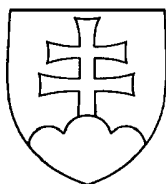


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

# ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(21) Číslo dokumentu:

# 272-98

- (22) Dátum podania: 29.08.96  
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 08/520 710  
(32) Dátum priority: 29.08.95  
(33) Krajina priority: US  
(40) Dátum zverejnenia: 08.07.98  
(86) Číslo PCT: PCT/US96/14077, 29.08.96

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.<sup>6</sup> :

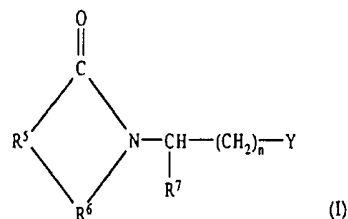
**C 07D 209/48,**  
**A 61K 31/40,**  
**C 07D 209/46**

(71) Prihlasovateľ: Celgene Corporation, Warren, NJ, US;

(72) Pôvodca vynálezu: Muller George W., Bridgewater, NJ, US;  
Shire Mary, North Plainfield, NJ, US;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Nitrilové zlúčeniny ako inhibítory tumor necrosis faktora alfa, farmaceutický prostriedok obsahujúci tieto zlúčeniny a použitie týchto zlúčenín**

(57) Anotácia:  
Nitrilové zlúčeniny všeobecného vzorca (I), v ktorom Y, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> majú rad významov uvedených podrobne v opisnej časti a n znamená 0, 1, 2 alebo 3, predstavujú inhibítory tumor necrosis faktora alfa a fosfodiesterázy. Tieto zlúčeniny je možné použiť na potlačanie kachexie, endotoxického šoku, retrovírusovej replikácie, astmy a zápalových stavov. Ďalej je opísaný farmaceutický prostriedok obsahujúci tieto zlúčeniny a použitie týchto zlúčenín na uvedené účely.



# NITRILOVÉ ZLÚČENINY AKO INHIBÍTORY TUMOR NECROSIS FAKTORU ALFA, FARMACEUTICKÝ PROSTRIEDOK OBSAHUJÚCI TIETO ZLÚČENINY A POUŽITIE TÝCHTO ZLÚČENÍN

## Oblasť vynálezu

Vynález sa týka novej skupiny ne-polypeptidových imidov, konkrétne nitrolových zlúčenín, ktoré sú možné použiť ako inhibitory *tumor necrosis faktora* na znižovanie hladiny TNF $\alpha$  u cicavcov, farmaceutického prostriedku obsahujúceho tieto zlúčeniny a použitie týchto zlúčenín na uvedené účely.

## Doterajší stav techniky

TNF $\alpha$  alebo *tumor necrosis faktor-alfa* (faktor  $\alpha$  nádorovej nekrózy) je cytokin, ktorý je primárne uvoľňovaný mononukleárnymi fagocytmi, ako reakcia na rôzne imunostimulátory. Keď sa podáva zvierat'u alebo človeku, vyvoláva zápal, horúčku, kardiovaskulárne účinky, hemoragiu, koaguláciu, pričom akútna fáza zodpovedá javom, ktoré sa prejavujú behom akútnych infekcií a šokových stavov.

Nadmerná alebo neregulovaná TNF $\alpha$  produkcia bola implikovaná u mnohých chorobných stavov. Medzi tieto stavy je možné zahrnúť endotoxémiu alebo syndróm toxického šoku (vid' publikácia Tracey a kol, *Nature* 330, 662-664 (1987) a Hinshaw a kol., *Circ. Shock* 30, 279-292 (1990)); kachexiu (vid' publikácia Dezube a kol, *Lancet*, 335(869), 662(1990); a stresový respiračný syndróm u dospelého (Adult Respiratory Distress Syndrome), kde v pľúcnych ašpirátoch ARDS pacientov bola zistená koncentrácia TNF $\alpha$  v prebytku 12000 pg(mililiter (vid' publikácia Millar a kol., *Lancet* 2(8665), 712-714 (1989). Systémová infúzia rekombinantného TNF $\alpha$  tiež vedie ku zmenám typicky pozorovaných u ARDS pacientov (vid' publikácia Ferrai-Baliviera a kol, *Arch. Surg.* 124(12), 1400-1405 (1989).

Predpokladá sa že  $\text{TNF}\alpha$  je zapojený v ochorení resorpcie kostnej drene, zahrňujúcej artritídu, kde bolo zistené, že ak je aktivovaný, potom leukocyty vyvolávajú aktivitu vedúcu k resorpcii kostí, pričom údaje potvrdzujú, že sa  $\text{TNF}\alpha$  podieľa na tejto aktivite (viď publikácia *Bertolini a kol, Nature 319, 516-518 (1986)* a *Johnson a kol, Endocrinology 124(3), 1424-1427 (1989)*). Pri doterajších výskumoch bolo zistené, že  $\text{TNF}\alpha$  stimuluje kostnú resorpciu a inhibuje tvorbu kostí *in vitro* a *in vivo* prostredníctvom stimulácie tvorby osteoklastov a aktivácie kombinovanej s inhibíciou funkcie osteoblastov. Aj keď  $\text{TNF}\alpha$  môže byť zapojený v mnohých ochoreniach týkajúcich sa resorpcie kostí, vrátane artritídy, najdôležitejšia súvislosť s chorobnými stavmi je spojená medzi produkciou  $\text{TNF}\alpha$  nádorovými alebo hostiteľskými tkanivami a s hyperkalcémiou spojenou s malignáciou (viď publikácia *Calci. Tissue Ing. (US) 46(Suppl.), 53-10(1990)*). V reakcii transplantát verzus hostiteľ (Graft versus Host Reaction) sú zvýšené hladiny  $\text{TNF}\alpha$  v sére spojené s hlavnou komplikáciou po akútnych alogénnych transplantátoch kostnej drene (viď publikácia *Holler a kol., Blood, 75(4), 1011-1016(1990)*).

Celebrálna malária je letálny hyperakútny neurologický syndróm spojený s vysokými krvnými hladinami  $\text{TNF}\alpha$ , pričom u pacientov s maláriou sa objavujú najťažšie komplikácie. Hladiny  $\text{TNF}\alpha$  v sére súvisia priamo s nebezpečenstvom choroby a prognózou u pacientov s akútnymi atakmi malárie (viď publikácia *Grau a kol., N. Engl. J. Med. 320(24), 1586-1591(1989)*).

$\text{TNF}\alpha$  zohráva úlohu v oblasti chronických pľúcnych zápalových ochorení. Ukladanie častíc oxidu kremičitého vedie k silikóze, čo je choroba progresívneho respiračného zlyhania, spôsobená fibrotickou reakciou. Protilátka k  $\text{TNF}\alpha$  kompletne blokuje pľúcnu fibrózu vyvolanú oxidom kremičitým u myši (viď publikácia *Pignet a kol, Nature, 344:245-247 (1990)*). Vysoké hladiny produkcie  $\text{TNF}\alpha$  (v sére a v izolovaných mikrofázach) boli demonštrované na zvieracích modeloch u ktorých bola vyvolaná fibróza azbestom a oxidom kremičitým (viď publikácia *Bissonnette a kol, Inflammation*

13(3), 329-339 (1989)). Rovnako bolo zistené, že alveolárne makrofágy od pulmonárnych sarkoidózných pacientov spontánne uvoľňujú masívne množstvo  $TNF\alpha$  v porovnaní s makrofágmi od normálnych darcov (vid' publikácia *Baughman a kol, J.Lab. Clin, Med 115(1), 36-42 (1990)*).

$TNF\alpha$  je tiež zapojený do zápalovej odozvy, ktorá nasleduje po reperfúzií, nazývanej reperfúzne poškodenie a je hlavnou príčinou poškodenia tkaniva po strate krvného toku (vid' publikácia *Vedder a kol, PNAS 87, 2643-2646 (1990)*).  $TNF\alpha$  tiež mení vlastnosti endoteliálnych buniek a má rôzne pro-koagulačné aktivity, ako je vyvolanie zvýšenia prokoagulačnej aktivity tkanivového faktoru a potlačenie dráhy antikoagulačného proteínu C ako i pokles regulácie expresie trombomodulínu (vid' publikácia *Sherry a kol., J.Cell. Biol. 107,1269-1277 (1988)*).  $TNF\alpha$  má protizápalovú účinnosť, ktorá spoločne s jeho včasnou produkciou (behom začiatočného stavu zápalovej príhody) ho robí mediátorom tkanivového poškodenia v niektorých dôležitých ochoreniach zahrňujúcich alebo neobmedzujúcich sa na ne, ako je napríklad infarkt myokardu, mŕtvica a obehový šok. Špecificky dôležitá môže byť  $TNF\alpha$ -vyvolaná expresia adhézie molekúl, ako je intercelulárna adhézia molekúl (ICAM) alebo endotheliálna leukocytová adhézia molekúl (ELAM) na endotheliálne bunky (vid' publikácia *Munro a kol, Am. J. Path. 135(1), 121-132 (1989)*). Naviac teraz poznáme, že  $TNF\alpha$  je účinný aktivátor retrovirusovej replikácie, zahrňujúci aktiváciu HIV-1 (vid' publikácia *Duh a kol., Proc. Nat. Acad. Sci. 86, 5974-5978 (1989)*; *Poll a kol., Proc. Nat. Acad. Sci. 87, 782-785 (1990)*; *Monto a kol., Blood 79, 2670(1990)*; *Clouse a kol., J.Immunol. 142, 431-438 (1989)*; *Poll. a kol, AIDS Res. Hum. Retrovirus, 191-197 (1992)*). AIDS vzniká z infekcie T lymfocytov vírusom ľudskej imunodeficiencie (Human Immunodeficiency Virus - HIV). Boli indetifikované aspoň tri typy alebo kmene HIV; t.j. HIV-1, HIV-2 a HIV-3. Ako následok HIV infekcie sa zhoršuje T-bunkami sprostredkovaná imunita a u infikovaných jedincov sa prejavujú ťažké oportunné infekcie alebo neobvyklé neoplazmy. HIV vstup do T lymfocytov vyžaduje T lymfocytovú aktiváciu. Ďalšie vírusy , ako je HIV-1, HIV-2 infikujú T lymfocyty po T bunkovej aktivácii a taká expresia alebo replikácia vírusového proteínu je sprostredkovaná alebo udržiavaná touto T bunkovou aktiváciou. Akonáhle je aktivovaný T lymfocyt infikovaný

