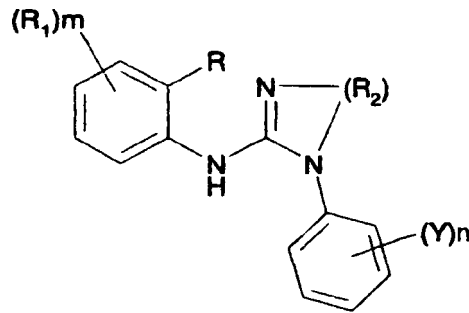


IL-8 RECEPTOR ANTAGONISTA CIKLUSOS GUANIDINSZÁRMAZÉKOK  
 2-IMIDAZOIL-AMINO-SZÁRMAZÉKOK ÉS EZEKET TARTALMAZÓ  
 SZÁRMAZÉK-KÉSZÍTMÉNYEK

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

KIVONAT

A találmány (I) általános képletű vegyületekre



(I)

— amelynek képletében képletében

R hidroxi-, merkaptocsoport vagy -NHSO<sub>2</sub>R<sub>d</sub> csoport;

~~R<sub>d</sub> -NR<sub>6</sub>R<sub>7</sub>, alkil-, aril-alkil-, aril-alkenil-, heteroaril-, heteroaril-alkil-, heteroaril-alkenil-, heterociklil- vagy heterociklil-alkil)-csoport, ahol a gyűrűk mindegyike adott esetben szubsztituált lehet;~~

R<sub>6</sub> és R<sub>7</sub> hidrogénatom vagy alkilcsoport, vagy

~~R<sub>6</sub> és R<sub>7</sub> a nitrogénatommal egy adott esetben szubsztituált és adott esetben további heteroatomot tartalmazó ciklusos csoportot képez;~~

R<sub>1</sub> <sup>alkil</sup>hidrogén-; <sup>halogén</sup>halogénatom; <sup>nitro</sup>nitro-; <sup>ciano</sup>ciano-; <sup>alkil</sup>alkil-; <sup>halogén</sup>halogén-alkil-; ~~alkenil-; alkoxi-; halogén-alkoxi-; azido-; - (CR<sub>8</sub>R<sub>8</sub>)<sub>q</sub>S(O)<sub>t</sub>R<sub>4</sub>; hidroxi-; hidroxi-alkil-; aril-; aril-alkil-; aril-oxi-; aril-alkoxi-; heteroaril-; heteroaril-alkil-; heterociklil-; heterociklil-alkil-; heteroaril-alkoxi)-; aril-alkenil-; heteroaril-alkenil-; heterocik-~~

~~lil-alkenil-,  $(CR_8R_8)_qNR_4R_5$ ; (alkenil)  $C(O)NR_4R_5$ ;  
 $-(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$ ; szulfo-;  $-S(O)_3R_8$ ;  
 $-(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$ ;  $-(alkenil)-C(O)R_{11}$ ;  $-(alkenil)-C(O)OR_{11}$ ;  
 $-(CR_8R_8)_qC(O)OR_{12}$ ;  $-(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$ ;  
 $-(CR_8R_8)_qNHS(O)_2R_{17}$ ;  $-(CR_8R_8)_qS(O)_2NR_4R_5$ ; vagy  
két  $R_1$  együtt  $-O-(CH_2)_s-O-$  vagy telítetlen ciklusos csoportot képezhet;~~

~~q 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 vagy 10;~~

~~t 0, 1 vagy 2;~~

~~s 1, 2 vagy 3;~~

~~$R_4$  és  $R_5$  hidrogénatom, adott esetben szubsztituált alkil-, aril-, aril-alkil-, heteroaril-, heteroaril-alkil-, heterociklil-, heterociklil-alkil-csoport, vagy~~

~~$R_4$  és  $R_5$  a nitrogénatommal együtt egy adott esetben további heteroatomot tartalmazó ciklusos csoportot képez;~~

~~$R_2$  <sup>alkilén</sup>alkilén- vagy alkenilén-csoport, amely adott esetben ~~legfeljebb háromszorosán egymástól függetlenül halogénatommal, nitro-, halogén-alkil-, alkil-, amino-, mono- vagy dialkil-amino-, hidroxil-, alkoxil-,  $-NR_9C(O)R_a$ ,  $-S(O)_mR_a$ ,  $-C(O)NR_6R_7$ , karboxil-,  $-C(O)OR_a$ ,  $-S(O)_2NR_6R_7$  és/vagy  $-NHS(O)_2R_a$  csoporttal szubsztituált, és adott esetben 1-3 oxigén-, kénatomot  $>NR_9$ , karbonil-, szulfinil- vagy szulfonylcsoportot tartalmaz;~~~~

~~$Y$  <sup>alkilén</sup>hidrogén-; halogénatom; nitro-; ciano-<sup>alkil</sup>alkil-; <sup>csoport</sup>halogén-alkil-; ~~alkenil-; alkoxil-; halogén-alkoxil-; azido-  
 $-(CR_8R_8)_qS(O)_tR_4$ ; hidroxil-; hidroxil-alkil-; aril-; aril-alkil-; aril-oxil-; aril-alkoxil-; heteroaril-; heteroaril-alkil-; heteroaril-alkoxil-; heterociklil-; heterociklil-~~~~

~~alkil-, aril-alkenil-, heteroaril-alkenil-, heterociklil-  
 -alkenil-;  $-(CR_8R_8)_qNR_4R_5$ ;  $-(alkenil)-C(O)NR_4R_5$ ;  
 $-(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$ ; szulfo-;  $-S(O)_3R_8$ ;  
 $-(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$ ;  $-(2-10 \text{ alkenil})-C(O)R_{11}$ ;  $-(alkenil)-$   
 $-C(O)OR_{11}$ ;  $-C(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)OR_{12}$ ;  $-(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$ ;  
 $-(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qNHS(O)_2R_d$ ;  $-(CR_8R_8)_qS(O)_2NR_4R_5$   
 csoport; vagy  
 két Y együtt  $-O-(CH_2)_s-O-$  vagy egy telítetlen ciklusos  
 csoportot képezhet;~~

m és n 1, 2 vagy 3; —

~~$R_8$  és  $R_9$  hidrogénatom vagy alkilcsoport;~~

$R_{10}$   $-(alkil)-C(O)_2R_8$  csoport;

$R_{11}$  hidrogénatom, alkilcsoport, adott esetben szubsztituált aril-, aril-alkil-, heteroaril-, heteroaril-alkil-, heterociklil- vagy heterociklil-alkil-csoport;

$R_{12}$  hidrogénatom, alkilcsoport, adott esetben szubsztituált aril- vagy aralkilcsoport;

$R_{17}$  alkilcsoport, adott esetben szubsztituált aril-, aril-alkil-, heteroaril-, heteroaril-alkil-, heterociklil- vagy heterociklil-alkil-csoport; és

$R_a$  adott esetben szubsztituált alkil-, aril-, aril-alkil-, heteroaril-, heteroaril-alkil-, heterociklil- vagy heterociklil-alkil csoport —

és a vegyületeket tartalmazó, IL-8 $\alpha$  vagy IL-8 $\beta$  receptorhoz kötődő kemokin által mediált betegségek kezelésére szolgáló gyógyszerkészítményekre vonatkozik.

Jellemző Ráplát. (I) (a Zvonka)  
 R J



AL

**IL-8 RECEPTOR ANTAGONISTA CIKLUSOS ~~GUANIDINSZÁRMAZÉKOK~~**

2- (IMIDAZOLIL - AMINIL) SZÁRMAZÉKOK

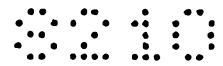
ÉS SZÉKELY TARTALMÚ GYÓGYSZER-  
KÉSZÍTMÉNYEK

**KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY**

A találmány új, ciklusos guanidinszármazékokra és előállítási eljárásaikra, a vegyületek IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , NAP-2 és ENA-78 által mediált betegségek kezelésében történő felhasználására, valamint az ilyen terápiában történő felhasználásra szolgáló gyógyszerkészítményekre vonatkozik.

Az interleukin-8 (IL-8) jelölésére többféle elnevezést alkalmaznak, amilyenek például a következők: neutrofil attraktáns/aktiváló protein-1 (NAP-1), monocita eredetű neutrofil kemotaktikus faktor (MDNCF), neutrofil aktiváló faktor (NAF), valamint T-sejt limfocita kemotaktikus faktor. Az interleukin-8 neutrofilek, bazofilek és a T-sejtek egy részének a kemoattraktánsa. IL-8-at a TNF, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  vagy LPS hatásának kitett, sejtmagot tartalmazó sejtek legnagyobb része termel, így IL-8-at termelnek az említett hatásnak kitett makrofágok, fibroblasztok, endothelialis és epithelialis sejtek, valamint maguk a neutrofilek is, ha LPS vagy kemotaktikus faktorok, például FMLP hatása alatt állnak [M. Baggiolini et al., J. CLIN. INVEST., 84, 1045 (1989); J. Schroder et al., J. IMMUNOL., 139, 3474 (1987); J. Schroder et al., J. IMMUNOL., 144, 2223 (1990); Cassatella et al., J. IMMUNOL., 148, 3216 (1992)].

A kemokinek családjába tartozik a GRO $\alpha$ , a GRO $\beta$ , a GRO $\gamma$  és a NAP-2 is. Az IL-8-hoz hasonlóan ezeket a kemokinek is különféle nevekkkel jelölik. Például a GRO $\alpha$  más néven MGSA $\alpha$  (MGSA: Melanoma Growth Stimulating Activity), a GRO $\beta$  más néven MGSA $\beta$ , a GRO $\gamma$  más néven MGSA $\gamma$  [lásd például: Richmond et al.,



J. CELL PHYSIOLOGY, 129, 375 (1986); és Chang et al., J. IMMUNOL., 148, 451 (1992)]. Az  $\alpha$ -családba tartozó kemokinek mindegyike az IL-8 B receptorhoz kötött CXC ismétlődést (CXCR2) közvetlenül megelőző ELR ismétlődéssel rendelkezik.

Az IL-8, a GRO $\alpha$ , a GRO $\beta$ , a GRO $\gamma$ , a NAP-2 és az ENA-78 *in vitro* számos funkciót stimulál. A korábbiakban már igazolták, hogy az említettek mindegyike neutrofilek esetén kemoattraktáns tulajdonságokkal rendelkezik, míg az IL-8 és GRO $\alpha$  a T-limfociták és a bazofilek esetén fejt ki kemotaktikus hatást. Ezenkívül az IL-8 normál és atópiás egyedekből származó bazofilekből hisztamin felszabadulást, míg neutrofilekből lizoszomális enzim felszabadulást és respirációs törést (respiratory burst) indukál. A korábbiak az is bizonyítást nyert, hogy az IL-8 *de novo* proteinszintézis nélkül növeli a neutrofileken a felületi Mac-1 (CD11b/CD18) expressziót, ami hozzájárulhat a vascularis endothelialis sejtekhez történő neutrofiltapadás fokozódásához. Számos betegségre jellemző a masszív neutrofilbeszűrődés. Mivel az IL-8, a GRO $\alpha$ , a GRO $\beta$ , a GRO $\gamma$  és a NAP-2 elősegíti a neutrofilek akkumulációját és aktivációját, az említett citokinek rendkívül sokféle akut és krónikus gyulladáshoz rendelődésben, így psoriasisban és rheumatoid arthritisben is szerepet játszanak [Baggiolini et al., FEBS LETTERS, 307, 97 (1992); Miller et al., CRIT. REV. IMMUNOL., 12, 17 (1992); Oppenheim et al., ANNU. REV. IMMUNOL., 9, 617 (1991); Seitz et al., J. CLIN. INVEST., 87, 463 (1991); Miller et al., AM. REV. RESPIR. DIS., 146, 427 (1992); Donnelly et al., LANCET, 341, 643 (1993)]. Ezenkívül az ELR citokinek (amelyek közvetlenül a CXC ismétlődés előtt

tartalmazznak ELR ismétlődésnek megfelelő aminosavakat) az angiostasisban is részt vesznek [Strieter *et al.*, *SCIENCE*, 258, 1798 (1992)].

*In vitro* az IL-8, a GRO $\alpha$ , a GRO $\beta$ , a GRO $\gamma$  és a NAP-2 a hét-transzmembránhoz, a G-protein kötött családkhoz kapcsolódva és ezeket aktiválva, különösen az IL-8 receptorokhoz, leginkább a B-receptorhoz kötődve neutrofil alakváltozást, kemotaxist, granulum felszabadulást és respirációs törést (respiratory burst) indukál [Thomas *et al.*, *J. BIOL. CHEM.*, 266, 14839 (1991); és Holmes *et al.*, *SCIENCE*, 253, 1278 (1991)]. Ezen receptorcsalád tagjai esetén a nempeptid, kis molekulájú antagonisták kialakulásának már van előzménye [lásd például: R. Freidinger, *PROGRESS IN DRUG RESEARCH* (Birkhauser Verlag, Basel), 40, 33-98 (1993)]. Ily módon az IL-8 receptor az új gyulladáscsökkentő hatóanyagok kifejlesztésének az egyik ígéretes célpontja.

A korábbiakban két nagy affinitású humán IL-8 receptort (77 %-os homológia) írtak le: az IL-8R $\alpha$ -t, amely kizárólag az IL-8-at köti nagy affinitással, valamint az IL-8R $\beta$ -t, amely az IL-8 mellett a GRO $\alpha$ , a GRO $\beta$ , a GRO $\gamma$  és a NAP-2 iránt is nagy affinitással rendelkezik [Holmes *et al.*, *SCIENCE*, 253, 1278 (1991); Murphy *et al.*, *SCIENCE*, 253, 1280 (1991); Lee *et al.*, *J. BIOL. CHEM.*, 267, 16283 (1992); LaRosa *et al.*, *J. BIOL. CHEM.*, 267, 25402 (1992); és Gayle *et al.*, *J. BIOL. CHEM.*, 268, 7283 (1993)].

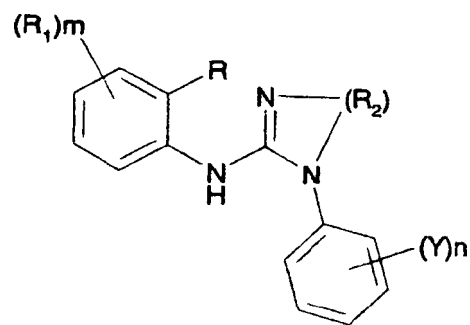
Továbbra is jelentős igény van olyan vegyületek iránt, amelyek képesek hozzákapcsolódni az IL-8 $\alpha$  vagy IL-8 $\beta$  receptorhoz. Az IL-8 felelős a gyulladási helyre történő neutrofil és a

T-sejt alcsoport kemotaxisért, így a fokozott IL-8 termeléssel együtt járó állapotok esetén előnyösen alkalmazhatók volnának az olyan vegyületek, amelyek az IL-8 receptor kötés inhibitora-iként funkcionálnak.

