

*"3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-amid-észter-származékok
és eljárás előállításukra"*

Kivonat

A találmány szerinti vegyületek (I) általános képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése szerves csoport, amely az (I) általános képletű vegyületet prodrug-gá alakítja, így fiziológiailag hatékony só, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

A találmány kiterjed a fenti vegyületek előállítására, valamint a fenti vegyületeket és 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amidot tartalmazó gyógyszerkészítményekre.

**3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-amid-észter-
-származékok és eljárás előállításukra, e**

vegyületet tartalmazó gyógyszerkészítmények
és alkalmazásuk

A találmány 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-amid-észter-származékokra, ezek előállítására, valamint ezek alkalmazására vonatkozik a kollagén bioszintézisének gátlására, vagy fibrótikus betegségek kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmény előállítására.

A prolil- és lizil-hidroxiláz enzimeket gátló vegyületek a kollagén-specifikus hidroxilezési reakciók befolyá-

solásával hatékonyan és szelektíven gátolják a kollagén bioszintézisét. Ebben a reakcióban a fehérjéhez kötött prolint vagy lizint a prolil-, illetve lizil-hidroxiláz enzimek hidroxilezik. Ha ezt a reakciót inhibitorok gátolják, akkor nem működőképes, alulhidroxilezett kollagénmolekulák képződnek, amelyek a sejtekből csak kis mennyiségben jutnak ki az extracelluláris térbe. Ezenkívül, az alulhidroxilezett kollagén nem képes beépülni a kollagén mátrixba, és proteolitikusan könnyen lebontható. A fenti hatások következtében összességében csökken az extracellulárisan lerakódott kollagén mennyisége.

A prolil-hidroxiláz inhibitorai ezért előnyösen alkalmazhatók olyan betegségek kezelésére, amelyekben jelentős szerepet játszik a kollagén lerakódása. Az ilyen betegségekre példaként említhető a tüdőfibrozis, májfibrozis és bőrfibrozis (így bőrkeményedés, és égés, sérülés és sebészeti beavatkozás után bekövetkező hegesedés), valamint az arteroszklerózis.

Ismert, hogy a prolil-hidroxiláz enzim piridin-2,4-, és -2,5-dikarbonsav-származékokkal hatékonyan gátolható (K.Majamaa és munkatársai: *Eur. J. Biochem.* **138**, 239-245 (1984)). Ezek a vegyületek azonban sejttenyészetben csak nagyon nagy koncentrációban gátolnak hatékonyan (Tschank G. és munkatársai: *Biochem. J.* **238**, 625-633 (1987)).

Ismertek a piridin-2,4(5)-dikarboxilát prodrug-jai (EP 0590.520, DE 42 38 506 és EP 0562 512 számú iratok).

Ismert, hogy az N-oxalil-glicin-származékok gátolják a prolil-4-hidroxiláz enzimet (Cunliffe és munkatársai: *J.*

Med. Chem. **35**, 2652-2658 (1992), valamint EP 0457 163 számú irat).

Ismert továbbá a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil)-amid és prodrug-jainak alkalmazása (EP 0661 269 számú irat).

Ismert továbbá a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid (*J. Org. Chem.* **31**, 636-638 (1966)).

A találmány feladata olyan vegyületek kidolgozása, amelyek különösen nagy in vivo és/vagy in vitro hatékonyságot mutatnak, és elsősorban szisztémikusan és/vagy helyileg alkalmazhatók.

Meglepő módon azt találtuk, hogy az (I) általános képletű 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-amid-észter-származékok különösen hatékonyan gátolják a kollagén bioszintézisét. Ezek a vegyületek kitűnnek nagy in vivo és in vitro hatékonyságukkal, és előnyösen alkalmazhatók fibrótikus betegségek szisztémikus és/vagy helyi kezelésére. Ezekre a betegségekre példaként említhető a tüdő, máj, vese, szív, szem és bél fibrózisa valamint az arteroszklerózis.

Az (I) általános képletű vegyületek a legkülönbözőbb sejtekben (például normál humán bőr fibroblasztokban, patkánymájából nyert primer zsírtárolósejtekben, patkánymáj epitéliumsejtekben és koponyatetőből kialakított szervtenyészetekben) erősen gátolják a kollagén bioszintézisét.

