

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 95.566

REQUERENTE: PFIZER INC., norte-americana, industrial,
com sede em 235 East 42nd Street, New York,
N.Y., Estados Unidos da América do Norte

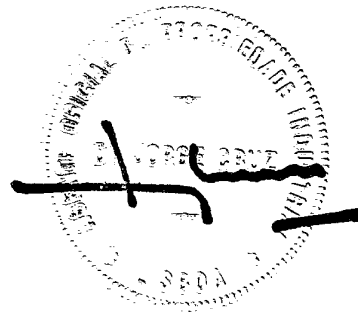
EPÍGRAFE: "MÉTODO PARA A UTILIZAÇÃO DE DERIVADOS DE
2-OXINDOLE SUBSTITUIDOS NA POSIÇÃO 3 COMO
INIBIDORES DA BIOSÍNTESE DE INTERLEUQUINA-
-1"

INVENTORES: CARL JOSEPH GODDARD; DOUGLAS CHARLES
HANSON e GARY RICHARD SCHULTE

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris
de 20 de Março de 1883.

13 de Outubro de 1989 e 25 de Maio de 1990 sob os Nos.
07/421,445 e 07/529,050, nos Estados Unidos da América do
Norte

95.566



PFIZER INC.

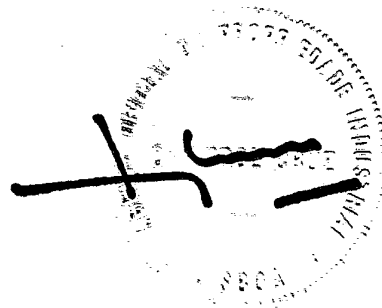
"MÉTODO PARA A UTILIZAÇÃO DE DERIVADOS DE 2-OXINDOLE SUBSTITUIDOS
NA POSIÇÃO 3 COMO INIBIDORES DA BIOSSÍNTESE DE INTERLEUQUINA-1"

=====

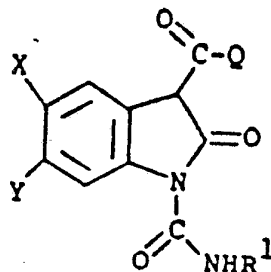
MEMÓRIA DESCRITIVA

Resumo

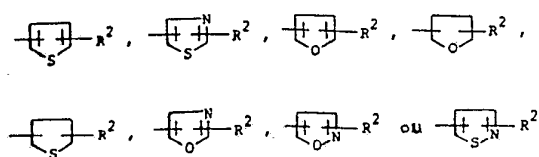
O presente invento relaciona-se com a utilização de certos derivados do 2-oxindole substituídos na posição 3 para a inibição de biossíntese da interleuquina-1 num mamífero. Este invento relaciona-se também com a utilização desses compostos para o tratamento das perturbações e disfunções mediadas pela interleuquina-1 tais como perturbações do metabolismo do tecido ósseo e conjuntivo e disfunção imunitária num mamífero. O método deste invento compreende a administração de uma quantidade inibidora da biossíntese da interleuquina-1 dos compostos e sais deste invento a um tal mamífero. Os compostos agora utilizados apresentam a fórmula:



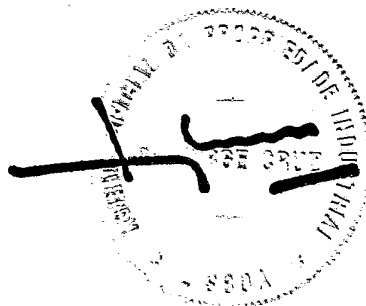
-2-



ou um seu sal com bases farmacêuticamente aceitável, em que X e Y são cada um deles H, F, Cl, Br ou CF₃; R¹ é H ou (C₁-C₄)alquilo de cadeia linear ou ramificada; e Q é



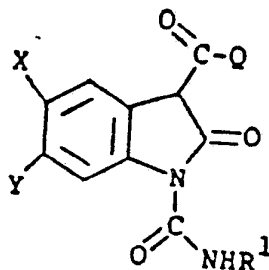
onde R² é H ou (C₁-C₃)alquilo.



-3-

Este invento relaciona-se com a utilização de certos derivados do 2-oxindole substituídos em 3 e de seus sais básicos farmacêuticamente aceitáveis para a inibição da biossíntese da interleuquina-1 num mamífero. Este invento também se relaciona com a utilização desses compostos para o tratamento de perturbações e disfunções mediadas pela interleuquina-1 tais como perturbações do metabolismo do tecido ósseo e conjuntivo e disfunções imunitárias num mamífero. Os métodos deste invento compreendem a administração de uma quantidade eficaz dos compostos e sais deste invento a esse mamífero.

Certas 2-oxindole-1-carboxamidas substituídas em 3 com a fórmula

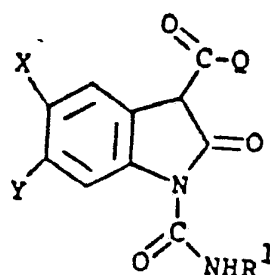


e seus sais básicos farmacêuticamente aceitáveis em que, inter alia, X e Y são cada um deles H, F, Cl, Br ou CF₃; e R¹ é -(CH₂)_n-Q-R° onde n é zero, Q é um radical divalente derivado de um composto seleccionado de entre o grupo consistindo em, inter alia, furano, tiofeno, tiazole, oxazole e isoxazole e R° é H ou (C₁-C₃) alquilo são apresentadas na Patente dos E.U.A. No. 4.556.672 que é cedida ao presente cessionário. Esta patente indica que estes compostos, para além de serem úteis como agentes



anti-inflamatórios e analgésicos, são inibidores de ambos os enzimas ciclooxigenase (CO) e lipoxigenase (LO). Os seus ensinamentos são aqui incorporados como referência.

