelés abból áll, hogy a szóbanforgó emlősnek egy EP₄ receptor-szelektív agonista hatóanyagot, annak izomerjét, a szóbanforgó agonista vagy izomerje prodrugját (a szervezetben a hatóanyaggá átalakuló származékát), vagy a szóbanforgó agonista hatóanyag, izomerje vagy prodrugja gyógyászatilag elfogadható sóját adagoljuk. Közelebbről, a jelen találmány tárgya eljárások, amelyekben a kezelt állapot magas vérnyomás, pangásos szívelégtelenség, glomerulonefritis (a vesegyulladás egy formája), húgyvérűség és krónikus veseelégtelenség.

A jelen találmány tárgya különösképpen eljárások szelektív EP₄ receptor agonista hatóanyagot, izomerjét, a szóbanforgó agonista vagy izomerje prodrugját, vagy a szóbanforgó

agonista, izomerje vagy prodrugja gyógyászatilag elfogadható sóját gyógyászatilag elfogadható hígító anyaggal, vivőanyaggal vagy hordozóval együtt tartalmazó gyógyászati készítmény, akut vagy krónikus veseelégtelenség vagy a vese működési zavar, illetve ezek által előidézett kóros állapot kezelésére emlősben. Közelebbről, a jelen találmány tárgya olyan eljárások, amelyekben a szóbanforgó kóros állapot magas vérnyomás, pangásos szívelégtelenség, glomerulonefritis, húgyvérűség és krónikus veseelégtelenség.

A "prosztaglandin agonista hatóanyag" kifejezés jelentése olyan vegyület, annak izomerjei, prodrugjai és gyógyászatilag elfogadható sói, amelyek kötődik valamelyik prosztaglandin receptorhoz, mint például az EP₄, és az élő szervezetben utánozza a prosztaglandin hatását. A fentiekben számos ilyen vegyületet leírtunk, illetve hivatkoztunk ilyen vegyületekre. A szakember számára azonban más prosztaglandin agonista hatóanyagok is ismertek lehetnek.

A jelen találmány szerinti alkalmazásban előnyös EP₄ szelektív agonista hatóanyagok az (I) általános képletű vegyületek, azok prodrugjai, illetve a szóbanforgó vegyületek vagy prodrugjaik gyógyászatilag elfogadható sói, amely képletben Q jelentése COOR³, CONHR⁴ képletű vagy tetrazol-5-il-csoport;

"A" jelentése egyszeres kötés vagy *cisz* konfigurációjú kettős-kötés;

"B" jelentése egyszeres kötés vagy *transz* konfigurációjú kettős-kötés;

U jelentése (a1), (a2) vagy (a3) képletű csoport;

R² jelentése α -tienil-, fenil-, fenoxi-, egyszeresen helyettesített fenil- vagy egyszeresen helyettesített fenoxi-csoport, és a szóbanforgó helyettesítő csoportok: klór-, fluóratom, fenil-,

metoxi-, trifluorometil- és 1-3 szénatomos alkil-csoport;

R^3 jelentése hidrogénatom, 1-5 szénatomos alkil-, fenil- vagy p-bifenil-csoport;

R^4 jelentése COR^5 vagy SO_2R^5 képletű csoport; és

R^5 jelentése fenil- vagy 1-5 szénatomos alkil-csoport.

Az (I) általános képletű vegyületek az átruházott 4,177,346 számú egyesült államokbeli szabadalmi bejelentésben leírt eljárással állíthatók elő, amely szabadalomra a jelen találmány részeként hivatkozunk.

Az (I) általános képletű EP_4 receptor-szelektív agonista hatóanyagok előnyös csoportját képezik azok a vegyületek, amelyekben a Q csoport jelentése 5-tetrazolil-csoport. Ezen a csoporton belül különösen előnyös vegyületek többek között: 5-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-1-[6-(1H-tetrazol-5-il)-hexil]-pirrolidin-2-on és 5-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-1-[6-(1H-tetrazol-5-il)-hexil]-pirrolidin-2-on.

Az (I) általános képletű EP_4 receptor agonista hatóanyagok másik előnyös csoportját képezik azok a vegyületek, amelyekben a Q csoport jelentése karboxil-csoport. Ezen a csoporton belül különösen előnyös vegyületek többek között: 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-5-oxopirrolidin-1-il]heptánsav és 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-5-oxopirrolidin-1-il]heptánsav.

A "kezelés", "kezel", "kezelni" kifejezéseket a jelen találmányban megelőző (például profilaktikus), enyhítő, vagy gyógyító kezelés értelmében használjuk.

A "gyógyászati lag elfogadható" kifejezés jelentése: a hordozó, vivőanyag, hígító anyag, töltőanyag, és/vagy só összeférhető a gyógyszerkészítmény többi alkotórészeivel, és nem káros annak a szervezetnek a számára, amelyiknek a készítményt adagolják.

A "prodrug" kifejezés jelentése a hatóanyagnak olyan származéka, amely az adagolást követően az élő szervezetben, valamely kémiai vagy élettani folyamat hatására (például a szervezetbeli pH értéken vagy egy enzim hatására), átalakul a kívánt hatóanyaggá. A mintaszerű prodrugokból bomláskor a megfelelő hatóanyag szabadul fel.

