

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 760

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

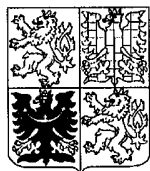
C 07 D 275/06

C 07 D 417/04

A 61 K 31/428

A 61 P 29/00

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **04.09.1998**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **05.09.1997**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/057998**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16.08.2000**
(Věstník č. 8/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/US98/18569**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/11264**

(71) Přihlašovatel:

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION,
Philadelphia, PA, US;

(72) Původce:

Widdowson Katherine L., King of Prussia, PA, US;
Nie Hong, Conshohocken, PA, US;

(74) Zástupce:

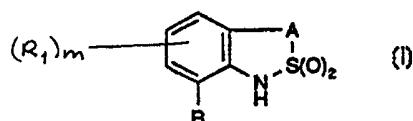
Zelený Pavel JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Antagonista IL-8 receptoru

(57) Anotace:

Řešení se týká sloučenin obecného vzorce I a jejich přípravků, užitečných při léčení chorobných stavů zprostředkovaných chemokinem, interleukinem-8 (IL-8). Výhodné jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde mimo jiné R je -NH-C(X)-NH-(CR₁₃R₁₄)_v-Z, Z je případně substituovaný fenyl nebo naftyl, případně substituovaný heteroaryl, případně substituovaný C₅₋₈cykloalkyl, případně substituovaný C₁₋₁₀alkyl, případně substituovaný C₂₋₁₀alkenyl nebo případně substituovaný C₂₋₁₀alkinyl, X je = O nebo = S, A je mono- nebo disubstituovaný uhlík, jak je zde definováno, v je 0 nebo celé číslo, které má hodnotu 1 až 4, nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli.



Antagonista IL-8 receptoru

Oblast techniky

Tento vynález se týká nových sloučenin substituovaných benzothiazolem, farmaceutických přípravků, způsobů jejich přípravy a jejich použití při léčení nemocí zprostředkovaných IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , ENA-78 a NAP-2.

Dosavadní stav techniky

Interleukin-8 (IL-8) byl označován mnoha různými názvy, jako je neutrofilý atrahující/aktivující protein-1 (NAP-1), chemotaktický faktor neutrofilů odvozený z monocytů (MDNCF), neutrofilý aktivující faktor (NAF) a lymfocytární chemotaktický faktor T-buněk. Interleukin-8 je chemoatraktantem pro neutrofilý, basofily a podsoubor T-buněk. Je tvořen většinou buněk majících jádro včetně makrofágů, fibroblastů, endotheliálních a epitheliálních buněk vystavených působení TNF, IL-1 α , IL-1 β nebo LPS, a neutrofilý samotnými, pokud jsou vystaveny působení LPS nebo chemotaktickým faktorům, jako je FMLP. M. Baggiolini a kol., J. Clin. Invest., 84, 1045 (1989), J. Schroder a kol., J. Immunol. 139, 3474 (1987) a J. Immunol., 144, 2223 (1990), Strieter a kol., Science, 243, 1467 (1989), J. Biol. Chem., 264, 10621 (1989) a Cassatella a kol., J. Immunol., 148, 3216 (1992).

GRO α , GRO β , GRO γ a NAP-2 také patří do α -rodiny chemokinů. Podobně jako IL-8 se o těchto chemokinech hovoří pod různými názvy. Například GRO α , β , γ byly označovány jako MGSA α , β respektive γ (Melanoma Growth Stimulating Activity), viz Richmond a kol., J. Cell

Physiology, 129, 375 (1986) a Chang a kol., J. Immunol., 148, 451 (1992). Všechny z chemokinů z α -rodiny, které mají motiv ELR, který přímo předchází motivu CXC navázanému na receptor IL-8 B.

IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 a ENA-78 stimulují in vitro četné funkce. Bylo ukázáno, že mají chemoatraktační vlastnosti pro neutrofilů, zatímco IL-8 a GRO α vykazaly chemoatraktační aktivitu pro T-lymfocyty a basofily. Navíc IL-8 může indukovat uvolňování histaminu z basofilů jak u normálních, tak u atopických jedinců. GRO α a IL-8 mohou navíc indukovat uvolňování lysozomálního enzymu a respirační vzplanutí z neutrofilů. U IL-8 bylo také ukázáno, že zvyšuje povrchovou expresi Mac-1 (CD11b/CD18) na neutrofilech bez syntézy proteinu de novo. To může přispívat ke zvýšené adhezi neutrofilů k vaskulárním endotheliálním buňkám. Mnoho známých nemocí je charakterizováno masivní infiltrací neutrofilů. Jelikož IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ a NAP-2 usnadňují akumulaci a aktivaci neutrofilů, účastní se tyto chemokiny široké škály akutních a chronických zánětlivých poruch včetně psoriasis a revmatoidní arthritidy, Baggiolini a kol., FEBS Lett., 307, 97 (1992), Miller a kol., Crit. Rev. Immunol., 12, 17 (1992), Oppenheim a kol., Annu. Rev. Immunol., 9, 617 (1991), Seitz a kol., J. Clin. Invest., 87, 463 (1991), Miller a kol., Am. Rev. Respir. Dis., 146, 427 (1992) a Donnely a kol., Lancet, 341, 643 (1993). Navíc se ELR chemokiny (ty, které obsahují aminokyselinový motiv ELR těsně před motivem CXC) účastní angiostase. Strieter a kol., Science, 258, 1798 (1992).

In vitro indukují IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ a NAP-2 změnu tvaru neutrofilu, chemotaxi, vyprázdnění granul a

respirační vzplanutí navázáním a aktivací receptorů z rodiny navázané na G-protein, které procházejí membránou 7-krát, obzvláště navázáním na receptory IL-8, nejvýznamněji B-receptor. Thomas a kol., J. Biol. Chem., 266, 14839 (1991) a Holmes a kol., Science, 253, 1278 (1991). Vývoj nepeptidových antagonistů s malou molekulou pro tuto rodinu receptorů již probíhal. Přehled je v R. Freidinger v: Progress in Drug Research, sv. 40, str. 33 až 98, Birkhauser Verlag, Basilej 1993. Receptor IL-8 tedy představuje slibný cíl pro vývoj nových protizánětlivých látek.

Byly charakterizovány dva vysoce afinitní lidské receptory IL-8 (77% homologie): IL-8R α , který váže s vysokou afinitou pouze IL-8 a IL-8R β , který má vysokou afinitu pro IL-8 stejně jako GRO α , GRO β , GRO γ a NAP-2. Viz Holmes a kol., výše, Murphy a kol., Science, 253, 1280 (1991), Lee a kol., J. Biol. Chem., 267, 16283 (1992), LaRosa a kol., J. Biol. Chem., 267, 25402 (1992), a Gayle a kol., J. Biol. Chem., 268, 7283 (1993).

Na tomto poli zůstává potřeba léčení, potřeba sloučenin, které jsou schopny vazby na receptor IL-8 α nebo receptor IL-8 β . Stavy spojené se zvýšenou tvorbou IL-8 (který je zodpovědný za chemotaxi neutrofilů a podsouborů T-buněk do místa zánětu) by tedy mohly být zlepšeny sloučeninami, které jsou inhibitory vazby na receptor IL-8.

Podstata vynálezu

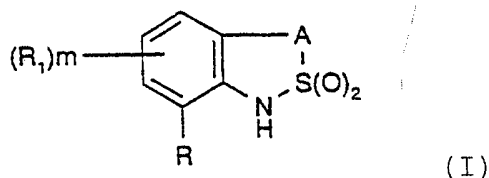
Tento vynález poskytuje způsob léčení nemoci zprostředkované chemokinem, kde chemokinem je jeden z

těch, které se váží na receptor IL-8 α nebo IL-8 β a kterýžto způsob zahrnuje podávání účinného množství sloučeniny obecného vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelné soli. Obzvláště je chemokinem IL-8.

Tento vynález se také týká způsobu inhibice vazby IL-8 na jeho receptor u savce, který to potřebuje, což zahrnuje podávání účinného množství sloučeniny obecného vzorce (I) uvedenému savci.

Předložený vynález také poskytuje nové sloučeniny obecného vzorce (I) a farmaceutické přípravky obsahující sloučeninu obecného vzorce (I) a farmaceutický nosič nebo ředidlo.

Sloučeniny obecného vzorce (I) užitečné v předloženém vynálezu jsou představovány strukturou:



ve které

R je $-\text{NH}-\text{C}(\text{X})-\text{NH}-(\text{CR}_{13}\text{R}_{14})_v-\text{Z}$,

Z je W, případně substituovaný heteroaryl, případně substituovaný C_{5-8} cykloalkyl, případně substituovaný C_{1-10} alkyl, případně substituovaný C_{2-10} alkenyl nebo případně substituovaný C_{2-10} alkinyl,

X je $=\text{O}$ nebo $=\text{S}$,

A je $CR_{20}R_{21}$,

R_1 je nezávisle zvolen z vodíku, halogenu, nitroskupiny, kyanoskupiny, halogenem substituovaného C_{1-10} alkylu, C_{1-10} alkylu, C_{2-10} alkenylu, C_{1-10} alkoxyskupiny, halogenem substituované C_{1-10} alkoxyskupiny, azidu, skupiny $(CR_8R_8)_qS(O)_tR_4$, hydroxyskupiny, hydroxy C_{1-4} alkylu, arylu, aryl C_{1-4} alkylu, aryloxyskupiny, aryl C_{1-4} alkyloxyskupiny, heteroarylu, heteroarylalkylu, heterocyklu, heterocykl C_{1-4} alkylu, heteroaryl C_{1-4} alkyloxyskupiny, aryl C_{2-10} alkenylu, heteroaryl C_{2-10} alkenylu, heterocykl C_{2-10} alkenylu, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4R_5$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$, skupiny $S(O)_3H$, skupiny $S(O)_3R_8$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)R_{11}$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{12}$, skupiny $(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(NR_4)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4C(NR_5)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qNHS(O)_2R_{17}$, skupiny $(CR_8R_8)_qS(O)_2NR_4R_5$ nebo dvě skupiny R_1 dohromady mohou tvořit $-O-(CH_2)_sO-$ nebo 5- nebo 6-členný nasycený nebo nenasycený kruh, a kde aryl, heteroaryl a heterocyklus obsahující kruhy mohou být případně substituovány,

n je celé číslo, které má hodnotu 1 až 3,

m je celé číslo, které má hodnotu 1 nebo 3,

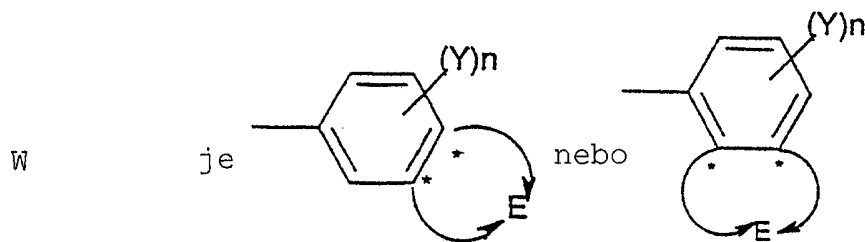
q je 0 nebo celé číslo, které má hodnotu 1 až 10,

- t je 0 nebo celé číslo, které má hodnotu 1 nebo 2,
- s je celé číslo, které má hodnotu 1 až 3,
- v je 0 nebo celé číslo, které má hodnotu 1 až 4,
- R_4 a R_5 jsou nezávisle vodík, případně substituovaný C_{1-4} alkyl, případně substituovaný aryl, případně substituovaný aryl C_{1-4} alkyl, případně substituovaný heteroaryl, případně substituovaný heteroaryl C_{1-4} alkyl, heterocyklus, heterocykl C_{1-4} alkyl nebo R_4 a R_5 dohromady s atomem dusíku, na něž jsou připojeny, tvoří 5- až 7-členný kruh, který může případně zahrnovat další heteroatom zvolený z O/N/S,
- Y je nezávisle zvolen z vodíku, halogenu, nitroskupiny, kyanoskupiny, halogenem substituovaného C_{1-10} alkylu, C_{1-10} alkylu, C_{2-10} alkenylu, C_{1-10} alkoxyskupiny, halogenem substituované C_{1-10} alkoxyskupiny, azidu, skupiny $(CR_8R_9)_qS(O)_tR_4$, hydroxyskupiny, hydroxy C_{1-4} alkylu, arylu, aryl C_{1-4} alkylu, aryloxyskupiny, aryl C_{1-4} alkyloxyskupiny, heteroarylu, heteroarylalkylu, heteroaryl C_{1-4} alkyloxyskupiny, heterocyklu, heterocykl C_{1-4} alkylu, aryl C_{2-10} alkenylu, heteroaryl C_{2-10} alkenylu, heterocykl C_{2-10} alkenylu, skupiny $(CR_8R_9)_qNR_4R_5$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_{10}$, skupiny $S(O)_3H$, skupiny $S(O)_3R_8$, skupiny $(CR_8R_9)_qC(O)R_{11}$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)R_{11}$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_9)_qC(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_9)_qC(O)OR_{12}$, skupiny $(CR_8R_9)_qOC(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_9)_qNR_4C(O)R_{11}$,

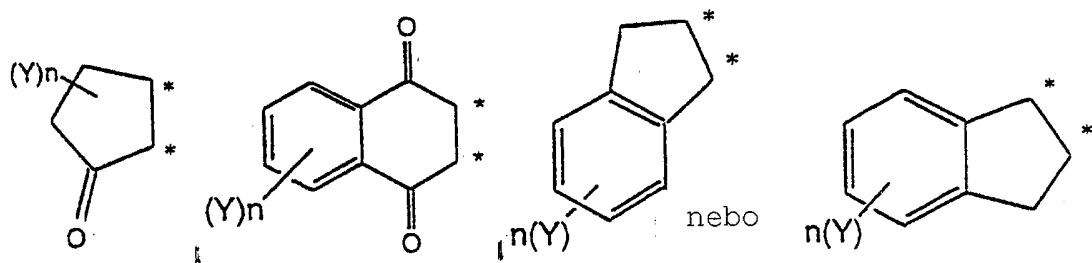
skupiny $(CR_8R_9)_qC(NR_4)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_9)_qNR_4C(NR_5)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_9)_qNHS(O)_2R_{10}$, skupiny $(CR_8R_9)_qS(O)_2NR_4R_5$ nebo dvě skupiny Y dohromady mohou tvořit $-O-(CH_2)_5O-$ nebo 5- nebo 6-členný nasycený nebo nenasycený kruh, a kde aryl, heteroaryl a heterocyklus obsahující kruhy mohou být případně substituovány,

- R_6 a R_7 jsou nezávisle vodík nebo C_{1-4} alkylová skupina nebo R_6 a R_7 dohromady s atomem dusíku, na nějž jsou připojeny, tvoří 5- až 7-členný kruh, který může případně obsahovat další heteroatom, který je zvolen z kyslíku, dusíku nebo síry,
- R_8 je nezávisle vodík nebo C_{1-4} alkyl,
- R_{10} je C_{1-10} alkyl $C(O)_2R_8$,
- R_{11} je vodík, C_{1-10} alkyl, případně substituovaný aryl, případně substituovaný aryl C_{1-4} alkyl, případně substituovaný heteroaryl, případně substituovaný heteroaryl C_{1-4} alkyl, případně substituovaný heterocyklus nebo případně substituovaný heterocykl C_{1-4} alkyl,
- R_{12} je vodík, C_{1-10} alkyl, případně substituovaný aryl nebo případně substituovaný arylalkyl,
- R_{13} a R_{14} jsou nezávisle vodík, případně substituovaný C_{1-4} alkyl nebo jeden z R_{13} a R_{14} může být případně substituovaný aryl,
- R_{15} a R_{16} jsou nezávisle vodík nebo případně substituovaný C_{1-4} alkyl,

- R_{17} je C_{1-4} alkyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroaryl C_{1-4} alkyl, heterocyklus nebo heterocykl C_{1-4} alkyl, kde arylové, heteroarylové a heterocyklické kruhy mohou všechny být případně substituovány,
- R_{18} je NR_6R_7 , alkyl, aryl C_{1-4} alkyl, aryl C_{2-4} alkenyl, heteroaryl, heteroaryl C_{1-4} alkyl, heteroaryl- C_{2-4} alkenyl, heterocyklus, heterocykl C_{1-4} alkyl, kde arylové, heteroarylové a heterocyklické kruhy mohou být všechny případně substituovány,
- R_{20} a R_{21} jsou nezávisle vodík, halogen, kyanoskupina, halogenem substituovaný C_{1-10} alkyl, C_{1-10} alkyl, aryl, aryl C_{1-4} alkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, heterocyklus, heterocykl C_{1-4} alkyl, skupina $(CR_8R_8)_qOR_4$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_q(O)OR_{12}$, skupina $(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_qNR_4R_5$, skupina $(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$ nebo dohromady R_{20} a R_{21} mohou tvořit $=R_{22}$, a kde aryl, heteroaryl a heterocyklus obsahující kruhy mohou být případně substituovány, dále za předpokladu, že R_{20} a R_{21} nejsou vodík,
- R_{22} je C_{1-4} alkyl, aryl, aryl C_{1-4} alkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, heterocyklus nebo heterocykl- C_{1-4} alkyl a kde všechny z těchto částí mohou být případně substituovány,



příčemž kruh obsahující E je případně zvolen z



hvězdička * označuje bod připojení kruhu,

nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

Detailní popis vynálezu

Sloučeniny obecného vzorce (I) mohou také být použity ve spojení s veterinárním léčením savců jiných než člověk, kteří potřebují inhibici IL-8 nebo jiných chemokinů, které se váží na receptor IL-8 α nebo IL-8 β . Chemokiny zprostředkované nemoci, které mají být u zvířat ovlivněny, terapeuticky nebo profylakticky, zahrnují chorobné stavy jako jsou ty, které jsou zde zmíněny v části "Způsoby léčení".