Certos derivados do 2-oxindole substituídos em 3 com a fórmula

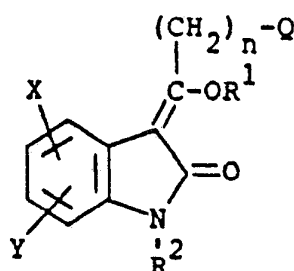


e os seus sais básicos farmacêuticamente aceitáveis em que, inter alia, X e Y são cada um deles H, F, Cl, Br ou CF₃; e R¹ é -(CH₂)_n-Q-R° onde n é zero, Q é um radical divalente derivado de furano, tiofeno, tiazole, oxazole ou isoxazole e R° é H ou (C₁-C₃) alquilo; e R² é (C₁-C₆) alquilo são indicados na Patente dos E.U.A. No. 4.569.942 que é atribuída ao seu administrador. Esta patente indica que esses compostos, para além de serem úteis como agentes anti-inflamatórios e analgésicos, são inibidores de ambos os enzimas ciclooxigenase (CO) e lipoxigenase (LO). Os seus ensinamentos são aqui incorporados como referência.

Os requerimentos da patente dos E.U.A. da Série No. 340.113, registados em 18 de Abril, 1989 e da Série No. 473.266, registados em 31 de Janeiro, 1990, ambas atribuídas ao seu



administrador, apresentam certos compostos 2-oxindole substituídos em 3 com a fórmula



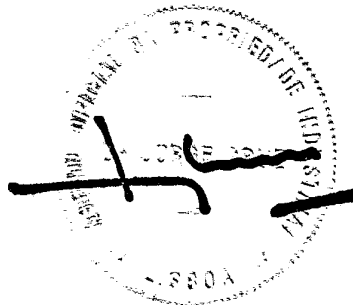
e os seus sais básicos farmacêuticamente aceitáveis em que, inter alia, X e Y são cada um deles H, F, Cl, Br ou CF₃; R¹ é H; R² é CONR⁷R⁸ onde R⁷ é H e R⁸ é H ou (C₁-C₆) alquilo; Q é



ou

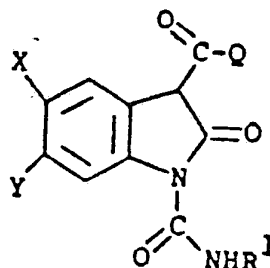
W é O

ou S, A e B são vários substituintes contanto que A e B não possam ser ambos H nem A ser H e B ser (C₁-C₄) alquilo; e a sua forma tautomérica como uma cetona. Este requerimento indica que esses compostos são úteis como inibidores da síntase H₂ da prostaglandina e da biossíntese da interleuquina-1, per se, e como agentes analgésicos, anti-inflamatórios e anti-artríticos no tratamento de doenças inflamatórias crônicas.



-6-

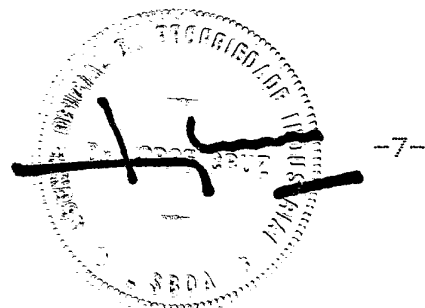
A Patente dos E.U.A. No. 4.861.794, atribuída ao seu administrador, indica a utilização de compostos com a fórmula



e dos seus sais básicos farmacologicamente aceitáveis em que X é H, Cl ou F; Y é H ou Cl; e R é benzilo ou tienilo para inibição da biossíntese da interleuquina-1 (IL-1) e para o tratamento de perturbações e disfunções mediadas por IL-1.

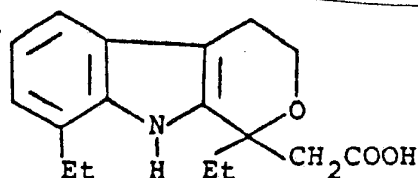
Foi referido que a interleuquina-1 (IL-1) estimula a reabsorção óssea tanto in vitro como in vivo. Hayward, M. e Fiedler-Nagy, Ch., Agents and Actions, 22, 251-254 (1987). é também ali referido que IL-1, inter alia, induz a produção de prostaglandina E₂ (PGE₂). PGE₂ é um estimulador da reabsorção óssea e tem sido implicada na perda óssea. Hayward, M.A. and Caggiano, T. J., Annual Reports in Medicinal Chemistry, 22, Sect. IV, Chapter 17, 172.177 (1987). A osteoporose é definida como uma perda debilitante da porção mineral do osso o que dá origem a uma maior número de fracturas. Ver Hayward, M. A. and Caggiano, T. J., supra, e referências nele citadas.

Foi referido que a interleuquina-1 está relacionada com a patogenese de muitas doenças. Ver Dinarello, C.A., J. Clin. Immunol., 5, 287-297 (1985), cujos ensinamentos são aqui incorporados como referências., é ainda de referir, que se encontraram



níveis elevados de material semelhante a IL-1 associados à psoríase. Camp, R.D., et al., J. Immunol., 137, 3469-3474 (1986).