HIV , musí T lymfocyt byť stále ďalej udržiavaný v aktívnom stave pre sprostredkovanie HIV genovej expresie alebo HIV replikácie. Cytokíny, najmä  $TNF\alpha$ , sú implikované v aktivovanej T-bunkami sprostredkovanej expresii alebo vírusovej replikácii HIV proteínu tým, že hrajú úlohu v udržiavaní T lymfocytovej aktivácie. Preto interferencie s cytokínovou aktivitou ako je prevencia alebo inhibícia cytokínovej produkcie, najmä  $TNF\alpha$ , u HIV-infikovaných jednotlivcov spôsobujú obmedzenie udržiavania T lymfocytov vyvolaného HIV infekciou.

Monocyty, makrofágy a podobné bunky ako sú Kupferové a gliálne bunky, sú tiež zapojené do udržiavania HIV infekcie. Tieto bunky, podobné T bunkám , predstavujú cieľ vírusovej replikácie, pričom hladina vírusovej replikácie je závislá na stave aktivácie buniek (vid' publikácia *Rosenberg a kol., The Immunopathogenesis of HIV Infection, Advances in Immunology, 57 (1989)*). V prípade cytokínov ako je  $TNF\alpha$ , bolo zistené, že aktivujú HIV replikáciu v monocytoch a/alebo makrofázach (vid' *Poli a kol., Proc. Natl. Acad. Sci., 87, 782-784 (1990)*), proto prevencia alebo inhibícia produkcie alebo aktivity cytokínov napomáha obmedzeniu HIV progresie ako je uvedené vyššie pre T bunky. Ďalšie štúdie preukázali, že  $TNF\alpha$  pôsobí ako všeobecný faktor pri aktivácii HIV *in vitro*, pričom bol navrhovaný jasný mechanizmus pôsobenia cez jadrový regulačný proteín nájdený v cytoplazme buniek (vid' publikácia *Osborn a kol., PNAS 86, 2336-2340*). Táto skutočnosť naznačuje, že redukcia  $TNF\alpha$  syntézy môže mať antivírusový účinok u HIV infekcií tým, že sa zníži transkripcia a tým vírusová produkcia.

AIDS vírusová replikácia latentného HIV v T bunkových a makrofágových línách môže byť indukovaná  $TNF\alpha$  (vid' publikácia *Folks a kol., PNAS 86, 2365-2368 (1989)*). Molekulárny mechanizmus vyvolania vírusovej aktivity je naznačený schopnosťou  $TNF\alpha$  aktivovať génový regulačný proteín (NF $\kappa$ B) nájdený v cytoplazme buniek, ktorý promótuje HIV replikáciu prostredníctvom väzby na vírusovú regulačnú sekvenciu (LTR) (vid' publikácia *Osborn a kol., PNAS 86, 2326-2340(1989)*).  $TNF\alpha$  v prípade kachexie súvisiacej s AIDS je indikovaný zvýšenou hladinou  $TNF\alpha$  v sére a vysokými hladinami

spontánnej TNF $\alpha$  produkcie v periférnych krvných monocytoch u pacientov (viď publikácia *Wright a kol., J. Immunol. 141(1), 99-104(1988)*).

TNF $\alpha$  je zapojený a má inú úlohu v rôznych iných vírusových infekciách, ako je napríklad cytomegalovírus (CMV), influenza vírus, adenovírus a trieda herpes vírusov, z podobných dôvodov ako sú tu uvedené.

Prevenia alebo inhibícia produkcie alebo pôsobenia TNF $\alpha$  je preto považovaná za potenciálnu terapeutickú stratégiu na liečenie mnohých zápalových, infekčných, imunologických alebo malignančných chorôb. Medzi tieto choroby je možné zahrnúť ovšem ďalej uvedeným vymenovaním nie je rozsah v žiadnom prípade obmedzený, septický šok, sepsie, endotoxický šok, hemodynamický šok a septický syndrom, postischemické reperfúzne poškodenie, maláriu, mykobakteriálnu infekciu, meningitis, psoriázu, kongestívne (mestnavé) srdcové zlyhanie, fibrotickú chorobu, kachexiu, odmietnutie transplantátu (štep), rakovinu, autoimunitnú chorobu, oportunistické infekcie u AIDS, reumatodnú artritídu, reumatoidnú spondylitídu, osteoartritídu, iné artritické stavy, Crohnovu chorobu, ulceratívnu kolitídu, roztrúsenú sklerózu, systemický lupus erythematosus, ENL v lepre, poškodenie ožiarením a hyperoxické alveolárne poškodenie. Snahy smerované k potláčaniu účinkov TNF $\alpha$  boli vykonané v širokom rozsahu od použitia steroidov ako je dexametazón a prednizolón do použitia ako poyklonálnych tak monoklonálnych protilátok (viď publikácia *Beutler a kol., Science 234, 470-474 (1985; WO 92/11383)*).

Jadrový faktor kB (NFkB) je pleiotropný transkripčný aktivátor (viď publikácia *Leonardo a kol., Cell 1989, 58, 227-229*). NFkB je zapojený ako transkripčný aktivátor do mnohých chorobných a zápalových stavov, pričom je považovaný za faktor regulujúci cytokínové hladiny, vrátane TNF $\alpha$ , ovšem týmto nie je rozsah v žiadnom prípade obmedzený, a tiež za aktivátor HIV transkripcie (viď publikácia *Diabo a kol, J.Biol. Chem. 1993, 17762-66; Duh a kol., Proc. Natl. Acad. Sci, 1989, 86, 5974-78; Bachelerie a kol, Nature 1991, 350, 709-12; Boswas a kol, J. Acquired Immune Deficiency Syndrome 1993, 6, 778-786; Suzuki a kol. Biochem. And Biophys. Res. Comm. 1993,*

193, 277-83; Suzuki a kol. *Biochem And Biophys. Res. Comm.* 1992, 189, 1709-15; Suzuki a kol., *Biochem. Mol. Bio. Int.* 1993, 31(4), 693-700; Shakhov a kol. 1990, 171, 35-47; a Staal a kol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990, 87, 9943-47). Inhibícia NFkB väzby môže regulovať transkripciu cytokinového génu alebo génov a touto moduláciou a inými mechanizmami môže byť vhodná na inhibovanie mnohých chorobných stavov. Zlúčeniny nárokované v tomto patente môžu inhibovať pôsobenie NFkB v jadre a sú preto vhodné pri liečení mnohých chorôb, zahrňujúcich reumatoidnú artritídu, reumatoidnú spondylitídu, osteoartritídu, iné artritické stavy, septický šok, sepsu, endotoxický šok, ochorenie transplantát verzus hostiteľ, chudnutie, Crohnovu chorobu, ulceratívnu kolitídu, sklerózu multiplex, systemický lupus erythrematosus, ENL v lepre, HIV, AIDS a oportúnne infekcie v AIDS, pričom týmto vymenovaním nie je rozsah ochorení v žiadnom prípade obmedzený.

TNF $\alpha$  a NFkB hladiny sú ovplyvňované recipročnou spätnou smyčkou. Ako je vyššie uvedené, zlúčeniny podľa predloženého vynálezu ovplyvňujú hladiny ako TNF $\alpha$  tak i NFkB. V súčasnosti nie je však známe, akým spôsobom zlúčeniny podľa predmetného vynálezu regulujú hladinu TNF $\alpha$ , NFkB alebo oboch.

Mnoho celulárnych funkcií môže byť sprostredkované určitou hladinou adenosín-3', 5'-cyklického monofosfátu (AMP). Tieto celulárne funkcie môžu prispievať ku vzniku zápalových stavov a ochorení, vrátane astmy, zápalov a iných stavov (viď publikácia *Lowe and Cheng, Drugs of the Future*, 17(9), 799-807, 1992). Pri doterajších výskumoch bolo zistené, že zvýšenie hladiny CaMP u zápalových leukocytov inhibuje ich aktiváciu a následne uvoľňovanie zápalových mediátorov. Zvýšená hladina cAMP rovnako vedie k relaxácii hladkého svalstva dýchacích ciest.