A találmány egyik tárgya eljárás kemokin mediált betegségek kezelésére, ahol a kemokin egy IL-8 $\alpha$  vagy IL-8 $\beta$  receptorhoz kötődő kemokin, amely eljárás során egy (I) általános képletű vegyületnek vagy gyógyászatilag elfogadható sójának határos mennyiségét adjuk be. Közelebbről a kemokin IL-8.

Ugyancsak a találmány tárgyát képezi egy eljárás az IL-8 és a receptorai közötti kötés kialakulásának a gátlására egy ezt igénylő emlősben, amelynek során az emlősnek egy (I) általános képletű vegyület határos mennyiségét adjuk be.

A találmány szerinti megoldásban felhasználható (I) általános képletű vegyületek



(I)

és gyógyászatilag elfogadható sóik képletében

R jelentése hidrox-, merkaptocsoport vagy  $-NHSO_2R_d$  általános képletű csoport;

$R_d$  jelentése  $-NR_6R_7$  általános képletű csoport, alkilcsoport, aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, aril-(2-4 szénatomos

alkenil)-csoport, heteroaril-csoport, heteroaril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heteroaril-(2-4 szénatomos alkenil)-csoport, heterociklil-csoport vagy heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, ahol az aril-, heteroaril- és heterociklil-csoportot tartalmazó gyűrűk mindegyike adott esetben szubsztituált lehet;

R<sub>6</sub> és R<sub>7</sub> jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy

R<sub>6</sub> és R<sub>7</sub> azzal a nitrogénatommal együtt, amelyhez kapcsolódnak, egy adott esetben szubsztituált, 5-7 tagú, adott esetben egy, az oxigén-, nitrogén- és kénatom közül kiválasztott további heteroatomot tartalmazó ciklusos csoportot képeznek;

R<sub>1</sub> jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom; halogénatom; nitrocsoport; cianocsoport; 1-10 szénatomos alkilcsoport; 1-10 szénatomos halogén-alkil-csoport; 2-10 szénatomos alkenilcsoport; 1-10 szénatomos alkoxicssoport; 1-10 szénatomos halogén-alkoxi-csoport; azidocsoport;  $-(CR_8R_8)_qS(O)_tR_4$  általános képletű csoport; hidroxicssoport; 1-4 szénatomos hidroxil-alkil-csoport; arilcsoport; aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport; aril-oxi-csoport; aril-(1-4 szénatomos alkoxi)-csoport; heteroarilcsoport; heteroaril-alkil-csoport; heterociklilcsoport; heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport; heteroaril-(1-4 szénatomos alkoxi)-csoport; aril-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport; heteroaril-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport; heterociklil-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport;  $-(CR_8R_8)_qNR_4R_5$ ;  $-(2-10$  szén-



atomos alkenil)-C(O)NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>; -(CR<sub>8</sub>R<sub>8</sub>)<sub>q</sub>C(O)NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>;  
-(CR<sub>8</sub>R<sub>8</sub>)<sub>q</sub>C(O)NR<sub>4</sub>R<sub>10</sub> általános képletű csoport;  
szulfocsoport; -S(O)<sub>3</sub>R<sub>8</sub>; -(CR<sub>8</sub>R<sub>8</sub>)<sub>q</sub>C(O)R<sub>11</sub>; -(2-10 szénato-  
mos alkenil)-C(O)R<sub>11</sub>; -(2-10 szénatomos alkenil)-C(O)OR<sub>11</sub>;  
-(CR<sub>8</sub>R<sub>8</sub>)<sub>q</sub>C(O)OR<sub>12</sub>; -(CR<sub>8</sub>R<sub>8</sub>)<sub>q</sub>OC(O)R<sub>11</sub>; -(CR<sub>8</sub>R<sub>8</sub>)<sub>q</sub>NR<sub>4</sub>C(O)R<sub>11</sub>;  
-(CR<sub>8</sub>R<sub>8</sub>)<sub>q</sub>NHS(O)<sub>2</sub>R<sub>17</sub>; -(CR<sub>8</sub>R<sub>8</sub>)<sub>q</sub>S(O)<sub>2</sub>NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> általános képletű  
csoport; vagy

két R<sub>1</sub> csoport együtt -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-O- általános képletű cso-  
portot vagy egy öt- vagy hattagú telítetlen ciklusos cso-  
portot képezhet;

q értéke 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 vagy 10;

t értéke 0, 1 vagy 2;

s értéke 1, 2 vagy 3;

R<sub>4</sub> és R<sub>5</sub> jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, adott  
esetben szubsztituált 1-4 szénatomos alkilcsoport, adott  
esetben szubsztituált arilcsoport, adott esetben szubszti-  
tuált aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, adott esetben  
szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztitu-  
ált heteroaril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heterocik-  
lilcsoport, heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport,  
vagy

R<sub>4</sub> és R<sub>5</sub> azzal a nitrogénatommal együtt, amelyhez kapcsolódnak,  
egy 5-7 tagú, adott esetben egy, az oxigén-, nitrogén- és  
kénatom közül kiválasztott további heteroatomot tartalmazó  
ciklusos csoportot képeznek;

R<sub>2</sub> jelentése egymástól függetlenül 2-5 szénatomos alkiléncso-  
port vagy 2-5 szénatomos alkeniléncsoport, amely adott

esetben legfeljebb háromszorosan egymástól függetlenül halogénatommal, nitrocsoporttal, 1-4 szénatomos halogén-alkil-csoporttal, 1-4 szénatomos alkilcsoporttal, aminocsoporttal, mono- vagy dialkil-amino-csoporttal, hidroxicsoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicsoporttal,  $-NR_9C(O)R_a$ ,  $-S(O)_mR_a$ ,  $-C(O)NR_6R_7$  általános képletű csoporttal, karboxicsoporttal,  $-C(O)OR_a$ ,  $-S(O)_2NR_6R_7$  és/vagy  $-NHS(O)_2R_a$  általános képletű csoporttal szubsztituált, és amely alkilén- vagy alkeniléncsoport a szénatomokon kívül adott esetben egymástól függetlenül 1-3  $>NR_9$  általános képletű csoportot, oxigénatomot, karbonilcsoportot, kénatomot, szulfinil- vagy szulfonilcsoportot tartalmaz;

Y jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom; halogénatom; nitrocsoport; cianocsoport; 1-10 szénatomos alkilcsoport; 1-10 szénatomos halogén-alkil-csoport; 2-10 szénatomos alkenilcsoport; 1-10 szénatomos alkoxicsoport; 1-10 szénatomos halogén-alkoxi-csoport; azidocsoport;  $-(CR_8R_8)_qS(O)_tR_4$  általános képletű csoport; hidroxicsoport; 1-4 szénatomos hidroxil-alkil-csoport; arilcsoport; aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport; aril-oxi-csoport; aril-(1-4 szénatomos alkoxi)-csoport; heteroarilcsoport; heteroaril-alkil-csoport; heteroaril-(1-4 szénatomos alkoxi)-csoport; heterociklilcsoport; heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport; aril-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport; heteroaril-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport; heterociklil-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport;  $-(CR_8R_8)_qNR_4R_5$ ;  $-(2-10 szénatomos alkenil)-C(O)NR_4R_5$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$ ;

- $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$  általános képletű csoport; szulfocsoport;  $-S(O)_3R_8$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$ ;  $-(2-10$  szénatomos alkenil) $-C(O)R_{11}$ ;  $-(2-10$  szénatomos alkenil) $-C(O)OR_{11}$ ;  $-C(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)OR_{12}$ ;  $-(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qNHS(O)_2R_d$ ;  $-(CR_8R_8)_qS(O)_2NR_4R_5$  általános képletű csoport; vagy

két Y csoport együtt  $-O-(CH_2)_s-O-$  általános képletű csoportot vagy egy öt- vagy hattagú telítetlen ciklusos csoportot képezhet;

n értéke 1, 2 vagy 3;

m értéke 1, 2 vagy 3;

$R_8$  jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport;

$R_9$  jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport;

$R_{10}$  jelentése  $-(1-10$  szénatomos alkil) $-C(O)_2R_8$  általános képletű csoport;

$R_{11}$  jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos alkilcsoport, adott esetben szubsztituált arilcsoport, adott esetben szubsztituált aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált heteroaril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, adott esetben szubsztituált heterociklilcsoport, vagy adott esetben szubsztituált heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport;

$R_{12}$  jelentése hidrogénatom, 1-10 szénatomos alkilcsoport, adott esetben szubsztituált arilcsoport vagy adott esetben szubsztituált aralkilcsoport;

$R_{17}$  jelentése 1-4 szénatomos alkilcsoport, arilcsoport, aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heteroarilcsoport, hete-

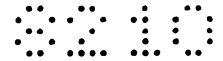
roaril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heterociklilcsoport vagy heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, ahol az aril-, heteroaril- és heterociklil-csoportok mindegyike adott esetben szubsztituált lehet; és

R<sub>a</sub> jelentése alkil-, arilcsoport, aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heteroarilcsoport, heteroaril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heterociklilcsoport vagy heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, amely csoportok mindegyike mindegyike adott esetben szubsztituált lehet.

Az (I) általános képletű vegyületeket felhasználhatjuk az IL-8 $\alpha$  vagy IL-8 $\beta$  receptorokhoz kötődő IL-8 vagy egyéb kemokinek gátlását igénylő, az embertől eltérő egyéb emlősök állatgyógyászati kezelésére is. Az állatokban terápiásan vagy profilaktikusan kezelendő, kemokin mediált betegségek körébe például az olyan betegállapotok tartoznak, amelyeket a "Kezelési eljárások" című fejezetben felsorolunk.

Az (I) általános képletű vegyületek illusztratív példái közé tartoznak az alábbi vegyületek:

- 4-{{[1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-5-oxo-1H-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril};
- N-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-N'-(2-bróm-fenil)-N''-[(klór-metil)-szulfonil]-guanidin;
- N-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-N'-(2-bróm-fenil)-N''-(2,2-dimetoxi-etil)-guanidin;
- 4-{{[1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-1H-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril};
- 4-{{[4-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-1,1-dioxo-1,2,4-



- tiadiazol-3-il]-amino}-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-{{1-(2-bróm-fenil)-1*H*-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-{{(*S*)-1-(2-bróm-fenil)-4-izopropil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril;
- etil-3-{{(*S*)-1-(2-bróm-fenil)-2-(4-ciano-2-hidroxi-anilino)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-4-imidazolil]-propionát;
- etil-{{(*R*)-1-(2-bróm-fenil)-2-(4-ciano-2-hidroxi-anilino)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-4-imidazolil]-acetát;
- 4-{{(*S*)-1-(2,3-diklór-fenil)-4-izopropil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-{{(*S*)-1-(2,3-diklór-fenil)-4-izobutil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-{{(*S*)-1-(2,3-diklór-fenil)-4-[2-(metil-tio)-etil]-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril;
- etil-3-{{(*S*)-2-(4-ciano-2-hidroxi-anilino)-1-(2,3-diklór-fenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-4-imidazolil]-propionát;
- 4-{{(*S*)-1-(2,3-diklór-fenil)-4-metil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-{{(*R*)-1-(2,3-diklór-fenil)-4-metil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril; és
- 4-{{1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-5-metoxi-1*H*-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril;

vagy gyógyászatilag elfogadható sóik.

Az alkalmas gyógyászatilag elfogadható sók az ezen a területen jártas szakember számára jól ismertek. Az ilyen sók közé

tartoznak például a szervetlen és szerves savakkal, például hidrogén-kloriddal, hidrogén-bromiddal, kénsavval, foszforsavval, metánszulfonsavval, etánszulfonsavval, ecetsavval, almasavval, borkősavval, citromsavval, tejsavval, oxálsavval, borsostyánkősavval, fumársavval, maleinsavval, benzoesavval, szalicilsavval, fenil-ecetsavval és mandulasavval képezett savadéció-sók. Ezenkívül az (I) általános képletű vegyületek gyógyászati lag elfogadható sóit egy gyógyászati lag elfogadható kationnal is előállíthatjuk például azokban az esetekben, ahol egy szubsztituens egy karboxicsoportot tartalmaz. Az alkalmas gyógyászati lag elfogadható kationok az ezen a területen jártas szakember számára jól ismertek, például ebbe a körbe tartoznak — egyebek mellett — az alkálifém-, az alkáliföldfém-, az ammónium- és a kvaterner ammóniumionok.

A "halogén-" vagy "halogénatom" kifejezés a klór-, fluor-, bróm- és jódatomra vonatkozik.

A "2-5 szénatomos alkilcsoport" vagy az "alkilcsoport" kifejezés — ha a lánchosszat másképpen nem korlátozzuk — 1-10 szénatomot tartalmazó, egyenes vagy elágazó lánccú alkilcsoportra vonatkozik, amilyen például — egyebek mellett — a metil-, etil-, propil-, izopropil-, butil-, szek-butil-, izobutil-, terc-butil-, pentilcsoport stb.

Az "alkenilcsoport" kifejezés — ha a lánchosszat másképpen nem korlátozzuk — 2-10 szénatomot tartalmazó, egyenes vagy elágazó lánccú, legalább egy kettős kötéssel rendelkező csoportra vonatkozik, amilyen például — egyebek mellett — a vinil-, 1-propenil-, allil-, 2-metil-1-propenil-, 1-butenil-, 2-bute-

nilcsoport stb.

Az "arilcsoport" kifejezés fenilcsoportot és naftilcsoportot jelöl.

A "heteroarilcsoport" kifejezés (önmagában vagy bármely kombinációban, amilyen például a "heteroaril-oxi-csoport" vagy a "heteroaril-alkil-csoport") egy olyan, 5-10 tagú aromás gyűrűrendszerből származó csoportra vonatkozik, amely a nitrogén-, oxigén- és/vagy kénatomok csoportjából kiválasztott egy vagy több heteroatomot tartalmaz. Az ilyen csoportokat eredményező vegyületek közé tartoznak — egyebek mellett — például a következők: pirrol, pirazol, furán, tiofén, kinolin, izokinolin, kinazolin, piridin, pirimidin, oxazol, tiazol, tiadiazol, triazol, imidazol és benzimidazol.

