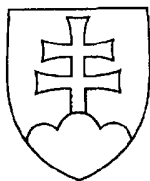


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

## PATENTOVÝ SPIS

- (21) Číslo prihlášky: **1141-96**  
(22) Dátum podania prihlášky: **30. 1. 1995**  
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **9. 1. 2003**  
Vestník ÚPV SR č.: **1/2003**  
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **08/207 330, 08/351 611**  
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **7. 3. 1994, 12. 12. 1994**  
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US, US**  
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **5. 3. 1997**  
Vestník ÚPV SR č.: **03/1997**  
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **6. 12. 2002**  
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:  
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/US95/01275**  
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO95/24408**

(11) Číslo dokumentu:

# 282 962

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>:

**C07D 495/04**  
C07D 498/04  
C07D 513/04  
A61K 31/55  
A61P 7/00  
A61P 31/00  
/(C07D 495/04,  
C07D 333:00,  
C07D 243:00)  
(C07D 498/04,  
C07D 267:00,  
C07D 209:00)  
(C07D 498/04,  
C07D 333:00,  
C07D 267/00)  
(C07D 513/04,  
C07D 333:00,  
C07D 281:00)

(73) Majiteľ: **WARNER-LAMBERT COMPANY, Morris Plains, NJ, US;**

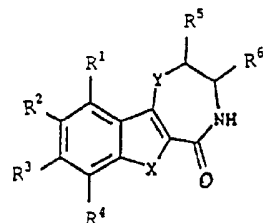
(72) Pôvodca: **Boschelli Diane Harris, Plymouth, MI, US;**  
**Connor David Thomas, Ann Arbor, MI, US;**  
**Kramer James Bernard, Sylvania, OH, US;**  
**Unangst Paul Charles, Ann Arbor, MI, US;**

(74) Zástupca: **Bušová Eva, JUDr., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Heterocyklická zlúčenina, farmaceutická kompozícia na jej báze a jej použitie**

(57) Anotácia:

Heterocyklická zlúčenina všeobecného vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľné adičné soli s kyselinami, kde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  a  $R^4$  sú každý nezávisle H,  $C_{1-4}$ alkyl alebo  $C_{1-4}$ alkoxy;  $R^5$  a  $R^6$  sú každý nezávisle H alebo  $C_{1-4}$ alkyl; X je O  $S(O)_n$  alebo  $NR^7$ ; Y je O,  $S(O)_n$  alebo  $NR^8$ ;  $R^7$  je H alebo  $C_{1-4}$ alkyl;  $R^8$  je H alebo  $C_{1-4}$ alkyl; n je 0, 1 alebo 2, pričom keď X je NH, Y je NH a  $R^1$ ,  $R^3$  a  $R^4$  je H, potom  $R^2$  nie je metoxy alebo etoxy, a ak X je NH a Y je S, potom aspoň jeden z  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  a  $R^4$  nie je H. Farmaceutická kompozícia na báze týchto zlúčenín a ich použitie na výrobu liečiv na inhibíciu adhézie leukocytov na endoteliálne bunky, liečenie zápalových ochorení a liečenie infekcií HIV.



(I)

### Oblasť techniky

Vynález opisuje určité heterocyklické zlúčeniny, konkrétnejšie benzotiofény, benzofurány, indoltiazepinóny, oxazepinóny, diazepinóny a ich farmaceuticky prijateľné soli, ktoré sú použiteľné na zabránenie adhézie leukocytov do endotelu buniek.

Adhézia leukocytov k cievnemu endotelu vedie k vývoju chorobného zápalu.

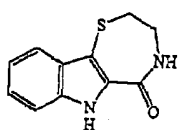
Adhéznemu procesu predchádza transendoteliálna migrácia leukocytov do okolia tkaniva s jej následným poškodením.

Zlúčeniny podľa vynálezu blokujú túto začiatočnú adhéziu interakciu a sú účinné pri liečení zápalových ochorení, ako je reumatoidná artritída, osteoartritída, astma a psoriáza.

Ďalšie indikácie nie sú obmedzené na úzkostlivý dýchací syndróm dospelých, reperfúzne poranenie, ischémiu, vredovitý zápal hrubého čreva, aterosklerózu, zápalové ochorenie a nádorovú metastázu.

### Doterajší stav techniky

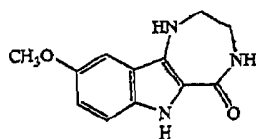
V publikácii Chemical Abstracts, zv. 105, č. 25, abstrakt č. 226266q (CA 105:226266q) sú opísané určité vazokonstriktory, vrátane zlúčeniny všeobecného vzorca (I), kde  $n = 1$ . Touto zlúčeninou je tinazolín. Tiež je opísaný celý rad iných derivátov 3-merkaptoidazolu, vrátane referenčnej zlúčeniny vzorca (VIII)



(VIII)

Zlúčenina vzorca (VIII) nepatrí do rozsahu zlúčení podľa tohto vynálezu a navyše pri nej nie je uvedená žiadna použiteľnosť. Jedinou zlúčeninou, ktorá má uvedenú užitočnosť, je zlúčenina vzorca (I). Citovaná publikácia CA 105:226266q neposkytuje odborníkovi žiadnu motiváciu na výber zlúčeniny vzorca (VIII) zo súboru deviatich zlúčení uvedených, ako základu na vývoj zlúčení účinných proti HIV podľa tohto vynálezu. Okrem toho typ účinnosti zlúčeniny vzorca (VIII) je celkom odlišný (vazokonstriktor), zatiaľ čo zlúčeniny podľa vynálezu sú inhibítory vírusu HIV. Tiež je možné si všimnúť, že všetkých deväť referenčných zlúčení uvedených v tomto dokumente je vždy substituovaných v indolovom jadre, zatiaľ čo, ak je zlúčenina všeobecného vzorca (I) podľa vynálezu indoltiazepinón, indolové jadro musí byť substituované, t. j. aspoň jeden z  $R^1$  až  $R^4$  nie je vodík.

Publikácia Chemical Abstracts, zv. 115, č. 21, abstrakt č. 232194n (CA 115:232194n) opisuje syntézu zlúčení všeobecného vzorca (II)



(II)

Pre túto referenčnú zlúčeninu nie je uvedená žiadna užitočnosť. Preto CA 115:232194n neposkytoval odborníkovi žiadnu motiváciu vybrať si zo všetkých publikovaných zlúčení práve zlúčeninu vzorca (II) ako základ na vývoj zlúčení podľa vynálezu na liečenie HIV.

Receptory adhézie sú zlúčené do troch hlavných čeladi: „selektíny“, „imunoglobulínová nadčelad“ a „Integríny“, (Nature, 346: 426 (1990)).

Členy všetkých troch skupín sú zahrnuté prostredníctvom adhézie leukocytov počas zápalu do tejto literatúry: Thrombosis and Homostasis 65 (3), 223 (1991), Clinical and experimental Allergy, 20: 619 (1990), Transplantation, 48: 727 (1989), Biochemical Pharm., 40: (8): 1683 (1990).

Endoteliálna leukocytová adhézia molekuly - 1 (ELAM - 1, alebo E - selektín) je členom selektínovej čelade glykoproteínov, ktorá podporuje adhéziu bunka - bunka.

E - selektín je rozšírený s maximálnym vyjadrením povrchu endoteliálnych buniek, 4 hodiny po stimulácii endoteliálnych buniek cytokínou, ako je interleukín - 1 (IL - 1), alebo nádorový nekrotický faktor  $\alpha$  (TNF -  $\alpha$ ), alebo ďalšie zápalové mediátory, ako je lipopolysacharid (LPS) (Pro. Nat. Acad. Sci., 84: 9238 (1987)).

Intercelulárna adhézna molekula - 1 (ICAM - 1) je členom imunoglobulínovej nadčelade. Je tiež medzou maximálneho vyjadrenia 12 - 24 hodín po podnete.

Bolo dokázané, že 4 hodiny potom sú endoteliálne bunky stimulované mediátorom zápalu, obidva E - selektín a ICAM - 1 sú prítomné v bunkovom povrchu (J. Clin. Invest., 82: 1746 (1988) a J. Immun., 137: 1893 (1986), Blood, 78: 2721 (1991)).

Benzotiofén, benzofurán a indoltiazepinóny, oxazepinóny a diazepinóny podľa tohto vynálezu sa prejavili ako inhibítory adhézie neutrofilného leukocytu pupočnej šnúry endoteliálnych buniek (HUVECs), stimulovanej TNF  $\alpha$  v postupe in vitro.

Tento vynález tiež opisuje nové tiazepinóny, oxazepinóny a diazepinóny určené na liečenie ľudí nakazených stratou imunity, vírusom HIV, pomocou inhibičnej aktivity HIV u latentne nakazených ľudí.

Patogenéza imunodeficiencie ľudí nakazených HIV je komplikovaná a doteraz nie je kompletne preštudovaná. Životný cyklus vírusu by mal byť teoreticky rozdelený na aferentné a eferentné zložky. Fúzia vírusu, viazanie vírusu, genetická transkripcia a konečná integrácia patria medzi javy so zameraním na aferentné zložky cyklu. Aferentnou zložkou životného cyklu vírusu HIV, ktorá je zodpovedná za primárnu infekciu HIV ako samostatná, je všeobecne následné prasknutie „virémia“ s alebo bez klinických príznakov.

Bolo vyvinuté množstvo terapeutických postupov a skúšok na zakročenie počas aferentných javov. Príkladom môže byť Mitsui H, Broder S, „Inhibition of the In Vitro Infectivity and Cytopathic Effect on Human T-lymphotropic Virus Type III/lymphadenopathy Virus - associated Virus (HTLV - III/LAV)- by 2,3-Dideoxynucleosides, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 83: 1911 - 1915 (1986), kde odlišné stavy aferentného komponentu sú často potenciálne pre účinný terapeutický zásah, keďže pri zrejmych príznakoch je zásah len z tohto hľadiska nedostatočný. Na začiatku infekcie HIV sú tieto stavy progresívne cez aferentné stavy. Individuálne skúsenosti predlžujú periódu klinickej latencie, ktorá môže trvať niekoľko rokov a môže byť iná u každého jedinca. Z tohto hľadiska je dosiahnutá nízka absencia hladín virémie a replikácie vírusu v periférnych krvných bunkách. Napriek tomu, v neskoršom štádiu choroby je eventuálne progresívna životná liečba imunosupresie (AIDS) problematická.