O agente anti-inflamatório não esteroide etodolac, ácido 1,8-di-*etil*-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-*b*]-indole-1-acético, foi apresentado na Patente dos E.U.A. No. 4.677.132 como tendo a ação de fazer diminuir PGE_2 e de reduzir a reabsorção óssea. Etodolac tem a fórmula



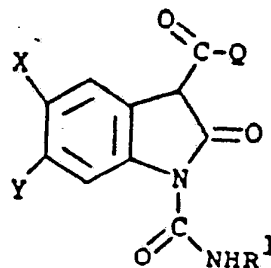
Foi referido que níveis terapêuticos de agentes anti-inflamatórios não esteroides tais como indometacina e ibuprofen não reduzem a produção de IL-1. De um modo semelhante, a ciclosporina A não tinha esse efeito. Contudo, os corticosteroides são eficazes na redução da produção de IL-1. Dinarello, C.A., supra. Certos inibidores da lipoxigenase tais como ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico (ETYA) e 3-amino-1,3-trifluorometilfenil-2-pirazolina (BW755C) foram referidos como tendo a capacidade de diminuir a produção in vitro do pirogênio leucocítico (IL-1 putativo) a partir de monocitos humanos. Dinarello, C.A., et al., Int. J. Immunopharmac., 6, 43-50 (1984).



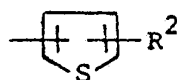
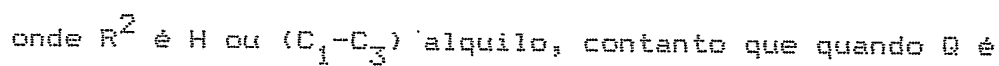
-B-

Contudo, até este invento, não houve qualquer referência à utilização ou intenção de utilização de compostos ou sais deste invento para a inibição da biossíntese de IL-1 independentemente da inibição da lipoxifenase e para o tratamento de perturbações e disfunções mediadas por IL-1 tais como certas perturbações do metabolismo do tecido ósseo e do tecido conjuntivo e de certas disfunções imunitárias com esses compostos nem qualquer apreciação do seu papel nesses tratamentos.

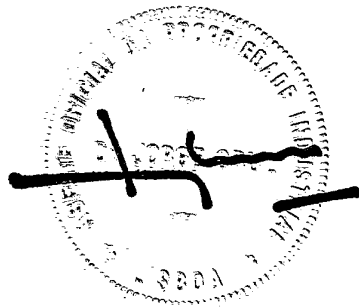
Este invento relaciona-se com a utilização de certos derivados do 2-oxindole substituídos em 3 com a fórmula



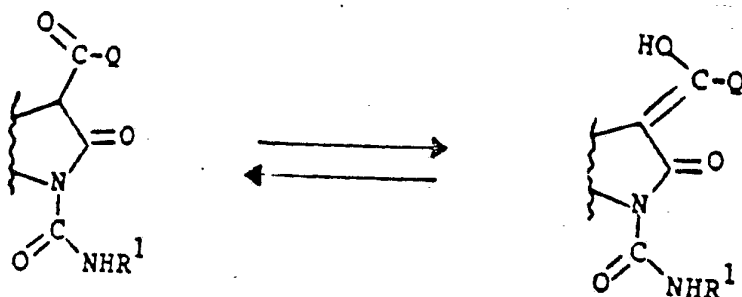
e de seus sais básicos farmacêuticamente aceitáveis em que X e Y são cada um deles H, F, Cl, Br ou CF_3 ; R^1 é H ou (C_1-C_4) alquilo de cadeia linear ou ramificada; e Q é



e R^2 é H , R^1 não é H , para inibição da biossíntese de IL-1, inibição essa que é independente da sua actividade inibidora da lipoxigenase, sendo assim útil no tratamento de perturbações e disfunções mediadas por IL-1 tais como certas perturbações do metabolismo do tecido ósseo e conjuntivo e disfunções do sistema autoimunitário em mamíferos. Essas perturbações do metabolismo ósseo incluem, mas não se limitam à osteoporose. Como exemplos mas não limitativos, essas perturbações do metabolismo do tecido conjuntivo incluem a doença periodontal e a cicatrização tissular. Além disso, exemplos de disfunções imunitárias mediadas por IL-1 incluem, mas não se limitam a, alergias e psoríase.



Embora os compostos com a fórmula I, anteriormente referidos, sejam indicados como uma cetona, deve ser tomado em consideração que os compostos com a fórmula I podem, em condições apropriadas, assumir uma ou mais formas tautoméricas tais como, por exemplo:

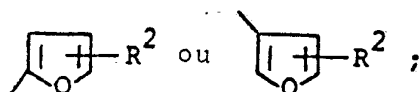


Todas as formas tautoméricas dos compostos com a fórmula I se situam no âmbito deste invento e das reivindicações apensas, devendo ser indicadas pela fórmula I.

Os métodos de utilização dos compostos e dos seus sais básicos farmacêuticamente aceitáveis compreendem a administração a um mamífero de uma quantidade eficaz desses compostos. A administração pode compreender qualquer método conhecido para a administração terapêutica de um composto a um mamífero tal como por administração oral ou parentérica tal como é definido aqui mais abaixo.

