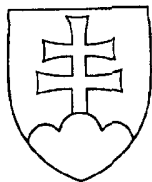


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

## PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

# 286192

- (21) Číslo prihlášky: 1575-2000  
(22) Dátum podania prihlášky: 24. 4. 1999  
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: 6. 5. 2008  
Vestník ÚPV SR č.: 5/2008  
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 198 18 964.8  
199 17 504.7  
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: 28. 4. 1998  
17. 4. 1999  
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: DE, DE  
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: 6. 8. 2001  
Vestník ÚPV SR č.: 08/2001  
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: 14. 4. 2008  
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:  
(67) Číslo pôvodnej prihlášky úžitkového vzoru v prípade odbočenia:  
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: PCT/EP99/02792  
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: WO99/55696  
(96) Číslo podania európskej patentovej prihlášky:

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl. (2006):

A61K 31/403  
A61K 31/4427  
A61P 11/00  
A61P 19/00  
A61P 29/00  
A61P 43/00  
C07D 401/00  
C07D 209/00

(73) Majiteľ: Elbion AG, Radebeul, DE;

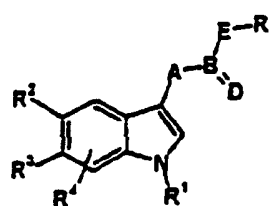
(72) Pôvodca: Höfgen Norbert, Ottendorf-Ockrilla, DE;  
Egerland Ute, Radebeul, DE;  
Poppe Hildegard, Dresden, DE;  
Marx Degenhard, Pirna, DE;  
Szelenyi Stefan, Schwaig, DE;  
Kronbach Thomas, Radebeul, DE;  
Polymeropoulos Emmanuel, Frankfurt, DE;  
Heer Sabine, Dresden, DE;

(74) Zástupca: Bezák Marián, Ing., Bratislava, SK;

(54) Názov: Hydroxyindol, spôsob jeho prípravy a jeho použitie ako inhibítora fosfodiesterázy 4

(57) Anotácia:

Sú opísané hydroxyindoly všeobecného vzorca (I), v ktorom substituenty majú význam vysvetlený v opise, ich fyziologicky prijateľné soli, spôsob prípravy uvedených zlúčenín a soli a ich použitie na liečebné účely. Ďalej sú opísané lieky s obsahom týchto zlúčenín a tiež spôsob výroby týchto liekov na liečbu porúch, pri ktorých je terapeuticky prínosná inhibícia fosfodiesterázy 4.



(I)

## Oblasť techniky

Tento vynález sa týka hydroxyindolov, ich fyziologicky prijateľných solí, spôsobov ich prípravy a ich použitia na liečebné účely, lieku s obsahom týchto zlúčenín a tiež spôsobu výroby tohto lieku. Predmetné zlučiny sú inhibítory fosfodiesterázy 4 a preto nachádzajú využitie na liečbu porúch, na ktoré pôsobí inhibícia aktivity fosfodiesterázy 4 v imunokompetentných bunkách.

## Doterajší stav techniky

Aktivácia receptorov bunkovej membrány transmittermi vedie k aktivácii systému „druhého posla“. Adenylátcykláza syntetizuje z AMP alebo GMP aktívny cyklický AMP (cAMP) alebo cyklický GMP (cGMP). To vedie napríklad k relaxácii v hladkých svalových bunkách alebo k inhibícii uvoľňovania mediátora alebo k syntéze v bunkách zápalu. Rozpad „druhého posla“ cAMP a cGMP je spôsobený fosfodiesterázou (PDE). K dnešnému dňu je známych 7 tried PDE enzýmov (PDE 1 až 7), ktoré sa odlišujú ich substrátovou špecifitou (cAMP, cGMP alebo oba) a závislosťou od iných substrátov (napríklad kalmodulín). Tieto izoenzýmy majú v tele rôzne funkcie a sú v rôznom rozsahu významné v jednotlivých bunkových typoch (Beave, J. A., Conti, M. a Heaslip, R. J., Multiple cyclic nucleotide phosphodiesterases, *Mol. Pharmacol.*, 46, 399 až 405 (1994); Hall, I. P., Isoenzyme selective phosphodiesterase inhibitors; potential clinical uses, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 35, 1 až 7 (1993)). Výsledkom inhibície rôznych typov izoenzýmov je akumulácia cAMP alebo cGMP v bunkách, ktorá sa môže terapeuticky využiť (Torphy, T. J., Livi, G. P., Christensen, S. B., *Novel. Phosphodiesterase Inhibitors for the Therapy of Asthma, Drug News and Perspectives*, 6, 203 až 214 (1993)).

V bunkách dôležitých pre alergický zápal (lymfocyty, mastocyty, eozinofilné granulocyty, makrofágy) je prevažujúcim PDE izoenzýmom izoenzým typu 4 (Torphy, T. J. a Undem, B. J., *Phosphodiesterase inhibitors: new opportunities for the treatment of asthma, Thorax*, 46, 512 až 523 (1991)). Inhibícia PDE 4 vhodnými inhibítormi sa preto pokladá za významný východiskový bod pri liečení veľkého množstva alergicky indukovaných ochorení (Schudt, Ch., Dent, G., Rabe, K., *Phosphodiesterase Inhibitors, Academic Press, Londýn*, 1996).

Významnou vlastnosťou inhibítorov fosfodiesterázy 4 je inhibícia uvoľňovania tumor nekrotizujúceho faktora  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ). TNF  $\alpha$  je významný prozápalový cytokín, ktorý ovplyvňuje veľké množstvo biologických procesov. TNF  $\alpha$  sa uvoľňuje napríklad z aktivovaných makrofágov, aktivovaných T-lymfocytov, mastocytov, bazofilov, fibroblastov, buniek endotelu a astrocytov v mozgu. Má samoaktivujúci účinok na neutrofile, eozinofily, fibroblasty a bunky endotelu, v dôsledku čoho sa uvoľňujú rôzne mediátory poškodzujúce tkanivo. V monocytoch, makrofágoch a T-lymfocytoch TNF  $\alpha$  prináša zvýšenú tvorbu ďalších prozápalových cytokínov, ako je GM-CSF (faktor stimulujúci kolónie granulocytov a makrofágov) alebo interleukín 8. V dôsledku týchto zápal podporujúcich a katabolických dejov má TNF  $\alpha$  ústrednú úlohu vo veľkom množstve ochorení, ako je zápal dýchacích ciest, zápal kĺbov, endotoxinový šok, odhojenie tkaniva, AIDS a rad ďalších imunologických ochorení. Inhibítory fosfodiesterázy 4 sú preto vhodné rovnako na liečenie ochorení tohto typu, ktoré sú spojené s TNF  $\alpha$ .

Chronické obštrukčné pulmonálne choroby (COPD) sa veľmi rozšírili v populácii a majú rovnako veľký ekonomický význam. Takto spôsobujú chronické obštrukčné pulmonálne choroby v rozvinutých krajinách asi 10 až 15 % všetkých nákladov na ochorenie a asi 25 % všetkých prípadov úmrtia v USA sa spája s touto príčinou (Norman, P., COPD: New developments and therapeutic opportunities, *Drug News Prospect*, 11, 7, 431 až 437 (1998)), hoci pacienti sú v čase smrti zvyčajne starší ako 55 rokov (Nolte, D., *Chronische Bronchitis - eine Volkskrankheit multifaktorieller Genese, Atemw. - Lungenkrhk. (Chronic bronchitis - a widespread disease of multifactorial origin)*, 20, 5, 260 až 267 (1994)). Svetová zdravotnícka organizácia odhaduje, že COPD bude v priebehu nasledujúcich 20 rokov treťou najčastejšou príčinou smrti.

Syndróm chronickej obštrukčnej pulmonálnej choroby sumarizuje rôzne syndrómy chronickej bronchitídy so syndrómami kašľa a vykašliavania a postupujúceho a nevratného zhoršovania pľúcnych funkcií (najviac postihnutý je výdych). Príčina ochorenia je epizodická a často komplikovaná bakteriálnou infekciou (Rennard, S. I., COPD: Overview of definitions, Epidemiology, and factors influencing its development, *Chest*, 113, 4, Suppl., 235S až 241S (1998)). V priebehu ochorenia sa nepretržite znižujú pľúcne funkcie, pľúca sa stávajú zvýšene emfyzematózne a zjavná je dychová tieseň pacienta. Toto ochorenie pôsobí zjavne nežiaducim spôsobom na kvalitu života pacientov (ťažké dýchanie, nízka tolerancia fyzickej námahy) a významne znižuje ich očakávanú dĺžku života. Hlavným rizikovým faktorom je, okrem faktorov životného prostredia, fajčenie (Kummer, F., *Asthma und COPD, Atemw. - Lungenkrhk.*, 20, 5, 299 až 302 (1994); Rennard, S. I., COPD: Overview of definitions, Epidemiology, and factors influencing its development, *Chest*, 113, 4, Suppl., 235S až 241S (1998)), a preto sú muži častejšie postihnutí ako ženy. Ako výsledok zmien v životných návykoch a zvýšeného počtu fajčiarov sa tento opis môže však v budúcnosti zmeniť.

Súčasnú liečbu smeruje iba k zmierneniu symptómov, bez toho, aby kauzálne intervenovalo do progresie ochorenia. Použitie dlhodobo pôsobiacich beta2 agonistov (napríklad salmeterolu) v nožnej kombinácii s muskarínernými antagonistami (napríklad ipratropium) zlepšuje pľúcne funkcie bronchodilatácií a rutinne sa používa (Norman P., COPD: New developments and therapeutic opportunities, Drug News Prospect, 11, 7, 431 až 437 (1998)). Veľkú úlohu majú v epizódach COPD bakteriálne infekcie, ktoré sa musia liečiť antibiotikami (Wilson, R., The role of infection in COPD, Chest, 113, 4, Suppl., 242S až 248S (1998); Grossman, R. F., The value of antibiotics and the outcomes of antibiotic therapy in exacerbations of COPD, Chest, 113, 4, Suppl., 249S až 255S (1998)). Do súčasnej doby je liečenie tohto ochorenia neuspokojivé, hlavne s ohľadom na nepretržité zhoršovanie pľúcnych funkcií. Nové terapeutické prístupy, ktoré pôsobia na mediátory zápalu, proteázy alebo molekuly adhézie by mohli byť veľmi sľubné (Barnes, P. J., Chronic obstructive disease: new opportunities for drug development, TiPS, 10, 19, 415 až 423 (1998)).

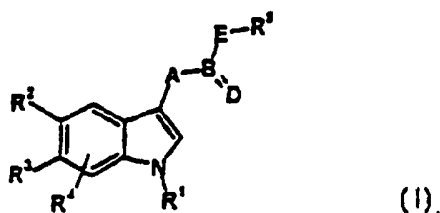
Nezávisle od bakteriálnych infekcií, ktoré komplikujú toto ochorenie, sa v prieduškách nachádza chronický zápal, v ktorom prevažujú neutrofilné granulocyty. Mediátory a enzýmy uvoľňované z neutrofilných granulocytov sa okrem iného pokladajú za zodpovedné za štrukturálne zmeny pozorované v dýchacích cestách (emfyzém). Inhibícia aktivity neutrofilných granulocytov je preto racionálnym prístupom, ako zabrániť alebo spomaliť progresiu COPD (zhoršovanie parametrov pľúcnych funkcií). Významným stimulom pre aktiváciu granulocytov je prozápalový cytokín TNF  $\alpha$  (faktor nekroz tumorov). Takto je známe, že TNF  $\alpha$  stimuluje tvorbu kyslíkových radikálov neutrofilnými granulocytmi (Jersmann, H. P. A., Rathjen, D. A. a Ferrante, A., Enhancement of LPS-induced neutrophil oxygen radical production by TNF  $\alpha$ , Infection and Immunity, 4, 1744 až 1747 (1998)). Inhibitory PDE 4 môžu veľmi účinne inhibovať uvoľňovanie TNF  $\alpha$  z veľkého množstva buniek a takto suprimovať aktivitu neutrofilných granulocytov. Nešpecifický inhibitor PDE pentoxifylín je schopný inhibovať tak tvorbu kyslíkových radikálov, ako schopnosť fagocytózy pri neutrofilných granulocytoch (Wenisch, C., Zedtwitz - Liebenstein, K., Parschalk, B. a Graninger, W., Effect of pentoxifylline *in vitro* on neutrophil reactive oxygen production and phagocytic ability assessed by flow cytometry, Clin. Drug. Invest., 13, 2, 99 až 104 (1997)).