Eferentná zložka životného cyklu HIV zahŕňa tieto nevyhnutné javy pre provírus HIV na úspešný prepis, prenos hromadenia a produkciu viriónov. Tieto javy sú nevyhnutné, aby nastala HIV-infekcia buniek, progresia z asymptomatického nevyrazného stavu HIV do symptomatického

HIV výrazného stavu, kde je ukázaná ako aktivácia. Konkrétne eferentný komponent a bunková báza aktivácie nie sú preštudované.

Nové terapeutické činidlá a postupy, ktoré sú rozvíjané a implementované počas klinickej asymptomatickej fázy, v progresívnom boji proti AIDS, poskytujú nádej miliónom infikovaných, ale klinicky latentných indivíduí.

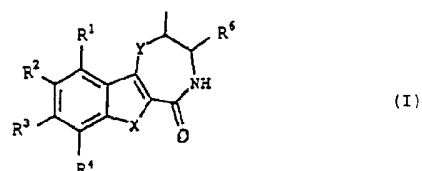
Kvôli účelnosti je ďalej uvedené vysvetlenie skratiek používaných v opise tohto vynálezu:

HIV = vírus humánnej imunodeficiencie  
 ELAM-1 = endoteliálna leukocytová adhézna molekula-1  
 E-selektín = názvoslovný ekvivalent pre endoteliálnu leukocytovú adhéznú molekulu 1  
 IL-1 = interleukín-1  
 TNF- $\alpha$  = faktor- $\alpha$  nekrozy nádorov  
 LPS = lipopolysacharid  
 Proc. Nat. Acad. Sci. = Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)  
 J. Clin. Invest. = Journal of Clinical Investigation  
 J. Immun. = Journal of Immunology  
 HUVEC a HUVECs = endoteliálne bunky ľudskej umbilicálnej žily  
 HTLV-III/LAV = asociovaný vírus ľudskeho T-lymfotropického vírusu typu III a vírusu lymfadenopatie  
 AIDS = syndróm získanej imunitnej deficiencie  
 ICAM-1 = intercelulárna adhézna molekula-1  
 ESEL = stanovenie expzie E-selektín/HUVEC  
 EPTA = kyselina etyléndiaminotetraoctová  
 DMEM/2%BSA = Dulbeccom modifikované Eaglove médium obsahujúce 2 % hovädzieho sérového albumínu  
 Cat. No. = katalógové číslo  
 IgG = imunoglobulín G  
 DMSO = dimetylsulfoxid  
 IC<sub>50</sub>S = koncentrácia inhibítora vyvolávajúca 50 % inhibíciu  
 EBM = endoteliálne bazálne médium  
 EGF = epidermálny rastový faktor  
 S-EBM = doplnené endoteliálne bazálne médium  
 PBS = Dulbeccov fosfátom pufovaný roztok chloridu sodného  
 BSA = hovädzi sérový albumín  
 HBSS = Hankov rovnovážny soľný roztok  
 TNA = rekombinantný ľudský faktor- $\alpha$  nekrozy nádorov  
 HIV-1 = vírus-1 ľudskej imunodeficiencie  
 TPA = 12-O-tetradekanoylforbol-13-acetát  
 CD4 = zhluk 4 diferenciácií, čo je bunkový povrchový glykoproteínový receptor pre HIV  
 Biochem. Biophys. Res. Commun. = Biochemical and Biophysical Research Communications  
 NCDDG = National Cooperative Discovery Grant  
 FLT = 3'-fluór-3'-deoxytymidín  
 ECA = test používaný na stanovenie inhibície adhézie ľudských neutrofilov k TNF- $\alpha$ -stimulovaným endoteliálnym bunkám ľudskej umbilicálnej žily  
 ICAM/ESEL = test expzie ICAM-1/HUVEC a test expzie E-selektín/HUVEC  
 OM-10.1 = test s použitím bunkovej línie označenej OM-10.1 %inhib@30 $\mu$ M = percento inhibície pri 30 mikromolárnej koncentrácii inhibítora  
 IV = intravenózný  
 J. Pharm Pharmacol. = Journal of Pharmacy and Pharmacology  
 J. Med. Chem. = Journal of Medicinal Chemistry  
 J. Org. Chem. = Journal of Organic Chemistry  
 J. Heterocyclic Chem. = Journal of Heterocyclic Chemistry  
 Indian J. Chem. = Indian Journal of Chemistry  
 NaOMe = metoxid sodný  
 Boc a BOC = terc.butoxykarbonyl

Cbz - benzyloxykarbonyl  
 PG = chrániaca skupina  
 Proc. Nat. Acad. Sci. India = Proceeding's of the National Academy of Sciences, India  
 DBU = 1,8-diazabicyklo[5,4,0]undec-7-én  
 m-CPBA = m-chlórperoxybenzoová kyselina  
 PPA = kyselina polyfosforečná  
 LG = odstupujúca skupina  
 DMF = dimetylformamid  
 RaCo = Raneyho kobalt  
 THF = tetrahydrofurán  
 AcOH = kyselina octová N. F. = National Formulary  
 q. s. ad. = doplniť objem alebo hmotnosť potrebným množstvom do požadovaného celkového objemu alebo hmotnosti (q. s. = quantum sufficit)  
 D. C. = Dow Corning

### Podstata vynálezu

Predmetom tohto vynálezu je heterocyklická zlúčenina vzorca (I)



alebo jej farmaceutický prijateľné adičné soli s kyselinami, kde

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> sú každý nezávisle vodík, alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkoxy s 1 až 4 atómami uhlíka,  
 R<sup>5</sup> a R<sup>6</sup> sú každý nezávisle vodík alebo alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka,  
 X je O, S(O)<sub>n</sub> alebo NR<sup>7</sup>,  
 Y je O, S(O)<sub>n</sub> alebo NR<sup>8</sup>,  
 R<sup>7</sup> je vodík alebo alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka,  
 R<sup>8</sup> je vodík alebo alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka,  
 n je 0, 1 alebo 2,  
 s podmienkou, že  
 1. ak X je NH, Y je NH a R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> je H, potom R<sup>2</sup> nie je metoxy alebo etoxy a  
 2. ak X je NH a Y je S, potom aspoň jeden z R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> nie je H.

Pritomný vynález zahrnuje farmaceutické kompozície na inhibíciu HIV obsahujúce terapeuticky účinné množstvo zlúčeniny so vzorcem (I), uvedenej skôr, spoločne s farmaceuticky prijateľným nosičom.

Tretím aspektom tohto vynálezu je použitie uvedenej zlúčeniny vzorca (I) na výrobu liečiva na inhibíciu adhézie leukocytov na endoteliálne bunky, na liečenie zápalových ochorení a na liečenie infekcií HIV.

Termíny používané v definíciách pre zlúčeninu so vzorcem (I) podľa tohto vynálezu sú definované takto: Alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka a alkoxy s 1 až 4 atómami uhlíka je priamy alebo rozvetvený. Tieto skupiny zahŕňujú napríklad metyl, etyl, propyl, i-propyl, alebo ďalšie uvedené, ako sú (metyl)etyl, a t-butyl, alebo ďalšie, ako je 1,1-(dimetyl)etyl a podobné, napríklad metoxy, etoxy, i-propoxy alebo 1-(metyl)etoxo a podobné.

Halogén zahrnuje chlór, fluór, bróm a jód.

Zlúčeniny so vzorcem (I) sú schopné ďalej tvoriť farmaceuticky prijateľné adičné soli kyselín. Všetky tieto formy sú zahrnuté v tomto vynáleze.

Farmaceutický prijateľné adičné soli kyselín vzorca (I) zahŕňujú soli odvodené od anorganických kyselín, ako je napríklad kyselina chlorovodíková, dusičná, fosforečná, sírová, bromovodíková, jodovodíková, fluorovodíková, fosforečná a podobné, taktiež ako deriváty solí netoxických anorganických kyselín, ako je alifatická mono- a dikarboxylová kyselina, fenylom substituované alkanové kyseliny, hydroxyalkánové kyseliny, alkándiónové kyseliny, aromatické kyseliny, alifatické kyseliny a aromatické sulfónové kyseliny atď. Tieto soli sú sulfáty, pyrosulfáty, bisulfát, sulfít, nitrát, fosfát, monohydrogenfosfát, dihydrogenfosfát, metafosfát, pyrofosfát, chlorid, bromid, acetát, jodid, trifluoracetát, propionát, kaprilát, izobutyriát, oxalát, malonát, sukcinát, suberát, sebakát, fumarát, maleát, mandelát, benzoát, chlórbenzoát, metylbenzoát, dinitrobenzoát, ftalát, benzénsulfonát, toluénsulfonát, fenylacetát, citrát, laktát, maleát, tartrát, metánsulfonát a podobné. Tiež sú zahrnuté soli aminokyselín, ako je napríklad arginát a podobné a glukonát, galakturonát, N-metylglutamín (napríklad Berge S. M., a ostatný., *Pharmaceutical Salts, Journal of Pharmaceutical Science*. 66: 1 - 19 (1977)).

Adičné soli kyselín uvedených základných zlúčenín sú pripravované kontaktom voľných báz tvorených dostatočným množstvom požadovanej kyseliny s cieľom vytvoriť soli pomocou bežného spôsobu. Tvorba voľnej bázy môže byť obnovená kontaktom soli tvorenej bázou s bázou a izoláciou voľnej bázy konvenčným spôsobom. Tieto voľné bázy sú odlišné od ich tvorených solí vo fyzikálnych vlastnostiach, ako je rozpustnosť v polárnych rozpúšťadlách, ale ostatné soli sú ekvivalentné ich príslušným voľným bázam pre vlastnosti podľa tohto vynálezu.

Zlúčeniny podľa vynálezu môžu existovať v nerozpustnej forme, tak ako aj v rozpustnej forme, zahrnujúcej hydrátové formy. Všeobecne rozpustné formy zahrnujú v sebe hydrátové formy a sú ekvivalentné nerozpustným formám a nevybočujú z rozsahu tohto vynálezu.