U sloučenin obecného vzorce (I), vhodně R₁ je

nezávisle zvolen z vodíku, halogenu, nitroskupiny, kyanoskupiny, halogenem substituovaného C_{1-10} alkylu, jako je CF_3 , C_{1-10} alkyl, jako je methyl, ethyl, isopropyl nebo n-propyl, C_{2-10} alkenylu, C_{1-10} alkoxyskupiny, jako je methoxyskupina nebo ethoxyskupina, halogenem substituované C_{1-10} alkoxyskupiny, jako je trifluormethoxyskupina, azidu, $(CR_8R_8)_qS(O)_tR_4$, kde t je 0, 1 nebo 2, hydroxyskupiny, hydroxy C_{1-4} alkylu, jako je methanol nebo ethanol, arylu, jako je fenyl nebo naftyl, aryl C_{1-4} alkylu, jako je benzyl, aryloxyskupiny, jako je fenoxyskupina, aryl C_{1-4} alkyloxy-skupiny, jako je benzyloxyskupina, heteroarylu, heteroarylalkylu, heteroaryl C_{1-4} alkyloxyskupiny, aryl C_{2-10} -alkenylu, heteroaryl C_{2-10} alkenylu, heterocykl C_{2-10} alkenylu, $(CR_8R_8)_qNR_4R_5$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$, skupiny $S(O)_3H$, skupiny $S(O)_3R_8$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$, skupiny C_{2-10} alkenyl- $C(O)R_{11}$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{12}$, skupiny $(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(NR_4)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4C(NR_5)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qNHS(O)_2R_{17}$, skupiny $(CR_8R_8)_qS(O)_2NR_4R_5$ nebo dvě části R_1 dohromady mohou tvořit skupinu $O-(CH_2)_2O-$ nebo 5- nebo 6-členný nasycený nebo nenasyčený kruh. Všechny z částí, které obsahují aryl, heteroaryl a heterocyklus uvedený výše mohou být případně substituovány jak je zde definováno níže.

Vhodně s je celé číslo, které má hodnotu 1 až 3.

Vhodně q je 0 nebo celé číslo, které má hodnotu 1 až 10.

Má se za to, že část R_1 může být substituována na benzenovém kruhu nebo na kruhu obsahujícím A, pokud možno, výhodně na benzenovém kruhu.

Tvoří-li R_1 dioxymůstek, pak s je výhodně 1.
Tvoří-li R_1 další nasycený nebo nenasycený kruh, pak je jím výhodně 6-členný nenasycený kruh, což vede k naftalenovému kruhovému systému. Tyto kruhy mohou být případně substituovány nezávisle, 1- až 3-krát, jinou částí R_1 jak je definována výše.

Vhodně R_4 a R_5 jsou nezávisle vodík, případně substituovaný C_{1-4} alkyl, případně substituovaný aryl, případně substituovaný aryl C_{1-4} alkyl, případně substituovaný heteroaryl, případně substituovaný heteroaryl C_{1-4} alkyl, heterocyklus, heterocykl C_{1-4} alkyl nebo R_4 a R_5 dohromady s atomem dusíku, na nějž jsou připojeny, tvoří 5- až 7-členný kruh, který může případně zahrnovat další heteroatom zvolený z O/N/S.

Vhodně R_6 a R_7 jsou nezávisle vodík nebo C_{1-4} alkylová skupina nebo R_6 a R_7 dohromady s atomem dusíku, na nějž jsou připojeny, tvoří 5- až 7-členný kruh, který může případně zahrnovat další heteroatom zvolený z O/N/S.

Vhodně R_8 je nezávisle vodík nebo C_{1-4} alkyl.

Vhodně R_{10} je skupina $C_{1-10}alkylC(O)_2R_9$, jako je $CH_2C(O)_2H$ nebo $CH_2C(O)_2CH_3$.

Vhodně R_{11} je vodík, C_{1-4} alkyl, aryl, aryl C_{1-4} alkyl, heteroaryl, heteroaryl C_{1-4} alkyl, heterocyklus nebo heterocykl C_{1-4} alkyl.

Vhodně R_{12} je vodík, C_{1-10} alkyl, případně substituovaný aryl nebo případně substituovaný aralkyl.

Vhodně R_{13} a R_{14} jsou nezávisle vodík, případně substituovaný C_{1-4} alkyl, který může být přímý nebo rozvětvený, jak je zde definováno, nebo jeden z R_{13} a R_{14} jsou případně substituovaný aryl, v je 0 nebo celé číslo, které má hodnotu 1 až 4.

Jsou-li R_{13} nebo R_{14} případně substituovaným alkylem, alkylová část může být substituovaná 1- až 3-krát nezávisle halogenem, halogenem substituovaným C_{1-4} alkylem, jako je trifluormethyl, hydroxyskupinou, hydroxy C_{1-4} alkylovou skupinou, C_{1-4} alkoxyskupinou, jako je methoxyskupina nebo ethoxyskupina, halogenem substituovanou C_{1-10} alkoxyskupinou, skupinou $S(O)_tR_4$, arylem, skupinou NR_4R_5 , skupinou $NHC(O)R_4$, skupinou $C(O)NR_4R_5$ nebo $C(O)OR_8$.

Vhodně R_{17} je C_{1-4} alkyl, aryl, aralkyl, heteroaryl, heteroaryl C_{1-4} alkyl, heterocyklus nebo heterocykl C_{1-4} alkyl, kde arylové, heteroarylové a heterocyklické kruhy mohou být případně substituovány.

Vhodně Y je nezávisle zvolen z vodíku, halogenu, nitroskupiny, kyanoskupiny, halogenem substituovaného C_{1-10} alkylu, C_{1-10} alkylu, C_{2-10} alkenylu, C_{1-10} alkoxyskupiny, halogenem substituované C_{1-10} alkoxyskupiny, azidu, skupiny $(CR_8R_8)_qS(O)_tR_4$, hydroxyskupiny, hydroxy C_{1-4} alkylu, arylu, aryl C_{1-4} alkylu, aryloxyskupiny, aryl C_{1-4} alkyloxyskupiny, heteroarylu, heteroarylalkylu, heteroaryl C_{1-4} alkyloxy-skupiny, heterocyklu, heterocykl C_{1-4} alkylu, aryl C_{2-10} alkenylu, heteroaryl C_{2-10} alkenylu, heterocykl C_{2-10} alkenylu, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4R_5$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$, skupiny $S(O)_3H$, skupiny $S(O)_3R_8$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)R_{11}$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{12}$, skupiny

$(CR_8R_9)_qOC(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_9)_qNR_4C(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_9)_qC(NR_4)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_9)_qNR_4C(NR_5)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_9)_qNHS(O)_2R_{18}$, skupiny $(CR_8R_9)_qS(O)_2NR_4R_5$ nebo dvou skupin Y dohromady, které mohou tvořit $-O-(CH_2)_sO-$ nebo 5- nebo 6-členný nasycený nebo nenasycený kruh a kde arylové, heteroarylové a heterocyklické části zmíněné výše mohou všechny být případně substituovány, jak je zde definováno.

Tvoří-li Y dioxymůstek, pak s je výhodně 1. Tvoří-li Y další nasycený nebo nenasycený kruh, pak je jím výhodně 6-členný nenasycený kruh, což vede k naftalenovému kruhovému systému. Tyto kruhy mohou být případně substituovány nezávisle, 1- až 3-krát, jinou částí Y jak je definována výše.

Vhodně R_{18} je NR_6R_7 , alkyl, aryl C_{1-4} alkyl, aryl C_{2-4} alkenyl, heteroaryl, heteroaryl C_{1-4} alkyl, heteroaryl C_{2-4} alkenyl, heterocyklus, heterocykl C_{1-4} alkyl, kde arylový, heteroarylový a heterocyklický kruh mohou být všechny případně substituovány.

Y je výhodně halogen, C_{1-4} alkoxyskupina, případně substituovaný aryl, případně substituovaná aryloxyskupina nebo arylalkoxyskupina, methylenedioxyskupina, NR_4R_5 , thio C_{1-4} alkyl, thioaryl, halogenem substituovaná alkoxyskupina, případně substituovaný C_{1-4} alkyl nebo hydroxyalkyl. Y je výhodněji monosubstituovaný halogen, disubstituovaný halogen, monosubstituovaná alkoxyskupina, disubstituovaná alkoxyskupina, methylenedioxyskupina, aryl nebo alkyl, výhodněji jsou tyto skupiny mono- nebo disubstituovány v poloze 2' nebo 2', 3'.

Zatímco Y může být substituován v některé z 5 poloh kruhu, Y je výhodně monosubstituován v poloze 2'

nebo 3', přičemž poloha 4' je výhodně nesubstituovaná. Pokud je kruh disubstituovaný, jsou substituenty výhodně v poloze 2' nebo 3' monocyklického kruhu. Zatímco jak R_1 tak Y mohou oba být vodík, je výhodné, když je přinejmenším jeden z kruhů substituovaný, výhodně jsou oba kruhy substituované.

Vhodně X je $=O$ nebo $=S$.

A je vhodně $CR_{20}R_{21}$.

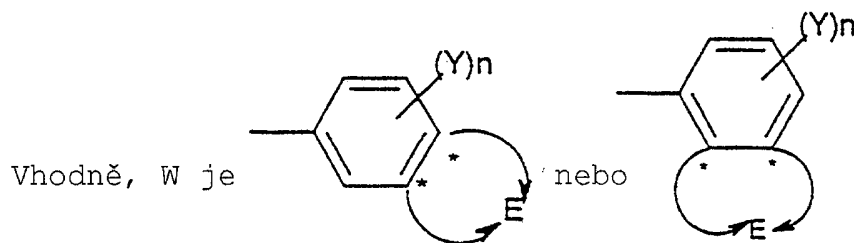
Vhodně R_{20} a R_{21} jsou nezávisle vodík, halogen, kyanoskupina, halogenem substituovaný C_{1-10} alkyl, C_{1-10} alkyl, aryl, aryl C_{1-4} alkyl, heteroaryl, heteroaryl C_{1-4} alkyl, heterocyklus, heterocykl C_{1-4} alkyl, skupina $(CR_8R_8)_qOR_4$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_q(O)OR_{12}$, skupina $(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_qNR_4R_5$, skupina $(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$ nebo $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$, a kde aryl, heteroaryl a heterocyklus obsahující kruhy mohou být případně substituovány, za předpokladu, že R_{20} a R_{21} nejsou vodík, nebo R_{20} a R_{21} tvoří dvojnou vazbu napojeno na skupinu R_{22} , jako v $=R_{22}$.

Vhodně R_{22} je C_{1-4} alkyl, aryl, aryl C_{1-4} alkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, heterocyklus nebo heterocykl C_{1-4} alkyl, a kde všechny z těchto částí mohou být případně substituovány. Výhodně tvoří R_{20} a R_{21} methylenovou skupinu.

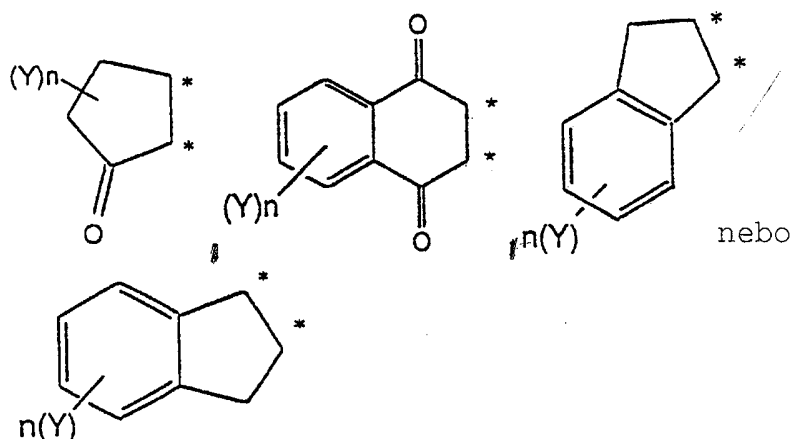
Vhodně R_{15} a R_{16} jsou nezávisle vodík nebo případně substituovaný C_{1-4} alkyl jak je definováno pro R_{13} a R_{14} .

Ve sloučeninách obecného vzorce (I) vhodně Z je

W, případně substituovaný heteroaryl, případně substituovaný C₅₋₈cykloalkyl, případně substituovaný C₁₋₁₀alkyl, případně substituovaný C₂₋₁₀alkenyl nebo případně substituovaný C₂₋₁₀alkynyl.



Vhodně je kruh obsahující E případně zvolen z



Případně může být přítomen kruh obsahující E, označený na bodech svého připojení hvězdičkami (*). Pokud není přítomen, je kruhem fenylová část, která je substituovaná substituenty Y, jak je ukázáno. Kruh E může být substituován částí (Y)_n na kterémkoli kruhu, nasyceném nebo nenasyčeném, a je zde ukázán substituovaný pouze na nenasyčeném kruhu (nenasyčených kruzích).

Je-li Z případně substituovaný C₅₋₈cykloalkylový kruh, může být kruh případně substituovaný substituentem (Y)_n jak je definován výše.