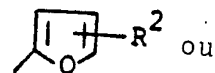
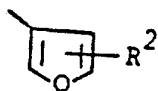
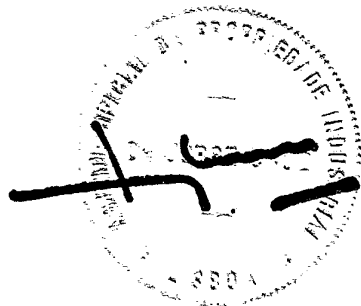
Os compostos deste invento que têm a fórmula I, anteriormente referida, em que R^1 é H e a sua preparação são apresentados na Patente dos E.U.A. No. 4.556.672, cujos ensinamentos são aqui incorporados como referência. Os compostos deste invento que

De entre os métodos anteriormente descritos, são aqui preferidos aqueles em que o composto utilizado tem a Fórmula I, anteriormente referida, em que R^1 é H ou t-butilo; aqueles em que o referido composto Q é

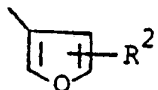
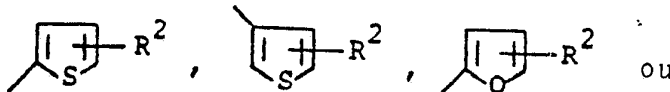


Chemical structures of 2,5-dithienyl and 2,6-dithienyl derivatives, showing a central sulfur atom (S) bonded to two thiophene rings, with substituents R¹ and R² attached to the rings.

o R² e CH₃, aqueles em que o referido composto Q é

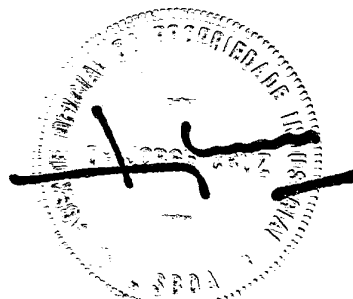


e R^2 é H ou CH_3 ; aqueles em que Q é



onde R^2 é H e R^1 é etilo ou t-butilo; e aqueles em que no referido composto X é Cl e Y é H.

Tal como é apresentado na Patente dos E.U.A. No. 4.556.672 e na Patente dos E.U.A. No. 4.569.942, os compostos deste invento aqui anteriormente descritos são ácidos e formam sais básicos. Todos esses sais básicos se situam no âmbito deste invento e podem ser formados tal como é indicado por esta patente. Esses sais apropriados, no âmbito deste invento, incluem os tipos tanto orgânico como inorgânico e incluem, mas não se limitam a, os sais formados com amônia, aminas orgânicas, hidróxidos de metal alcalino, carbonatos de metal alcalino, bicarbonatos de metal alcalino, hidretos de metal alcalino, alcóxidos de metal alcalino, hidróxidos de metal alcalino terroso, carbonatos de metal alcalino terroso, hidretos de metal alcalino terroso e alcóxidos de metal alcalino terroso. Exemplos representativos de bases que formam esses sais básicos incluem amônia, aminas primárias, tais como n-propilamina, n-butilamina, anilina,

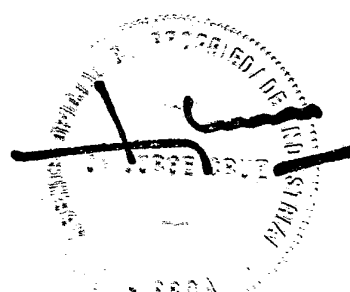


ciclohexilamina, benzilamina, p-toluidina, etanolamina e glucamina; aminas secundárias, tais como dietilamina, dietanolamina, N-metilglucamina, N-metilanilina, morfolino, pirrolidina e piperidina; aminas terciárias, tais como trietilamina, trietanolamina, N,N-dimetilanilina, N-etilpiperidina e N-metilmorfolino; hidóxidos, tais como hidróxido de sódio; alcóxidos tais como etóxido de sódio e metóxido de sódio; hidretos tais como hidreto de cálcio e hidreto de sódio; e carbonatos tais como carbonato de potássio e carbonato de sódio. Sais preferidos são os de sódio, potássio, amônio, etanolamina, dietanolamina e trietanolamina. Particularmente preferidos são os sais de sódio.

Situam-se também no âmbito deste invento os solvatos tais como hemihidratos e monohidratos dos compostos aqui anteriormente descritos.

A interleuquina-1 é conhecida pelos especialistas nesta técnica como existindo pelo menos em duas formas que são referidas como formas α e β . Dinarello, C.A., FASEB J., 2, 108-115 (1988). Tal como é usada nesta apresentação detalhada e nas reivindicações apensas, a expressão interleuquina (IL-1) refere-se a todas as formas de IL-1 incluindo IL-1 α , IL-1 β e IL-1 α e IL-1 β colectivamente.

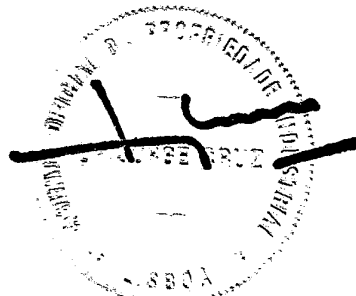
Os métodos deste invento compreendem a administração dos compostos do invento e dos seus sais básicos farmacêuticamente aceitáveis a um mamífero. Esses compostos e os seus sais podem ser administrados ao referido mamífero quer isoladamente quer, de preferência, em combinação com veículos ou diluentes farmacêuticamente aceitáveis, de acordo com a técnica farmacêutica padrão. Essa administração pode ser oral ou parentérica. A administração parentérica tal como é aqui usada inclui, mas não se limita a, via intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutânea,



transdérmica e tópica incluindo, mas não se limitando a, lavagem oral. Contudo é geralmente preferido administrar esses compostos e os seus sais oralmente.