Výhodnou zlúčeninou je zlúčenina vzorca (I) podľa tohto vynálezu, kde  $R^1$ ,  $R^2$  a  $R^4$  je vodík a  $R^3$  je definovaný skôr.

Výhodnejšie zlúčeniny podľa tohto vynálezu sú tie zlúčeniny vzorca (I), kde  $R^1$ ,  $R^2$  a  $R^4$  je vodík a  $R^3$  je vodík, alebo nižší alkoxy, X je O,  $S(O)_n$  alebo  $NR^7$ , Y je  $O(S)_m$ ,  $R^7$  je vodík alebo nižší alkyl a n je 0, 1 alebo 2.

Osobitne výhodné zlúčeniny sú tieto:

- 2,3-dihydro-9-metoxy-[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)-ón,
- 2,3-dihydro-[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5(4H)-ón,
- 2,3-dihydro-9-metoxy-[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)-ón-1-oxid,
- 3,4-dihydro-9-metoxy-6-metyl-2H-1,4-oxazepino[6,7-b]-indol-5(6H)-ón,
- 2,3-dihydro-1H-benzotieno-[3,2-e]-1,4-diazepin-5-ón,
- 2,3-dihydro-9-metoxy-1H-benzotieno-[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón,
- 2,3-dihydro-9-metoxy-6-oxid-1H-benzotieno-[2,3-f]-oxazepin-5-ón,
- 2,3-dihydro-9-metoxy-2-metyl-1H-benzotieno-[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón,
- 2,3-dihydro-7,8,9,10-tetrachloro-1H-benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón,
- 3,4-dihydro-8-nitro-6-terc.butyl-2H-1,4-oxazepin[6,7-b]indol-5(6H)-ón,
- 3,4-dihydro-9-izopropoxy-6-fenoxymetyl-2H-1,4-oxazepin[6,7-b]indol-5(6H)-ón hydrochlorid,
- 3,4-dihydro-8,10-dibromo-6-(3-chlorobenzyl)-2H-1,4-oxazepin-[6,7-b]indol-5(6H)-ón,

2,3-dihydro-8-chloro-1H-benzofurano[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón,

2,3-dihydro-1,2,3-trimetyl-1H-2,3-dihydro-3-hexyl-1H-benzofurano[2,3-f]-1,4-tiazepin-5-ón.

Ak určíme bunkovú adhéziu inhibíciu alebo inhibítor aktivácie HIV, ktorý je indikovaný, pomocou „inter alia“ pri zvláštnych podmienkach, ako je vek, pohlavie, hmotnosť a podobne, liečeného objektu, musí to byť zobrazené do úvahy a na tieto odlišnosti si musí dať ošetrujúci lekár pozor.

Pri lekárskom použití dosiahneme terapeutický účinok pri použití potrebného množstva zlúčeniny vzorca (I) alebo farmaceuticky vhodných adičných solí kyselín, vzhľadom na úpravu obidvoch zo zvláštnych zlúčenín, cestou podávania cicavcom, ktorí sa liečia a najmä liečia z porúch kombinovaných chorôb.

Výhodná realizácia vynálezu poskytuje spôsob liečenia bolesti u ľudí trpiacich zápalovými chorobami, akou je napríklad artritída, alebo nádorovými chorobami, zahrnujúci podávanie antizápalovo účinného množstva látky subjektu, ktorý je liečený. Vhodná dávka zlúčeniny vzorca (I) alebo farmaceuticky prijateľných adičných solí kyselín pri podávaní proti bolestiam alebo podobným problémom pre cicavce, pri podmienkach tu opísaných, je 0,1 mg až 500 mg na kilogram telesnej hmotnosti. V prípade systematického podávania dávka môže byť v rozmedzí od 0,5 do 500 mg na kg telesnej hmotnosti, výhodnejšia dávka je od 0,5 do 500 mg/kg telesnej hmotnosti cicavca, ktorému sa táto podáva dvakrát alebo trikrát denne. V prípade topického podávania, to znamená na kožu, alebo do očí, vhodná dávka môže byť v okolí 0,1 ng až 100 mikrogramov zlúčeniny na kilogram, typicky okolo 0,1 mikrogram/kg.

V prípade orálnej dávky pri liečení alebo profylaxii artritídy alebo zápalu, je v tomto prípade vhodná dávka zlúčeniny vzorca (I) alebo fyziologicky prijateľnej adičnej soli kyselín, podávaná podľa uvedených dávok, alebo výhodnejšie od 1 mg do 10 mg zlúčeniny na kg, výhodnejšia dávka je od 1 do 5 mg na kg telesnej hmotnosti pre cicavce, napríklad od 1 do 2 mg/kg.

Zo štúdií vyplýva, že priemernému odbornému lekárovi alebo veterinárovi nerobí žiadne problémy stanoviť a predpísať účinné množstvo zlúčeniny na podmienky, pri ktorých sa uskutočňuje určené liečenie. Takýmto spôsobom by sa mohol zaoberať lekár alebo veterinár a predpísať prvú pomerne nízku dávku a prípadne ďalej ju zvyšovať podľa získanej reakcie pacienta.

Je možné podávať aktívne prímеси samostatne, výhodne v prítomnosti ako farmaceutickú formuláciu obsahujúcu zlúčeninu vzorca (I), alebo jej farmaceuticky prijateľné adičné soli kyselín a ich farmaceuticky prijateľné nosiče. Takéto formulácie tvoria ďalšiu črtu tohto vynálezu.

Formulácia určená na veterinárne aj medicínske ciele podľa tohto vynálezu obsahuje aktívnu prímесь v spojení s farmaceuticky prijateľným nosičom a optimálnymi farmaceutickými ingredienciami.

Pod pojmom „prijateľný“ nosič je mienené, že tento nosič je zlučiteľný s ďalšími prímесami formulácií a nie je zhubný pre príjemcu.

Formulácie zahrnujú tiež formy určené na orálne, pulmonálne, oftalmické, rektálne, parenterálne (zahrnujúce subkutánne, intramuskulárne a intravenózne), intraartikulárne, topické, nazálne alebo bukálné podávanie. Takéto formulácie sú preštudované a zahrnujú známe formulácie z techniky s dlhým časom pôsobenia.

Formulácie môžu byť obvyčajne prítomné v jednotkovej dávkovej forme a môžu byť pripravené pomocou niektorých dobre známych metód z doterajšieho stavu techniky

známeho vo farmácii. Všetky metódy môžu zahŕňať krok obsahujúci aktívnu prímies v spojení s nosičom, ktorý je zložený z jednej alebo viacerých vedľajších prímiesi. Formulácie sú jednotne pripravované s rovnomerne rozvrhnutými prímiesami, v spojení s vodným nosičom alebo s deľným čistým nosičom, alebo s obidvoma a potom, ak to je nutné, tvarovaním produktu do požadovaných formulácií. Formulácie podľa tohto vynálezu vhodné pri orálnom podávaní môžu byť vo forme diskretných jednotiek, ako sú kapsuly, obličky, tablety alebo pastilky a každá jednotka obsahujúca dopredu určené množstvo aktívnej látky vo forme prášku alebo granúl, vo forme roztoku alebo suspenzie, vo vodnom alebo v nevodnom roztoku alebo vo forme emulzie olej vo vode alebo voda v oleji. Aktívne prímiesi môžu byť vo forme veľkých piluliek, masťičky alebo pasty.

Užitočnosť zlúčeniny podľa vynálezu ako inhibítora cievej adhézie cievného endotelu a teda pri liečení chorôb zápalových alebo im príbuzných, alebo podmienky, pri ktorých môže byť ukázaná ich účinnosť v rôznych štandardných testoch, sú uvedené ďalej. Opis jednotlivých testov a ich výsledky sú uvedené ďalej.

Protokol intercelulárnej adhézie Molekula - 1 / HUVEC  
Výsledky skúšky (ICAM - 1) a E - Selektín / HUVEC

Výsledky skúšok (ESEL)

Bunková látka

Endoteliálne bunky ľudskej pupočnej šnúry (HUVECs) z klonu boli odobraté v T-25 tkanivovej kultúry do fľaše, v ktorej je umožnené pestovať bunkovú kultúru počas 1 - 3 dní pri teplote 37 °C a prístupe 5 % oxidu uhličitého. HUVECs boli potom rozdelené pomocou vyplachovania T-25 10 ml 0,0025 % trypsínom/0,01 % EDTA počas 5 - 10 sekúnd, vliaty do vyplachovacieho roztoku. Ďalších 10 ml trypsín/EDTA roztoku bol pridaný a bunky boli trepané počas 2 - 4 minút. Trepano sa na strane nádoby gumovým štetčekom. Obsah nádoby bol potom vliaty do 50 ml odstredivky obsahujúcej 40 ml média. Médium bolo endoteliálne bazálne médium dosiahnuté z klonu obsahujúceho hydrokortizón (2 mg/l), epidermálnu rastovú zložku (0,05 mikrogram/l), extrakt hovädzieho mozgu (12 mg/l) a zahriate inaktivované mozgové telacie sérum (6 %) z Hyklonu. Bunky boli odstreďované pri 15 °C počas 10 - 15 minút, pod hladinou sušené a resuspendované čerstvým médiom. Bunky boli rovnakým spôsobom dvakrát premyté a potom rozdelené do 96 zdravých tkanivových doštičkových kultúr.

Stimulácia Cytokínu

Počas piatich dní došlo k zhukovaniu buniek, ktoré boli stimulované nádorovým nekrozovým faktorom alfa (TNF $\alpha$ ) (Genzym), ktorý bol získaný pomocou konečného skoncentrovania prostredia 140 U/ml a umožnil inkubovať počas 4 hodín pri 37 °C. Po 4 hodinách inkubácie médium bolo odstránené a uskladnené kvôli analýze chemokinetikkej produkcie. Bunky boli potom trikrát premyté voľným vápnikom a horčíkom a fosfátovým tlmiacim soľným roztokom. Monokultúry boli potom fixované prídavkom 10 % tlmiaceho formalinového kúpeľa počas 15 minút. Po tomto fixovaní boli bunky trikrát premyté „Dulbecco s Eagle Media“ (Gibco) s obsahom 2 % hovädzieho albumínového séra (DMEM/2 % BSA) a chladené cez noc.