Sú už známe rôzne inhibitory PDE 4. Na prvom mieste sú to xantínové deriváty, analógy rolipramu alebo deriváty nitrakvazónu (celkový prehľad poskytuje Karlsson, J. A., Aldos, D., Phosphodiesterase 4 inhibitors for the treatment of asthma, Exp. Opin. Ther., Patents, 7, 989 až 1003 (1997)). Až doteraz nebolo možné tieto zlúčeniny používať klinicky. Muselo sa zistiť, že známe inhibitory PDE 4 majú tiež rôzne vedľajšie účinky, ako je nevoľa a zvracanie, ktoré nebolo možné do súčasnosti adekvátne potlačiť. Preto je potrebné nájdenie nových inhibítorov PDE 4 s lepšou terapeutickou šírkou.

Hoci indoly majú veľa rokov významnú úlohu vo vývoji nových aktívnych zlúčenín pre rôzne indikácie, do súčasnosti boli hydroxyindoly celkom neznáme ako inhibitory PDE 4.

## Podstata vynálezu

Predmetom vynálezu sú hydroxyindoly všeobecného vzorca (I):



v ktorom:

R<sup>1</sup> je:

- alkylová skupina obsahujúca 1 až 12 atómov uhlíka s priamym alebo rozvetveným reťazcom,
- prípadne mono- alebo polysubstituovaná hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou, -NH(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkylovou)<sub>2</sub> skupinou, -NH(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, -N(C<sub>6-14</sub> arylovou)<sub>2</sub> skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkyl) (C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -NHCOR<sup>6</sup>, nitroskupinou, kyanoskupinou, atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu, -O-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -O-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -O(CO)R<sup>6</sup>, -S-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -S-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -SOR<sup>6</sup>, sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>,
- OSO<sub>2</sub>(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -OSO<sub>2</sub>(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CS)R<sup>6</sup>, karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CO)R<sup>6</sup>, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono- alebo polynenasýtenými karbocykliami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými,

nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca  $R^4$ ,

5 - alkenylová skupina obsahujúca 2 až 12 atómov uhlíka, mono- alebo polynenasýtená, s priamym alebo rozvetveným reťazcom,

prípadne mono- alebo polysubstituovaná hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou,  $-NH(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkylovou)<sub>2</sub> skupinou,  $-NH(C_{6-14}$  arylovou) skupinou,  $-N(C_{6-14}$  arylovou)<sub>2</sub> skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkyl) ( $C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-NHCOR^6$ , nitroskupinou, kyanoskupinou, atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu,  $-O-(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-O-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-O(CO)R^6$ ,  $-S-(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-S-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-SOR^6$ , sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca  $SO_2R^6$ ,

15  $-OSO_2(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-OSO_2-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CS)R^6$ , karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CO)R^6$ , mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocyklami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca  $R^4$ ,

20 - mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené karbocykly s 3 až 14 členmi v kruhu,

prípadne mono- alebo polysubstituované hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou,  $-NH(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkylovou)<sub>2</sub> skupinou,  $-NH(C_{6-14}$  arylovou) skupinou,  $-N(C_{6-14}$  arylovou)<sub>2</sub> skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkyl) ( $C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-NHCOR^6$ , nitroskupinou, kyanoskupinou, atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu,  $-O-(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-O-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-O(CO)R^6$ ,  $-S-(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-S-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-SOR^6$ , sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca  $SO_2R^6$ ,

30  $-OSO_2(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-OSO_2-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CS)R^6$ , karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CO)R^6$ , mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocyklami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca  $R^4$ ,

35 - mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené heterocykly s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry,

prípadne mono- alebo polysubstituované hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou,  $-NH(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkylovou)<sub>2</sub> skupinou,  $-NH(C_{6-14}$  arylovou) skupinou,  $-N(C_{6-14}$  arylovou)<sub>2</sub> skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkyl) ( $C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-NHCOR^6$ , nitroskupinou, kyanoskupinou, atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu,  $-O-(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-O-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-O(CO)R^6$ ,  $-S-(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-S-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-SOR^6$ , sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca  $SO_2R^6$ ,

45  $-OSO_2(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-OSO_2-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CS)R^6$ , karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CO)R^6$ , mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocyklami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca  $R^4$ ,

50 - karbo- alebo heterocyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené spirocykly s 3 až 10 členmi v kruhu, kde heterocyklické systémy obsahujú 1 až 6 heteroatómov, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry,

55 prípadne mono- alebo polysubstituované hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou,  $-NH(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkylovou)<sub>2</sub> skupinou,  $-NH(C_{6-14}$  arylovou) skupinou,  $-N(C_{6-14}$  arylovou)<sub>2</sub> skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkyl) ( $C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-NHCOR^6$ , nitroskupinou, kyanoskupinou, atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu,  $-O-(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-O-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-O(CO)R^6$ ,  $-S-(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-S-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-SOR^6$ , sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca  $SO_2R^6$ ,

60  $-OSO_2(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-OSO_2-(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CS)R^6$ , karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CO)R^6$ , mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocyklami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca  $R^4$ ,

$_{-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-SOR^6$ , sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca  $SO_2R^6$ ,  $-OSO_2(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-OSO_2(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CS)R^6$ , karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CO)R^6$ , mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocykliami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tri-

5 cychlickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo poly-

substituované skupinou vzorca  $R^4$ ,

10  $R^2$ ,  $R^3$  môžu byť atóm vodíka alebo hydroxyskupina, kde aspoň jeden z dvoch substituentov musí byť hydroxyskupina,

$R^4$  je atóm vodíka, hydroxyskupina, merkaptoskupina, aminoskupina,

- $NH(C_{1-6}$  alkylová) skupina,  $-N(C_{1-6}$  alkylová) $_2$  skupina,  $-NH(C_{6-14}$  arylová) skupina,  $-N(C_{6-14}$  arylová) $_2$  skupina,  $-N(C_{1-6}$  alkyl) ( $C_{6-14}$  arylová) skupina, skupina všeobecného vzorca  $-NHCOR^6$ , nitroskupina, kyanoskupina, karboxylová skupina, skupina všeobecného vzorca  $-(CO)R^6$ , skupina všeobecného vzorca  $-(CS)R^6$ , atóm fluóru, atóm chlóru, atóm brómu, atóm jódu,  $-O(C_{1-6}$  alkylová) skupina,  $-O(C_{6-14}$  arylová) skupina,

15 skupina všeobecného vzorca  $-O(CO)R^6$ ,  $-S(C_{1-6}$  alkylová) skupina,  $-S(C_{6-14}$  arylová) skupina, skupina všeobecného vzorca  $-SOR^6$  alebo skupina všeobecného vzorca  $SO_2R^6$ .

$R^5$  sú

20 - mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené heterocykly s 3 až 14 členmi v kruhu,

- mono- alebo polysubstituované atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu,

- prípadne mono- alebo polysubstituované hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou,  $-NH(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkylovou) $_2$  skupinou,  $-NH(C_{6-14}$  arylovou) skupinou,  $-N(C_{6-14}$  arylovou) $_2$  skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkyl) ( $C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-NHCOR^6$ , nitroskupinou, kyanoskupinou,  $-O(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-O(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-O(CO)R^6$ ,  $-S(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-S(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-SOR^6$ , sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca  $SO_2R^6$ ,

25  $-OSO_2(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-OSO_2(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CS)R^6$ , karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CO)R^6$ , mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocykliami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono- alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty pre túto časť môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca  $R^4$ ,

30 - mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené heterocykly s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry,

- mono- alebo polysubstituované atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu,

35 prípadne mono- alebo polysubstituované hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou,  $-NH(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkylovou) $_2$  skupinou,  $-NH(C_{6-14}$  arylovou) skupinou,  $-N(C_{6-14}$  arylovou) $_2$  skupinou,  $-N(C_{1-6}$  alkyl) ( $C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-NHCOR^6$ , nitroskupinou, kyanoskupinou,  $-O(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-O(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-O(CO)R^6$ ,  $-S(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-S(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-SOR^6$ , sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca  $SO_2R^6$ ,

40  $-OSO_2(C_{1-6}$  alkylovou) skupinou,  $-OSO_2(C_{6-14}$  arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CS)R^6$ , karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca  $-(CO)R^6$ , mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocykliami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty pre túto časť môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca  $R^4$ ,

45  $R^6$  môže byť:

- atóm vodíka, aminoskupina,  $-NH(C_{1-6}$  alkylová) skupina,  $-N(C_{1-6}$  alkylová) $_2$  skupina,  $-NH(C_{6-14}$  arylová) skupina,  $-N(C_{6-14}$  arylová) $_2$  skupina,  $-N(C_{1-6}$  alkyl) ( $C_{6-14}$  arylová) skupina,  $-O(C_{1-6}$  alkylová) skupina,  $-O(C_{6-14}$  arylová) skupina,  $-S(C_{1-6}$  alkylová) skupina,  $-S(C_{6-14}$  arylová) skupina,

50 - alkylová skupina obsahujúca 1 až 12 atómov uhlíka s priamym alebo rozvetveným reťazcom,

- alkenylová skupina obsahujúca 2 až 12 atómov uhlíka, mono- alebo polynenasýtená, s priamym alebo rozvetveným reťazcom,

- mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono- alebo polynenasýtené karbocykly s 3 až 14 členmi v kruhu,

60 - mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené heterocykly s 5 až 15 členmi

v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry,

A je buď väzba, alebo skupina všeobecného vzorca  $-(CH_2)_m-$ , skupina všeobecného vzorca  $-(CH_2)_m-$ ,  $-(CH=CH)_n-(CH_2)_p-$ , skupina všeobecného vzorca  $-(CHOZ)_m-$ , skupina vzorca  $-(C=O)-$ , skupina vzorca  $-(C=S)-$ , skupina všeobecného vzorca  $-(C=N-Z)-$ , skupina vzorca  $-O-$ ,  $-S-$  alebo  $-NZ-$ ,

kde  $m, p = 0$  až 3 a  $n = 0$  až 2 a

Z je:

- atóm vodíka alebo

- alkylová skupina obsahujúca 1 až 12 atómov uhlíka, s priamym alebo rozvetveným reťazcom,

- alkenylová skupina obsahujúca 2 až 12 atómov uhlíka, mono- alebo polynenasýtená, s priamym alebo rozvetveným reťazcom,

- mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené karbocykly s 3 až 14 členmi v kruhu,

- mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené heterocykly s 5 až 15 členmi v kruhu a s 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry,

B môže byť buď atóm uhlíka, alebo atóm síry, alebo skupina vzorca  $-(S=O)-$ ,

D môže byť buď atóm kyslíka, atóm síry, skupina vzorca  $CH_2$ , alebo skupina vzorca  $N-Z$ ,

kde D môže byť iba atóm síry alebo skupina vzorca  $CH_2$ , pokiaľ B je atóm uhlíka,

E môže byť väzba alebo inak skupina všeobecného vzorca  $-(CH_2)_m-$ , skupina vzorca  $-O-$ ,  $-S-$  alebo  $-(N-Z)-$ , kde m a Z majú opísaný význam.