Ezek a vegyületek különösen előnyösen alkalmazhatók helyi kezeléssel kollagén bioszintézis inhibitoroként, helyi kezeléssel antifibrótikus hatóanyagként és helyi kezeléssel kötőszövet (kollagén) fokozott képződése által kiváltott

betegségek kezelésére. Ezért az (I) általános képletű vegyületek felhasználhatók például helyi kezeléssel az emberi testen sebészeti beavatkozás után kialakuló hegesedés elkerülésére/csökkentésére, helyi kezeléssel szembetegségek műtét utáni kezelésére, például glaukoma műtét utáni kezelésére, valamint sugárzással vagy kemoterápiával kiváltott fibrózis, elsősorban tüdőfibrózis kezelésére.

A találmány szerinti vegyületek a megfelelő (I) általános képletű karbonsav-származékok, ahol

B jelentése karboxilcsoport, észter-prodrug-jai.

Az (I) általános képletű vegyületek az élő szervezetben (in vivo) és sejttenyészetben (in vitro) olyan (I) általános képletű vegyületekké és ezek sóivá bomlanak, ahol a képletben

B jelentése karboxilcsoport.

Az (I) általános képletű vegyületek az adagolás után az in vivo és in vitro megfigyelhető kollagén bioszintézis gátlást úgy váltják ki, hogy B helyén karboxilcsoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületté vagy ennek sójává bomlanak. Ezek a vegyületek gátolják a prolil-4-hidroxiláz enzimet és így gátolják a kollagén bioszintézisét.

A találmány tárgyát képezik tehát az (I) általános képletű vegyületek, a képletben

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése szerves csoport, amely az (I) általános

képletű vegyületet prodrug-gá alakítja, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

Előnyösek azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése $-GOH$ általános képletű alkohol maradványa, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

Előnyösek továbbá azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-20 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkilcsoport, 2-20 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkenilcsoport, 2-20 szénatomos alkinilcsoport, 4-20 szénatomos alkeninilcsoport, 3-12 szénatomos cikloalkilcsoport, vagy retinilcsoport, amelyek egyenként egy vagy több többszörös kötést tartalmazhatnak, továbbá fenil-alkil-csoport, amelyek adott esetben egy vagy több szubsztituenssel szubsztituálva lehetnek, ahol

a szubsztituens lehet hidroxilcsoport, halogénatom, cianocsoport, trifluor-metil-csoport, karboxilcsoport, 1-12 szénatomos alkilcsoport, 3-8 szénatomos cikloalkilcsoport, 5-8 szénatomos cikloalkenilcsoport, 1-12 szénatomos alkoxycsoport, alkilrészeiben 1-12 szénatomos alkoxi-alkil-csoport, alkilrészeiben 1-12 szénatomos alkoxi-alkoxi-csoport, alkilrészében 1-4 szénatomos fenil-alkil-oxi-csoport, 1-8 szénatomos hidroxi-alkil-csoport, 1-12 szénatomos alkil-karbonil-oxi-csoport, 3-8 szénatomos cikloalkil-karbonil-oxi-csoport, benzoil-oxi-csoport, vagy alkilrészében 1-4 szénatomos fenil-alkil-karbonil-oxi-csoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

Különösen előnyösek azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alifás alkilcsoport, 3-8 szénatomos cikloalkilcsoport, cikloalkilrészében 3-8 szénatomos és alkilrészében 1-8 szénatomos cikloalkil-alkil-csoport, 2-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkenilcsoport, így geranilcsoport, farnecilcsoport vagy retinilcsoport, valamint 2-18

szénatomos alkinilcsoport, benzilcsoport, fenetilcsoport, fenil-propil-csoport vagy fenil-butyl-csoport, amelyek adott esetben hidroxilcsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal, 1-6 szénatomos alkil-karbonil-oxi-csoporttal, 3-8 szénatomos cikloalkil-karbonil-oxi-csoporttal, benzoil-oxi-csoporttal vagy alkilrészében 1-4 szénatomos fenil-alkil-karbonil-oxi-csoporttal szubsztituálva lehetnek, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

Külön kiemeljük azokat az (I) általános képletű vegyületeket, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alifás alkilcsoport, 5-6 szénatomos cikloalkilcsoport, cikloalkilrészében 3-8 szénatomos és alkilrészében 1-4 szénatomos cikloalkil-alkil-csoport, 2-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkenilcsoport, benzilcsoport, fenetilcsoport, fenil-propil-csoport vagy fenil-butyl-csoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