Primárnym celulárnym mechanizmom pre inaktivovanie cAMP je rozrušenie cAMP skupinou izoenzýmov, ktoré sa označujú ako cyklické nukleotidové fosfodiesterázy (PDE). Doposiaľ poznáme sedem členov tejto skupiny PDE látok. Napríklad bolo podľa doterajších výskumov zistené, že inhibovanie PDE, typ IV, je najmä účinné ako pre inhibovanie uvoľňovania zápalového mediátora tak i relaxácie

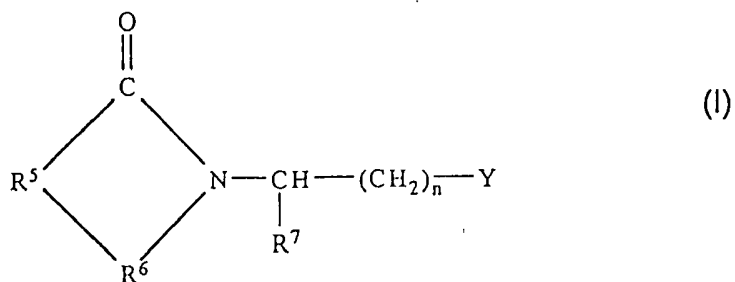
hladkého svalstva dýchacích ciest. Takže zlúčeniny, ktoré inhibujú špecificky PDE IV by mohli prejavovať požadovaný inhibičný účinok zápalových procesov a relaxácie hladkého svalstva dýchacích ciest s minimálnymi alebo nežiaducimi vedľajšími účinkami, ako sú napríklad kardiovaskulárne účinky alebo účinky proti krvným doštičkám. Ovšem až doposiaľ známe a používané PDE IV inhibítory nemajú selektívny účinok pri prijateľných terapeutických dávkach.

### Podstata vynálezu

Zlúčeniny podľa predmetného vynálezu predstavujú účinné a vhodné inhibítory fosfodiesteráz, najmä PDE III a PDE IV, a z toho dôvodu sú vhodné a použiteľné pri liečení ochorení sprostredkovaných týmito fosfodiesterázami.

Predmetný vynález je založený na zistení, že skupina ne-polypeptidových imidov, ktoré sú stručne popísané v popise predmetného vynálezu, inhibuje účinok  $\text{TNF}\alpha$ .

Podstata predmetného vynálezu teda predstavuje zlúčeniny všeobecného vzorca I:



v ktorom :



O

||

Y znamená skupinu  $-C\equiv N$  alebo  $-C(CH_2)_mCH_3$ ,

m je 0 až 3,

R<sup>5</sup> znamená :

(i) o-fenylenovú skupinu, nesubstituovanú alebo substituovanú jedným alebo viacerými substituentami, pričom každý z nich je nezávisle vybraný zo súboru zahrňujúceho nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluórmetylovú skupinu, karbetoxykupinu, karbmetoxykupinu, karbopropoxykupinu, acetylovú skupinu, karbamoylovú skupinu, karbamoylovú skupinu substituovanú alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, acetoxyskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, aminovú skupinu, aminovú skupinu substituovanú alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, alkoxykupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, alebo atóm halogénu,

(ii) dvojväzbový zvyšok od pyridinovej skupiny, pyrrolidinovej skupiny, imidazolovej skupiny, naftalénovej skupiny alebo tiofénovej skupiny, pričom uvedené dve väzby sú na susedných uhlíkových atómoch v kruhu,

(iii) dvojväzbovú cykloalkylovú skupinu obsahujúcu 4 až 10 atómov uhlíka, nesubstituovanú alebo substituovanú jedným alebo viacerými substituentami, pričom každý z týchto substituentov je na ostatných nezávisle vybraný zo súboru zahrňujúceho nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluórmetylovú skupinu, karbetoxykupinu, karbmetoxykupinu, karbopropoxykupinu, acetylovú skupinu, karbamoylovú skupinu, acetoxyskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, aminovú skupinu, substituovanú aminovú skupinu, alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 10 atómov uhlíka, alkoxykupinu obsahujúcu 1 až 10 atómov uhlíka, fenylovú skupinu alebo atóm halogénu,

(iv) disubstituovanú vinylenovú skupinu substituovanú nitroskupinou, kyanoskupinou, trifluórmetylovou skupinou, karbetoxykupinou, karbmetoxykupinou, karbopropoxykupinou, acetylovou skupinou, karbamoylovou skupinou, karbamoylovou skupinou, substituovanou alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, acetoxyskupinou, karboxyskupinou, hydroxyskupinou, aminovou skupinou, aminovou skupinou substituovanou alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka,

alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 4 atómy uhlíka, alkoxyskupinou obsahujúcou 1 až 4 atómy uhlíka, alebo atómom halogénu,

(v) etylenovú skupinu nesubstituovanú alebo substituovanú jedným až dvomi substituentami, pričom každý z týchto substituentov je nezávisle na ostatných vybraný zo súboru zahrňujúceho nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluórmetylovú skupinu, karbetoxykupinu, karbmetoxykupinu, karbopropoxykupinu, acetylovú skupinu, karbamoylovú skupinu, karbamoylovú skupinu substituovanú alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, acetoxyskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, aminovú skupinu, aminovú skupinu substituovanú alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, alkoxyskupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, alebo atóm halogénu,

$R^6$  znamená skupinu  $-CO-$ ,  $-CH_2-$ ,  $-CH_2CO-$  alebo  $-SO_2-$ ,

$R^7$  znamená :

(i) alkylovú skupinu s priamym alebo rozvetveným reťazcom obsahujúcim 1 až 12 atómov uhlíka,

(ii) cyklickú alebo bicyklickú alkylovú skupinu obsahujúcu 4 až 12 atómov uhlíka,

(iii) pyridylovú skupinu,

(iv) fenylovú skupinu substituovanú jedným alebo viacerými substituentami, pričom každý z týchto substituentov je nezávisle na ostatných vybraný zo súboru zahrňujúceho nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluórmetylovú skupinu, karbetoxykupinu, karbmetoxykupinu, karbopropoxykupinu, acetylovú skupinu, karbamoylovú skupinu, acetoxyskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, aminovú skupinu, alkylovú skupinu s priamym reťazcom, rozvetveným reťazcom, cyklickým reťazcom alebo bicyklickým reťazcom obsahujúci 1 až 10 atómov uhlíka, alkoxyskupinu s priamym reťazcom, rozvetveným reťazcom, cyklickým reťazcom alebo bicyklickým reťazcom obsahujúcim 1 až 10 atómov uhlíka, skupinu  $CH_2$ , v ktorom R znamená cyklickú alebo bicyklickú alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 10 atómov uhlíka, alebo atóm halogénu,

(v) benzylovú skupinu substituovanú jedným až tromi substituentami, pričom každý z týchto substituentov je nezávisle na ostatných vybraný zo súboru zahrňujúceho nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluórmetylovú skupinu, karbetoxykupinu, karbmetoxykupinu, karbopropoxykupinu, acetylovú skupinu, karbamoylovú skupinu,

acetoxyskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, aminovú skupinu, alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, alkoxyskupinu obsahujúcu 1 až 10 atómov uhlíka, alebo atóm halogénu,

(vi) naftylovú skupinu, alebo

(vii) benzyloxyskupinu a

$\underline{n}$  má hodnotu 0, 1, 2 alebo 3.

Do prvej výhodnej podskupiny zlúčenín podľa vynálezu patria zlúčeniny vyššie uvedeného všeobecného vzorca, v ktorom :

Y znamená skupinu  $-C\equiv N$ ,

$R^5$  znamená o-fenylénovú skupinu, či už substituovanú alebo nesubstituovanú,

$R^6$  znamená skupinu  $-CO-$  alebo  $-CH_2-$ ,

$R^7$  znamená arylovú skupinu, a

$\underline{n}$  je 1.

Medzi typické zlúčeniny podľa predmetného vynálezu patria nasledujúce látky :

$R^6$	$R^7$
$-CO-$	3,4-dimetoxyfenylová skupina
$-CO-$	3-etoxy-4-metoxyfenylová skupina
$-CH_2CO-$	3,4-dimetoxyfenylová skupina
$-CH_2CO-$	3-etoxy-4-metoxyfenylová skupina
$-CO-$	3-propoxy-4-metoxyfenylová skupina
$-CH_2CO$	3-propoxy-4-metoxyfenylová skupina
$-CO-$	3-cyklopentoxy-4-metoxyfenylová skupina (cyklopentoxyskupina = cyklická $C_5H_9O-$ skupina)
$-CH_2CO-$	3-cyklopentoxy-4-metoxyfenylová skupina
$-CO-$	3,4-dimetoxyfenylová skupina
$-CO-$	3-etoxy-4-kyanofenylová skupina
$-CH_2-$	3,4-dimetoxyfenylová skupina

-CH <sub>2</sub> -	3-etoxy-4-metoxyfenylová skupina
-CH <sub>2</sub> -	3,4-dimetoxyfenylová skupina

Vyššie uvedeným termínom alkylová skupina, ktorý je používaný v tomto texte sa mení jednoväzbový nasýtený rozvetvený alebo priamy uhlovodíkový reťazec. Pokiaľ nie je výslovne uvedené inak, potom tieto reťazce obsahujú od 1 do 18 atómov uhlíka. Ako reprezentatívne príklady takýchto alkylových skupín je možné uviesť metylovú skupinu, etylovú skupinu, propylovú skupinu, izopropylovú skupinu, butylovú skupinu, izobutylovú skupinu, sek.butylovú skupinu, terc.butylovú skupinu, pentylovú skupinu, izopentylovú skupinu, neopentylovú skupinu, terc.pentylovú skupinu, hexylovú skupinu, izohexylovú skupinu, heptylovú skupinu, oktylovú skupinu, nonylovú skupinu, decylovú skupinu, undecylovú skupinu, dodecylovú skupinu, tridecylovú skupinu, tetradecylovú skupinu, pentadecylovú skupinu, hexadecylovú skupinu, heptadecylovú skupinu, oktadecylovú skupinu a podobné ďalšie skupiny. V prípadoch kedy sú tieto skupiny označované ako „nižšia“ alkylová skupina, potom táto alkylová skupina obsahuje od 1 do 6 atómov uhlíka. Rovnaký počet uhlíkových atómov platí pre základný termín „alkan“ a pre odvodené výrazy ako je napríklad „alkoxyskupina“.