Predmetom výhodného uskutočnenia tohto vynálezu sú fyziologicky prijateľné soli zlúčenín uvedeného vzorca (I) pripraviteľné tak, že sa neutralizujú bázy anorganickými alebo organickými kyselinami alebo neutralizujú kyseliny anorganickými alebo organickými bázami, alebo kvarternizujú terciárnymi amínmi, za získania kvartérnych amóniových solí.

Predmetom výhodného uskutočnenia tohto vynálezu sú tiež zlúčeniny uvedeného všeobecného vzorca (I), ktoré majú asymetrický atóm uhlíka v D-forme, L-forme, D,L-zmesiach a v prípade viacerých asymetrických atómov uhlíka, v diastereomérnych formách.

Výhodným uskutočnením tohto vynálezu je ďalej zlúčenina uvedeného vzorca (I), ktorou je N-(3,5-dichlórpriidín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid, a jeho fyziologicky prijateľné soli.

Predmetom výhodného uskutočnenia tohto vynálezu sú tiež zlúčeniny uvedeného všeobecného vzorca (I), a ich fyziologicky prijateľné soli vybrané zo súboru zahrnujúceho:

N-(3,5-dichlórpriidín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-hydroxyacetamid;

N-(3,5-dichlórpriidín-4-yl)-2-[1-(2,6-difluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

sodná soľ N-(3,5-dichlórpriidín-4-yl)-2-[1-(3-nitrobenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

N-(3,5-dichlórpriidín-4-yl)-2-(1-propyl-5-hydroxyindol-3-yl)-2-oxoacetamid,

N-(3,5-dichlórpriidín-4-yl)-2-(1-izopropyl-5-hydroxyindol-3-yl)-2-oxoacetamid,

N-(3,5-dichlórpriidín-4-yl)-2-(1-cyklopentylmetyl-5-hydroxyindol-3-yl)-2-oxoacetamid,

N-(2,6-dichlórfenyl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

N-(2,6-dichlór-4-trifluórmetylfenyl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

N-(2,6-dichlór-4-trifluórmetoxyfenyl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

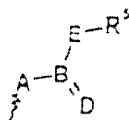
N-(3,5-dichlórpriidín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-6-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

N-(3,5-dichlórpriidín-4-yl)-5-hydroxy-1-(4-metoxybenzyl)-indol-3-karboxamid.

Predmetom tohto vynálezu je tiež spôsob prípravy zlúčenín uvedeného všeobecného vzorca (I), ktorého podstata spočíva v tom, že sa zlúčeniny všeobecného vzorca (I), kde  $R^2$  alebo  $R^3$  alebo  $R^2$  a  $R^3$  sú skupina všeobecného vzorca  $-O-R^7$ , sa premieňajú na zlúčeniny podľa tohto vynálezu odstránením skupiny  $R^7$ , kde  $R^7$  je v tomto prípade substituent vhodný ako odstupujúca skupina.

Výhodným uskutočnením tohto vynálezu je spôsob, ktorého podstata spočíva v tom, že  $R^7$  je alkylová skupina, cykloalkylová skupina, aralkylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, acylová skupina, alkoxykarbonylová skupina, aryloxykarbonylová skupina, aminokarbonylová skupina, N-substituovaná aminokarbonylová skupina, silylová alebo sulfonylová skupina a komplexotvorné činidlá, ako sú napríklad kyselina boritá, kyselina fosforečná a kovalentne alebo koordinovane viazané kovy, ako je zinok, hliník alebo meď.

Výhodným uskutočnením tohto vynálezu je spôsob prípravy zlúčenín uvedeného všeobecného vzorca (I), ktorého podstata spočíva v tom, že zlúčeniny všeobecného vzorca (I) sa konvertujú pomocou konverzie subštruktúry všeobecného vzorca:



na iné zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa tohto vynálezu.

Predmetom tohto vynálezu je rovnako použitie zlúčenín uvedeného všeobecného vzorca (I), ako terapeuticky aktívnych zlúčenín na výrobu liekov na liečenie porúch, pri ktorých je terapeuticky prínosná inhibícia TNF  $\alpha$  a ďalej pri ktorých je prínosná inhibícia fosfodiesterázy 4, rovnako ako na výrobu liekov na liečenie porúch spojených s pôsobením eozinofilov, alebo na výrobu liekov na liečenie chronických obštrukčných chorôb pulmonálnych alebo COPD.

Predmetom tohto vynálezu je liek, ktorého podstata spočíva v tom, že obsahuje jednu alebo viacero zlúčenín uvedeného vzorca (1), okrem bežne fyziologicky znášateľných nosičov a/alebo riedidiel, alebo iných prídavných látok.

Predmetom tohto vynálezu je nakoniec spôsob výroby opísaného lieku, ktorého podstata spočíva v tom, že sa jedna alebo viacero zlúčenín uvedeného vzorca (1) spracuje na farmaceutické prostriedky alebo vnesie do formy na terapeutické podanie s použitím bežných farmaceutických nosičov a/alebo riedidiel, alebo iných prídavných látok.

Predmety tohto vynálezu sú ďalej bližšie objasnené nasledujúcimi údajmi.

Ako už bolo opísané, predmetom vynálezu nie sú iba zlúčeniny všeobecného vzorca (1) samy osebe, ale tiež ich fyziologicky prijateľné soli.

Fyziologicky prijateľné soli sa bežným spôsobom získajú neutralizáciou báz anorganickými alebo organickými kyselinami alebo neutralizáciou kyselín anorganickými alebo organickými bázami. Možné anorganické kyseliny sú napríklad kyselina chlorovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná alebo kyselina bromovodíková, možné organické kyseliny sú napríklad karboxylové kyseliny, sulfokyseliny alebo sulfónové kyseliny, ako je kyselina octová, kyselina vínna, kyselina mliečna, kyselina propiónová, kyselina glykolová, kyselina malónová, kyselina maleínová, kyselina fumarová, kyselina trieslová, kyselina jantárová, kyselina alginová, kyselina benzoová, kyselina 2-fenoxybenzoová, kyselina 2-acetoxybenzoová, kyselina škoricová, kyselina mandľová, kyselina citrónová, kyselina jablčná, kyselina salicylová, kyselina 3-aminosalicylová, kyselina askorbová, kyselina embonová, kyselina nikotínová, kyselina izonikotínová, kyselina oxalová, aminokyseliny, kyselina metánsulfónová, kyselina etánsulfónová, kyselina 2-hydroxyetánsulfónová, kyselina etán-1,2-disulfónová, kyselina benzénsulfónová, kyselina 4-metylbenzénsulfónová alebo kyselina naftalén-2-sulfónová. Možné anorganické zásady sú napríklad roztok hydroxidu sodného, roztok hydroxidu draselného, amoniak a možné organické bázy sú amíny, ale výhodne terciárne amíny, ako je trimetylamín, trietylamín, pyridín, N,N-dimetylanilín, chinolín, izochinolín,  $\alpha$ -pikolín, beta-pikolín, gama-pikolín, chinaldín alebo pyrimidín.

Ďalej fyziologicky prijateľné soli zlúčeniny všeobecného vzorca (I) sa môžu získať konverziou derivátov s terciárnou aminoskupinou na zodpovedajúcu kvartérnu amóniovú soľ, spôsobom, ktorý je sám osebe známy s použitím kvarternizujúceho činidla. Možnými kvarternizujúcimi činidlami sú napríklad alkylhalogenidy, ako je metyljodid, etylbromid alebo n-propylchlorid, ale tiež arylalkylhalogenidy, ako je benzylchlorid alebo 2-fenetylbromid.

Ako už bolo uvedené, vynález sa týka ďalej zlúčenín všeobecného vzorca (I), ktoré obsahujú asymetrický atóm uhlíka, ktoré sú v D-forme, L-forme a zmesi D- a L-formiem a v prípade viacerých asymetrických atómov v diastereomérnych formách. Tieto zlúčeniny všeobecného vzorca (I), ktoré obsahujú asymetrické atómy uhlíka a spravidla sa získajú ako racemáty, sa môžu známym spôsobom rozdeliť na opticky aktívne izoméry, napríklad s použitím opticky aktívnej kyseliny. Na druhej strane je možné na začiatku použiť opticky aktívne východiskové látky, čím sa ako konečný produkt získa zodpovedajúca opticky aktívna alebo diastomérna zlúčenina.

Pri zlúčeninách podľa tohto vynálezu sa zistili farmakologicky významné vlastnosti, ktoré sa môžu terapeuticky využiť.

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu sú inhibítormi TNF  $\alpha$ .

Predmetom tohto vynálezu je tiež použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (I) alebo jej soli na výrobu lieku, ktorý obsahuje túto zlúčeninu alebo jej soľ. Taký liek sa môže použiť na liečenie ochorení, pri ktorých je prínosom inhibícia TNF  $\alpha$ .

Tieto ochorenia zahŕňajú napríklad zápal klbov, vrátane artritídy a reumatoidnej artritídy a iné reumatické ochorenia, ako je reumatoidná spondylitída a osteoartritída. Ďalšími možnosťami využitia je liečenie pacientov, ktorí trpia na sepsu, septický šok, gram-negatívnu sepsu, syndróm toxického šoku, syndróm dychovej nedostatočnosti, astmu alebo iné chronické pľúcne ochorenia, ochorenia sprevádzané resorpciou kostí, reakcie odhojenia transplantátu alebo iné autoimunitné ochorenia, ako je lupus erythematosus, roztrúsená skleróza, glomerulonefritída a uveitída, inzulín dependentný diabetes mellitus a chronická demyelinizácia.

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu môžu byť navyše využité na terapiu infekcií, ako sú vírusové alebo parazitárne infekcie, napríklad na terapiu malárie, s infekciou súvisiacich horúčok, s infekciou súvisiacou bolesťou svalov, AIDS a kachexiou.

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu sú inhibítormi fosfodiesterázy 4.

Predmetom tohto vynálezu je preto použitie zlúčenín všeobecného vzorca (I) a ich solí na výrobu lieku,

ktorý obsahuje zlúčeninu alebo jej soľ, pričom liek sa môže použiť na liečenie ochorení, pri ktorých je prínosom inhibícia fosfodiesterázy 4.

Predmetom tohto vynálezu je tiež použitie zlúčenín všeobecného vzorca (I) ako terapeuticky aktívnych zlúčenín na výrobu liekov na liečenie porúch spojených s pôsobením eozinofilov a na liečenie chronických obštrukčných pulmonálnych chorôb (COPD). Preto sa môžu zlúčeniny podľa tohto vynálezu použiť ako bronchodilatátory a na liečenie astmy. Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) sú ďalej inhibítormi hromadenia eozinofilov a ich aktivity. Medzi ochorenia s tým súvisiace sa zahŕňujú napríklad zápalové ochorenia dýchacích ciest, ako je priedušková astma, alergická nádcha, alergický zápal spojiviek, atopická dermatitída, ekzém, alergická angitída, zápaly sprostredkované eozinofilmi, ako je eozinofilná fasciitída, eozinofilná pneumónia a syndróm PIE (pľúcna infiltrácia s eozinofiliou), žihľavka, ulcerózna kolitída, Crohnova choroba a proliferatívne ochorenia kože, ako sú psoriáza a keratóza.

Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) a ich soli sú schopné inhibovať, tak *in vitro* lipopolysacharidmi (LPS) indukované uvoľňovanie TNF  $\alpha$  v ľudskej krvi, ako *in vivo* lipopolysacharidmi indukovanú pulmonárnu neutrofilnú infiltráciu na fretkách a domácich prasiatkach. Všetky zistené farmakologicky významné vlastnosti potvrdzujú, že zlúčeniny všeobecného vzorca (I) a ich soli, rovnako ako lieky obsahujúce tieto zlúčeniny alebo ich soli, sa môžu terapeuticky použiť na liečenie chronických obštrukčných ochorení pľúc.

