

3491/91

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

07710

60246

55.302/SM

K I V O N A T

2-heteroarom-
Eljárás észter típusú elasztáz inhibitorok előállítására *(és ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények)*

CORTECH, INC., DENVER, Colorado,

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A bejelentés napja: 1991. 11. 06.

Elsőbbsége: 1990. 11. 07. (610,207)

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű
2-heteroaromás-~~aromás~~ ^{karbonsav-} észterek előállítására.

A találmány szerint úgy járnak el, hogy az (I) általános képletű vegyületet, ahol az általános képletben

R_1 és R_2 jelentése egymástól függetlenül azonos vagy eltérő és lehet hidrogénatom, 1-4 szénatomszámú alkilcsoport, 3-6 szénatomszámú cikloalkilcsoport vagy együttesen $-(CH_2)_n-$ általános képletű csoport, ahol n jelentése 1-6 közötti egész szám, azzal a feltétellel, hogy R_1 és R_2 egyszerre nem hidrogénatom;

Ar jelentése kívánt esetben szubsztituált fenilcsoport; és
Het jelentése heterociklusos csoport, amely 1 vagy több nitrogénatomot, kénatomot vagy oxigénatomot tartalmaz,

állítják elő a (II) általános képletű karbonsavból kiindulva úgy, hogy a karbonsavat diciklohexil-karbodiimid segítségével szimmetrikus anhidriddé alakítják, majd a megfelelő fenollal reagáltatják, továbbá amennyiben az Ar csoportban tioéter-szubsztituens

található, kívánt esetben ezt hidrogénperoxid segítségével ecetsavban szulfoxid⁺származékká oxidálják.

A találmány szerinti eljárással előállított (I) általános képletű vegyületek humán leukocita elasztáz (HLE) vagy humán neutrofil elasztáz (HNE) inhibiáló hatással rendelkeznek, és ennél fogva gyógyszerészetben alkalmazhatók.

45

I. II.

55.302/SM

3491/91

U.S.O.A.K.
Ugyvédi és Szabadalmi Iroda
1061 Budapest,
Dalszínház u. 10.
Telefon 153-3733, 131-4200

60246
KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

A

NHOF:

COTD 207/337

AGIK 31/40

COTD 333/24

AGIK 31/38

COTD 307/34

AGIK 31/36

2-(hetemavil)- " " sav-

(és ezeket tartóanyag megfigyelésére)

Eljárás észter típusú elasztáz inhibitorok előállítására

CORTECH, INC., DENVER, Colorado,

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

Feltalálók: KIRSCHENHEUTER Gary Paul,

ARVADO, Colorado

CHERONIS John Chris,

LAKEWOOD, Colorado

CUNNINGHAM Raymond Thomas,

SUGAR~~X~~LAND, Texas

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A bejelentés napja: 1991. 11. 06.

Elsőbbsége: 1990. 11. 07. (610,207)

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A találmány tárgya eljárás bizonyos oxidálószerekkel szemben érzékeny illetve érzéketlen 2-heteroaromás-alkanoát észterek előállítására, amelyek emberi leukocita elasztáz (HLE) vagy ekvivalensen emberi neutrofil elasztáz (HNE) inhibiáló hatással rendelkeznek.

Jelentős kutatást folytatnak az utóbbi években abból a célból, hogy HLE vagy HNE inhibitorokat fejlesszenek ki, mert kiderült, hogy a HLE vagy a HNE számos emberi betegség okozója lehet. Tesztvizsgálatokkal kimutatták, hogy nyilvánvaló összefüggés van a HLE és a kötőszöveti gázgyülem között. Lásd például Sandberg és munkatársai, The New England Journal of Medicine, 304:566 (1981) közleményt. Más betegségeket és gyógyászati problémákat, mint például az ízületi gyulladást és az ezzel kapcsolatos gyulladáshoz vezető állapotot, a dermatitist és a vértelenség/reperfusion sérüléshoz vezető betegségeket ugyancsak a HLE-vel hozzák kapcsolatba. Lásd Dinerman és munkatársai, JACC, Vol. 15, No. 7, 1990 június:1559-63, közleményét. Ennek megfelelően igény van arra, hogy olyan vegyületeket dolgozzanak ki, amelyek hatásosan inhibiálják a HLE vagy HNE enzimeket.

Korábbi elasztáz inhibiálással kapcsolatos kutatások eredményeit írták le a szabadalmi irodalomban a 4,683,241 számú és a 4,801,610 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmakban.

A találmány tárgya eljárás bizonyos új vegyületek előállítására, amelyek elasztáz inhibitoroként alkalmazhatók. Ezek a vegyületek azzal jellemezhetőek, hogy viszonylag alacsony molekulatömegűek és nagy szelektivitást mutatnak a HLE enzimmel szemben. Ennélfogva a találmány szerinti vegyületek alkalmasak az olyan betegségek megelőzésére, betegségállapotok javítására vagy

bármely más kezelésére, amelyeket HLE által okozott károsodás eredményez, amely károsodás emlősökben - az embert is beleértve - a kötőszövetekben jön létre.

A találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű vegyületek előállítására, ahol az általános képletben R_1 és R_2 jelentése azonos vagy eltérő és lehet hidrogénatom, 1-6 szénatomszámú alkilcsoport, 3-6 szénatomszámú cikloalkil-csoport vagy együttesen lehet $-(CH_2)_n-$ általános képletű csoport, ahol n jelentése 1-6 közötti egész szám, azzal a feltétellel, hogy R_1 és R_2 jelentése egyidőben nem lehet hidrogénatom;

Ar jelentése kívánt esetben szubsztituált fenilcsoport; és

Het jelentése heterociklusos csoport, amely 1 vagy több nitrogénatomot, kénatomot vagy oxigénatomot tartalmaz a gyűrűben.

Az Ar általános képletű fenilcsoporton található szubsztituensek száma kívánt esetben 1-5 közötti lehet és a szubsztituensek lehetnek például hidrogénatom, halogénatom, nitrocsoport, $-C(O)CH_3$ képletű csoport, $Z(O)_pR_9$ általános képletű csoport, ahol p jelentése 0, 1 vagy 2 és R_9 jelentése hidroxilcsoport, $-ONa$ képletű csoport vagy kívánt módon szubsztituált alkilcsoport vagy 1-12 szénatomszámú és kívánt esetben szubsztituált cikloalkil-csoport, amely lehet például kis szénatomszámú alkilcsoport, amely halogénatom szubsztituenst tartalmaz (mint például trifluor-metil-csoport) vagy kis szénatomszámú alkilcsoport, amely karbonsav csoport szubsztituenst tartalmaz, különösen $-CH_2C(CH_3)_2COOH$ képletű csoport. Előnyösen azonban Ar jelentése fenilcsoport, amely $-SCH_3$ képletű csoport, $-S(O)CH_3$ képletű cso-

port vagy $-S(O)_2CH_3$ képletű csoport szubsztituenset tartalmaz.

A Het képletű szubsztituens előnyösen a (IV) képletű furanil-csoport, az (V) képletű benzofuranil-csoport, a (IV) képletű tienil-csoport, a (VII) képletű pirrolil-csoport vagy a (VIII) általános képletű benzpirrolil-csoport, ahol az általános képletekben R_3 jelentése hidrogénatom vagy kis szénatomszámú alkilcsoport. Más heterociklusos csoportok lehetnek például a benztienil-csoport, az imidazolil-csoport, a pirazolil-csoport, a triazolil-csoport, a piridil-csoport, a pirimidil-csoport vagy hasonló csoportok.

A Het általános képletű csoport maga is szubsztituenseket tartalmazhat, amelyek lehetnek hidrogénatom, halogénatom, 1-12 szénatomszámú halo-alkil-csoport (például trifluor-metil-csoport), 1-12 szénatomszámú alkilcsoport, 3-7 szénatomszámú cikloalkil-csoport, 1-12 szénatomszámú alkoxics csoport, 2-12 szénatomszámú alkenil-csoport, fenilcsoport, naftilcsoport vagy benzilcsoport.

A szakember számára nyilvánvaló, hogy amennyiben R_1 és R_2 jelentése eltérő, az ezekhez kapcsolódó szénatom - amely a szubsztituenseket hordozza - királis atom (azaz az úgynevezett "alfa-szénatom") és a vegyületek tiszta enantiomer formában vagy az enantiomerek racém keveréke formájában létezhetnek. A találmány tárgykörébe beleértjük az ilyen (+/-) keverékeket, továbbá az elválasztott (+ vagy -) enantiomer formákat.

A találmány tárgykörébe beleértjük továbbá a vegyületek nem toxikus gyógyszerészetiileg elfogadható só formáit.

Részletesebben a találmány tárgya eljárás olyan előnyös (I) általános képletű vegyületek előállítására, ahol az általános képletben

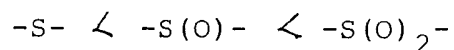
R_1 és R_2 egyikének jelentése hidrogénatom és a másik jelentése

- alkilcsoport, különösen etilcsoport,
- Ar jelentése fenilcsoport, amely az orto- vagy para-helyzetben oxigénatomhoz képest SCH_3 képletű csoport, S(O)CH_3 képletű csoport, $\text{S(O)}_2\text{CH}_3$ képletű csoport szubsztituenst tartalmaz vagy nitrocsoportot tartalmaz, és
- Het jelentése furanil-csoport, benzofuranil-csoport, tienil-csoport vagy pirrolil-csoport, amely a molekula egyéb részeihez valamely gyűrű szénatomon a heterociklusban található oxigénatomhoz, kénatomhoz vagy nitrogénatomhoz képest orto- vagy meta-helyzetben kapcsolódik.