Je-li Z případně substituovaná C₁₋₁₀alkylová,

případně substituovaná C_{2-10} alkenylová nebo případně substituovaná C_{2-10} alkinylová část, mohou tyto části být případně substituovány 1- nebo vícekrát nezávisle halogenem, nitroskupinou, kyanoskupinou, halogenem substituovaným C_{1-10} alkylem, jako je trifluormethyl, C_{1-10} alkoxyskupinou, halogenem substituovanou C_{1-10} alkoxyskupinou, skupinou $S(O)_tR_4$, hydroxyskupinou, hydroxy C_{1-4} alkylovou skupinou, arýloxyskupinou, aryl C_{1-4} alkyloxyskupinou, heteroaryloxyskupinou, heteroaryl C_{1-4} alkyloxyskupinou, heterocyklem, heterocykl- C_{1-4} alkylem, heterocykloxyskupinou, heterocykl C_{1-4} alkyloxy-skupinou, skupinou NR_4R_5 , skupinou $C(O)NR_4R_5$, skupinou $C(O)NR_4R_{10}$, skupinou $S(O)_3H$, skupinou $S(O)_3R_8$, skupinou $C(O)R_{11}$, skupinou $C(O)OR_{12}$, skupinou $OC(O)R_{11}$ nebo skupinou $NR_4C(O)R_{11}$.

Je-li Z případně substituovaný C_{2-10} alkenyl nebo případně substituovaný C_{2-10} alkinyl, mohou tyto části, vedle těch substituentů, které byly zmíněny výše, být také případně substituovány arylovou, aryl C_{1-4} alkylovou, heteroarylovou a heteroaryl C_{1-4} alkylovou skupinou (kteréžto části obsahující aryl a heteroaryl mohou také být případně substituovány).

Je-li Z heteroarylový (HET) kruh, pak ve sloučeninách obecného vzorce (I) je to výhodně heteroarylový kruh nebo kruhový systém. Pokud je část HET vícekruhový systém, pak kruh obsahující heteroatom nemusí být přímo připojen na močovinovou část. Všechny kruhy v tomto kruhovém systému mohou být případně substituovány jak je zde definováno. Výhodně je část HET pyridyl, kterým může být 2-, 3- nebo 4- pyridyl. Je-li kruhem vícesystémový kruh, je jím výhodně benzimidazolový, dibenzothiofenový nebo indolový kruh. Jiné heterocyklické

kruhy, které vzbuzují zájem, zahrnují thiofen, furan, pyrimidin, pyrrol, pyrazol, chinolin, isochinolin, chinazolinyl, pyridin, oxazol, thiazol, thiadiazol, triazol, imidazol nebo benzimidazol, výčet jimi však není omezen.

Ve sloučeninách obecného vzorce (I) může kruh HET být případně substituovaný nezávisle skupinou (Y)_n jak je definována výše.

Jak je zde používáno, "případně substituovaný", pokud není specificky definováno, znamená takové skupiny, jako halogen, jako je fluor, chlor, brom nebo jod, hydroxyskupina, hydroxyskupinou substituovaný C₁₋₁₀alkyl, C₁₋₁₀alkoxyskupina, jako je methoxyskupina nebo ethoxyskupina, S(O)_mC₁₋₁₀alkyl, kde m' je 0, 1 nebo 2, jako je methylthioskupina, methylsulfinylskupina nebo methylsulfonylskupina, aminoskupina, mono- a disubstituovaná aminoskupina, jako je ve skupině NR₄R₅, skupina NHC(O)R₄, skupina C(O)NR₄R₅, skupina C(O)OH, skupina S(O)₂NR₄R₅, skupina NHS(O)₂R₁₉, C₁₋₁₀alkyl, jako je methyl, ethyl, propyl, isopropyl nebo terc.-butyl, halogenem substituovaný C₁₋₁₀alkyl, jako je CF₃, případně substituovaný aryl, jako je fenyl, nebo případně substituovaný aralkyl, jako je benzyl nebo fenethyl, případně substituovaný heterocyklus, případně substituovaný heterocyklalkyl, případně substituovaný heteroaryl, případně substituovaný heteroarylalkyl, kde tyto arylové, heteroarylové nebo heterocyklické části mohou být substituovány 1- nebo 2-krát halogenem, hydroxyskupinou, hydroxyskupinou substituovaným alkylem, C₁₋₁₀alkoxyskupinou, S(O)_mC₁₋₁₀alkylem, aminoskupinou, mono- a disubstituovanou aminoskupinou, jako je ve skupině NR₄R₅, C₁₋₁₀alkylem nebo halogenem substituovaným C₁₋₁₀alkylem, jako je CF₃.

R_{19} je vhodně C_{1-4} alkyl, aryl, $arylC_{1-4}$ alkyl, heteroaryl, heteroaryl C_{1-4} alkyl, heterocyklus nebo heterocykl C_{1-4} alkyl.

Vhodné farmaceuticky přijatelné soli jsou odborníkovi v oboru dobře známy a zahrnují základní soli anorganických a organických kyselin, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná, kyselina methansulfonová, kyselina ethansulfonová, kyselina octová, kyselina jablečná, kyselina vinná, kyselina citrónová, kyselina mléčná, kyselina oxalová, kyselina jantarová, kyselina fumarová, kyselina maleinová, kyselina benzoová, kyselina salicylová, kyselina fenylctová a kyselina mandelová. Navíc farmaceuticky přijatelné soli sloučenin obecného vzorce (I) mohou být také vytvořeny s farmaceuticky přijatelným kationtem, například, pokud skupina substituentu zahrnuje karboxyskupinu. Vhodné farmaceuticky přijatelné kationty jsou odborníkovi v oboru dobře známy a zahrnují kationty alkalických kovů, kovů alkalických zemin, kationty amonné a kvarterní amoniové.

Jak jsou zde používány, odkazují následující pojmy na:

"halo" - všechny halogeny, tj. chlor, fluor, brom a jod.

" C_{1-10} alkyl" nebo "alkyl" - jak s přímým, tak s rozvětveným řetězcem skupiny, které mají 1 až 10 atomů uhlíku, pokud není délka řetězce omezena jinak, včetně methylu, ethylu, n-propylu, isopropylu, n-butylu, sek.-butylu, isobutylu, terc.-butylu, n-pentylu apod., tím

však výčet není omezen.

"cykloalkyl" je zde používán ve významu cyklických skupin, výhodně se 3 až 8 atomy uhlíku, včetně cyklopropylu, cyklopentylu, cyklohexylu apod., tím však výčet není omezen.

"alkenyl" zde při každém výskytu znamená přímou nebo rozvětvenou řetězovou skupinu se 2 až 10 atomy uhlíku, pokud tam není délka řetězce omezena, včetně ethenylu, 1-propenylu, 2-propenylu, 2-methyl-1-propenylu, 1-butenylu, 2-butenylu apod., tím však výčet není omezen.

"aryl" znamená fenyl a naftyl,

"heteroaryl" (samotný nebo v jakékoli kombinaci, jako je "heteroaryloxy" nebo "heteroarylalkyl") znamená 5- až 10-členný aromatický kruhový systém, ve kterém 1 nebo více kruhů obsahuje 1 nebo více heteroatomů zvolených ze skupiny sestávající z N, O nebo S, jako je pyrrol, pyrazol, furan, thiofen, chinolin, isochinolin, chinazolinyl, pyridin, pyrimidin, oxazol, thiazol, thiadiazol, triazol, imidazol, benzimidazol nebo benzthiazol, tím však výčet není omezen.

"heterocyklus" (samotný nebo v jakékoli kombinaci, jako je "heterocyklalkyl") znamená nasycený nebo částečně nenasycený 4- až 10-členný kruhový systém, ve kterém 1 nebo více kruhů obsahuje 1 nebo více heteroatomů zvolených ze skupiny sestávající z N, O nebo S, jako je pyrrolidin, piperidin, piperazin, morfolin, tetrahydropyran nebo imidazolidin, tím však výčet není omezen.

22.05.00

"aralkyl" nebo "heteroarylalkyl" nebo "heterocyklalkyl" je zde používán ve významu C_{1-10} alkyl, jak je definován výše, napojený na aryl, heteroaryl nebo heterocyklickou část, jak je zde také definováno, pokud označeno jinak.

"sulfinyl" znamená oxid $S(O)$ odpovídajícího sulfidu, pojem "thio" odkazuje na sulfid a pojem "sulfonyl" odkazuje na plně oxidovanou část $S(O)_2$.

Pojem "kde dvě části R_1 (nebo dvě části Y) dohromady mohou tvořit 5- nebo 6-členný nasycený nebo nenasycený kruh" je zde používán ve významu, že tvoří kruhový systém, jako je naftalenový kruhový systém nebo fenylová část, na niž je připojen 6-členný částečně nenasycený kruh, jako je C_6 cykloalkenyl, tj. hexen nebo C_5 cykloalkenyllová část, cyklopenten.

Příkladem uvedené sloučeniny obecného vzorce (I) zahrnují:

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methyl-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-(2-bromfenyl)močovinu,

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-propyl-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-(2-bromfenyl)močovinu,

N-[(1-hydro-2,2-dioxo-3,3-dimethyl-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-(2-bromfenyl)močovinu,

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-fluor-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-(2-bromfenyl)močovinu,

22.05.00

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methylamid-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-[2-bromfenyl]močovinu,

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methyl-3-methylamid-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-[2-bromfenyl]močovinu,

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methylen-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-[2-bromfenyl]močovinu a

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-(benzothiazol-2-yl)-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-[2-bromfenyl]močovinu.

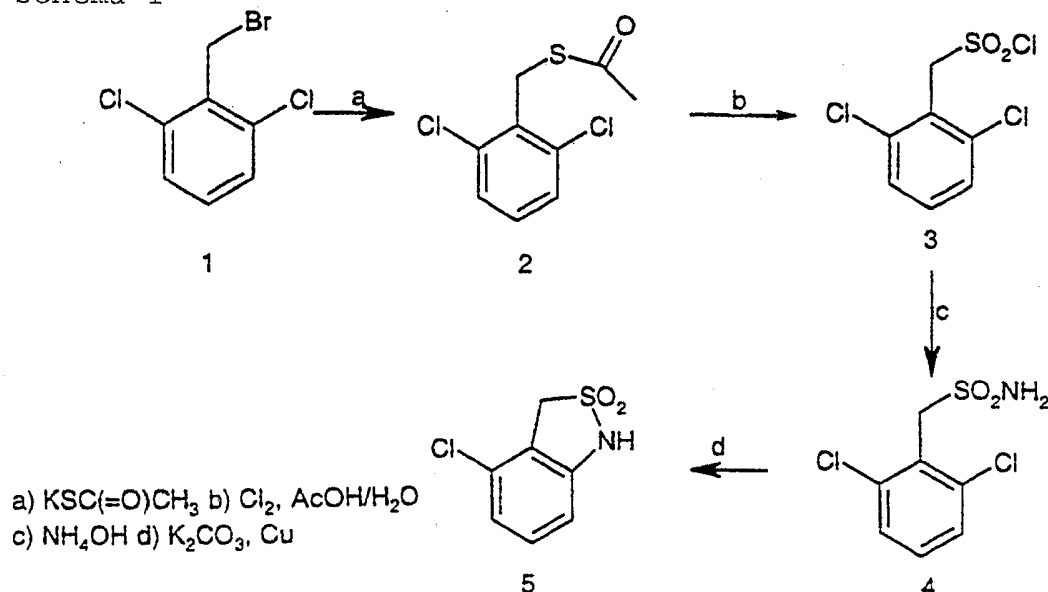
Má se za to, že sloučeniny podle předloženého vynálezu mohou existovat jako stereoisomery, regioisomery nebo diastereomery. Tyto sloučeniny mohou obsahovat 1 nebo více asymetrických atomů uhlíku a mohou existovat v racemických a opticky aktivních formách. Všechny tyto sloučeniny jsou zahrnuty do rozsahu předloženého vynálezu.

Způsoby přípravy

Sloučeniny obecného vzorce (I) se mohou získat použitím syntetických postupů, z nichž některé jsou ilustrovány ve schématech uvedených níže. V těchto schématech poskytnutá syntéza je použitelná pro vytváření sloučenin obecného vzorce (I), které mají řadu různých skupin Z, R₁ a E', které reagují, za využití případných substituentů, které jsou vhodně chráněny, aby se dosáhlo slučitelnosti s reakcemi zde naznačenými. Následná deprotektace v těchto případech potom poskytne sloučeniny povahy obecně zveřejněné. Jakmile se vytvoří močovinové jádro, další sloučeniny těchto vzorců mohou být připraveny použitím standardních postupů pro interkonverzi funkčních skupin, které jsou v oboru dobře známy. Jakkoli jsou

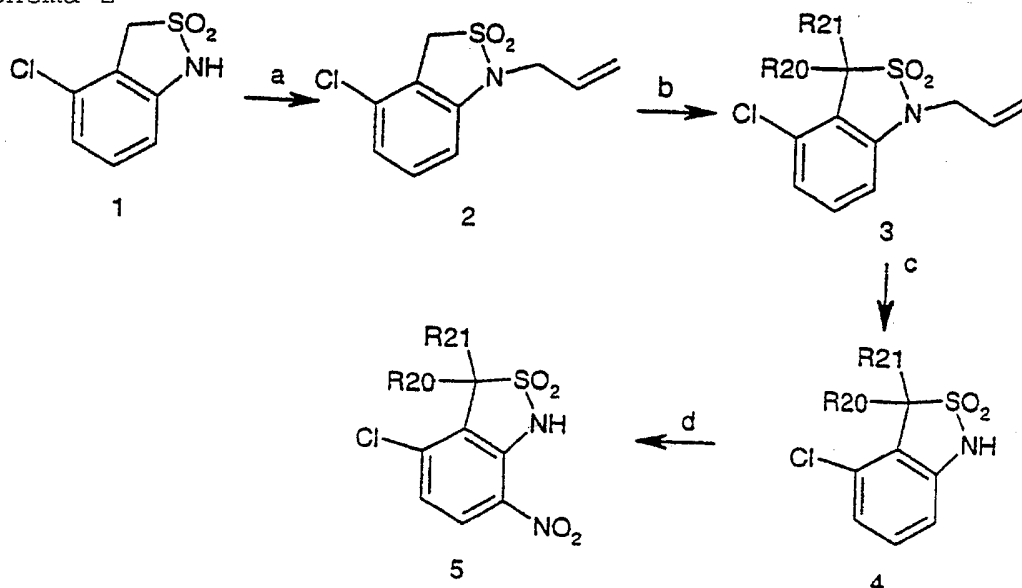
schémata ukázána s různými sloučeninami obecného vzorce (I), je tomu tak pouze pro ilustrační účely a neomezuje to rozsah dostupné syntézy při použití těchto postupů.

Schéma 1



Pokud požadovaná heterocyklická sloučenina 5 ze schématu 1 není komerčně dostupná, může být komerčně dostupný 2,6-dichlorbenzylbromid vystaven působení thiooctanu draselného, aby se vytvořil thioacetat 2 ze schématu 1, po čemž následuje oxidace za použití plynného chloru v $\text{AcOH/H}_2\text{O}$ nebo sulfurylchloridu a anhydridu kyseliny octové, aby se vytvořil sulfonylchlorid 3 ze schématu 1. Sulfonylchlorid může být převeden na odpovídající sulfonamid 4 ze schématu 1 použitím NH_4OH , po čemž následuje okyselení nebo použitím plynného amoniaku ve vhodném organickém rozpouštědle, jako je methylenchlorid. Cyklický sulfonamid 5 ze schématu 1 může být cyklizován za bázičských podmínek, jako je roztok uhličitanu draselného, za přítomnosti kovové mědi jako katalyzátoru, po čem následuje okyselení.