Termínom „cykloalkylová skupina (alebo cyklická alkylová skupina)“ ktorý je používaný v tomto texte, sa mieni jednoväzbový nasýtený cyklický uhlovodíkový reťazec. Pokiaľ nie je výslovne uvedené inak, potom tieto reťazce obsahujú od 1 do 18 atómov uhlíka. Ako reprezentatívne príklady takýchto cykloalkylových skupín je možné uviesť metylovú skupinu, etylovú skupinu, cyklopropylovú skupinu, cyklohexylovú skupinu, cykloheptylovú skupinu, cyklooktylovú skupinu, cyklononylovú skupinu, cyklodecylovú skupinu, cykloundecylovú skupinu, cyklododecylovú skupinu, cyklotridecylovú skupinu, cyklotetradecylovú skupinu, cyklopentadecylovú skupinu, cyklohexadecylovú skupinu, cykloheptadecylovú skupinu, cyklooktadecylovú skupinu, cyklické terpenové skupiny a podobné ďalšie skupiny. V prípadoch , kedy sa uvádza „nižšia“ cykloalkylová skupina, potom táto cykloalkylová skupina obsahuje 3 až 6

atómov uhlíka. Rovnaký počet uhlíkových atómov platí pre základný termín „cykloalkán“ a pre odvodené výrazy ako je napríklad „cykloalkoxyskupina“.

Tieto zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť použité pod dohľadom kvalifikovaných odborníkov, pre inhibovanie nežiaducich účinkov  $\text{TNF}\alpha$ . Uvedené zlúčeniny môžu byť podávané perorálne, rektálne alebo parenterálne, samé alebo v kombinácii s inými terapeutickými činidlami, zahrňujúcimi antibiotiká, steroidy atď., pričom sa aplikujú na cicavce, ktoré potrebujú toto liečenie. Perorálne dávkové formy zahrňujú tablety, kapsule, dražé a podobne tvarované, zlisované farmaceutické formy. Izotonické solné roztoky, obsahujúce 20 až 100 miligramov/mililiter môžu byť použité na parenterálne podávanie, ktoré zahrňuje intramuskulárny, intratekálny, intravenózný spôsob podávania. Rektálne podávanie môže byť vykonané za použitia čipkov formulovaných z bežných nosičov ako je kakaové maslo.

Dávkové režimy musia byť upravené podľa konkrétnej indikácie, veku, hmotnosti a všeobecného fyzického stavu pacienta a požadovanej odozvy, ale všeobecne sa tieto dávky pohybujú v rozpätí od asi 1 do asi 1000 miligramov/deň podľa potreby v jednom alebo viac podaniach za deň. Všeobecne môže začiatkový režim pri použití zlúčenín podľa predmetného vynálezu kopírovať režim, o ktorom je známe, že je účinný na interferovanie  $\text{TNF}\alpha$  aktivity pre iné  $\text{TNF}\alpha$  sprostredkované chorobné stavy. Liečených jednotlivcov je potrebné pravidelne sledovať pokiaľ ide o počet T buniek a pomery T4/T8 alebo merania virémie, ako sú hladiny reverznej transkriptázy alebo vírusových proteínov, alebo pokiaľ sa týka progresie problémov spojených s chorobou sprostredkovanou cytokínmi, ako je napríklad kachexia alebo svalová degenerácia. Ak nie je vidieť po normálnom liečebnom režime žiaden efekt, potom sa zvýši podávanie činidla, interferujúceho s cytokínovou aktivitou, napríklad o päťdesiat percent za týždeň.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu môžu byť tiež použité topicky na liečenie alebo profylaxiu topických chorobných stavov sprostredkovaných alebo vyvolaných nadmernou produkciou  $\text{TNF}\alpha$ , ako sú napríklad vírusové infekcie, ako napríklad také,

ktoré sú spôsobené herpesovými vírusmi alebo vírusová konjunktivitída, psoriáza, iné kožné poruchy a ochorenia, atď..

Tieto zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť tiež použité vo veterinárnej liečbe cicavcov iných ako ľudí v prípade potreby prevencie alebo inhibície produkcie TNF $\alpha$ . Na liečenie TNF $\alpha$  sprostredkovaných chorôb, či už terapeuticky, alebo profylakticky, v prípade zvierat prichádzajú do úvahy také chorobné stavy ako sú tie, ktoré boli uvedené vyššie, ale najmä vírusové infekcie. Ako príklady týchto chorôb je možné uviesť vírus mačacej imunodeficiencie, konskú infekčnú vírusovú anémiu, koziu infekčnú vírusovú anémiu, visna vírus a maedi vírus ako i iné lentivírusy.

Niektoré z týchto zlúčenín podľa vynálezu vykazujú centrá chirality, pričom tieto zlúčeniny môžu existovať ako optické izoméry. Ako racemáty týchto izomérov tak i jednotlivé izoméry samotné ako i diastereoizoméry, ak u nich existujú dve chirálne centrá, spadajú do rozsahu predmetného vynálezu. Racemáty môžu byť použité ako také alebo môžu byť rozdelené na svoje jednotlivé izoméry mechanickým spôsobom, ako napríklad chromatografickým spôsobom použitím chirálneho absorbentu. V alternatívnom prevedení môžu byť pripravené jednotlivé izoméry v chirálnej forme alebo oddelené chemicky zo zmesi tak, že sa vytvorí soľ s chirálnou kyselinou, ako sú jednotlivé enantioméry 10-gáforsulfónovej kyseliny, gáfrovej kyseliny, alfa-brómgáfrovej kyseliny metoxyoctovej kyseliny, vínnej kyseliny, diacetylvinnej kyseliny, jablčnej kyseliny, pyrrolidon-5-karboxylovej kyseliny a podobne a potom je možné uvoľniť jednu alebo obidve oddelené bázy, prípadne opakovaním procesu tak, že sa získa jeden alebo obidva izoméry v podstate bez druhého izoméru; to znamená vo forme majúcej optickú čistotu > 95%.

Prevencia alebo inhibícia produkcie TNF $\alpha$  za pomoci týchto zlúčenín podľa vynálezu môže byť sledovaná použitím bežne známych a obvykle používaných testov vykonávaných metódami všeobecne známymi v tomto odbore z doterajšieho stavu techniky. Napríklad TNF $\alpha$  inhibičný test v LPS simulovanom PBMC je možné vykonať nasledujúcim spôsobom :

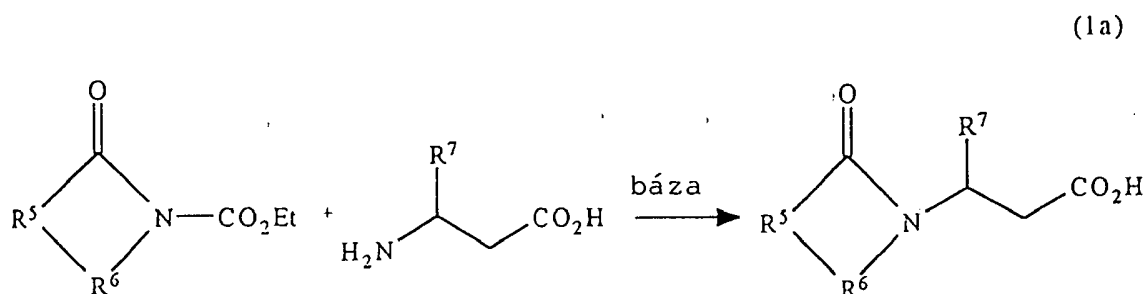
PBMC izolovanie : PBMC z normálnych donorov bol získaný hustotnou centrifugáciou na Ficoll-Hypaque. Bunky boli kultivované v RPMI doplnenom 10 % AB + sérum, 2 mM L-glutamínu, 100 U/mililiter penicilínu a 100 g/mililiter streptomycínu.

PBMC suspenzie : Liečivá boli rozpustené v DMSO (Sigma Chemical), ďalšie zriedenie bolo vykonané v doplnenom RPMI. Finálna DMSO koncentrácia v prítomnosti alebo v neprítomnosti liečiva v PBMC suspenziách bola 0,25 % hmotnostných. Liečivá boli testované pri polovičných log-zriedeniach, pričom sa vychádzalo z koncentrácie 50 g/ml. Liečivá boli pridané do PBMC ( $10^6$  buniek/mililiter) na 96-tich jamkových plátoch jednu hodinu pred prídavkom LPS.