A találmány további jellemzője az, hogy úgy találtuk, amennyiben a találmány szerinti vegyületeket úgy módosítják, hogy a királis centrumot az alfa szénatomon megszüntetik, azaz például R_1 és R_2 jelentése azonos, például vagy metil- vagy etilcsoport vagy R_1 és R_2 cikloakil-gyűrűt képez (amely lehet például ciklopropil-csoport, ciklobutil-csoport, ciklopentil-csoport vagy ciklohexil-csoport) a vegyületek különösen előnyösen alkalmazhatók humán neutrofil elasztáz inhibitorként.

A találmány jellemzője továbbá, hogy azt találtuk, amennyiben Ar jelentése fenilcsoport, amely az orto- vagy para-helyzetben $-\text{SCH}_3$ képletű csoport szubsztituenst tartalmaz vagy amennyiben Ar jelentése fenilcsoport és ez a csoport para-helyzetben $-\text{S}-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{COOH}$ szubsztituenst tartalmaz, a vegyületek különösen előnyösen alkalmazhatók. Ezek a vegyületek in vivo inhibitorként működnek és oxidáció révén aktiválódnak, azaz valószínűleg az $-\text{S}-$ (szulfid-csoport) in situ oxidálódik szulfoxid-csoporttá $-\text{S(O)}-$ vagy szulfon-csoporttá $-\text{S(O)}_2-$. Ebben a vonat-

kozásban azt találtuk, hogy a találmány szerinti vegyületek amennyiben Ar szulfid-csoporttal (-S-), szulfoxid-csoporttal /-S(O)-/ vagy szulfon-csoporttal /-S(O)₂-/ szubsztituált aktivitása az alábbi sorrendben növekszik:



Ebből következik, hogy a szulfid vegyületek (-S-) aktivitása oxidálószerekkel növelhető, amennyiben ilyen szerek vannak jelen a HLE által okozott károsodás helyszínén és így ezek révén szulfoxidok vagy szulfonok keletkeznek.

A találmány szerinti eljárással előállított vegyületek reprezentatív példáit mutatjuk be az I. táblázatban az alábbi (XI) általános képletű vegyület formájában.

I. táblázat

<u>Vegyület száma</u>	<u>HET</u>	<u>R¹</u>	<u>R²</u>	<u>R⁴</u>
1	(IVa)	H	C ₂ H ₅	SCH ₃
2	(IVa)	H	C ₂ H ₅	S(O)CH ₃
3	(IVa)	H	C ₂ H ₅	S(O) ₂ CH ₃
4	(Va)	H	C ₂ H ₅	SCH ₃
5	(Va)	H	C ₂ H ₅	S(O)CH ₃
6	(Va)	H	C ₂ H ₅	S(O) ₂ CH ₃
7	(VIa)	H	C ₂ H ₅	SCH ₃
8	(VIa)	H	C ₂ H ₅	S(O)CH ₃

<u>Vegyület száma</u>	<u>HET</u>	<u>R1</u>	<u>R2</u>	<u>R4</u>
9	(VIa)	H	C ₂ H ₅	S(O) ₂ CH ₃
10	(VIa)	H	C ₂ H ₅	NO ₂
11	(VIb)	H	C ₂ H ₅	SCH ₃
12	(VIb)	H	C ₂ H ₅	S(O)CH ₃
13	(VIb)	H	C ₂ H ₅	S(O) ₂ CH ₃
14	(VIb)	H	C ₂ H ₅	NO ₂
15	(IX)	H	C ₂ H ₅	SCH ₃
16	(IX)	H	C ₂ H ₅	S(O)CH ₃
17	(IX)	H	C ₂ H ₅	S(O) ₂ CH ₃
18	(IX)	H	C ₂ H ₅	NO ₂

<u>Vegyület száma</u>	<u>HET</u>	<u>R1</u>	<u>R2</u>	<u>R4</u>
19	(IX)	H	C ₂ H ₅	SCH ₂ C(CH ₃) ₂ COOH
20	(IX)	H	C ₂ H ₅	S(O)CH ₂ C(CH ₃) ₂ COOH
21	(X)	H	C ₂ H ₅	SCH ₃
22	(X)	H	C ₂ H ₅	S(O)CH ₃

A találmány szerinti vegyületek a szakirodalomban ismert eljárásokkal állíthatók elő. Reprezentatív előállítási eljárásokat mutatunk be a csatolt 1., 2., 3. és 4. ábrákon, amelyek sorrendben az A. reakcióvázlatot, az A. reakcióvázlat folytatását, az A. reakcióvázlat folytatását és a B. reakcióvázlatot tartalmazzák részletesen bemutatva.

A különféle szubsztituált észterek előállítását három általános eljárással végezhetjük. Az első eljárás során dialkil-karbodiimideket, mint például diciklohexil-karbodiimidet (DCC) alkalmazunk és így a karbonsav kiindulási anyagból szimmetrikus anhidridet képezünk. A szimmetrikus anhidrid kialakulását két módon hajthajtuk végre vagy a fenolos komponens hozzáadása előtt az anhidrid kialakulását lehetővé tesszük, amint ezt a (19) képletű vegyület előállítása során bemutatjuk vagy a szimmetrikus anhidrid képzést in situ a fenolos vegyület jelenlétében végez-

zük, amelynek során az észter közvetlenül képződik, amint ezt az (1), a (15), a (18) és a (21) képletű vegyületek esetében bemutatjuk. A másik észterképzési eljárás során savklorid képzésen keresztül járunk el, amelyet úgy képezünk, hogy a karbonsavat oxalil-kloriddal reagáltatjuk. A savklorid közbenső termékeket ezt követően a megfelelő fenollal reagáltatjuk bázis, mint például trietilamin jelenlétében és így magas termeléssel a kívánt észtereket nyerjük. Ezt az eljárást alkalmaztuk a (7) képletű, a (10) képletű, a (11) képletű és a (14) képletű tiofén-analóg vegyületek előállításán, továbbá a (4) képletű benzofurán-származék előállításában. Végül a harmadik eljárás során a kiindulási karbonsavat pivaloil-kloriddal reagáltatjuk, diizopropil-etil-amin (DIPEA) jelenlétében és így aszimmetrikus anhidrideket képezünk [például a (25), (27), (29) és (31) képletű vegyületek], majd ezeket 4-(metil-szulfonil)-fenollal reagáltatjuk, amely ebben a reakcióban acileződik és így (3), (6), (17) és (23) képletű észter keletkezik. A szakirodalomban más eljárásokat is leírtak, amelyekkel a fenti találmány szerinti észterek előállíthatók. Ezek az eljárások a szakember előtt nyilvánvalóan ismertek.

A különféle észterek, mint például az (1), a (4), a (7), a (11), a (15), a (19) és (21) képletű vegyületek, amelyek tioéter-csoportot tartalmaznak, 1,5 ekvivalens hidrogénperoxid alkalmazásával, ecetsavban oxidálhatók és így a megfelelő (2), (5), (8), (12), (16), (20) és (22) képletű szulfoxid-származékok állíthatók elő. Továbbá a tiofén-szulfidok, mint például a (7) és (11) képletű vegyületek, a (9) és (13) képletű szulfon-származékokká alakíthatók úgy, hogy ezeket ecetsavban 24-48 órán át feleslegben alkalmazott hidrogénperoxiddal reagáltatjuk.

A (24), (26), (28), (30), (32) és (34) képletű 2-szubsztituált butánsavakat könnyen előállíthatjuk a megfelelő (36) és (39) képletű szubsztituált acetátokból, amelyet bázikus hidrolízis közvet a B. reakcióvázlatban leírt eljárásnak megfelelően. A (43) képletű 3-benzofurán-acetátot magas termeléssel állíthatjuk elő úgy, hogy fenolt etil-4-klór-3-oxo-butiráttal kondenzálunk, így a (42) képletű vegyületet nyerjük, majd ezt trietilamin segítségével ciklizáljuk és p-toluolszulfonsav segítségével dehidratáljuk. Az ilyen prekursorok további előállítási eljárása a szakirodalomban ismert.

A találmány szerinti eljárást az alábbi példákon részletesen bemutatjuk.

1. példa

(4-metiltio-fenil)-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát (15)

(A) metil-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát

253 mmól lítium-diizopropil amidot oldunk nitrogén atmoszférában 600 ml száraz tetrahidrofuránban, majd az oldatot -78°C hőmérsékletre hűtjük. Az elegyhez 36,85 g (241 mmól) metil-2-(1-metil-2-pirrol)-acetátot csepegtetünk keverés közben, majd 32 ml hexametil-foszforamidot adagolunk hozzá. A reakcióelegyet 30 percen át keverjük, majd 15 perc alatt 19,2 ml (241 mmól) jódetánt csepegtetünk hozzá. Ezután a hűtőfürdőt eltávolítjuk és a reakcióelegyet hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni. 2 óra elteltével a reakciót víz hozzáadásával leállítjuk, majd az elegyet éterrel extraháljuk. Az egyesített szerves fázist vízzel mossuk, vízmentes magnéziumszulfáton megszáritjuk és bepároljuk. A maradékot vákuumdesztilláció segítségével tisztítjuk (18,6 Pa)

80°C) és így 37,0 g (85 % termelés) halványsárga olajos terméket kapunk.