A "gyógyászati lag elfogadható só" kifejezés jelentése nem mérgező anionos sók, amelyek olyan anionokat tartalmaznak, mint például, többek között klorid, bromid, jodid, szulfát, hidrogén-szulfát, foszfát, acetát, maleát, fumarát, oxalát, laktát, tartarát, citrát, glukonát, metán-szulfonát és 4-toluol-szulfonát. A kifejezés jelenthet nem mérgező kationos sókat is, amelyekben a kation például, többek között nátrium, kálium, kalcium, magnézium, ammónium vagy protonált benzatin (N,N'-dibenz-etilén-diamin), kolin, etanolamin, dietanolamin, etiléndiamin, meg-lamin (N-metil-glucamin), benetamin (N-benzil-fenetil-amin), piperazin és trometamin (2-amino-2-hidroximetil-1,3-propándiol).

A jelen találmány további jellemzői és előnyei a leírás és a csatolt szabadalmi igénypontok alapján állapíthatók meg.

A jelen találmány szerinti EP₄ receptor-szelektív agonista hatóanyagként bármely EP₄ receptor-szelektív agonista hatóanyag alkalmazható. Az EP₄ szelektív agonista hatóanyagok azok a vegyületek, amelyek IC₅₀ értéke az EP₁, EP₂ és EP₃ receptoron legalább 10-szer nagyobb, mint az EP₄ típusú receptoron mért IC₅₀ érték. Például, a 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]heptánsav EP₄ receptor-szelektív agonista hatóanyag, az EP₄ receptoron való kötődését 16 nmól/l IC₅₀ érték jellemzi. A 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-5-oxopirrolidin-

-1-il-heptánsavnak az összes többi EP receptor típuson, többek között az EP₁, EP₂ és EP₃ receptorokon mért IC₅₀ értéke nagyobb, mint 3200 nmól/l.

Ennek megfelelően, a jelen találmány szerinti eljárásokban és gyógyszerkészítményekben alkalmazott vegyületeket az EP₄ receptorral szemben mutatott nagymértékű szelektivitás és specificitás jellemzi. Minél specifikusabb a vegyület az EP₄ receptorral szemben, annál jobb terápiás eredmények érhetők el a jelen találmány szerinti eljárásokkal és gyógyszerkészítményekkel. Továbbá, a jelen találmány szerinti eljárásokban és gyógyszerkészítményekben alkalmazott vegyületek receptor-szelektivitása azt eredményezi, hogy csökkennek vagy eltűnnek a nem szelektív hatóanyagoknál tapasztalt nem kívánatos mellékhatások.

A jelen találmány szerinti módszerekben alkalmazott EP₄ receptor-szelektív agonista hatóanyagok alkalmasak állatokban, például emlősökben, különösképpen emberben a terápiás (gyógyító) célú felhasználásra.

Ezek a vegyületek a vesében értégtítő hatásúak, és ezért hasznosak azon betegeknek, akiknél a veseműködés zavarai mutathatók ki. E csoportba tartoznak többek között azok a betegek, akiknél magas vérnyomás, veseelégtelenség, cukorbetegséggel összefüggő veseelégtelenség, pangásos szívelégtelenség, glomerulonefritisz, húgyvérűség és krónikus veseelégtelenség áll fenn. Ezek a vegyületek, a vesében kifejtett értágító hatásuk következtében, javítják a vese működését.

A jelen találmány szerinti eljárásokban alkalmazott EP₄ receptor-szelektív agonista hatóanyagoknak az állatokban, például emlősökben, különösen emberben az akut vagy krónikus veseelégtelenség vagy a vese működési zavarai kezelésében

mutatott hatásossága oly módon mutatható be, hogy meghatározzuk ezen agonista hatóanyagok aktivitását hagyományos tesztekben, többek között a proszttaglandin kötődési tesztben, a gyűrűs adenosin-monofoszfát (cAMP) tesztben, továbbá *in vivo* teszteken, többek között akut veseelégtelenségi teszteken, amelyek mindegyikét leírjuk az alábbiakban. Ezek a tesztek arra is alkalmasak, hogy segítségükkel az EP₄ receptor-szelektív agonista hatóanyagok aktivitását összehasonlítsuk egymással, valamint más, ismert vegyületek és gyógyszerkészítmények aktivitásával. Ezen összehasonlítások eredménye hasznos az állatokban, például emlősökben, többek között emberben a felsorolt betegségek kezelésére alkalmazott dózisszintek meghatározásában.

cAMP Koncentráció növelésének meghatározása rekombináns
emberi EP₄ receptorokat stabilan túlexpresszáló 293-S sejtvonalakban