Schéma 2



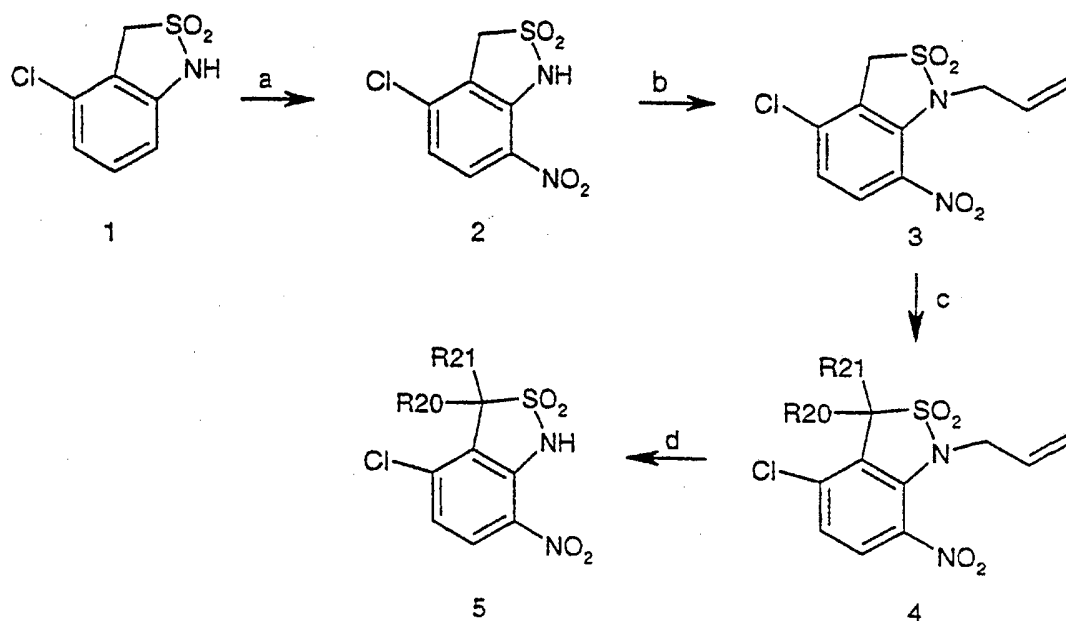
$R_{20} = H, H$ $R_{21} = Me, propyl$

a) NaH , allylbromid b) $Na[(CH_3)_3Si]_2N, MeI$ nebo $CH_3(CH_2)_2I$
 c) $NaBH_4, Pd(Ph_3)_4$ d) $NaNO_3, H_2SO_4/H_2O$ nebo $NH_4NO_3, TFAA$

Cyklický sulfonamid 4 ze schématu 2 se může připravit ochráněním dusíkaté sloučeniny 1 ze schématu 2, výhodně jako allylové sloučeniny za použití allylbromidu a báze, jako je hydrid sodný. Alkylací sloučeniny 2 ze schématu 2 pomocí požadovaného alkylhalogenidu za přítomnosti vhodné báze, jako je hexamethyldisilazan sodný, poskytne sloučeninu 3 ze schématu 2. Sloučenina 4 ze schématu 2 se může získat odstraněním allylové skupiny za vhodných podmínek, výhodně při použití palladiového katalyzátoru za přítomnosti redukčního činidla, jako je borohydrid sodný nebo tributylcínhydrid, nebo organické kyseliny, jako je kyselina 2-ethylhexanová. Nitrosloučenina 5 ze schématu 2 se může připravit ze sloučeniny 4 ze schématu 2 za použití standardních nitračních podmínek, jako je dusičnan sodný v kyselině sírové a vodě, dusičnan amonný a kyselina trifluoroctová nebo kyselina dusičná v anhydridu kyseliny octové.

Nenasycený cyklický sulfonamid 3 ze schématu 3 může být připraven ze sulfonamidu 2 ze schématu 3 alkylací pomocí požadovaného 2-substituovaného alkylhalogenidu a báze, jako je hexamethyldisilazan v příhodném organickém rozpouštědle, jako je THF, po čemž následuje kontaminantní eliminace. Nitrosloučenina 4 ze schématu 3 se může připravit ze sulfonamidu 3 ze schématu 3 zaprvé odstraněním allylové skupiny pomocí standardních podmínek, jako je palladiový katalyzátor za přítomnosti redukčního činidla, jako je borohydrid sodný nebo tributylcínhydrid, nebo organické kyseliny, jako je kyselina 2-ethylhexanová, a zadruhé inkorporací funkční nitroskupiny za standardních nitračních podmínek, jako je dusičnan sodný v kyselině sírové a vodě, dusičnan amonný a kyselina trifluoroctová nebo kyselina dusičná v anhydridu kyseliny octové.

Schéma 3



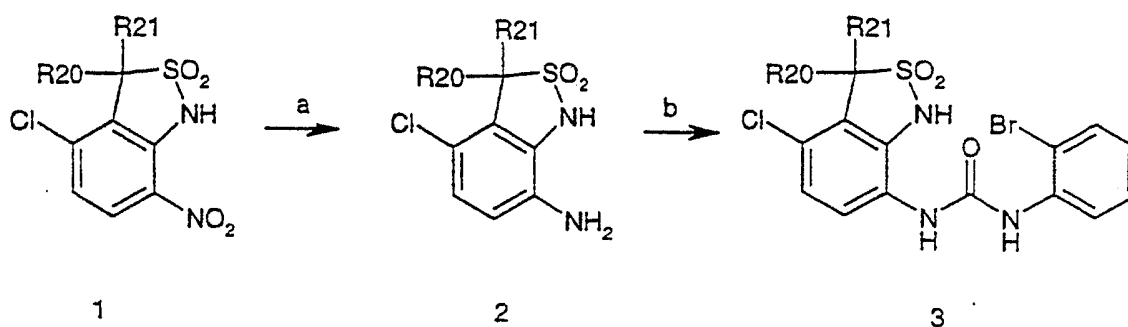
R₂₀=Me, H R₂₁= Me, F

a) NaNO₃, H₂SO₄/H₂O b) NaH, allylbromid

c) NaH, MeI nebo Li[(CH₃)₃Si]N, (PhSO₂)₂NF d) NaBH₄, Pd(Ph₃)₄

Alternativní postup pro vytvoření nitrosloučeniny 5 ze schématu 2 je ukázán ve schématu 3. Nitrosloučenina 2 ze schématu 3 se může připravit ze sloučeniny 1 ze schématu 3 za standardních nitračních podmínek, jako je dusičnan sodný v kyselině sírové a vodě, dusičnan amonný a kyselina trifluoroctová nebo kyselina dusičná v anhydridu kyseliny octové. Sloučenina 5 ze schématu 3 se může získat za použití stejné řady reakcí a za podmínek naznačených výše pro sloučeninu 5 ze schématu 2.

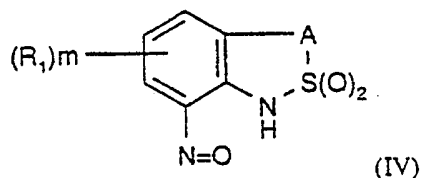
Schéma 4



a) SnCl₂, EtOH b) 2-BrPhNCO, DMF

Sloučenina 3 ze schématu 4 se může získat z nitrosloučeniny 1 ze schématu 4 za použití standardních redukčních podmínek, výhodně SnCl₂ v EtOH, aby se získal anilin 2 ze schématu 4. Heterocyklické fenylmočoviny substituované v poloze ortho 3 ze schématu 4 mohou být připraveny za standardních podmínek, jako je kondenzace požadovaného arylisokyanátu (komerčně dostupný) s odpovídajícím anilinem 2 ze schématu 4 v aprotickém rozpouštědle, jako je DMF při teplotě místnosti nebo při zahřívání.

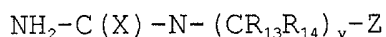
Dalším aspektem předloženého vynálezu je analogický způsob přípravy sloučenin obecného vzorce (I), který zahrnuje reakci sloučeniny obecného vzorce (IV):



ve kterém

A, R_1 a m mají význam definovaný pro obecný vzorec (I),

se sloučeninou obecného vzorce:



ve kterém

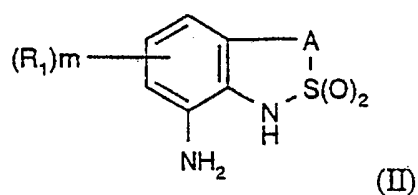
X, R_{13} , R_{14} , v a Z mají význam definovaný u obecného vzorce (I),

za získání sloučeniny obecného vzorce (I) a poté, pokud je to nezbytné, deprotekcí nebo konverzí prekursoru skupiny R_1 , A nebo Z na skupinu R_1 , A nebo Z.

Při tomto způsobu se požadovaný isokyanat, sloučenina obecného vzorce (IV), připraví kondenzací aminu 2 ze schématu 4 s trifosgenem za přítomnosti báze (jako je uhličitan draselný) nebo reakcí karboxylové kyseliny s difenylfosfoazidem za přítomnosti báze (jako je triethylamin).

Alternativním způsobem přípravy sloučenin obecného vzorce (I) je způsob, který zahrnuje

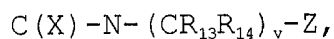
a) reakci sloučeniny obecného vzorce (II):



ve kterém

A, R₁ a m mají význam definovaný u obecného vzorce (I),

se sloučeninou obecného vzorce:

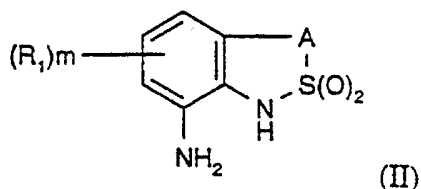


ve kterém

A, R₁, m, X, R₁₃, R₁₄, v a Z mají význam definovaný u obecného vzorce (I),

za získání sloučeniny obecného vzorce (I) a poté, pokud je to nezbytné, deprotekcí nebo konverzí prekursoru skupiny R₁, A nebo Z na skupinu R₁, A nebo Z.

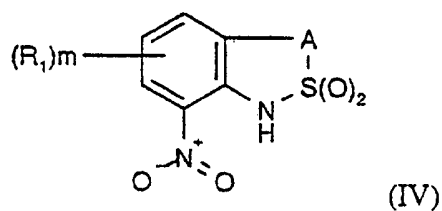
Dalším aspektem předloženého vynálezu je způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce (II):



ve kterém

R₁, m a A mají význam definovaný u obecného vzorce (I),

redukci sloučeniny obecného vzorce (IV):

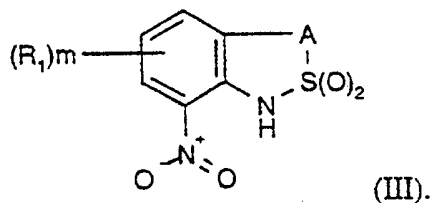


ve kterém

R_1 , m a A mají význam definovaný u obecného vzorce (I),

za vhodných podmínek, k získání sloučeniny obecného vzorce (II).

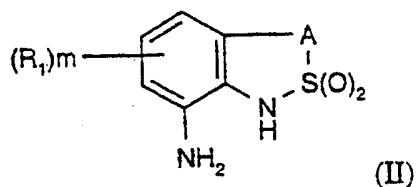
Dalším aspektem předloženého vynálezu jsou nové sloučeniny obecného vzorce (III), které jsou představovány strukturou:



ve které

R_1 , m a A mají význam definovaný u obecného vzorce (I).

Dalším aspektem předloženého vynálezu jsou nové sloučeniny obecného vzorce (II), které jsou představovány strukturou:



ve které

R_1 , m a A mají význam definovaný u obecného vzorce (I).

Příklady provedení vynálezu

Příklady syntézy

Vynález bude nyní popsán prostřednictvím odkazu na následující příklady, které jsou pouze ilustrativní a nemají být vykládány jako omezení rozsahu předloženého vynálezu. Veškeré teploty jsou uvedeny ve stupních celsia, veškerá rozpouštědla jsou o nejvyšší dosažitelné čistotě a veškeré reakce probíhají za bezvodých podmínek v atmosféře argonu, pokud není uvedeno jinak.

V příkladech jsou veškeré teploty uvedeny ve stupních celsia ($^{\circ}\text{C}$). Hmotnostní spektra se získala na hmotnostním spektrometru VG Zab za použití bombardování rychlými atomy, pokud není uvedeno jinak. ^1H -NMR (dále jen "NMR") spektra se získala při 250 MHz za použití spektrometru Bruker AM 250 nebo Am 400. Označené multiplicity jsou: s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplot a br označuje široký signál. Nas. označuje nasycený roztok, ekv. označuje poměr molárního ekvivalentu činidla ve vztahu k základnímu reaktantu.

Příklad 1

Příprava N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methyl-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-[2-bromfenyl]močoviny

a) Příprava 2,6-dichlorbenzylthioacetatu

K roztoku 2,6-dichlorbenzylbromidu (30 gramů (dále jen "g"), 125,5 milimolů (dále jen "mmol")) v DMF (30 mililitrů (dále jen "ml")) se přidá thioacetat draselný (15,65 g, 138 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti asi 1 hodinu. Potom se rozdělí mezi ethylacetat a vodu. Spojené organické fáze se vysuší a odpaří, aby se získal požadovaný produkt (29,3 g, 99 %). EI-MS m/z 241 (M^+).

b) Příprava 2,6-dichlorbenzylsulfonylchloridu

2,6-Dichlorbenzylthioacetat (29 g, 121 mmol) a octan sodný (68 g) se rozpustí ve směsi ledové kyseliny octové (64,6 ml) a vody (141 ml). Do roztoku se probublává asi 10 min plynný chlor. Směs se odpaří a odparek se extrahuje ethylacetatem. Spojené organické fáze se vysuší a odpaří, aby se získal požadovaný produkt (27 g, 86 %). EI-MS m/z 260,5 (M^+).

c) Příprava 2,6-dichlorbenzylsulfonamidu

2,6-Dichlorbenzylsulfonylchlorid (27 g, 103,6 mmol) v hydroxidu amonném (270 ml) se míchá při teplotě místnosti asi 3 hodiny. Po okyselení chlazenou koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou se sraženina oddělí a odfiltruje, aby se získal požadovaný produkt (16 g, 64 %). EI-MS m/z 239 (M^+).

d) Příprava 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-2,1-benz-isothiazolu

2,6-Dichlorbenzylsulfonamid (8 g, 33,47 mmol) se přidá k roztoku uhličitanu draselného (4,62 g, 33,47 mmol) s práškovou mědí (560 milligramů (dále jen "mg"))

a N,N-dimethylanilinu (10 ml) v baňce s kulatým dnem. Reakční směs se míchá při 170 °C asi 4 hodiny. Potom se ochladí na teplotu místnosti a rozdělí se mezi ethylacetat a 10% vodnou HCl. Spojené organické fáze se vysuší a odpaří. Chromatografií odparku na silikagelu (30 % ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (4 g, 59 %). EI-MS m/z 204,5 (M⁺).

e) Příprava 1-allyl-3-hydro-2,2-dioxo-4-chlor-2,1-benzisothiazolu

K roztoku 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-2,1-benzisothiazolu (3,18 g, 15,63 mmol) v DMF (15 ml), se přidá hydrid sodný (60%, 625 mg, 15,63 mmol) a allylbromid (1,6 ml, 17,2 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti asi 16 hodin. Potom se rozdělí mezi ethylacetat a 10% vodnou HCl. Spojené organické fáze se vysuší a odpaří. Chromatografií odparku na silikagelu (20% ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (3 g, 79 %). EI-MS m/z 244,5 (M⁺).