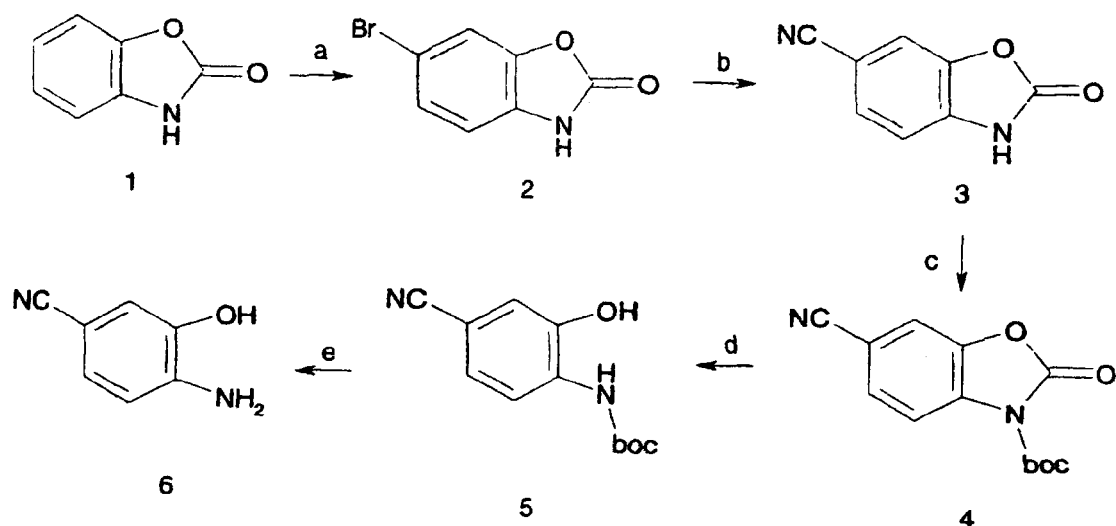
A "heterociklusos csoport" vagy "heterociklilcsoport" kifejezés (önmagában vagy bármely kombinációban, amilyen például a "heterociklusos csoporttal szubsztituált alkilcsoport" vagy "heterociklil-alkil-csoport") egy olyan, 4-10 tagú, telített vagy részlegesen telítetlen gyűrűrendszerből származó csoportra vonatkozik, amely egy vagy több gyűrűben a nitrogén-, oxigén- és/vagy kénatomok csoportjából kiválasztott egy vagy több heteroatomot tartalmaz. Az ilyen csoportokat eredményező vegyületek közé tartoznak — egyebek mellett — például a következők: piperolidin, piperidin, piperazin, morfolin, tetrahidropirán, tio-morfolin és imidazolidin.

A jelen leírásban alkalmazott "aralkilcsoport", "heteroaril-alkil-csoport" vagy "heterociklusos csoporttal szubsztituált alkilcsoport" kifejezés egy olyan, a fentiekben meghatáro-

zott 1-10 szénatomos alkilcsoportot jelöl, amelyhez egy aril-csoport, egy heteroaril-csoport vagy egy heterociklusos csoport kapcsolódik.

Az (I) általános képletű vegyületeket szintetikus eljárások alkalmazásával állíthatjuk elő. Néhány ilyen eljárást az alábbi reakcióvázlatokon is bemutatunk. A reakcióvázlatokon bemutatott eljárásokkal olyan (I) általános képletű vegyületeket nyerhetünk, amelyekben a különféle változóiban, például R, R<sub>1</sub> és arilcsoportokban lévő szubsztituensek adott esetben a jelzett reakcióknak megfelelő védőcsoportokat hordoznak. Ezekben az esetekben a védőcsoportok eltávolításával nyerjük a termékekből a fentiekben meghatározott végtermékeket. A karbamidváz kialakítását követően a fenti általános képleteknek megfelelő további vegyületeket a funkciós csoportok interkonverziójára szokásosan alkalmazott, a szakterületen jól ismert eljárásokkal állíthatjuk elő.

1. reakcióvázlat

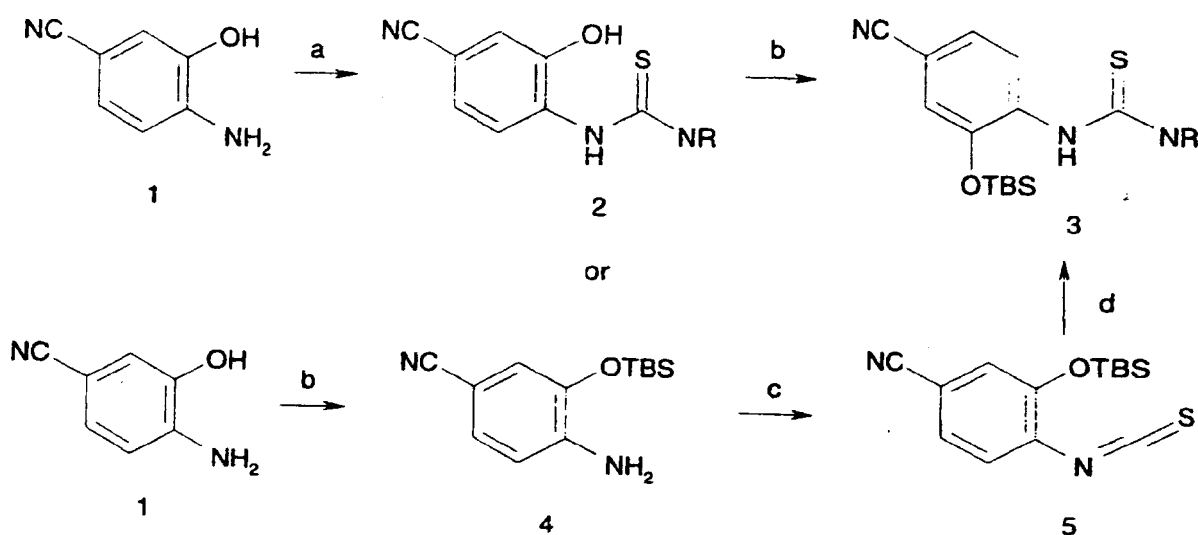


a)  $\text{Br}_2$ , NaOAc, HOAc; b) CuCN, DMF, reflux; c)  $(\text{BOC})_2\text{O}$ , DMAP, TEA; d)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeOH; e) TFA

Az 1. reakcióvázlat szerinti **6** képletű kívánt anilint a kereskedelmi forgalomban kapható **1** képletű benzoxazolinonból állíthatjuk elő. Az **1** képletű benzoxazolinont standard brómozási körülmények között, például ecetsavban brómmal és nátrium-acetáttal reagáltatva átalakítjuk a **2** képletű bromiddá. A **2** képletű bromidot ezt követően szokásos eljárások alkalmazásával, például fefluxáló *N,N*-dimetil-formamidban réz(I)-cianiddal reagáltatva átalakítjuk a **3** képletű cianiddá. A **3** képletű amidot standard körülmények között, például metilén-dikloridban vagy más alkalmas szerves oldószerben BOC-anhidriddel és trietil-aminnal, valamint katalitikus mennyiségű 4-(dimetil-amino)-piridinnal reagáltatva a BOC-védett **4** képletű vegyületté konvertáljuk. A **4** képletű oxazolinont először standard körülmények között, például metanolban kálium-karbonáttal reagáltatva

az 5 képletű fenollá hidrolizáljuk, majd standard körülmények között, például metilén-dikloridban vagy más alkalmas szerves oldószerben trifluor-ecetsavval reagáltatva eltávolítjuk a BOC-védőcsoportot, amelynek eredményeként a 6 képletű anilint nyerjük.

2. reakcióvázlat

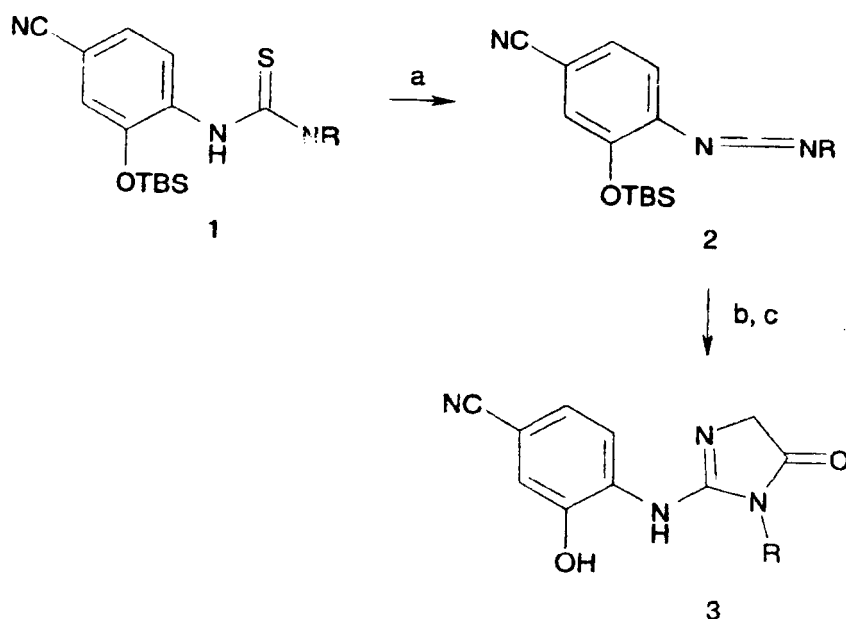


a) RNCS; b) TBSCl; c) tiofoszgen; d) RNH<sub>2</sub>

A 2. reakcióvázlat szerinti 3 általános képletű kívánt tiokarbamidot a 2. reakcióvázlaton bemutatott módon állíthatjuk elő. Az 1 képletű anilint egy kereskedelmi forgalomban kapható izotiocianáttal vagy egy kereskedelmi forgalomban kapható amin és tiofoszfogén, illetve tiofoszgen-ekvivalens kondenzációjából származó izotiocianáttal reagáltatva egy 2 általános képletű tiokarbamidot nyerünk. A 2 általános képletű fenolt standard körülmények között, például tetrahydrofuranban vagy más alkalmas szerves oldószerben (terc-butyl-dimethyl-silyl)-kloriddal

(TBSCl) és imidazollal reagáltatva a megfelelő **3** általános képletű TBS-éter formájában védjük. Egy másik megoldás értelmében az **1** képletű amint **5** képletű izotiocianáttá konvertáljuk, amelynek során először az **1** képletű fenolt standard körülmények között, például tetrahydrofuranban vagy más alkalmas szerves oldószerben (*terc*-butil-dimetil-szilil)-kloriddal és egy amin bázissal, például imidazollal reagáltatva előállítjuk a **4** képletű védett fenolszármazékot, majd a **4** képletű amint bázis, például kálium-karbonát jelenlétében tiofoszfógnel reagáltatva az **5** képletű tiokarbamidot nyerjük. A kívánt **3** általános képletű tiokarbamidot úgy állíthatjuk elő, hogy az **5** képletű izotiocianátot alkalmas oldószerben, például etanolban vagy *N,N*-dimetil-formamidban a kívánt aminnal reagáltatjuk.

### 3. reakcióvázlat

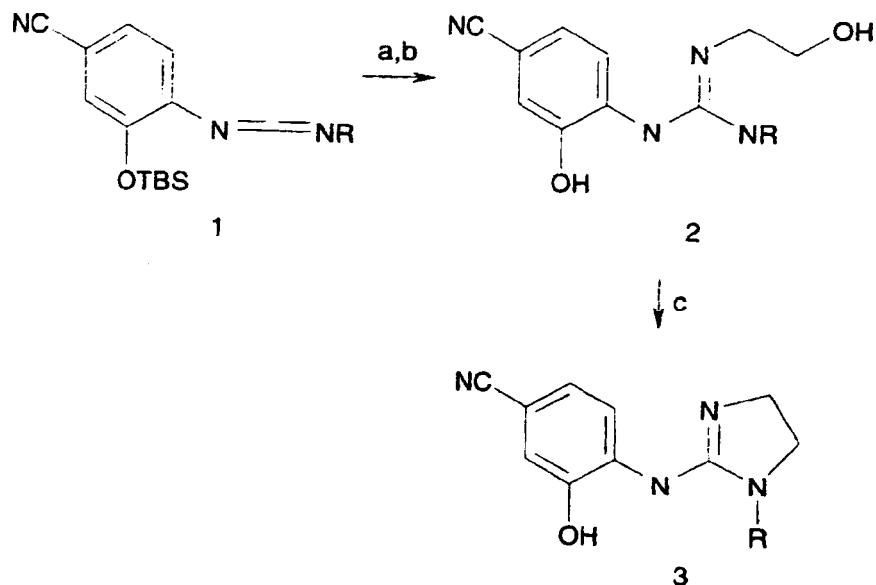


a) mezil-klorid, TEA; b) amin, THF; c) TBAF, THF

A 3. reakcióvázlat szerinti **3** általános képletű kívánt

laktámot a 3. reakcióvázlat szerinti eljárással állíthatjuk elő. A 2 általános képletű karbodiimidet úgy állíthatjuk elő, hogy egy 1 általános képletű tiokarbamidot standard körülmények között, például szerves oldószerben, előnyösen metilén-dikloridban, szobahőmérsékleten mezil-klorid felesleggel és egy alkalmas amin bázissal, például trietil-aminnal reagáltatunk. A 3 általános képletű laktámot a 2 általános képletű karbodiimidből úgy állíthatjuk elő, hogy a 2 általános képletű karbodiimidet először alkalmas szerves oldószerben, például tetrahidrofuranban vagy acetónitrilben a kívánt  $\alpha$ -amino-észterrel reagáltatjuk, majd standard körülmények között, például tetrahidrofuranban 0 °C-on (tetrabutil-ammónium)-fluoriddal (TBAF) reagáltatva eltávolítjuk a (terc-butil-dimetil-szilil)- (TBS) védőcsoportot.

4. reakcióvázlat

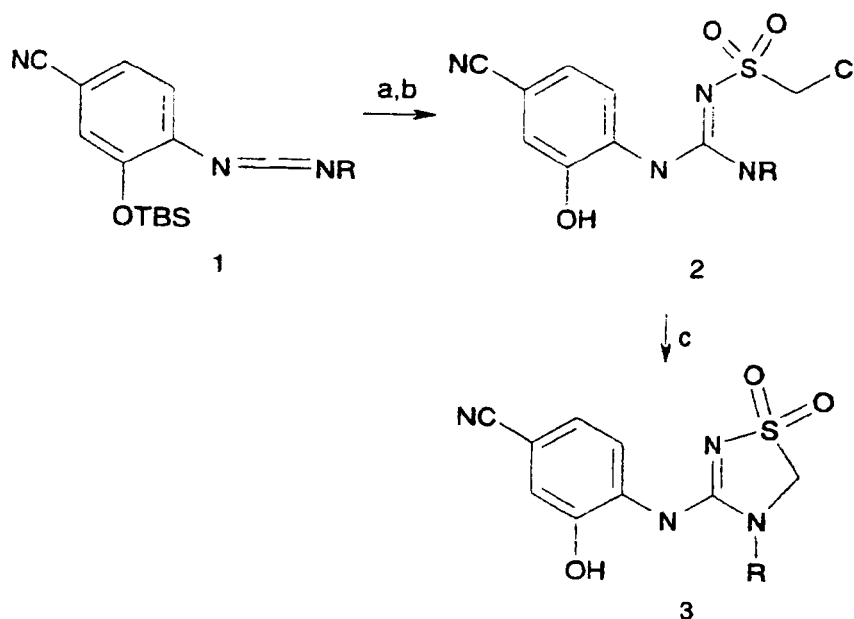


a) 2-amino-etanol, Hünig-bázis, THF; b) TBAF, THF; c) PPh<sub>3</sub>, DEAD, THF

A 4. reakcióvázlat szerinti 3 általános képletű dihidroimidazol-származékot egy 2 általános képletű alkoholból a 4. reakcióvázlat szerinti eljárással állíthatjuk elő. A 2 általános képletű guanidint úgy állíthatjuk elő, hogy egy 1 általános képletű karbodiimidet standard körülmények között, például alkalmas szerves oldószerben, például acetonitrilben vagy tetrahydrofuranban a megfelelő primer aminnal reagáltatjuk, majd standard körülmények között, például tetrahydrofuranban 0 °C-on (tetrabutyl-ammónium)-fluoriddal (TBAF) reagáltatva eltávolítjuk a (terc-butyl-dimethyl-szilil)-védőcsoportot. A 3 általános képletű ciklikus guanidinszármazékot standard Mitsunobu-körülmények alkalmazásával állíthatjuk elő a 2 általános képletű guanidinból, például a 2 általános képletű vegyületet alkalmas

szerves oldószerben, például tetrahidrofuránban trifenil-foszfínnal és dietil-azo-dikarboxiláttal (DEAD) reagáltatjuk.