Külön kiemeljük továbbá azokat az (I) általános képletű vegyületeket, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkilcsoport, vagy 2-18 szénatomos alkenilcsoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

Külön kiemeljük továbbá azokat az (I) általános képletű vegyületeket, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkilcsoport vagy 2-18 szénatomos alkenilcsoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

Külön kiemeljük továbbá azokat az (I) általános képletű vegyületeket, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-18 szénatomos, egyenes szénláncú alkilcsoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

Külön kiemeljük továbbá azokat az (I) általános képletű vegyületeket, amelyek képletében

G jelentése 1-16 szénatomos, egyenes szénláncú alkilcsoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

Előnyösek továbbá az (I) általános képletű vegyületek sói.

Az (I) általános képletű vegyületek sóit a piridincsoport nitrogénatomjával reagáló savas reagensekkel állítjuk elő. Savas reagensként előnyösen alkalmazható a toluol-szulfonsav, metán-szulfonsav, sósav, kénsav, foszforsav, valamint a savas csoportot tartalmazó gyógyszer hatóanyagok.

A találmány tárgyát képezik továbbá az (I) általános képletű vegyületek, valamint fiziológiailag alkalmazható sói a kollagén bioszintézisének gátlására.

A találmány tárgyát képezik továbbá az (I) általános képletű vegyületek, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói a prolin-4-hidroxiláz in vivo és in vitro gátlására.

A találmány tárgyát képezik továbbá az (I) általános képletű vegyületek, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói a tüdő, máj, vese, szív, szem és bőr fibrótikus betegségeinek kezelésére. A vegyületek felhasználhatók továbbá az arteroszklerózis kezelésére. Az alkalmazás történhet szisztémikus és/vagy lokális kezeléssel.

A találmány tárgyát képezik továbbá az (I) általános képletű vegyületek, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói helyi kezelésre, elsősorban a kollagén bioszinté-

zisének inhibitoraként, antifibrótikus hatóanyagként és a kötőszövet (kollagén) fokozott képződésével kiváltott betegségek hatóanyagaként. Ezekre példaként említhető az emberi testen sebészeti beavatkozás után kialakuló hegesedés megakadályozása/csökkentése, valamint szemészeti műtétek, például glaukóma műtét műtét utáni kezelése és sugárzással, vagy kemoterápiával kiváltott fibrózis, elsősorban tüdőfibrózis kezelése.

A találmány tárgyát képezi továbbá az (I) általános képletű vegyületek gyógyszer hatóanyagként történő alkalmazása.

A találmány szerinti (I) általános képletű vegyületek előnőysen alkalmazhatók a bőr, tüdő és szem fibrótikus betegségeinek helyi kezelésére, elsősorban a glaukóma műtét utáni kezelésére.

A találmány tárgyát képezi továbbá eljárás az (I) általános képletű vegyületek előállítására.

Az A helyén $-CH_2-$ képletű csoportot, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet, és B helyén $-CO_2G$ általános képletű csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek előállíthatók, ha

i1.) egy (II) általános képletű piridin-2-karbonsav-származékot, a képletben

R^5 jelentése hidrogénatom,

egy (III) általános képletű amino-észter-származékkal vagy ennek sójával reagáltatunk, vagy

i2.) egy (II) általános képletű piridin-2-karbonsav-észter-származékot, a képletben

R^5 jelentése rövidszénláncú alkilcsoport, így 1-5 szénato-

mos alkilcsoport,
aminolízissel (I) általános képletű vegyületté alakítunk,
vagy
ii.) egy (IV) általános képletű vegyületet egy GOH általános képletű alkohollal észterezünk.

A találmány szerinti eljárást közelebbről az A reakcióvázlat szemlélteti.

Az amidképzést (il. pont szerinti reakció) előnyösen a karbonilcsoport aktiválásával és a peptidkémiából ismert kondenzációs reakcióval végezzük.

A karbonilcsoport aktiválásához reagensként a szokásos anyagokat alkalmazzuk. Példaként említhető a tionil-klorid, oxalil-klorid, pivaloil-klorid, klór-hangyasav-észter-származékok, és N,N'-karbonil-diimidazol. Az aktivált (II) általános képletű vegyületet az előállítás után in situ (III) általános képletű amid-származékkal reagáltatjuk.

Kondenzációs szerként alkalmazható például N,N'-diklo-hexil-karbodiimid/N-hidroxi-1H-benzotriazol kombinációja és N-etil-morfolin.