Az emberi EP₄ receptor teljes, nyitott leolvasási vázát jelentő cDNA-t leközölt bázissorrendek alapján (J. W. Regan, T. J. Bailey, D. J. Pepperl, K. L. Pierce, A. M. Bogardus, J. E. Donello, C. E. Fairbairn, K. M. Kedzie, D. F. Woodward és D. W. Gil, "Új, hatástanilag EP₂ típusú emberi proszttaglandin receptor klónozása", *Mol Pharmacology* 4:213-220 [1994]) készült oligonukleotid primerek (a láncreakciót elindító vegyületek) segítségével végzett fordított transzkriptáz polimeráz láncreakcióval állítottuk elő, primér emberi tüdősejteket (EP₄) használva mintaként. A cDNA-kat pcDNA3 (Invitrogen Corporation, 3985B Sorrento Valley Blvd., San Diego, VA 92121) többszörös klónozási helyére klónoztuk, és ezekkel kalcium-foszfát kicsapással transzfektáltunk 293-S emberi embrió vese

sejteket. A G418-al szemben ellenálló sejtenyészeteket szélesztettük, és teszteltük specifikus [^3H]PGE₂ kötődés szempontjából. A nagy specifikus [^3H]PGE₂ kötődést mutató transzfektált sejtek további jellemzésére Scatchard-módszerrel meghatároztuk a PGE₂-re vonatkozó B_{max} és K_d értékeket. A vegyületek szűréséhez használt sejtvonalak sejtenként körülbelül 256400 receptort tartalmaznak, és PGE₂-re vonatkozó K_d értékük 2,9 nmól/l (EP₄). A receptornak a 293-S anyasejtekben való saját expresszációja elhanyagolható. A sejtek fenntartásához szarvasmarha embrió szérummal (végső koncentráció 10%) és G418-al (végső koncentráció 700 µg/ml) kiegészített RPMI közeget használtunk.

A 293-S/EP₄ sejtvonalban mért cAMP válaszreakciókat oly módon határoztuk meg, hogy a sejteket a tenyésztő lombikból élénk rázás közben 1 ml, Ca⁺⁺- és Mg⁺⁺-mentes, foszfáttal pufferolt sóoldatba (PBS) választjuk le, 1x10⁶ sejt/ml végső koncentrációra hígítjuk szérummentes RPMI közeggel, és hozzáadunk 3-izobutil-1-metilxantint (IBMX), aminek a végső koncentrációja 1 mmól/l. Egy ml sejtszuszpenziót azonnal kiosztunk egyenként 2 ml-es, csavaros tetejű mikrocentrifuga csövekbe és 10 percig inkubáljuk levett tetővel, 37°C hőmérsékleten, 5% CO₂-vel, 95%-os relatív nedvességtartalom mellett. Ezután a vizsgálandó anyag DMSO-ban vagy etanolban készült oldatát 1:100 arányú hígításban hozzáadjuk a sejtekhez, hogy a DMSO vagy az etanol végső koncentrációja 1% legyen. A csöveket a vegyület hozzáadása után azonnal lezárjuk, kétszeri fel-le fordítással összerázzuk és 37°C hőmérsékleten 12 percig inkubáljuk. Ezután a mintákat 100°C hőmérsékleten 10 percig történő inkubálással lizáljuk, majd 5 percig jégen tartva azonnal lehűtjük. A sejthulladékot 1000xg értéken 5 percig tartó

centrifugálással tömörítjük, és a tiszta lizátumot friss csövekbe töltjük át. A cAMP koncentrációt a kereskedelembe kapható cAMP radioimmun meghatározási (RIA) készlettel (NEK-033, DuPont/NEN Research Products, 549 Albany St., Boston, MA 02118) mérjük, miután a kitisztult lizátumokat (a teszt készletben lévő) cAMP RIA tesztbufferrel 1:10 arányban hígítottuk. Jellemző esetben a sejteket a vizsgálandó vegyület 6-8 különböző koncentrációjánál mérjük, a koncentrációt 1 log egységenként változtatva. Az EC_{50} értékeket a kapott koncentráció - válaszreakció görbék lineáris szakaszain végzett lineáris regresszióval határozzuk meg, kalkulátor segítségével.

Prostaglandin E_2 kötődésének meghatározása

Membrán készítmény: Valamennyi műveletet 4°C hőmérsékleten hajtjuk végre. Az 1. típusú (EP_1), 2. típusú (EP_2), 3. típusú (EP_3) vagy 4. típusú (EP_4) prostaglandin E_2 receptorokat expresszáló transzfektált sejteket összegyűjtjük és 2 millió sejt/ml töménységben "A" jelű pufferben szuszpendáljuk [az "A" jelű puffer összetétele a következő: 50 mmól/l Tris-HCl (pH 7,4), 10 mmól/l $MgCl_2$, 1 mmól/l EDTA, 1 mmól/l Pefabloc fehérje (Boeringer Mannheim Corp., Indianapolis, MO), 10 $\mu\text{mol/l}$ foszforamidon fehérje (Sigma, St. Louis, MO), 1 $\mu\text{mol/l}$ pepstatin A fehérje (Sigma, St. Louis, MO), és 100 $\mu\text{mol/l}$ antipain fehérje (Sigma, St. Louis, MO)]. A sejteket Branson Szonikátorral (Model #250, Branson Ultrasonics Corporation, Danbury, CT) kétszer tizenöt másodperces szonikálásnak vetjük alá. A lebomlatlan sejteket és a sejthulladékot 100xg értéken 10 percig tartó centrifugálással eltávolítjuk. Ezután a sejtmembránokat 45000xg értéken 30 percig tartó centrifugálással összegyűjtjük. Az ülepített membránokat újra szuszpendáljuk milliliterenként 3-10

mg fehérjét tartalmazó "A" jelű pufferben, amelynek fehérje koncentrációját Bradford eljárásával határozzuk meg [M. Bradford, Anal. Biochem., 72, 248 (1976)]. Ezután az újra szuszpendált membránokat a felhasználásig -80°C hőmérsékleten tároljuk.