Em geral, estes compostos e os seus sais são mais desejavelmente administrados em doses variando entre cerca de 0,5 mg/kg e até cerca de 4 mg/kg por dia para administração oral e de cerca de 0,01 mg/kg e até cerca de 4 mg/kg por dia para administração parentérica, embora ocorram ainda necessariamente variações dependendo do peso do indivíduo a ser tratado. A dose apropriada para a inibição da biossíntese de IL-1 num mamífero e para tratamento de perturbação do metabolismo ósseo mediada por IL-1, de perturbação do metabolismo do tecido conjuntivo mediada por IL-1 ou de disfunção imunitária mediada por IL-1 com os compostos e seus sais deste invento será rapidamente determinada pelos especialistas na técnica de prescrição e/ou administração desses compostos. Contudo, deve tomar-se ainda em consideração o facto de poderem também ocorrer outras variações neste aspecto, dependendo da espécie de mamífero a ser tratada e da sua resposta individual ao referido medicamento, assim como do tipo particular de formulação farmacêutica escolhida e do período e intervalo de tempo em que se realiza essa administração. Nalguns casos, níveis de dosagem abaixo do limite inferior da variação anteriormente referida podem ser mais do que adequados, enquanto que noutros casos podem ser utilizadas doses ainda maiores sem que ocorram efeitos secundários incómodos ou prejudiciais, contanto que essas doses mais elevadas sejam primeiro divididas em várias doses mais pequenas que são administradas ao longo do dia.

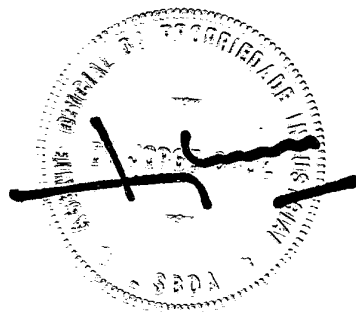
Quando se utiliza a administração oral, podem ser usados comprimidos contendo excipientes tais como citrato de sódio, carbonato de cálcio e fosfato dicálcico juntamente com vários agentes de desintegração tais como amido e de preferência



amido de batata ou tapioca, ácido algínico e certos silicatos complexos, juntamente com agentes de ligação tais como polivinilpirrolidona, sucrose, gelatina e acácia. Adicionalmente, agentes de lubrificação tais como, mas não limitados a, estearato de magnésio, sulfato laurilo de sódio e talco são frequentemente muito úteis para a produção dos comprimidos. Composições sólidas de um tipo semelhante podem também ser utilizadas como agentes de enchimento em cápsulas de gelatina elástica mole ou dura; materiais preferidos neste aspecto incluem também, a título de exemplificação mas não limitativo, lactose ou açúcar do leite, assim como polietileno glicóis de elevado peso molecular. Quando se deseja obter suspensões aquosas e/ou elixires para administração oral, o ingrediente activo essencial pode ser combinado com vários agentes edulcorantes ou aromatizantes, matéria corante ou pigmentos e, se desejado, agentes de emulsificação e/ou suspensão, juntamente com diluentes tais como água, etanol, propileno glicol, glicerina e várias suas combinações semelhantes.

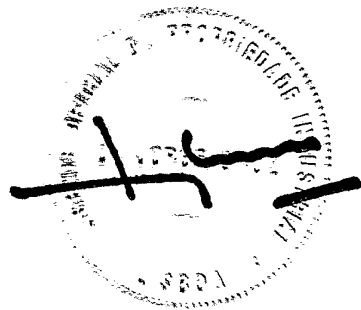
Embora o modo de administração preferido dos compostos deste invento ou dos seus sais básicos farmacêuticamente aceitáveis seja oral, podem também ser administrados por via parentérica.

Tendo como finalidade a administração parentérica, podem ser utilizadas soluções destes compostos particulares em óleo de sésamo ou de amendoim ou em propileno glicol aquoso, assim como soluções aquosas estéreis dos correspondentes sais básicos solúveis na água previamente enumerados. Essas soluções aquosas devem ser tamponadas apropriadamente se necessário, e o diluente líquido deve ser tornado isotónico com quantidade suficiente de solução salina ou de glucose. Estas particulares soluções aquosas são especialmente apropriadas para injeções intravenosas, intramusculares e subcutâneas. Neste contexto, os



meios aquosos estéreis utilizados são rapidamente obtidos por meio de técnicas padrão bem conhecidas pelos especialistas nesta técnica. Por exemplo, Água destilada é habitualmente usada como o diluente líquido e a preparação final é feita passar através de um filtro apropriado para bactérias tal como um filtro de vidro aglomerado ou de um filtro de terra diatomácea ou de porcelana não vidrada. Os filtros preferidos deste tipo incluem os filtros de Berkefeld, de Chamberland e de Asbestos Disk-Metal Seitz, em que o fluido é sugado para um recipiente estéril, com a ajuda de uma bomba de sucção. Desnecessário será dizer, que os passos necessários devem ser realizados ao longo da preparação destas soluções injectáveis a fim de assegurar que os produtos finais sejam obtidos numa condição estéril. Quando se pretende fazer a administração transdermica, a forma de dosagem do composto particular pode incluir, a título de exemplo, soluções, loções, unguentos, cremes, geles, supositórios, formulações para libertação prolongada limitadora da taxa, e dispositivos para esse fim. Essas formas de dosagem compreendem o composto particular e podem incluir etanol, água, facilitador da penetração e veículos inertes tais como materiais produtores de gel, óleo mineral, agentes de emulsificação, álcool benzílico, etc. As composições que facilitam o fluxo transdermico específico são apresentadas na Publicação do Requerimento da Patente Europeia No. 217983 e na Publicação do Requerimento da Patente Europeia No. 331382, sendo ambas atribuídas ao administrador deste invento, e cujos ensinamentos são aqui incorporados como referências. Para administração tópica, a forma de dosagem do composto particular pode incluir, a título de exemplo mas não se limitando a, soluções, loções, unguentos, cremes e geles.