5. reakcióvázlat

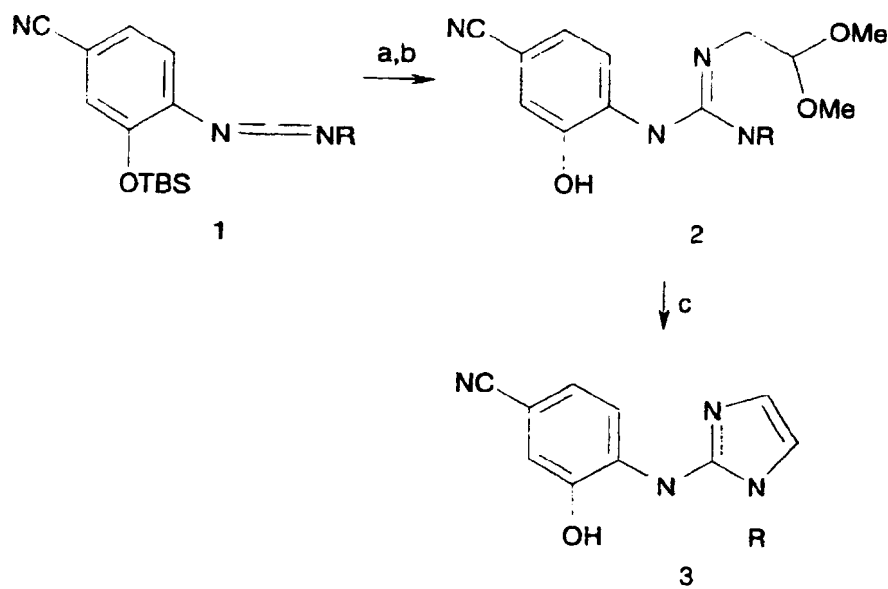


a) klór-metánszulfonamid, Hünig-bázis, THF; b) TBAF, THF; c) NaH, DMF

Az 5. reakcióvázlat szerinti 3 általános képletű kívánt ciklikus szulfonamid-guanidint a 2 általános képletű kloridból az 5. reakcióvázlat szerinti eljárással állíthatjuk elő. A 2 általános képletű guanidint az 1 általános képletű karbodiimidből a 3. és 4. reakcióvázlat szerinti eljárások alkalmazásával állíthatjuk elő. A 3 általános képletű ciklikus guanidin előállításakor a 2 általános képletű kloridot standard alkilezési körülmények között, például alkalmas oldószerben, például *N,N*-dimetil-formamidban, környezeti hőmérsékleten vagy enyhe mele-

gítés közben nátrium-hidriddel reagáltatjuk.

6. reakcióvázlat



- a) (2,2,-dimetoxi-etil)-amin, Hünig-bázis, THF; b) TBAF, THF;  
 c) *p*-toluolszulfonsav, aceton

A 6. reakcióvázlat 3 általános képletű imidazolszármazékot úgy állíthatjuk elő, hogy egy 2 általános képletű dimetil-acetált standard körülmények között, például alkalmas szerves oldószerben, így acetonban *p*-toluolszulfonsavval reagáltatunk. A 2 általános képletű guanidint az 1 általános képletű karbodiimidből, a 3. és 4. reakcióvázlat szerinti eljárások alkalmazásával állíthatjuk elő.

SZINTETIKUS PÉLDÁK

A találmányt a következő részben a vegyületek előállítási példáin keresztül ismertetjük részletesebben. Az előállítási

példák csak illusztratív jellegűek, amelyek a találmány oltalmi körét, illetve terjedelmét nem korlátozzák. A hőmérsékleti értékeket Celsius-fok (°C) egységekben adjuk meg. Valamennyi oldószer a lehető legnagyobb tisztaságú. Amennyiben másképpen nem jelezzük, az összes reakciót vízmentes körülmények között, argonatmoszféra alatt hajtottuk végre.

A példákban a hőmérsékleti értékeket Celsius-fok (°C) egységben adjuk meg. Amennyiben másképpen nem jelezzük, a tömegspektrumokat gyorsatom-bombázásos módszer alkalmazásával VG Zab tömegspektrométeren vettük fel. Az <sup>1</sup>H-NMR spektrumokat Bruker AM 250 vagy AM 400 spektrométer alkalmazásával 250 MHz vagy 400 MHz térerő mellett vettük fel. A multiplicitásokat a következő rövidítésekkel jelöljük: s = szingulett, d = dublett, t = triplett, q = kvartett, m = multipliett, valamint br = széles szignál.

### 1. példa

#### A 4-([1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-5-oxo-1H-2-imidazolil]- -amino)-3-hidroxi-benzonitril előállítás

##### a) A 4-bróm-1,2-benzoxazolinon előállítás

10 g (74 mmol) benzoxazolin 50 ml ecetsavval készített és 0 °C-ra hűtött oldatához hozzáadtunk 7,4 g (74 mmol) nátrium-acetátot és 3,8 ml (74 mmol) brómot. A reakciókeveréket keverés közben hagytuk szobahőmérsékletre melegedni, majd 21 óra elteltével a csapadékot kiszűrtük és vízzel mostuk. A szűrletet csökkentett nyomás alatt betöményítettük, majd az így nyert további szilárd anyagot kiszűrtük és vízzel mostuk. A szilárd

anyagokat egyesítettük, amelynek eredményeként sárga, szilárd anyag formájában és 14 g mennyiségben (88 %-os kitermeléssel) nyertük a 4-bróm-1,2-benzoxazolinont. A termék nem igényelt további tisztítást.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,6 (s, 1H), 7,3 (d, 1H), 7,0 (d, 1H). MS (EI) m/e 212 ( $\text{M}^+$ ).

**b) A 4-ciano-1,2-benzoxazolinon előállítás**

5,0 g (23 mmol) 4-bróm-1,2-benzoxazolinon 11 ml *N,N*-dimetil-formamiddal készített oldatához hozzáadtunk 3,6 g (39 mmol) réz(I)-cianidot. A reakciókeveréket 6,5 órán keresztül 165 °C-on melegítettük, ezt követően szobahőmérsékletre hűtöttük, majd hozzáadtunk 20 ml vizet és 3,6 g nátrium-cianidot. A reakciókeveréket 12 órán keresztül 100 °C-on melegítettük, majd etil-acetáttal extraháltuk. A szerves oldatokat egyesítettük, majd vékony szilikagélrétegen szűrtük, amelynek során eluensként etil-acetátot alkalmaztunk. A szűrletet csökkentett nyomás alatt betöményítve barna, szilárd anyag formájában és 1,9 g mennyiségben (51 %-os kitermeléssel) nyertük a 4-ciano-1,2-benzoxazolinont. A termék nem igényelt további tisztítást.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,8 (s, 1H), 7,6 (d, 1H), 7,2 (d, 1H).

**b) Az *N*-(*terc*-butil-acetoxi)-4-ciano-1,2-benzoxazolinon előállítás**

1,9 g (15 mmol) 4-ciano-1,2-benzoxazolinon 50 ml tetrahidrofuránnal készített és 0 °C-ra hűtött oldatához hozzáadtunk 2,5 ml (18 mmol) trietil-amint, 0,37 g (3,0 mmol) 4-(dimetil-amino)-piridint és 4,3 g (20 mmol) BOC-anhidridet. A reakciókeveréket hagytuk szobahőmérsékletre melegedni, majd 1,5 óra elteltével a reakciót 100 ml víz hozzáadásával leállítottuk. A

vizes keveréket etil-acetáttal extraháltuk, a szerves oldatokat egyesítettük, telített, vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, vízmentes magnézium-szulfát felett szárítottuk, majd csökkentett nyomás alatt betöményítettük. Sárga, szilárd anyag formájában és 4,3 g mennyiségben (100 %-os kitermeléssel) nyertük az *N*-(*terc*-butil-acetoxi)-4-ciano-1,2-benzoxazolinont. A termék nem igényelt további tisztítást.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 7,8 (d, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,45 (s, 1H), 1,65 (s, 9H).

**f) Az *N*-(*terc*-butil-acetoxi)-4-ciano-2-hidroxi-anilin előállítás**

4,3 g (16 mmol) *N*-(*terc*-butil-acetoxi)-4-ciano-1,2-benzoxazolinon 50 ml metanollal készített oldatához hozzáadtunk 2,3 g (16 mmol) kálium-karbonátot. A reakciókeveréket 1,5 órán keresztül kevertettük, majd 100 ml víz hozzáadásával leállítottuk a reakciót. A vizes keveréket etil-acetáttal extraháltuk, a szerves oldatokat egyesítettük, telített, vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, vízmentes magnézium-szulfát felett szárítottuk, majd csökkentett nyomás alatt betöményítettük. Barna hab formájában és 3,1 g mennyiségben (81 %-os kitermeléssel) nyertük az *N*-(*terc*-butil-acetoxi)-4-ciano-2-hidroxi-anilint. A termék nem igényelt további tisztítást.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 7,7 (d, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,1 (d, 1H), 1,5 (s, 9H).

**e) A 4-ciano-2-hidroxi-anilin előállítása**

3,1 g (13 mmol) *N*-(*terc*-butil-acetoxi)-4-ciano-2-hidroxi-anilin 100 ml metilén-dikloriddal készített és 0 °C-ra hűtött oldatához trifluor-ecetsavat adtunk, majd a reakciókeveréket hagytuk szobahőmérsékletre melegedni. Két és fél óra elteltével

a reakciót 100 ml víz hozzáadásával leállítottuk, majd a vizes keveréket etil-acetáttal extraháltuk. A szerves oldatokat egyesítettük, telített, vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, vízmentes magnézium-szulfát felett szárítottuk, majd csökkentett nyomás alatt betöményítettük. A maradékként kapott nyers terméket gyorskromatográfiás úton tisztítottuk, amelynek során eluensként 1:1 térfogatarányú etil-acetát/hexán oldószerkeletet alkalmaztunk. Cserszínű, szilárd anyag formájában és 1,7 g mennyiségben (96 %-os kitermeléssel) nyertük a 4-ciano-2-hidroxi-anilint.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,0 (d, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,65 (d, 1H). MS (EI) m/e 134 ( $\text{M}^+$ ).

**f) Az *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-  
-tiokarbamid előállítása**

1,0 g (7,5 mmol) 4-ciano-2-hidroxi-anilin 20 ml etanollal készített oldatához hozzáadtunk 1,0 ml (7,5 mmol) (2-bróm-fenil)-izotiocianátot. A reakciókeveréket 24 órán keresztül kevertettük, majd csökkentett nyomás alatt betöményítettük. Ennek eredményeként sárga, szilárd anyag formájában és 2,0 g mennyiségben (77 %-os kitermeléssel) nyertük az *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-tiokarbamidot. A termék nem igényelt további tisztítást.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 10,8 (s, 1H), 10,1 (s, 1H), 9,6 (s, 1H), 8,7 (d, 1H), 7,7 (d, 1H), 7,6 (d, 1H), 7,4 (t, 1H), 7,25 (d, 1H), 7,2 (s, 1H és d, 2H). MS (EI) m/e 229 (100), 348 [75 ( $\text{M}^+$ )], 462 (30), 695 (10).

**g) Az *N*-(4-ciano-2-[(*tert*-butil-dimetil-szilil)-oxi]-fenil)-  
-*N'*-(2-bróm-fenil)-tiokarbamid előállítása**

3,5 g (10 mmol) *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fe-

nil)-tiokarbamid 50 ml tetrahydrofuránnal készített és 0 °C-ra hűtött oldatához hozzáadtunk 1,0 g (15 mmol) imidazolt és 1,5 g (10 mmol) (terc-butyl-dimethyl-szilil)-kloridot (TBSCl). Egy óra elteltével a reakciót 100 ml víz hozzáadásával leállítottuk, majd a vizes keveréket etil-acetáttal extraháltuk. A szerves oldatokat egyesítettük, telített, vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, vízmentes magnézium-szulfát felett szárítottuk és csökkentett nyomás alatt betöményítettük. A maradékként kapott nyers terméket etil-acetátból kristályosítottuk, amelynek eredményeként sárga, szilárd anyag formájában és 3,9 g mennyiségben (84 %-os kitermeléssel) nyertük az *N*-{4-ciano-2-[(terc-butyl-dimethyl-szilil)-oxi]-fenil}-*N'*-(2-bróm-fenil)-tiokarbamidot.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 9,9 (s, 1H), 9,2 (s, 1H), 8,1 (d, 1H), 7,7 (d, 1H), 7,6 (d, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,4 (t, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,2 (t, 1H). MS (EI) m/e 347 [100 (M<sup>+</sup>)], 175 (40), 461 (40).