^1H NMR spektrum (CDCl_3) δ 0.961 (t, 3H, $J = 7.4$ Hz), 1.80-1.95 (m, 1H), 2.05-2.20 (m, 1H), 3.53 (t, 1H, $J = 7.65$ Hz), 3.59 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 6.05-6.10 (m, 2H), 6.55-6.56 (m, 1H)

^{13}C HMR spektrum (CDCl_3) δ 11.94, 25.01, 33.60, 44.78, 51.75, 106.6, 107.0, 122.3, 130.1, 173.8.

(B) 2-(1-metil-2-pirrol)-butánsav

37,0 g (204 mmól) metil-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát és 250 ml 2,5m vizes nátriumhidroxid elegyét 3 órán át visszafolyatás mellett forraljuk. A reakcióelegyet ezután szobahőmérsékletre hűtjük és pH értékét 1,0 értékre állítjuk be. Az elegyet ezután éterrel extraháljuk, az éteres fázist vízmentes magnézium-szulfáton megszárítjuk és bepároljuk. 28,9 g (87 % termelés) kívánt terméket kapunk.

^1H NMR spektrum (CDCl_3) δ 0.992 (t, 3H, $J = 7.35$ Hz), 1.80-1.95 (m, 1H), 2.04-2.20 (m, 1H), 3.52 (t, 1H, $J = 7.65$ Hz), 3.60 (s, 3H), 6.09-6.11 (m, 2H), 6.56-6.58 (m, 1H), 12.24 (sz s, 1H, -OH),

^{13}C NMR spektrum (CDCl_3) δ 11.94, 24.68, 33.63, 44.56, 106.9, 107.2, 122.6, 129.3, 180.2).

(C) (4-metiltio-fenil)-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát (15)

28,5 g (176 mmól) 2-(1-metil-2-pirrol)-butánsav és 23,7 g (165 mmól) 4-metiltio-fenol 500 ml száraz diklórmétánban készült kevert oldatához 44,0 g (216 mmól) diciklohexil-karbodiimidet adagolunk. A reakcióelegyet 16 órán át keverjük, majd 120 ml ecetsavat adunk hozzá. Az oldatot leszűrjük és a szűrletet vákuumban bepároljuk. A maradékot éterben oldjuk és vízmentes káliumkarbonátot adagolunk hozzá, amíg semleges pH értékű nem lesz.

Az elegyet ezután leszűrjük és a szűrletet 5 %-os nátriumhidroxiddal mossuk. A szerves oldatot vízmentes magnéziumsulfáton megszáritjuk és vákuumban bepároljuk. A maradékot vákuumdesztilláció segítségével tisztítjuk (93,3 Pa/185°C) és így 24,6 g (49 % termelés) címbeli vegyületet (15) nyerünk.

^1H NMR spektrum (CDCl_3) δ 1.06 (t, 3H, $J = 7.5$ Hz), 1.88-2.03 (m, 1H), 2.15-2.30 (m, 1H), 2.45 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.74 (t, 1H, $J = 7.65$ Hz), 6.10-6.18 (m, 2H), 6.59-6.62 (m, 1H), 6.95 (d, 2H, $J = 8.40$ Hz), 7.24 (d, 2H, $J = 8.40$ Hz),

^{13}C NMR spektrum (CDCl_3) δ 11.97, 16.18, 25.21, 33.76, 44.94, 107.0, 122.0, 122.6, 128.1, 129.5, 135.8, 148.7, 171.8.

2. példa

/4-(metil-szulfinil)-fenil/-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát (16)

24,6 g (86,5 mmól) (4-metiltio-fenil)-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát 120 ml jégecetben készült oldatához keverés közben 16,2 ml 30 %-os hidrogénperoxid oldatot adagolunk. Az elegyet 1 órán át keverjük, majd 120 ml vizet adunk hozzá és a keveréket éterrel elegyítjük. A szerves fázist elválasztjuk, vízzel mossuk, majd vízmentes káliumkarbonáton éjszakán át szárítjuk. Az oldatot leszűrjük, majd bepároljuk és így fehér szilárd (16) képletű szulfoxid terméket nyerünk. A nyersterméket éterrel feldolgozzuk és így fehér kristályos tiszta terméket nyerünk (21,0 g, 81 % termelés).

^1H NMR spektrum (CDCl_3) δ 1.07 (t, 3H, $J = 7.5$ Hz), 2.90-2.05 (m, 1H), 2.16-2.31 (m, 1H), 2.16-2.31 (m, 1H), 2.70 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.78 (t, 1H, $J = 7.50$ Hz), 6.11-6.18 (m, 2H),

6.59-6.61 (m, 1H), 7.20 (d, 2H, $J = 8.70$ Hz), 7.63 (d, 2H, $J = 8.70$ Hz),
 ^{13}C NMR spektrum (CDCl_3) δ 11.89, 25.16, 33.70, 43.86, 44.84, 107.0, 107.3, 122.7(2X), 124.9, 129.0, 143.0, 153.0, 171.3.

3. példa

[4-(metil-szulfonil)-fenil]-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát (17)

1,58 g (9,5 mmól) 2-(1-metil-2-pirrol)-butánsav és 1,23 g (9,5 mmól) diizopropil-etil-amin 20 ml diklórmétánban készült oldatához 1,14 g (9,5 mmól) trimetil-acetil-kloridot adagolunk. A reakcióelegyet 1 órán át keverjük, majd 133 g (9,5 mmól) 4-(metil-szulfonil)-fenol és 1,23 g (9,5 mmól) diizopropil-etil-amin 15 ml diklórmétánban készült oldatát adagoljuk hozzá. A reakcióelegyet éjszakán át szobahőmérsékleten keverjük, majd 4x20 ml vízzel mossuk. A szerves oldatot vízmentes magnéziumszulfáton megszáritjuk és bepároljuk. A maradékot gyorskromatográfia segítségével szilikagélen etilacetát/hexán 1:4 eluens alkalmazásával tisztítjuk. Így 1,30 g (43 % termelés) terméket kapunk (17).

^1H NMR spektrum (CDCl_3) δ 1.07 (t, 3H, $J = 7.35$ Hz), 1.92-2.07 (m, 1H), 2.17-2.32 (m, 1H), 3.04 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.79 (t, 1H, $J = 7.65$ Hz), 6.11-6.19 (m, 2H), 6.60-6.65 (m, 1H), 7.24 (d, 2H, $J = 8.70$ Hz), 7.95 (d, 2H, $J = 8.70$ Hz),
 ^{13}C NMR spektrum (CDCl_3) δ 11.90, 25.21, 33.75, 44.42, 44.89, 107.2, 107.4, 122.6, 122.8, 128.8, 129.3, 138.0, 155.1, 172.0.

4. példa

[4-(2'-karboxi-2'-metil-propiltio)-fenil]-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát (19)

1,74 g (10,4 mmól) 2-(1-metil-2-pirrol)-butánsav és katalitikus mennyiségű 4-(dimetil-amino)-piridin 20 ml száraz tetrahidrofuránban készült oldatához 1.05 g (5,1 mmól) diciklohexin-karbodiimidet adagolunk. A reakcióelegyet 1 órán át keverjük, majd 1,5 g (5,1 mmól) 2,2-dimetil-3-(4'-hidroxi-feniltio)-propionsav 20 ml száraz tetrahidrofuránban készült oldatát adagoljuk hozzá. Az elegyet éjszakán át keverjük, majd bepároljuk. A maradékot éterben oldjuk, majd 2 ml ecetsavat adunk hozzá. A melléktermék diciklohexil-karbamidot leszűrjük, majd a szűrletet 3x20 ml híg nátriumhidrogénkarbonát oldattal mossuk. A szerves fázist vízmentes magnéziumsulfáton megszáritjuk és bepároljuk. A maradék ecetsavat ciklohexán hozzáadásával, majd azeotrop desztillációval távolítjuk el. Így 0,64 g (33 % termelés) (19) észtert nyerünk.

^1H NMR spektrum (CDCl_3) δ 1.08 (t, 3H, $J = 7.20$ Hz), 1.30 (s, 6H), 1.90-2.05 (m, 1H), 2.15-2.30 (m, 1H), 3.16 (sz s, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.75 (t, 1H, $J = 7.50$ Hz), 6.10-6.17 (m, 2H), 6.60-6.65 (m, 1H), 6.95 (d, 2H, $J = 8.40$ Hz), 7.39 (d, 2H, $J = 8.40$ Hz), 10.6 (sz s, 1H, -OH),

^{13}C NMR spektrum (CDCl_3) δ 12.01, 24.35, 25.23, 33.80, 43.76, 45.02, 52.78, 107.0, 107.3, 122.1, 122.7, 129.4, 131.7, 134.4, 149.7, 171.7, 182.9.

