

PETITORIO



Industria y Comercio 02 109201 00
SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 02109201 00000000 Folios: 72
Fecha (MM): 2002-12-02 17:03:04
Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC cación
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

① SOLICITUD DE
☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad
☐ Capítulo I ☒ Capítulo II

② SOLICITANTE (71)
Nombre SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION
Dirección One Franklin Plaza, Philadelphia, PA 19103 Estados Unidos de América
Nacionalidad o Domicilio ESTADOUNIDENSE
Lugar de Constitución Pensilvania Estados Unidos de América.
Teléfono Fax.
E Mail
IDENTIFICACION
C C ☐ NIT ☐
C E ☐ Otro ☐
Cual
Número

③ REPRESENTANTE O APODERADO
Nombre CARLOS R. OLARTE
Dirección Avda 82 No 10-62 Piso 6
Teléfono 634-1500 Fax 376-2211
E Mail patnts.bogota@bakernet.com
IDENTIFICACION
C C ☒ NIT ☐
C E ☐ Otro ☐
Cual
Número 79 782 747 Bta TP 74.295

④ INVENTOR (ES) (72)
Nombre MICHAEL R. PALOVICH, BRENT MCCLELAND GUANGPING BI MICHELLE WERNER KATHERINE L. WIDDOWSON
Dirección 620 Whittaker Place Lansdale Pennsylvania 19446 2140 Old Woods Road Green Lane Pennsylvania 18054 2839 Colony Drive Apt F8 Audubon Pennsylvania 19403 4182 Liberty Way Elizabeth Pennsylvania 15037 1047 Old Valley Forge Road King of Prussia Pennsylvania 19406
Nacionalidad o Domicilio EUA EUA CHINA EUA CANADA

⑤ PCT (85)
Solicitud Internacional No PCT/US01/17678 Fecha Mayo 30, 2001
Publicación Internacional No WO 01/92202 Fecha Diciembre 06 2001

⑥ Título (54) ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE LA INTERLEUCINA 8

⑦ Clasificación Internacional (51) A 61K 31/136, C07C 211/00

⑧ Prioridad
SI ☒ NO ☐
(33) País de Origen US
(32) Fecha Mayo 30 2000
(31) Número de Solicitud 60/207 911

⑨ Comprobante de pago No 78,267 Fecha 15-11-02

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario ver reverso de esta página

10

ANEXOS

2

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional (Resumen descripción reivindicaciones dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen descripción reivindicaciones dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 x 12
- ☐ De ser el caso Información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud
- ☐ De ser el caso modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☒ Otros Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERISTICA

12

Solicito la concesión de la patente

NOMBRE CARLOS R. OLARTE

FIRMA 

C C 79 782 747 de Brá T P 74295

NIT 806176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA

02 - 76 267

FECHA

1 NOVIEMBRE 15 DE 2002

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 02109201 00000000

Fecha (HH): 2002-12-02 17:03:04

Folios: 72

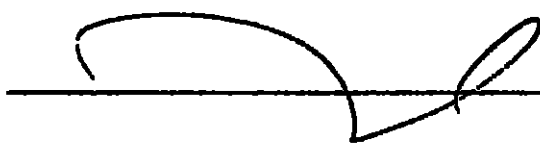
Tramite 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC

Dependencia 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****						
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No PAGO	FECHA PGO	Vr PAGO
JORGIS GOMEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	7970370	15/11/2002	3,780 000 00

***** CONCEPTO *****		
CANT	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	
1	TRANITES DE SOL DE PATENTE DE IN	378,000 00
	TOTAL	\$ 378,000 00

SON TRESCIENTOS SETENTA Y OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No _____

Carrera 13 No 27-00 Pisos 5 7 y 10
Conmutador 382 0840
Fax 350 5220
E-mail info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá D C Colombia

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
6 December 2001 (06.12.2001)

PCT

(10) International Publication Number
WO 01/92202 A1

- (51) International Patent Classification⁷ C07C 211/00 (74) Agents. SIMON, Soma, G et al SmithKline Beecham Corporation, Corporate Intellectual Property UW2220, 709 Swedeland Road, P O Box 1539 King of Prussia, PA 19406-0939 (US)
- (21) International Application Number PCT/US01/17678 ✓
- (22) International Filing Date 30 May 2001 (30.05.2001)
- (25) Filing Language English
- (26) Publication Language English
- (30) Priority Data.
60/207 911 30 May 2000 (30.05.2000) US
- (71) Applicant (for all designated States except US)
SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION
[US/US] One Franklin Plaza, Philadelphia, PA 19103 (US).
- (72) Inventors, and
(73) Inventors/Applicants (for US only) PALOVICH, Michael, R. [US/US] 620 Whitaker Place, Lansdale, PA 19446 (US) MCCLELAND, Brent [US/US] 2140 Old Woods Road, Green Lane, PA 18054 (US). BI, Guangping [CN/US] 2839 Colony Drive, Apt. F8, Audubon, PA 19403 (US). WERNER, Michelle [US/US] 4182 Liberty Way Elizabeth, PA 15037 (US) WIDDOWSON, Katherine, L. [CA/US] 1047 Old Valley Forge Road, King of Prussia, PA 15037 (US).
- (81) Designated States (national) AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW
- (84) Designated States (regional) ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW) Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)
- Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
- For two-letter codes and other abbreviations refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title IL-8 RECEPTOR ANTAGONISTS

(57) Abstract This invention relates to the novel use of dianilino squarates in the treatment of disease states mediated by the chemokine Interleukin-8 (IL-8).