f) Příprava 1-allyl-3-hydro-2,2-dioxo-3-methyl-4-chlor-2,1-benzisothiazolu

K roztoku 1-allyl-3-hydro-2,2-dioxo-4-chlor-2,1-benzisothiazolu (456 mg, 1,87 mmol) v THF (10 ml) při -78 °C se přidá bis(trimethylsilyl)amid sodný (1,0 M v THF, 1,87 ml, 1,87 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti asi 30 min. Potom se znovu ochladí na -78 °C a přidá se methyljodid (0,14 ml, 2,25 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti 1 hodinu. Potom se rozdělí mezi ethylacetat a 10% HCl. Spojené organické fáze se vysuší a odpaří. Chromatografií odparku na silikagelu (10% ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (330 g, 68

%). EI-MS m/z 258,5 (M^+).

g) Příprava 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-3-methyl-
-2,1-benzisothiazolu

K roztoku 1-allyl-3-hydro-2,2-dioxo-4-chlor-3-methyl-2,1-benzisothiazolu (330 mg, 1,27 mmol) v THF (10 ml) se přidá borohydrid sodný (104,6 mg, 2,54 mmol) a tetrakis(trifenylfosfin)palladium(0) (59 mg, 0,05 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti asi 16 hodin. Potom se rozdělí mezi ethylacetat a 10% vodnou HCl. Spojené organické fáze se vysuší a odpaří. Chromatografií odparku na silikagelu (50% ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (200 g, 72 %). EI-MS m/z 218,5 (M^+).

h) Příprava 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-7-nitro-3-methyl-2,1-benzisothiazolu

1,3-Dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-3-methyl-2,1-benzisothiazol (200 mg, 0,92 mmol) se rozpustí v methylenchloridu (30 ml), po čemž následuje přidání dusičnanu sodného (86 mg, 1,01 mmol). Poté se přidá kyselina sírová (0,18 ml/3M), následuje přidání katalytického množství dusitanu sodného. Směs se nechá míchat. Po asi 24 hodinách se reakční směs naředí methylenchloridem a extrahuje se vodou. Organická vrstva se vysuší $MgSO_4$ a zfiltruje. Rozpouštědlo se odpaří a chromatografií výsledné tuhé látky na silikagelu (50% ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (50 mg, 2,1 %). EI-MS m/z 263,5 (M^+).

i) Příprava 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-3-methyl-
-7-amino-2,1-benzisothiazolu

K roztoku 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-3-

-methyl-7-nitro-2,1-benzisothiazolu (50 mg, 0,19 mmol) v ethanolu (5 ml) se přidá chlorid cínatý (214 mg, 0,95 mmol). Reakční směs se asi 4 hodiny míchá při zpětném toku. Potom se ochladí na teplotu místnosti. K reakční směsi se přidává vodný roztok NaHCO_3 dokud není hodnota $\text{pH} = 7$. Potom se roztok extrahuje ethylacetatem (3x). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO_4 , zfiltrují a odpaří za sníženého tlaku, aby se získal požadovaný produkt (32 mg, 72 %). EI-MS m/z 233,5 (M^+).

j) Příprava N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methyl-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-[2-bromfenyl]močoviny

K roztoku 2-bromfenylisokyanátu (26 mg, 0,13 mmol) v DMF (1,0 ml) se přidá 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-7-amino-2,1-benzisothiazol (32 mg, 0,13 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti asi 16 hodin. Chromatografií výsledné kapaliny na silikagelu (50% ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (30 mg, 50 %). EI-MS m/z 430 (M^+).

Příklad 2

Příprava N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-propyl-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-[2-bromfenyl]močovina

a) Příprava 1-allyl-3-hydro-2,2-dioxo-3-propyl-4-chlor-2,1-benzisothiazolu

Podle postupu z příkladu (1f) s tím rozdílem, že místo methyljodidu se použije propyljodid, se připraví sloučenina pojmenovaná v záhlaví se 43% výtěžkem. EI-MS m/z 286,5 (M^+).

b) Příprava 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-3-propyl-
-2,1-benzisothiazolu

Podle postupu z příkladu (1 g), se připraví
sloučenina pojmenovaná v záhlaví se 76% výtěžkem. EI-MS
m/z 244,1 (M^+).

c) Příprava 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-3-propyl-
-7-nitro-2,1-benzisothiazolu

1,3-Dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-3-propyl-2,1-benz-
isothiazol (131 mg, 0,54 mmol) se rozpustí v chlorformu
(30 ml), po čemž následuje přidání dusičnanu amonného
(44 mg, 0,54 mmol) a anhydridu kyseliny trifluoroctové
(397 mg, 214,4 mmol). Směs se nechá míchat. Po 24 hodinách
se reakční směs naředí chlorformem a extrahuje vodou.
Organická vrstva se vysuší $MgSO_4$ a zfiltruje. Rozpouštědlo
se odpaří a chromatografií výsledné tuhé látky na
silikagelu (50% ethylacetat/hexan) se získá požadovaný
produkt (28 mg, 20 %). EIMS m/z 289,1 (M^+).

d) Příprava 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-3-propyl-
-7-amino-2,1-benzisothiazolu

Podle postupu z příkladu (1i) se připraví
sloučenina pojmenovaná v záhlaví s 92% výtěžkem. EI-MS m/z
261,1 (M^+).

e) Příprava N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-propyl-4-chlor-
-2,1-benzisothiazol)-7-yl]-N'-[2-bromfenyl]močoviny

Podle postupu z příkladu (1j) se připraví
sloučenina pojmenovaná v záhlaví se 49% výtěžkem. EI-MS

m/z 456,1, 458,2 (M^+).

Příklad 3

Příprava N-[(1-hydro-2,2-dioxo-3,3-dimethyl-4-chlor-2,1-benzisothiazol)-7-yl]-N'-[2-bromfenyl]močoviny

a) Příprava 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-7-nitro-2,1-benzisothiazolu

1,3-Dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-2,1-benzisothiazol (1,5 mg, 0,92 mmol) se rozpustí v methylenchloridu (30 ml), po čemž následuje přidání dusičnanu sodného (86 mg, 1,01 mmol). Potom se přidá kyselina sírová (0,18 ml/3M), po čemž následuje přidání katalytického množství dusitanu sodného. Směs se nechá míchat. Po asi 24 hodinách se reakční směs naředí methylenchloridem a extrahuje se vodou. Organická vrstva se vysuší $MgSO_4$ a zfiltruje. Rozpouštědlo se odpaří a chromatografií výsledné tuhé látky na silikagelu (50% ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (50 mg, 21 %). EI-MS m/z 263,5 (M^+).

b) Příprava 1-allyl-2,2-dioxo-3,3-dihydro-4-chlor-7-nitro-2,1-benzisothiazolu

K roztoku 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-2,1-benzisothiazolu (1,1 g, 4,43 mmol) v DMF (20 ml) se přidá hydrid sodný (60%, 178 mg, 4,43 mmol) a allylbromid (0,42 ml, 4,87 mmol). Reakční směs se míchá při 60 °C asi 3 hodiny, potom se chladí na teplotu místnosti asi 16 hodin. Reakční směs se rozdělí mezi ethylacetat a 10 % HCl. Spojené organické fáze se vysuší a odpaří. Chromatografií odparku na silikagelu (20% ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (800 mg, 65 %). EI-MS m/z 289,1 (M^+).

c) Příprava 1-allyl-2,2-dioxo-3,3-dimethyl-4-chlor-
-7-nitro-2,1-benzisothiazolu

K roztoku 1-allyl-2,2-dioxo-3,3-dihydro-4-chlor-
-7-nitro-2,1-benzisothiazolu (100 mg, 0,35 mmol) v DMF (5
ml) se přidá hydrid sodný (60%, 28 mg, 0,7 mmol). Po asi
30 minutách míchání při teplotě místnosti se přidá
jodmethan (99,4 mg, 0,7 mmol). Potom se reakční směs míchá
při 70 °C 2 hodiny. Reakční směs se rozdělí mezi
ethylacetat a 10 % HCl. Spojené organické fáze se vysuší a
odpaří. Chromatografií odparku na silikagelu (10%
ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (87 mg, 80
%). EI-MS m/z 317,2 (M^+).

d) Příprava 1-hydro-2,2-dioxo-3,3-dimethyl-4-chlor-
-7-nitro-2,1-benzisothiazolu

Podle postupu z příkladu (1g) se připraví
sloučenina pojmenovaná v záhlaví se 45% výtěžkem. EI-MS
m/z 277,2 (M^+).

e) Příprava 1-hydro-2,2-dioxo-3,3-dimethyl-4-chlor-
-7-amino-2,1-benzisothiazolu

Podle postupu z příkladu (1i) se připraví
sloučenina pojmenovaná v záhlaví s 98% výtěžkem. EI-MS m/z
247,1 (M^+).

f) Příprava N-[(1-hydro-2,2-dioxo-3,3-dimethyl-4-chlor-
-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-[2-bromfenyl]močoviny

Podle postupu z příkladu (1j) se připraví
sloučenina pojmenovaná v záhlaví s 52% výtěžkem. EI-MS m/z

443,1, 445,2 (M^+).

Příklad 4

Příprava N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-fluor-4-chlor-2,1-benzisothiazol)-7-yl]-N'-[2-bromfenyl]močoviny

a) Příprava 1-allyl-3,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-7-nitro-2,1-benzisothiazolu

K roztoku 1-allyl-2,2-dioxo-3,3-dihydro-4-chlor-7-nitro-2,1-benzisothiazolu (358 mg, 1,24 mmol) v THF (15 ml) při $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ se přidá lithium bis(trimethylsilyl)amid (1,0M v THF, 1,49 ml, 1,49 mmol). Reakční směs se míchá při $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ asi 1 hodinu, potom se přidá N-fluorbenzen-sulfonimid (547 mg, 2,25 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti asi 1 hodinu. Potom se rozdělí mezi ethylacetat a 10% HCl. Spojené organické fáze se vysuší a odpaří. Chromatografií odparku na silikagelu (10% ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (200 mg, 53 %). EI-MS m/z 307,1 (M^+).

b) Podle postupu z příkladu (1g) s tím rozdílem, že místo 1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methyl-4-chlor-2,1-benzisothiazolu se použije 1-hydro-2,2-dioxo-3-hydro-3-fluor-4-chlor-7-nitro-2,1-benzisothiazol se připraví sloučenina pojmenovaná v záhlaví se 62% výtěžkem. EI-MS m/z 267,1 (M^+).

c) Příprava 1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-fluor-4-chlor-3-methyl-7-amino-2,1-benzisothiazolu

Roztok 1,3-dihydro-2,2-dioxo-4-chlor-3-fluor-

-7-nitro-2,1-benzisothiazolu (100 mg, 0,4 mmol) v ethanolu (10 ml) se přidá chlorid cínatý (443 mg, 2,0 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti asi 16 hodin. Potom se všechno rozpouštědlo odpaří. Chromatografií odparku na silikagelu (50% ethylacetat/hexan) se získá požadovaný produkt (43 mg, 47 %). EI-MS m/z 237,2 (M^+).

d) Příprava N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-fluor-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-(2-bromfenyl)]močoviny

K roztoku 2-bromfenylisokyanátu (25 mg, 0,13 mmol) v DMF (1,0 ml) se přidá 1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-fluor-4-chlor-7-amino-2,1-benzisothiazol (30 mg, 0,13 mmol). Reakční směs se asi 16 hodin míchá při teplotě místnosti. Produkt se vyčistí srážením z methylenchloridu a hexanu a filtrací (17 mg, 31 %). EI-MS m/z 434,1, 436,1 (M^+).

Použitím analogických postupů těm, které byly označeny výše se připraví následující sloučeniny:

Příklad 5

N-[(1,3-Dihydro-2,2-dioxo-3-methylamid-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-(2-bromfenyl)]močovina, MS(EI) m/e 473,2 ($m-H^+$).

Příklad 6

N-[(1,3-Dihydro-2,2-dioxo-3-methyl-3-methylamid-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-(2-bromfenyl)]močovina, MS(EI) m/e 473,2 ($m-H^+$).

Příklad 7

N-[(1,3-Dihydro-2,2-dioxo-3-methylen-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-(2-bromfenyl)močovina, MS(EI) m/e 472,2 (m-H⁻).

Příklad 8

N-[(1,3-Dihydro-2,2-dioxo-3-(benzothiazol-2-yl)-4-chlor-2,1-benzisothiazol-7-yl)-N'-(2-bromfenyl)močovina, t.t. 145 - 152 °C.

Způsob léčení

Sloučeniny obecného vzorce (I) nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli mohou být použity pro přípravu léčiva k profylaktickému nebo terapeutickému ovlivňování jakéhokoli chorobného stavu u člověka nebo jiného savce, která se exacerbuje nebo je zapříčiněna nadměrnou nebo neregulovanou tvorbou cytokinu IL-8 buňkami takového savce, jako jsou monocyty a/nebo makrofágy, čímž výčet není omezen, nebo jiné chemokiny, které se váží na receptor IL-8 α nebo IL-8 β , jež jsou také označovány jako receptor typu I nebo typu II.

Předložený vynález tudíž poskytuje způsob léčení choroby zprostředkované chemokinem, kde chemokinem je některý z těch, který se váže receptor IL-8 α nebo IL-8 β , a kterýžto způsob zahrnuje podávání účinného množství sloučeniny obecného vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelné soli. Obzvláště jsou chemokiny IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 nebo ENA-78.

Sloučeniny obecného vzorce (I) se podávají v

množství dostatečném k inhibici funkce cytokinu, obzvláště IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 nebo ENA-78, tak, aby byly downregulovány na normální úroveň fyziologických funkcí nebo v některých případech na podnormální úroveň, tak, aby se zlepšil chorobný stav. Abnormální úroveň IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 nebo ENA-78 například v kontextu předloženého vynálezu představují: (i) hladiny volného IL-8 větší nebo rovny 1 pikogramu na ml, (ii) s jakoukoli buňkou spojený IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 nebo ENA-78 nad normálními fyziologickými hladinami nebo (iii) přítomnost IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 nebo ENA-78 v buňkách nebo tkáních, ve kterých se IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 respektive ENA-78 vytvářejí, nad základními hladinami.

Existuje mnoho chorobných stavů, jejichž exacerbace a/nebo zapříčinění se účastní nadměrná nebo neregulovaná tvorba IL-8. Chemokinem zprostředkované nemoci zahrnují psoriasis, atopickou dermatitidu, artritidu, asthma, chronickou obstrukční pulmonární chorobu, syndrom dechové tísně dospělých, chorobu zánětlivého střeva, Crohnovu chorobu, ulcerativní kolitidu, mrtvici, septický šok, endotoxický šok, gram-negativní sepsi, syndrom toxického šoku, poškození po reperfuzi srdce a ledvin, glomerulonefritidu, trombózu, reakci hostitele proti štěpu, Alzheimerovu chorobu, odmítnutí štěpu, malarii, restinosu, angiogenesu nebo nežádoucí uvolňování krvetvorných kmenových buněk, rhinovirové infekce a různé indikace resorpce kosti, jako je osteoporóza nebo osteoartritida.

Spojení interleukinu-8 a rhinoviru se dá najít v člancích jako je: Turner a kol., Clin. Infect. Dis.,

26(4), 840-846 (1998), Sanders a kol., J. Virol., 72(2), 934-942 (1998), Sethi a kol., Clin. Exp. Immunol., 110(3), 362-369 (1997), Zhu a kol., Am. J. Physiol., 273(4, Pt.1), L814-L824 (1997), Terajima a kol., Am. J. Physiol., 273(4, Pt. 1), L749-L759 (1997), Grunberg a kol., Clin. Exp. Allergy, 27(1), 36-45 (1997), a Johnston a kol., J. Infect. Dis., 175(2), 323-329 (1997).