ELISA

Myšacia monoklonálna anti-human ICAM - 1 (R a D Systems, Cat No. BBA - 4), alebo myšací monoklonálny

anti-human E-selektín (R a D Systems, Cat No. BA - 2) rozpustený v DMAM/2 % BSA bol pridaný do každej bunky v množstve 0,5 mikrogram/ml a ďalej inkubovaný počas 2 hodín. HUVEC monokultúra bola potom štyrikrát premytá DMEM/2 % BSA. Konjugovaná ovčia peroxidáza anti-mousse IgG (Cappel) bola pridaná (1 : 3000 rozpúšťadla) a bola ďalej inkubovaná 1 hodinu pri 37 °C. Bunky boli potom 4 x premyté DMEM. Potom bol pridaný farebný reagent (Biorad) do takto fixovaných buniek a tieto bunky boli inkubované 15 minút pri izbovej teplote. Reakcia bola zastavená pomocou 2 % roztoku šťaveľovej kyseliny a absorbanca bola 414 nm na „tetertekovom“ doskovitom snímači.

Testovanie zlúčeniny

Zlúčenina bola rozpustená v DMSO s koncentráciou 30 mmol a zriedená v nosiči na konečnú testovaciu koncentráciu. HUVECs prijali zlúčeninu rozpustenú v médiu 30 minút pred TNF $\alpha$  testovaním. Absorbancia nestimulovaných HUVECs bola odčítaná z absorbančnej hodnoty a dopredu stimulovaných buniek TNF $\alpha$  a bolo určené % inhibície. Percento inhibície bolo určené porovnaním absorbancie pridaných zošľachtených buniek so zošľachtenými bunkami v liečive. IC<sub>50</sub> bolo stanovené pomocou lineárnej regresívnej analýzy.

Spôsob určenia inhibície ľudskej adhézie TNF $\alpha$  stimulovaných ľudských endoteliálnych buniek (ECA) v pupočnej šnúre

Bunková kultúra

Druhý diel HUVEC (Clonetics Corporation, San Diego, California, CC -26 17) bol rozosiaty do „korningových“ (Corning glass works, Corning New York) 96 zdravých bunkových kultúr v pomere približne 5 x 10<sup>3</sup> buniek/zdravé a dospelé zhuky v doplnenom endoteliálnom bazálnom médiu (EBM, MCB - 131, Clonetics, 10 ng/ml EGF, 1 mikrogram/ml hydrokortizónu, 0,4 % hovädzieho mozgového extraktu, 5 % plodového hovädzieho séra). Jeden pred skúškou, typicky tri dni pred skúškou boli rozosievané kultúry, kde boli priradené 0,2 ml/zdravé doplnené EBM (S-EBM).

Príprava testovaných zlúčenín

Testovaná zlúčenina bola pripravená ako 10 ml zásobný roztok s koncentráciou 1,0 mmol. Zlúčeniny boli na začiatku rozpustené v 0,1 ml DMSO a potom bolo pridaných 9,9 ml S-EBM. Pripravené liečivo bolo potom zriedené v jednom kroku a skoncentrované na 66,6 mikrom. Rozpustenie a zriedenie bolo uskutočnené v polystyrénových nádobách.

Stimulácia HUVEC

Rekombinantný ľudský nádorový nekrozový faktor alfa (TNF, Genzyme Boston, Massachusetts, code TNF-H) bol pripravený v 400 U/ml v S-EBM. Zásoba TNF bola pripravená z 20 000 U/ml v Delbecco vo fosfátovom pufrí soľného roztoku. (PBS, Gibco, Grand Island, New York) s 0,1 % BSA a uskladnený pri -70 °C. HUVECs boli premyté raz s 0,2 ml zahriateho 0,2 ml zahriateho bez prídavku EBM a potom stimulované počas 4 hodín 200 U/ml za prítomnosti 233,3 mikrom testovanej zlúčeniny. Nakoniec stimulácia bola dokončená prídavkom 0,1 ml 400 U/ml TNF a 0,1 ml 66,6 mikrom testovanej zlúčeniny. Tento prídavok bol uskutočnený pomaly, aby nedošlo k roztrhaniu HUVEC monovrstvy. Každá zlúčenina bola testovaná v šiestich kúpeľoch. Nestimulované (riadiaci roztok) a TNF stimulova-

né HUVECs bez testovanej zľúčeniny boli tiež vložené na každú misku.

#### Označenie neutrofilov

Jednu hodinu pred pridaním neutrofilov do HUVEC, neutrofil (5 x 10<sup>6</sup> ml) bol označený počas 30 minút pri teplote 37 °C 5mikrom kalcein-AM (Molecular Probes, Eugene, Oregon) v Hanksovom pufrovacom soľnom roztoku s 0,45 % BSA. Zásoba kalceínu bola pripravená s 5mM anhydridu DMSO a usušený bol skladovaný pri -20 °C. Nakoniec boli inkubované bunky premyté dvakrát chladným HBSS a resuspendované na konečnú koncentráciu 1 x 10<sup>6</sup> buniek/ml v doplnenom EBM.

#### Prídavok neutrofilov do HUVEC

Nakoniec po 4 hodinách stimulácie boli okamžite pridané neutrofilové do HUVEC monovrstvy, plátky boli premyté 0,2 ml teplého EBM bez doplnenia a bol odstránený TNF a liečivo. Neutrofilové (1 x 10<sup>5</sup> buniek) boli pomaly pridávané do každej zo zošľachtených zdravých a inkubovaných plátok počas 30 minút pri 37 °C. Nakoniec boli inkubované plátky premyté dvakrát 0,2 ml horúceho EBM prídavku a nasledovalo konečné pridanie 0,1 ml na snímaný plátok.

#### Určenie relatívnej fluorescence

Relatívna fluorescence bola určená použitím Millipore Cytofluor 300 system (excitácia = 480, emisia = 530, citlivosť = 4).

#### Výpočet

Skúšky boli považované za platné, ak TNF-stimulácia HUVEC je výslednicou 300 % vzrastu neutrofilnej adhézie oproti adhézii nestimulovaných HUVECs. Výsledky boli vyjadrené ako percentá inhibície TNF-stimulovanej adhézie.

$$\% \text{ inhibície} = 100 - \frac{\text{stimulovaná adhézia - nestimulovaná adhézia (liečivo)}}{\text{stimulovaná adhézia - nestimulovaná adhézia (kontrol.)}}$$

Niektoré z týchto zľúčenín boli testované pri koncentráciách 33,3, 10,0, 3,3 a 0,1 mikroM a s cieľom určiť hodnotu IC<sub>50</sub>.

Pomocou lineárnej regresnej analýzy bola určená inhibičná hodnota, kde bolo použité určenie IC<sub>50</sub>.

Výsledky, ktoré boli dosiahnuté pre zľúčeniny podľa tohto vynálezu sú uvedené v tabuľke I.

Zľúčeniny podľa vynálezu, najmä zľúčeniny vzorca (I), mali zistenú inhibičnú aktivitu vírusu ľudskej imunodeficiencie (HIV) latentnej u cicavcov a sú používané na liečenie AIDS. Pokusy a štúdie virologických bunkových báz pre klinické asymptomatické periódou odhalili, že vírus HIV existuje ako latentný alebo nevyjadrujúci sa provírus, v množstve populácie chronicky infikovaných buniek. Mnohé výskumné projekty špecifických typov HIV a HIV-1 ukázali, že vírus existuje ako latentný alebo neprejavujúci sa provírus v mnohých populáciách chronicky infikovaných T-lymfocytových buniek. Presnejšie detaily sú spojené s nukleárnym a biochemickým mechanizmom zodpovedným za údržbu vírusu, ktorý sa neprejavuje, no napriek rozsahu článkov sa nezistili detaily niekde inde (Mechamisms of HIV-1 Latenc, Bednarik a ostatní., AIDS 6: 3 - 16 (1992)). Ešte nedávno sa verilo, že HIV bol latentný, alebo sa neprejavoval vo všetkých zásobníkoch populácie, alebo chronicky infikovaných buniek počas klinickej asymptomatickej periódou. Sledovaním nízkej hladiny virémie a replikácie

vírusu v periférálnych krvných bunkách sa prišlo k dojmu, že HIV ochorenie nebolo aktívne počas klinickej asymptomatickej periódou. Tím vedcov mal odhaliť, že skutočný stav mikrobiologickej latentnej dávky neexistuje počas HIV infekcie (Fauci A. S., a ostatní, HIV Infection is Active and Progressive in Lymphoid Tissue During the Clinically Latent Stage of Disease, Nature 362: 355 - 358 (1993).

Vedci určili dichotómiu medzi hladinou vírusového zaťaženia a replikáciou vírusu v periférálnej krvi oproti lymfoidným orgánom počas klinickej latencie. Základom týchto zistení bolo to, že vedci mali sledovať, že: „periférálna krv nie je obsiahnutá a neodráža sa na aktuálnom stave choroby HIV, najmä v skorom klinickom štádiu infekcie HIV. Skutočnosť, že choroba HIV je aktívna a progresívna, dokonca keď je malá evidencia aktivity choroby a presne odmerané parametre vírusu v periférálnej krvi a pacient sa cíti klinicky latentný“.

Stav choroby HIV nevyhnutne postúpi z klinickej latentnej asymptomatickej periódou do expresívnej a aktívnej asymptomatickej periódou. Pomocou užitia niekoľkých rôznych modelov, štúdiu celulárnej cesty poškodených HIV aktiváciou z laboratórnej latentnej, sa vírus začne odhaľovať. Podľa Butera, a ostatných, AIDS 6: 994 (1992), môžu byť celulárne modely latentne indukované a vyjadrené HIV-1 pod liečením cytokínou. Bolo zistené, že stav mikrobiologickej latencie HIV-1 očakáva extracelulárnu stimuláciu pred iniciáciou replikácie. Tento signál nemôže byť len sprostredkujúci, aj keď rozpustná cytokinetická interakcia s týmto receptorom sa uskutočňuje tiež cez receptor - receptorové interakcie, ktoré sa uskutočnia počas komunikácie medzi bunkami alebo bunkovým stresom, ako je UV žiarenie a tepelný šok. Ďalej môže byť generovaný extrabunkový signál v autokrinovom alebo parakrinovom stave tak, že aktivované bunky môžu rozširovať vlastnú aktiváciu latentnej vedľajšej bunky.