Oldószerként alkalmazható például diklór-metán, széntetraklorid, butil-acetát, etil-acetát, toluol, tetrahidrofuran, dimetoxi-etán, 1,4-dioxán, acetonitril, N,N-dimetil-formamid, N,N-dimetil-acetamid, dimetil-szulfoxid, nitrometán és/vagy piridin.

A találmány szerinti (I) általános képletű vegyületek értékes farmakológiai hatásokkal rendelkeznek, és kitűnnek antifibrótikus hatásukkal.

Az antifibrótikus hatás a következő állatmodellekkel igazolható:

Kötőszövetből álló bevonat képződése szubkután beültetett ozmótikus miniszivattyú körül (E.N. Unemori és munkatársai: *J. Invest. Dermatol.* **101**, 280-285 (1993));

szubkután beültetett gyapotsomó vagy polivinil-szivacs-darabka körül kialakuló kollagén lerakódás (E. Boyle, F.R. Mangan: *Br. J. Ep. Pathnol.* **61**, 351-360 (1980); és

a tüdő kollagéntartalma sugárzással vagy kémiaailag kiváltott fibrózis után (H.E. Ward és munkatársai: *Res.*, **136**, 15-21 (1993); A. Santana és munkatársai: *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* **13**, 34-44 (1995)).

A prolil-4-hidroxiláz gátlása sejtenyészetben:

Normál humán bőr fibroblaszokat (az angol "normal human fibroblasts" elnevezés után rövidítve NHDF), patkánymáj-epitéliumsejteket (1. referenciaszám) és májból nyert zsírtárolósejteket (2. referenciaszám) használunk sejtmoddellként a hatóanyagok vizsgálatához. A sejteket a gátló anyag jelenlétében tenyésztjük. Ezzel egyidejűleg a vizsgálat során ujonnan szintetizált kollagént 4-³H-L-prolinnal és ¹⁴C-prolinnal metabolikusan jelöljük. A vizsgált hatóanyagoknak a kollagén hidroxilezési fokára gyakorolt hatását Chojkier és munkatársai módszerével (3. referenciaszám) határozzuk meg. Összehasonlító anyagként 2,2'-dipiridilt alkalmazunk (1. referenciaszám: W. Schrode, D. Mecke, R. Gebhard: *Eur. J. Cell Biol.* **53**, 35-41 (1990); 2. referenciaszám: R. Blomhoff és T. Berg: *Methods Enzymol.* **190**, 59-71 (1990); 3. referenciaszám: M. Chojkier, B. Peterkofsky és J. Bateman: *Anal. Biochem.* **108**, 385-393 (1980)).

A prolil-4-hidroxiláz in vitro gátlását csirkeembrió koponyatetőn vizsgáljuk (*Biochem. J.* **300**, 525-300 (1994)):

1. Metabolikus jelzés

15-napos csirkeembrióknál kipreparáljuk a koponyatetőt, és 3 percen keresztül 37 °C hőmérsékleten Hanks-féle kiegyensúlyozott sóoldatot tartalmazó minimális esszenciális Eagle-közegen (HMEM közeg, BioWhittaker, Walkersville, MD, USA) mossuk. Négy koponyatetőt üvegedényben 1,5 ml HMEM közegben 2 mmól/l glutamin és 1 μ Ci [U-14C]-prolin jelenlétében különböző inhibitor koncentrációk mellett 2,5 órán keresztül és 37 °C hőmérsékleten inkubálunk. Az inkubálás befejezéséhez a mintát tartalmazó edényeket jégbe merítjük. A közeget eltávolítjuk és a koponyatetőt rövid ideig 1 ml kétszer desztillált vízzel mossuk. Ezután a koponyatetőt 3 ml 0,5 mól/l ecetsavval és 18 μ g fenil-metán-szulfonil-fluoriddal elegyítjük, és 16 órán keresztül extraháljuk. Az extrakciós oldatot a szabad [U-14C]-prolin eltávolításáig 4 °C hőmérsékleten 0,5 mól/l ecetsavval szemben dializáljuk, majd az alikvot részeket fagyasztva szárítjuk.