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu majú ďalej neuroprotektívne vlastnosti a môžu sa použiť na liečenie ochorení, pri ktorých je prínosná neuroprotektia. Takýmito ochoreniami sú napríklad senilná demencia (Alzheimerova choroba), úbytok pamäťových funkcií, Parkinsonova choroba, depresia, mŕtvica a claudicatio intermittens.

Ďalšou možnosťou aplikácie zlúčenín podľa tohto vynálezu je profylaxia a terapia ochorení prostaty, ako sú napríklad benígna hyperplázia prostaty, pollakiuria, nočné pomočovanie a terapia atónic močového mechúra a kolík spôsobených obličkovými kameňmi.

Konečne, zlúčeniny podľa tohto vynálezu sa môžu rovnako použiť na inhibíciu rozvoja liekovej závislosti od opakovaného užívania analgetík, ako je napríklad morfin a na redukciu vývoja tolerancie pri opakovanom užívaní týchto analgetík.

Na výrobu liekov sa k bežným prídavným látkam, nosičom a aditívam používa účinná dávka zlúčenín podľa tohto vynálezu alebo ich soli.

Dávka aktívnej zlúčeniny sa môže meniť v závislosti od spôsobu podania, veku a hmotnosti pacienta, podstaty a závažnosti ochorenia, ktoré sa má liečiť a podobných faktorov.

Denná dávka sa môže dávať v individuálnej dávke, ktorá sa má podávať v jednej dávke alebo rozdeliť do 2 alebo viacerých dávok a je spravidla 0,001 - 100 mg.

Možné formy podania sú orálne, parenterálne, intravenózne, transdermálne, topické, inhalačné a intranazálne prípravky.

Bežné vhodné formy farmaceutických prípravkov sú vo forme tabliet, potáhaných tabliet, kapsúl, dispergovateľných práškov, granúl, vodných roztokov, vodných alebo olejových suspenzií, sirupov, štiav alebo kvapiek.

Pevné farmaceutické formy môžu obsahovať inertné zložky a nosiče, ako je napríklad uhličitán vápenatý, fosforečnan vápenatý, fosforečnan sodný, laktóza, škrob, manitol, algináty, želatína, arabská guma, stearát horečnatý alebo hlinitý, metylcelulóza, mastenec, vysoko disperzné kyseliny salicylové, silikónový olej, mastné kyseliny s vysokou molekulovou hmotnosťou (ako je kyselina stearová), želatína, agar - agar alebo rastlinné, alebo živočíšne tuky a oleje, pevné polyméry s vysokou molekulovou hmotnosťou (ako je polyetylén glykol); prípravky vhodné na orálne podanie môžu, ak je to žiaduce, obsahovať ďalšie príchute a/alebo sladidlá.

Tekuté farmaceutické formy sa môžu sterilizovať a/alebo prípadne obsahovať prídavné látky, ako sú konzervačné činidlá, stabilizačné činidlá, zmáčadlá, penetračné činidlá, emulzifikátory, vyplňovadlá, solubilizujúce činidlá, soli, cukry alebo cukornaté alkoholy na reguláciu osmotického tlaku alebo na pufrovanie a/alebo činidlá regulujúce viskozitu.

Prísady tohto typu sú napríklad tartrátové a citrátové pufre, etanol, komplexotvorné činidlá (ako je kyselina etyléndiamíntetraoctová a jej netoxické soli). Na reguláciu viskozity sú použiteľné polyméry s vysokou molekulovou hmotnosťou, ako je napríklad tekutý polyetylénoxid, mikrokryštalická celulóza, karboxymetylcelulózy, polyvinylpyrrolidóny, dextransy alebo želatína. Pevné nosiče sú napríklad škrob, laktóza, manitol, metylcelulóza, mastenec, vysoko disperzné kyseliny salicylové, mastné kyseliny s vysokou molekulovou hmotnosťou (ako je kyselina stearová), želatína, agar - agar, fosforečnan vápenatý, stearát horečnatý, živočíšne a rastlinné tuky, pevné polyméry s vysokou molekulovou hmotnosťou, ako je polyetylén glykol. Olejové suspenzie na parenterálnu alebo topickú aplikáciu môžu byť rastlinné, syntetické alebo semisyntetické oleje, ako sú napríklad kvapalné estery mastných kyselín, z ktorých každý má 8 až 12 atómov uhlíka v reťazcoch mastnej kyseliny, napríklad kyselina palmitová, laurová, tridecyllová, margarová, stearová, arachidová, myristová, behénová, pentadekanoová, linoleová, elaidová, brazidová, eruková alebo oleová, ktoré sú esterifikované s mono- až trojmocnými alkoholmi s 1 až 6 atómami uhlíka, ako je napríklad metanol, eta-

nol, propanol, butanol, pentanol alebo ich izoméry, glykol alebo glycerol. Estery mastných kyselín tohto typu sú napríklad komerčne dostupné myglioly, izopropylmyristát, izopropylpalmitát, izopropylstearát, PEG kyselina 6-kaprová, estery kyseliny kaprylovej/kaprovej s nasýtenými alifatickými alkoholmi, polyoxyetylénglyceroltrioleát, etyloléat, voskové estery mastných kyselín, ako je umelý tuk z mazovej žľazy káčerov, izopropylkokoát, oleyoléat, decyoléat, etyllaktát, dibutylftalát, diizopropyladipát, polyolové estery mastných kyselín a ďalšie. Vhodné sú rovnako silikónové oleje s rôznymi viskozitami alebo alifatické alkoholy, ako je izotridecylalkohol, 2-oktyldodekanol, cetylstearylalkohol alebo oleylalkohol, mastné kyseliny, ako je napríklad kyselina oleová. Ďalej sa môžu použiť rastlinné oleje, ako je ricínový olej, mandľový olej, olivový olej, sezamový olej, olej zo semien bavlníka, olej z podzemnice olejnej alebo sójový olej.

Vhodnými rozpúšťadlami, gélovacími činidlami a solubilizačnými činidlami sú voda a rozpúšťadlá miešateľné s vodou. Z týchto sú vhodné napríklad alkoholy, ako je napríklad etanol alebo izopropylalkohol, benzylalkohol, 2-oktyldodekanol, polyetylénglykoly, ftaláty, adipáty, propylénglykol, glycerol, di- alebo tripropylénglykol, vosky, metylcelosolve, celosolve, estery, morfolín, dioxán, dimetylsulfoxid, dimetylformamid, tetrahydrofurán, cyklohexanón atď.

Z poťahovacích činidiel sa môžu použiť estery celulózy, ktoré sú schopné sa rozpúšťať alebo napúčať tak vo vode, ako v organických rozpúšťadlách, ako je napríklad hydroxypropylmetylcelulóza, metylcelulóza, etylcelulóza alebo rozpustné škroby.

Veľmi dobre sa hodia tiež zmiešané formy medzi gélovacími a poťahovacími činidlami. Z týchto sa používajú špeciálne iónové makromolekuly, ako je napríklad natriumkarboxymetylcelulóza, kyselina polyakrylová, kyselina polymetylakrylová a jej soli, sodná soľ amylopektínsemiglykolátu, kyselina algínová alebo propylénglykol-alginát ako sodná soľ, arabská guma, xantánová guma, guarová guma alebo karagenan.

Ďalšie prídavné látky pre prípravky, ktoré sa môžu použiť, sú glycerol, parafín s rôznymi viskozitami, trietanolamín, kolagén, alantoin a kyselina novantisolová.

Použitie surfaktantov, emulzifikačných činidiel alebo zvlhčujúcich činidiel môže byť nevyhnutné rovnako pre prípravky, ako sú napríklad sodná soľ laurylsulfátu, étersulfáty alifatických alkoholov, dvojsodná soľ kyseliny N-lauryl- $\beta$ -propiónovej, polyetoxyetylovaný ricínový olej alebo sorbitanmonooleát, sorbitanmonostearát, polysorbáty (napríklad Tween), cetylalkohol, lecitín, glycerolmonostearát, polyoxyetylénstearát, alkylfenylpolyglykolétery, cetyltrimetylamóniumchlorid alebo monoetanolamínová soľ mono-/dialkylpolyglykoléteri kyseliny ortofosforečnej.

Na prípravu požadovaných prípravkov môžu byť prípadne rovnako nutné kvôli stabilizácii emulzií stabilizačné činidlá, ako sú montmorilonity alebo koloidné kyseliny salicylové, alebo na prevenciu rozpadu aktívnych látok antioxidantmi, napríklad tokoferoly alebo butylhydroxyanizol, alebo konzervačné činidlá, ako sú estery kyseliny p-hydroxybenzoovej.

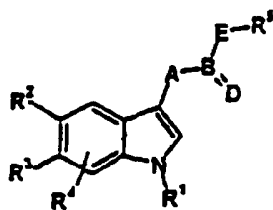
Prípravky na parenterálne podanie môžu byť prítomné vo formách s oddelenými dávkovými jednotkami, ako sú napríklad ampulky alebo fľaštičky. Výhodne sa používajú roztoky aktívnej zlúčeniny, výhodne roztoky vodné a najmä roztoky izotonické, ale rovnako suspenzie. Tieto injekčné formy môžu byť dostupné vo forme konečných prípravkov alebo sa môžu iba pripraviť tesne pred podaním zmiešaním aktívnej zlúčeniny, napríklad lyofilizátu, ak je vhodné, s ďalšími pevnými nosičmi, s požadovaným rozpúšťadlom alebo suspenzačným činidlom.

Intranazálne prípravky môžu byť prítomné ako vodné alebo olejové roztoky alebo vodné alebo olejové suspenzie. Môžu byť rovnako prítomné ako lyofilizáty, ktoré sa pred podaním pripravujú s použitím vhodných rozpúšťadiel alebo suspenzačných činidiel.

Výroba, plnenie a uzatváranie prípravkov sa vykonáva za bežných antimikrobiálnych a aseptických podmienok.

Vynález sa ďalej týka postupov prípravy zlúčenín podľa tohto vynálezu.

Podľa tohto vynálezu sa zlúčeniny všeobecného vzorca (I):



(I),

v ktorom:

$R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ , A, B, D a E majú význam, ako bol uvedený,

prípravujú konverziou zlúčenín všeobecného vzorca (I), v ktorom  $R_2$  alebo  $R_3$  alebo  $R_2$  a  $R_3$  sú skupina všeobecného vzorca  $-OR^7$ , na zlúčeninu podľa tohto vynálezu odstránením skupiny  $R^7$ .

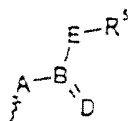
$R^7$  predstavuje v tomto prípade substituentov vhodných ako odstupujúce skupiny, ako je napríklad alkylová skupina, cykloalkylová skupina, aralkylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, acylová skupina, alkoxykarbonylová skupina, aryloxykarbonylová skupina, aminokarbonylová skupina, N-substituovaná aminokarbonylová skupina, silylové alebo sulfonylové skupiny a komplexotvorné činidlá, ako sú napríklad deriváty kyseliny boritej, kyseliny fosforečnej a kovalentne alebo koordinovane viazané kovmi, ako je zinok, hliník alebo meď.

Obzvlášť výhodnými reakciami odstránenia  $R^7$  v rámci postupu prípravy podľa tohto vynálezu sú hydrolyzy s použitím vhodných báz, ako sú napríklad roztok hydroxidu sodného, roztok hydroxidu draselného alebo uhličitan sodný, alebo uhličitan draselný.

Tieto hydrolyzy sa výhodne používajú tam, kde skupina R je acylová skupina, alkoxykarbonylová skupina, aryloxykarbonylová skupina, aminokarbonylová skupina, N-substituovaná aminokarbonylová skupina, silylové alebo sulfonylové skupiny a komplexotvorné činidlá, ako sú napríklad deriváty kyseliny boritej, kyseliny fosforečnej a kovalentne alebo koordinovane viazané kovy, ako je zinok, hliník alebo meď.