**h) Az *N*-{4-ciano-2-[(terc-butyl-dimethyl-szilil)-oxi]-fenil}-*N'*-(2-bróm-fenil)-karbodiimid előállítása**

3,4 g (7,4 mmol) *N*-{4-ciano-2-[(terc-butyl-dimethyl-szilil)-oxi]-fenil}-*N'*-(2-bróm-fenil)-tiokarbamid 40 ml metilén-dikloriddal készített és 0 °C-ra hűtött oldatához hozzáadtunk 3,1 ml (22 mmol) trietil-amint, 20 mg 4-(dimethyl-amino)-piridint és 1,1 ml (15 mmol) mezil-kloridot. Huszonöt perccel később a reakciót 100 ml víz hozzáadásával leállítottuk, majd a vizes keveréket etil-acetáttal extraháltuk. A szerves oldatokat egyesítettük, telített, vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, vízmentes magnézium-szulfát felett szárítottuk és csökkentett



nyomás alatt betöményítettük. Sárga, szilárd anyag formájában és 3,3 g mennyiségben (100 %-os kitermeléssel) nyertük az *N*-{4-ciano-2-[(*terc*-butil-dimetil-szilil)-oxi]-fenil}-*N'*-(2-bróm-fenil)-karbodiimidet.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,7 (d, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,4 (m, 4H), 7,15 (t, 1H).

i) **Standard eljárás difenil-guanidinek előállítására.**

**A 4-{{1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-5-oxo-1*H*-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril előállítása**

112 mg (0,26 mmol) *N*-{4-ciano-2-[(*terc*-butil-dimetil-szilil)-oxi]-fenil}-*N'*-(2-bróm-fenil)-karbodiimid 2 ml acetonitrilrel készített oldatához 0,10 ml (0,57 mmol) *N,N*-diizopropil-etil-amint és 40 mg (0,29 mmol) glicin-etil-észter-hidrokloridot. Harminc perc leteltével a rövid szénláncú alkilcsoportet csökkentett nyomás alatt betöményítettük. A maradékot meghígítottuk 1 ml tetrahidrofuránnal és 0,1 ml metanollal, a keveréket 0 °C-ra hűtöttük, majd hozzáadtunk 0,29 ml (0,29 mmol) (tetrabutil-ammónium)-fluoridot. Öt perccel később a reakciót 2 ml víz hozzáadásával leállítottuk, majd a keveréket etil-acetáttal extraháltuk. A szerves oldatokat egyesítettük, telített, vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, vízmentes magnézium-szulfát felett szárítottuk, majd csökkentett nyomás alatt betöményítettük. A maradékként kapott nyers terméket metilén-dikloridból végzett átkristályosítással tisztítottuk, amelynek eredményeként cserszínű por formájában és 70 mg mennyiségben (73 %-os kitermeléssel) nyertük a 4-{{1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-5-oxo-1*H*-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitrilt.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm): 7,6 (1H, d), 7,55 (1H, d), 7,4 (1H,

s), 7,3 (2H, dd), 7,0 (2H, m). MS (EI) m/e 372 [100 ( $M^+$ )].

**k) Az *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-*N''*-  
-[(klór-metil)-szulfonil]-guanidin előállítása**

Az általános eljárás alkalmazásával 105 mg (0,24 mmol) *N*-{4-ciano-2-[(*terc*-butil-dimetil-szilil)-oxi]-fenil}-*N'*-(2-bróm-fenil)-karbodiimidet, 45  $\mu$ l (0,26 mmol) *N,N*-diizopropil-etil-amint, 16  $\mu$ l (0,26 mmol) (2-hidroxi-etil)-amint és 0,53 ml (0,53 mmol) (tetrabutil-ammónium)-fluoridot reagáltattunk 2 ml tetrahidrofuránban és 0,1 ml metanolban. Ennek eredményeként cserszínű por formájában és 52 mg mennyiségben (57 %-os kitermeléssel) nyertük az *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-*N''*-[(klór-metil)-szulfonil]-guanidint.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,55 (2H, m), 7,2 (1H, t), 7,1 (1H, d), 7,05 (1H, s), 6,95 (1H, d), 6,85 (1H, t). MS (EI) m/e 376 [100 ( $M^+$ )], 490 (20).

**l) Az *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-*N''*-  
-[(klór-metil)-szulfonil]-guanidin előállítása**

Az általános eljárás alkalmazásával 220 mg (0,51 mmol) *N*-{4-ciano-2-[(*terc*-butil-dimetil-szilil)-oxi]-fenil}-*N'*-(2-bróm-fenil)-karbodiimidet, 63  $\mu$ l (0,56 mmol) *N,N*-diizopropil-etil-amint, 72 mg (0,56 mmol) klór-metánszulfonamidot és 0,13 ml (0,13 mmol) (tetrabutil-ammónium)-fluoridot reagáltattunk 1 ml tetrahidrofuránban és 0,1 ml metanolban. Ennek eredményeként cserszínű por formájában és 16 mg mennyiségben (32 %-os kitermeléssel) nyertük az *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-*N''*-[(klór-metil)-szulfonil]-guanidint.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, CD $_3$ OD)  $\delta$  (ppm): 7,85 (1H, d), 7,7 (1H, d), 7,5 (1H, d), 7,4

(1H, t), 7,25 (1H, t), 7,15 (1H, d), 7,05 (1H, s), 4,7 (2H, s).  
MS (EI) m/e 887 [100 (M<sub>x</sub>2)], 490 (20).

**m) Az *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-*N''*-(2,2-dimetoxi-etil)-guanidin előállítása**

Az általános eljárás alkalmazásával 250 mg (0,58 mmol) *N*-{4-ciano-2-[(*terc*-butil-dimetil-szilil)-oxi]-fenil}-*N'*-(2-bróm-fenil)-karbodiimidet, 72 µl (0,64 mmol) *N,N*-diizopropil-etil-amint, 70 µl (0,64 mmol) (2,2-dimetoxi-etil)-amint és 0,70 ml (0,70 mmol) (tetrabutil-ammónium)-fluoridot reagáltatunk 6 ml tetrahidrofuránban és 0,1 ml metanolban. Ennek eredményeként cserszínű por formájában és 170 mg mennyiségben (70 %-os kitermeléssel) nyertük az *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-*N''*-(2,2-dimetoxi-etil)-guanidint. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 7,6 (1H, m), 7,5 (1H, d), 7,15 (1H, t), 7,1 (1H, d), 7,0 (1H, s), 6,9 (1H, d), 6,8 (1H, t), 4,45 (1H, t), 3,3 (6H, s). MS (EI) m/e 420 [100 (M<sup>+</sup>)].

**n) A 4-{[1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-1H-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril előállítása**

46,2 mg (0,12 mmol) *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-*N''*-(2-hidroxi-etil)-guanidin 2 ml tetrahidrofuránnal készített szobahőmérsékletű oldatához hozzáadtunk 140 mg (0,53 mmol) trifenil-foszfint és 41 µl (0,26 mmol) dietil-azo-dikarboxilátot (DEAD). Két és fél óra elteltével a reakciót 1 ml víz hozzáadásával leállítottuk, majd a vizes keveréket etil-acetáttal extraháltuk. A szerves oldatokat egyesítettük, telített, vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, vízmentes magnézium-szulfát felett szárítottuk, majd csökkentett nyomás alatt

betöményítettük. A maradékként kapott nyers terméket oszlopkromatográfiás úton tisztítottuk, amelynek során eluensként 10:90 térfogatarányú metanol/etil-acetát oldószerkeletet alkalmaztunk. Ennek eredményeként cserszínű por formájában és 28 mg mennyiségben (65 %-os kitermeléssel) nyertük a *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-*N''*-(2,2-dimetoxi-etil)-guanidint.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 7,6 (1H, d), 7,4 (2H, m), 7,2 (1H, t), 7,0 (3H, d és s), 3,95 (2H, t), 3,75 (2H, t). MS (EI)  $m/e$  358 [100 ( $\text{M}^+$ )].

**o) A 4-{{4-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-1,1-dioxo-1,2,4-tiadiazol-3-il]-amino}-3-hidroxi-benzonitril előállítás**

220 mg (0,39 mmol) *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-*N''*-[(klór-metil)-szulfonil]-guanidin 4 ml *N,N*-dimetil-formamiddal készített szobahőmérsékletű oldatához hozzáadtunk 20 mg (0,78 mmol) nátrium-hidridet. Huszonnégy órával később a reakciót 5 ml víz hozzáadásával leállítottuk, majd a vizes keveréket etil-acetáttal extraháltuk. A szerves oldatokat egyesítettük, telített, vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, vízmentes magnézium-szulfát felett szárítottuk, majd csökkentett nyomás alatt betöményítettük. A maradékként kapott nyers terméket oszlopkromatográfiás úton tisztítottuk, amelynek során eluensként 75:25 térfogatarányú etil-acetát/hexán oldószerkeletet alkalmaztunk. Ennek eredményeként cserszínű por formájában és 100 mg mennyiségben (63 %-os kitermeléssel) nyertük a 4-{{4-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-1,1-dioxo-1,2,4-tiadiazol-3-il]-amino}-3-hidroxi-benzonitrilt.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 8,1 (1H, d), 7,85 (1H, d), 7,7 (1H, d), 7,6 (1H, t), 7,5 (1H,

t), 7,2 (1H, d), 7,0 (1H, s), 4,75 (2H, q). MS (EI) m/e 406 [100 (M<sup>+</sup>)].

**p) A 4-{{[1-(2-bróm-fenil)-1H-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril előállítás**

120 mg (0,28 mmol) *N*-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-*N'*-(2-bróm-fenil)-*N''*-(2,2-dimetoxi-etil)-guanidin 1 ml acetonnal készített szobahőmérsékletű oldatához hozzáadtunk 1 mg *p*-toluolszulfonsavat. Huszonnégy órával később a reakciót 5 ml víz hozzáadásával leállítottuk, majd a vizes keveréket etil-acetáttal extraháltuk. A szerves oldatokat egyesítettük, telített, vizes nátrium-klorid-oldattal mostuk, vízmentes magnézium-szulfát felett szárítottuk, majd csökkentett nyomás alatt betöményítettük. A maradékként kapott nyers terméket oszlopkromatográfiás úton tisztítottuk, amelynek során eluensként etil-acetátot alkalmaztunk. Ennek eredményeként cserszínű por formájában 12 %-os kitermeléssel 12 mg 4-{{[1-(2-bróm-fenil)-1H-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitrilt, valamint cserszínű por formájában 4 %-os kitermeléssel 4 mg 4-{{[1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-5-metoxi-1H-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitrilt nyerünk.

4-{{[1-(2-Bróm-fenil)-1H-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 7,45 (2H, t), 7,35 (1H, d), 7,3 (1H, s), 7,25 (1H, d), 7,15 (1H, t), 7,1 (1H, s), 7,0 (1H, s), 6,75 (1H, t). MS (EI) m/e 356 [100 (M<sup>+</sup>)].

4-{{[1-(2-Bróm-fenil)-4,5-dihidro-5-metoxi-1H-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 7,65 (1H, t), 7,55 (1H, d), 7,25 (1H, t), 7,2 (2H, s és

d), 7,05 (1H, d), 6,95 (1H, t), 5,8 (1H, d), 3,8 (1H, dd), 3,5 (1H, dd), 3,25 (3H, s). MS (EI) m/e 388 [100 (M<sup>+</sup>)].

### KEZELÉSI ELJÁRÁSOK

Az (I) általános képletű vegyületek és gyógyászatilag elfogadható sóik felhasználhatók olyan betegségek humán vagy más emlős szervezetben történő profilaktikus vagy terápiás kezelésére szolgáló gyógyszerkészítmények előállítására, amely betegségeket az emlőssejtek, például monociták és/vagy makrofágok, illetve más, az IL-8 $\alpha$  vagy IL-8 $\beta$  receptorhoz, más néven I. típusú vagy II. típusú receptorhoz kötődő kemokinek túlzott vagy szabályozatlan IL-8 citokintermelése súlyosbít vagy okoz.

Ennek megfelelően a találmány tárgyát képezi egy eljárás kemokin mediált betegségek kezelésére, ahol a kemokin egy IL-8 $\alpha$  vagy IL-8 $\beta$  receptorhoz kötődő kemokin, amely eljárás során egy (I) általános képletű vegyületnek vagy gyógyászatilag elfogadható sójának hatásos mennyiségét adjuk be. Közelebbről a kemokin IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , ENA-78 vagy NAP-2.

Az (I) általános képletű vegyületeket olyan mennyiségben adjuk be, amely elegendő a citokin funkció, különösen az IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , ENA-78 vagy NAP-2 funkció oly mértékű gátlásához, hogy a citokin funkció a normális szintekre vagy bizonyos esetekben a normális alatti szintekre csökkenjen, és így csillapítsa vagy megakadályozza a betegséget. A jelen találmánnyal összefüggésben az IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , ENA-78 vagy NAP-2 abnormális mennyiségei három tényezőből állnak össze: (i) a szabad IL-8 mennyisége legalább 1 pikogramm/milliliter ér-

tékű; (ii) bármely normálisnál nagyobb mennyiségű, IL-8-hoz, GRO $\alpha$ -hoz, GRO $\beta$ -hoz, GRO $\gamma$ -hoz, NAP-2-höz vagy ENA-78-hoz kapcsolódó sejt; vagy (iii) az IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , ENA-78 vagy NAP-2 az alapszintnél nagyobb mennyiségben van jelen azokban sejtekben vagy szövetekben, amelyekben az IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , ENA-78 vagy NAP-2 termelődik.

Számos olyan betegállapot van, amelynek kialakulásában vagy súlyosbodásában szerepet játszik a túlzott vagy szabályozatlan IL-8 termelés. A kemokin mediált betegségek körébe tartoznak — egyebek mellett — például a következők: psoriasis, atopiás dermatitis, osteoarthritis, reumatoid arthritis, asztma, krónikus obstruktív pulmonális betegség, előrehaladott légzőszervi distressz szindróma, gyulladáscélú bélbetegség, Crohn-féle betegség, ulceratív colitis, stroke, szepszis, scleroderma, endotoxikus sokk, Gram-negatív szepszis, toxikus sokk szindróma, reperfüziós szív- vagy vesesérülés; glomerulonephritis, trombózis, graft versus host reakció, Alzheimer-betegség, allograft rejectio, malária, restenosis, angiogenesis, atherosclerosis, osteoporosis, gingivitis és nemkivánatos haematopoieticus őssejt-felszabadulás.

Az ilyen jellegű betegségeket masszív neutrofilbeszűrődés, T-sejt beszűrődés vagy neovasculáris növekedés jellemzi. Valamennyi ilyen betegségben fokozott a gyulladáscélú helyre történő neutrofil-kemotaxisért vagy az irányított endothelialis sejtnövekedésért felelős IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , ENA-78 vagy NAP-2 termelés. Az egyéb gyulladáscélú citokinekkal (IL-1, TNF és IL-6) ellentétben az IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , ENA-78 vagy NAP-2 ren-

delkezik azzal az egyedi jellemzővel, hogy elő tudja segíteni a neutrofil-kemotaxist, az enzimek felszabadulását, ezen belül az elasztáz-felszabadulást, valamint a szuperoxid-termelést és -aktiválást. Az  $\alpha$ -kemokinek, de különösen az I. vagy II. típusú IL-8 receptorokon keresztül működő GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , ENA-78 vagy NAP-2, az endothelialis sejtek irányított növekedésének elősegítése révén elősegíthetik a tumorok neovascularisatióját. Ennek megfelelően az IL-8 indukált kemotaxis vagy aktiváció gátlása közvetlenül csökkentheti a neutrofilbeszűrődést.

Az utóbbi időben bizonyítást nyert, hogy a kemokinek a HIV fertőzések kezelésében is szerepet játszanak [Littleman et al., NATURE, 661 (1996); és Koup et al., NATURE, 667 (1996)].

A találmány a kemokin receptor antagonisták (I) általános képletű vegyületek révén lehetőséget nyújt az akut állapotú központi idegrendszeri sérülések kezelésére, illetve a központi idegrendszeri sérülések veszélyének fokozottan kitett egyedek esetén a központi idegrendszeri sérülések megelőzésére is.