Kötődési teszt: A fentiek szerint előállított, fagyasztott membránkészítményt felengedjük, és a fenti összetételű "A" jelű pufferral 1 mg fehérje/ml töménységűre hígítjuk. 1 térfogatrész membránkészítményt "A" jelű pufferben elegyítünk 0,05 térfogatrész vizsgált vegyülettel vagy pufferrel és egy térfogatrész 3 nmól/l koncentrációjú ^3H -prosztaglandin E_2 -vel (#TRK 431, Amersham, Arlington Heights, IL). Az (összesen 205 μl térfogatú) elegyet 1 órán át 25°C hőmérsékleten inkubáljuk. A membránokat ezután GF/C típusú üvegszűrőn való szűréssel (#1205-401, Wallac, Gaithersburg, MD), Tomsec szedő segítségével (Model Mach II/96, Tomtec, Orange, CT) visszanyerjük. A membránok a hozzájuk kötődött ^3H -prosztaglandin E_2 -vel együtt a szűrőn maradnak, míg a puffer és a nem kötött ^3H -prosztaglandin E_2 a szűrőn áthaladva a kidobott szűrletbe kerül. Ezután a mintákat háromszor 3 ml 50 mmól/l-es Tris-HCl-el (pH 7,4), 10 mmól/l MgCl_2 -dal, és 1 mmól/l EDTA-val mossuk. Ezután a szűrőket mikrohullámú kemencében történő melegítéssel szárítjuk. A membránokhoz kötődött ^3H -prosztaglandin mennyiségét oly módon határozzuk meg, hogy a megszártott szűrőket szcintillációs folyadékkal töltött műanyag zacskókba helyezzük, és aktivitásukat LKB 1205 Betaplate leolvasóval mérjük (Wallac, Gaithersburg, MD). Az IC_{50} érték a vizsgálati vegyületek azon koncentrációja, amely ahhoz szükséges, hogy a specifikusan kötött ^3H -prosztaglandin E_2 50%-át helyettesítse.

Az EP₁ receptor teljes kódolási sorrendjét Funk és mások, *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268, 26767-26772 közleménye alapján állítottuk össze. Az EP₂ receptor teljes kódolási sorrendjét Regan és mások, *Molecular Pharmacology*, 1994, 46, 213-220 közleménye alapján állítottuk össze. Az EP₃ receptor teljes kódolási sorrendjét Regan és mások, *British Journal of Pharmacology*, 1994, 46, 213-220 közleményében leírtak alapján állítottuk össze. Az EP₄ receptor teljes kódolási sorrendjét Bastien, *Journal of Biological Chemistry*, 269: 11873-11877 (1994) közleményében leírtak szerint állítottuk össze. Ezekkel a teljes hosszúságú receptorokkal állítottuk elő az EP₁, EP₂, EP₃ és EP₄ receptorokat expresszáló 293S sejteket. Az emberi EP₂ és emberi EP₄ prosztaglandin receptorokra vonatkozó további információ található az 5,605,814; 5,716,835 5,759,789 számú egyesült államokbeli szabadalmi bejelentésekben, amelyekre a jelen találmány részeként hivatkozunk.

Az emberi EP₁, EP₂, EP₃ vagy EP₄ prosztaglandin E₂ receptorokat expresszáló 293S sejteket önmagukban ismert eljárásokkal állítottuk elő. Jellegzetesen, a leközölt teljes hosszúságú receptor 5' és 3'-végének megfelelő PCR (polimeráz láncreakció) primert (a láncreakciót elindító oligonukleotidot) a fent leírt, jólismert eljárásokkal állítjuk elő, és ezeket használjuk RT-PCR reakcióban, forrásként emberi vese (EP₁ esetén), emberi tüdő (EP₂ esetén), emberi tüdő (EP₃ esetén), vagy emberi limfocita sejtekkel. A PCR termékeit a "TA overhang" eljárással pCR2.1 vektorba klónozzuk (Invitrogen, Carlsbad, CA), és a klónozott receptor azonosságát DNA bázissorrend meghatározással igazoljuk.

A 293S sejtek (Mayo, Biokémiai Intézet, Northwestern Univ.) pcDNA3 (Invitrogen Corporation, 3985B Sorrento Valley

Blvd., San Diego, CA 92121) klónozott receptorról való transzfektálását elektroporálással hajtjuk végre. A receptort stabilan expresszáló sejtvonalakat G418 segítségével választjuk ki.