Obzvlášť výhodné reakcie v rámci postupu prípravy podľa tohto vynálezu na odstránenie  $R^7$  zo zlúčenín, v ktorých  $R^7$  je alkylová skupina, cykloalkylová skupina, aralkylová skupina, arylová skupina alebo heteroarylová skupina, sú štiepenie éteru, napríklad prostredníctvom kyseliny bromovodíkovej, kyseliny chlorovodíkovej, kyseliny jódovodíkovej a s použitím aktivujúcej Lewisovej kyseliny, ako je napríklad chlorid hlinitý, fluorid boritý, bromid boritý alebo chlorid lítny, v každom prípade za neprítomnosti alebo za prítomnosti dodatočných aktivátorov, ako sú napríklad etán-1,2-ditiol alebo benzylmerkaptan a štiepenie éteru prostredníctvom vodíka, za zvýšeného alebo normálneho tlaku, za prítomnosti vhodného katalyzátora, ako je napríklad paládiový alebo irídiový katalyzátor.

Podľa tohto vynálezu zlúčeniny všeobecného vzorca (I), kde  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ , A, B, D a E majú význam, ako bol uvedený, sa pripravujú rovnako konverziou zlúčenín podľa tohto vynálezu všeobecného vzorca (I) na iné zlúčeniny podľa tohto vynálezu všeobecného vzorca (I), prostredníctvom konverzie subštruktúry všeobecného vzorca:



pomocou reakcie, ktorá samotná je známa.

Obzvlášť výhodné konverzné reakcie zlúčenín všeobecného vzorca (I) podľa tohto vynálezu sú napríklad také, kde A je skupina vzorca  $-(C=O)-$ , redukciou sa získava A ako skupina vzorca  $-(CH-CH)-$  alebo A ako skupina vzorca  $-CH_2-$ , pričom redukcia sa vykonáva s použitím bežne redukčných činidiel, ako je bórhydrid sodný alebo hydrogenáciou, ktorá sa môže prípadne vykonať stereoselektívne.

Ďalšie výhodné konverzné reakcie sú konverzie zlúčenín, v ktorých D a E je atóm kyslíka, na zlúčeniny, kde iba D je atóm kyslíka, ale E je skupina vzorca  $-(N-Z)$ , kde Z má už vysvetlený význam.

### Príklady uskutočnenia vynálezu

Exemplárne preparačné postupy prípravy zlúčenín všeobecného vzorca (I) podľa tohto vynálezu z východiskových látok typu, ktorý bol opísaný, v ktorých  $R^7$  je alkylová skupina, cykloalkylová skupina, aralkylová skupina, arylová skupina alebo heteroarylová skupina.

#### Príklad 1

N-(3,5-Dichlórpyridín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid (1)

1,4 g (3 mmol) N-(3,5-dichlórpyridín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-metoxiindol-3-yl]-2-oxoacetamidu sa rozpustí v 100 ml dichlórmetánu. Roztok sa zahreje pod spätným chladičom a za miešania sa spracuje s roztokom 14 mmol bromidu boritého v 15 ml dichlórmetánu. Reakčná zmes sa zahrieva pod spätným chladičom 3 hodiny. Po ochladení sa roztok 3 hodiny intenzívne mieša pri 20 °C s 200 ml vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. V priebehu tohto produktu vykryštalizuje. Produkt sa izoluje, suší pri 60 °C a rekryštalizuje z 80 ml etanolu.

Výtazok: 1,1 g (teoreticky 80 %).

Teplota topenia: 213 až 214 °C.

## Príklad 2

N-(3,5-Dichlórpýridín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid (1)

5 g (38 mmol) bezvodého chloridu hlinitého sa pridá do 50 ml etán-1,2-ditiolu. Roztok 4,7 g (10 mmol) N-(3,5-dichlórpýridín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-metoxýindol-3-yl]-2-oxoacetamidu sa pri teplote 0 °C pridá do 50 ml dichlórmétanu. Zmes sa mieša pri 0 °C 4 hodiny. Za miešania sa pri teplote 0 až 10 °C po kvapkách pridá 50 ml 10 % kyseliny chlorovodíkovej. Kryštalizujúci produkt sa izoluje, premyje vodou a suší pri 20 °C. Čistý produkt sa získa rekryštalizáciou zo 180 ml etanolu.

Výtťažok: 3,1 g (teoreticky 67 %).

Teplota topenia: 212 až 214 °C.

- 10 Exmplárne preparačné postupy prípravy zlúčenín všeobecného vzorca (I) podľa tohto vynálezu z východiskových látok typu, ktorý bol opísaný, v ktorých R<sup>7</sup> je acylová skupina, alkoxykarbonylová skupina, aryloxykarbonylová skupina, aminokarbonylová skupina, N-substituovaná aminokarbonylová skupina, silylová alebo sulfonylová skupina.

## 15 Príklad 3

Sodná soľ N-(3,5-dichlórpýridín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamidu (2)

5 g (10 mmol) N-(3,5-dichlórpýridín-4-yl)-2-[5-acetoxý-1-(4-fluórbenzyl)indol-3-yl]-2-oxoacetamidu sa pri teplote 40 až 50 °C mieša 1 hodinu v 50 ml zriedeného roztoku hydroxidu sodného. Roztok sa pri súčasnom chladení ľadom neutralizuje 10 % kyselinou chlorovodíkovou a odparí dosucha. Odparok sa rozpustí v 80 ml acetónu. Nerozpustné zložky sa odstraňujú. Čirý roztok sa spracuje s roztokom 0,4 g hydroxidu sodného v 3 ml vody a pri 20 °C sa mieša 2 hodiny. Vykryštalizovaný produkt sa izoluje, premyje acetónom a suší pri 60 °C

Výtťažok: 2,44 g (teoreticky 51 %).

Teplota topenia: 265 °C.

- 25 Exmplárne preparačné postupy prípravy zlúčenín všeobecného vzorca (I) podľa tohto vynálezu z inej zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa tohto vynálezu.

## Príklad 4

N-(3,5-Dichlórpýridín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-hydroxyacetamid (3)

- 30 1 g (1,2 mmol) N-(3,5-dichlórpýridín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamidu sa suspenduje v 75 ml metanolu. Pridá sa roztok 0,2 g borohydridu sodného v 3 ml zriedeného roztoku hydroxidu sodného, potom sa reakčná zmes mieša počas 6 hodín pri teplote 20 °C. Po tom, ako sa rozpúšťadlo odstráni destiláciou, odparok sa rekryštalizuje zo 40 ml etanolu.

Výtťažok: 0,5 g (teoreticky 50 %).

- 35 Teplota topenia: 205 až 207 °C.

S použitím príkladovým spôsobom ukázaných možností sa môže pripraviť rad ďalších zlúčenín všeobecného vzorca (I), z ktorých nasledujúce sú uvedené ako príklad:

Zlúčenina	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>	A	B	D	E	Teplota topenia (°C)
1	4-fluórbenzyl	-OH	-H	-H	3,5-dichlór-4-pyridyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	215
2	4-fluórbenzyl	-O <sup>-</sup> Na <sup>+</sup>	-H	-H	3,5-dichlór-4-pyridyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	265
3	4-fluórbenzyl	-OH	-H	-H	3,5-dichlór-4-pyridyl	-(CHOH)-	C	O	-(N-H)-	205 - 207
4	2,6-difluórbenzyl	-OH	-H	-H	4-pyridyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	327 - 329
5	2,6-difluórbenzyl	-OH	-H	-H	3,5-dichlór-4-pyridyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	266 - 268
6	3-nitrobenzyl	-O <sup>-</sup> Na <sup>+</sup>	-H	-H	3,5-dichlór-4-pyridyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	235 - 238 (rozklad)
7	n-propyl	-OH	-H	-H	3,5-dichlór-4-pyridyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	280 - 282
8	izopropyl	-OH	-H	-H	3,5-dichlór-4-pyridyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	245 - 247
9	cyklopentylmetyl	-OH	-H	-H	3,5-dichlór-4-pyridyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	246 - 248
10	4-fluórbenzyl	-OH	-H	-H	2,6-dichlórfenyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	216 - 218
11	4-fluórbenzyl	-OH	-H	-H	2,6-dichlór-4-trifluórmetylfenyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	199 - 201
12	4-fluórbenzyl	-OH	-H	-H	2,6-dichlór-4-trifluórmetoxyfenyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	176 - 178
13	4-fluórbenzyl	-H	-OH	-H	3,5-dichlór-4-pyridyl	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	212 - 213
14	4-metoxýbenzyl	-OH	-H	-H	3,5-dichlór-4-pyridyl	-	C	O	-(N-H)-	239 - 241

- 40 Zlúčeniny podľa tohto vynálezu sú silné inhibitory uvoľňovania fosfodiesterázy 4 a TNF  $\alpha$ . Ich terapeutický potenciál sa potvrdil *in vivo*, napríklad inhibíciou astmatickej reakcie neskorej fázy (eozinofília) pri morčatách a ovplyvnením alergénom indukovanej permeability ciev pri aktívne senzitivovaných krysách kmeňa brown Norway.

## Inhibícia fosfodiesterázy

Aktivita PDE 4 sa stanoví na enzýmových preparátoch ľudských polymorfonukleárných lymfocytov (PMNL), aktivita PDE 2, 3 a 5 pomocou PDE z ľudských krvných doštičiek. Ľudská krv sa zbaví zrážanlivosti pomocou citrátu. Plazma bohatá na trombocyty obsiahnuté v supernatante sa oddelí od erytrocytov a leukocytov odstredným 20 minút pri 700 x g pri teplote miestnosti. Doštičky sa lyzujú ultrazvukom a využijú pri analýze PDE 3 a PDE 5. Kvôli určeniu aktivity PDE 2 sa frakcia cytosolu doštičiek purifikuje na anióny meniacej kolóny pri gradientoch chloridu sodného a pík PDE 2 sa odpočíta kvôli analýze. Polymorfonukleárne lymfocyty na stanovenie PDE 4 sa izolujú nasledujúcou sedimentáciou v dextrans a následným odstredným v gradiente s použitím Ficoll - Paque. Po druhom premytí buniek sa erytrocyty, ktoré ešte zostali, lyzujú pridaním 10 ml hypotonického pufru (155 mM chloridu amónneho, 10 mM hydrogenuhličitanu sodného, 0,1 mM EDTA, pH 7,4) v priebehu 6 minút pri 4 °C. Doteraz intaktné polymorfonukleárne lymfocyty sa premyjú PBS ešte dvakrát a lyzujú sa ultrazvukom. Supernatant z 1-hodinového odstredovania pri 48 000 x g pri 4 °C obsahuje cytosolovú frakciu PDE 4 a použije sa na meranie PDE 4.

Aktivita fosfodiesterázy sa určí modifikáciou metódy, ktorú opísal Thompson a kol. (Thompson, W. J., Appleman, M. M.; Assay of cyclic nucleotide phosphodiesterase and resolution of multiple molecular forms of the enzyme, *Adv. Cycl. Nucl. Res.*, 10, 69 až 92 (1979)):

Reakčné zmesi obsahujú 50 mM Tris HCl (pH 7,4), 5 mM chloridu horečnatého, inhibitory s rôznou koncentráciou, zodpovedajúce enzýmové preparáty a rovnako ďalšie zložky nutné na detekciu jednotlivých izoenzýmov (pozri nižšie). Reakcia začína pridaním substrátu 0,5  $\mu\text{M}$  [ $^3\text{H}$ ]-cAMP alebo [ $^3\text{H}$ ]-cGMP (asi 6 000 CPM na test). Výsledný objem je 100 ml. Testované látky sa pripravujú ako zásobný roztok v DMSO. Koncentrácia DMSO v reakčnej zmesi je 1 % objemové. Pri tejto koncentrácii DMSO nie je narušená aktivita PDE. Po začatí reakcie pridaním substrátu sa vzorky inkubujú 30 minút pri 37 °C. Reakcia sa zastaví zahriatím testovacích skúmaviek na 2 minúty na teplotu 110 °C. Vzorky sa nechajú ďalších 10 minút na ľade. Po pridaní 30  $\mu\text{l}$  5'-nukleotidázy s koncentráciou 1 mg/ml (zo suspenzie hadieho jedu z *Crotalus adamanteus*) sa inkubuje 10 minút pri 37 °C. Reakcia vzoriek sa zastaví na ľade, do každej sa pridá 400  $\mu\text{l}$  zmes Dowex/voda/etanol v pomere 1 : 1 : 1 a vzorky sa dobre premiešajú a opäť sa inkubujú 15 minút na ľade. Reakčné nádoby sa odstredujú 20 minút pri 3000 x g. 200  $\mu\text{l}$  alikvótov supernatantu sa prevedie priamo do scintilačných kvetiek. Po pridaní 3 ml scintilátora sa vzorky merajú v beta čítači.