O ďalších faktoroch by malo byť uvažované z doterajších skúseností z doterajšieho stavu techniky, ak dôjde k aktivácii vírusu HIV. Jedna štúdia ukazuje, že 12-O-tetradekanoyl-forbol-13-acetát (TPA) sprostredkuje znižovanie CD 4 regulácie a výskyt vírusu v HIV infikovaných bunkách (Hammato, a ostatní, Biochem. Biophys. Res. Commun., 164: 339 - 344 (1989)). Zaujímavé je, že Hammato tiež skúšal účinnosť potenciálnej proteínkinázy C inhibítorov staurosporínu, H-7 a UCN - 01 TPA - sprostredkuje CD4 znižovanie regulácie a rozšírenie výskytu vírusu HIV. Pokiaľ ide o staurosporín, bolo zistené, že je účinný TPA inhibítor pre obidva tieto postupy. Poškodená bunková cesta sprostredkuje aktivačný signál z plazmovej membrány do integrovaného vírusu. Výsledkom je vznik HIV-1, ktorý je viac-menej jasný. Nedávno boli zistené zľúčeniny, ktoré môžu predchádzať aktivácii latentného HIV, ktoré boli uvedené v National Cooperative Discovery Grant (NCDDG) (AIDS by Feorino, S. T. Butera, T. M. Folks, and R. F. Schinazi, November 3 - 7, 1991).

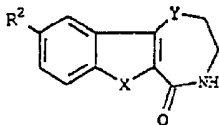
Ide o skúšky vyvinutého systému OM - 10,1 bunkového radu, jedinečného, chronicky infikovaného promyelocytického klonu, so zvyškom CD4+ až do HIV-1 aktivácie nádorovým nekrozovým faktorom  $\alpha$ . Vyras CD4+ v bunkovom povrchu a účinnosť reverznej transkriptázy boli použité na označenie kvantitatívneho vyjadrenia vírusu. Alternatívne ďalšie HIV vírusové označenie, ako je účinnosť proteázy, ktorá je známa odborníkom z doterajšieho stavu techniky, môže byť tiež použité. OM - 10,1 bunky so zvyškom CD4+ až do konca aktivácie vírusu zodpovedajú indukcií nádorového nekrozového faktora, a preto tieto kultúry sú používané ako konvenčné a rýchlo určiteľné farmakologiká pre schopnosť prevencie CD4+ znižovania mo-

dulácie (znižovania vo vyjadrení CD4+ bunkového počtu) a HIV-1 vyjadrenia.

Rôzne známe zlúčeniny, ktoré majú antivírusové vlastnosti proti akútne alebo chronicky infikovaným bunkám, boli určené pre svoju schopnosť inhibovať HIV vyjadrením v týchto OM-10,1 bunkách. Niekoľko zlúčenín interaguje s chemickou cestou a môže interferovať s reaktívnym procesom, ktorý je tiež podrobený skúške. Výsledky, vyhodnotenia boli uvedené v NCDDG/AIDS, San Diego, California, November 3 - 7 (1991). Medzi niektorými zo 48 zlúčenín, ktoré boli vyhodnotené, 3-fluoro-3-deoxytimidín (FLT), interferón Y a desferioxamín boli uvedené ako dobré inhibitory aktivity HIV-1.

Reprezentatívna zlúčenina vzorca (I) je 2,3-dihydro-9-metoxi-[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)-ón, ktorom je uvedená hodnota IC<sub>50</sub> na 0,21 mikromol inhibície v OM - 1,1 bunkách. (Tabuľka).

Tabuľka



2,3-Dihydro-9-metoxi[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)-ón

Pr.	R <sup>2</sup>	X	Y	ECA (IC <sub>50</sub> )	ICAM/ESSEL (IC <sub>50</sub> alebo %Inhib. @ 30 mikromol)	OM-10 (IC <sub>50</sub> mikromol)
1	OMe	S	S	5,2	3,1/1,3	0,21
2	H	S	O		42/40†	>30
3	OMe	NMe	O		14,7/14,2	
5	H	S	NH		64†/47†	
6	OMe	S	O		3,1/7,5	
7	OMe	S-O	O		30†/30†	
8	OMe	S	O (2-metyl)		3,8/5,3	

Zlúčeniny podľa vlnáreňu tiež vykazujú účinnosť v štandardnej skúške in vivo v miere ich schopnosti inhibovať neutrofný prísun a podľa ich využitia na liečenie zápalových stavov. Prvý test sa nazýva „Reverse Passive Arthus Pleurisy Assay, male outbred Wistar rats“ (220 - 245 g Charles River Laboratories) a prebieha počas 16 až 18 hodín. Rozpúšťadlo (1 : 1 etanol : soľný roztok), alebo zlúčenina podľa vlnáreňu rozpustená v rozpúšťadle boli podávané i. v. Zvieratá boli ľahko anestetizované éterom a boli im podané i. v. injekcie 2,5 mg volského albumínového séra BSA v soľnom roztoku. Bezprostredne nasledovala i. v. injekcia a bol vytvorený malý zárez medzi rebrami a 0,2 ml králičej igG frakcie anti-BSA (10 mg/ml v „Dulbecco so soľným fosfátovým pufrum (PBS)“ v PBS boli injektované do pohrudnicovej dutiny použitím orálnej dávkovacej ihly s mierkou 20. Zárez bol potom uzatvorený 9-mm svorkou z nehrdzavejúcej ocele, ktorá sa používa na uzatváranie rany. Po piatich hodinách boli zvieratá usmrtené oxidom uhličitým a dutina pohrudnice bola vypláchnutá 2 ml 0,325 % fenolového červeného roztoku v PBS. Výlučkový tlmieč bol odstránený z pohrudnicovej dutiny kvôli analýze. Svetlé krvné bunky (> 90 % neutrofilu) boli spočítané pomocou Kulterovho počítáča. Objem pleurálneho výlučku bol deľný pomocou farebnej dilučnej metódy, (Carter G. V., et al., J. Pharm. Pharmacol. 34: 66.67 (1982)). Skupiny liekov boli vybrané podľa liečebného rozpúšťadla a štatistického významu určených podľa Študentského T-testu.

Potom, ako boli zlúčeniny z príkladu 1 vyhodnotené pomocou uvedeného testu, boli zistené tieto inhibície:

Dávka (mg/kg)	Perc. inhib. výlučku	Perc. neutrofného influxu inhib.
0,3	40,5	18,6
1,0	28,4	8,9
3,3	28,2	15,9

V ďalšej skúške in vivo nazývanej Tioglykolátová indukcia neutrofilnej influxnej skúšky samíc Balb/c plemena myši, sú tieto uložené po skupinách v počte 7 s voľným prístupom k jedlu a vode s cieľom sledovania. Zvieratá sú orálne dávkované roztokom (0m5 % hydroxypropylmetylcelulózy s 0,2 % Twen 80), alebo zlúčeninou podľa vlnáreňu, rozpustenou alebo suspendovanou v rozpúšťadle. Jednu hodinu po orálnom podaní sú myši anestetizované inhaláciou dietyléteru a intraperitoneálnou injekciou 1,0 ml 3 % tioglykolátového nosiča v soľnom roztoku. Dve hodiny po tioglykolátovej injekcii sú zvieratá utratené udusením oxidom uhličitým a injektované 6 ml Dulbecco s PBS s obsahom 10 U/ml heparinu sodného a 0,1 % BSA. Pohrudnicová dutina je masírovaná a zárez je utvorený do dutiny a tekutina je plnená do 15 ml trubičiek. Časť je odstránená z každého zvieratá a celkový počet buniek v každej časti je počítaný pomocou „Coulter Counter“ (Model ZBi, Coulter Instruments, Hialeah, Florida). Druhá časť je odstránená na mikroskopické použitie, „Cytospin 2“ (Shandon Inc., Pittsburgh, Pennsylvania) ďalej napustená farbou (modifikované Wright s farbivo). Hematologický diferenciál je uskutočnený určením percent neutrofilov, ktoré majú extravazanciu z peritoneálnej dutiny.

Potom zlúčeniny z príkladu 1 boli vyhodnotené v tejto skúške a bola dosiahnutá 26,1 % inhibícia neutrofného influxu pre 10 mg/kg, 31,9 % inhibícia pre 30 mg/kg a 34,3 % inhibícia pre 100 mg/kg.

Zlúčeniny podľa vlnáreňu môžu byť pripravené pomocou týchto postupov.

Prvou všeobecnou požiadavkou sú východiskové látky, ktoré sú použité na výrobu a ktorými sú 3-hydroxy, tiol alebo aminobenzo(b)tiofén, benzofurán alebo indol-2-karboxylátový ester vzorca (I) (schéma 1). 3-Hydroxy-benzo(b) tiofén-2-estery sú pripravené, ako vyplýva z dokumentu (Connor D. T., et al., J. Med. Chem. 35: 958 (1992)), 3-tio-benzo(b)tiofén-2-karboxylátové estery sú pripravené pomocou analógov 3-chloroderivátov. (Connor D. T., et al., J. Med. Chem. 35: 958 (1992)) s tioacetamidom v prítomnosti zásady, ako je napríklad 1,8-diaza-bicyklo[5.4.0]-undek-7-én (DBU) a roztokom, ako je napríklad N,N-dimetylformamid alebo tetrahydrofurán. 3-Amino-benzo(b)tiofén-2-karboxylátové estery sú pripravené pomocou známej všeobecnej metódy (Beck J. R., J. Org. Chem. 37: 3224 (1972)). 3-Hydroxyindol-2-karboxylátové estery sú pripravené, ako vyplýva zo známej metódy, ktorou je P. C., et al., J. Heterocyclic Chem., 24 : 811 (1987) a Moyer M. P., et al., J. Org. Chem., 51: 5106 (1986). 3-Tioindol-2-karboxylát estery sú pripravené pomocou známych metód, ktorými sú Unangst P. C., et al., J. Heterocyclic Chem., 24: 811 (1987) a Atkinson J. G., et al., Synthesis 480 (1988) a Nagarajan K., et al., Indian J. Chem., 20 B: 672 (1981). 3-Amino-indol-2-karboxylátové estery sú pripravované pomocou známych metód, ako je napríklad Simakov S. V., et al., Khim. Fram. Zu. 17: 1138 (1983).