WO 01/92202 A1

IL-8 RECEPTOR ANTAGONISTS

FIELD OF THE INVENTION

This invention relates to a novel group of dianilino squarane compounds,
5 processes for the preparation thereof, the use thereof in treating IL-8, GRO α , GRO β ,
GRO γ , NAP-2, and ENA-78 mediated diseases and pharmaceutical compositions for
use in such therapy

BACKGROUND OF THE INVENTION

Many different names have been applied to Interleukin-8 (IL-8), such as
10 neutrophil attractant/activation protein-1 (NAP-1), monocyte derived neutrophil
chemotactic factor (MDNCF), neutrophil activating factor (NAF), and T-cell
lymphocyte chemotactic factor. Interleukin-8 is a chemoattractant for neutrophils,
basophils, and a subset of T-cells. It is produced by a majority of nucleated cells
including macrophages, fibroblasts, endothelial and epithelial cells exposed to TNF;
15 IL-1 α , IL-1 β or LPS, and by neutrophils themselves when exposed to LPS or
chemotactic factors such as FMLP. M. Baggiolini et al, J. Clin. Invest. 84, 1045
(1989), J. Schroder et al, J. Immunol. 139, 3474 (1987) and J. Immunol. 144, 2223
(1990), Strieter, et al, Science 243, 1467 (1989) and J. Biol. Chem. 264, 10621
(1989), Cassatella et al, J. Immunol. 148, 3216 (1992)
20 GRO α , GRO β , GRO γ and NAP-2 also belong to the chemokine α family.
Like IL-8 these chemokines have also been referred to by different names. For
instance GRO α , β , γ have been referred to as MGS α , β and γ respectively
(Melanoma Growth Stimulating Activity), see Richmond et al, J. Cell Physiology
129, 375 (1986) and Chang et al, J. Immunol. 148, 451 (1992). All of the chemokines
25 of the α -family which possess the ELR motif directly preceding the CXC motif bind
to the IL-8 B receptor.

IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 and ENA-78 stimulate a number of
functions in vitro. They have all been shown to have chemoattractant properties for
neutrophils, while IL-8 and GRO α have demonstrated T-lymphocytes, and
30 basophiles chemotactic activity. In addition IL-8 can induce histamine release from

basophils from both normal and atopic individuals. GRO- α and IL-8 can in addition, induce lysosomal enzyme release and respiratory burst from neutrophils. IL-8 has also been shown to increase the surface expression of Mac-1 (CD11b/CD18) on neutrophils without de novo protein synthesis. This may contribute to increased adhesion of the neutrophils to vascular endothelial cells. Many known diseases are characterized by massive neutrophil infiltration. As IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ and NAP-2 promote the accumulation and activation of neutrophils, these chemokines have been implicated in a wide range of acute and chronic inflammatory disorders including psoriasis and rheumatoid arthritis, Baggiolini et al, FEBS Lett. 307, 97 (1992), Miller et al, Crit. Rev. Immunol. 12, 17 (1992), Oppenheim et al, Annu. Rev. Immunol. 9, 617 (1991), Seitz et al, J. Clin. Invest. 87, 463 (1991), Miller et al, Am. Rev. Respir. Dis. 146, 427 (1992), Donnelly et al, Lancet 341, 643 (1993). In addition the ELR chemokines (those containing the amino acids ELR motif just prior to the CXC motif) have also been implicated in angiostasis, Strieter et al, Science 258, 1798 (1992).

In vitro, IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , and NAP-2 induce neutrophil shape change, chemotaxis, granule release, and respiratory burst, by binding to and activating receptors of the seven-transmembrane, G-protein-linked family, in particular by binding to IL-8 receptors, most notably the B-receptor, Thomas et al, J. Biol. Chem. 266, 14839 (1991), and Holmes et al, Science 253, 1278 (1991). The development of non-peptide small molecule antagonists for members of this receptor family has precedent. For a review see R. Freidinger in, Progress in Drug Research, Vol. 40, pp. 33-98, Birkhauser Verlag, Basel 1993. Hence, the IL-8 receptor represents a promising target for the development of novel anti-inflammatory agents.

Two high affinity human IL-8 receptors (77% homology) have been characterized. IL-8R α , which binds only IL-8 with high affinity, and IL-8R β , which has high affinity for IL-8 as well as for GRO- α , GRO β , GRO γ and NAP-2. See Holmes et al, *supra*, Murphy et al, Science 253, 1280 (1991), Lee et al, J. Biol. Chem. 267, 16283 (1992), LaRosa et al, J. Biol. Chem. 267, 25402 (1992), and Gayle et al, J. Biol. Chem. 268, 7283 (1993).