A maximális számú receptort expresszáló klónozott sejtvonalakat egészsejt $^3\text{H-PGE}_2$ kötődési tesztet követően választjuk ki, gátló vegyületként jelöletlen PGE_2 -t használva.

Az akut veseelégtelenség patkány modellje

A patkány maradvány-vese modellt (5/6 vese eltávolítás) lényegében az irodalomban korábban leírtak alapján alkalmazzuk (Vukicevic és mások, Journal of Bone and Mineral Research, 2: 533-545 [1987]). Röviden, (4 hónapos, közelítőleg 400 g súlyú) hím patkányokat 20 mg/kg ketaminnal altattunk, majd egyik (baloldali) veséjüket eltávolítottuk. A sebészeti beavatkozás során vesztített vizet 1-3 ml előmelegített fiziológiás sóoldat intraperitoneális adagolásával pótoltuk. Egy hét múlva sebészeti úton eltávolítottuk a maradék vese 2/3-át. Az állatok a műtét után egy-két hétig regenerálódtak, mielőtt elkezdtük a betegség megelőzése céljából végzett kezelést. A kontroll és a kezelésben részesülő állatokat párosával etettük, hogy hasonló súlyúak legyenek. Kimutatták, hogy az 5/6 vese eltávolítási modell több tulajdonsága reprodukálja az előrehaladott emberi vesebetegség jellemzőit; nevezetesen, a glomerulusok megke-ményedése, a tubulusok szövetközi károsodása (tubulointer-stitial disease), a fehérjevizelés, a veseműködés fokozatos csökkenése és az egész testre kiterjedő magas vérnyomás.

0,5 ml vérmintákat vettünk az orbitális plexusból (a szemüreg érfonatából), és a vizsgálat folyamán nyomon követtük a szérum kreatinin, a BUN (a vér karbamid formájában jelenlévő

nitrogéntartalma), a kalcium, a foszfát, és a vér más kémiai összetevőinek koncentrációját. A vizeletet a metabolikus ketrecben 24 órán át gyűjtöttük. A kreatinint Jaffe-módszerrel mértük. A. W. Whelton, A. J. Watson és R. C. Rock: "Nitrogén metabolizmus és a vese működése", *Clinical Chemistry* (Szerk.: C. A. Burtis és E. R. Ashwood) W. B. Saunders, Philadelphia, PA, 1513-1575 [1994]). A BUN értéket glutamát dehidrogenáz UV eljárással, a foszfort molibdát eljárással, a kalciumot pedig o-krezoltalein eljárással mértük. R. A. Lafayette, R. D. Perrone és A. S. Levey: "A veseműködés laboratóriumi értékelése", *A vese betegségei* (Szerk.: R. W. Schrier és C. W. Gottschalk), Little, Brown and Company, Inc., 6. kötet, 307-354. oldal (1997). A GFR értéket a szérum kreatinin szint és a 24 órás vizelet kreatinin koncentrációja arányából számítottuk, és azt a testsúlyokra korrigáltuk. Megfigyeltük és feljegyeztük az összehasonlító és a kezelt állatok halmozott túlélési arányát is. Szövettanilag vizsgáltuk a vese szerkezetét, és értékeltük a szövetek kóros elváltozásait.

Eredmények: Vizsgáltuk egy, a jelen találmány szerinti EP₄ receptor-szelektív PGE₂ agonista hatóanyag, a 7-(2-(3-hidrox-4-fenil-butil)-5-oxo-pirrolidin-1-il)heptánsav hatásosságát az akut veseelégtelenség preklinikai modelljében. Az akut veseelégtelenség két modelljét alkalmaztuk: a fentiekben leírt "nefrotoxikus" akut veseelégtelenség modellt, és az újrame-ringési vesekárosodás modellt, ami szerint mindkét vese artériát kapoccsal 60 percig elzártuk. (K. J. Kelly, W. W. Williams, R. B. Colvin és J. V. Bonventure, "A sejtközi 1. típusú adhézíós molekula védi a vesét az iszkémiás károsodástól", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:812-816 [1994]); és S. Vukicevic, V. Basic, D. Rogic, N. Basic, M. S. Shih, A. Shepard, D. Jin, D.

Bosukonda, W. Jones, H. Dorai, S. Ryan, D. Griffith, J. Maliakal, M. Jelic, M. Pastorcic, A. Stavljenic és K. Sampath, "A Csontképző fehérje-1 (csont szerkezetképző fehérje-7) csökkenti az iszkémia következtében fellépő akut veseelégtelenség okozta károsodást", J. Clin. Invest., 102: 202-214 [1998]).

A nefrotoxikus veseelégtelenség modellben, a szérum paraméterek alapján, az EP₄ agonista hatóanyag a koncentrációtól függő hatással védett a vese károsodásával szemben, és növelte az állatok túlélési idejét (10 mg/kg hatása nagyobb, mint 1 mg/kg-é). Vizsgálatainkban az összehasonlító csoportban hét nap után tíz állatból négy túlélő volt, míg a 10 mg/kg dózissal kezelt állatoknál ez az arány tízből kilenc. Az újrakeringéses vesekárosodás modellben az EP₄ agonista hatóanyag hatása az újrakeringés után 24 órával kimutatható volt. Az állatok kezelését az EP₄ agonista hatóanyaggal közvetlenül a vesekárosító beavatkozás előtt végeztük.