Konverzia zlúčeniny typu 1 na zlúčeniny podľa vlnáreňu je uvedená v schéme 1. Estery sú prevedené z α-halo-substituovaného acetonitrilového derivátu, ako je napríklad bromacetonitril, za prítomnosti zásady, ako je napríklad draselný t-butoxid v tetrahydrofuráne, acetonitril alebo dimetylsulfoxid, pri 0 - 80 °C na estery typu 2. Nitrilová sku-

pina je redukovaná na zodpovedajúci primárny amín a následný medziprodukt 3 je cyklizovaný laktámom 4. Výhodnou konverziou je hydrogenizácia 2 katalyzátorom Raney kobaltom v roztoku, ako je napríklad tetrahydrofurán, v prítomnosti zásady, ako je napríklad trietylamin pri zvýšenej teplote a tlaku. Pri týchto podmienkach dostávame 4 priamo z 2. Ak je medziprodukt 3 izolovaný cyklizáciou 4, tak sa táto uskutočňuje za prítomnosti zásady, výhodne NaOMe v metanole, alebo pri kyslých podmienkach, výhodne s polyfosforečnou kyselinou pri zvýšenej teplote.

Počas syntézy niektoré zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť, ak to je potrebné alebo požadované, premenené reaktívne skupiny, ako je hydroxy, amino alebo karboxy, na deriváty, ktoré budú chrániť od nechcených uvedených reakcií, ak je požadovaná reakcia nahradená niektorou ďalšou molekulou. Takéto hydroxy, amino a karboxyskupiny sú ochotne odstrániteľné pomocou konvenčných metód. Spoločné použitie chemických častíc, ktoré slúžia na ochranu reaktívnych skupín, ako je hydroxy, amino a karboxy a spôsob ich naviazania a ďalšieho odstránenia, sú opísané v Greene a Wuts v Protective groups in organics Synthesis, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1991.

Například 3-amino, 3-hydroxy alebo 3-tioindol, benzo-tiofén, (zlúčenina 1 v schéme 1) môžu reagovať s beta-haloetylénamínom, kde aminoskupina je chránená vhodnou ochrannou skupinou (PG) ako je t-butoxykarbonyl (Boc), alebo benzyloxykarbonyl (Cbz). Reakcia pri rovnakých podmienkach, ktoré sú opísané skôr, poskytuje zlúčeniny typu 5. Deprotekcia (to znamená odstránenie PG) z 5 pri štandardných podmienkach, to znamená trifluóroctovú kyselinu alebo vodnú kyselinu na odstránenie BOC, alebo hydrogenolýza na odstránenie Cbz, poskytuje zlúčeninu typu 3, ktorá ďalej bude cyklizovaná, ako bude uvedené neskôr. Ďalším prístupom je reakcia zlúčeniny typu 1 s etylénamínom v alkoholovom rozpúšťadle, ktorá priamo poskytuje 3. (Nagarajan K., et al., Indian J. Chem., 20 B: 672 (1981).

Druhým všeobecným prístupom je (schéma 2) výroba zlúčenín typu 4 zo zodpovedajúceho 3-haloderivátu 6. Reakcia 6 s etyléndiamínom a oxidom meďnatým v rozpúšťadle, ako je napríklad pyridín, za prítomnosti zásady, ako je napríklad uhličitan draselný, poskytuje zlúčeninu typu 3, kde Y je NH (Hiremath S. P. et al., Proc. Nat. Acad. Sci., India, 60: 367 (1990). Reakcia 6 s kryštalickým aminos v rozpúšťadle, ako je napríklad dimetylformamid, za prítomnosti zásady, ako je napríklad DBU, poskytuje zlúčeninu 3, kde Y je S. Reakcia 6 s nitroetanolom v rozpúšťadle, ako je napríklad tetrahydrofurán, za prítomnosti zásady, ako je napríklad t-butoxid draselný, alebo hydrid draselný, poskytuje zlúčeninu typu 7. Ďalšou redukciou nitroskupiny na amín sa získa zlúčenina typu 3, kde Y je O. V niektorých uvedených prípadoch 3 nemôže byť izolovaná, ale 4 môže byť získaná priamo.

Tretím všeobecným prístupom (schéma 3) je tiež použitie 3-haloderivátov 6. 3-Haloderivát je prevedený primárnym aminos, ktorý obsahuje vhodnú chránenú amino, hydroxy, alebo tiolovú skupinu v beta-pozícii, s tvorbou amidovej skupiny a poskytuje medziprodukt 7. Deprotekcia a následná cyklizácia vedie k zlúčenine typu 4.

Tieto zlúčeniny typu 4, kde X je S a Y je O alebo NR môžu byť prevedené na zodpovedajúci sulfoxid, a/alebo sulfón 9, pomocou oxidačného činidla, ako je napríklad m-chlórperbenzoová kyselina (m-CPBA) alebo oxaziridín pri reakčných podmienkach určených rozsahom oxidácie (schéma 4). Pre tieto zlúčeniny typu 4, kde Y je S, pomocou podobnej oxidácie by mal byť dosiahnutý sulfoxid alebo sulfón typu 10.

Podmienky, ktoré sú opísané v schéme 1 cez 4 rozdielne, sú známe, alebo môžu byť ľahko určené z analogických reakcií známych odborníkovi z doterajšieho stavu techniky.

Pod označením „deprotekcia“ sa rozumie odstránenie ochranných skupín.

Schéma I

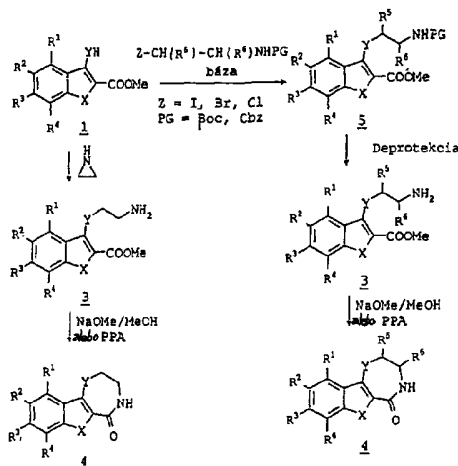
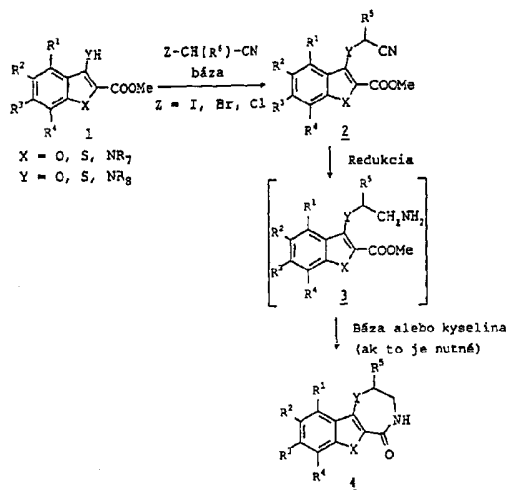


Schéma II

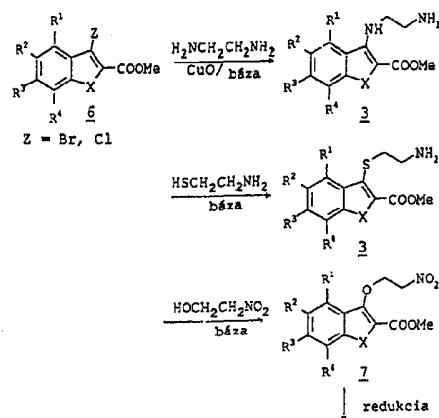


Schéma II - pokračovanie

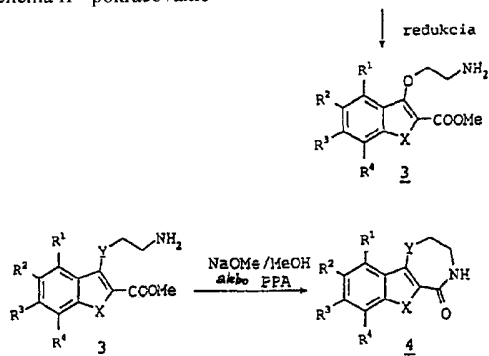


Schéma III

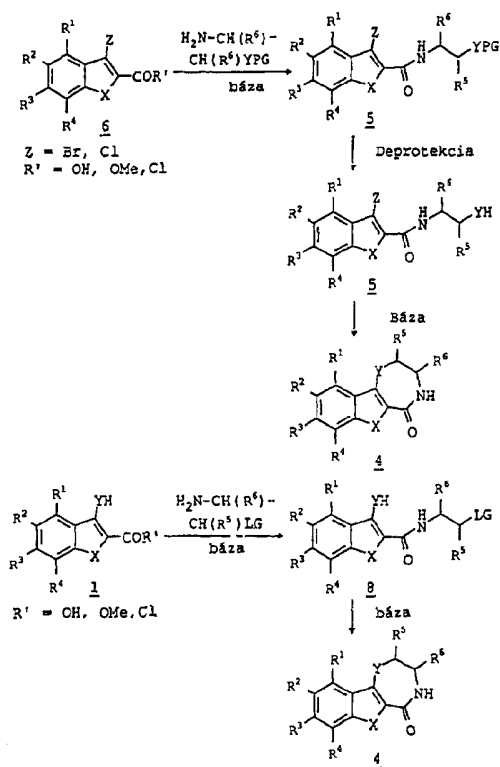
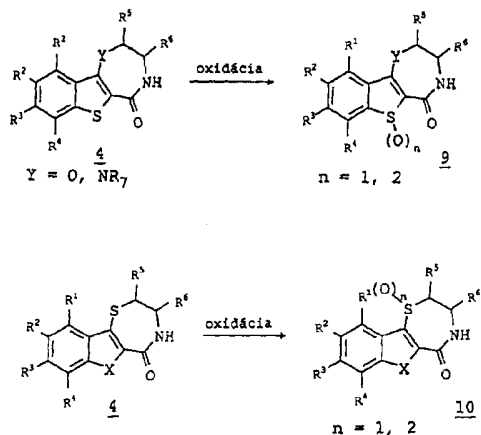


Schéma IV



## Príklady uskutočnenia vynálezu

Nasledujúce príklady sú len ilustratívne príklady prípravy zlúčenín podľa tohto vynálezu.