A jelen leírásban alkalmazott "központi idegrendszeri sérülések" kifejezés nyílt és penetráló fejsérülést, például műtéti vagy zárt fej traumás sérülést jelöl. A kifejezés ezenkívül magában foglalja az ischaemiás stroke-ot, különösen az agyi területet érintő ischaemiás stroke-ot is.

Az ischaemiás stroke-ot egy olyan fokális neurológiai rendellenességként definiálhatjuk, amely egy konkrét agyi terület elégtelen vérellátásának az eredménye, általában embólia, trombózis vagy az ér lokális atheromás elzáródásának a következménye. Ezekben az esetekben megnő a gyulladási citokinek

szerepe, így a találmány lehetőséget nyújt az ilyen sérülések kezelésére is. Akut sérülés esetén viszonylag kis kezelésre van csak szükség.

A TNF- $\alpha$  egy gyulladás előtti (proinflammatorikus) hatásokkal rendelkező citokin, amelynek hatásai magukban foglalják az endothelialis leukocita adhézións molekula expresszióját is. A leukociták beszűrődnek az ischaemiás agysérülés helyére, így a TNF-et gátló vagy a TNF mennyiségét csökkentő vegyületek felhasználhatók az ischaemiás agysérülés kezelésére [Liu *et al.*, *STROKE*, 25 (7), 1481-1488 (1994)].

Zárt fejsérülési modelleket és kevert 5-LO/CO hatóanyagokkal végzett kezelést ismertetnek a következő szakirodalmi helyen: Shohami *et al.*, *J. OF VAISC. & CLINICAL PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY*, 3 (2), 99-107 (1992). Azt találták, hogy a csökkenő ödémaképződést eredményező kezelés javítja a kezelt állatokban a funkcionális működést.

Az (I) általános képletű vegyületeket olyan mennyiségben adjuk be, ami elegendő ahhoz, hogy meggátolja az IL-8 $\alpha$  vagy IL-8 $\beta$  receptorhoz kötődő IL-8-nak az említett receptorokhoz történő kötődését, amit a neutrofil-kemotaxis és -aktiváció csökkenése bizonyít. Annak a felismerése, hogy az (I) általános képletű vegyületek az IL-8 kötődésének az inhibitorai, az (I) általános képletű vegyületeknek az alábbiakban ismertetett *in vitro* receptor kötési vizsgálatokban kifejtett hatásain alapul. Az (I) általános képletű vegyületek bizonyos esetekben a rekombináns I. típusú és II. típusú IL-8 receptoroknak a kettős inhibitorai. Előnyösen a vegyületek csak egyetlen receptornak,

még előnyösebben a II. típusú receptornak az inhibitorai.

A jelen leírásban alkalmazott "IL-8 (által) mediált betegség vagy (beteg)állapot" kifejezés bármely és valamennyi olyan betegállapotra vonatkozik, amelyben az IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , ENA-78 vagy NAP-2 szerepet játszik, akár magának az IL-8-nak, GRO $\alpha$ -nak, GRO $\beta$ -nak, GRO $\gamma$ -nak, NAP-2-nek vagy ENA-78-nak a képződése révén, akár ha az IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , ENA-78 vagy NAP-2 okozza más monokin, egyebek mellett például IL-1, IL-6 vagy TNF felszabadulását. Ennek megfelelően IL-8 által mediált betegállapotként veszünk figyelembe például egy olyan betegállapotot is, amelyben az IL-1 az elsődleges komponens, amely IL-1-nek a képződése vagy hatása az IL-8-ra adott válaszreakcióban teljeseedik ki vagy választódik ki.

A jelen leírásban alkalmazott "kemokin (által) mediált betegség vagy (beteg)állapot" kifejezés bármely és valamennyi olyan betegállapotra vonatkozik, amelyben egy egy IL-8 $\alpha$  vagy IL-8 $\beta$  receptorhoz kötődő kemokin játszik szerepet, amilyen például — egyebek mellett — az IL-8, a GRO $\alpha$ , a GRO $\beta$ , a GRO $\gamma$ , a NAP-2 vagy az ENA-78. Ebbe a körbe tartozik az olyan betegség is, amelyben az IL-8 játszik szerepet, akár magának az IL-8-nak a képződése révén, akár ha az IL-8 okozza más monokin, egyebek mellett például IL-1, IL-6 vagy TNF felszabadulását. Ennek megfelelően IL-8 által mediált betegállapotként veszünk figyelembe például egy olyan betegállapotot is, amelyben az IL-1 az elsődleges komponens, amely IL-1-nek a képződése vagy hatása az IL-8-ra adott válaszreakcióban teljeseedik ki vagy választódik ki.

A jelen leírásban alkalmazott "citokin" kifejezés bármely

olyan szekretált polipeptidet magában foglal, amely befolyásolja a sejtek funkcionális működését, és amely egy olyan molekula, amely az immun-, a gyulladásos vagy a haematopoeticus válaszreakcióban módosítja a sejtek közötti kölcsönhatásokat. A citokin magában foglal — egyebek mellett — például monokineket és limfokineket, függetlenül attól, hogy mely sejt termeli ezeket. Például egy monokint általában egy egymagvú sejt, például egy makrofág és/vagy egy monocita termel és szekretál. Ugyanakkor azonban számos más sejt is termel monokineket, amilyenek például a következők: természetes killersejtek, fibroblasztok, bazofilek, neutrofilek, endothelialis sejtek, agy asztrociták, csontvelő stromasejtek, epidermális keratinociták és B-limfociták. A limfokineket általában limfocitasejtek termelik. A citokinek példái közé tartoznak — egyebek mellett — a következők: interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), tumor nekrosis faktor-alfa (TNF- $\alpha$ ) és tumor nekrosis faktor-béta (TNF- $\beta$ ).

A jelen leírásban alkalmazott "kemokin" kifejezés bármely olyan szekretált polipeptidet magában foglal, amely a fentiekben meghatározott citokinekhez hasonlóan befolyásolja a sejtek funkcionális működését, és amely egy olyan molekula, amely az immun-, a gyulladásos vagy a haematopoeticus válaszreakcióban módosítja a sejtek közötti kölcsönhatásokat. A kemokinek elsődlegesen a sejt transzmembranonokon keresztül szekretálódnak; a kemokinek specifikus fehérvérsejtek és leukociták, neutrofilek, monociták, makrofágok, T-sejtek, B-sejtek, endothelialis sejtek és simaizomsejtek kemotaxisát és aktivációját okozzák. A kemo-

kinek példái közé tartoznak — egyebek mellett — a következők: IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , NAP-2, ENA-78, IP-10, MIP-1 $\alpha$ , MIP- $\beta$ , PF4, valamint MCP 1, 2 és 3.

Az (I) általános képletű vegyületek gyógyászati felhasználásához a vegyületeket a szokásos gyógyszerészeti gyakorlatnak megfelelően gyógyszerkészítményekké formáljuk. A találmány oltalmi körébe tartozik egy olyan gyógyszerkészítmény is, amely egy (I) általános képletű vegyület hatásos, nemtoxikus mennyiségét és egy gyógyászatilag elfogadható hordozót vagy hígítót tartalmaz.

Az (I) általános képletű vegyületeket, gyógyászatilag elfogadható sóikat és a vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítményeket a hatóanyagok beadására szolgáló szokásos módszerek bármelyikének alkalmazásával, például orális, topikális, parenteralis úton vagy inhaláció alkalmazásával beadhatjuk. Az (I) általános képletű vegyületeket szokásos dózisformákban adhatjuk be, amely dózisformákat úgy állíthatjuk elő, hogy egy (I) általános képletű vegyületet a szokásos formálási eljárásoknak megfelelően egy standard gyógyszerészeti hordozóval keverünk össze. Az (I) általános képletű vegyületeket szokásos adagolásban egy második, ismert gyógyászatilag aktív vegyülettel kombinálva is beadhatjuk. A formálási eljárások során az összetevőket a kívánt készítménynek megfelelően összekeverhetjük, granulálhatjuk és préselhetjük, illetve oldhatjuk. Meg kívánjuk jegyezni, hogy a gyógyászatilag elfogadható hordozó vagy hígító formáját és jellegét az alkalmazandó hatóanyag mennyisége, a beadás választott módja és más jól ismert körülmények határozzák meg. A

hordozónak olyan értelemben kell "elfogadható"-nak lennie, hogy a hordozónak egyrészt kompatibilisnek kell lennie a készítmény egyéb összetevőivel, másrészt a hordozó nem lehet káros a befogadó szervezetre.

Az alkalmazott gyógyszerészeti hordozó például szilárd vagy cseppfolyós lehet. A szilárd hordozók példái közé tartoznak — egyebek mellett — a következők: laktóz, gipsz, szacharóz, talkum, zselatin, agar, pektin, akácmézga, magnézium-sztearát, sztearinsav stb. A folyékony hordozók példái közé tartozik — egyebek mellett — a cukorszirup, a mogyoróolaj, az olívaolaj stb. Hasonló módon a hordozó vagy hígító a szakterületen jól ismert időkésleletető anyagot is tartalmazhat, amilyen például a gliceril-monosztearát vagy a gliceril-disztearát önmagában vagy egy viasszal együtt.

A legkülönbözőbb gyógyszerészeti formákat használhatjuk. Ha például szilárd hordozót alkalmazunk, a kompozíciót tabletázhatjuk, elhelyezhetjük egy kemény zselatin kapszulában, alkalmazhatjuk por vagy pellet, illetve ostya vagy gyógycukorka formájában. A szilárd hordozó mennyisége széles határok között változtatható, de előnyösen körülbelül 25 mg és körülbelül 1 g közötti mennyiségű. Amennyiben folyékony hordozót alkalmazunk, a készítmény szirup, emulzió, lágú zselatin kapszula, steril injektálható folyadék (például ampulla) vagy nemvizes folyékony szuszpenzió formájában lehet.

Az (I) általános képletű vegyületeket topikálisan is beadhatjuk; a topikális beadás nemszisztémás alkalmazási forma. Ennek során egy (I) általános képletű vegyületet külsőleg az epi-

dermisre vagy a szájüregben belül visszük fel, illetve a vegyületet becseppentjük a szembe, a fülbe és az orrba. Az ilyen alkalmazás esetén a vegyület nem kerül jelentős mennyiségben a véráramba. Az ezzel ellentétes szisztémás beadás az orális, az intravénás, az intraperitonealis és az intramuszkuláris beadást foglalja magában.

A topikális beadásra alkalmas készítmények magukban foglalják az olyan folyékony vagy félszilárd kompozíciókat, például linimentumokat, lóciókat, krémeket, kenőcsöket vagy pasztákat, amelyek képesek a bőrön áthatolva eljutni a gyulladás helyére, valamint a szembe, fülbe és orrba történő beadásra alkalmas cseppeket. Topikális alkalmazás esetén a hatóanyagnak a készítmény tömegére vonatkoztatott mennyisége 0,001 tömeg% és 10 tömeg% közötti értékű, például 1-2 tömeg%. A készítmény akár 10 tömeg% mennyiségű hatóanyagot is tartalmazhat, de előnyösen a kompozíció hatóanyag-koncentrációja 5 tömeg%nál kisebb, még előnyösebben 0,1 tömeg% és 1 tömeg% közötti értékű.

A találmány szerinti lóciók alkalmasak a bőrre vagy a szemre történő felvitelre. A szemre alkalmazható lóció olyan steril vizes oldatból állhat, amely adott esetben egy baktericid hatóanyagot is tartalmaz. Az ilyen készítményt a cseppek formálására alkalmazott eljárásokhoz hasonló módon állíthatjuk elő. A bőrön alkalmazható lóciók vagy a linimentumok száradás-gyorsító és a bőrt hűtő anyagokat, például alkoholt vagy acetont és/vagy nedvesítőszeret, például glicerint vagy egy olajat, például ricinusolajat vagy arachiszolajat (földimogyoró-olajat) is tartalmazhatnak.

A találmány szerinti krémek, kenőcsök és paszták a hatóanyag külsőleges felvitelére szolgáló félszilárd készítmények. Ezeket úgy állíthatjuk elő, hogy a hatóanyagot finoman eloszlatott vagy elporított formáját önmagában vagy egy vizes vagy nemvizes folyadékkal készített oldatként vagy szuszpenzióként egy alkalmas berendezés segítségével összekeverjük egy zsíros vagy nemzsíros alappal. Az említett alap — egyebek mellett — például a következőket tartalmazhatja: szénhidrogének, például kemény, lágy vagy folyékony paraffin, glicerin, méhviasz, fémesszappan; ragasztóanyag; természetes eredetű olaj, például mandula-, kukorica-, arachis- (földimogyoró-), ricinus- vagy olívaolaj; gyapjúzsír vagy származékai vagy egy zsírsav, például sztearinsav vagy olajsav egy alkohollal, például propilén-glikollal együtt, illetve egy makrogél. A készítmény alkalmas felületaktív anyagokat is tartalmazhat, amilyen például egy anionos, kationos vagy nemionos felületaktív anyag, így egy szorbítánészter vagy ennek egy poli(oxi-etilén)-származéka. A kompozíció ezenkívül szuszpendálószeret, például természetes gumikat, cellulózszármazékokat vagy szervesetlen anyagokat, például kovasavakat és más összetevőket, például lanolint is tartalmazhatnak.

A találmány szerinti cseppek steril vizes vagy olajos oldatokból vagy szuszpenziókból állhatnak, amelyeket úgy állíthatunk elő, hogy a hatóanyagot feloldjuk egy baktericid és/vagy fungicid hatóanyag és/vagy bármely más alkalmas prezervatívum, előnyösen egy felületaktív anyagot tartalmazó alkalmas vizes oldatában. Az így nyert oldatot szűrhetjük, majd egy alkalmas

tartályba helyezhetjük, amely tartályt ezt követően lezárunk és autoklávban vagy 30 percen keresztül 98-100 °C hőmérsékleten tartva sterilizálunk. Alternatív módon az oldatot szűréssel is sterilizálhatjuk, majd az így nyert oldatot aszeptikus körülmények között töltjük be a tartályba. A cseppekben történő felhasználásra alkalmas baktericid és fungicid hatóanyagok példái közé tartozik — egyebek mellett — a fenil-higany(II)-nitrát vagy -acetát (0,002 %), a benzalkónium-klorid (0,01 %) és a klór-hexidin-acetát (0,01 %). Az olajos oldatok előállítására alkalmas oldószerek körébe tartozik a glicerin, a hígított alkohol és a propilén-glikol.

Az (I) általános képletű vegyületeket parenteralisan, azaz intravénás, intramuszkuláris, szubkután, intranasalis, intrarectalis, intravaginalis vagy intraperitonealis úton is beadhatjuk. A parenteralis beadás előnyös módjai közé a szubkután és az intramuszkuláris beadás tartozik. Az ilyen beadásra szolgáló alkalmas dózisformákat szokásos módszerek alkalmazásával állíthatjuk elő. Az (I) általános képletű vegyületeket inhalációval, például intranasalis és orális inhaláció útján is beadhatjuk. Az ilyen beadásra szolgáló alkalmas dózisformákat, például az aeroszol készítményeket és a dózisdagoló formákat szokásos módszerek alkalmazásával állíthatjuk elő.