[ $^3\text{H}$ ]-cAMP sa používa ako substrát na určenie aktivity PDE 4, 3 a 2, [ $^3\text{H}$ ]-cGMP na určenie aktivity PDE 5. Nešpecifické enzýmové aktivity sa pre každý prípad určujú za prítomnosti 100  $\mu\text{M}$  rolipramu pre prípad PDE 4 a za prítomnosti 100  $\mu\text{M}$  IBMX pri určovaní PDE 3 a 5 a odpočítajú sa od hodnôt zistených v teste. Inkubačné šarže analýzy PDE 3 obsahujú 10  $\mu\text{M}$  rolipramu kvôli zabráneniu novej kontaminácie fosfodiesterázou 4. PDE 2 sa testuje s použitím SPA analýzy z Amershamu. Analýza sa vykonáva za prítomnosti aktívatoru PDE 2 (5  $\mu\text{M}$  cGMP).

Pre zlúčeniny podľa tohto vynálezu boli vo vzťahu k inhibícii fosfodiesterázy 4 počítané hodnoty  $\text{IC}_{50}$  rozmedzí  $10^{-9}$  až  $10^{-5}$  M. Selektivita PDE typu 2, 3 a 5 je faktor od 100 do 10 000.

Inhibícia uvoľňovania TNF  $\alpha$  z buniek nosných polypov

Experimentálne usporiadanie v zásade zodpovedá metóde, ktorú opísal Campbell, A. M. a Bousquet, J., v *Anti-allergic activity of H<sub>1</sub>-blockers*, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 101, 308 až 310 (1993). Východiskovým materiálom sú nosné polypy (operačný materiál) z pacientov, ktorí sa podrobili operatívnej liečbe.

Tkanivo sa premyje RPMI 1640 a potom sa rozrušuje 2 hodiny pri 37 °C s použitím proteázy s koncentráciou 2,0 mg/ml, kolagenázy s koncentráciou 1,5 mg/ml, hyaluronidázy s koncentráciou 0,75 mg/ml a DNAázy s koncentráciou 0,05 mg/ml (1 g tkaniva do 4 ml RPMI 1640 s enzýmami). Bunky, ktoré sa získajú, zmes buniek epitelu, monocytov, makrofágov, lymfocytov, fibroblastov a granulocytov, sa filtrujú a premyjú opakovaným odstredovaním v živnom roztoku, pasívne senzitivujú pridaním ľudských IgE a bunková suspenzia sa upraví na koncentráciu 2 milióny buniek/ml v RPMI 1640 (doplneného antibiotikami, 10 % fetálnym tel'acím sérom, 2 mM glutamínu a 2 mM HEPES). Táto suspenzia sa umiestni na platne bunkových kultúr so 6 jamkami (1 ml/jamka). Bunky sa preinkubujú 30 minút s testovanou látkou v rôznych výsledných koncentráciách a potom sa stimulujú na uvoľňovanie TNF  $\alpha$  pridaním anti-IgE v koncentrácii 7,2  $\mu\text{g/ml}$ . K maximálnemu uvoľneniu do živného média dochádza asi po 18 hodinách. V tomto období sa bunky inkubujú v 5 % atmosfére oxidu uhličitého a pri 37 °C. Živé médium (supernatant) sa odoberie odstredovaním (5 minút pri frekvencii otáčok 4000 za minútu) a skladuje sa pri teplote -70 °C až do stanovovania cytokínu. Stanovenie TNF  $\alpha$  v supernatante sa vykonáva s použitím tzv. sendvičovej ELISA (základný materiál Pharmigen), ktorou sa môžu detekovať koncentrácie cytokínu v rozmedzí 30 až 1 000 pg/ml.

Bunky, ktoré nie sú stimulované IgE, zriedka produkujú TNF  $\alpha$ , oproti tomu stimulované bunky vylučujú veľké množstvá TNF  $\alpha$ , ktoré sa môžu znížiť v závislosti od dávky, napríklad inhibítorami PDE 4.  $\text{IC}_{50}$  (koncentrácia, pri ktorej dochádza k 50 % inhibícii) sa spočíta z percentuálneho podielu inhibície (TNF  $\alpha$  uvoľňovaný z buniek stimulovaných IgE = 10 %) pri testovaných látkach v rôznych koncentráciách.

Pri zlúčeninách podľa tohto vynálezu sa stanovené hodnoty  $IC_{50}$  pohybujú v rozmedzí od  $10^{-7}$  do  $10^{-5}$  M.

Inhibícia eozinofilie neskorej fázy pri aktívne senzibilizovaných morčatách 24 hodín po expozícii inhalácie ovalbumínu

5 Inhibícia pľúcnej eozinofilovej infiltrácie pomocou látok sa skúmala v teste vykonávanom *in vivo* na samčekom morčatá kmeňa Dunkin - Hartley (200 - 250 g) aktívne senzibilizovaných proti ovalbumínu (OVA). Senzibilizácia sa vykonávala prostredníctvom dvoch intraperitoneálnych injekcií suspenzie 20  $\mu$ g ovalbumínu spolu s 20 mg hydroxidu hlinitého ako adjuvans, v 0,5 ml fyziologického roztoku pri každom zvierati dva po sebe nasledujúce dni. 14 dní po druhej injekcii sa zvieratá ošetrí mepyrámínmaleátom

10 v koncentrácii 10 mg/kg (i.p.), aby sa ochránili pred smrťou z anafylaktického šoku. O 30 minút neskôr sa zvieratá exponujú 30 sekúnd v plastickej komore ovalbumínovým aerosólom v koncentrácii 0,5 mg/ml, ktorý sa vytvára nebulizérom poháňaným stlačeným vzduchom (19,6 kPa) (expozícia alergénom). Kontrolné zvieratá sa nebulizujú fyziologickým roztokom. 24 hodín po expozícii sa zvieratá anestetizujú predávkovaním etyluretánom (1,5 g/kg telesnej hmotnosti i.p.) a vykoná sa bronchoalveolárna laváž (BAL) s použitím 2 x

15 x 5 ml fyziologického roztoku. Tekutina z bronchoalveolárnej laváže sa odoberie, odstredí sa pri frekvencii otáčok 300 za minútu počas 10 minút a bunkové pelety sa potom resuspendujú v 1 ml fyziologického roztoku. Eozinofily z bronchoalveolárnej laváže sa čítajú s použitím prístroja na automatické rozlišovanie buniek (Bayer Diagnostics Technicon H1). Do každého testu sa zahrnú dve kontrolné skupiny (nebulizovaná fyziologickým roztokom a nebulizovaná roztokom ovalbumínu).

20 Percentuálny podiel inhibície eozinofilie testovanej skupiny liečenej látkou sa vypočíta podľa nasledujúceho vzorca:

$$\% \text{ inhibície} = 100 - \frac{100 \cdot (B - C)}{(A - C)},$$

25 v ktorom:

A sú eozinofily v kontrolnej skupine exponovanej ovalbumínu a vehikulu,

B sú eozinofily v skupine exponovanej ovalbumínu, liečenej substanciou a

C sú eozinofily v kontrolnej skupine exponovanej 0,9 % fyziologickému roztoku a vehikulu.

30 Testované látky sa podávajú intraperitoneálne alebo orálne ako suspenzie v 10 % polyetylén glykolu 300 a v 0,5 % 5-hydroxyetylcelulóze 2 hodiny pred expozíciou alergénu. Kontrolné skupiny sa ošetrí vehikulom podľa formy podania testovanej substancie.

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu inhibujú v 30 až 80 % eozinofiliu neskorej fázy po intraperitoneálnom podaní v koncentrácii 10 mg/kg a v 40 až 70 % po orálnom podaní v koncentrácii 30 mg/kg.

35 Zlúčeniny podľa tohto vynálezu sú preto vhodné hlavne na výrobu liekov na liečenie porúch spojených s činnosťou eozinofilov.

Účinok alergénom indukovanej permeability ciev na aktívne senzibilizované krysy kmeňa brown Norway

40 Samce krys kmeňa brown Norway s hmotnosťou 280 až 300 g sa po dva po sebe nasledujúce dni aktívne senzibilizujú intraperitoneálnou injekciou suspenzie 1 mg ovalbumínu spoločne so 100 mg hydroxidu hlinitého v množstve 1 ml na zviera. 3 týždne po senzibilizácii sa krysy anestetizujú tiopentalom sodným a fixujú sa v supinačnej pozícii. Z dôvodu perfúzie nosnej dutiny sa do priedušnice zavedie polyetylénový katéter zadným smerom až k vnútorným ústiam choan tak, že sa umožní vykvapkávanie roztoku cez nosnú dutinu. Krátky priedušnicový katéter sa zavedie do priedušnice pravouhlým spôsobom, aby sa umožnilo dýchanie.

45 Kvôli perfúzii sa cez nosnú dutinu nepretržite pumpuje fyziologický roztok pufrovaný fosfátom (PBS) rýchlosťou 0,5 ml/min. s použitím valcového čerpadla a odoberá sa do frakčného zberača. Ako plazmatický marker sa použije farbivo Evansova modrá (na každé zviera 1 ml roztoku so silou 1 % v PBS) a inhibuje sa katétrom intravenózne do podkľúčnej žily.

Podávanie látky sa vykonáva topicky. Počas tohto podávania sa testovaná látka pridáva k perfúznemu médiu (PBS). Sliznicová membrána nosa sa 30 minút perfunduje roztokom obsahujúcim inhibitor PDE 4. Po

50 tom, pred začiatkom perfúzie roztokom obsahujúcim ovalbumín (expozícia) sa inhibuje Evansova modrá. Po začiatku expozície ovalbumínu (10 mg/ml) ovalbumínu rozpusteného v PBS sa 15 minútové frakcie odoberajú každých 15 minút do frakčného zberača po časové obdobie 60 minút. Koncentrácia Evansovej modrej v perfúznom roztoku sa meria na Digiscan fotometri pri vlnovej dĺžke 620 nm. V priebehu tohto procesu sa automaticky odpočítajú hodnoty pozadia. Priebeh deja sa 60 minút hodnotí s použitím programu AUC. Pôsobenie látky v skupine s prostriedkom sa hodnotí percentuálne oproti kontrolám s vehikulom.

55 Pri zlúčeninách podľa tohto vynálezu sa stanovili hodnoty  $IC_{50}$  v rozmedzí medzi  $10^{-8}$  a  $10^{-5}$  M.

Využitelnosť zlúčenín všeobecného vzorca (I) podľa tohto vynálezu pri liečení chronickej pulmonálnej obštrukčnej choroby sa potvrdila inhibíciou lipopolysacharidom indukovaného uvoľňovania TNF  $\alpha$  v ľudskej krvi a inhibíciou lipopolysacharidom indukovanej neutrofilnej infiltrácie na fretkách a prasiatkach domácich.