Spojení interleukinu-8 a osteoporózy lze nalézt v člancích jako je: Streckfus a kol., J. Gerontol., Ser. A, 52A(6), M343-M351 (1997), Hermann, T. WO 95/31722 a Chaudhary a kol., Endocrinology (Baltimore), 130(5), 2528-2534 (1992).

Tyto choroby jsou primárně charakterizovány masivní infiltrací neutrofilů, infiltrací T-buňkami nebo neovaskulárním růstem a jsou spojeny s tvorbou IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 nebo FNA-78, která je odpovědná za chemotaxi neutrofilů na místo zánětu nebo za směrový růst endotheliálních buněk. Na rozdíl od jiných cytokinů zánětu (IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ nebo NAP-2) má jedinečnou vlastnost v tom, že usnadňuje chemotaxi neutrofilů, uvolňování enzymů včetně uvolňování elastasy, čímž však výčet není omezen, stejně jako tvorbu a aktivaci peroxidu. α -Chemokiny, ale obzvláště GRO α , GRO β , GRO γ nebo NAP-2, které fungují prostřednictvím receptoru IL-8 typ I nebo II, mohou usnadňovat neovaskulizaci nádorů usnadněním směrového růstu endotheliálních buněk. Inhibice chemotaxe nebo aktivace indukované IL-8 by tedy mohla vést k přímé redukci infiltrace neutrofilů.

Ze současných důkazů také vyplývá role chemokinů při léčení infekcí HIV, Littleman a kol., Nature, 381, 661

(1996) a Koup a kol., Nature, 381, 667 (1996).

Předložený vynález také poskytuje způsoby léčení, v akutních situacích, stejně jako prevence, těch jedinců, u nichž se má za to, že jsou citliví na poranění CNS pomocí sloučenin obecného vzorce (I), které jsou antagonisty chemokinového receptoru.

Poranění CNS jak jsou zde definována zahrnují jak otevřené nebo penetrační poranění hlavy, jako je operace, tak uzavřené poranění hlavy, jaké nastane poraněním oblasti hlavy. Do této definice také spadá ischemická mrtvice, obzvláště v oblasti mozku.

Ischemická mrtvice může být definována jako fokální neurologická porucha, která vyplývá z nedostatečného krevního zásobení určité části mozku, obvykle jako důsledek embolu, trombu nebo lokálního ateromatózního uzavěru cévy. Role cytokinů zánětu v tomto ději vystupuje do popředí a předložený vynález poskytuje prostředek pro potenciální léčení těchto poškození. Pro akutní poškození jako jsou tato je dostupno relativně málo způsobů léčby.

TNF- α je cytokin s prozánětlivými účinky, včetně exprimace molekul endotheliální adheze leukocytů. Leukocyty infiltrují ischemické mozkové léze a sloučeniny, které inhibují nebo snižují hladiny TNF by tedy mohly být užitečné pro léčení ischemického poškození mozku. Viz Liu a kol., Stoke, 25, (7), 1481-1488 (1994), kteréžto zveřejnění je zde zahrnuto formou odkazu.

Modely uzavřených poranění hlavy a léčení pomocí směsi látek 5-LO/CO je diskutováno v Shohami a kol., J. of Vaisc & Clinical Physiology and Pharmacology, 3, (2),

99-107 (1992), kteréžto zveřejnění je zde zahrnuto formou odkazu. Bylo zjištěno, že léčení, které vede ke snížení tvorby edému zlepšuje funkční výkon u léčených zvířat.

Současné důkazy také ukazují na použití inhibitorů IL-8 při léčení atherosklerózy. První odkaz, Boisvert a kol., J. Clin. Invest., 101, 353-363 (1998), ukazuje, na transplantaci kostní dřeně, že absence receptorů IL-8 v kmenových buňkách (a tedy v monocytech a makrofázích) vede k redukci vývoje atherosklerotických plátů u myši s deficitem receptorů LDL. Dalšími podpůrnými odkazy jsou Apostolopoulos a kol., Arterioscler Thromb Vasc. Biol., 16, 1007-1012 (1996), Liu a kol., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 17, 317-323 (1997), Rus a kol., Atherosclerosis, 127, 263-271 (1996), Wang a kol., J. Biol. Chem., 271, 8837-8842 (1996), Yue a kol., Eur. J. Pharmacol., 240, 81-84 (1993), Koch a kol., Am. J. Pathol., 142, 1423-1431 (1993), Lee a kol., Immunol. Lett., 53, 109-113 (1996) a Terkeltaub a kol., Arterioscler. Thromb., 14, 47-53 (1994).

Sloučeniny obecného vzorce (I) se podávají v množství dostatečném k tomu, aby inhibovaly vazbu IL-8 na receptory IL-8 α nebo IL-8 β , přičemž se na ně váží, jak je dokládáno redukcí chemotaxe a aktivace neutrofilů. Zjištění, že sloučeniny obecného vzorce (I) jsou inhibitory vazby IL-8 je založeno na účincích sloučenin obecného vzorce (I) v in vitro vazebných receptorových studiích, které jsou zde popsány. Sloučeniny obecného vzorce (I) byly ukázány jako inhibitory IL-8 receptorů typu II.

Jak je zde používáno, pojem "choroba nebo chorobný stav zprostředkovaný IL-8" odkazuje na jakýkoli a

každý chorobný stav, ve kterém hraje roli IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 nebo ENA-78, buď tvorbou IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 nebo ENA-78 samotných nebo tím, že IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 nebo ENA-78 způsobují uvolňování jiného monokinu, jako je IL-1, IL-6 nebo TNF, tím však výčet není omezen.

Chorobný stav, ve kterém například je IL-1 hlavní složkou a jehož tvorba nebo působení je exacerbováno nebo uvolňováno jako odpověď na IL-8, by tedy měl být považován za chorobný stav zprostředkovaný IL-8.

Jak je zde používáno, pojem "choroba nebo chorobný stav zprostředkovaný chemokinem" odkazuje na jakýkoli a každý chorobný stav, ve kterém hraje roli chemokin, který se váže na receptor IL-8 α nebo IL-8 β , jako je IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 nebo ENA-78, tím však výčet není omezen. To by zahrnovalo chorobný stav, při kterém hraje roli IL-8, buď tvorbou IL-8 samotného nebo tím, že IL-8 způsobuje uvolňování jiného monokinu, jako je IL-1, IL-6 nebo TNF, tím však výčet není omezen. Chorobný stav, ve kterém například je IL-1 hlavní složkou a jehož tvorba nebo působení je exacerbováno nebo uvolňováno jako odpověď na IL-8, by tedy měl být považován za chorobný stav zprostředkovaný IL-8.

Jak je zde používáno, pojem "cytokin" odkazuje na jakýkoli secernovaný polypeptid, který ovlivňuje funkce buněk a je molekulou, která moduluje interakce mezi buňkami při imunitní, zánětlivé nebo krvetvorné odpovědi. Cytokin zahrnuje monokiny a lymfokiny, bez ohledu na buňky, které je tvoří, tím však výčet není omezen. Například monokin je obecně označován jako tvořený a

secernovaný mononukleární buňkou, jako je makrofág a/nebo monocyt. Mnoho jiných buněk však také tvoří monokiny, jako jsou přirození zabijáci, fibroblasty, bazofily, neutrofilny, endotheliální buňky, mozkové astrocyty, stromatické buňky kostní dřeně, epidermální keratinocyty a B-lymfocyty. U lymfokinů se obecně odkazuje na to, že jsou vytvářeny lymfocytárními buňkami. Příklady cytokinů zahrnují interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) a Tumor Necrosis Factor- β (TNF- β).

Jak je zde používáno, pojem "chemokin" odkazuje na jakýkoli secernovaný polypeptid, který ovlivňuje funkce buněk a je molekulou, která moduluje interakce mezi buňkami při imunitní, zánětlivé nebo krvetvorné odpovědi, podobně jako u pojmu "cytokin" uvedeného výše. Chemokin je primárně secernován skrz buněčné transmembrány a způsobuje chemotaxi a aktivaci specifických bílých krvinek a leukocytů, neutrofilů, monocytů, makrofágů, T-buněk, B-buněk, endotheliálních buněk a buněk hladkého svalstva. Příklady chemokinů zahrnují IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2, ENA-78, IP-10, MIP-1 α , MIP- β , PF4 a MCP 1, 2 a 3, čímž však výčet není omezen.

Aby bylo možno použít sloučeninu obecného vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl, bude obvykle formulována do farmaceutického přípravku v souladu se standardní farmaceutickou praxí. Tento vynález se tedy také týká farmaceutických přípravků zahrnujících účinné, netoxické množství sloučeniny obecného vzorce (I) a farmaceuticky přijatelný nosič nebo ředidlo.

Sloučeniny obecného vzorce (I), jejich

farmaceuticky přijatelné soli a farmaceutické přípravky je obsahující mohou být příhodně podávány jakoukoli cestou konvenčně používanou pro podávání léčiv, například orálně, topicky, parenterálně nebo inhalačně. Sloučeniny obecného vzorce (I) mohou být podávány v konvenčních dávkových formách připravených smícháním sloučeniny obecného vzorce (I) se standardními farmaceutickými nosiči v souladu s konvenčními postupy. Sloučeniny obecného vzorce (I) mohou také být podávány v konvenčních dávkách v kombinaci se známou, druhou terapeuticky aktivní sloučeninou. Tyto postupy mohou zahrnovat míchání, granulaci a lisování nebo rozpouštění složek jak je příhodné pro požadovaný přípravek. Přejde se na to, že forma a charakter farmaceuticky přijatelného nosiče nebo ředidla je diktován množstvím aktivní složky, s níž má být smíchán, cestou podání a jinými dobře známými proměnnými. Nosič (nosiče) musí být "přijatelné" v tom smyslu, že musí být kompatibilní s jinými složkami přípravku a nesmí být pro jeho (jejich) příjemce škodlivé.

Použitý farmaceutický nosič může být například buď tuhý nebo kapalný. Příklady tuhých nosičů jsou laktóza, bílá hlína, sacharóza, mastek, želatina, agar, pektin, arabská guma, stearat hořečnatý, kyselina stearová apod. Příklady kapalných nosičů jsou sirup, olej z podzemnice olejné, olivový olej, voda apod. Podobně může nosič nebo ředidlo zahrnovat zpožděvací uvolňování dobře v oboru známé, jako je glycerylmonostearat nebo glyceryldistearat samotné nebo s voskem.

Může být použita široká škála farmaceutikých forem. Pokud je tedy použit tuhý nosič, může být přípravek tabletován, umístěn do tuhé želatinové kapsle v práškové nebo peletované formě nebo ve formě pastilky nebo

pokroutky. Množství tuhého nosiče bude široce kolísat, ale výhodně bude od asi 25 mg do asi 1 g. Pokud se použije kapalného nosiče, bude přípravek ve formě sirupu, emulze, měkké želatinové kapsle, sterilní injikovatelné kapaliny, jako je ampule nebo nevodná kapalná suspenze.

Sloučeniny obecného vzorce (I) mohou být podávány topicky, to jest nesystémovým podáním. to zahrnuje aplikaci sloučeniny obecného vzorce (I) externě na epidermis nebo do bukalní prohlubně a instilaci takové sloučeniny do ucha, oka a nosu, tak, aby sloučenina nevstoupila významně do krevního oběhu. Naproti tomu systémové podání odkazuje na orální, intravenózní, intraperitoneální a intramuskulární podání.

Formulace vhodné pro topické podání zahrnují kapalně nebo polokapalně přípravky vhodné pro penetraci kůže do místa zánětu, jako jsou linimenta, locia, krémy, mazání nebo pasty a kapky vhodné pro podání do oka, ucha nebo nosu. Aktivní složka může pro topické podání zahrnovat od 0,001 do 10 % hmotnostních, například od 1 do 2 % hmotnostních přípravku. Může však zahrnovat až 10 % hmotnostních, ale výhodně bude zahrnovat méně než 5 % hmotnostních, výhodněji od 0,1 do 1 % hmotnostního přípravku.

Locia podle předloženého vynálezu zahrnují ta, která jsou vhodná pro aplikaci na kůži nebo do oka. Oční locio může zahrnovat sterilní vodný roztok případně obsahující baktericidní látku a může být připraven postupy podobnými postupům pro přípravu očních kapek. Locia a linimenta pro aplikaci na kůži mohou také obsahovat činidlo, které bude urychlovat vysoušení a ochlazovat kůži, jako jsou alkohol nebo aceton, a/nebo zvlhčovač,

jako je glycerol, nebo olej, jako je ricinový olej nebo arašidový olej.

Krémy, mazání nebo pasty podle předloženého vynálezu jsou polotuhé formulace aktivní složky pro externí aplikaci. Mohou být vytvořeny mícháním aktivní složky v jemně drcené nebo práškové formě samotné nebo v roztoku nebo suspenzi ve vodné nebo nevodné kapalině, s pomocí vhodného vybavení, s mastným nebo nemastným základem. Základ může zahrnovat uhlovodíky, jako je tuhý, měkký nebo kapalný parafin, glycerol, včelí vosk, kovové mýdlo, sliz, olej přírodního původu, jako je mandlový, kukuřičný, arašidový, ricinový nebo olivový olej, vosk z ovčí vlny nebo jeho deriváty nebo mastné kyseliny, jako je kyselina stearová nebo olejová, spolu s alkoholem, jako je propylenglykol nebo makrogol. Formulace může zahrnovat jakoukoli vhodnou povrchově aktivní látku, jako je anionický, kationický nebo neionický surfaktant, jako je ester sorbitanu nebo jeho polyoxyethylenový derivát. Mohou být také zahrnuta suspenzační činidla, jako jsou přírodní gumy, deriváty celulózy nebo anorganické materiály, jako jsou křemičité křemičitany, a jiné složky, jako je lanolin.

Kapky podle předloženého vynálezu mohou zahrnovat sterilní vodné nebo olejové roztoky nebo suspenze a mohou být připraveny rozpouštěním aktivní složky ve vhodném vodném roztoku baktericidní a/nebo fungicidní látky a/nebo jakéhokoli jiného vhodného konzervancia, a výhodně obsahují povrchově aktivní látku. Výsledný roztok potom může být vyčištěn filtrací, přenesen do vhodné nádoby, která se potom uzavře a sterilizuje autoklávováním nebo tím, že se udržuje půl hodiny při teplotě 98 až 100 °C. Alternativně může roztok být

sterilizován filtrací a přenesen do nádoby antiseptickým postupem. Příklady baktericidních a fungicidních látek vhodných pro zahrnutí do kapek jsou dusična fenylrtuťnatý nebo octan fenylrtuťnatý (0,002 %), benzalkoniumchlorid (0,01 %) a chlorhexidinacetat (0,01 %). Vhodná rozpouštědla pro přípravu olejových roztoků zahrnují glycerol, ředěný alkohol a propylenglykol.

Sloučeniny obecného vzorce (I) mohou být podávány parenterálně, to jest podáním intravenózním, intramuskulárním, subkutánním, intranasálním, intra-
rektálním, intravaginálním nebo intraperitoneálním. Subkutánní a intramuskulární formy parenterálního podání jsou obecně výhodnější. Příhodné dávkové formy pro takové podání mohou být připraveny konvenčními postupy. Sloučeniny obecného vzorce (I) mohou také být podávány inhalcí, to jest podáním intranasálním a orální inhalací. Příhodné dávkové formy pro takové podání, jako je aerosolový přípravek nebo inhalátor s odměřenými dávkami, mohou být připraveny konvenčními postupy.