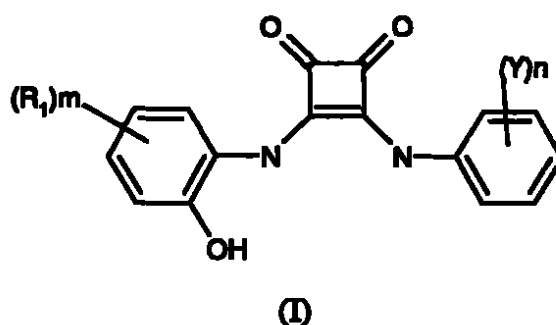
There remains a need for treatment, in this field, for compounds which are capable of binding to the IL-8 α or β receptor. Therefore, conditions associated with an increase in IL-8 production (which is responsible for chemotaxis of neutrophil and T-cells subsets into the inflammatory site) would benefit by compounds which are inhibitors of IL-8 receptor binding.

SUMMARY OF THE INVENTION

This invention provides for a method of treating a chemokine mediated disease, wherein the chemokine is one which binds to an IL-8 α or β receptor and which method comprises administering an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof. In particular the chemokine is IL-8.

This invention also relates to a method of inhibiting the binding of IL-8 to its receptors in a mammal in need thereof which comprises administering to said mammal an effective amount of a compound of Formula (I).

Compounds of Formula (I) useful in the present invention are represented by the structure



wherein

R_1 is independently selected from the group consisting of hydrogen, halogen, nitro, cyano, halosubstituted C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkyl, C₂₋₁₀ alkenyl, C₁₋₁₀ alkoxy, halosubstituted C₁₋₁₀ alkoxy, azide, (CR₈R₈)_q S(O)_tR₄, hydroxy, hydroxy C₁₋₄alkyl, aryl, aryl C₁₋₄ alkyl, aryloxy, aryl C₁₋₄ alkyloxy, heteroaryl, heteroarylalkyl, heterocyclic, heterocyclic C₁₋₄alkyl, heteroaryl C₁₋₄ alkyloxy, aryl C₂₋₁₀ alkenyl, heteroaryl C₂₋₁₀ alkenyl, heterocyclic C₂₋₁₀ alkenyl,

- (CR_gR_g)_qNR₄R₅, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)NR₄R₅, (CR_gR_g)_q C(O)NR₄R₅,
 (CR_gR_g)_q C(O)NR₄R₁₀, S(O)₃H, S(O)₃R₈, (CR_gR_g)_q C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl
 C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)OR₁₁(CR_gR_g)_q C(O)OR₁₂, (CR_gR_g)_q OC(O)
 R₁₁, (CR_gR_g)_qNR₄C(O)R₁₁, (CR_gR_g)_q NHS(O)₂R₁₇, (CR_gR_g)_q
 5 S(O)₂NR₄R₅, or two R₁ moieties together y form O-(CH₂)₅O- or a 5 to 6
 membered unsaturated ring,
 q is 0, or an integer having a value of 1 to 10,
 t is 0, or an integer having a value of 1 or 2,
 s is an integer having a value of 1 to 3,
 10 R₄ and R₅ are independently selected from the group consisting of hydrogen,
 optionally substituted C₁₋₄ alkyl, optionally substituted aryl, optionally
 substituted aryl C₁₋₄alkyl, optionally substituted heteroaryl, optionally
 substituted heteroaryl C₁₋₄alkyl, heterocyclic, and heterocyclic C₁₋₄ alkyl, or R₄
 and R₅ together with the nitrogen to which they are attached form a 5 to 7
 15 member ring which optionally comprises an additional heteroatom selected from
 oxygen, nitrogen or sulfur,
 Y is independently selected from the group consisting of hydrogen, halogen, nitro,
 cyano, halosubstituted C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkyl, C₂₋₁₀ alkenyl, C₁₋₁₀ alkoxy,
 halosubstituted C₁₋₁₀ alkoxy, azide, (CR_gR_g)_q S(O)_tR₄, hydroxy, hydroxyC₁₋
 20 4alkyl, aryl, aryl C₁₋₄ alkyl, aryloxy, arylC₁₋₄ alkyloxy, heteroaryl,
 heteroarylalkyl, heteroaryl C₁₋₄ alkyloxy, heterocyclic, heterocyclic C₁₋₄alkyl,
 aryl C₂₋₁₀ alkenyl, heteroaryl C₂₋₁₀ alkenyl, heterocyclic C₂₋₁₀ alkenyl,
 (CR_gR_g)_q NR₄R₅, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)NR₄R₅, (CR_gR_g)_q C(O)NR₄R₅,
 (CR_gR_g)_q C(O)NR₄R₁₀, S(O)₃H, S(O)₃R₈, (CR_gR_g)_q C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl
 25 C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)OR₁₁, C(O)R₁₁, (CR_gR_g)_q C(O)OR₁₂,
 (CR_gR_g)_q OC(O) R₁₁, (CR_gR_g)_q NR₄C(O)R₁₁, (CR_gR_g)_q NHS(O)₂R_d, and
 (CR_gR_g)_q S(O)₂NR₄R₅, or two Y moieties together form O-(CH₂)₅O- or a 5 to
 6 membered unsaturated ring.