5. példa

[4-(2'-karboxi-2'-metil-propil-szulfinil)-fenil]-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát (20)

0,51 g (1,36 mmól) [4-(2'-karboxi-2'-metil-propiltio)-fenil]-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát 5 ml jégcetben készült

kevert oldatához 0,23 ml 30 %-os hidrogénperoxidot adagolunk. A reakcióelegyet 35 percen át keverjük, majd a reakciót 15 ml víz hozzáadásával leállítjuk. A kapott oldatot éterrel extraháljuk, a szerves fázist elválasztjuk és vízmentes magnézium-szulfáton megszáritjuk. Az oldószert ezután elpárologtatjuk és így 0,44 g (82 % termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

^1H NMR spektrum (CDCl_3) δ 1.07 (t, 3H, $J = 7.35$ Hz), 1.43 (s, 3H), 1.53 (s, 3H), 1.90-2.05 (m, 1H), 2.15-2.30 (m, 1H), 3.0-3.15 (m, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.77 (t, 1H), $J = 7.65$ Hz), 6.10-6.20 (m, 2H), 6.60-6.62 (m, 1H), 7.20 (d, 2H, $J = 8.40$ Hz), 7.71 (d, 2H, $J = 8.70$ Hz), 10.6 (sz s, 1H), -OH),

^{13}C NMR spektrum (CDCl_3) δ 11.99, 24.68, 25.24, 25.64, 33.81, 41.73, 44.90, 68.81, 107.1, 107.3, 122.8 (2X), 125.6, 129.1, 144.4, 153.1, 171.4, 180.2.

6. példa

(4-metiltio-fenil)-2-(3-tiofén)-butirát (11)

3,90 g (22,9 mmól) 2-(3-tiofén)-butánsav 25 ml száraz diklórmetánban készült oldatához 13,7 ml 2,0m töménységű oxalil-klorid oldatot adagolunk (24.7 mmól). A kapott elegyet 3 órán át keverjük, majd az illékony komponenseket vákuumban elpárologtatjuk. A maradékot megfelelő mennyiségű diklórmetánban oldjuk és így 0,33m töménységű savklorid oldatot képezünk. Ezt a savklorid oldatot (45,5 ml, 15 mmól) hozzáadagoljuk 1,80 g (15 mmól) 4-metiltio-fenol és 1,52 g (15 mmól) trietilamin 15 ml száraz diklórmetánban készült oldatához. A reakcióelegyet éjszakán át keverjük, majd a kívánt szilárd anyagot leszűrjük és a szűrletet 1m nátriumkarbonát oldattal mossuk. A szűrletet ezután bepároljuk,

majd a maradékot szilikagélen kromatográfia segítségével tisztítjuk. Így 2,55 g (72 % termelés) címbeli terméket nyerünk.

^1H NMR spektrum (CDCl_3) δ 1.05 (t, 3H, $J = 7.23$ Hz), 1.89-2.04 (m, 1H), 2.15-2.30 (m, 1H), 2.48 (s, 3H), 3.87 (t, 1H, $J = 7.70$ Hz), 6.99 (d, 2H, $J = 8.49$ Hz), 7.18 (d, 1H, $J = 4.98$ Hz), 7.27 (d, 1H, $J = 2.58$ Hz), 7.38 (d, 2H, $J = 2.58$ Hz), 7.38 (d, 2H, $J = 8.67$ Hz), 7.35 (dd, 1H, $J = 2.58$ Hz, $J = 4.95$ Hz),
 ^{13}C NMR spektrum (CDCl_3) δ 11.78, 16.19, 26.47, 48.64, 122.0, 122.2, 126.0, 127.2, 128.1, 135.8, 138.8, 148.7, 172.4.

7. példa

[4-(metil-szulfenil)-fenil]-2-(3-tiofén)-butirát (12)

0,80 g (2,7 mmól) (4-metiltio-fenil)-2-(3-tiofén)-butirát 8 ml jégcetben készült oldatához 9,048 ml 30 %-os hidrogénperoxidot adagolunk (4,1 mmól). Az elegyet 1 órán át keverjük, majd étert adunk hozzá és a kapott oldatot 3x15 ml vízzel, majd ezt követően 3x15 telített nátriumhidrogénkarbonát oldattal mossuk. A szerves fázist vízmentes káliumkarbonáton megszáritjuk, majd bepároljuk. 0,69 g (83 % termelés) kívánt (12) szulfoxid terméket nyerünk.

^1H NMR spektrum (CDCl_3) δ 1.02 (t, 3H, $J = 7.38$ Hz), 1.90-2.05 (m, 1H), 2.14-2.29 (m, 1H), 2.71 (s, 3H), 3.88 (t, 1H, $J = 7.62$ Hz), 7.15 (d, 1H, $J = 4.92$ Hz), 7.21 (d, 2H, $J = 8.61$ Hz), 7.25 (d, 1H, $J = 3.06$ Hz), 7.35 (dd, 1H, $J = 4.95$ Hz), 7.65 (d, 2H, $J = 8.64$ Hz),
 ^{13}C NMR spektrum (CDCl_3) δ 11.77, 26.38, 43.93, 48.93, 48.63, 122.7, 125.0, 126.2, 127.1, 138.4, 143.1, 153.0, 172.1.

8. példa

[4-(metil-szulfonil)-fenil]-2-(3-tiofén)-butirát (13)

0,90 g (3,0 mmól) (4-metiltio-fenil)-2-(3-tiofén)-butirát, 3 ml jégecet és 3 ml 30 %-os hidrogénperoxid elegyét 3 napon át keverjük. A reakcióelegyet ezután jégre öntjük, majd a keveréket éterrel extraháljuk. A szerves fázist vízzel mossuk, majd vízmentes káliumkarbonáton megszárítjuk és bepároljuk. 0,21 g (21 % termelés) (13) szulfonil-származékot nyerünk.

^1H NMR spektrum (CDCl_3) δ 1.02 (t, 3H, J = 7.35 Hz), 1.88-2.03 (m, 1H), 2.16-2.31 (m, 1H), 3.04 (s, 3H), 3.90 (t, 1H, J = 7.68 Hz), 7.15 (d, 1H, J = 5.01 Hz), 7.22-7.27 (m, 1H), 7.25 (d, 2H, J = 8.55 Hz), 7.96 (d, 2H, J = 8.67 Hz),

^{13}C NMR spektrum (CDCl_3) δ 11.68, 26.25, 44.33, 48.51, 122.4, 122.6, 126.3, 127.0, 129.2, 138.0, 154.9, 171.7.

Mint korábban leírtuk, a találmány szerinti vegyületek HLE inhibiáló aktivitással rendelkeznek és ennek következtében ezek a vegyületek alkalmasak például kötőszöveti gázgyülem, ízületi gyulladás, érelmeszesedés és hasonló betegségek kezelésére betegekben. A "beteg" elnevezés alatt emlősöket - az embert is beleértve - értünk. Az ilyen alkalmazás céljára a találmány szerinti vegyületeket szokásos úton, például orálisan, intravénásan, szubkután, intraperitoneálisan vagy intramuszkulárisan adagolhatjuk. A kötőszöveti gázgyülem kezelése céljából a találmány szerinti vegyületeket terápiásan hatásos mennyiségben, általában orálisan vagy rektálisan adagoljuk vagy hörgő inhalátum formában adagoljuk.

A találmány szerinti vegyület hatásos mennyisége, amely

a HLE enzimet inhibiálja, az adott betegség súlyosságától és típusától függően változhat. Például amennyiben olyan inhalátumot alkalmazunk, amely 0,05-20 % aktív hatóanyagot tartalmaz, és ezt dóziségségenként 2-100 mg nagyságrendben alkalmazzuk napi több alkalommal, ez megfelelő terápiásan hatásos mennyiségű aktív anyagot szolgáltat a kötőszöveti gázgyülem betegség kezelésére. Az adagolás méretére és gyakoriságára vonatkozóan változtatásokat is végrehajthatunk aszerint, hogy a HLE kívánt inhibíciót milyen dózissal érjük el.

A találmány szerinti aktív hatóanyagot tartalmazó gyógyszerészeti formált alakok lehetnek például tabletta, kapszula, oldat vagy szuszpenzió, amelyeket szokásos nemtoxikus gyógyszerészeti elfogadható hordozóanyagokkal képezünk. Ezek a formált alakok szokásos típusú adalékanyagokat tartalmazhatnak, amelyek lehetnek például dezintegrálószeres vagy szuszpendálószeres vagy hasonló anyagok. Az intravénás adagolás céljára választott találmány szerinti vegyületek vizes oldatban oldhatóak kell legyenek, míg például az orális formált alakban alkalmazottak nem feltétlenül vízoldhatóak. Helyi alkalmazásra használt formált alakokat is képezhetünk, amelyeket például dermatitis és szőrtüszőgyulladás kezelésében használhatunk.

A találmány szerinti vegyületek különösen hatásos és nagyban szelektív inhibitorai a neutrofil elasztáznak. A találmány szerinti vegyületekről kimutattuk, hogy megfelelő szérumban stabilitással rendelkeznek. A találmány szerinti vegyületek vízoldhatósága változik és így az adagolás módja minden egyes vegyület esetében legalább bizonyos mértékig függ attól, hogy az adott

vegyület milyen oldhatósággal rendelkezik.

Anélkül, hogy bármely korlátozott elméletet adnánk a találmány szerinti vegyületek működésével vagy funkciójával kapcsolatosan úgy tűnik, hogy a találmány szerinti vegyületek a neutrofil elasztáz aktív helyezihez kötődnek. Részletesebben úgy tűnik, hogy az acilcsoport az S-szubsztrát helyzethez kötődik, azaz a kötő hely valin vagy prolin-valin területéhez, a fenolcsoport pedig az S' helyzetig nyúlik ki.