A capacidade dos compostos com a fórmula I para inibir a biossíntese da interleuquina-1 é demonstrada pelo processo de ensaio descrito a seguir.

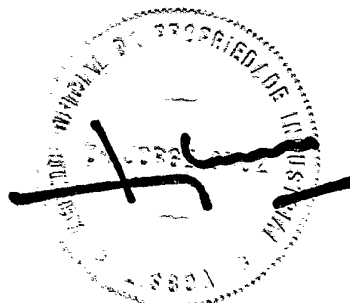


Ratinhos C3H/HeN (Charles River, Wilmington, Massachusetts) são sacrificados por luxação cervical sendo os seus abdomens pulverizados com etanol a 70% para evitar a contaminação bacteriana da subsequente preparação celular. Injecta-se no peritoneu de cada ratinho 8 ml de RPMI¹ contendo 5% de FCS², penicilina-estreptomicina (100 unidades/ml - 100 µg/ml) e glutamina (2mM). O peritoneu é amassado a fim de ajudar a libertar as células. é então feita uma incisão através da pele do abdomen a fim de expor a camada muscular subjacente. O líquido peritoneal é removido com uma agulha de calibre 20, inserindo a agulha, com o bisel para baixo, através da camada muscular exposta justamente abaixo do esterno. O líquido peritoneal dos seis ratinhos é reunido num tubo cónico de plástico

meio ¹RPMI -1640 (Hazelton Research Products, Inc., Lenexa, Kansas)

Soro de vitelo fetal ² foi analisado quanto à sua boa resposta a IL-1 no ensaio com timocitos (Hyclone Laboratories, Logan, Utah) e quanto à proliferação espontânea baixa na ausência de IL-1.

e examinado ao microscópio para verificar se existe contaminação bacteriana. O líquido não contaminado é centrifugado a cerca de 600xg durante seis minutos e o produto flutuante é decantado. As células de cinco a seis tubos reunidas em pílula são combinadas e suspensas de novo num total de 20 ml de RPMI-FCS³. O número de células é então verificado usando um hemacitómetro e a viabilidade celular é determinada com corante Azul Trypan usando também um hemacitómetro. As células são então diluídas até 3×10^6 células/ml usando RPMI-FCS. Adiciona-se às paredes de uma placa de 35 mm 1 ml da suspensão de células referida anteriormente. As células são incubadas durante 2 horas a 37°C numa atmosfera de



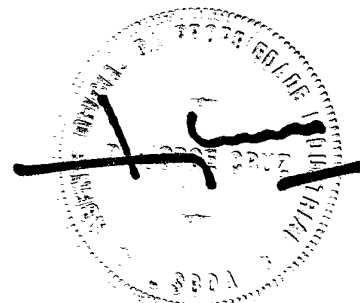
CO₂ a 5% a fim de causar aderência dos macrófagos às paredes dos recipientes. O produto flutuante é removido fazendo girar vigorosamente os recipientes e decantando. As células aderentes (isto é, macrófagos) são lavados duas vezes com RPMI-SF⁴. Aos recipientes contendo células aderentes adiciona-se 1 ml do composto a estudar em concentrações variando entre 0,1 e 100 µg/ml em RPMI contendo 1% de FCS ou 1 ml de RPMI contendo 1% de FCS como um controle. Então, adiciona-se a cada recipiente 100 µl de LPS⁵ em RPMI contendo 1% de FCS (1 mg/5 ml). As placas são incubadas a 37°C numa atmosfera de CO₂ a 5% durante 24 horas. Os produtos flutuantes são removidos e ou são ensaiados quanto a IL-1 imediatamente ou são refrigerados ou congelados para um subsequente ensaio.

meio ³RPMI-1640 contendo 5% de soro de vitelo fetal.

⁴RPMI contendo penicilina-estreptomicina (100 unidades/ml-100µg-/ml) e glutamina (2mM).

⁵ Lipopolissacárido purificado refinado a partir da Salmonella minnesota que foi avaliado para se determinar que o ratinho C3H/HeJ não lhe responde.

Os produtos flutuantes são ensaiados quantitativamente em relação a IL-1 de acordo com o ensaio de ligação ao receptor descrito mais abaixo. É gerada uma curva padrão como se segue. Células de timoma murino EL4-6,1 [10-15 x 10⁶ células/ml em tampão de ligação (RPMI 1640, 5% FCS, HEPES 25 mM, 0,01% NaN₃, pH 7,3)] são adicionados a várias quantidades de rIL-1α murino não marcado [IL-1α recombinante produzido em Escherichia coli a