Bunková stimulácia: PBMC ( $10^6$  buniek/mililiter) v prítomnosti alebo neprítomnosti liečiva bol stimulovaný spracovaním s 1  $\mu$ g/mililiter LPS zo *Salmonella minnesota R595* (List Biological Labs, Campbell, CA). Bunky boli inkubované pri teplote 37°C po dobu 18 až 20 hodín. Kvapalina nad usadeninou bola odvedená a okamžite testovaná na TNF $\alpha$  úroveň alebo bola uchovávaná v zmrazenom stave pri teplote -70°C (po dobu maximálne 4 dní), potom bola testovaná.

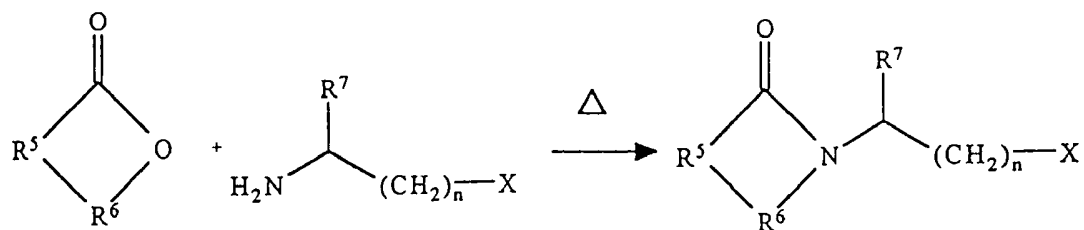
TNF $\alpha$  stanovenie : Koncentrácia TNF $\alpha$  v kvapaline nad usadeninou bola stanovená za použitia TNF $\alpha$  ELISA kitov určených pre ľudí (*Endogen, Boston MU*) pričom bol použitý návod výrobcu.

Uvedené zlúčeniny podľa predmetného vynálezu je možné pripraviť použitím metód, ktoré sú všeobecne známe a používané na prípravu nitrilových zlúčenín. Všeobecná reakčná schéma je v ďalšom ilustovaná nasledujúcimi rovnicami:

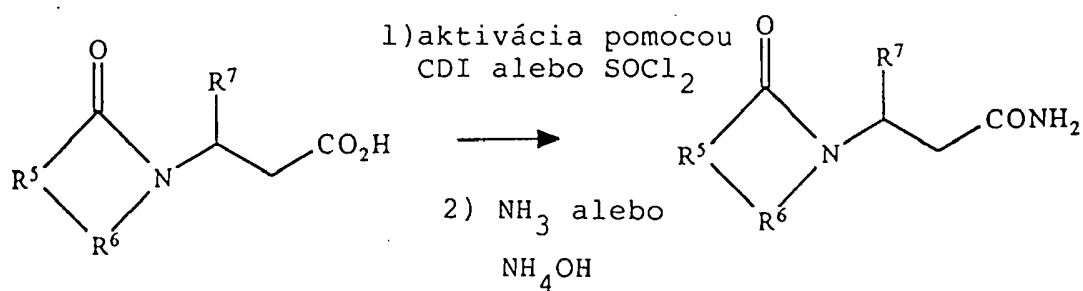


alebo

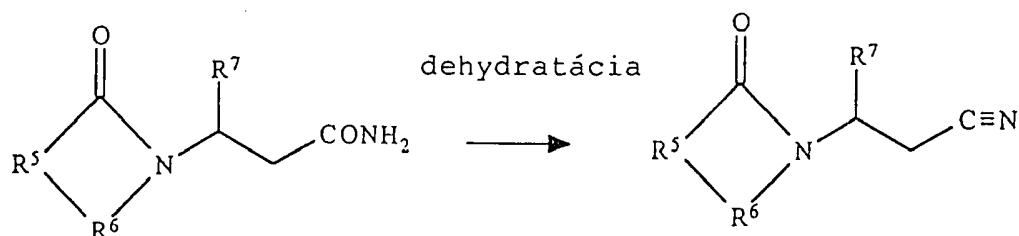
(1b)



(2)



(3)



v ktorých X znamená CO<sub>2</sub>H, CONH<sub>2</sub> alebo CH.

### Príklady uskutočnenia vynálezu

V nasledujúcich príkladoch sú bližšie ilustrované nové nitrilové zlúčeniny podľa predmetného vynálezu a postup ich prípravy, pričom tieto príklady sú len typové a ilustratívne a neznamenajú obmedzenie rozsahu tohto vynálezu, ktorý je daný len ďalej uvedenými patentovými nárokami.



## Príklad 1

Postup prípravy 3-ftalimido-3-(3-4-dietoxyfenyl)-propionitrilu.

Podľa tohto príkladu bolo použité premiešavanie suspenzie chladenej na ľadovom kúpeli, ktorá obsahovala 3-ftalimido-3-(3,4-dietoxyfenyl)propiónamid (v množstve 0,96 gramu, čo je 2,5 mmolu) a 4-metylmorfolín (použité 0,66 mililitra, čo je 6 mmolov) v DMF (9 mililitrov), pričom táto suspenzia bola udržiavaná pod atmosférou dusíka, následne bol pridaný po kvapkách tionylchlorid (použité 0,35 mililitra, čo je 4,8 mmolu). Pri premiešavaní tejto reakčnej zmesi pri teplote v rozpätí od 0 do 5<sup>0</sup> C po dobu 30 minút a potom pri teplote miestnosti po dobu 2 hodín nastal mierny exotermický priebeh. Táto reakcia bola monitorovaná metódou vysokotlakej kvapalinovej chromatografie HPLC (Waters Nova-Pak/C-18 kolona, 3,9 x 150 milimetrov, 4 mikrometre, 1 mililiter/minúta, 240 nm, 50/50 CH<sub>3</sub>CN/H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 % (vodný roztok)). Takto získaná reakčná zmes bola potom naliata do zmesi obsahujúcej hydrogenuhličitan sodný NaHCO<sub>3</sub> (8,5 mililitra) a ľad (40 gramov) a potom bola premiešavaná až do rozpustenia ľadu. Táto reakčná zmes bola potom sfiltrovaná a pevný podiel bol premytý dostatočným množstvom vody. Týmto spôsobom bola získaná vlhká pevná látka, ktorá bola rozpustená v dichlórmetáne CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 mililitrov) a organická vrstva bola oddelená, usušená síranom horečnatým a skoncentrovaná vo vákuu za vzniku lepkavej polopevnej látky. Táto pevná látka bola potom prečistená dvakrát v kolóne okamžikovou chromatografickou metódou (silikagel, 3 % etylacetát/metylechlorid), čím bola pripravená pevná látka, ktorá bola usušená vo vákuu (pri 50<sup>0</sup> C, 133 Pa), pričom týmto zhora popísaným postupom bol získaný požadovaný produkt vo forme svetložlej pevnej látky.

Výtťažok : 0,5 gramu (55 %).

<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>) δ :

7,91 - 7,65 (m, 4H), 7,12 - 6,98 (m, 2H),  
 6,90 - 6,78 (m, 1H), 5,61 (dd, J = 6,4, 10,3 Hz, 1H),  
 4,19 - 3,96 (m, 4H), 3,83 (dd, J = 10,3, 16,8 Hz, 1H),  
 3,26 (dd, J = 6,4, 16,8Hz, 1H), 1,55 - 1,30 (m, 6H);

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  :

167,7, 149,2, 148,9, 134,3, 131,5, 129,1, 123,6,  
120,2, 116,9, 113,2, 112,9, 64,7, 64,5, 51,1, 21,1,  
14,7;

HPLC 98,4%.

Analýza pre  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$  :

vypočítané	:	69,22 % C	5,53 % H	7,69 % N
nájdené	:	69,06 % C	5,48 % H	7,58 % N.

## Príklad 2

Postup prípravy 3-ftalimido-3-(3,4-dimetoxyfenyl)-propionitrilu.

Podľa tohto príkladu bolo do použitej premiešavanej suspenzie chladenej na ľadovom kúpeli, ktorý obsahoval 3-ftalimido-3-(3,4-dimetoxyfenyl)propionamid (v množstve 1,77 gramu, čo je 5,00 mmolov) a 4-metylmorfolín (použitie 1,3 mililitra, čo je 12 mmolov) v DMF (17 mililitrov) pričom táto suspenzia bola udržiavaná pod atmosférou dusíka, pridaný po kvapkách a za použitia striekačky tionylchlorid (použitie 0,7 mililitra, čo je 9,6 mmola). V ďalšom postupe nastal mierny exotermický priebeh a po 30 minútach chladenia bol chladiaci kúpel odstránený a reakčná zmes bola potom ešte premiešavaná po dobu 2 hodín pri teplote miestnosti. Táto reakčná zmes bola potom naliata do zmesi obsahujúcej hydrogénuhličitan sodný  $\text{NaHCO}_3$  (17 gramov) a 75 mililitrov ľadovej vody a táto zmes bola premiešavaná tak dlho, pokiaľ sa ľad nerozpustil. Táto suspenzia bola potom sfiltrovaná a pevný podiel bol premytý dostatočným množstvom vody. Týmto spôsobom bola získaná vlhká pevná látka, ktorá bola rozpustená v dichlórmetáne  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mililitrov) a organická vrstva bola oddelená, usušená síranom sodným a skoncentrovaná vo vákuu za vzniku oranžovej pevnej látky. Táto pevná látka bola potom prečistená dvakrát v okamžikovej chromatografickej kolóne (silikagél, 5/59 EtOAc/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , vnútorný priemer kolóny 50 milimetrov) pričom týmto vyššiu vedeným postupom bol získaný požadovaný produkt vo forme bielej pevnej látky.