Pro všechny způsoby použití zde zveřejněné pro sloučeniny obecného vzorce (I) bude denní orální dávkovací režim výhodně od asi 0,01 do asi 80 mg/kg celkové tělesné hmotnosti. Denní parenterální dávkovací režim asi 0,001 do asi 80 mg/kg tělesné hmotnosti. Denní topicky dávkovací režim bude výhodně od asi 0,1 mg do asi 150 mg 1- až 4-krát denně, výhodně 2- nebo 3-krát denně. Denní inhalační dávkovací režim bude výhodně od asi 0,01 mg/kg do asi 1 mg/kg za den. Odborník v oboru také zjistí, že optimální množství a rozpětí individuálních dávek sloučeniny obecného vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelné soli se stanoví na základě povahy a míry stavu, který je léčen, formy, cesty a místa podání a jednotlivého

pacienta, který je léčen a že taková optima mohou být stanovena konvenčními postupy. Odborník v oboru také zjistí, že optimální průběh léčby, tj. počet dávek sloučeniny obecného vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelné soli podávaný za den po definovaný počet dní může být odborníkem v oboru stanoven za použití konvenčního testu pro stanovení průběhu léčby.

Vynález bude nyní popsán pomocí odkazů na následující biologické příklady, které jsou pouze ilustrativní a nemají být vykládány jako omezení rozsahu předloženého vynálezu.

Biologické příklady

Inhibiční účinky sloučenin podle předloženého vynálezu na chemokiny IL-8 a GRO α jsou stanoveny v následujících stanoveních in vitro:

Receptorové vazebné studie

[¹²⁵I]IL-8 (lidský rekombinantní) se získá od společnosti Amersham Corp., Arlington Heights, IL, se specifickou aktivitou $7,4 \times 10^{13}$ Bq. GRO α se získá od NEN-New England Nuklear. Všechny ostatní chemikálie jsou jakosti pro analýzu. Vysoké úrovně rekombinantních receptorů IL-8 typu α a β se individuálně exprimují ve vaječnickových buňkách čínského křečka jak byl popsáno dříve (Holmes a kol., Science, 253, 1278 (1991)). Membrány ovárií čínského křečka se homogenizují podle dříve popsaného protokolu (Haour a kol., J. Biol. Chem., 249, 2195-2205 (1974)), s tím rozdílem, že homogenizační pufr se nahradí 10mM Tris-HCl, 1mM MgSO₄, 0,5mM EDTA (kyselina ethylendiamin-

tetraoctová), 1mM PMSF (α -toluensulfonylfluorid) a 0,5 mg/litr Leupeptinu, pH 7,5. Koncentrace membránových proteinů se stanoví za použití kitu pro mikrostanovení firmy Pierce Co., přičemž jako standard se použije albumin z hovězího séra. Veškerá stanovení s provádějí na mikrodessce s 96 jamkami. Každá reakční směs obsahuje ^{125}I IL-8 (0,25 nM) nebo ^{125}I Gro α a 0,5 $\mu\text{g/ml}$ IL-8R α nebo 1,0 $\mu\text{g/ml}$ of IL-8R β membrán v 20 mM BisTrispropanovém a 0,4 mM Tris HCl pufru, pH 8,0, které obsahují 1,2 mM MgSO $_4$, 0,1 mM EDTA, 25 mM NaCl a 0,03 % CHAPS. Navíc léčivo nebo sloučenina, o níž je zájem, se přidá předem rozpuštěná v DMSO tak, aby dosáhla konečnou koncentraci mezi 0,01 nM a 100 μM . Stanovení započne přidáním ^{125}I -IL-8. Po 1 hodině při teplotě místnosti se deska vyprázdní za použití přístroje Tomtec s 96 jamkami na filtrační podložku ze skleněných vláken blokovanou 1% polyethyleniminem/0,5% BSA a 3-krát promytou 25mM NaCl, 10mM TrisHCl, 1mM MgSO $_4$, 0,5mM EDTA, 0,03% CHAPS, pH 7,4. Filtr se potom vysuší a čítá na kapalínovém čítači scintilace Betaplate. Rekombinantní receptor IL-8R α , neboli typ I, je zde také označován jako nepermisivní receptor a rekombinantní receptor IL-8R β , neboli typ II, je zde označován jako permisivní receptor.

U reprezentativních sloučenin obecného vzorce (I), příklady 1 až 8, bylo v tomto stanovení zjištěno, že mají pozitivní inhibiční aktivitu <30 μmg .

Stanovení chemotaxe

Inhibiční vlastnosti těchto sloučenin in vitro se stanoví pomocí stanovení neutrofilní chemotaxe, jak je popsáno v Current Protocols in Immunology, díl. I, Suppl. 1, Unit 6.12.3., jehož obsah je zde zahrnut formou odkazu

ve své celistvosti. Neutrofilily se izolují z lidské krve jak je popsáno v Current Protocols in Immunology, díl I, Suppl. 1, Unit 7.23.1, jehož obsah je zde zahrnut formou odkazu ve své celistvosti. Chemoatraktanty IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ a NAP-2 se umístí do spodní komory komory se 48 multijamkami (Neuro Probe, Cabin John, MD) v koncentraci mezi 0,1 a 100 nM. Obě komory se oddělí 5 μ m polykarbonátovým filtrem. Jsou-li sloučeniny podle tohoto vynálezu testovány, smíchají se s buňkami (0,001 až 1000 nM) těsně před přidáním buněk do horní komory. Inkubace se nechá probíhat mezi asi 45 a 90 minutami při asi 37 °C ve zvlhčovaném inkubátoru s 5% CO₂. Na konci inkubační doby se polykarbonátová membrána odstraní a vrchní strana se promyje, membrána se potom obarví za použití barvicí soupravy Diff Quick (Baxter Products, McGaw Park, IL, USA). Buňky, které se chemotaxí dostaly k chemokinu se vizuálně spočítají pomocí mikroskopu. Obecně platí, že pro každý vzorek jsou spočítána 4 pole, tato čísla jsou zprůměrována, aby se získal průměrný počet buněk, které migrovaly. Každý vzorek se testuje v triplikátu a každá sloučenina se opakuje přinejmenším 4-krát. K jistým buňkám se nepřidá žádná sloučenina (buňky pozitivní kontroly), tyto buňky představují maximální chemotaktickou odpověď buněk. Pokud je žádoucí negativní kontrola (nestimulovaná) nepřidává se do spodní komory žádný chemokin. Rozdíl mezi pozitivní kontrolou a negativní kontrolou představuje chemotaktickou aktivitu buněk.

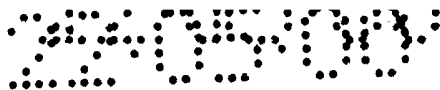
Stanovení uvolňování elastasy

Sloučeniny podle tohoto vynálezu se testují na jejich schopnost zabránit uvolnění elastazy z lidských neutrofilů. Neutrofilily se izolují z lidské krve podle popisu v Current Protocols in Immunology, díl I. Suppl. 1

Unit 7.23.1. Buňky PMNs $0,88 \times 10^6$ suspendované v Ringerově roztoku (NaCl 118, KCl 4,56, NaHCO_3 25, KH_2PO_4 1,03, glukóza 11,1, HEPES 5 mM, pH 7,4) se umístí do každé jamky na desce s 96 jamkami v objemu 50 μl . K této desce se přidá testovaná sloučenina (0,001 až 1000 nM) v objemu 50 μl , Cytochalasin B v objemu 50 μl (20 $\mu\text{g/ml}$) a Ringerův pufr v objemu 50 μl . Tyto buňky se nechají na 5 minut ohřát (37 °C, 5% CO_2 , 95% relativní vlhkost) dříve než se přidá IL-8, $\text{GRO}\alpha$, $\text{GRO}\beta$, $\text{GRO}\gamma$ nebo NAP-2 v konečné koncentraci 0,01 až 1000 nM. Reakce se nechá pokračovat 45 minut, pak se deska s 96 jamkami odstředí (800 x g, 5 min) a odejme se 100 μl supernatantu. Tento supernatant se přenese na druhou desku s 96 jamkami, po čemž se přidá umělý substrát pro elastasu (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC, Nova Biochem, La Jolla, CA) na konečnou koncentraci 6 $\mu\text{g/ml}$ rozpuštěný ve fyziologickém roztoku pufovaném fosfátem. Ihned nato se deska umístí do fluorescenčního čítače desek s 96 jamkami (Cytofluor 2350, Millipore, Bedford, MA) a data se shromáždí ve 3-minutových intervalech podle postupu, který uvádí Nakajima a kol., J. Biol. Chem., 254, 4027 (1979). Množství elastasy uvolněné z PMNs se vypočítá měřením míry degradace MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC.

TNF- α ve stanovení traumatického poškození mozku

Toto stanovení poskytuje prostředek k vyšetření exprese mRNA faktoru nekrózy tumoru ve specifických částech mozku, která následuje po traumatickém poškození mozku (TBI) u krys experimentálně navozeném laterální perkuzí kapalinou. Jelikož TNF- α je schopen indukovat nervový růstový faktor (NGF) a stimulovat uvolňování jiných cytokinů z aktivovaných astrocytů, hraje tato posttraumatická změna genové exprese TNF- α důležitou roli



jak při akutní, tak regenerativní odpovědi na trauma CNS. Vhodná stanovení lze nalézt ve WO 97/35856 nebo WO 97/49286, jejichž poznatky jsou zde začleněny formou odkazu.

Model poranění CNS pro IL- β mRNA

Toto stanovení charakterizuje místní expresi mRNA interleukinu-1 β (IL-1 β) ve specifických oblastech mozku, která následuje po traumatickém poškození mozku (TBI) u krys experimentálně navozeném laterální perkuzí kapalinou. Výsledky těchto stanovení ukazují, že po TBI je dočasná exprese mRNA IL-1 β ve specifických oblastech mozku regionálně stimulována. Tyto oblastní změny cytokinů, jako je IL-1 β , hrají roli při posttraumatických patologických nebo regenerativních následcích poranění mozku. Vhodná stanovení lze nalézt ve WO 97/35856 nebo WO 97/49286, jejichž poznatky jsou zde začleněny formou odkazu.

Stanovení aterosklerózy in vivo

In vivo modely pro měření aterosklerózy u myší jsou založeny na stanovení podle Paigena a kol. s drobnými modifikacemi, které jsou popsány níže. Viz Paigen B., Morrow A., Holmes P.A., Mitchell D., Williams R.A., Quantitative assessment of atherosclerotic lesions in mice. *Atherosclerosis*, 68, 231-240 (1987) a Groot P.H.E., van Vlijmen B.J.M., Benson G.M., Hofker M.H., Schiffelers R., Vidgeon-Hart M., Havekes L.M., Quantitative assessment of aortic atherosclerosis in APOE*3 Leiden transgenic mice and its relationship to serum cholesterol exposure. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 16, 926-933 (1996).

Krájení a barvení aortického sinu

Příčné řezy kořene aorty se vyjmou podle předchozího popisu (1,2). Stručně - srdce se rozkrojí právě pod úrovní síní a základ srdce a kořen aorty se odejmou pro analýzu. Po ustálení tkáně ve sloučenině OCT přes noc se srdce vnoří do OCT sloučeniny na kryostatické podložce (Bright Instrument Company Ltd., U.K.) přičemž aorta je proti podložce. Tkáň se zmrazí tím, že se podložka obklopí suchým ledem. Srdce se potom nařežou kolmo na osu aorty, přičemž se začne uvnitř srdce a postupuje se směrem k aortě. Jakmile se nalezne kořen aorty podle tří chlopní, vyjmou se protilehlé 10mm řezy a umístí se na želatinizované lišty. Řezy se 1 hodinu suší na vzduchu a potom se krátce promyjí v 60% isopropyl-alkoholu. Řezy se obarví pomocí Oil Red O, kontrastně se obarví Mayerovým haematoxylinem, zalijí se glycerolovou želatinou a uzavřou se lakem na nehty.

Kvantifikace atherosklerózy v kořeni aorty

Protilehlé řezy kořene aorty se zobrazí pomocí mikroskopu Olympus BH-2 vybaveného 4x objektivem a videokamerou (Hitachi, HV-C10). Získají se 24bitové barevné obrázky a ty se analyzují pomocí PC (Datacell Pentium P5-133, Datacell, Berks, U.K.) vybaveného pořadačem diapozitivů (Snapper, Active Imaging Ltd, Berks, U.K.) a na kterém běží software Optimas (verze 5.1, Optimas Corp., WA, USA). Obrázky se dělají při stejném osvětlení, na stejném mikroskopu, stejnou kamerou a na stejném PC. Kvantifikace aterosklerotických lézí se provádí ručním obkreslováním lézí za pomoci softwaru Optimas. Barevné prahy se určí tak, aby kvantifikovaly oblasti, které jsou uvnitř lézí obarveny červeně.

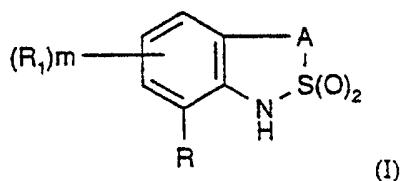
Absolutní hodnoty pro přechodné oblasti lézí a oblasti obarvené červeně se získají kalibrací softwaru za použití obrázku mřížky na haemocytomerní liště.

Veškeré publikace včetně patentů a patentových přihlášek, tím však výčet není omezen, citované v tomto popisu, jsou zde zahrnuty formou odkazu jako kdyby každá jednotlivá publikace zde byla specificky a jednotlivě označena k zahrnutí formou odkazu jako kdyby zde byla uvedena ve své celistvosti.