7
4

n is an integer having a value of 1 to 5,

m is an integer having a value of 1 to 4,

R₈ is hydrogen or C₁₋₄ alkyl,

R₁₀ is C₁₋₁₀ alkyl C(O)₂R₈,

- 5 R₁₁ is selected from the group consisting of hydrogen, C₁₋₄ alkyl, optionally substituted aryl, optionally substituted aryl C₁₋₄alkyl, optionally substituted heteroaryl, optionally substituted heteroarylC₁₋₄alkyl, optionally substituted heterocyclic, and optionally substituted heterocyclicC₁₋₄alkyl,

10 R₁₂ is selected from hydrogen, C₁₋₁₀ alkyl, optionally substituted aryl and optionally substituted arylalkyl,

R₁₇ is selected from the group consisting of C₁₋₄alkyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylC₁₋₄alkyl, heterocyclic, and heterocyclicC₁₋₄alkyl, wherein the aryl, heteroaryl and heterocyclic rings are all optionally substituted.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

- 15 The compounds of Formula (I) may also be used in association with the veterinary treatment of mammals, other than humans, in need of inhibition of IL-8 or other chemokines which bind to the IL-8RA and RB receptors. Chemokine mediated diseases for treatment, therapeutically or prophylactically, in animals include disease states such as those noted herein in the Methods of Treatment
- 20 section.

The following terms, as used herein, refer to

- "halo" - all halogens, that is chloro, fluoro, bromo and iodo
 - "C₂₋₅alkyl" or "alkyl" - both straight and branched chain moieties of 2 to 5 carbon atoms, unless the chain length is otherwise limited, including, but not limited
- 25 to, methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, sec-butyl, iso-butyl, tert-butyl, n-pentyl and the like

•The term "alkenyl" is used herein at all occurrences to mean straight or branched chain moieties of 2-10 carbon atoms, unless the chain length is limited

thereto, including, but not limited to ethenyl, 1-propenyl, 2-propenyl, 2-methyl-1-propenyl, 1-butenyl, 2-butenyl and the like.

- "aryl" - phenyl and naphthyl,
- "heteroaryl" (on its own or in any combination, such as "heteroaryloxy", or "heteroaryl alkyl") - a 5-10 membered aromatic ring system in which one or more rings contain one or more heteroatoms selected from the group consisting of N, O or S, such as, but not limited, to pyrrole, pyrazole, furan, thiophene, quinoline, isoquinoline, quinoxalyl, pyridine, pyrimidine, oxazole, thiazole, thiadiazole, triazole, imidazole, or benzimidazole
- "heterocyclic" (on its own or in any combination, such as "heterocyclicalkyl") - a saturated or partially unsaturated 4-10 membered ring system in which one or more rings contain one or more heteroatoms selected from the group consisting of N, O, or S, such as, but not limited to, pyrrolidine, piperidine, piperazine, morpholine, tetrahydropyran, or imidazolidine.
- The term "arylalkyl" or "heteroarylalkyl" or "heterocyclicalkyl" is used herein to mean C₁₋₁₀ alkyl, as defined above, attached to an aryl, heteroaryl or heterocyclic moiety, as also defined herein, unless otherwise indicated

Illustrative compounds of Formula (I) include

- 3-(2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(2-hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dichlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(2-methoxy-benzylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dichlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
- 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-phenylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

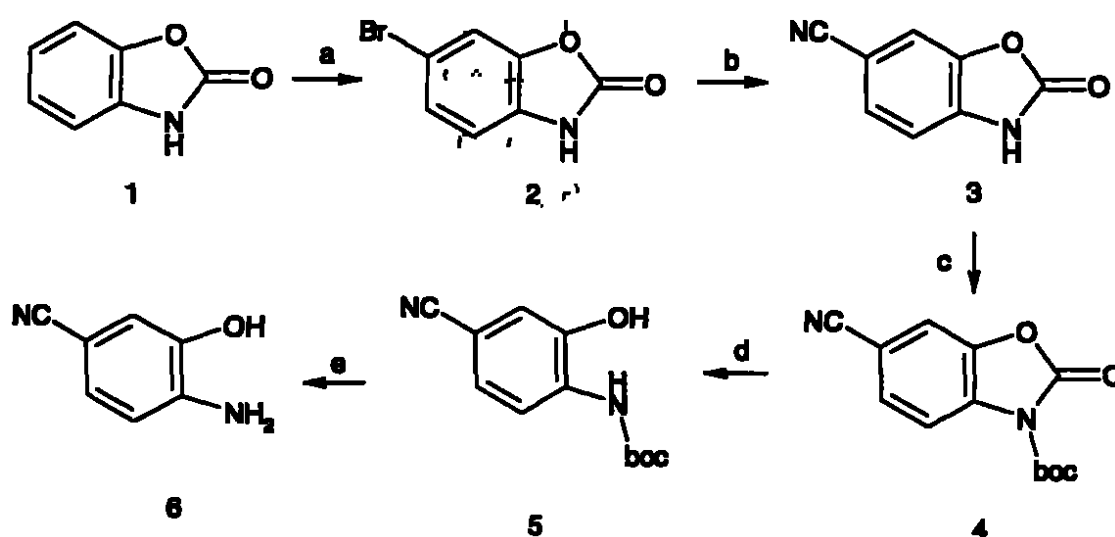
- 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-ethylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-phenoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
5 6-Chloro-3-(3,4-dioxo-2-phenylamino-cyclobut-1-enylamino)-2-hydroxy-
benzenesulfonamide,
3,4-bis-(4-cyano-2-hydroxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dimethylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
dione,
10 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methyl-4-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-
1,2-dione,
3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-propylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methyl-3-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
dione,
15 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dimethoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
dione,
3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-chloro-3-methylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
dione,
3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
20 dione,
3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-
dione,
3,4-bis-(4-nitro-2-hydroxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
3-[(2-Hydroxy-phenyl)-methyl-amino]-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
25 3-(3-Hydroxy-pyridin-2-ylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
or a pharmaceutically acceptable salt thereof