Az (I) általános képletű vegyületek itt ismertetett alkalmazásának valamennyi eljárásában a napi orális dózis testtömeg-kilogrammonként körülbelül 0,01 mg és körülbelül 80 mg közötti értékű. A napi parenteralis dózis testtömeg-kilogrammonként körülbelül 0,001 mg és körülbelül 80 mg közötti értékű. A napi

topikális dózis előnyösen 0,1 mg és 150 mg közötti értékű, amelyet naponként egy-négy alkalommal, előnyösen egy nap kétszer vagy háromszor alkalmazunk. A napi inhalációs dózis testtömeg-kilogrammonként előnyösen körülbelül 0,01 mg és körülbelül 1 mg közötti értékű. Az ezen a területen jártas szakember számára nyilvánvaló, hogy egy (I) általános képletű vegyület vagy gyógyászatilag elfogadható sója esetén az egyedi adagolás optimális mennyiségét és gyakoriságát a kezelendő állapot jellege és mértéke, a beadás formája, útja és helye, valamint a kezelendő beteg állapota határozza meg. Az említett optimális értékeket szokásos módszerek alkalmazásával határozhatjuk meg. Az ezen a területen jártas szakember számára az is nyilvánvaló, hogy az optimális kúrát, azaz egy (I) általános képletű vegyület vagy gyógyászatilag elfogadható sója esetén a naponként beadandó dózisok számát, valamint a kezelés napjainak a számát a ezen a területen jártas szakember a szokásosan alkalmazott kezelés-meghatározási tesztek felhasználásával határozhatja meg.

A találmányt a következő részben biológiai példákon keresztül ismertetjük részletesebben. A biológiai példák csak illusztratív jellegűek, amelyek a találmány oltalmi körét, illetve terjedelmét nem korlátozzák.

### BIOLÓGIAI PÉLDÁK

A találmány szerinti vegyületek IL-8 és GRO $\alpha$  kemokin gátló hatásait a következő *in vitro* vizsgálattal határoztuk meg.

#### **Receptorkötési vizsgálatok**

A kísérletet 2000 Ci/mmol fajlagos aktivitású humán rekombináns [ $^{125}$ I]IL-8 (Amersham Corp., Arlington Heights, Illinois, Amerikai Egyesült Államok) és GRO $\alpha$  (NEN - New England Nuclear) alkalmazásával végeztük. Valamennyi egyéb vegyszer analitikai tisztaságú volt. A rekombináns humán IL-8 $\alpha$  és IL-8 $\beta$  receptorok nagy mennyiségeit ismert módon [Holmes *et al.*, SCIENCE, 253, 1278 (1991)], aranyhörcsög petefészeksejtekben egyedileg expresszáltuk. Az aranyhörcsög petefészekmembránokat ismert módon [Haour *et al.*, J. BIOL. CHEM., 249, 2195-2205 (1974)] homogenizáltuk. Az ismert megoldáshoz képest az egyetlen eltérés az volt, hogy a homogenizációs puffert 10 mM Tris-HCl, 1 mM magnézium-szulfát, 0,5 mM EDTA (etilén-diamin-tetraecetsav), 1 mM MPMSF ( $\alpha$ -toluolszulfonil-fluorid), 0,5 mg/liter Leupeptin, pH 7,5, pufferre cseréltük. A membránprotein-koncentrációt standardként bovin-szérumalbumint alkalmazva a Pierce Co. mikrovizsgálati készletével (kit) határoztuk meg. Valamennyi vizsgálatot 96 vájatú mikrolemezen végeztük. Minden egyes reakciókeverék a következő komponenseket tartalmazta: 0,25 nM  $^{125}$ I-IL-8 vagy  $^{125}$ I-GRO $\alpha$ , és 0,5  $\mu$ g/ml IL-8Ra vagy 1,0  $\mu$ g/ml IL-8Rb membrán, 1,2 mM magnézium-szulfátot, 0,1 mM EDTA-t, 25 mM nátrium-kloridot és 0,03 % CHAPS-t tartalmazó 200 mM Bis-Trisporane és 0,4 mM Tris-HCl pufferben. Az előbbieken kívül az előzetesen dimetil-szulfoxidban oldott vizsgálandó hatóanyagot vagy vegyü-

letet 0,01 nM és 100  $\mu$ M közötti végkoncentrációhoz szükséges mennyiségekben alkalmaztuk. A vizsgálatot a  $^{125}$ I-IL-8 hozzáadásával indítottuk. A lemezt egy órán keresztül szobahőmérsékleten tartottuk, majd egy Tomtec készülékkel 1 % poli(etilén-imin)-nel blokkolt üvegszálás szűrőn szűrést végeztünk. A szűrőt 25 mM nátrium-klorid, 10 mM Tris-HCl, 1 mM magnézium-szulfát, 0,5 mM EDTA, 0,03 % CHAPS, pH 7,4 pufferrel háromszor mostuk, ezt követően szárítottuk, majd Betaplate folyadékszintillációs számlálóval mértük a radioaktivitást. A rekombináns IL-8Ra vagy I. típusú receptort más néven nem-permisszív receptorként, míg az IL-8Rb vagy II. típusú receptort más néven permisszív receptorként is hivatkozunk.

Ebben a vizsgálatban az (I) általános képletű vegyületeknek a kémiai előállítási példákban (1-15. példa) ismertetett képviselői az IL-8 gátlás modelljében körülbelül 1  $\mu$ g/ml-nél kisebb IC<sub>50</sub> értéket mutattak. A vizsgált vegyületek közül az 1-12. példa szerinti vegyületek hozzávetőleg azonos mértékben a Gro- $\alpha$  kötést is gátolták.

### **Kemotaxis vizsgálat**

A találmány szerinti vegyületek *in vitro* inhibitor jellemzőit standard neutrofil kemotaxis vizsgálattal (CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY, vol. I, Suppl. 1, Unit 6.12.3.) határoztuk meg. Humán vérből standard módon (CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY, vol. I, Suppl. 1, Unit 7.23.1.) neutrofileket izoláltunk. Az IL-8, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$  és NAP-2 kemoattraktánsokat 0,1 nM és 100 nM közötti koncentrációban egy 48 vájatusú kamra (Neuro Probe, Cabin John, Maryland, Amerikai Egyesült Államok) alsó kamrájába he-

lyeztük. A két kamrát 5  $\mu\text{m}$ -es polikarbonát szűrő választotta el. A találmány szerinti vegyületek vizsgálatakor a vegyületeket közvetlenül azt megelőzően kevertük össze a sejtekkel (0,001-1000 nM), hogy a sejteket behelyeztük a felső kamrába. Párásított, 5 % szén-dioxidot tartalmazó inkubátorban körülbelül 45-90 percen keresztül inkubáltuk a sejteket. Az inkubációs periódus végén a polikarbonát membránt eltávolítottuk, a felső oldalát mostuk, majd a membránt Diff Quick (Baxter Products, McGaw Park, Illinois, Amerikai Egyesült Államok) festékkel megfestettük. A kemokinhez kemotaxált sejteket mikroszkóp segítségével vizuálisan megszámláltuk. Általában valamennyi minta esetén négy mezőt számláltunk meg, majd az így nyert számértékeket átlagolva a migrált sejtek átlagos számát kaptuk. Valamennyi mintát három párhuzamos kísérletben vizsgáltuk és az összes vegyületet legalább négy alkalommal teszteltük. Bizonyos sejtekhez nem adtunk találmány szerinti vegyületet (pozitív kontroll); ezek a sejtek mutatták a maximális kemotaktikus válaszreakciót. Amikor negatív (stimulálatlan) kontrollra volt szükség, az alsó kamrába nem adtunk kemokint. A pozitív kontroll és a negatív kontroll közötti eltérés mutatja a sejtek kemotaktikus aktivitását.

#### **Elasztáz-felszabadulási vizsgálat**

A találmány szerinti vegyületeket megvizsgáltuk olyan szempontból is, hogy milyen mértékben képesek megakadályozni a humán neutrofilekből történő elasztáz-felszabadulást. Humán vérből standard módon (CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY, vol. I, Suppl. 1, Unit 7.23.1.) neutrofileket izoláltunk. Ringer-oldat-

ban (NaCl 118, KCl 4,56,  $\text{NHCO}_3$  25,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,03, glükóz 11,1, HEPES 5 mM, pH 7,4) PMN sejteket ( $0,88 \cdot 10^6$ ) szuszpendáltunk, majd egy 96 vájatú lemez minden egyes vájatába 50  $\mu\text{l}$  szuszpenziót helyeztünk. A lemezhez hozzáadtunk 50  $\mu\text{l}$  (0,001-1000 nM) tesztvegyületet, 50  $\mu\text{l}$  (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) Cytochalasin B-t és 50  $\mu\text{l}$  Ringer-puffert. A sejteket 37 °C hőmérsékletű, 5 % szén-dioxidot tartalmazó, 95 %-os relatív páratartalmú inkubátorban felmelegítettük, majd a sejtekhez 0,01-1000 nM végkoncentrációban IL-8-at,  $\text{GRO}\alpha$ -t,  $\text{GRO}\beta$ -t,  $\text{GRO}\gamma$ -t és NAP-2-t adtunk. 45 perccel később a lemezeket 5 percen keresztül 800 g sebességgel centrifugáltuk, majd minden egyes vájatból eltávolítottunk 100  $\mu\text{l}$  felülúszót. A felülúszót egy második 96 vájatú lemezre helyeztük, majd a vájatokhoz 6  $\mu\text{g}/\text{ml}$  végkoncentrációban hozzáadtuk egy mesterséges elasztáz szubsztrát [MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC (Nova Biochem, La Jolla, Kalifornia, Amerikai Egyesült Államok)] foszfátpufferelt fiziológiás soldattal készített oldatát. A lemezeket azonnal egy fluoreszcens 96 vájatú lemez leolvasóba (Cytofluor 2350, Millipore, Bedford, Massachusetts, Amerikai Egyesült Államok) helyeztük és három percenként ismert módon [Nakajima et al., J. BIOL. CHEM., 254, 4027 (1979)] adatgyűjtést végeztünk. A PMN sejtekből felszabadult elasztáz mennyiségét a MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC degradáció sebességének mérésével számítottuk.

#### **TNF- $\alpha$ vizsgálata traumás agysérülésben**

A vizsgálat során patkányokban kísérleti úton indukált laterális folyadékperkussziós traumás agysérülést (traumatic brain injury; TBI) követően specifikus agyrégiókban meghatároz-

tuk a tumor nekrozis faktor mRNA expresszióját. Kifejlett Sprague-Dawley patkányokat (n = 42) 60 mg/kg intraperitonealis nátrium-pentobarbitállal anesztetizáltunk, majd a bal temporo-parietalis cortex fölé összpontosítva közepes súlyosságú (2,4 atm.) laterális folyadékperkussziós traumás agysérülést okoztunk az állatoknak (n = 18), illetve az állatokat (n = 18) "színlelt" kezelésnek vetettük alá (anesztézia és sérülés nélküli beavatkozás). Az állatokat a beavatkozás utáni 1., 6. és 24. órában dekapitáció útján leöltük, eltávolítottuk az agyukat, majd szövetmintákat készítettünk a következő részekből: bal (sérült) parietalis cortex (LC); a kontralaterális jobb cortex azonos része (RC); a sérült parietalis cortex melletti cortex (LA); a jobb cortexben lévő megfelelő szomszédos terület (RA); bal hippocampus (LH); és jobb hippocampus (RH). Izoláltuk a teljes RNS-t, Northern-blot hibridizációt hajtottunk végre, majd egy TNF- $\alpha$  pozitív kontroll RNS-re (makrofág = 100 %) vonatkoztatva relatív mennyiségi meghatározást végeztünk. A sérülés után egy órával a traumatizált hemisphaerában a TNF- $\alpha$  mRNA expressziójának jelentős növekedését figyeltük meg az LH mintában (a pozitív kontroll  $104 \pm 17$  %-a, a színlelttel összehasonlítva  $p < 0,05$ ), az LC mintában ( $105 \pm 21$  %,  $p < 0,05$ ), valamint az LA mintában ( $69 \pm 8$  %,  $p < 0,01$ ). A sérülés után hat órával is a TNF- $\alpha$  mRNA expressziójának növekedését figyeltük meg az LH mintában ( $46 \pm 8$  %,  $p < 0,05$ ), az LC mintában ( $30 \pm 3$  %,  $p < 0,01$ ), valamint az LA mintában ( $32 \pm 8$  %,  $p < 0,01$ ), amely a sérülés után 24 órával normalizálódott. A kontralaterális hemisphaerában a TNF- $\alpha$  mRNA expressziójának növekedését

figyeltük meg a sérülés után egy órával az RH mintában ( $46 \pm 2$  %-a,  $p < 0,01$ ), az RC mintában ( $4 \pm 3$  %), valamint az RA mintában ( $22 \pm 8$  %), a sérülés után hat órával az RH mintában ( $28 \pm 11$  %-a), az RC mintában ( $7 \pm 5$  %), valamint az RA mintában ( $26 \pm 6$  %), viszont 24 órával a sérülés után ezen a területen már nem észleltünk a normálistól eltérő értékeket. A "színlelt" módon (sérülést nem okozó beavatkozással) kezelt vagy a természetes (nem kezelt) állatokban a vizsgált hat agy esetén az említett időpontokban egyik hemisphaerában sem figyeltünk meg konzisztens változást a TNF- $\alpha$  mRNS expressziójában. Ezek az eredmények azt jelzik, hogy a parasagittalis folyadékperkussziós agysérülést követően bizonyos specifikus agyi régiókban, köztük a nem-traumatizált hemisphaera specifikus agyi régióiban, a TNF- $\alpha$  mRNS expressziója átmenetileg megváltozik. Mivel a TNF- $\alpha$  alkalmas az idegnövekedési faktor (nerve growth factor; NGF) indukálására, valamint egyéb citokinek aktivált astrocytákból történő szabaddá válásának a stimulálására, a TNF- $\alpha$  génexpressziójának a poszttraumás megváltozása jelentős szerepet játszik a központi idegrendszeri traumára adott akut és regeneratív válaszreakcióban.