Az alábbi tesztvizsgálatokat végeztük, hogy meghatározzuk a jelen találmány szerinti vegyületek aktivitását:

Hatásosság (I_{50} meghatározás)

Reagensek:

- A) 0.075m nátriumfoszfát, 20 % dimetilszulfoxid (DMSO), pH 7,7 = szubsztrát és inhibitor puffer
- B) 0,075m nátriumfoszfát, nem tartalmaz dimetilszulfoxidot, pH 7,7 = inhibitor puffer,
- C) 10mm emberi neutrofil elasztáz (HNE) szubsztrát = N-(metoxi-szukcinil)-ala-ala-pro-val-pNA dimetilszulfoxidban,
- D) 0,1m nátriumacetát, 20 % DMSO, pH 5,5 = enzim puffer (hígítás),
- E) 0,01m nátriumacetát, pH 5,5 = enzim puffer (tárolás),
- F) HNE (1 mg) 1 ml E reagensben oldva -20°C hőmérsékleten történő tárolás céljára.

Készítsünk 10 μmol os inhibitor anyagot dimetilszulfoxidban.

Kis mennyiségű mintát (10 μl) hígítsunk 1,0 ml térfogatig A reagenssel (100 μl). Sorozatban hígítsuk a 100 μl 100 μmol os anyagot 10,1, 1,0, 0,1, 0,01 μmol koncentrációra az A reagensben. Egy 96-üreges lemez üregeibe adagoljuk a 100 μl hígított anyagot.

F reagens mintát higítsunk D reagenssel 1:150 arányban, majd ebből 500 μ l térfogatokat adagoljunk a fenti üregekbe és a kapott elegyet 7 percen át szobahőmérsékleten inkubáljuk.

Készítsünk HNE szubsztrát oldatot úgy, hogy 100 μ l C reagenst 500 μ l A reagens és 400 μ l B reagens elegyében keverünk. Az elegyet 7 percen át inkubáljuk, majd 50 μ l részleteit adagoljuk az egyes üregekbe. Ezután a HNE katalizált reakciót spektrofotometria segítségével 450nm értéken követjük ELISA lemezleolvasó berendezést alkalmazva (UVMAX, Molecular Devices). Így a nyers adatokat kapjuk egy táblázatra kiírt kinetikus program segítségével. Az enzimaktivitást a különféle inhibitor-koncentrációk függvényében ábrázoljuk és a I_{50} értéket meghatározzuk a görbeillesztési program segítségével. Amikor az I_{50} érték illesztését körülbelüli értékekben meghatároztuk, egy pontosabb I_{50} értéket nyerhetünk az ekörüli érték körüli inhibitor-koncentráció-változás vizsgálatával.

Specifikusság meghatározás

Reagensek:

- 1) Disznó hasnyálmirigy elasztáz (PPE) 1 mg/ml 0,01m nátriumacetátban, pH 5,5. Az oldat mintáját higítjuk 1:20 arányban 0,01m nátriumacetáttal, 20 % dimetilszulfoxiddal, 10mmól CaCl_2 -vel, pH 5,5.
- 2) α -kimotripszin (α -CH) 1 mg/ml 0,01m nátriumacetátban pH 5,5. Az oldat alikvot mintáját higítjuk 1:85 arányban 0,01m nátriumacetát, 20 % dimetilszulfoxid, 10mmól CaCl_2 , pH 5,5, 0,005 % triton X-100 detergens oldattal.
- 3) PPE szubsztrát: N-szukcinil-ala-ala-ala-pNA 20mmól oldat dimetilszulfoxidban.

- 4) α -CH szubsztrát: N-szukcinil-ala-ala-pro-leu-pNA 20mmól oldat dimetilszulfoxidban.
- 5) Inhibitor, szubsztrát puffer: 0,1m tris-HCl, 0,01m CaCl_2 , 0,005 % triton X-100, 20 % DMSO, pH 7,7.

Az I. táblázatban megadott vegyületekre végzett I_{50} meghatározások értékeit a II. táblázatban adjuk meg.

II. táblázat

<u>Vegyület száma</u>	<u>I_{50} (μm)</u>	<u>Vegyület száma</u>	<u>I_{50} (μm)</u>
1	6.06	12	0.13
2	1.44	13	0.05
3	0.47	14	0.12
4	3.80	15	6.20
5	0.42	16	0.46
6	0.15	17	0.06
7	3.00	18	0.20
8	0.43	19	0.20
9	0.29	20	0.59
10	0.27	21	33.0
11	1.50	22	1.9

Mejegyezendő, hogy azon vegyületek esetében, amelyekben R^4 jelentése metiltio-csoport, az I_{50} érték jelentősen nagyobb, mint az összehasonlító példákban.

Kutyákban tesztvizsgálatokat végeztünk abból a célból, hogy meghatározzuk a találmány szerinti vegyületek hatását vértelenségi, majd újraáramlási sérülések kezelésében. Ezek a kísérletek azt mutatták, hogy a (16) vegyület alkalmazásával,

amelyet a jelen találmány szerinti vegyületek illusztratív példaként használtunk, jelentős infarktus méretcsökkenést lehetett elérni olyan állatokban, amelyeket a (16) vegyülettel kezeltünk a kontroll állatokkal összehasonlítva.

A vizsgálatot az alábbi protokollnak megfelelően végeztük el.

Hím kevertfajú kutyaakat (13-17 kg) érzéstelenítünk nátrium-pentobarbitál segítségével (30 mg/kg i.v.), majd intubáljuk és Harvard levegőztetőn keresztül szobalevegővel levegőztetjük. A kísérlet során folyamatosan rögzítjük az elektrokardiogramm (EKG) ólom II értéket, illetve a haemodinamikai értékeket. A bal nyaki artériába katétert helyezünk és ezt a bal kamráig nyomjuk előre, így a karmanyomás folytonos rögzítését végezzük. Egy második katétert vezetünk a jobb combi artériába, így az artériás vérnyomást mérjük. Bal melkasfelmetszést végzünk az 5. bordaközi helyzetben. A szívet felfüggesztjük szívburok bölcsőben és a bal körív alakú szívkoszorú verőeret (LCX) izoláljuk az artériás ág távoli pontjára, és így eltávolítjuk bármely fő kamra ágától. Egy elektromágneses áramlási mérőt helyezünk az artériára, és így meghatározzuk az alap LCX véráramot. Kezdetben az LCX részleges összeszűkítését végeztük egy érszorítóval olyan mértékben, ami a maradék áramot nem változtatja meg, azonban a csúcs áramlási adat (reaktív, csillapítatlan válasz) 10 másodperc teljes elzáródás után legalább 70 %-kal csökken (kritikus szűkület). 15 perc részleges szűkítés után az LCX teljes elzárását végezzük egy második ércsipesszel. A teljes elzárást 90 percen át fenntartjuk, majd ezt követően 24 órán át újraáramoltatást végzünk kritikus elzárás alkalmazásával a kezdeti 30 perc újraáramoltatás során. A

kritikus szűkítés limitálja a túlzott újraáramlást, ennél fogva csökkenti az újraáramoltatásból eredő szabálytalan ritmus súlyosságát, a vérzéses szívizom infarktust és a kamra fibrilláció mértékét. A tájéki áramoltatás visszaállítása után az artéria, a véna illetve artériás kanült eltávolítjuk, a mellkasi bemetszést rétegenként bezárjuk, a sebesülést bekötözzük és az állatot operáció utáni gyógyulási ketrecbe helyezzük. Az újraáramoltatás beindítását követő 24 óra eltelte után az állatot újra érzéstelelítjük, a mellkasi bemetszést felnyitjuk, majd a szívet elektromosan fibrillációba hozzuk és gyorsan eltávolítjuk, hogy az infarktus méretét halál után mennyiségileg meghatározzuk.

Az állatokat véletlenszerű csoportokba osztjuk, és ezek vagy a tesztvizsgálati vegyületet vagy a placebo (higítóanyag) anyagot kapják szívkoszorúérbe infúzió segítségével azon a káteren keresztül, amely a bal kör alakú szívkoszorúartériába bevezetett közvetlenül annál a pontnál, ahol az ér elzáródott. Az adagolt dózist ismert farmakokinetikai adatok alapján állapítjuk meg és az infúziót 90 percen át fenntartjuk, amíg ez a tájéki vértelenség fennáll, továbbá fenntartjuk a 24 órán át történő újraáramoltatási periódus során is. A tesztvizsgálati vegyület vagy placebo anyag alkalmazása infúzió segítségével az elzárás előtt a bal szívkoszorúér artériába 60 perccel megkezdődik.

A tájéki szívizom véráramot jelző anyaggal jelzett mikrocentrumok segítségével (15 μ m átmérő) mérjük a referencia elvonás módszer segítségével. Minden egyes kísérletben két mikrocentrum injektálást végzünk az izotópok véletlenszerű eloszlásával. Referencia artériás vérmintákat nyerünk egy időben a combi

és a nyaki artériákból konstans sebességgel Harvard szívópumpával, ezt a mintavételt közvetlenül a mikrocentrumok injektálása előtt kezdjük, amelyeket a bal szívpitvarba injektálunk és két perccel később fejezzük be. A referencia minták számlált értékét átlagoljuk, és így a szívizom véráramot számítjuk. Amennyiben a referencia minta számlált értéke több mint 15 %-kal változik, az adatot nem vesszük számításba. Az injektálás előtt minden egyes mikrocentrum edényt ultrahangos fürdőbe helyezünk, majd örvénykeverésnek vetünk alá és csak ezután végezzük az injektálást, így biztosítjuk, hogy a mikrocentrum szuszpenziók egyenleges eloszlása létrejöjjön az injektálás előtt.