METHODS OF PREPARATION

- The compounds of Formula (I) may be obtained by applying synthetic
procedures, some of which are illustrated in the Schemes below The synthesis
30 provided for in these Schemes is applicable for producing compounds of Formula (I)

having a variety of different R, R₁, and aryl groups which are reacted, employing optional substituents which are suitably protected, to achieve compatibility with the reactions outlined herein. Subsequent deprotection, in those cases, then affords compounds of the nature generally disclosed. Once the guanidine nucleus has been established, further compounds of these formulas may be prepared by applying standard techniques for functional group interconversion, well known in the art. While the schemes are shown with compounds only of Formula (I) this is merely for illustration purposes only

10

Scheme 1

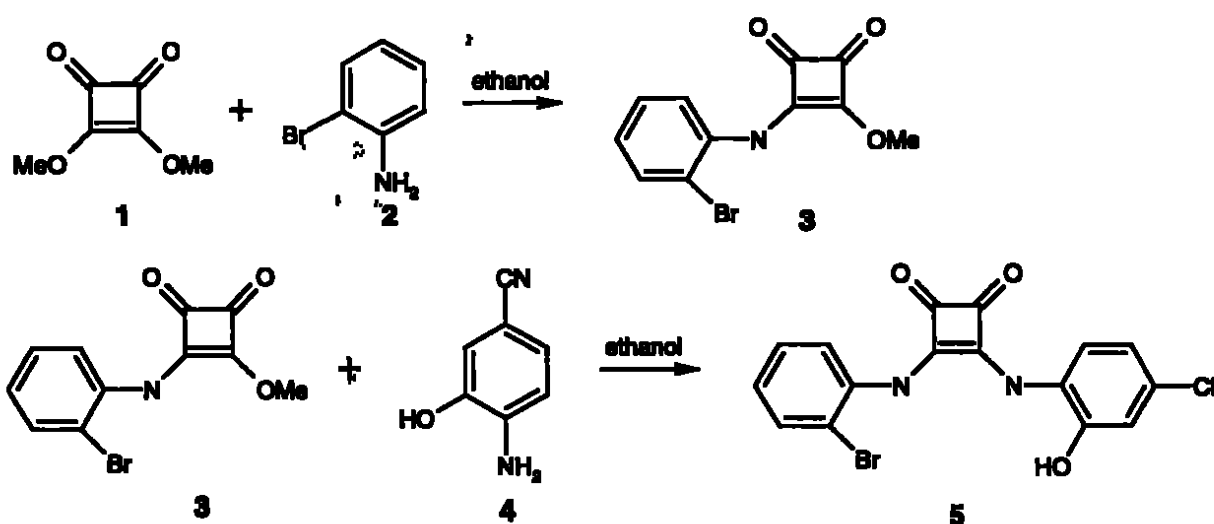
a) Br₂, NaOAc, HOAc, b) CuCN, DMF, reflux, c) (BOC)₂O, DMAP, TEA, d) K₂CO₃, MeOH, e) TFA

The desired aniline 6-scheme-1 can be prepared from the commercially available benzoxazolinone 1-scheme-1. Bromide 2-scheme-1 can be prepared from benzoxazolinone 1-scheme-1 using standard bromination conditions such as bromine and sodium acetate in acetic acid. Bromide 2-scheme-1 can be converted to the cyanide 3-scheme-1 using standard procedures such as copper (I) cyanide in refluxing DMF. The amide 3-scheme-1 can be converted to the BOC protected compound 4-scheme-1 using standard conditions such as BOC anhydride and

triethylamine with a catalytic amount of dimethylaminopyridine in methylene chloride or another suitable organic solvent. The oxazolinone 4-scheme-1 can be converted to the desired aniline 6-scheme-1 by first hydrolysis to the phenol 5-scheme-1 using standard conditions such as potassium carbonate in methanol

- 5 followed by removal of the BOC protecting group using standard conditions such as trifluoroacetic acid in methylene chloride or another suitable organic solvent to give the aniline 6-scheme-1

Scheme 2



10

- Compounds of structure 5 will be obtained from the commercially available dimethylether squarate 1 as outlined in Scheme 1. Intermediate 3 can be obtained by reacting the dimethylether squarate 1 with the desired aniline 2 in refluxing ethanol or other suitable organic solvent. The desired squarane compound 5 can be obtained by reacting squarane 3 with a second aniline 4 in refluxing ethanol or other suitable organic solvent.