2. Hidroxiprolin analízise

A fagyasztva szárított minta egy alikvot részét 2 ml 6n sósavban oldjuk, és 24 órán keresztül 105 °C hőmérsékleten hidrolizáljuk. Ezután a sósavat ledesztilláljuk. A maradékot 300 μ l kétszer desztillált vízben újra szuszpendáljuk, Eppendorf-edénybe töltjük, és ismét szárítjuk. A visszamaradt hidrogén-kloridot 60 μ l etanol/víz/trietil-amin 2:2:1 térfogatarányú elegyben oldjuk, és ismét szárítással

semlegesítjük. Ezután az aminosavakat 20 percen keresztül szobahőmérsékleten etanol/trietilamin/fenil-izotiocianát/víz 7:1:1:1 térfogatarányú elegyben származékká alakítjuk, és ismét szárítjuk. A HPLC analízishez a mintát 150 µl foszfát pufferben (5 mmól/l Na₂HPO₄ [pH=7,4]/acetonitril 95:5 térfogatarányú elegy) oldjuk, és 5 percen keresztül 10.000 g értéken centrifugáljuk. 50 µl mintát analizálunk. A HPLC kromatográfiás vizsgálatot C18 reverz fázisú oszlopon Ultrasphere ODS 3 µm, 4,6 mm x 7,5 cm tölteten (Beckman) 50 °C hőmérsékleten végezzük a következő gradiens-rendszerrel:

Idő	A puffer	B puffer
0 perc	100 %	-
0-9 perc	100-90 %	0-10 %
9-11 perc	90-0 %	10-100 %
11-12 perc	0 %	100 %
12-14 perc	0-100 %	100-0 %
14-19 perc	100 %	-

A puffer: 70 mmól/l nátrium-acetát (pH = 6,14)/0,1 %
acetonitril

B puffer: acetonitril/metanol/víz 45:15:40 térfogatarányú
elegy.

3. SDS-poliakrilamid-gélelektroforézis

Az 1. pontból származó fagyasztva szárított minták egy aliquot részét SDS-poliakrilamid-gélelektroforézis módszerrel vizsgáljuk, amihez 10 mmól/l trisz-HCl (pH=8)/1 mmól/l EDTA/1 % SDS és 5 % merkapto-etanol



elegyben oldjuk, és 5 percen keresztül 95 °C hőmérsékleten denaturáljuk. Az elektroforézist lineáris gradienssel (5-15 %) végezzük. Ezután metanol/jégecet/víz 3:1:6 térfogatarányú eleggyel fixáljuk, majd a gélt szárítjuk, és Kodak X-Omat filmen -70 °C hőmérsékleten megvilágítjuk.

A találmány szerinti vegyületek meglepő hatékonyságát az EP 0661 269 számú iratban ismertetett vegyületekhez viszonyítva patkánymájsejteken kifejtett prolil-4-hidroxiláz gátlás (kollagén bioszintézisének gátlása) vizsgálatával igazoljuk:

1. táblázat

Az EP 0661 269 számú irat szerinti vegyület vizsgálata

Hatóanyag példaszáma	Kollagén bioszintézisének gátlása patkánymájsejtekben
1	patkánymáj zsírtároló sejtek -50 %: 53 $\mu\text{mol/l}$
1	patkánymáj-epitéliumsejtek -50 %: 38 $\mu\text{mol/l}$

2. táblázat

Találmány szerinti vegyületek vizsgálata

Hatóanyag példaszáma	Kollagén bioszintézisének gátlása
1	patkánymáj-epitéliumsejtek -100 %: 25 $\mu\text{mol/l}$
1	NHDF -50 %: 0,6 $\mu\text{mol/l}$
2	NHDF -50 %: 1,6 $\mu\text{mol/l}$

3. táblázat

Találmány szerinti vegyületek vizsgálata

Hatóanyag példaszáma	Koponyatető
19	-50 %: < 0,8 $\mu\text{mol/l}$
20 (disclaimer)	-50 %: < 0,8 $\mu\text{mol/l}$

Az (I) általános képletű vegyületek hatóanyagként alkalmazhatók gyógyszerkészítmény formájában, amelyek a hatóanyag mellett adott esetben farmakológiailag alkalmazható hordozóanyagot tartalmaznak. A vegyületek hatóanyagként alkalmazhatók például gyógyszerkészítmények formájában, amelyek a hatóanyagot enterális, perkután, parenterális, és inhalációs adagolásra alkalmas farmakológiai szerves vagy szervesetlen hordozóanyaggal keverve tartalmazzák. A hordozóanyagra példaként említhető a víz, gumiarábikum, zselatin, tejcukor, keményítő, magnézium-sztearát, talkum, növényi olaj, polialkilén-glikol és vazelin.