## Príklad 1

## 2,3-Dihydro-9-metoxyl[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)-ón

Do roztoku, ktorý má izbovú teplotu, 3-chloro-5-metoxibenzo(b)tiofén-2-karboxylátu (500 mg, 1,95 mmol) (pripraveného pomocou reakcie známeho 3-chloro-5-metoxibenzo(b)tiofén-2-karbonylchloridu s metanolom (J. Med. Chem., 35: 958 (1992))) v 20 ml DMF je pridaný cysteamín - HCl (885 mg, 7,79 mmol) a potom DBU (2,33 ml, 15,58 mmol). Reakčná zmes je miešaná pri izbovej teplote 1,5 hodiny, potom je zahriata na 70 °C. Zmes je rozpustená v etylacetáte a premytá vodným HCl, vodou a soľankou. Organická vrstva je sušená nad MgSO<sub>4</sub>, filtrovaná a koncentrovaná vo vákuu. Hrubý produkt je kryštalizovaný z hexánu a etylacetátu a poskytuje 2,3-dihydro-9-metoxyl[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)ón, 74 % výťažok, teplota topenia 209 - 209,5 °C.

## Príklad 2

## 2,3-Dihydro-[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5(4H)-ón

Zmes metylesteru 3-(kyanometoxy)-benzo(b)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (405 mg, 1,64 mmol) (J. Hetero. Chem., 12: 1037 (1975)), 0,5 ml Et<sub>3</sub>N a 0,50 g RaCo v 50 ml THF je zahrievaná na 100 °C pod 1200 psi vodíkom. Reakčná zmes je koncentrovaná vo vákuu. Elučná klonová chromatografia s gradientom 1 : 1 hexán : etylacetát k celkovému etylacetátu poskytuje 2,3-dihydro-[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5(4H)ón v 55 % výťažku, teplota topenia 244 - 245 °C.

## Príklad 3

## 2,3-Dihydro-9-metoxyl[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)-ón-1-oxid

Zmes 2,3-dihydro-9-metoxyl[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)ón (200 mg, 0,75 mmol) a NaBO<sub>3</sub> · 4 H<sub>2</sub>O (116 mg, 0,75 mmol) v 18 ml AcOH je miešaná pri izbovej teplote cez noc. Reakčná zmes je prefiltrovaná a 60 ml vody je pridaných do filtrátu. Filtrát poskytuje 2,3-dihydro-9-metoxyl[1]benzotieno[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)ón-1-oxid s výťažkom 69 % a teplota topenia je 244 - 245 °C.

## Príklad 4

## 2,3-Dihydro-9-metoxyl-6-metoxyl-2H-1,4-oxazepino[6,7-b]-indol-5(6H)-ón

## A. Metyl 3-(kyanometoxy)-5-metoxyl-1-metyl-1H-indol-2-karboxylát

Suspenzia draselného terc.-butoxidu (3,2 g, 29 mmol) v 60 ml dimetylsulfoxidu je spracovaná po častiach metyl 3-hydroxy-5-metoxyl-1-metyl-1H-indol-2-karboxylátom (5,6 g, 24 mmol, Unangst P. C., et al., (J. Heterocyclic Chem., 24: 811 (1987))). Zmes je miešaná počas 15 minút a potom je pridaný chlóracetónitril (4,8 ml, 57, g, 76 mmol) po kvapkách. Zmes je zahriata na 80 °C počas 90 minút, chladená a je pridaných 800 g ľadu a vody. Pevný precipitát je prefiltrovaný, premytý 10 % metanolom vo vode a rekryštalizovaný z vodného acetonitrilu a dáva 3,9 g (60 %) produktu, teplota topenia 136 - 137 °C.

B. Zmes metyl 3-kyanometoxy-5-metoxyl-1-metyl-1H-indol-2-karboxylátu (0,60 g, 2,2 mmol) a trietylamínu (0,40 ml, 0,29 g, 2,9 mmol) v 35 ml tetrahydrofuránu v tlakovej re-

akčnej nádobe je spracovaná Raney kobaltovým katalyzátorom (0,40 g). Reaktor je natlakovaný vodíkom (590 psi) a zahrievaný na 80 °C počas 10 hodín. Schladená zmes je filtrovaná a filtrát odparený. Olejový zvyšok je rozpustený v 50 ml metanolu a metoxid sodný (0,8 g, 15 mmol) je pridaný do roztoku. Zmes je pri refluxe počas troch hodín, potom je ochladená a odparená. Zvyšok je rozdelený medzi 75 ml etylacetátu a 150 ml soľanky. Vodná vrstva je niekoľkokrát extrahovaná čerstvým etylacetátom. Zlúčené organické vrstvy sú premyté soľankou, sušené (bezvodý sulfát sodný) a odparené. Zvyšok hrubého produktu je čistený bleskovou chromatografiou (silikagél, 5 % metanol v elučnom dichlórmetáne) a poskytuje výťažok 0,18 g (33 %) produktu. Vzorka rekryštalizuje z etylacetát-hexánu a má teplotu topenia 184 - 186 °C.

#### Príklad 5

##### 2,3-Dihydro-1H-benzotieno [2,3-e]-1,4-diazepin-5-ón

Metylesterhydrochlorid 3-(2-aminoethylamino)-benzo(b)tiofén-2-karboxylovej kyseliny

Roztok 2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)benzotolu (1,00 g, 5,62 mmol) (Justus Liebigs Ann. Chem. 11: 1994 (1975)) a chlórmetylacetátu (610 mg, 5,62 mmol) v 15 ml metanolu je zahrievaný pod spätným chladičom počas 90 minút. Reakčná zmes je ochladená na izbovú teplotu a prefiltrovaná. Filtrát je skoncentrovaný a sušený, zvyšok je rozpustený v horúcom chloroforme. Po niekoľkých hodinách je výsledný precipitát ochladený a sušený. Materský lúh poskytuje kryštály metylesterhydrochloridu 3-(2-aminoethylamino)-benzo(b)tiofén-2-karboxylovej kyseliny s celkovým výťažkom 61 %, teplota topenia 219 - 220 °C.

##### 2,3-Dihydro-1H-benzotieno [3,2-e]-1,4-diazepin-5-ón

Roztok metylesteru hydrochloridu 3-(2-aminoethylamino)-benzo(b)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (339 mg, 1,18 mmol) a čerstvo pripraveného metoxidu sodného (od 134 mg, 2,48 mmol sodíka) v 5 ml metanolu je zahrievaný pod spätným chladičom počas 18 hodín. Po schladení je reakčná zmes neutralizovaná 25 ml 1N HCl a chladená na 0 °C počas 1 hodiny. Výsledný žltý kryštalický materiál je filtrovaný a sušený vo vákuu pri teplote 60 °C niekoľko hodín a poskytol 2,3-dihydro-1H-benzotieno[3,2-e]-1,4-diazepin-5-ón v 64 % výťažku. Elučná chromatografia s gradientom 2 % metanolu v etylacetáte poskytuje analyticky čistý 2,3-dihydro-1H-benzotieno[3,2-e]-1,4-diazepin-5-ón s teplotou topenia 210 - 212 °C.

#### Príklad 6

##### 2,3-Dihydro-9-metoxy-1H-benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón

Metylester hydrochlorid 3-kyanometoxy-5-metoxy-benzo(b)tiofén-2-karboxylovej kyseliny

Do roztoku, ktorý má izbovú teplotu, 3-hydroxy-5-metoxy-benzo(b)tiofén-2-karboxylátu (1,00 g, 4,2 mmol) (Connor, et al., J. Med. Chem., 35: 959 (1992)) v 20 ml DMSO je pridaný t-butoxid draselný (494 mg, 4,41 mmol) a potom brómáconitril (878 mikrolitrov, 12,58 mmol). Zmes je miešaná pri izbovej teplote počas 1,5 hodiny a čistená v etylacetáte a 1N HCl. Organická vrstva je premytá 1N HCl a potom niekoľkými časťami soľanky a sušená na MgSO<sub>4</sub>. Následnou filtráciou zvyšku roztoku vo vákuu a rekryštalizáciou zvyšku z etylacetátu : hexánu dostaneme 4123 mg. Adičný výťažok 112 mg môže byť získaný z materského lúhu, s teplotou topenia 159,5 - 160 °C.

##### 2,3-Dihydro-9-metoxy-1H-benzotieno [2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón

Roztok metylesteru kyseliny 3-kyanometoxy-5-metoxy-benzo(b)tiofén-2-karboxylovej (2,5 g, 9,0 mmol) v 50 ml THF je zahrievaný pod silným refluxom. Bóran dimetylsulfid (9,0 ml, 90,2 mmol) je rýchlo pridaný a nepretržite zahrievaný počas 25 minút s THF a ďalej je pridaný po odparení. Množstvo pridaného bóran dimetylsulfidu (4,0 ml) bolo pridané a priebežne miešané počas 10 minút. Reakčná zmes bola ochladená na 0 °C a 50 ml 6N HCl bolo opatrne pridaných. Vodíkový plyn je uvoľnený a teplota reakčnej zmesi rastie. Výsledný precipitát je schladený pomocou filtrácie, premytý vodou a sušený vo vákuu cez noc.

Pevná látka (2,3 g, 8,2 mmol) je pridaná do čerstvo pridaného roztoku metoxidu sodného (od 1,9 g, 82,0 mmol sodíka) v 40 ml metanolu. Reakčná zmes je zahriata na 50 °C počas 2 hodín a potom zahrievaná pod spätným chladičom počas 2 hodín. Po ochladení na izbovú teplotu je precipitát zachytený a premytý v chladnom metanole a potom v chladnom dietyléteri. Pevná vzorka je sušená vo vákuu cez noc a výťažok je 1,18 g (52 %). Analytická vzorka 2,3-dihydro-9-metoxy-1H-benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ónu je získaná rekryštalizáciou z etylacetátu : hexánu, teplota topenia 264 - 265 °C.