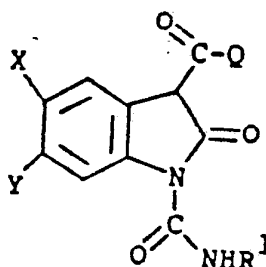
partir da sequência publicada de amino ácidos 115-270 para IL-1 α , Lomedico, P.M., et al., Nature 312 458-462 (1984)] (40 pg/ml para 40 ng/ml) e incubados durante 1 hora a 4°C com agitação contínua, após o que 0,5 ng/ml de 125 I-rIL-1 α humano (New England Nuclear, Boston, Massachusetts) é adicionado sendo a agitação mantida durante 4,5 horas adicionais. O volume total de ensaio é geralmente de 0,5 ml. As amostras são filtradas com aparelho de Yeda (Linca Co., Tel-Aviv, Israel) através de filtros de fibra de vidro Whatman GF/C2.4 (bloqueados com 0,5% de leite em pó durante 2 horas a 37°C) e lavados uma vez com 3 ml de tampão arrefecido com gelo. Os filtrados são contados num contador gama Searle e a ligação não específica é tomada como a ligação cpm na presença de 200 ng/ml de rIL-1 α não marcado. É construída uma curva de calibração de Hill registando $\log (Y/100-Y)$ vs. $\log C$ onde Y representa a percentagem de ligação de controlo 125 I-rIL-1 α e C é a concentração de rIL-1 α não marcado. Uma linha de quadrados menores lineares é ajustada através de valores Y entre 20 e 80%. Então, para quantificar os níveis de IL-1 nos produtos flutuantes obtidos tal como foi descrito anteriormente, produtos flutuantes diluídos substituem rIL-1 α no protocolo anterior e os valores de ligação percentual medidos são usados para determinar as concentrações de IL-1 a partir de um registo de Hill. Cada diluição é ensaiada em duplicado e geralmente apenas diluições com valores de Y entre 20 e 80% são usados para calcular os níveis médios de IL-1.

Em concentrações relevantes para utilização dos compostos aqui, verificou-se que os compostos deste invento não inibem a lipoxigenase quando testados in vitro na presença de soro.

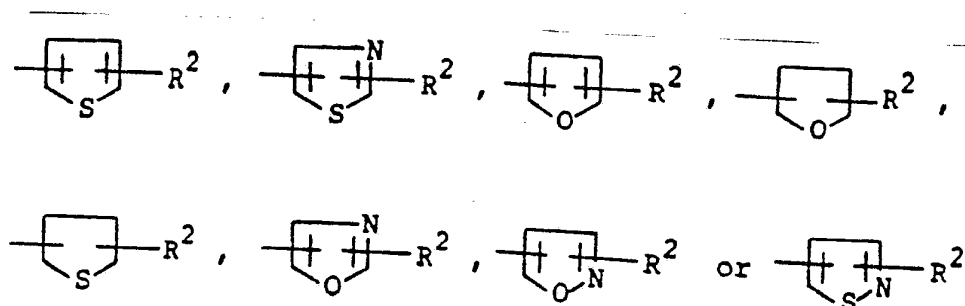
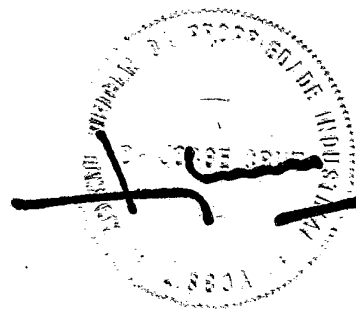


REIVINDICAÇÕES

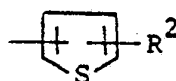
12. - Método para a inibição da biossíntese da interleuquina-1 num mamífero necessitado dessa inibição, caracterizado por compreender a administração oral ao referido mamífero de cerca de 0,5 mg por quilograma de peso corporal por dia a cerca de 4 mg por quilograma de peso corporal por dia ou a administração parentérica ao referido mamífero de cerca de 0,01 mg por quilograma de peso corporal por dia a cerca de 4 mg por quilograma de peso corporal por dia de um composto com a fórmula



ou de um seu sal com bases farmacologicamente aceitáveis, em que X e Y são cada um deles H, F, Cl, Br ou CF₃; R¹ é H ou (C₁-C₄)alquilo de cadeia linear ou ramificada; e Q é

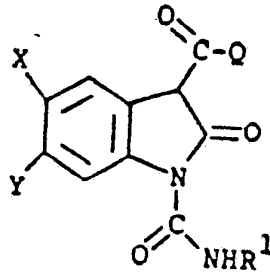


onde R^2 é H ou $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_3)$ alquilo, contanto que quando Q é

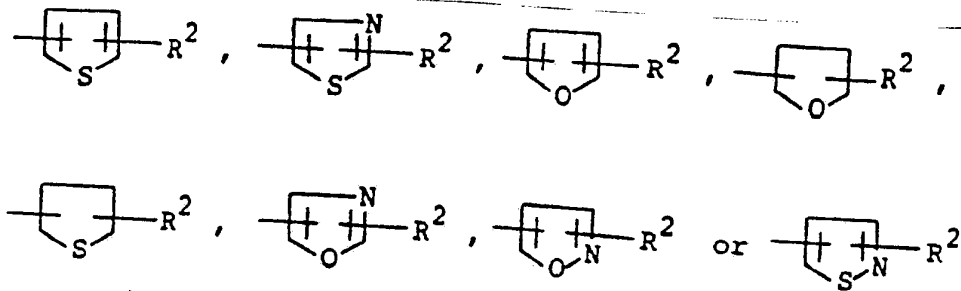


e R^2 é H, R^1 não seja H.