SYNTHETIC EXAMPLES

- The invention will now be described by reference to the following examples which are merely illustrative and are not to be construed as a limitation of the scope of the present invention. All temperatures are given in degrees centigrade, all solvents are highest

20

available purity and all reactions run under anhydrous conditions in an argon atmosphere unless otherwise indicated

In the Examples, all temperatures are in degrees Centigrade (°C) Mass spectra were performed upon a VG Zab mass spectrometer using fast atom bombardment, unless
5 otherwise indicated. ¹H-NMR (hereinafter "NMR") spectra were recorded at 250 MHz using a Bruker AM 250 or Am 400 spectrometer Multiplicities indicated are s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quartet, m=multiplet and br indicates a broad signal Sat. indicates a saturated solution, eq indicates the proportion of a molar equivalent of reagent relative to the principal reactant.

10

3-(2,3-dichloroanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (100mg, 0.43mmol) in toluene (2mL) and DMSO (1 drop) was added 2,3-dichloroaniline (0.07mL, 0.43mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight The resulting
15 solid was collected by filtration, washed with ethyl acetate to remove toluene and dried *in vacuo* LC-MS (m/z) 349 (M⁺)

3-(2-bromoanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-bromoaniline (36.9mg, 0.21mmol) and
20 reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile/water) and product was concentrated down Solid was dried *in vacuo* LC-MS (m/z) 359 (M⁻)

3-(2-phenylanilino)-4-(2-hydroxyvanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-aminobiphenyl (36.3mg, 0.21mmol) and
5 reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile/water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*.
LC-MS (m/z) 357.2 (M⁺)

3-(2-methoxyvanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione

10 To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-methoxyaniline (0.024mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile/water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*.
LC-MS (m/z) 311.4 (M⁺)

15

3-(2-ethylanilino)-4-(2-hydroxyvanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-ethylaniline (0.024mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC
20 (acetonitrile/water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*.
LC-MS (m/z) 309 (M⁺)

3-(2-phenoxyvanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-phenoxyaniline (49mg, 0.21mmol) and
25 reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile/water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*.
LC-MS (m/z) 373 (M⁺)

3-(2-chloroanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-chloroaniline (0.023mL, 0.21mmol) and
5 reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*.
LC-MS (m/z) 315 (M⁺)

3-(2-methylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

10 To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-methylaniline (0.023mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*.
LC-MS (m/z) 295 (M⁺)

15

3-(2,3-dimethylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2,3-dimethylaniline (0.026mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC
20 (acetonitrile water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*.
LC-MS (m/z) 309 (M⁺)

3-(4-bromo-2-methylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 4-bromo-2-methylaniline (40mg, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on
25 HPLC (acetonitrile water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*.
LC-MS (m/z) 373 (M⁺)

3-(2-propylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-propylaniline (0.030mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC

- 5 (acetonitrile/water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*
LC-MS (m/z) 323 (M⁺)

3-(3-chloro-2-methylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 3-chloro-2-methylaniline (0.026mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile/water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 329 (M⁺)

15 **3-(2,3-methoxyanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.**

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2,3-methoxyaniline (0.031mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile/water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*

- 20 LC-MS (m/z) 341 (M⁺)

3-(2-chloro-3-methylanilino)-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione.

To a solution of 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione (50mg, 0.21mmol) in DMSO (1.5mL) was added 2-chloro-3-methylaniline (0.026mL, 0.21mmol) and reaction was stirred at 110°C overnight. Reaction was purified on HPLC (acetonitrile/water) and product was concentrated down. Solid was dried *in vacuo*. LC-MS (m/z) 329 (M⁺)

- 25

3-(2-Hydroxyanilino)-4-(2-bromoanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione

To bromoaniline (74mg, 0.43mmol) was added 214 μ L of 2M trimethylaluminum in toluene at room temperature. The mixture was stirred until the gaseous evolution
5 ceased, then was added 3-ethoxy-4-(2-hydroxyanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione (50mg, 0.21 mmol) in 1mL methylenechloride. The mixture was reacted at room temperature for overnight. The reaction mixture was quenched with water, followed by aqueous work up. The organic layer was dried over sodium sulfate and concentrated. After Gilson HPLC, 14mg (12%) of purified product was obtained.
10 LCMS(H⁺) 359

3-(2-bromoanilino)-4-(2-Hydroxy-4-cyanoanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione

A solution of 3,4-diethoxy-3-cyclobutene-1,2-dione (1.2 mL, 8.12 mmol) and 3-hydroxy-4-aminobenzonitrile (1.25g, 8.11mmol) in ethanol was heated at 85°C for
15 overnight. A tan precipitates forms. The solid was filtered, and collected. 1.12g (53%) of 3-ethoxy-4-(2-hydroxy-4-cyanoanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione was obtained. LC/MS(H⁺) 259