Výtťažok : 1,32 gramu (79 %).

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  :

7,9 - 7,6 (m, 4H), 7,10 (m, 2H), 6,83 (m, 1H), 5,64 (dd,  $J = 3,5, 10,2\text{Hz}$ , 1H), 3,88 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 3,82 (dd, 1H), 3,30 (dd,  $J = 6,5, 16,8\text{Hz}$ , 1H);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :

167,7 , 149,5, 149,2, 134,4, 131,5, 129,1, 123,6,  
120,1, 116,9, 111,1, 110,7, 56,0, 55,9, 51,1, 21,1.

Analýza pre  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$  . 0,18  $\text{H}_2\text{O}$ :

vypočítané : 76,2 % C    4,85 % H    8,25 % N

nájdené : 67,23 % C    4,79 % H    8,27 % N

### Príklad 3

Postup prípravy 3-(3'-nitroftalimido)3-(3'-etoxy-4'-metoxyfenyl)propionitrilu.

Pri vykonávaní postupu podľa tohto príkladu bola použitá premiešavaná suspenzia obsahujúca anhydrid kyseliny 3-nitroftalovej (v množstve 0,24 gramu, čo je 1,13 mmolu) a 3-amino-3-(3'-etoxy-4'-metoxyfenyl)propionitril (použitý 0,25 gramu, čo je 1,13 mmolu) v 6 mililitroch kyseliny octovej, pričom táto suspenzia bola zahrievaná pri teplote varu pod spätným chladičom po dobu 12 hodín. Kyselina octová bola potom odstránená vo vákuu a týmto spôsobom bola získaná oranžová gumovitá látka, ktorá bola rozpustená v metylenchloride (10 mililitrov) a tento podiel bol potom premytý nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (dva podiely po 10 mililitroch). Organická vrstva bola potom oddelená a vodná vrstva bola extrahovaná metylenchloridom (10 mililitrov). Organické extrakty boli spojené a tento spojený podiel bol usušený síranom horečnatým, sfiltrovaný a skoncentrovaný vo vákuu, čím bol získaný žltý olej. Tento surový produkt bol potom prečistený v kolóne okamžikovou chromatografickou metódou (silikagel, 5 % etylacetát/metylenchlorid) a výsledná pevná látka bola usušená vo vákuu (pri  $60^\circ\text{C}$ , 133 Pa), pričom týmto zhora uvedeným postupom bol pripravený požadovaný produkt vo forme žltej látky.

Výtťažok : 0,25 gramu (56 %).

Teplota topenia :  $155,5 - 157^\circ\text{C}$ .

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  :

8,20 - 8,09 (m, 2H), 8,02 - 7,86 (m, 1H),

7,15 - 7,02 (m, 2H), 6,88 - 6,76 (m, 1H),

5,64 (dd,  $J = 6,3, 10,6\text{Hz}$ , 1H),

4,09 (q,  $J = 7\text{Hz}$ , 2H), 3,85 (s, 3H),

3,84 (dd,  $J = 10,6, 16,7\text{Hz}$ , 1H),

3,26 (dd,  $J = 6,3, 16,7\text{Hz}$ , 1H), 1,46 (t,  $J = 7\text{Hz}$ , 3H);

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  :

165,3, 162,3, 150,1, 148,7, 144,9, 135,7, 133,5,

129,0, 128,1, 127,4, 123,2, 120,3, 116,6, 112,1,

111,5, 64,6, 55,9, 51,9, 20,9, 14,7.

Analýza pre  $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6$ :

vypočítané :60,76 % C 4,33 % H 10,63 % N

nájdené :60,59 % C 4,22 % H 10,65 % N.

#### Príklad 4

Postup prípravy 3-(3'-aminoftalimido)-3-(3'-etoxy-4'-metoxyfenyl)propionitrilu.

Podľa tohto vyhotovenia bol použitý roztok, ktorý obsahoval 3-(3'-nitroftalimido)-3-(3'-etoxy-4'-metoxyfenyl)propionitril (použitý 0,2 gramu, čo je 0,5 mmolu) v 30 mililitroch etylacetátu, pričom k tomuto roztoku sa pridalo 0,05 gramu 10 %-ného paládia na uhlíkovom katalyzátore. Takto získaná reakčná zmes bola hydrogenovaná v Parr-Shekerovom zariadení pri tlaku vodíka v rozpätí od 380 kPa do 414 kPa po dobu cez noc. Táto reakčná zmes bola potom prefiltrovaná cez celit a získaný filtrát bol skoncentrovaný vo vákuu, čím bol získaný žltý olej. Tento surový produkt bol potom prečistený v okamžikovej chromatografickej kolóne (silikagel, 3 % etylacetát(metylenchlorid)). Výsledná žltá pevná látka bola potom usušená vo vákuu (pri  $60^\circ\text{C}$ , 133 Pa) a týmto horepopísaným spôsobom bol získaný požadovaný produkt.

Výtlačok : 0,09 gramu (50%).

Teplota topenia : 171 - 172,5<sup>0</sup> C.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ :

7,47 - 7,35 (m, 1H), 7,19 - 7,00 (m, 3H),  
6,90 - 6,29 (m, 2H), 5,56 (dd, J = 6,6, 10Hz, 1H),  
5,24 (s, 2H), 4,09 (q, J = 7Hz, 2H), 3,84 (s, 3H),  
3,77 (dd, J = 10, 16,8Hz, 1H),  
3,27 (dd, J = 6,6, 16,8Hz, 1H), 1,45 (t, J = 7Hz, 3H);

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ :

169,4, 167,9, 149,6, 148,5, 145,5, 135,5, 132,1,  
129,4, 121,3, 120,0, 117,1, 113,0, 112,2, 111,4,  
110,6, 64,5, 55,9, 50,7, 21,1, 14,7;

HPLC (Waters Nova-Pak C<sub>18</sub> kolóna, 3,9 x 150 mm, 4 mikrometre, 1 mililiter/minúta, 240 nm, 40/60, CH<sub>3</sub>CN/0,1 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (vodný, 4,5 minúty 100 %.

Analýza pre C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>:

vypočítané: 65,74 % C 5,24 % H 11,50 % N

nájdené : 65,54 % C 5,23 % H 11,23 % N.

## Príklad 5

Postup prípravy 3-ftalimido-3-(3'-etoxy-4'-metoxyfenyl)-propionitrilu.

Pri vykonávaní tohto postupu bol oxalychlorid (použitie 0,49 mililitra, čo je 5,64 mmolu) pridávaný po kvapkách do premiešavaného roztoku chladeného v ľadovom kúpeli, ktorý obsahoval DMF (0,48 mililitra, čo je 6,16 mmolu) a acetonitril (10 mililitrov). Pri tomto postupe sa okamžite vytvorila biela zrazenina, pričom vznik tohto produktu bol doprevádzaný vývojom plynu. Získaná reakčná zmes bola premiešavaná po dobu 30 minút pri teplote v rozpätí od 2 do 3<sup>0</sup> C, na čo bol pridaný pomalým spôsobom roztok 3-ftalimido-3(3'-etoxy-4'-metoxyfenyl)propionamidu (v množstve 1,89 gramu, čo je 5,13 mmolu) v DMF (15 mililitrov). Po 10 minútach bol pridaný pyridín a takto vytvorená reakčná zmes bola premiešavaná po dobu 30 minút pri teplote v rozpätí od 2 do 3<sup>0</sup> C. Získaná reakčná zmes bola potom naliata do 60 mililitrov ľadu a premiešavaná po dobu 20 minút. Táto suspenzia bola potom sfiltrovaná a pevný podiel bol premytý vodou,

usušený na vzduchu a potom bol usušený vo vákuu (pri teplote 60<sup>0</sup> C, <133 Pa), čím bol získaný požadovaný produkt vo forme bielej pevnej látky.

Výťažok : 1,7 gramu (95%).

Teplota topenia : 135 - 137<sup>0</sup> C.

<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>) δ :

<sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>) δ :

7,86 - 7,71 (m, 4H), 7,08 - 7,05 (m, 2H),

6,84 - 6,81 (m, 1H), 5,63 (dd, J = 6,5, 10,3Hz, 1H),

4,11 (q, J = 7Hz, 2H), 3,88 - 3,77 (m, 1H),

3,84 (s, 3H), 3,32 - 3,23 (m, 1H), 1,45 (t, J = 7Hz, 3H);

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ :

167,4, 149,0, 147,8, 134,9, 130,8, 129,2, 123,5, 119,4,

118,2, 112,1, 111,7, 63,8, 55,4, 50,0, 20,5, 14,6.

Analýza pre C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>:

vypočítané : 68,56 % C 5,18 % H 8,00 % N

nájdene : 68,46 % C 5,37 % H 8,02 % N.

## Príklad 6

Postup prípravy 1-(1'-oxo-izoindolín)-1-(3',4'-dimetoxyfenyl)propionitrilu.