A tájéki szívizom véráramot 10 perccel a bal szívkoszorúér artériában való véráram visszaállítás előtt határozzuk meg. Egy második tájéki szívizom véráram értéket határozzuk meg 10 perccel azelőtt, hogy a tesztvizsgálatot befejezzük (az újraáramoltatás után 50 óra és 50 perccel). 0,5-1,0 g szövetmintákat metszünk ki a szívburok alatti, a középszívizom és szívbelhártya körüli területről azokról a helyekről, amelyeket a bal szívkoszorúér artéria lát el vérrel, illetve a bal elülső leszálló szívkoszorú artéria lát el vérrel. Ezek sorrendben a veszélynek kitett szívizmot, illetve az ebben nem befolyásolt szívizom területet képviselik. Minden egyes szívből legalább három metszetet készítünk abból a célból, hogy a véráramot az egyes területeken átlagban 3-4 minta képviselje minden egyes kísérletben.

A szívizom infarktus méretét ex vivo kétszeres átáramlási festési technika segítségével határozzuk meg. Kanült vezetünk be az aortába a szíkoszorúér nyílás felett és az LCX-be a korábbi elzáródás helyén. Az LCX ágyat újra áramoltatjuk 1,5 %-os trifenil-

-tetrazolium hidrokloriddal (TTC), amely 20mm káliumfoszfát pufferben készült (pH 7,4, 38°C). Az aortát átöblítjük visszafele irányuló módon 0,25 % Evan kék festékkel. Az LCX terület és a szív további maradékát átöblítjük ezek megfelelő festékével konstans 13332 Pa nyomás alkalmazásával 10 percen át. A szívet ezután 6 egyforma részletre metsszük, amelyek körülbelül 1,0 cm vastagok merőlegesen a csúcsi alap tengelyre. Ez a festési eljárás könnyen megkülönbözteti a bal kamra területet, amely infarktus veszélynek van kitéve, valamint az infarktusnak kitett szívizmot attól a területtől, amelyik a bal kamrában nem függ az LCX-től véráram szempontjából és amelyet Evan kézzel festettünk. A veszélynek kitett területen az életképes szívizom piros színűre festődik amiatt, hogy a színtelen TTC piros színű formazánná alakul át a szövet dehidrogenáz enzimjei révén. Az infarktusos szívizom a veszélynek kitett területen nem festődik amiatt, hogy ezen a területen az irreverzibilisen sérült szövetben a dehidrogenáz enzimek elvesztek. A haránt irányú kamra metszeteket ezután elválasztjuk a jobb karma izomtól és a billentyű valamint zsírszövetektől, majd egy tiszta műanyag alapra helyezzük, és így az infarktus méretét területméréssel meghatározzuk. Az infarktus méretét a veszélynek kitett terület százalékában fejezzük ki, illetve a bal kamra teljes felületének százalékában adjuk meg.

Valamennyi nyert adatot átlagérték $\pm$ SEM értékben adunk meg. Párhuzamos vagy csoportos tesztvizsgálati analízist végeztünk mindazon esetekben, amikor erre lehetőség volt. Az eltéréseket jelentősnek tekintettük abban az esetben, amennyiben $p \leq 0,05$ értéket mutattak. Amennyiben 2-nél több átlagérték közti összehasonlítást végeztünk (infarktus/veszélynek kitett terület,

infarktus/bal kamra, veszélynek kitett terület/bal kamra) az adatokat szóródás analízisnek illetve Scheffe többszörös összehasonlítási biztonsági analízisnek vetettük alá.

A szívizom terület, amely veszélynek van kitéve, valamint az oldalági véráram egyaránt fontos meghatározói a vértelenség következtében létrejövő szívizom elhalás kiterjedésének. Az infarktus méretét az oldalági véráram vonatkozásában a központi vértelen zóna belső kétharmadának mérésével határozzuk meg. Kovariáns analízist végzünk, amelyben az oldalági véráram a független változó és meghatározzuk, hogy van-e statisztikusan jellemző eltérés a számított infarktus méretben a két csoport között úgy, hogy ezt a változást az oldalági szabályozott véráram határozza meg.

Az átlageredményeket, amelyeket az infarktus méretre nyertünk 10 kutyán végzett kísérlet esetében mindenegyes kategóriában, az alábbiakban mutatjuk be:

<u>Placébo</u>	<u>(16) vegyület</u>
52.79 + SEM 4.9	40.59 + SEM 4.2

Mint fent leírtuk, ezek az eredmények azt mutatják, hogy az infarktus mérete jelentősen csökkenthető a találmány szerinti vegyület alkalmazásával.

A találmány tárgykörébe beleérthető minden lehetséges variáció, amelyet a találmány szerinti leírásban végezhetünk és a szakember számára nyilvánvaló, anélkül, hogy a találmány lényegét befolyásolnánk.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. (I) általános képletű vegyület, ahol az általános képletben

R_1 és R_2 jelentése azonos vagy eltérő és lehet hidrogénatom, 1-4 szénatomszámú alkilcsoport, 3-6 szénatomszámú cikloalkil-csoport vagy együttesen $-(CH_2)_n-$ általános képletű csoport, ahol n jelentése 1-6 közötti egész szám, azzal a feltétellel, hogy R_1 és R_2 jelentése egyidőben nem hidrogénatom;

Ar jelentsée kívánt esetben szubsztituált fenilcsoport; és
Het jelentése 1 vagy több nitrogénatomot, kénatomot vagy oxigénatomot tartalmazó heterociklusos csoport.

2. Az 1. igénypont szerinti vegyület, azzal jellemezve, hogy het jelentése 5 atomos heterociklusos csoport, amely a (III) általános képletű csoport, ahol X jelentése nitrogénatom, oxigénatom vagy kénatom vagy a megfelelő benzo-heterociklusos csoport.

3. A 2. igénypont szerinti vegyület, azzal jellemezve, hogy a gyűrű pirrolil-csoport vagy benzopirrolil-csoport.

4. Az 1. igénypont szerinti vegyület, azzal jellemezve, hogy ez (4-metiltio-fenil)-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát, [4-(metil-szulfinil)-fenil]-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát, vagy [4-(metil-szulfonil)-fenil]-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát.

5. Eljárás gyógyszerészeti formált alak előállítására, amely nem kívánatos elasztáz aktivitás inhibiálására alkalmas, azzal jellemezve, hogy az 1. igénypont szerinti vegyület hatásos

mennyiségét gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyagokkal gyógyszerkészítménnyé feldolgozzuk.

6. Az 1. igénypont szerinti vegyület, azzal jellemezve, hogy az általános képletben R_1 jelentése hidrogénatom, R_2 jelentése etilcsoport, Ar jelentése fenilcsoport, amely SCH_3 képletű, $S(O)CH_3$ képletű, $S(O)_2CH_3$ képletű szubsztituenst vagy nitrocsoport szubsztituenst tartalmaz és Het jelentése furanil-csoport, tienil-csoport, benzfuranil-csoport, benztienil-csoport, pirrolil-csoport, benzpirrolil-csoport, imidazolil-csoport, pirazolil-csoport, triazolil-csoport, piridil-csoport vagy pirinidil-csoport.

7. Eljárás nem kívánt elasztáz aktivitás inhibiálására, azzal jellemezve, hogy a kezelést igénylő személynek az 1. igénypont szerinti vegyület hatásos mennyiségét alkalmazzuk.

8. Az 1. igénypont szerinti vegyület felhasználása gyógyszerészeti formált alak előállítására, amely alkalmas humán leukocita elasztáz vagy humán neutrofil elasztáz inhibiálására.

9. Az 1. igénypont szerinti vegyület felhasználása gyógyszerészeti formált alak előállítására, amely alkalmas kötőszöveti gázgyülem, gyulladásos betegségek, dermatitis vagy vértelenség/újraáramlás sérülés kezelésére.

10. Eljárás az (I) általános képletű vegyület előállítására, ahol az általános képletben R_1 és R_2 jelentése azonos vagy eltérő és lehet hidrogénatom, 1-4 szénatomszámú alkilcsoport, 3-6 szénatomszámú cikloalkil-csoport vagy együttesen lehet $-(CH_2)_n-$ általános képletű

csoport, ahol n jelentése 1-6 közötti egész szám, azzal a feltétellel, hogy R_1 és R_2 jelentése egyidőben nem hidrogénatom;

Ar jelentése kívánt esetben szubsztituált fenilcsoport; és

Het jelentése heterodiklusos gyűrű, amely 1 vagy több nitogénatomot, kénatomot vagy oxigénatomot tartalmaz a gyűrűben,

azzal jellemezve, hogy a (II) általános képletű karbonsavat diklohexil-karbodiimiddel (DCC) reagáltatjuk és szimmetrikus anhidridet képezünk, majd a szimmetrikus anhidridet fenollal reagáltatjuk, amely kívánt esetben szubsztituált és 1-5 szubsztituenst tartalmaz, amely lehet hidrogénatom, halogénatom, nitrocsoport, $-C(O)CH_3$ képletű csoport, $S(O)_p R_9$ általános képletű csoport, ahol p jelentése 0, 1 vagy 2 és R_9 jelentése hidroxilcsoport vagy $-ONa$ általános képletű csoport vagy kívánt esetben szubsztituált 1-12 szénatomszámú alkilcsoport vagy kívánt módon szubsztituált cikloalkil-csoport vagy kis szénatomszámú alkilcsoport, amely karboxilcsoport szubsztituenst tartalmaz, és így észtert állítunk elő, amely az (I) általános képletű vegyület, továbbá amennyiben Ar tioéter-csoporttal szubsztituált, a terméket a tioéter-csoporton oxidáljuk hidrogénperoxid segítségével ecetsavban, és így a szulfoxid származékot állítjuk elő.