A mixture of 3-ethoxy-4-(2-hydroxy-4-cyanoanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione (0.7g, 2.71mmol) and 2-bromoaniline (0.47g, 2.73mmol) were heated in 6ml DMSO for
20 overnight. The reaction mixture was cooled to room temperature, and ethylacetate was added and precipitates formed. The filtrate was partitioned between ethylacetate and water. The organic layer was dried over sodium sulfate and concentrated. After Gilson HPLC, 34mg (3%) of purified product was obtained. LC/MS (H⁺) 386

3-(2-Bromoanilino)-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione

A solution of 3-ethoxy-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione (0.39g, 1.4mmol) and 2-bromoaniline (0.36g, 2.09mmol) in 2mL DMSO was heated
25 at 110°C for overnight. The reaction mixture was cooled to room temperature, and ethylacetate was added, and a precipitate formed. The filtrate was partitioned
30 between ethylacetate and water. The organic layer was dried over sodium sulfate

and concentrated. Titration from acetone and hexanes gave 106mg (19 %) of 3-(2-bromoanilino)-4-(2-hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione LCMS(H+) 404

5 **3-(2-chloroanilino)-4-(2-hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione**

A solution of 3-ethoxy-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione (0.38g, 1.37mmol) and 2-chloroaniline (0.23mL, 2.2mmol) in 2mL DMSO was heated at 110°C for overnight. The reaction mixture was cooled to room temperature, and ethylacetate was added, and a precipitate formed. The filtrate was partitioned between ethylacetate and water. The organic layer was dried over sodium sulfate and concentrated. Recrystallized from ethylacetate and hexanes, 203mg (41%) of 3-(2-chloroanilino)-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione was obtained. LCMS(H+) 360

15 **3-(2,3-dichloroanilino)-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione**

A solution of 3-ethoxy-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione (0.40g, 1.44mmol) and 2,3-dichloroaniline (0.34g, 2.10mmol) in 2mL DMSO was heated at 110°C for overnight. The reaction mixture was cooled to room temperature, and ethylacetate was added, a precipitate formed. The filter cake was collected. Titration from acetone and hexanes gave 68mg (11%) of 3-(2-chloroanilino)-4-(2-Hydroxy-4-nitroanilino)-3-cyclobutene-1,2-dione LCMS(H+) 394

METHOD OF TREATMENT

The compounds of Formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt thereof can be used in the manufacture of a medicine for the prophylactic or therapeutic treatment of any disease state in a human, or other mammal, which is exacerbated or caused by excessive or unregulated IL-8 cytokine production by such mammal's cell, such as but not limited to monocytes and/or macrophages, or other chemokines which bind to the IL-8 α or β receptor, also referred to as the type I or type II receptor

Accordingly, the present invention provides a method of treating a chemokine mediated disease, wherein the chemokine is one which binds to an IL-8 α or β receptor and which method comprises administering an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof. In particular, the chemokines are IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78

The compounds of Formula (I) are administered in an amount sufficient to inhibit cytokine function, in particular IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78, such that they are biologically regulated down to normal levels of physiological function, or in some case to subnormal levels, so as to ameliorate the disease state. Abnormal levels of IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 for instance in the context of the present invention, constitute (i) levels of free IL-8 greater than or equal to 1 picogram per mL, (ii) any cell associated IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 above normal physiological levels, or (iii) the presence of IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 above basal levels in cells or tissues in which IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 respectively, is produced.

The compounds of Formula (I), in generally have been shown to have a longer $t_{1/2}$ and improved oral bioavailability over the compounds disclosed in WO 96/25157 and WO 97/29743 whose disclosures are incorporated herein by reference.

There are many disease states in which excessive or unregulated IL-8 production is implicated in exacerbating and/or causing the disease. Chemokine mediated diseases include psoriasis, atopic dermatitis, osteo arthritis, rheumatoid

arthritis, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, adult respiratory distress syndrome, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, stroke, septic shock, multiple sclerosis, endotoxic shock, gram negative sepsis, toxic shock syndrome, cardiac and renal reperfusion injury, glomerulonephritis, thrombosis, graft vs host reaction, alzheimers disease, allograft rejections, malaria, restinosis, angiogenesis, atherosclerosis, osteoporosis, gingivitis and undesired hematopoietic stem cells release and diseases caused by respiratory viruses, herpesviruses, and hepatitis viruses, meningitis, herpes encephalitis, CNS vasculitis, traumatic brain injury, CNS tumors, subarachnoid hemorrhage, post surgical trauma, interstitial pneumonitis, hypersensitivity, crystal induced arthritis, acute and chronic pancreatitis, acute alcoholic hepatitis, necrotizing enterocolitis, chronic sinusitis, uveitis, polymyositis, vasculitis, acne, gastric and duodenal ulcers, celiac disease, esophagitis, glossitis, airflow obstruction, airway hyperresponsiveness, bronchiolitis obliterans organizing pneumonia, bronchiectasis, bronchiolitis, bronchiolitis obliterans, chronic bronchitis, cor pulmonae, dyspnea, emphysema, hypercapnea, hyperinflation, hypoxemia, hypoxia, surgical lung volume reduction, pulmonary fibrosis, pulmonary hypertension, right ventricular hypertrophy, sarcoidosis, small airway disease, ventilation-perfusion mismatching, wheeze and lupus