#### Príklad 7

##### 2,3-Dihydro-9-metoxy-6-oxid-1H-benzotieno[2,3-]1-1,4-oxazepin-5-ón

K suspenzii 2,3-dihydro-9-metoxy-1H-benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ónu (1,00 g, 4 mmol) v 100 ml vriaceho metanolu je pridaný 30 % peroxid vodíka (8,0 ml, 80 mmol) a potom dioxid selénu (445 mg, 4,01 mmol). Reakčná zmes je miešaná pri izbovej teplote počas 3 hodín a potom zahriata na 30 °C počas 1,5 hodiny a s následným zahrievaním na 40 °C počas 2 hodín. Reakčná zmes je ochladená na -40 °C a výsledný precipitát je oddelený filtráciou. Zvyšok je chromatografovaný pomocou elučnej chromatografie pôvodne s 5 % metanolu v etylacetáte s postupným zvyšovaním polaritu roztoku až do 1 : 1 metanol : etylacetát a dáva 338 mg produktu. Analytická vzorka 2,3-dihydro-9-metoxy-6-oxid-1H-benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ónu je získaná rekryštalizáciou z metanolu : etylacetátu, teplota topenia 273 - 274 °C.

#### Príklad 8

##### 2,3-Dihydro-9-metoxy-2-metyl-1H-benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón

Metylester 3-(1-kyanoetoxi)-5-metoxy-benzo(b)tiofén-2-karboxylovej kyseliny

Do roztoku, ktorý má izbovú teplotu, 3-hydroxy-5-metoxy-benzo(b)tiofén-2-karboxylátu (1,00 g, 4,2 mmol) (Connor, et al., J. Med. Chem., 35: 958 (1992)) v 20 ml DMSO je pridaný t-butoxid draselný (494 mg, 4,41 mmol) a potom chlórpropionitril (1,1 ml, 12,6 mmol). Zmes je miešaná pri izbovej teplote počas 1,5 hodiny a potom ohriata na 82 °C počas 3 hodín. Reakčná zmes je čistená v etylacetáte a 1N HCl. Organická vrstva je premytá 1N HCl a potom niekoľkými časťami soľanky a sušená na MgSO<sub>4</sub>. Následnou filtráciou zvyšku roztoku vo vákuu a rekryštalizáciou zvyšku z etylacetátu : hexánu dostaneme 853 mg s teplotou topenia 127 - 129 °C.

##### 2,3-Dihydro-9-metoxy-2-metyl-1H-benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón

Roztok metylesteru kyseliny 3-(1-kyanoetoxi)-5-metoxy-benzo(b)tiofén-2-karboxylovej (400 mg, 1,37 mmol) v 10 ml THF je zahrievaný pod silným refluxom. Bóran di-

metylsulfid (1,4 ml, 13,7 mmol) je pridaný po kvapkách a nepretržite zahrievaný počas 20 minút s THF a ďalej je pridaný po odparení. Reakčná zmes bola ochladená na izbovú teplotu a 7,5 ml 6N HCl bolo opatrne pridaných. Po 5 minútach bola reakčná zmes ochladená na 0 °C a 65,8 ml 1N NaOH bolo pridaných s následným pridaním etylacetátu. Vrstvy sú oddelené a organická fáza je premytá 1 : 1 soľankou : vodou. Organická fáza je sušená nad MgSO<sub>4</sub>, filtrovaná a koncentrovaná vo vákuu. Zvyšok je chromatografovaný pomocou elučnej chromatografie s gradientom 5 : 25 : 70 metanol : hexán : chloroform až do 10 : 90 metanol : chloroform až do 30 : 70 metanol : chloroform a poskytuje 135 mg produktu. Analytická vzorka 2,3-dihydro-9-metoxi-2-metyl-1H-benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ónu je získaná rekryštalizáciou z etylacetátu : hexánu, teplota topenia 185 - 186 °C.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú ochotne formulované s bežnými rozpúšťadlami a nosičmi na priebežné orálne alebo parenterálne podávanie človekovi a živočíchom na liečenie chorôb, ako sú zápaly, predovšetkým artritída a podobné. Nasledujúce príklady ilustrujú prípravu typických farmaceutických formulácií.

#### Príklad 9

Príprava 250 mg kapsuly

2,3-Dihydro-9-izopropoxy-7-chloro-1H-benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón (250 mg) je jednotne miešaný so 150 mg laktózy a 150 mg kukuričného škrobu. Zmes bola plnená do želatínových kapsúl. Takéto kapsuly sú orálne podávané v pomere jedna až tri denne na liečenie artritídy.

#### Príklad 10

Formulácia orálnej suspenzie

Prísady	Množstvo
2,3-dihydro-8-etyl-10t-trifluorometyl-6-oxid-1H-benzotieno[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón	500 mg
roztok sorbitolu (70 % N.F)	40 ml
benzoát sodný	150 mg
sacharín	10 mg
višňová aróma	50 mg
destilovaná voda	100 ml

Roztok sorbitolu je pridaný do 40 ml destilovanej vody a oxazepinón je v ňom suspendovaný. Sacharín, benzoát sodný a aromatické látky sú pridané a rozpustené. Roztok je doplnený do 100 ml destilovanej vody. Každý ml sirupu obsahuje 5 mg oxazepinónu. Orálna formulácia ideálne vyhovuje pri liečení zápalov pri pediatrickom ošetrovaní.

#### Príklad 11

Príprava parenterálneho roztoku

V roztoku 700 ml propylénglykolu a 200 ml destilovanej vody na injekciu je rozpustených 20 g 2,3-dihydro-7-dimetylamino-1H-benzotieno[3,2-c]-1,4-diazepin-5-ónu. pH roztoku je upravené na 5,5 kyselinou chlorovodíkovou a objem je doplnený do 1000 ml destilovanou vodou. Formulácia je sterilizovaná, plnená do 5 ml ampúl, pričom každá obsahuje 2,0 ml (40 mg) aktívneho diazepinónu. Formulácia je podávaná intravenózne pacientom, ktorí trpia zápalovými chorobami alebo AIDS.

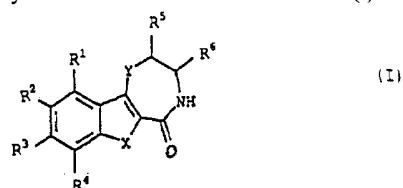
#### Príklad 12

Príprava topického krému

5000 mg 2,3-dihydro-7-etoxy-benzofurano-[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ónu je zmiešaných s 15 g acetylalkoholu, 1 g laurylsulfátu sodného, 40 g vodného silikónu D. C. 200 (predávaného Dow Corning Co., Midland, Michigan), 43 g sterilizovanej vody, 0,25 g metylparabénu a 0,15 g propylparabénu. Zmes je zahriata na asi 75 °C pri konštantnom miešaní a potom ochladená na izbovú teplotu, pri ktorej tuhne. Prípravok je aplikovaný na povrch kože osobám trpiacim zápalmi.

## PATENTOVÉ NÁROKY

### 1. Heterocyklická zlúčenina všeobecného vzorca (I)



alebo jej farmaceuticky prijateľné adičné soli s kyselinami, kde

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> sú každý nezávisle vodík, alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkoxy s 1 až 4 atómami uhlíka, R<sup>5</sup> a R<sup>6</sup> sú každý nezávisle vodík alebo alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka,

X je O, S(O)<sub>n</sub> alebo NR<sup>7</sup>,

Y je O, S(O)<sub>n</sub> alebo NR<sup>8</sup>,

R<sup>7</sup> je vodík alebo alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka,

R<sup>8</sup> je vodík alebo alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka,

n je 0, 1 alebo 2,

s podmienkou, že

1. ak X je NH, Y je NH a R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> je H, potom R<sup>2</sup> nie je metoxy alebo etoxy a

2. ak X je NH a Y je S, potom aspoň jeden z R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> nie je H.

2. Heterocyklická zlúčenina podľa nároku 1, kde R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> je vodík.

3. Heterocyklická zlúčenina podľa nároku 2, kde R<sup>2</sup> je vodík alebo alkoxy s 1 až 4 atómami uhlíka, X je O, S(O)<sub>n</sub> alebo NR<sup>7</sup>, Y je O, S(O)<sub>n</sub>, R<sup>7</sup> je vodík alebo alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka a n je 0, 1 alebo 2.

4. Heterocyklická zlúčenina podľa nároku 3, ktorou je 2,3-dihydro-9-metoxi[1]-benzotieno-[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)-ón.

5. Heterocyklická zlúčenina podľa nároku 3, ktorou je 2,3-dihydro-[1]-benzotieno-[2,3-f]-1,4-oxazepin-5(4H)-ón.

6. Heterocyklická zlúčenina podľa nároku 3, ktorou je 2,3-dihydro-9-metoxi[1]-benzotieno-[2,3-f]-1,4-tiazepin-5(4H)-ón-1-oxid.

7. Heterocyklická zlúčenina podľa nároku 3, ktorou je 3,4-dihydro-9-metoxi-6-metyl-2H-1,4-oxazepino[6,7-b]-indol-5(6H)-ón.

8. Heterocyklická zlúčenina podľa nároku 3, ktorou je 2,3-dihydro-1H-benzotieno-[3,2-c]-1,4-diazepin-5-ón.

9. Heterocyklická zlúčenina podľa nároku 3, ktorou je 2,3-dihydro-9-metoxi-1H-benzotieno-[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón.

10. Heterocyklická zlúčenina podľa nároku 3, ktorou je 2,3-dihydro-9-metoxi-6-oxid-1H-benzotieno-[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón.

11. Heterocyklická zlúčenina podľa nároku 3, ktorou je 2,3-dihydro-9-metoxi-2-metyl-1H-benzotieno-[2,3-f]-1,4-oxazepin-5-ón.

12. Farmaceutická kompozícia na inhibíciu HIV, **v y z n a č u j ú c a s a t ý m**, že obsahuje terapeuticky účinné množstvo heterocyklickej zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nároku 1 spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom.

13. Použitie heterocyklickej zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nároku 1 na výrobu liečiva na inhibíciu adhézie leukocytov na endoteliálne bunky.

14. Použitie heterocyklickej zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nároku 1 na výrobu liečiva na liečenie zápalových ochorení.

15. Použitie heterocyklickej zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nároku 1 na výrobu liečiva na liečenie infekcií HIV.

---

**Koniec dokumentu**

---