60 K stimulácii uvoľňovania cytokínov pri izolovaných leukocytoch dochádza rôznymi spôsobmi. Lipopoly-

sacharidy (LPS) sú stimulátormi vhodnými na výskum uvoľňovania TNF  $\alpha$ . LPS sú zložkami bakteriálnej bunkovej steny a uvoľňujú sa pri smrti baktérie (antibiotikami alebo činnosťou imunitného systému). LPS stimulujú hlavne činnosť fagocytujúcich leukocytov (tkanivové makrofágy, granulocyty, monocyty) a spôsobujú infiltráciu leukocytov z krvného riečiska do postihnutého tkaniva. Cytokínom významným v týchto me-

5  
 10  
 15

Lipopolysacharidmi indukované uvoľňovanie TNF  $\alpha$  v ľudskej krvi riedenej 1 : 5

Kvôli skúmaniu účinku na uvoľňovanie TNF  $\alpha$  sa získa krv od rôznych darcov (koagulácia sa inhibuje pomocou citrátu) a nariedi sa médiom na pestovanie bunkových kultúr RPMI 1640 v pomere 1 : 5. K vzorkám sa pred expozíciou lipopolysacharidmi pridávajú testované látky v rôznych koncentráciách. O 30 minút neskôr sa vykonáva stimulácia leukocytov s použitím lipopolysacharidov zo *Salmonella abortus equi* vo výslednej koncentrácii 10  $\mu\text{g/ml}$ . Po 24 hodinovej inkubácii testovaných šarží v inkubátore pri teplote 37  $^{\circ}\text{C}$  v atmosfére s 5 % oxidu uhličitého sa zriedená krv odstredí a koncentrácia TNF  $\alpha$  v bezbunkovom supernatante sa meria s použitím ELISA

Pri zlúčeninách podľa tohto vynálezu sa určili hodnoty  $\text{IC}_{50}$  v rozmedzí od  $10^{-7}$  do  $10^{-5}$  M. Hodnota  $\text{IC}_{50}$  vo výške 0,8  $\mu\text{mol/l}$  sa napríklad stanovila pre zlúčeninu v príklade 1. V porovnaní s tým, pri referenčnom štandarde SB 207499 sa stanovila hodnota  $\text{IC}_{50}$  vo výške 7,0  $\mu\text{mol/l}$ .

20 Inhibícia lipopolysacharidmi (LPS) indukovanej neutrofilie pri fretkách

Inhibícia pľúcnej neutrofilnej infiltrácie pomocou látky sa skúma v teste vykonávanom *in vivo* na samčekoch fretiek (0,6 až 2 kg). Pokusné zvieratá sa anestetizujú pentobarbitalom sodným (40 mg/kg telesnej hmotnosti, i.p.), umiestnia jednotlivito do nebulizačnej komory s objemom 5 l a exponujú 10 minút ultrazvukom nebulizovaného aerosólu roztoku lipopolysacharidov (LPS) s koncentráciou 0,01 % (dodatočne 0,1 % hydroxylamínu v PBS). Aerosól sa vytvára nebulizérom poháňaným stlačeným vzduchom (0,2 MPa). Kontrolné zvieratá sa vystavia aerosólu fyziologického roztoku. Zvieratá sa počas celého procesu pozorujú a po tom, ako nastúpi čerstvý vzduch, odoberú sa z nebulizačnej komory. Pri inhalácii nebulizovanej LPS bezprostredne indukujú zápal dýchacích ciest, ktorý je charakterizovaný masívnou infiltráciou neutrofilných granulocytov do pľúc pokusných zvierat. Neutrofilia dosahuje svoje maximum 4 až 6 hodín po expozícii LPS. Aby sa umožnilo zmeranie počtu infiltrovaných neutrofilných granulocytov, zvieratá sa 6 hodín po provokácii LPS anestetizujú predávkovaním etyluretánom (1,5 g/kg telesnej hmotnosti, i.p.) a vykoná sa bronchoalveolárna (presná citácia) laváž (BAL) s použitím 2 x 10 ml fyziologického roztoku. Počty buniek zhromaždenej pôvodnej BAL tekutiny (100  $\mu\text{l}$ ) sa stanovili s použitím prístroja Technicon H1E na automatické rozlišovanie buniek (Bayer Diagnostics) a odlišia sa rôzne leukocyty na 1  $\mu\text{l}$ . Do každého testu sa zahrnú dve kontrolné skupiny (nebulizácia fyziologickým roztokom alebo nebulizácia roztokom LPS). Látky s protizápalovým pôsobením, najmä tie, ktoré pôsobia na uvoľňovanie TNF  $\alpha$  alebo funkcie neutrofilných granulocytov, inhibujú infiltráciu leukocytov. Inhibícia infiltrácie sa určí porovnaním počtu infiltrovaných neutrofilov pri neliečených pokusných zvieratách (s LPS provokáciou a bez nej).

Pri zlúčeninách podľa tohto vynálezu sa určili hodnoty  $\text{ID}_{50}$  v rozmedzí od 1 do 20 mg/kg i.p. Zlúčenina z príkladu 1 sa napríklad podáva 2 hodiny pred provokáciou LPS v dávkach 1, 3 a 10 mg/kg i.p. až 3 experimentálnym zvieratám na dávku. Neutrofilia sa v BAL inhibovala v závislosti od dávky (18 %, 64 % a 78 %).  $\text{ID}_{50}$  je 2,4 mg/kg i.p.

Podávanie vybraného PDE 4 inhibítora RPR-73401 (referenčná látka) v dávke 1 mg/kg i.p. spôsobuje inhibíciu neutrofilie v 49 %.

Kvôli intrapulmonálnemu podávaniu sa otvorí priedušnica zvierat pri anestézii (40 mg/kg i.p. pentobarbitalu sodného, 3 % koncentrácia, 1,3 mg/kg), do vnútra sa zasunie 7 cm dlhý katéter a testovaná látka sa podáva injekčnou striekačkou 2 hodiny intrapulmonálne vo forme prášku (zmiešaný s laktózou na 20 mg/kg) pred provokáciou LPS.

Intrapulmonálne podávanie zlúčeniny z príkladu 1 v dávkach 1, 3 a 10 mg/kg i.p. inhibuje LPS indukovanú neutrofiliiu v závislosti od dávky (43 %, 65 % a 100 %).  $\text{ID}_{50}$  je 1,65 mg/kg i. Palm.

Lipopolysacharidmi indukovaná neutrofilia pri prasatách domácich

Pri prasatách domácich sa môže pľúcna neutrofilia indukovať spôsobom podobným ako pri fretkách. Zvieratá sa anestetizujú (pentobarbital 10 mg/kg i.v.) a zaintubujú. S použitím bronchoskopu sa vykoná čiastočná bronchoalveolárna laváž, aby sa určil podiel neutrofilných granulocytov za fyziologických podmienok. Potom sa podá testovaná látka a zvieratá vdychujú cez priedušnicovú trubicu 20 minút ultrazvukom nebulizovaný aerosól roztoku lipopolysacharidov (LPS) s koncentráciou 0,03 % (dodatočne 0,1 % hydroxylamínu v PBS). Vdychovaný LPS indukuje v obrovskom rozsahu reaktívny zápal dýchacích ciest a infiltráciu neutrofilnými granulocytmi. Neutrofilia dosahuje svoje maximum 4 až 6 hodín po expozícii LPS. Po 6 hodinách sa bronchoalveolárna (presná citácia) laváž opakuje a nárast počtu neutrofilov sa určí aritmeticky.

Vzhľadom na to, že zvieracie druhy prasiat majú veľké anatomické a fyziologické podobnosti s človekom, sú obzvlášť vhodné na tieto pokusy.

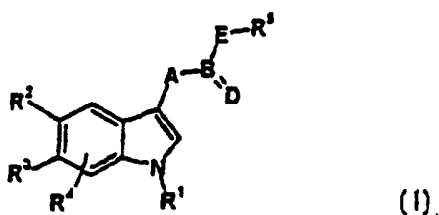
Pri zlúčeninách podľa tohto vynálezu boli inhibície LPS indukovanej neutrofilie určené medzi 20 až 65 % pri intrapulmonálnom podaní 10 mg na zviera.

5 Intrapulmonálne podanie zlúčeniny z príkladu 1 v dávke 10 mg na zviera (asi 0,75 mg/kg) inhibuje LPS indukovanú neutrofiliiu v 51 %.

## PATENTOVÉ NÁROKY

10

1. Hydroxyindoly všeobecného vzorca (I):



15 v ktorom:

R<sup>1</sup> je:

- alkylová skupina obsahujúca 1 až 12 atómov uhlíka s priamym alebo rozvetveným reťazcom, prípadne mono- alebo polysubstituovaná hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou, -NH(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkylovou)<sub>2</sub> skupinou, -NH(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, -N(C<sub>6-14</sub> arylovou)<sub>2</sub> skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkyl) (C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -NHCOR<sup>6</sup>, nitroskupinou, kyanoskupinou, atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu, -O-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -O-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -O(CO)R<sup>6</sup>, -S-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -S-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -SOR<sup>6</sup>, sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>,

25 -OSO<sub>2</sub>(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -OSO<sub>2</sub>-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CS)R<sup>6</sup>, karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CO)R<sup>6</sup>, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocyklami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca R<sup>4</sup>,

30 - alkenylová skupina obsahujúca 2 až 12 atómov uhlíka, mono- alebo polynenasýtená, s priamym alebo rozvetveným reťazcom, prípadne mono- alebo polysubstituovaná hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou, -NH(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkylovou)<sub>2</sub> skupinou, -NH(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, -N(C<sub>6-14</sub> arylovou)<sub>2</sub> skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkyl) (C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -NHCOR<sup>6</sup>, nitroskupinou, kyanoskupinou, atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu, -O-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -O-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -O(CO)R<sup>6</sup>, -S-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -S-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -SOR<sup>6</sup>, sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>,

40 -OSO<sub>2</sub>(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -OSO<sub>2</sub>-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CS)R<sup>6</sup>, karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CO)R<sup>6</sup>, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocyklami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca R<sup>4</sup>,

45 - mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené karbocykly s 3 až 14 členmi v kruhu,

50 prípadne mono- alebo polysubstituované hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou, -NH(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkylovou)<sub>2</sub> skupinou, -NH(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, -N(C<sub>6-14</sub> arylovou)<sub>2</sub> skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkyl) (C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -NHCOR<sup>6</sup>, nitroskupinou, kyanoskupinou, atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu, -O-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -O-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -O(CO)R<sup>6</sup>, -S-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -S-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -SOR<sup>6</sup>, sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>,