Egy EP₄ agonista hatóanyagnak a jelen találmány szerinti adagolása bármely olyan eljárással történhet, ami alkalmas arra, hogy az EP₄ agonista hatóanyagot az egész testben alkalmazva, vagy helyileg adagolva a hatás helyére juttassa. Ilyen eljárások például az orális, parenterális (a gyomor- és bélrendszert megkerülő), intraduodenális, stb. adagolási módok. A jelen találmány szerinti vegyületeket általában orálisan adagoljuk, de alkalmazhatók parenterális adagolási módok is (például intravénás, intramuszkuláris (az izomba), transzdermális (a bőrön keresztül), rektális (a végbélbe) vagy intramedulláris (a csontvelőbe), ha például az orális adagolás nem megfelelő a célzott hatáshely szempontjából, vagy ha a beteg nem tudja a hatóanyagot bevenni.

A beadott vegyület mennyisége és az adagolás időzítése természetesen minden esetben függ a kezelt betegről, a károsodás súlyosságától, az adagolás módjától és a kezelést végző orvos megítélésétől. Így módon, az itt megadott dózisok a betegenként változó körülmények miatt csupán irányadó értékek, és az orvos a beteg számára kívánatos kezelési cél elérése érdekében állíthatja be a dózist. A kívánt mértékű kezelés kialakításakor az orvosnak egy sor tényező közötti egyensúly kell megkeresnie, mint például a beteg életkora, előzőleg lezajlott betegségei, valamint egyéb betegségek (például szív- és vérkeringési rendellenességek) megléte.

A jelen találmány eljárásaiban alkalmazott EP₄ receptor-szelektív agonista vegyületeket általában olyan gyógyászati készítmények formájában adagolják, amelyek legalább egy, a jelen találmány szerinti vegyületet tartalmaznak, egy gyógyászati lag elfogadható hordozóval vagy hígító anyaggal együtt. Így módon, az EP₄ szelektív hatóanyag adagolható egyenként, bármely hagyományos formában, mint például orális, intranazális (az orron keresztül beadott), parenterális. rektális vagy transzdermális gyógyszerformában.

Orális adagolás céljára szolgáló gyógyászati készítmény gyógyszerformája lehet oldat, szuszpenzió, tablettá, pírlula, kapszula, por, és hasonlók. A különböző töltőanyagokat, úgymint nátrium-citrátot, kalcium-karbonátot és kalcium-foszfátot tartalmazó tablettákban lehetnek különböző, a szétesést elősegítő anyagok, mint például keményítő, előnyösen burgonya-keményítő vagy tápioka-keményítő, és bizonyos komplex szilikátok, valamint kötőanyagok, mint például polivinil-pirrolidon, szaccharóz, zselatin és akácmézga. Tablettázási célokra ezenkívül gyakran használhatók kenőanyagok, mint például

magnézium-sztearát, nátrium-lauril-szulfát és talkum. A hasonló összetételű szilárd gyógyszerkészítmények alkalmazhatók lágy vagy kemény zselatin kapszulák töltésére is; ebben az összefüggésben előnyös anyagok a laktóz vagy tej-cukor és a nagy molekulatömegű polietilén-glikolok. Ha orális adagolás céljára vizes szuszpenzióra és/vagy elixírre van szükség, a jelen találmány szerinti gyógyszerkészítményekhez hozzáadhatunk különféle édesítő anyagokat, aromaanyagokat, színezékeket, emulgeálószerket és/vagy szuszpendáló-szerket, továbbá hígító anyagokat, például víz, etanol, propilén-glikol, glicerín és ezek különféle kombinációi.

A vegyületek orálisan is adagolhatók lipidekkel, mint például koleszteril-acetáttal készült szilárd oldat alakjában. Ha a készítmény lipidet is tartalmaz, az jelentős mértékben javítja a vegyület vagy származéka felszívódását. Az ilyen gyógyszerkészítmények előállítását részletesen Rudel 3,828,106 számú egyesült államokbeli szabadalmi bejelentése írja le, amire a jelen szabadalom részeként hivatkozunk.

Parenterális adagolás céljára szézám- vagy földimogyoróolajban, vagy vizes propilén-glikolban készült oldatokat alkalmazunk, továbbá a megfelelő vízben oldható sók steril vizes oldatait. Az ilyen vizes oldatokhoz szükség esetén puffer adható, és a folyékony hígító anyagot előzetesen megfelelő mennyiségű nátrium-klorid vagy glükóz hozzáadásával izotó-niássá (a testnedvekkel azonos ozmózisnyomásúvá) tesszük. Ezek a vizes oldatok különösen alkalmasak intravénás, intra-muszkuláris, szubkután és intraperitoneális (a hasüregbe adott) injekciók céljára. Ebben az összefüggésben, az alkalmazott steril vizes közegek a szakmában jól ismert, szabványos eljárásokkal könnyen előállíthatók.