Podľa tohto postupu sa použila na ľadovom kúpeli chladená a premiešaná suspenzia, ktorá obsahovala 1-(1'-oxoizoindolín)-1-(3',4'-dimetoxyfenyl)propionamid (použitie 1,7 gramu, čo je 5,00 mmolov) a 4-metylmorfolín (1,3 mililitra, čo je 12 mmolov) v DMF (20 mililitrov), ktorá bola udržiavaná pod atmosférou dusíka, pričom k tejto suspenzii bol pridaný po kvapkách a za použitia striekačky tionylchlorid (v množstve 0,7 mililitra, čo je 9,6 mmolu). Potom nastala mierna exotermická reakcia, pričom po 1 hodine bol chladiaci kúpel odstránený a reakčná zmes bola premiešavaná po dobu 1 hodiny pri teplote miestnosti. Táto reakčná zmes bola potom naliata do 100 mililitrov ľadového kúpela a premiešavaná tak dlho, pokiaľ sa všetok ľad nerozpustil. Takto získaná suspenzia bola sfiltrovaná a pevná látka bola premytá dostatočným množstvom vody. Získaný pevný produkt bol prečistený dvakrát v okamžikovej chromatografickej

kolóne (silikagel, 1/9 a 24(76 etylacetát/dichlórmétán). Týmto spôsobom bol získaný pevný materiál, ktorý bol usušený vo vákuu a takto bol získaný požadovaný produkt vo forme oranžovej pevnej látky.

Výtťažok : 0,97 gramu (60 %).

Teplota topenia : 119 - 121<sup>0</sup> C.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ :

7,94 - 7,85 (m, 1H), 7,61 - 7,30 (m, 3H),

7,05 - 6,85 (m, 3H), 5,73 (t, J = 7Hz, 1H),

4,46 (d, J = 16,7Hz, 1H), 4,19 (d, J = 16,7Hz, 1H),

3,89 (s, 3H), 3,86 (s, 3H), 3,23 (m, 2H);

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ :

168,5, 149,5, 149,4, 141,1, 131,9, 131,8, 128,7,

128,2, 123,9, 122,9, 119,1, 117,4, 111,2, 111,0,

56,0, 55,9, 51,6, 47,3, 21,1.

Analýza pre C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:

vypočítané : 70,79 % C 5,63 % H 8,69 % N

nájdené : 70,26 % C 5,56 % H 8,47 % N.

## Príklad 7

Postup prípravy 1-(1'-oxoizoindolín)-1-(3'-etoxy-4'-metoxyfenyl)propionitrilu.

Podľa tohoto postupu sa použila na ľadovom kúpeli chladená a premiešavaná suspenzia, ktorá obsahovala 1-(1'-oxoizoindolín)-1-(3'-etoxy-4'-metoxyfenyl)-propionamid (použitie 1,2 gramu, čo je 2,8 mmolu) a 4-metylmorfolínu (0,75 mililitra, čo je 6,8 mmolu) v DMF (10 mililitrov), ktorá bola udržiavaná pod atmosférou dusíka, pričom k tejto suspenzii bol pridaný po kvapkách a za použitia striekačky tionylchlorid (v množstve 0,4 mililitra, čo je 5,5 mmolu). Potom nastala mierna exotermická reakcia, pričom po 1 hodine bol chladiaci kúpel odstránený a reakčná zmes bola premiešavaná po dobu 1 hodiny pri teplote miestnosti. Táto reakčná zmes bola potom naliata do 100 mililitrov ľadového kúpela a premiešavaná tak dlho, pokiaľ sa všetok ľad nerozpustil. Takto získaná suspenzia bola sfiltrovaná a pevná látka bola premytá dostatočným

množstvom vody. Získaný pevný produkt bol prečistený v okamžikovej chromatografickej kolóne (silikagel, 1,5/8,5 etylacetát/dichlórmetán). Týmto spôsobom bol získaný pevný materiál, ktorý bol usušený vo vákuu a takto bol získaný požadovaný produkt vo forme pevnej látky farby slonoviny.

Výťažok : 0,57 gramu (60 %)

Teplota topenia : 125 - 125,5 °C.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ :

7,88 (d, J = 7Hz, 1H), 7,60 - 7,30 (m, 3H),  
7,05 - 6,80 (m, 3H), 5,71 (t, J = 6,9Hz, 1H),  
4,45 (d, J = 14Hz, 1H), 4,20 - 4,00 (m, 3H), 3,87 (s, 3H),  
3,23 (m, 2H), 1,44 (t, 7Hz, 3H);

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ :

168,5, 149,7, 148,8, 141,2, 131,9, 131,8, 128,6,  
128,2, 123,9, 122,9, 119,2, 117,4, 112,4, 111,5,  
64,6, 55,9, 51,6, 47,3, 21,1, 14,6.

Analýza pre C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> :

vypočítané :	71,4 % C	5,919 % H	8,33 % N
nájdene :	71,11 % C	5,91 % H	8,17 % N.

## Príklad 8

Tablety, každá obsahujúca 50 miligramov účinnej zložky, môžu byť pripravené nasledujúcim spôsobom :

Zložky (na 1000 tabliet)

---

účinná zložka	50,0 gramov
laktóza	50,7 gramov
pšeničný škrob	7,5 gramov
polyetylén glykol 6000	5,0 gramov



mastenec	5,0 gramov
stearát horečnatý	1,8 gramov
demineralizovaná voda	zvyšok

---

Pevné zložky sa najprv pretlačia sitom o rozmeroch oka 0,6 milimetra. Potom sa zmieša účinná zložka, laktóza, mastenec, stearát horečnatý a polovica škrobu. Ďalšia polovica škrobu sa suspenduje v 40 mililitroch vody a táto suspenzia sa pridá do vriaceho roztoku polyetylén glykolu v 100 mililitroch vody. Výsledná pasta sa pridá k práškovým zložkám a zmes sa granuluje, ak je to nutné za prídavku vody. Granulát sa suší cez noc pri teplote 35 ° C, pretlačí sa sitom o rozmeroch ôk 1,2 milimetra a zlisuje sa za vzniku tabliet približne o priemere 6 milimetrov, ktoré sú z oboch strán konkávne.

### Príklad 9

Tablety obsahujúce každá 100 miligramov účinnej zložky môžu byť pripravené nasledujúcim spôsobom :

#### Zložky (na 1000 tabliet)

---

účinná zložka	100,0 gramov
laktóza	100,0 gramov
pšeničný škrob	47,0 gramov
stearát horečnatý	3,0 gramov

Všetky pevné zložky sa najprv pretlačia sitom o rozmeroch ôk 0,6 milimetra. Potom sa zmieša účinná zložka, laktóza, stearát horečnatý a polovica škrobu. Druhá polovica škrobu sa suspenduje v 40 mililitroch vody a táto suspenzia sa pridá do 100 mililitrov vriacej vody. Výsledná pasta sa pridá k práškovým zložkám a zmes sa granuluje, ak je to nutné za prídavku vody. Granulát sa suší cez noc pri teplote 35 ° C,

pretlačí sa sitom o rozmeroch ok 1,2 milimetra a zlisuje pri vzniku tabliet o priemere približne 6 milimetrov, ktoré sú z obidvoch strán konkávne.

### Príklad 10

Tablety, obsahujúce každá 75 miligramov účinnej zložky, môžu byť pripravené nasledujúcim spôsobom :

Zložky na (1000 tabliet)

---

účinná zložka	75,0 gramov
manitol	230,0 gramov
laktóza	150,0 gramov
mastenec	21,0 gramov
glycín	12,5 gramov
kyselina stearová	10,0 gramov
sacharín	1,5 gramov
5 % roztok želatiny	zvyšok

---

Všetky pevné zložky sa najprv pretlačia sitom o rozmeroch ôk 0,25 milimetra. Manitol a laktóza sa zmiešajú, granulujú za prídavku roztoku želatiny, pretlačia sitom o rozmeroch ôk 2 milimetre, sušia sa pri teplote 50 ° C a opäť sa pretlačia sitom o rozmeroch ôk 1,7 milimetra. Účinná zložka, glycín a sacharín sa starostlivo premiešajú, pridá sa manitol, laktózový granulát, kyselina stearová a mastenec a všetko sa starostlivo premieša a zlisuje za vzniku tabliet o približnom priemere 10 milimetrov, ktoré sú z oboch strán konkávne a majú zárez pre rozlomenie na hornej strane.

**Príklad 11**

Tablety, obsahujúce každá 10 miligramov účinnej zložky, môžu byť pripravené nasledujúcim spôsobom :

Zložky (na 1000 tabliet)

---

účinná zložka	10,0 gramov
laktóza	328,5 gramov
kukuričný škrob	17,5 gramov
polyetylen glykol 6000	5,0 gramov
mastenec	25,0 gramov
stearát horečnatý	4,0 gramu
demineralizovaná voda	zvyšok

---

Pevné zložky sa najprv pretlačia sitom o veľkosti ôk 0,6 milimetra. Potom sa homogénne premieša účinná zložka laktóza, mastok, stearát horečnatý a polovica škrobu. Druhá polovica škrobu sa suspenduje v 65 mililitroch vody a táto suspenzia sa pridá do vriaceho roztoku polyetylen glykolu v 260 mililitroch vody. Výsledná pasta sa pridá k práškovým zložkám a celá zmes sa premieša a granuluje, ak je to nutné za prídavku vody. Granulát sa suší cez noc pri teplote 35 °C, pretlačí sa sitom o veľkosti ôk 1,2 milimetra a zlisuje sa za vzniku tabliet o priemere približne 10 milimetrov, ktoré sú z oboch strán konkávne a majú zárez pre rozlomenie na hornej strane.