- <sub>14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -SOR<sup>6</sup>, sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>,  
 -OSO<sub>2</sub>(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -OSO<sub>2</sub>-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CS)R<sup>6</sup>,  
 5 karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CO)R<sup>6</sup>, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocyklymi s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca R<sup>4</sup>,
- 10 - mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené heterocykly s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, prípadne mono- alebo polysubstituované hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou, -NH(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkylovou)<sub>2</sub> skupinou, -NH(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, -N(C<sub>6-14</sub> arylovou)<sub>2</sub> skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkyl) (C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -NHCOR<sup>6</sup>, nitroskupinou, kyanoskupinou, atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu, -O-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou,  
 15 -O-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -O(CO)R<sup>6</sup>, -S-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -S-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -SOR<sup>6</sup>, sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>,  
 -OSO<sub>2</sub>(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -OSO<sub>2</sub>-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CS)R<sup>6</sup>,  
 20 karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CO)R<sup>6</sup>, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocyklymi s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca R<sup>4</sup>,
- 25 - karbo- alebo heterocyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené spirocykly s 3 až 10 členmi v kruhu, kde heterocyklické systémy obsahujú 1 až 6 heteroatómov, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, prípadne mono- alebo polysubstituované hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou, -NH(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkylovou)<sub>2</sub> skupinou, -NH(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, -N(C<sub>6-14</sub> arylovou)<sub>2</sub> skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkyl) (C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -NHCOR<sup>6</sup>, nitroskupinou, kyanoskupinou, atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu, -O-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou,  
 30 -O-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -O(CO)R<sup>6</sup>, -S-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -S-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -SOR<sup>6</sup>, sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>, -OSO<sub>2</sub>(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -OSO<sub>2</sub>-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CS)R<sup>6</sup>, karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CO)R<sup>6</sup>, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocyklymi s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocyklami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca R<sup>4</sup>,
- 40 R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> môžu byť atóm vodíka alebo hydroxyskupina, kde aspoň jeden z dvoch substituentov musí byť hydroxyskupina,  
 R<sup>4</sup> je atóm vodíka, hydroxyskupina, merkaptoskupina, aminoskupina,  
 45 -NH(C<sub>1-6</sub> alkylová) skupina, -N(C<sub>1-6</sub> alkylová)<sub>2</sub> skupina, -NH(C<sub>6-14</sub> arylová) skupina, -N(C<sub>6-14</sub> arylová)<sub>2</sub> skupina, -N(C<sub>1-6</sub> alkyl) (C<sub>6-14</sub> arylová) skupina, skupina všeobecného vzorca -NHCOR<sup>6</sup>, nitroskupina, kyanoskupina, karboxylová skupina, skupina všeobecného vzorca -(CO)R<sup>6</sup>, skupina všeobecného vzorca -(CS)R<sup>6</sup>, atóm fluóru, atóm chlóru, atóm brómu, atóm jódu, -O-(C<sub>1-6</sub> alkylová) skupina, -O-(C<sub>6-14</sub> arylová) skupina, skupina všeobecného vzorca -O(CO)R<sup>6</sup>, -S-(C<sub>1-6</sub> alkylová) skupina, -S-(C<sub>6-14</sub> arylová) skupina, skupina všeobecného vzorca -SOR<sup>6</sup> alebo skupina všeobecného vzorca SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>.
- 50 R<sup>5</sup> sú  
 - mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené heterocykly s 3 až 14 členmi v kruhu,  
 - mono- alebo polysubstituované atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu,  
 55 - prípadne mono- alebo polysubstituované hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou, -NH(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkylovou)<sub>2</sub> skupinou, -NH(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, -N(C<sub>6-14</sub> arylovou)<sub>2</sub> skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkyl) (C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -NHCOR<sup>6</sup>, nitroskupinou, kyanoskupinou, -O-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -O-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -O(CO)R<sup>6</sup>, -S-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -S-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -SOR<sup>6</sup>, sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>,
- 60

- OSO<sub>2</sub>(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -OSO<sub>2</sub>-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CS)R<sup>6</sup>, karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CO)R<sup>6</sup>, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocykliami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocykliami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty pre túto časť môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca R<sup>4</sup>,
- 5 - mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené heterocykly s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry,
- 10 - mono- alebo polysubstituované atómom fluóru, atómom chlóru, atómom brómu, atómom jódu, prípadne mono- alebo polysubstituované hydroxyskupinou, merkaptoskupinou, aminoskupinou, -NH(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkylovou)<sub>2</sub> skupinou, -NH(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, -N(C<sub>6-14</sub> arylovou)<sub>2</sub> skupinou, -N(C<sub>1-6</sub> alkyl) (C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -NHCOR<sup>6</sup>, nitroskupinou, kyanoskupinou, -O-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -O-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -O(CO)R<sup>6</sup>, -S-(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -S-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -SOR<sup>6</sup>, sulfoskupinou, skupinou všeobecného vzorca SO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>,
- 15 -OSO<sub>2</sub>(C<sub>1-6</sub> alkylovou) skupinou, -OSO<sub>2</sub>-(C<sub>6-14</sub> arylovou) skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CS)R<sup>6</sup>, karboxylovou skupinou, skupinou všeobecného vzorca -(CO)R<sup>6</sup>, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými karbocykliami s 3 až 14 členmi v kruhu, mono-, di- alebo tricyklickými, nasýtenými alebo mono-, alebo polynenasýtenými heterocykliami s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry, kde arylové skupiny so 6 až 14 atómami uhlíka a zahrnuté karbocyklické a heterocyklické substituenty pre túto časť môžu byť prípadne mono- alebo polysubstituované skupinou vzorca R<sup>4</sup>,
- 20 R<sup>6</sup> môže byť:
- 25 - atóm vodíka, aminoskupina, -NH(C<sub>1-6</sub> alkylová) skupina, -N(C<sub>1-6</sub> alkylová)<sub>2</sub> skupina, -NH(C<sub>6-14</sub> arylová) skupina, -N(C<sub>6-14</sub> arylová)<sub>2</sub> skupina, -N(C<sub>1-6</sub> alkyl) (C<sub>6-14</sub> arylová) skupina, -O-(C<sub>1-6</sub> alkylová) skupina, -O-(C<sub>6-14</sub> arylová) skupina, -S-(C<sub>1-6</sub> alkylová) skupina, -S-(C<sub>6-14</sub> arylová) skupina,
- alkylová skupina obsahujúca 1 až 12 atómov uhlíka s priamym alebo rozvetveným reťazcom,
- 30 - alkenylová skupina obsahujúca 2 až 12 atómov uhlíka, mono- alebo polynenasýtená, s priamym alebo rozvetveným reťazcom,
- mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené karbocykly s 3 až 14 členmi v kruhu,
- mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené heterocykly s 5 až 15 členmi v kruhu a 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry,
- 35 A je buď väzba, alebo skupina všeobecného vzorca -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-, skupina všeobecného vzorca -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(CH=CH)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-, skupina všeobecného vzorca -(CHOZ)<sub>m</sub>-, skupina vzorca -(C=O)-, skupina vzorca -(C=S)-, skupina všeobecného vzorca -(C=N-Z)-, skupina vzorca -O-, -S- alebo -NZ-,  
kde m, p = 0 až 3 a n = 0 až 2 a  
Z je:
- 40 - atóm vodíka alebo
- alkylová skupina obsahujúca 1 až 12 atómov uhlíka, s priamym alebo rozvetveným reťazcom,
- alkenylová skupina obsahujúca 2 až 12 atómov uhlíka, mono- alebo polynenasýtená, s priamym alebo rozvetveným reťazcom,
- 45 - mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené karbocykly s 3 až 14 členmi v kruhu,
- mono-, di- alebo tricyklické, nasýtené alebo mono-, alebo polynenasýtené heterocykly s 5 až 15 členmi v kruhu a s 1 až 6 heteroatómami, ktorými sú výhodne atóm dusíka, kyslíka alebo síry,  
B môže byť buď atóm uhlíka, alebo atóm síry, alebo skupina vzorca -(S=O)-,  
D môže byť buď atóm kyslíka, atóm síry, skupina vzorca CH<sub>2</sub> alebo skupina vzorca N-Z,  
50 kde D môže byť iba atóm síry alebo skupina vzorca CH<sub>2</sub>, pokiaľ B je atóm uhlíka,  
E môže byť väzba alebo inak skupina všeobecného vzorca -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-, skupina vzorca -O-, -S- alebo -(N-Z)-, kde m a Z majú opisany význam.
2. Fyziologicky prijateľné soli zlúčenín všeobecného vzorca (I) podľa nároku 1, **v y z n a ě u j ú c e s a t ý m**, že sa neutralizujú bázy anorganickými alebo organickými kyselinami alebo neutralizujú kyseliny anorganickými alebo organickými bázami, alebo kvarternizujú terciárnymi amínmi, za získania kvartérnych amóniových solí.
3. Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nároku 1 a 2, ktoré majú asymetrický atóm uhlíka v D-forme, L-forme, D,L-zmesiach a v prípade viacerých asymetrických atómov uhlíka, v diastereomérnych formách.
4. Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nárokov 1 až 3, zvolené z :
- 60 N-(3,5-dichlórpyridín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamidu, a jeho fyziologicky

prijateľné soli.

5. Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa jedného nárokov 1 až 3, vybrané z jednej z ďalej uvedených zlúčenín a ich fyziologicky prijateľných solí:

N-(3,5-dichlóropyridín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-hydroxyacetamid;

5 N-(3,5-dichlóropyridín-4-yl)-2-[1-(2,6-difluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

sodná soľ N-(3,5-dichlóropyridín-4-yl)-2-[1-(3-nitrobenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamidu,

N-(3,5-dichlóropyridín-4-yl)-2-(1-propyl-5-hydroxyindol-3-yl)-2-oxoacetamid,

N-(3,5-dichlóropyridín-4-yl)-2-(1-izopropyl-5-hydroxyindol-3-yl)-2-oxoacetamid,

N-(3,5-dichlóropyridín-4-yl)-2-(1-cyklopentylmetyl-5-hydroxyindol-3-yl)-2-oxoacetamid,

10 N-(2,6-dichlórfenyl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

N-(2,6-dichlór-4-trifluórmetylfenyl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

N-(2,6-dichlór-4-trifluórmetoxyfenyl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-5-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

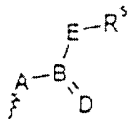
N-(3,5-dichlóropyridín-4-yl)-2-[1-(4-fluórbenzyl)-6-hydroxyindol-3-yl]-2-oxoacetamid,

N-(3,5-dichlóropyridín-4-yl)-5-hydroxy-1-(4-metoxybenzyl)-indol-3-karboxamid.

15 6. Spôsob prípravy zlúčenín všeobecného vzorca (I) podľa nárokov 1 až 4, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zlúčeniny všeobecného vzorca (I), kde  $R^2$  alebo  $R^3$  alebo  $R^2$  a  $R^3$  sú skupina všeobecného vzorca  $-O-R^7$ , sa premieňajú na zlúčeniny podľa tohto vynálezu odstránením skupiny  $R^7$ , kde  $R^7$  je v tomto prípade substituent vhodný ako odstupujúca skupina.

20 7. Spôsob prípravy zlúčenín všeobecného vzorca (I) postupom podľa nároku 5, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že najviac výhodné sú zlúčeniny všeobecného vzorca (I), kde  $R^7$  je alkylová skupina, cykloalkylová skupina, aralkylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, acylová skupina, alkoxykarbonylová skupina, aryloxykarbonylová skupina, aminokarbonylová skupina, N-substituovaná aminokarbonylová skupina, silylová alebo sulfonylová skupina a komplexotvorné činidlá, ako sú napríklad kyselina boritá, kyselina fosforečná a kovalentne alebo koordinovane viazané kovy, ako je zinok, hliník alebo meď.

25 8. Spôsob prípravy zlúčenín všeobecného vzorca (I) postupom podľa nárokov 1 až 4, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zlúčeniny všeobecného vzorca (I) sa konvertujú pomocou konverzie subštruktúry všeobecného vzorca:



30 na iné zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa tohto vynálezu.

9. Použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nárokov 1 až 4 ako terapeuticky aktívnych zlúčenín na výrobu liekov na liečenie porúch, pri ktorých je terapeuticky prínosná inhibícia TNF  $\alpha$ .

35 10. Použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nárokov 1 až 4 ako terapeuticky aktívnych zlúčenín na výrobu liekov na liečenie porúch, pri ktorých je terapeuticky prínosná inhibícia fosfodiesterázy 4.

11. Použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nárokov 1 až 4 ako terapeuticky aktívnych zlúčenín na výrobu liekov na liečenie porúch spojených s pôsobením eozinofilov.

12. Použitie zlúčenín všeobecného vzorca (I) podľa nárokov 1 až 4 ako terapeuticky aktívnych zlúčenín na výrobu liekov na liečenie chronických obštrukčných chorôb pulmonálnych alebo COPD.

40 13. Liek, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že obsahuje jednu alebo viacero zlúčenín podľa nárokov 1 až 4, okrem bežne fyziologicky znášanlivých nosičov a/alebo riedidiel, alebo látok.

14. Spôsob výroby lieku podľa nároku 13, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že jedna alebo viacero zlúčenín podľa nárokov 1 až 4 sa spracuje na farmaceutické prostriedky alebo vnesie do formy na terapeutické podanie s použitím bežných farmaceutických nosičov a/alebo riedidiel, alebo iných prídavných látok.

45

**Koniec dokumentu**