Az intravénásan vagy injekcióként adagolt gyógyszerkészítmények elkészíthetők, mint a vegyület oldatai, például izotóniás vizes oldatban, alkoholos oldatban, etanolos nátrium-klorid oldatban, vagy etanol-dextróz oldatban. Az oldathoz az oldhatóság növelése céljából adhatunk etanolt, továbbá az oldatok tartalmazhatnak egyéb adalékanyagokat, mint például metil-paraben, vagy más alkotórészeket, úgymint töltőanyagok, színezékek, aromaanyagok, higítószeres és hasonló anyagok is. A gyógyszerkészítmény adagolható a vegyület vagy származéka vizes vagy nemvizes közegben készült szuszpenziójaként is.

Intravénás vagy injekcióban történő adagolás céljára előnyös gyógyszerformák többek között az aktív hatóanyag α -ciklodextrinnel képezett komplexei. A vegyületek és származékaik α -ciklodextrinnel alkotott zárvány-komplexeinek részletes leírása megtalálható Hayashi és mások 4,054,736 számú egyesült államokbeli szabadalmi bejelentésében, amire a jelen találmány részeként hivatkozunk. Különösen előnyösek azok a komplexek, amelyekben az α -ciklodextrin és a jelen találmány szerinti vegyület aránya 97:3.

Transzdermális (például helyi) alkalmazás céljára előállíthatók híg steril, vizes vagy részben vizes (rendszerint körülbelül 0,1 és 5% közötti koncentrációjú), a fentebb leírtakhoz egyébként hasonló oldatok.

Bizonyos mennyiségű aktív alkotórészt tartalmazó különféle gyógyászati készítmények előállítási eljárásai a szakember számára ismertek, vagy a jelen leírás alapján nyilvánvalóak. Gyógyászati készítmények előállítási eljárásaira példák találhatók a *Remington's Pharmaceutical Sciences* kézikönyvben (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 19. kiadás [1995]). Így módon, amint azt fentebb leírtuk, a jelen

találmány szerinti vegyületek a betegnek beadhatók bármely ismert gyógyszerformában, vagy adagolási eljárással.

A jelen találmány szerinti eljárások és gyógyszerkészítmények esetén az EP₄ receptor-szelektív agonista, annak izomerje, a szóbanforgó agonista vagy izomerje prodrugja, vagy a szóbanforgó agonista, izomerje vagy prodrugja gyógyászatilag elfogadható sójának előnyös dózisa napi körülbelül 0,001 és körülbelül 100 mg/kg között van. Az EP₄ receptor-szelektív agonista, annak izomerje, a szóbanforgó agonista vagy izomerje prodrugja, vagy a szóbanforgó agonista, izomerje vagy prodrugja gyógyászatilag elfogadható sójának különösen előnyös dózisa napi körülbelül 0,01 és körülbelül 10 mg/kg.

Közelebbről, intravénás vagy injekcióban beadott formában a jelen találmány eljárásaiban és gyógyszerkészítményeiben alkalmazott vegyületek dózistartománya körülbelül 10 ng/kg/perc és körülbelül 30 ng/kg/perc között van. Ha a vegyületet intravénás injekció formájában adagoljuk, a dózis nem haladhatja meg a napi körülbelül 100 µg/testsúly kg értéket.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. EP₄ receptor-szelektív agonista, annak izomerje, a szóbanforgó agonista vagy izomerje prodrugja, vagy a szóbanforgó agonista, izomerje vagy prodrugja gyógyászatilag elfogadható sójának alkalmazása akut vagy krónikus veseelégtelenség vagy működési zavar, vagy ennek következtében kialakult kóros állapot kezelésére emlősben.

2. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a szóbanforgó kóros állapot magas vérnyomás, pangásos szívelégtelenség, glomerulonefritis, húgyvérűség vagy krónikus veseelégtelenség.

3. Az 1. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a szóbanforgó EP₄ receptor-szelektív agonista (I) általános képletű vegyület, amely képletben

Q jelentése COOR³, CONHR⁴ vagy tetrazol-5-il-csoport;

"A" jelentése egyszeres kötés vagy *cis* konfigurációjú kettős-kötés;

"B" jelentése egyszeres kötés vagy *transz* konfigurációjú kettős-kötés;

U jelentése (a1), (a2) vagy (a3) képletű csoport;

R² jelentése α -tienil-, fenil-, fenoxi-, egyszeresen helyettesített fenil- vagy egyszeresen helyettesített fenoxi-csoport, és a szóbanforgó helyettesítő csoportok: klór-, fluóratom, fenil-, metoxi-, trifluorometil- és 1-3 szénatomos alkil-csoport;

R³ jelentése hidrogénatom, 1-5 szénatomos alkil-, fenil- vagy p-bifenil-csoport;

R⁴ jelentése COR⁵ vagy SO₂R⁵ képletű csoport; és

R⁵ jelentése fenil- vagy 1-5 szénatomos alkil-csoport.

4. A 3. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemzve, hogy a szóbanforgó EP receptor-szelektív agonista (I) általános képletű vegyület, amely képletben Q jelentése 5-tetrazolil-csoport.