**Príklad 12**

Želatinové kapsle so suchou náplňou, obsahujúce každá 100 miligramov účinnej zložky, môžu byť pripravené nasledujúcim spôsobom:

## Zloženie (na 1000 kapslí)

účinná zložka	100,0 gramov
mikrokrystalická celulóza	30,0 gramov
laurylsulfát sodný	2,0 gramov
stearát horečnatý	8,0 gramov

Laurylsulfát sodný sa preseje do účinnej zložky cez sito o veľkosti ôk 0,2 milimetra a tieto dve zložky sa intenzívne miesia 10 minút. Potom sa cez sito o veľkosti ôk 0,9 milimetra pridá mikrokryštalická celulóza a celok sa opäť mieša po dobu 10 minút. Nakoniec sa pridá stearát horečnatý cez sito o veľkosti ôk 0,8 milimetra a po ďalších 3 minútach miešania sa zmes zavedie po častiach predstavujúcich 140 miligramov (každý podiel) do želatinových kapsulí so suchou náplňou o veľkosti 0 (pretiahnutá).

**Príklad 13**

Roztok pre injekcie alebo infúzny roztok o koncentrácii 0,2 % môže byť pripravený nasledujúcim spôsobom :

---

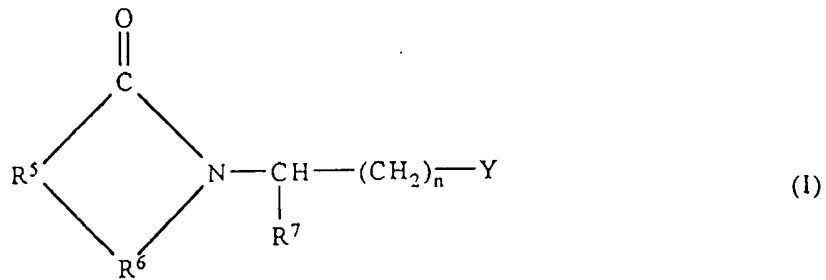
účinná zložka	5,0 gramov
chlorid sodný	22,5 gramov
fosfátový pufr pH 7,4	300,0 gramov
demineralizovaná voda	do 2500,0 mililitrov

---

Účinná zložka sa rozpustí v 1000 mililitroch vody a sfiltruje sa cez mikrofilter alebo sa suspenduje v 1000 mililitroch vody. Pridá sa roztok pufru a objem celej zmesi sa upraví vodou na 2500 mililitrov. Pre prípravu dávkových jednotkových foriem sa každý podiel o objeme 1,0 mililitra alebo 2,5 mililitra zavedie do sklenených ampuliek (každá obsahuje 2,0 miligramu alebo 5,0 miligramu účinnej zložky).

## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Zlúčenina všeobecného vzorca :



v ktorom

O

||

Y znamená skupinu  $-\text{C}\equiv\text{N}$  alebo  $-\text{C}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$ ,

$\underline{m}$  je 0 až 3,

$\text{R}^5$  znamená :

(i) o-fenylénovú skupinu, nesubstituovanú alebo substituovanú jedným alebo viacerými substituentami, pričom každý z nich je nezávisle vybratý zo súboru zahrňujúceho nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluórmetylovú skupinu, karboxyskupinu, karbomoxyskupinu, karbopropoxyskupinu, acetylovú skupinu, karbamoylovú skupinu, karbamoylovú skupinu substituovanú alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, acetoxyskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, aminovú skupinu, aminovú skupinu substituovanú alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, alkoxyskupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, alebo atóm halogénu,

(ii) dvojitý zvyšok pyridínovej skupiny, pyrrolidínovej skupiny, imidazolovej skupiny, naftalénovej skupiny alebo tiofénovej skupiny, pričom uvedené dve väzby sú na susedných uhlíkových atómov v kruhu,

(iii) dvojitú cykloalkylovú skupinu obsahujúcu 4 až 10 atómov uhlíka, nesubstituovanú alebo substituovanú jedným alebo viacerými substituentami, pričom každý z týchto substituentov je navzájom na ostatných nezávisle vybraný zo súboru zahrňujúceho nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluórmetylovú skupinu, karboetoxyskupinu, karbometoxyskupinu, karbopropoxyskupinu, acetylovú skupinu, karbamoylovú skupinu, acetoxyskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, amínovú skupinu, substituovanú amínovú skupinu, alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 10 atómov uhlíka, alkoxyskupinu obsahujúcu 1 až 10 atómov uhlíka, fenylovú skupinu alebo atóm halogénu,

(iv) disubstituovanú vinylenovú skupinu substituovanú nitroskupinou, kyanoskupinou, trifluórmetylovou skupinou, karboetoxyskupinou, karbometoxyskupinou, karbopropoxyskupinou, acetylovou skupinou, karbamoylovou skupinou, karbamoylovou skupinou substituovanou alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, acetoxyskupinou, karboxyskupinou, hydroxyskupinou, aminovou skupinou, aminovou skupinou substituovanou alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 4 atómy uhlíka, alkoxyskupinou obsahujúcou 1 až 4 atómy uhlíka, alebo atómom halogénu,

(v) etylenovú skupinu, nesubstituovanú alebo substituovanú jedným až dvomi substituentami, pričom každý z týchto substituentov je nezávisle na ostatných vybraný zo súboru zahrňujúceho nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluórmetylovú skupinu, karboetoxyskupinu, karbometoxyskupinu, karbopropoxyskupinu, acetylovú skupinu, karbamoylovú skupinu, karbamoylovú skupinu substituovanú alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, acetoxyskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, aminovú skupinu, aminovú skupinu

substituovanú alkylovou skupinou obsahujúcou 1 až 3 atómy uhlíka, alkylovú skupinou obsahujúcou 1 až 4 atómy uhlíka, alkoxykupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, alebo atóm halogénu,

$R^6$  znamená skupinu  $-CO-$ ,  $-CH_2-$ ,  $CH_2CO-$  alebo  $-SO_2-$ ,

$R^7$  znamená :

(i) alkylovú skupinu s priamym alebo rozvetveným reťazcom obsahujúcim 1 až 12 atómov uhlíka,

(ii) cyklickú alebo bicyklickú alkylovú skupinu obsahujúcu 4 až 12 atómov uhlíka,

(iii) pyridylovú skupinu,

(iv) fenylovú skupinu substituovanú jedným alebo viacerými substituentami, pričom každý z týchto substituentov je nezávisle na ostatných vybraný zo súboru zahrňujúceho nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluórmetylovú skupinu, karboetoxyskupinu, karbometoxyskupinu, karbopropoxyskupinu, acetylovú skupinu, karbamoylovú skupinu, acetoxyskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, aminovú skupinu, alkylovú skupinu s priamym reťazcom, rozvetveným reťazcom, cyklickým reťazcom alebo bicyklickým reťazcom obsahujúcim 1 až 10 atómov uhlíka, alkoxykupinu s priamym reťazcom, rozvetveným reťazcom, cyklickým reťazcom alebo bicyklickým reťazcom obsahujúcim 1 až 10 atómov uhlíka, skupinu  $CH^2R$ , v ktorej  $R$  znamená cyklickú, alebo bicyklickú alkylovú skupinu, obsahujúcu 1 až 10 atómov uhlíka, alebo atóm halogénu,

(v) benzylovú skupinu substituovanú jedným až tromi substituentami, pričom každý z týchto substituentov je nezávisle na ostatných vybraný zo súboru zahrňujúceho nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluórmetylovú skupinu, karboetoxyskupinu, karbometoxyskupinu, karbopropoxyskupinu, acetylovú skupinu, karbamoylovú skupinu, acetoxyskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, aminovú skupinu, alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, alkoxykupinu obsahujúcu 1 až 10 atómov uhlíka, alebo atóm halogénu,

(vi) naftylovú skupinu, alebo

(vii) benzyloxyskupinu, a

$n$  má hodnotu 0, 1, 2 alebo 3.



2. Spôsob znižovania hladiny  $\text{TNF}\alpha$  u cicavcov, **vyznačujúci sa tým, že** zahrňuje podávanie účinného množstva zlúčeniny podľa nároku 1 týmto cicavcom.

3. Farmaceutický prostriedok, **vyznačujúci sa tým, že** obsahuje podiel zlúčeniny podľa nároku 1 účinný pri jednotlivkej dávke alebo viacnásobnej dávke na inhibovanie  $\text{TNF}\alpha$ .

4. Spôsob inhibovania fosfodiesterázy u cicavcov, **vyznačujúci sa tým, že sa** týmto cicavcom podáva účinné množstvo zlúčeniny podľa nároku 1.

5. Farmaceutický prostriedok, **vyznačujúci sa tým, že** obsahuje podiel zlúčeniny podľa nároku 1 účinný pri jednotlivkej dávke alebo viacnásobnej dávke na inhibovanie fosfodiesterázy.