11. A 10. igénypont szerinti eljárás, ahol az általános képletben Het jelentése pirrolil-csoport vagy benzopirrolil-csoport, azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

12. A 10. igénypont szerinti eljárás a (4-metilmerkaptó-fenil)-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát vagy [4-(metil-szulfinil)-fenil]-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát előállítására, azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

13. Eljárás az (Ia) általános képletű vegyület előállítására, ahol az általános képletben

R_1 és R_2 jelentése azonos vagy eltérő és lehet hidrogénatom, 1-4 szénatomszámú alkilcsoport, 3-6 szénatomszámú cikloalkil-csoport vagy együttesen lehet $-(CH_2)_n-$ általános képletű csoport, ahol n jelentése 1-6 közötti egész szám, azzal a feltétellel, hogy R_1 és R_2 jelentése egyidőben nem hidrogénatom;

Ar' jelentése kívánatosan szubsztituált fenilcsoport, amely legalább 1 $S(O)_pR_9$ általános képletű szubsztituenst tartalmaz, ahol p jelentése 2 és R_9 jelentése hidroxilcsoport, $-ONa$ képletű csoport vagy kívánt esetben szubsztituált 1-12 szénatomszámú alkilcsoport vagy kívánt esetben szubsztituált cikloalkil-csoport vagy kis szénatomszámú alkilcsoport, amely karboxilcsoport szubsztituens tartalmaz; és

Het jelentése heterociklusos-csoport, amely 1 vagy több nitrogénatomot, kénatomot vagy oxigénatomot tartalmaz a gyűrűben,

azzal jellemezve, hogy a (II) általános képletű karbonsavat pivaloil-kloriddal reagáltatjuk DIPEA jelenlétében (diizopropil-etil-amin), majd a terméket kívánt esetben 1-5 szubsztituenst tartalmazó fenollal reagáltatjuk, ahol a szubsztituensek lehetnek hidrogénatom, halo-

génatom, nitrocsoporth, $-C(O)CH_3$ képletű csoport, $S(O)_pR_9$ általános képletű csoport, ahol p jelentése 0, 1 vagy 2, és R_9 jelentése hidroxilcsoport, $-ONa$ képletű csoport vagy kívánt esetben szubsztituált 1-12 szénatomszámú alkilcsoport vagy kívánt esetben szubsztituált cikloalkil-csoport vagy kis szénatomszámú alkilcsoport, amely karboxilcsoport szubsztituenst tartalmaz, azzal a feltétellel, hogy a fenol legalább egy $S(O)_pR_9$ általános képletű szubsztituenst tartalmaz, ahol p jelentése 2.

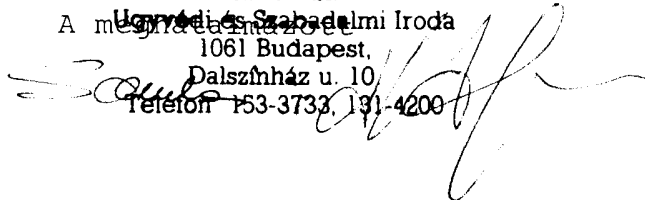
14. A 13. igénypont szerinti eljárás olyan általános képletű vegyület előállítására, ahol Het jelentése pirrolil-csoport vagy benzopirrolil-csoport, azzal jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

15. A 13. igénypont szerinti eljárás a /4-(metil-szulfonyl)-fenil/-2-(1-metil-2-pirrol)-butirát előállítására, azzal jellemezve, hogy a megfelelően szubsztituált kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

+ 6 lép képlettel



A Magyar Szabadalmi Iroda
1061 Budapest,
Dalszínház u. 10.
Telefon 153-3733, 131-4200

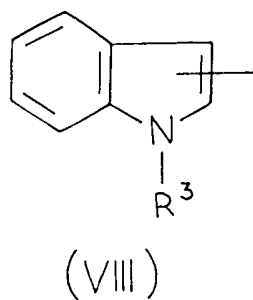
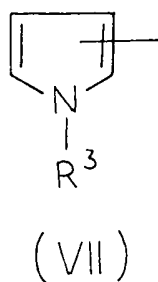
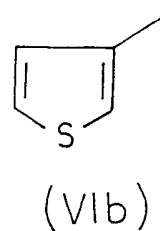
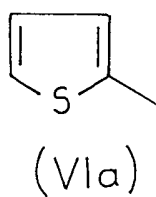
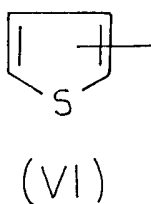
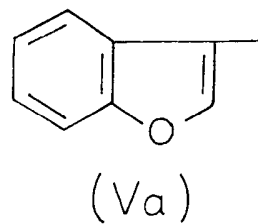
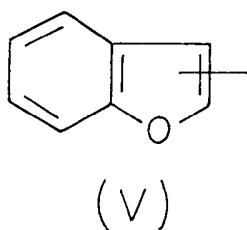
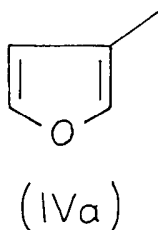
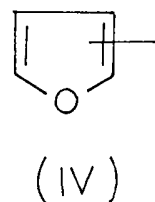
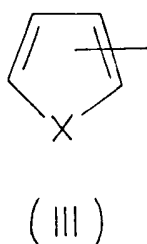
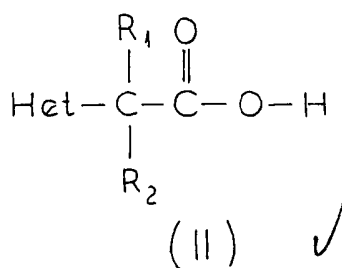
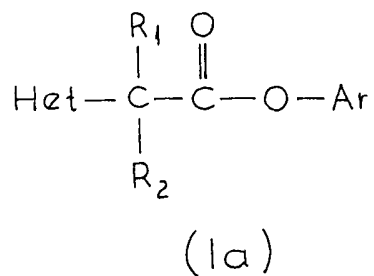
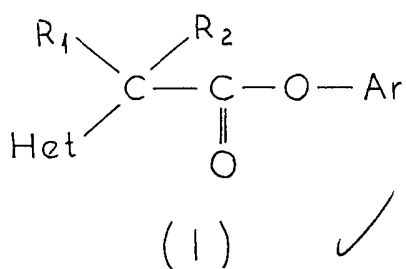


3491/91

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

27712
60246

6/1

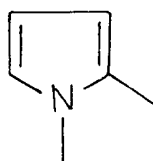


3491/91

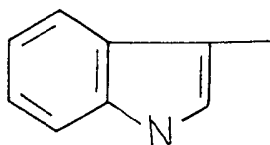
KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

27712

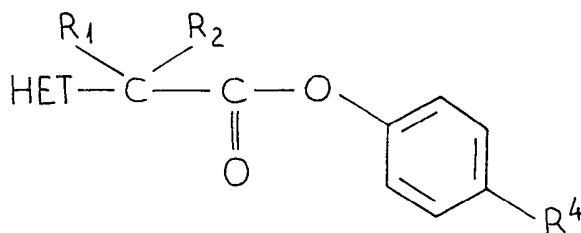
6/2



(IX)