Orális adagolásra alkalmazható napi dózis például 0,1-25 mg/kg, előnyösen 1-5 mg/kg. A parenterális adagolásra alkalmazható napi dózis például 0,01-5 mg/kg, előnyösen 0,01-2,5 mg/kg, különösen előnyösen 0,5-1,0 mg/kg. A dózis súlyos esetekben növelhető. Sok esetben elegendő azonban ennél kisebb dózisok alkalmazása is. A fenti adatokat mintegy 75 kg testtömegű felnőtt betegre vonatkoztatva adjuk meg.

A találmányt közelebbről az alábbi példákkal mutatjuk be anélkül, hogy az oltalmi kört a példákra korlátoznánk.

A példákban a találmány szerinti (I) általános képletű vegyületeket szubsztituált 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-észter)-amid-származékoknak minősítjük. Ebben a besorolásban szubsztituált 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-((alkoxi-karbonil)-metil)-amid-származékokat értünk. A vegyületek besorolhatók továbbá mint szubsztituált N-(3-hidroxi-piridin-2-karbonil)-glicin-észter-származékok.

1. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-dodecil-oxi)-karbonil)-metil)-amid

a) Glicin-1-dodecil-észter-tozilát

38 g (0,5 mól) glicin, 93,2 g (0,5 mól) 1-dodekanol és 115 g (0,6 mól) p-toluol-szulfonsav 400 ml toluolban felvett elegyét vízleválasztón a vízleválás befejeződéséig forraljuk. Lehűlés után 4 órán keresztül állni hagyjuk, majd elkeveréssel kristályosítjuk. Ezután dietil-éterrel hígítjuk, a kivált terméket szűrjük, dietil-éterrel mossuk, és szárítjuk. Így 140 g cím szerinti vegyületet kapunk, amelynek olvadáspontja 106 °C (80 °C hőmérsékleten zsugorodik).

b) 7 g (50 mmól) 3-hidroxi-piridin-2-karbonsavat 800 ml vízmentes diklór-metánban szuszpendálunk, és 7,5 g (55 mmól) 1-hidroxi-1H-benzotriazollal, 19,2 ml (150 mmól) N-etil-morfolinnal, 21,2 g (50 mmól) N-ciklohexil-N'-(2-morfolino-etil)-karbodiimid-metil-p-toluol-szulfonáttal (CMC) és 20,8 g (50 mmól) glicin-1-dodecil-észter-toziláttal elegyítjük, és 50 órán keresztül 20 °C hőmérsékleten

kevertetjük. A kivált karbamidot ezután kiszűrjük, az anyalúgot egymás után 2n vizes sósav oldattal, telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát oldattal és vízzel kirázzuk, a szerves fázist szárítjuk, vákuumban bepároljuk, és a maradékot etil-acetáttal Kiesel-gélen kromatografáljuk. A megfelelő frakciókból 12 g világosbarna olajat kapunk, amely állás közben kristályosodik. Ezt hideg petroléterrel kezeljük, és a terméket leszűrjük, hideg petroléterrel mossuk. Így 8,5 g szintelen kristályos terméket kapunk, amelynek olvadáspontja 53-56 °C.

2. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-butyl-oxi)- -karbonil)-metil)-amid

a) Glicin-1-butyl-észter-tozilát

38 g (0,5 mól) glicint 400 ml toluolban 37 g (0,5 mól) 1-butanollal és 115 g (0,6 mól) p-toluol-szulfonsavval elegyítünk, és vízleválasztón a víz leválásának befejeződéséig forraljuk. Egy éjszakán keresztül állni hagyjuk, majd a kivált terméket szűrjük, és dietil-éterrel mossuk. Így 20 g cím szerinti vegyületet kapunk. Olvadáspont: 80-82 °C. Az anyalúgból további 130 g termék nyerhető ki.

b) 4,9 g (35 mmól) 3-hidroxi-piridin-4-karbonsavat az 1b) példában leírt módon 4,7 g (35 mmól) 1-hidroxi-1H-benzotriazollal, 19,8 ml (150 mmól) N-etil-morfolinnal, 14,8 g (35 mmól) CMC-vel és 10,6 g glicin-1-butyl-észter-toziláttal reagáltatunk. A nyersterméket Kiesel-gélen etil-

-acetáttal eluálva kromatografáljuk. Így 3 g olajos, világosbarna terméket kapunk.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO, 300 MHz): $\delta = 12,21$ (s, OH), 9,45 (t, NH), 8,20 (m, 1H), 7,55 (m, 1H), 7,43 (m, 1H), 4,12 (d, CH_2), 4,08 (OCH_2), 1,56 (m, 2H), 1,33 (m, 2H), 0,88 (t, CH_3).

3. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-oktil-oxi)-karbonil)-metil)-amid

4. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-pentil-oxi)-karbonil)-metil)-amid

5. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-hexil-oxi)-karbonil)-metil)-amid

6. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-heptil-oxi)-karbonil)-metil)-amid

7. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-nonil-oxi)-karbonil)-metil)-amid

8. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-decil-oxi)-

-karbonil)-metil)-amid

9. példa

**3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-tetradecil-
-oxi)-karbonil)-metil)-amid**

10. példa

**3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-oktadecil-
-oxi)-karbonil)-metil)-amid**

11. példa

**3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((2-etil)-1-butyl-
-oxi)-karbonil)-metil)-amid**

Olajos anyag; MS: $m/e = 281,3$ ($M^+ + H$).

12. példa

**3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-tridecil-oxi)-
-karbonil)-metil)-amid**

13. példa

**3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-hexadecil-
-oxi)-karbonil)-metil)-amid**

14. példa

**3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-(cisz-9-okta-
decenil)-oxi)-karbonil)-metil)-amid**

15. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-(transz-3-hexenil)-oxi)-karbonil)-metil)-amid

16. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-(3-metil-butil)-oxi)-karbonil)-metil)-amid

17. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((1-propil-oxi)-karbonil)-metil)-amid

18. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((2-propil-oxi)-karbonil)-metil)-amid

19. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-N-(((3-pentil-oxi)-karbonil)-metil)-amid

Op.: 84 °C (n-heptán/etil-aceátt 5:1 elegyből).

20. példa

3-Hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid

J. Org. Chem. **31**, 636-638 (1966).

Szabadalmi igénypontok

1. (I) általános képletű 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-
-amid-észter-származékok, a képletben

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése szerves csoport, amely az (I) általános képletű vegyületet prodrug-gá alakítja, így fiziológiailag hatékony só, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

2. Az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-20 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkilcsoport, 2-20 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkenilcsoport, 2-20 szénatomos alkinilcsoport, 4-20 szénatomos alkeninilcsoport, 3-12 szénatomos cikloalkilcsoport, vagy retinilcsoport, amelyek egyenként egy vagy több többszörös kötést tartalmazhatnak, továbbá fenil-alkil-csoport, amelyek adott esetben egy vagy több szubsztituenssel szubsztituálva lehetnek, ahol

a szubsztituens lehet hidroxilcsoport, halogénatom, cianocsoport, trifluor-metil-csoport, karboxilcsoport, 1-12 szénatomos alkilcsoport, 3-8 szénatomos cikloalkilcsoport, 5-8 szénatomos cikloalkenilcsoport, 1-12 szénatomos alkoxicssoport, alkilrészeiben 1-12 szénatomos alkoxi-alkil-csoport, alkilrészeiben 1-12 szénatomos alkoxi-alkoxi-csoport, alkilrészében 1-4 szénatomos fenil-alkil-oxi-csoport, 1-8 szénatomos hidroxil-alkil-csoport, 1-12 szénatomos alkil-karbonil-oxi-csoport, 3-8 szénatomos cikloalkil-karbonil-oxi-csoport, benzoil-oxi-csoport, vagy alkilrészében 1-4 szénatomos fenil-alkil-karbonil-oxi-csoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxil-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alifás alkilcsoport, 3-8 szénatomos cikloalkilcsoport, cikloalkilrészében 3-8 szénatomos és alkilrészében 1-8 szénatomos cikloalkil-alkil-csoport, 2-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkenilcsoport, így geranilcsoport, far-

nezilcsoport vagy retinilcsoport, valamint 2-18 szénatomos alkinilcsoport, benzilcsoport, fenetilcsoport, fenil-propil-csoport vagy fenil-butyl-csoport, amelyek adott esetben hidroxilcsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal, 1-6 szénatomos alkil-karbonil-oxi-csoporttal, 3-8 szénatomos cikloalkil-karbonil-oxi-csoporttal, benzoil-oxi-csoporttal vagy alkilrészében 1-4 szénatomos fenil-alkil-karbonil-oxi-csoporttal szubsztituálva lehetnek, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

4. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alifás alkilcsoport, 5-6 szénatomos cikloalkilcsoport, cikloalkilrészében 3-8 szénatomos és alkilrészében 1-4 szénatomos cikloalkil-alkil-csoport, 2-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkenilcsoport, benzilcsoport, fenetilcsoport, fenil-propil-csoport vagy fenil-butyl-csoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

5. Az 1-4. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkilcsoport, vagy 2-18 szénatomos alkenilcsoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

6. Az 1-5. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-18 szénatomos, egyenes vagy elágazó szénláncú alkilcsoport vagy 2-18 szénatomos alkenilcsoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

7. Az 1-6. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

R^1 , R^2 és R^3 jelentése hidrogénatom,

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport, ahol

G jelentése 1-18 szénatomos, egyenes szénláncú alkilcsoport, valamint ezek fiziológiailag alkalmazható sói, ahol kivételt képez a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid.

8. Eljárás az 1-7. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek előállítására, a képletben

A jelentése $-CH_2-$ képletű csoport, amely adott esetben metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

B jelentése $-CO_2G$ általános képletű csoport,

a z z a l j e l l e m e z v e, h o g y

i1.) egy (II) általános képletű piridin-2-karbonsav-származékot, a képletben

R^5 jelentése hidrogénatom,

egy (III) általános képletű amino-észter-származékkal vagy ennek sójával reagáltatunk, vagy

i2.) egy (II) általános képletű piridin-2-karbonsav-észter-származékot, a képletben

R^5 jelentése rövidszénláncú alkilcsoport, így 1-5 szénatomos alkilcsoport,

aminolízissel (I) általános képletű vegyületté alakítunk, vagy

ii.) egy (IV) általános képletű vegyületet egy GOH általános képletű alkohollal észterezünk.

9. Az 1-7. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid a prolil-4-hidroxiláz in vivo gátlására.

10. Az 1-7. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid a kollagén bioszintézis gátlására.

11. Az 1-7. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid kötőszövet (kollagén) beteg emberi szervekben történő lerakódásának (fibrózis) megakadályozására/csökkentésére.

12. Az 1-7. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid fibrótikus betegségeken történő felhasználása.

13. A 12. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid a tüdő, máj, vese, szív, szem és bőr fibrótikus betegségeinek és ateroszklerózis kezelésére.

14. A 12 vagy 13. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid helyi és/vagy szisztémikus kezelésre.

15. A 14. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-

-etil-észter)-amid az emberi testen sebészeti beavatkozások után jelentkező hegesedés elkerülését/csökkentését célzó helyi kezelésre.

16. A 9-14. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid a bőrön jelentkező fokozott kötőszövet-képződés (fibrózis) helyi kezelésére.

17. A 9-14. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid a tüdőn jelentkező fokozott kötőszövet-képződés (fibrózis) helyi (inhalációs) kezelésére.

18. A 9-14. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid a szemén jelentkező fokozott kötőszövet-képződés (fibrózis) helyi kezelésére.

19. A 9-14. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid a szem glaukoma műtéti kezelése utáni helyi kezelésére.

20. A 9-14. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid sugárzással vagy kemote-

rápiával kiváltott fibrózis, előnyösen tüdőfibrózis helyi kezelésére.

21. Gyógyszerkészítmény, amely egy vagy több 1-8. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületet, beleértve a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amidot, tartalmaz.

22. Az 1-8. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, valamint a 3-hidroxi-piridin-2-karbonsav-(glicil-etil-észter)-amid alkalmazása propil-4-hidroxiláz gátlására és fibrótikus betegségek kezelésére.

A meghatalmazott:

+ 1 lap mellé

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
10.

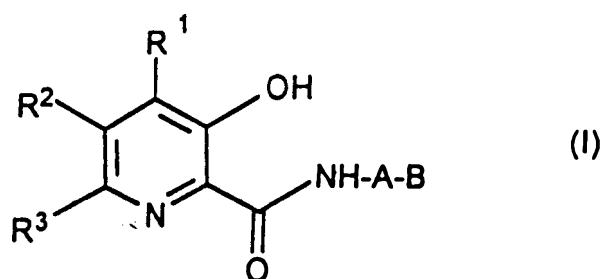
kt

Schläfer László

szabadalmi ügyvivő

U11

1/1



A reakcióvázlat