5. A 4. igénypont szerinti alkalmazás, amelyben a szóbanforgó vegyület 5-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-1-[6-(1H-tetrazol-5-il)-hexil]-pirrolidin-2-on.

6. A 4. igénypont szerinti alkalmazás, amelyben a szóbanforgó vegyület 5-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-1-[6-(1H-tetrazol-5-il)-hexil]-pirrolidin-2-on.

7. A 3. igénypont szerinti alkalmazás, azzal jellemezve, hogy a szóbanforgó EP₄ receptor-szelektív agonista (I) általános képletű vegyület, amely képletben Q jelentése karboxil-csoport.

8. A 7. igénypont szerinti alkalmazás, amelyben a szóbanforgó vegyület 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-5-oxopirrolidin-1-il]heptánsav.

9. A 7. igénypont szerinti alkalmazás, amelyben a szóbanforgó vegyület 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-5-oxopirrolidin-1-il]heptánsav.

10. Gyógyászati készítmény akut vagy krónikus veseelégtelenség vagy működési zavar, illetve ennek következtében kialakuló kóros állapot kezelésére emlősben,

azzal jellemezve, hogy a gyógyászati készítmény egy EP₄ receptor-szelektív agonista hatóanyagot, annak izomerjét, a szóbanforgó agonista vagy izomerje prodrugját, vagy a szóbanforgó agonista, izomerje vagy prodrugja gyógyászatilag elfogadható sóját, és egy gyógyászatilag elfogadható higítószer, vivőanyagot vagy hordozót tartalmaz.

11. A 10. igénypont szerinti gyógyászati készítmény, azzal jellemezve, hogy a szóbanforgó kóros állapot magas vérnyomás, pangásos szívelégtelenség, glomerulonefritis, húgyvérűség vagy krónikus veseelégtelenség.

12. A 10. igénypont szerinti gyógyászati készítmény, azzal jellemezve, hogy a szóbanforgó EP₄ receptor-szelektív agonista hatóanyag (I) általános képletű vegyület, amely képletben

Q jelentése COOR³, CONHR⁴ vagy tetrazol-5-il-csoport;

"A" jelentése egyszeres kötés vagy *cisz* konfigurációjú kettős-kötés;

"B" jelentése egyszeres kötés vagy *transz* konfigurációjú kettős-kötés;

U jelentése (a1), (a2) vagy (a3) képletű csoport;

R² jelentése α-tienil-, fenil-, fenoxi-, egyszeresen helyettesített fenil- vagy egyszeresen helyettesített fenoxi-csoport, és a szóbanforgó helyettesítő csoportok: klór-, fluóratom, fenil-, metoxi-, trifluorometil- és 1-3 szénatomos alkil-csoport;

R³ jelentése hidrogénatom, 1-5 szénatomos alkil-, fenil- vagy p-bifenil-csoport;

R⁴ jelentése COR⁵ vagy SO₂R⁵ képletű csoport; és

R⁵ jelentése fenil- vagy 1-5 szénatomos alkil-csoport.

13. A 12. igénypont szerinti gyógyászati készítmény, azzal jellemezve, hogy a szóbanforgó EP receptor-szelektív agonista (I) általános képletű vegyület, amely képletben Q jelentése 5-tetrazolil-csoport.

14. A 4. igénypont szerinti gyógyászati készítmény, amelyben a szóbanforgó vegyület 5-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-1-[6-(1H-tetrazol-5-il)-hexil]-pirrolidin-2-on.

15. A 4. igénypont szerinti gyógyászati készítmény, amelyben a szóbanforgó vegyület 5-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-1-[6-(1H-tetrazol-5-il)-hexil]-pirrolidin-2-on.

16. A 3. igénypont szerinti gyógyászati készítmény, azzal jellemezve, hogy a szóbanforgó EP₄ receptor-szelektív agonista (I) általános képletű vegyület, amely képletben Q jelentése karboxil-csoport.

17. A 7. igénypont szerinti gyógyászati készítmény, amelyben a szóbanforgó vegyület 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-butil)-5-oxo-pirrolidin-1-il]heptánsav.

18. A 7. igénypont szerinti gyógyászati készítmény, amelyben a szóbanforgó vegyület 7-[2-(3-hidroxi-4-fenil-but-1-enil)-5-oxopirrolidin-1-il]heptánsav.

1. táblázat

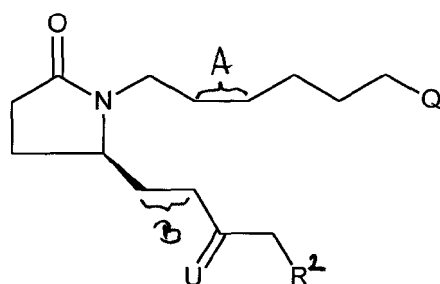
Ellenőrzés

A meghatalmazott

ifj. Szentpéteri Ádám

Szakmai ügyvivő
az Szentpéteri Ádám Nemzeti
Szakmai Tanácsa tagja
H-1062 Budapest, József u. 113.
Telefon: 34-24-950; Fax: 34-24-323

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



(I)



(a1)



(a2)



(a3)