#### **IL- $\beta$ mRNS központi idegrendszeri sérülés modell**

A vizsgálat során patkányokban kísérleti úton indukált laterális folyadékperkussziós traumás agysérülést (traumatic brain injury; TBI) követően specifikus agyrégiókban meghatároztuk az interleukin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) mRNS expresszióját. Kifejlett Sprague-Dawley patkányokat ( $n = 42$ ) 60 mg/kg intraperitonealis nátrium-pentobarbitállal anesztetizáltunk, majd a bal temporo-

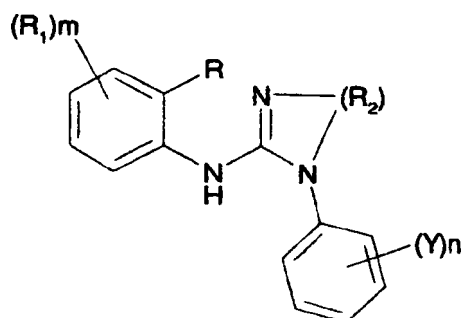
parietalis cortex fölé összpontosítva közepes súlyosságú (2,4 atm.) laterális folyadékperkussziós traumás agysérülést okoztunk az állatoknak (n = 18), illetve az állatokat (n = 18) "színlelt" kezelésnek vetettük alá (anesztézia és sérülés nélküli beavatkozás). Az állatokat a beavatkozás utáni 1., 6. és 24. órában dekapitáció útján leöltük, eltávolítottuk az agyakat, majd szövetmintákat készítettünk a következő részekből: bal (sérült) parietalis cortex (LC); a kontralaterális jobb cortex azonos része (RC); a sérült parietalis cortex melletti cortex (LA); a jobb cortexben lévő megfelelő szomszédos terület (RA); bal hippocampus (LH); és jobb hippocampus (RH). Izoláltuk a teljes RNS-t, Northern-blot hibridizációt hajtottunk végre, majd egy ugyanazon a gélen elhelyezkedő IL-1 $\beta$  pozitív makrofág RNS százalékos radioaktivitására vonatkoztatva relatív mennyiségi meghatározást végeztünk az agyszövet IL-1 $\beta$  mRNS-re vonatkozóan. Az agysérülés után egy órával a traumatizált hemisphaerában az IL-1 $\beta$  mRNS expressziójának jelentős és szignifikáns növekedését figyeltük meg az LC mintában (a pozitív kontroll  $20,0 \pm 0,7$  %-a, n = 6, a színlelttel összehasonlítva  $p < 0,05$ ), az LH mintában ( $24,5 \pm 0,9$  %,  $p < 0,05$ ), valamint az LA mintában ( $21,5 \pm 3,1$  %,  $p < 0,05$ ). A sérülés után hat órával is magasabb értékeket figyeltünk meg az LC mintában ( $4,0 \pm 0,4$  %, n = 6,  $p < 0,05$ ), valamint az LH mintában ( $5,0 \pm 1,3$  %,  $p < 0,05$ ). A "színlelt" módon (sérülést nem okozó beavatkozással) kezelt vagy a természetes (nem kezelt) állatokban a vizsgált egyetlen területen sem tapasztaltunk IL-1 $\beta$  mRNS expressziót. Ezek az eredmények azt jelzik, hogy a traumás agysérülést (TBI)

követően parasagittalis folyadékperkussziós agysérülést követően bizonyos specifikus agyi régiókban az IL-1 $\beta$  mRNS expressziója átmenetileg regionálisan stimulált. A citokineknek, köztük az IL-1 $\beta$ -nak ezek a regionális változásai szerepet játszanak az agysérülés poszttraumás következményeiben.

A fenti leírás teljes mértékben ismerteti a találmányt, beleértve az előnyös megoldásokat is. A részletesen ismertetett megoldások módosításai és javításai is a találmány oltalmi körébe tartoznak. Véleményünk szerint az ezen a területen jártas szakember a fenti leírás alapján teljes terjedelmében fel tudja használni a találmányt. A példák csak illusztratív jellegűek, amelyek semmilyen formában nem korlátozzák a találmány oltalmi körét, illetve terjedelmét. A találmány terjedelmét, illetve oltalmi körét a mellékelt szabadalmi igénypontok határozzák meg.

## SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Egy (I) általános képletű vegyület



(I)

— amelynek képletében képletében

R jelentése hidrox-, merkaptocsoport vagy  $-\text{NHSO}_2\text{R}_d$  általános képletű csoport;

$\text{R}_d$  jelentése  $-\text{NR}_6\text{R}_7$  általános képletű csoport, alkilcsoport, aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, aril-(2-4 szénatomos alkenil)-csoport, heteroaril-csoport, heteroaril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heteroaril-(2-4 szénatomos alkenil)-csoport, heterociklil-csoport vagy heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, ahol az aril-, heteroaril- és heterociklil-csoportot alkotó gyűrűk mindegyike adott esetben szubsztituált lehet;

$\text{R}_6$  és  $\text{R}_7$  jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy

$\text{R}_6$  és  $\text{R}_7$  azzal a nitrogénatommal együtt, amelyhez kapcsolódnak, egy adott esetben szubsztituált, 5-7 tagú, adott esetben egy, az oxigén-, nitrogén- és kénatom közül kiválasztott további heteroatomot tartalmazó ciklusos csoportot képeznek;



- $R_1$  jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom; halogénatom; nitrocsoport; cianocsoport; 1-10 szénatomos alkilcsoport; 1-10 szénatomos halogén-alkil-csoport; 2-10 szénatomos alkenilcsoport; 1-10 szénatomos alkoxicsoport; 1-10 szénatomos halogén-alkoxi-csoport; azidocsoport;  $-(CR_8R_8)_qS(O)_tR_4$  általános képletű csoport; hidroxicsoport; 1-4 szénatomos hidroxil-alkil-csoport; arilcsoport; aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport; aril-oxi-csoport; aril-(1-4 szénatomos alkoxi)-csoport; heteroarilcsoport; heteroaril-alkil-csoport; heterociklilcsoport; heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport; heteroaril-(1-4 szénatomos alkoxi)-csoport; aril-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport; heteroaril-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport; heterociklil-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport;  $-(CR_8R_8)_qNR_4R_5$ ;  $-(2-10$  szénatomos alkenil)- $C(O)NR_4R_5$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$  általános képletű csoport; szulfocsoport;  $-S(O)_3R_8$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$ ;  $-(2-10$  szénatomos alkenil)- $C(O)R_{11}$ ;  $-(2-10$  szénatomos alkenil)- $C(O)OR_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)OR_{12}$ ;  $-(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qNHS(O)_2R_{17}$ ;  $-(CR_8R_8)_qS(O)_2NR_4R_5$  általános képletű csoport; vagy
- két  $R_1$  csoport együtt  $-O-(CH_2)_s-O-$  általános képletű csoportot vagy egy öt- vagy hattagú telítetlen ciklusos csoportot képezhet;
- $q$  értéke 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 vagy 10;
- $t$  értéke 0, 1 vagy 2;
- $s$  értéke 1, 2 vagy 3;
- $R_4$  és  $R_5$  jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, adott

esetben szubsztituált 1-4 szénatomos alkilcsoport, adott esetben szubsztituált arilcsoport, adott esetben szubsztituált aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált heteroaril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heterociklilcsoport, heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, vagy

R<sub>4</sub> és R<sub>5</sub> azzal a nitrogénatommal együtt, amelyhez kapcsolódnak, egy 5-7 tagú, adott esetben egy, az oxigén-, nitrogén- és kénatom közül kiválasztott további heteroatomot tartalmazó ciklusos csoportot képeznek;

R<sub>2</sub> jelentése egymástól függetlenül 2-5 szénatomos alkilén-csoport vagy 2-5 szénatomos alkenilén-csoport, amely adott esetben legfeljebb háromszorosan egymástól függetlenül halogénatommal, nitrocsoporttal, 1-4 szénatomos halogén-alkil-csoporttal, 1-4 szénatomos alkilcsoporttal, aminocsoporttal, mono- vagy dialkil-amino-csoporttal, hidroxicssoporttal, 1-4 szénatomos alkoxicssoporttal,  $-NR_9C(O)R_a$ ,  $-S(O)_mR_a$ ,  $-C(O)NR_6R_7$  általános képletű csoporttal, karboxicssoporttal,  $-C(O)OR_a$ ,  $-S(O)_2NR_6R_7$  és/vagy  $-NHS(O)_2R_a$  általános képletű csoporttal szubsztituált, és amely alkilén- vagy alkenilén-csoport a szénatomokon kívül adott esetben egymástól függetlenül 1-3  $>NR_9$  általános képletű csoportot, oxigénatomot, karbonilcsoportot, kénatomot, szulfinil- vagy szulfonilcsoportot tartalmaz;

Y jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom; halogénatom; nitrocsoport; cianocsoport; 1-10 szénatomos alkilcsoport; 1-10 szénatomos halogén-alkil-csoport; 2-10 szénatomos al-

kenilcsoport; 1-10 szénatomos alkoxics csoport; 1-10 szénatomos halogén-alkoxi-csoport; azidocsoport;  $-(CR_8R_8)_qS(O)_tR_4$  általános képletű csoport; hidroxics csoport; 1-4 szénatomos hidroxi-alkil-csoport; arilcsoport; aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport; aril-oxi-csoport; aril-(1-4 szénatomos alkoxi)-csoport; heteroarilcsoport; heteroaril-alkil-csoport; heteroaril-(1-4 szénatomos alkoxi)-csoport; heterociklilcsoport; heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport; aril-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport; heteroaril-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport; heterociklil-(2-10 szénatomos alkenil)-csoport;  $-(CR_8R_8)_qNR_4R_5$ ;  $-(2-10$  szénatomos alkenil)- $C(O)NR_4R_5$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$  általános képletű csoport; szulfocsoport;  $-S(O)_3R_8$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$ ;  $-(2-10$  szénatomos alkenil)- $C(O)R_{11}$ ;  $-(2-10$  szénatomos alkenil)- $C(O)OR_{11}$ ;  $-C(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qC(O)OR_{12}$ ;  $-(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$ ;  $-(CR_8R_8)_qNHS(O)_2R_d$ ;  $-(CR_8R_8)_qS(O)_2NR_4R_5$  általános képletű csoport; vagy két Y csoport együtt  $-O-(CH_2)_s-O-$  általános képletű csoportot vagy egy öt- vagy hattagú telítetlen ciklusos csoportot képezhet;

n értéke 1, 2 vagy 3;

m értéke 1, 2 vagy 3;

R<sub>8</sub> jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport;

R<sub>9</sub> jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport;

R<sub>10</sub> jelentése  $-(1-10$  szénatomos alkil)- $C(O)_2R_8$  általános képletű csoport;

R<sub>11</sub> jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos alkilcsoport, adott

- esetben szubsztituált arilcsoport, adott esetben szubsztituált aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, adott esetben szubsztituált heteroarilcsoport, adott esetben szubsztituált heteroaril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, adott esetben szubsztituált heterociklilcsoport, vagy adott esetben szubsztituált heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport;
- R<sub>12</sub> jelentése hidrogénatom, 1-10 szénatomos alkilcsoport, adott esetben szubsztituált arilcsoport vagy adott esetben szubsztituált aralkilcsoport;
- R<sub>17</sub> jelentése 1-4 szénatomos alkilcsoport, arilcsoport, aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heteroarilcsoport, heteroaril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heterociklilcsoport vagy heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, ahol az aril-, heteroaril- és heterociklil-csoportok mindegyike adott esetben szubsztituált lehet; és
- R<sub>a</sub> jelentése alkil-, arilcsoport, aril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heteroarilcsoport, heteroaril-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, heterociklilcsoport vagy heterociklil-(1-4 szénatomos alkil)-csoport, amely csoportok mindegyike mindegyike adott esetben szubsztituált lehet —
- és gyógyászatilag elfogadható sói.

2. Egy 1. igénypont szerinti vegyület a következő csoportból kiválasztva:

- 4-{{[1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-5-oxo-1H-2-imidazolil]-amino}-3-hidroxi-benzonitril};
- N-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-N'-(2-bróm-fenil)-N''-[(klór-metil)-szulfonil]-guanidin;
- N-(4-ciano-2-hidroxi-fenil)-N'-(2-bróm-fenil)-N''-(2,2-



- dimetoxi-etil)-guanidin;
- 4-([1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino)-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-([4-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-1,1-dioxo-1,2,4-tiadiazol-3-il]-amino)-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-([1-(2-bróm-fenil)-1*H*-2-imidazolil]-amino)-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-([(S)-1-(2-bróm-fenil)-4-izopropil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino)-3-hidroxi-benzonitril;
- etil-3-[(S)-1-(2-bróm-fenil)-2-(4-ciano-2-hidroxi-anilino)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-4-imidazolil]-propionát;
- etil-[(R)-1-(2-bróm-fenil)-2-(4-ciano-2-hidroxi-anilino)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-4-imidazolil]-acetát;
- 4-([(S)-1-(2,3-diklór-fenil)-4-izopropil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino)-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-([(S)-1-(2,3-diklór-fenil)-4-izobutil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino)-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-([(S)-1-(2,3-diklór-fenil)-4-[2-(metil-tio)-etil]-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino)-3-hidroxi-benzonitril;
- etil-3-[(S)-2-(4-ciano-2-hidroxi-anilino)-1-(2,3-diklór-fenil)-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-4-imidazolil]-propionát;
- 4-([(S)-1-(2,3-diklór-fenil)-4-metil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino)-3-hidroxi-benzonitril;
- 4-([(R)-1-(2,3-diklór-fenil)-4-metil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolil]-amino)-3-hidroxi-benzonitril; és
- 4-([1-(2-bróm-fenil)-4,5-dihidro-5-metoxi-1*H*-2-imidazolil]-amino)-3-hidroxi-benzonitril;



vagy gyógyászatilag elfogadható sói.

3. Gyógyszerkészítmény, amely egy 1. igénypont szerinti vegyületet és gyógyászatilag elfogadható hordozót vagy hígítót tartalmaz.

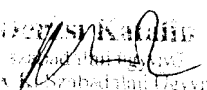
4. Eljárás kemokin mediált betegségek kezelésére emlősben, ahol a kemokin egy IL-8 $\alpha$  vagy IL-8 $\beta$  receptorhoz kötődik, **azzal jellemezve**, hogy az emlősnek beadjuk egy 1. igénypont szerinti vegyület hatásos mennyiségét.

5. A 4. igénypont szerinti eljárás, **azzal jellemezve**, hogy az emlős egy, a következő csoportból kiválasztott kemokin által mediált betegségben szenved: psoriasis, atopic dermatitis, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, asztma, krónikus obstruktív pulmonalis betegség, előrehaladott légzőszervi distressz szindróma, gyulladáshos bélbetegség, Crohn-féle betegség, ulceratív colitis, stroke, szeptikus sokk, sclerosis multiplex, endotoxikus sokk, Gram-negatív szepszis, toxikus sokk szindróma, reperfüziós szív- vagy vesesérülés; glomerulonephritis, trombózis, graft versus host reakció, Alzheimer-betegség, allograft rejectio, malária, restenosis, angiogenesis, atherosclerosis, osteoporosis, gingivitis és nemkivánatos haematopoeticus őssejt-felszabadulás.

A meghatalmazott:

*Rozslyay Anna*

*for. et*

  
Rozslyay Anna  
Magyarországi Gyógyszeripari Szövetség  
1052 Budapest, Andrássy út 112.  
Telefon: 46-49-001 Fax: 46-49-110