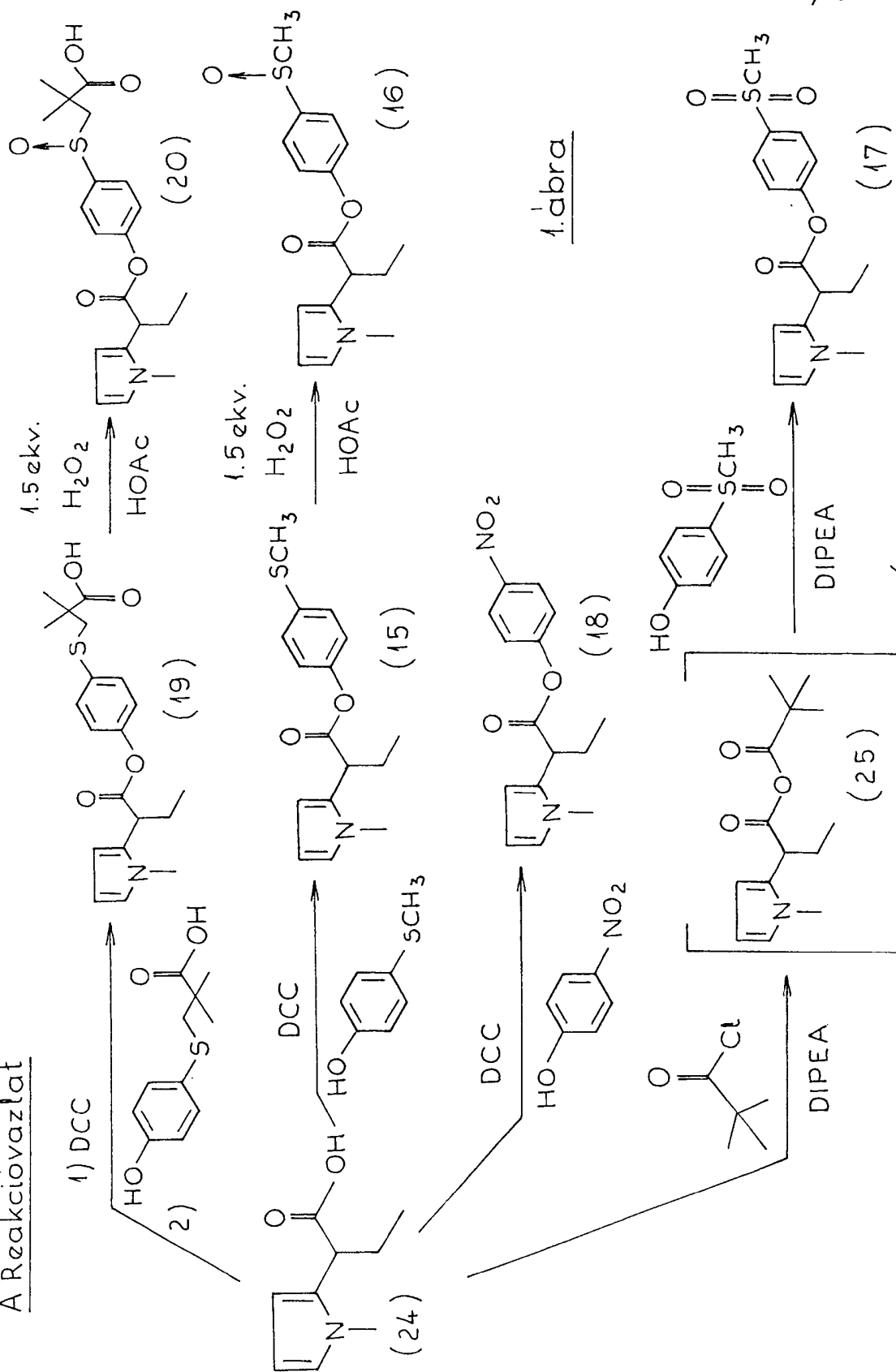


(X)

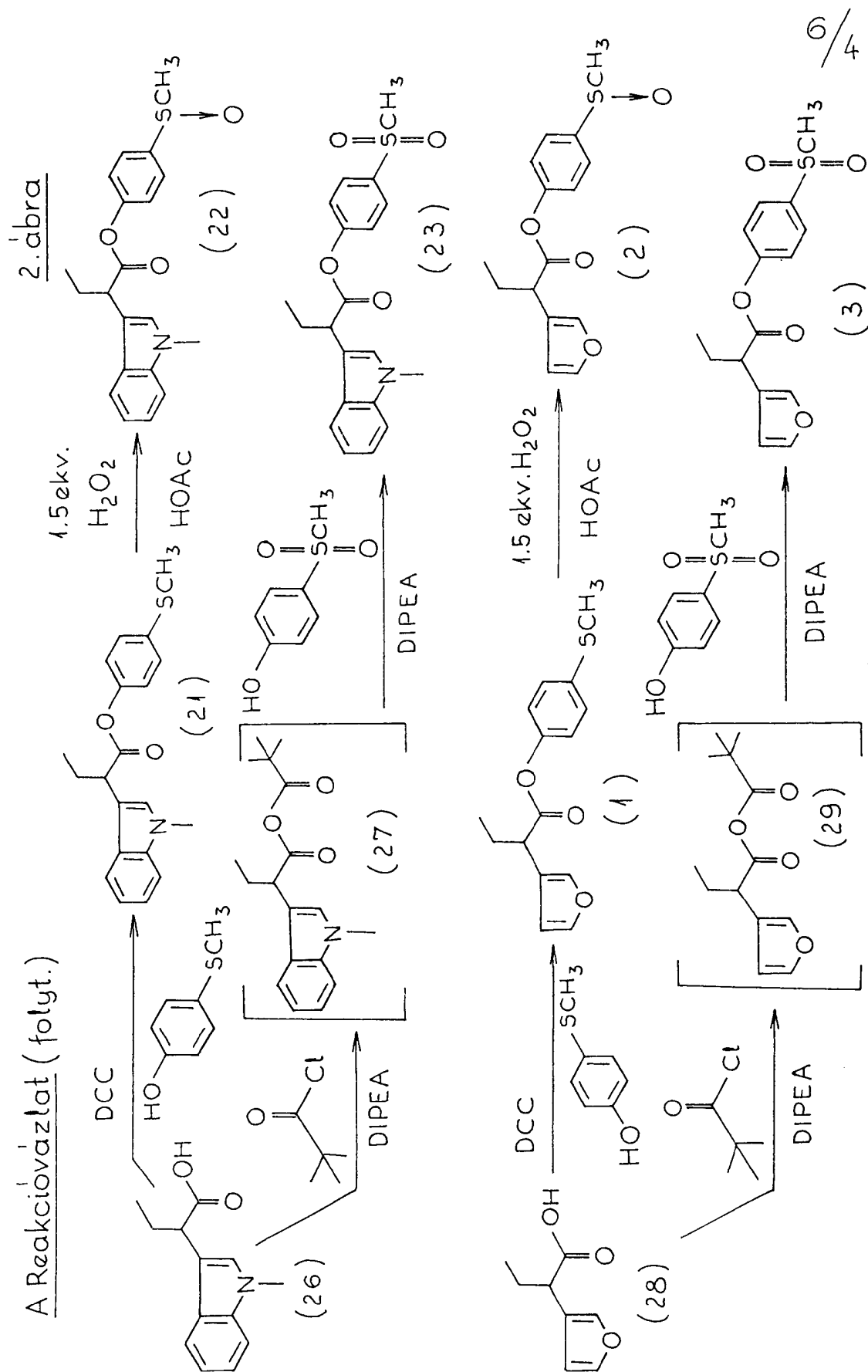


(XI)

A Reakcióvázlat

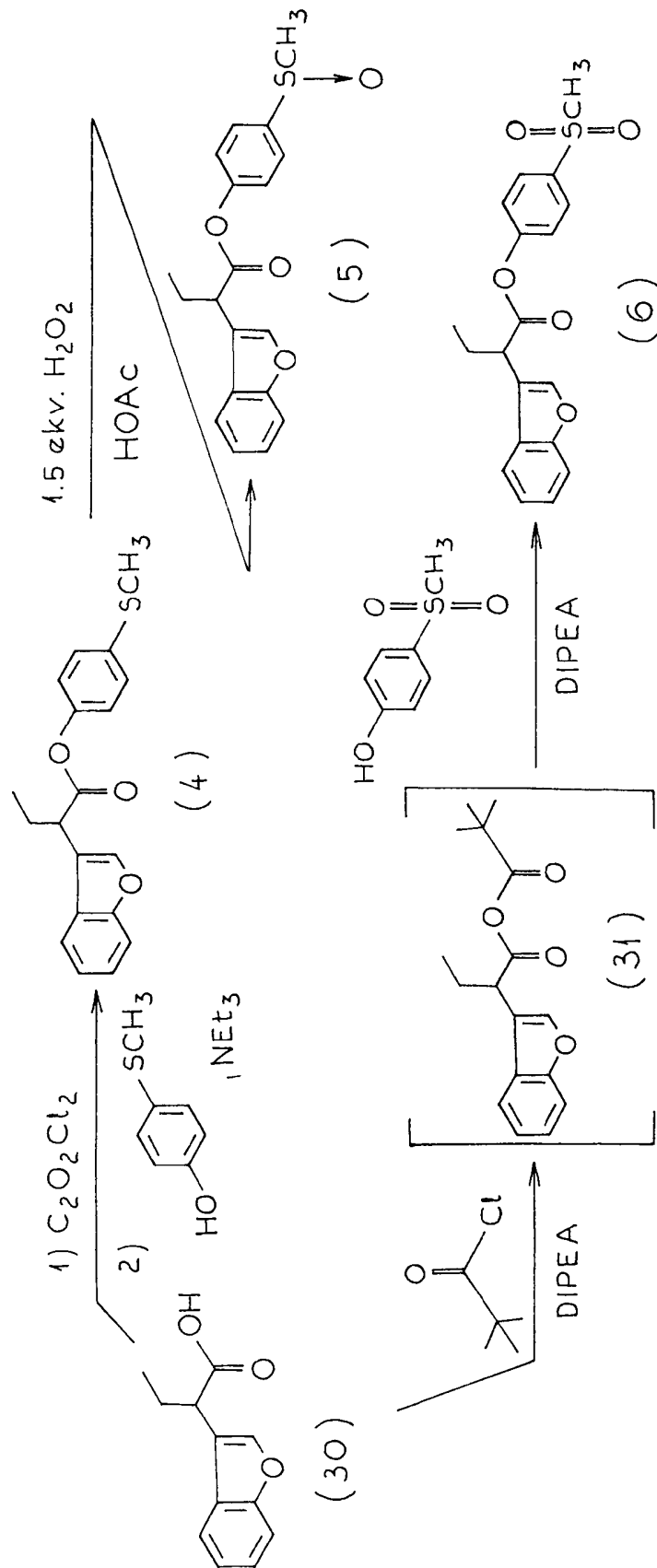


A Reakcióvázlat (folyt.)



A Reakcióvázlat (folyt.)

3. ábra



B Reakcióvázlát