28. - Método para o tratamento de perturbações do metabolismo ósseo mediadas pela interleuquina-1 num mamífero necessitado, tais como osteoporose, caracterizado por compreender a administração oral ao referido mamífero de cerca de 0,5 mg por quilograma de peso corporal por dia a cerca de 4 mg por quilograma de peso corporal por dia ou a administração parentérica ao referido mamífero de cerca de 0,01 mg por quilograma de peso corporal por dia a cerca de 4 mg por quilograma de peso corporal por dia de um composto com a fórmula

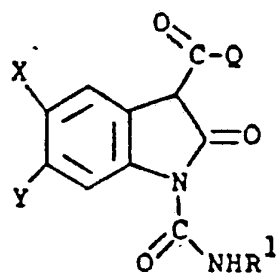


ou de um seu sal com bases farmacêuticamente aceitável, em que X e Y são cada um deles H, F, Cl, Br ou CF₃; R¹ é H ou (C₁-C₄)alquilo de cadeia linear ou ramificada; e Q é

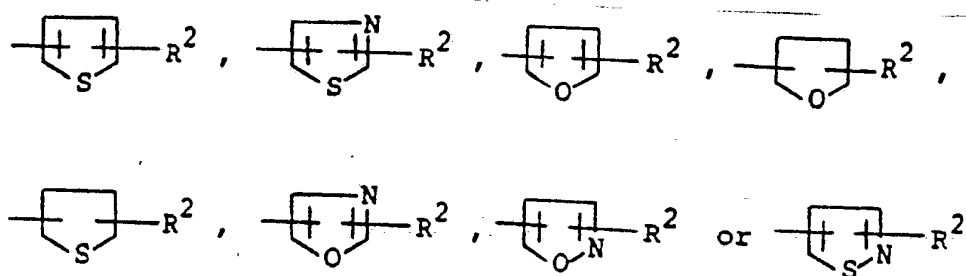


32. - Método para o tratamento das perturbações do metabolismo do tecido conjuntivo mediadas pela interleuquina-1 num mamífero necessitando desse tratamento, tais como doença periodontal ou do tecido cicatricial, caracterizado por compreender a administração oral ao referido mamífero de cerca de 0,5 mg por quilograma de peso corporal por dia a cerca de 4 mg por quilograma de peso corporal por dia ou a administração parentérica ao referido mamífero de cerca de 0,01 mg por quilograma de

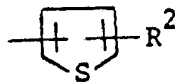
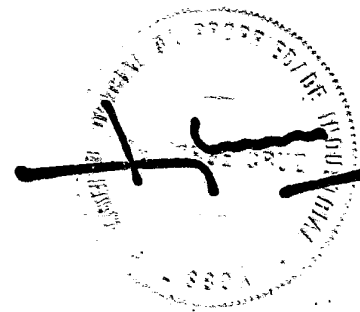
peso corporal por dia a cerca de 4 mg por quilograma de peso corporal por dia de um composto com a fórmula



ou de um seu sal com bases farmacologicamente aceitável, em que X e Y são cada um deles H, F, Cl, Br ou CF₃; R¹ é H ou (C₁-C₄)alquilo de cadeia linear ou ramificada; e Q é

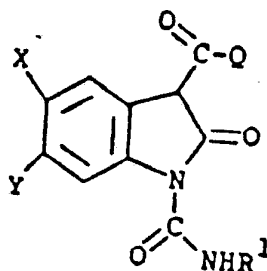


onde R² é H ou (C₁-C₃)alquilo, contanto que quando Q é

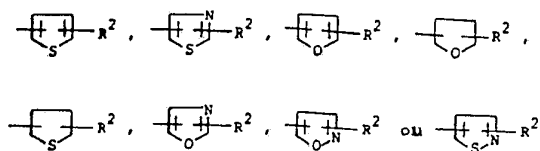
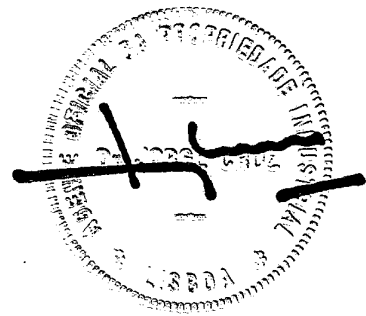


e R^2 é H, R^1 não seja H.

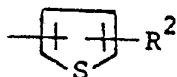
4B. - Método para o tratamento de disfunção imunitária mediada pela interleuquina-1 num mamífero necessitando desse tratamento, tal como alergia ou psoríase, caracterizado por compreender a administração oral ao referido mamífero de cerca de 0,5 mg por quilograma de peso corporal por dia a cerca de 4 mg por quilograma de peso corporal por dia ou a administração parentérica ao referido mamífero de cerca de 0,01 mg por quilograma de peso corporal por dia a cerca de 4 mg por quilograma de peso corporal por dia de um composto com a fórmula



ou de um seu sal com bases farmacologicamente aceitável, em que X e Y são cada um deles H, F, Cl, Br ou CF_3 ; R^1 é H ou (C_1-C_4) alquilo de cadeia linear ou ramificada; e Q é

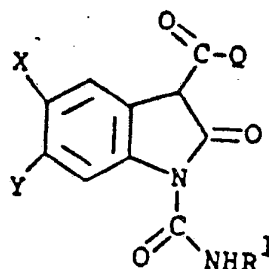


onde R^2 é H ou (C_1-C_3) alquilo, contanto que quando Q é

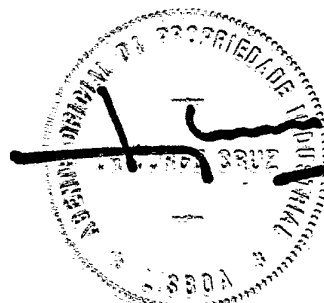


e R^2 é H, R^1 não seja H.

5a. - Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado por Q ser



6a. - Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado por R^1 ser H, etilo ou t-butilo.



-26-

78. - Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado por X ser Cl; Y ser H; R¹ ser H, etilo ou t-butilo; e R² ser H ou CH₃.

Lisboa, 11 de Outubro de 1990

J. PEREIRA DA CRUZ
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA. VICTOR CORDON, 10-A 3.º
1200 LISBOA