Výše uvedený popis vynález plně zveřejňuje včetně jeho výhodných ztělesnění. Modifikace a zlepšení ztělesnění zde specificky zveřejněné spadají do rozsahu následujících patentových nároků. Bez dalšího zpracování se má za to, že odborník v oboru je schopen za použití předchozího popisu využít předložený vynález v jeho plném rozsahu. Zde uvedené příklady mají tedy být vykládány jako pouze ilustrativní a v žádném případě nikoli jako omezení rozsahu předloženého vynálezu. Ztělesnění vynálezu, na nějž je nárokováno výlučné vlastnictví nebo výsadní právo, jsou definována následovně.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Sloučenina obecného vzorce (I)



ve kterém

R je $\text{-NH-C(X)-NH-(CR}_{13}\text{R}_{14})_v\text{-Z}$,

Z je W, případně substituovaný heteroaryl,
případně substituovaný C_{5-8} cykloalkyl, případně
substituovaný C_{1-10} alkyl, případně substituovaný
 C_{2-10} alkenyl nebo případně substituovaný
 C_{2-10} alkinyl,

X je $=\text{O}$ nebo $=\text{S}$,

A je $\text{CR}_{20}\text{R}_{21}$,

R_1 je nezávisle zvolen z vodíku, halogenu,
nitroskupiny, kyanoskupiny, halogenem
substituovaného C_{1-10} alkylu, C_{1-10} alkylu,
 C_{2-10} alkenylu, C_{1-10} alkoxyskupiny, halogenem
substituované C_{1-10} alkoxyskupiny, azidu, skupiny
 $(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{S(O)}_t\text{R}_4$, hydroxyskupiny, hydroxy C_{1-4} alkylu,
arylu, aryl C_{1-4} alkylu, aryloxyskupiny,
aryl C_{1-4} alkyloxyskupiny, heteroarylu,
heteroarylalkylu, heterocyklu, hetero-
cykl C_{1-4} alkylu, heteroaryl C_{1-4} alkyloxyskupiny,
aryl C_{2-10} alkenylu, heteroaryl C_{2-10} alkenylu,
heterocykl C_{2-10} alkenylu, skupiny $(\text{CR}_8\text{R}_9)_q\text{NR}_4\text{R}_5$,
skupiny C_{2-10} alkenyl $\text{C(O)NR}_4\text{R}_5$, skupiny

$(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$, skupiny $S(O)_3H$, skupiny $S(O)_3R_8$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$, skupiny $C_{2-10}alkenylC(O)R_{11}$, skupiny $C_{2-10}alkenylC(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{12}$, skupiny $(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(NR_4)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4C(NR_5)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qNHS(O)_2R_{17}$, skupiny $(CR_8R_8)_qS(O)_2NR_4R_5$ nebo dvě skupiny R_1 dohromady mohou tvořit $-O-(CH_2)_sO-$ nebo 5- nebo 6-členný nasycený nebo nenasycený kruh, a kde aryl, heteroaryl a heterocyklus obsahující kruhy mohou být případně substituovány,

- n je celé číslo, které má hodnotu 1 až 3,
- m je celé číslo, které má hodnotu 1 nebo 3,
- q je 0 nebo celé číslo, které má hodnotu 1 až 10,
- t je 0 nebo celé číslo, které má hodnotu 1 nebo 2,
- s je celé číslo, které má hodnotu 1 až 3,
- v je 0 nebo celé číslo, které má hodnotu 1 až 4,
- R_4 a R_5 jsou nezávisle vodík, případně substituovaný $C_{1-4}alkyl$, případně substituovaný aryl, případně substituovaný $arylC_{1-4}alkyl$, případně substituovaný heteroaryl, případně substituovaný $heteroarylC_{1-4}alkyl$, heterocyklus, heterocykl $C_{1-4}alkyl$ nebo R_4 a R_5 dohromady s atomem dusíku, na nějž jsou připojeny, tvoří 5- až 7-členný kruh, který může případně zahrnovat

další heteroatom zvolený z O/N/S,

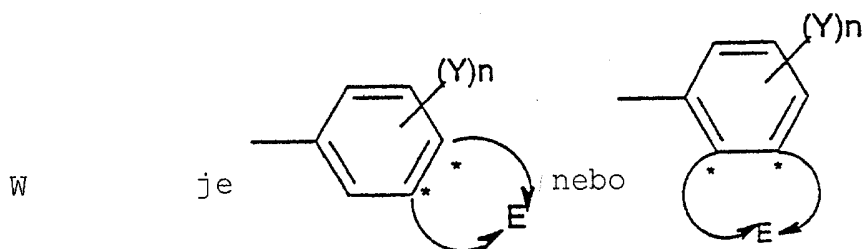
Y je nezávisle zvolen z vodíku, halogenu, nitroskupiny, kyanoskupiny, halogenem substituovaného C_{1-10} alkylu, C_{1-10} alkylu, C_{2-10} alkenylu, C_{1-10} alkoxyskupiny, halogenem substituované C_{1-10} alkoxyskupiny, azidu, skupiny $(CR_8R_8)_qS(O)_tR_4$, hydroxyskupiny, hydroxy C_{1-4} alkylu, arylu, aryl C_{1-4} alkylu, aryloxyskupiny, aryl C_{1-4} alkyloxyskupiny, heteroarylu, heteroarylalkylu, heteroaryl C_{1-4} alkyloxyskupiny, heterocyklu, heterocykl C_{1-4} alkylu, aryl C_{2-10} alkenylu, heteroaryl C_{2-10} alkenylu, heterocykl C_{2-10} alkenylu, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4R_5$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$, skupiny $S(O)_3H$, skupiny $S(O)_3R_8$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)R_{11}$, skupiny C_{2-10} alkenyl $C(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{12}$, skupiny $(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qC(NR_4)NR_4R_5$, skupiny $(CR_8R_8)_qNR_4C(NR_5)R_{11}$, skupiny $(CR_8R_8)_qNHS(O)_2R_{18}$, skupiny $(CR_8R_8)_qS(O)_2NR_4R_5$ nebo dvě skupiny Y dohromady mohou tvořit $-O-(CH_2)_5O-$ nebo 5- nebo 6-členný nasycený nebo nenasycený kruh, a kde aryl, heteroaryl a heterocyklus obsahující kruhy mohou být případně substituovány,

R_6 a R_7 jsou nezávisle vodík nebo C_{1-4} alkylová skupina nebo R_6 a R_7 dohromady s atomem dusíku, na nějž jsou připojeny, tvoří 5- až 7-členný kruh, který může případně obsahovat další heteroatom, který je zvolen z kyslíku, dusíku nebo síry,

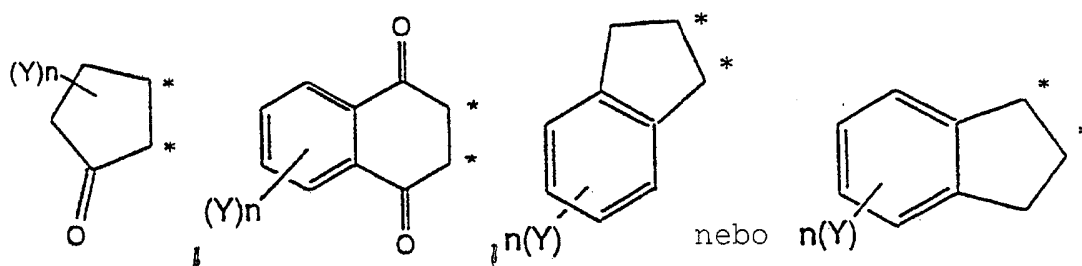
- R_8 je nezávisle vodík nebo C_{1-4} alkyl,
- R_{10} je C_{1-10} alkylC(O) $_2R_8$,
- R_{11} je vodík, C_{1-10} alkyl, případně substituovaný aryl, případně substituovaný arylC $_{1-4}$ alkyl, případně substituovaný heteroaryl, případně substituovaný heteroarylC $_{1-4}$ alkyl, případně substituovaný heterocyklus nebo případně substituovaný heterocyklC $_{1-4}$ alkyl,
- R_{12} je vodík, C_{1-10} alkyl, případně substituovaný aryl nebo případně substituovaný arylalkyl,
- R_{13} a R_{14} jsou nezávisle vodík, případně substituovaný C_{1-4} alkyl nebo jeden z R_{13} a R_{14} může být případně substituovaný aryl,
- R_{15} a R_{16} jsou nezávisle vodík nebo případně substituovaný C_{1-4} alkyl,
- R_{17} je C_{1-4} alkyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylC $_{1-4}$ alkyl, heterocyklus nebo heterocyklC $_{1-4}$ alkyl, kde arylové, heteroarylové a heterocyklické kruhy mohou všechny být případně substituovány,
- R_{18} je NR_6R_7 , alkyl, arylC $_{1-4}$ alkyl, arylC $_{2-4}$ alkenyl, heteroaryl, heteroarylC $_{1-4}$ alkyl, heteroarylC $_{2-4}$ alkenyl, heterocyklus, heterocyklC $_{1-4}$ alkyl, kde arylové, heteroarylové a heterocyklické kruhy mohou být všechny případně substituovány,
- R_{20} a R_{21} jsou nezávisle vodík, halogen, kyanoskupina,

halogenem substituovaný C_{1-10} alkyl, C_{1-10} alkyl, aryl, aryl C_{1-4} alkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, heterocyklus, heterocykl C_{1-4} alkyl, skupina $(CR_8R_8)_qOR_4$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)R_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)OR_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_q(O)OR_{12}$, skupina $(CR_8R_8)_qOC(O)R_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_qNR_4R_5$, skupina $(CR_8R_8)_qNR_4C(O)R_{11}$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_5$, skupina $(CR_8R_8)_qC(O)NR_4R_{10}$ nebo dohromady R_{20} a R_{21} mohou tvořit $=R_{22}$, a kde aryl, heteroaryl a heterocyklus obsahující kruhy mohou být případně substituovány, dále za předpokladu, že R_{20} a R_{21} nejsou vodík,

R_{22} je C_{1-4} alkyl, aryl, aryl C_{1-4} alkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, heterocyklus nebo heterocykl- C_{1-4} alkyl a kde všechny z těchto částí mohou být případně substituovány,



příčemž kruh obsahující E je případně zvolen z



hvězdička * označuje bod připojení kruhu,

nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

2. Sloučenina podle nároku 1, ve které přinejmenším jeden z R_{20} a R_{21} je případně substituovaný alkyl, halogen, skupina $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_5$, případně substituovaný heteroaryl nebo případně substituovaný heterocyklus, nebo R_{20} a R_{21} dohromady jsou methylen.

3. Sloučenina podle nároku 1, kde X je kyslík.

4. Sloučenina podle nároku 1 nebo 3, kde R_1 je halogen, kyanoskupina, nitroskupina, skupina CF_3 , skupina $C(O)NR_4R_5$, skupina alkenyl $C(O)NR_4R_5$, skupina $C(O)NR_4R_{10}$, skupina alkenyl $C(O)OR_{11}$, heteroaryl, heteroarylalkyl, heteroarylalkenyl nebo skupina $(CR_8R_9)_qS(O)_2NR_4R_5$.

5. Sloučenina podle nároku 1, kde Z je W.

6. Sloučenina podle nároku 5, kde Y je halogen, C_{1-4} alkoxy-skupina, případně substituovaný aryl, případně substituovaná arylalkoxyskupina, methylenedioxyskupina, skupina NR_4R_5 , thio C_{1-4} alkyl, thioaryl, halogenem substituovaná alkoxyskupina, případně substituovaný C_{1-4} alkyl nebo hydroxyskupinou substituovaný alkyl.

7. Sloučenina podle nároku 4, kde Z je případně substituovaný heteroaryl.

8. Sloučenina podle nároku 1, kterou je:

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methyl-4-chlor-2,1-benziso-

thiazo)-7-yl]-N'-[2-bromfenyl]močovina,

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-propyl-4-chlor-2,1-benziso-
thiazo)-7-yl]-N'-[2-bromfenyl]močovina,

N-[(1-hydro-2,2-dioxo-3,3-dimethyl-4-chlor-2,1-benziso-
thiazo)-7-yl]-N'-[2-bromfenyl]močovina,

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-fluor-4-chlor-2,1-benziso-
thiazo)-7-yl]-N'-[2-bromfenyl]močovina,

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methylamid-4-chlor-2,1-benz-
isothiazo)-7-yl]-N'[2-bromfenyl]močovina,

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methyl-3-methylamid-4-chlor-
-2,1-benzisothiazo)7-yl]-N'-[2-bromfenyl]močovina,

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-methylen-4-chlor-2,1-benziso-
thiazo)-7-yl]-N'-[2-bromfenyl]močovina,

N-[(1,3-dihydro-2,2-dioxo-3-(benzothiazol-2-yl)-4-chlor-
-2,1-benzisothiazo)-7-yl]-N'-[2-bromfenyl]močovina

nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

9. Farmaceutický přípravek v y z n a č u j í c í s e
t í m, že zahrnuje účinné množství sloučeniny podle
některého z nároků 1 až 8 a farmaceuticky přijatelný nosič
nebo ředidlo.

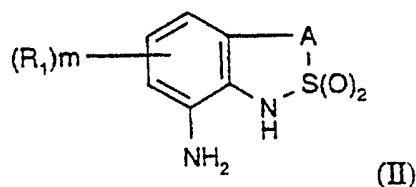
10. Způsob léčení chemokinem zprostředkované nemoci u
savce, který to potřebuje, kde se chemokin váže na
receptor IL-8 a nebo b, v y z n a č u j í c í s e
t í m, že zahrnuje podávání účinného množství sloučeniny

podle některého z nároků 1 až 8 uvedenému savci.

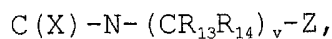
11. Způsob podle nároku 10, v y z n a č u j í c í s e t í m, že chemokinem zprostředkovaná nemoc je zvolena z psoriasis, atopické dermatitidy, artritidy, asthmatu, chronické obstrukční pulmonární choroby, syndromu dechové tísně dospělých, choroby zánětlivého střeva, Crohnovy choroby, ulcerativní kolitidy, septického šoku, endotoxického šoku, gramnegativní sepse, syndromu toxického šoku, poškození po reperfuzi srdce a ledvin, glomerulonefritidy, thrombocy, atherosklerózy, chorob s resorpcí kosti, Alzheimerovy choroby, reakce hostitele proti štěpu nebo odmítnutí štěpu.

12. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce (I) jak je definována v nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje

a) reakci sloučeniny obecného vzorce (II):



se sloučeninou obecného vzorce:



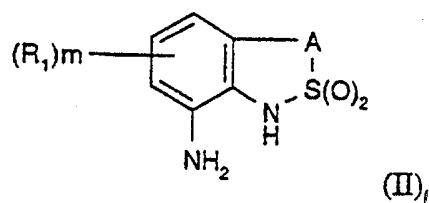
ve kterém

A, R₁, m, X, R₁₃, R₁₄, v a Z mají význam definovaný u obecného vzorce (I),

k získání sloučeniny obecného vzorce (I) a poté, pokud je to nezbytné, deprotektci nebo konverzi prekursoru skupiny

R_1 , A nebo Z na skupinu R_1 , A nebo Z.

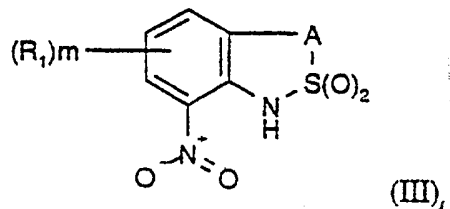
13. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce (II):



ve kterém

A, R_1 a m mají význam definovaný u obecného vzorce (I),

v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje redukci
sloučeniny obecného vzorce (III):

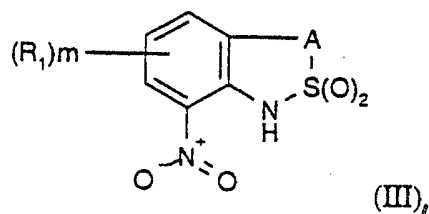


ve kterém

A, R_1 a m mají význam definovaný u obecného vzorce (I),

za vhodných redukčních podmínek, k získání sloučeniny
obecného vzorce (II).

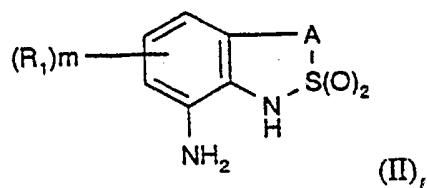
14. Sloučenina obecného vzorce (III):



ve kterém

A, R_1 a m mají význam definovaný u obecného vzorce (I).

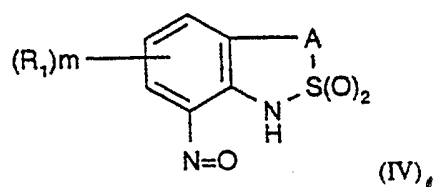
15. Sloučenina obecného vzorce (II):



ve kterém

A, R₁ a m mají význam definovaný u obecného vzorce (I).

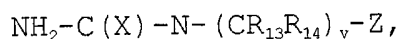
16. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje reakci sloučeniny obecného vzorce (IV):



ve kterém

A, R₁ a m mají význam definovaný u obecného vzorce (I),

se sloučeninou obecného vzorce:



ve kterém

X, R₁₃, R₁₄, v a Z mají význam definovaný u obecného vzorce (I),

k získání sloučeniny obecného vzorce (I) a poté, pokud je to nezbytné, deprotekcí nebo konverzí prekursoru skupiny R₁, A nebo Z na skupinu R₁, A nebo Z.