These diseases are primarily characterized by massive neutrophil infiltration, T-cell infiltration, or neovascular growth, and are associated with increased IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 production which is responsible for the chemotaxis of neutrophils into the inflammatory site or the directional growth of endothelial cells. In contrast to other inflammatory cytokines (IL-1, TNF, and IL-6), IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 have the unique property of promoting neutrophil chemotaxis, enzyme release including but not limited to elastase release as well as superoxide production and activation. The α -chemokines but particularly, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78, working through the IL-8 type I or II receptor can promote the neovascularization of tumors by promoting the directional growth of endothelial cells. Therefore, the inhibition of IL-8 induced

chemotaxis or activation would lead to a direct reduction in the neutrophil infiltration

Recent evidence also implicates the role of chemokines in the treatment of HIV infections, Littleman *et al* , Nature 381, pp 661 (1996) and Koup *et al* , Nature
5 381, pp 667 (1996)

Present evidence also indicates the use of IL-8 inhibitors in the treatment of atherosclerosis. The first reference, Boisvert *et al* , J. Clin. Invest., 1998, 101 353-363 shows, through bone marrow transplantation, that the absence of IL-8 receptors on stem cells (and, therefore, on monocytes/macrophages) leads to a reduction in the
10 development of atherosclerotic plaques in LDL receptor deficient mice. Additional supporting references are Apostolopoulos, *et al* , Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol 1996, 16 1007-1012, Liu, *et al.*, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol, 1997, 17 317-323, Rus, *et al* , Atherosclerosis 1996, 127 263-271 , Wang *et al* , J. Biol. Chem. 1996, 271 8837-8842, Yue, *et al* , Eur. J. Pharmacol 1993, 240 81-84, Koch, *et al* ,
15 Am. J. Pathol., 1993, 142 1423-1431 , Lee, *et al* , Immunol. Lett., 1996, 53, 109-113 , and Terkeltaub *et al* , Arterioscler. Thromb., 1994, 14 47-53

The present invention also provides for a means of treating, in an acute setting, as well as preventing, in those individuals deemed susceptible to, CNS injuries by the chemokine receptor antagonist compounds of Formula (I)

20 CNS injuries as defined herein include both open or penetrating head trauma, such as by surgery, or a closed head trauma injury, such as by an injury to the head region. Also included within this definition is ischemic stroke, particularly to the brain area.

Ischemic stroke may be defined as a focal neurologic disorder that results
25 from insufficient blood supply to a particular brain area, usually as a consequence of an embolus, thrombi, or local atheromatous closure of the blood vessel. The role of inflammatory cytokines in this area has been emerging and the present invention provides a mean for the potential treatment of these injuries. Relatively little treatment, for an acute injury such as these has been available.

TNF- α is a cytokine with proinflammatory actions, including endothelial leukocyte adhesion molecule expression. Leukocytes infiltrate into ischemic brain lesions and hence compounds which inhibit or decrease levels of TNF would be useful for treatment of ischemic brain injury. See Liu *et al*, Stroke, Vol 25, No 7, pp 1481-88 (1994) whose disclosure is incorporated herein by reference.

Models of closed head injuries and treatment with mixed 5-LO/CO agents is discussed in Shohami *et al*, J of Vasc & Clinical Physiology and Pharmacology, Vol 3, No 2, pp 99-107 (1992) whose disclosure is incorporated herein by reference. Treatment, which reduced edema formation, was found to improve functional outcome in those animals treated.

The compounds of Formula (I) are administered in an amount sufficient to inhibit IL-8, binding to the IL-8 alpha or beta receptors, from binding to these receptors, such as evidenced by a reduction in neutrophil chemotaxis and activation. The discovery that the compounds of Formula (I) are inhibitors of IL-8 binding is based upon the effects of the compounds of Formulas (I) in the *in vitro* receptor binding assays which are described herein. The compounds of Formula (I) have been shown to be inhibitors of type II IL-8 receptors.

As used herein, the term "IL-8 mediated disease or disease state" refers to any and all disease states in which IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 plays a role, either by production of IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 themselves, or by IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78 causing another monokine to be released, such as but not limited to IL-1, IL-6 or TNF. A disease state in which, for instance, IL-1 is a major component, and whose production or action, is exacerbated or secreted in response to IL-8, would therefore be considered a disease state mediated by IL-8.

As used herein, the term "chemokine mediated disease or disease state" refers to any and all disease states in which a chemokine which binds to an IL-8 α or β receptor plays a role, such as but not limited to IL-8, GRO- α , GRO- β , GRO γ , NAP-2 or ENA-78. This would include a disease state in which, IL-8 plays a role, either by production of IL-8 itself, or by IL-8 causing another monokine to be released,

such as but not limited to IL-1, IL-6 or TNF. A disease state in which, for instance, IL-1 is a major component, and whose production or action, is exacerbated or secreted in response to IL-8, would therefore be considered a disease state mediated by IL-8

5 As used herein, the term "cytokine" refers to any secreted polypeptide that affects the functions of cells and is a molecule, which modulates interactions between cells in the immune, inflammatory or hematopoietic response. A cytokine includes, but is not limited to, monokines and lymphokines, regardless of which cells produce them. For instance, a monokine is generally referred to as being
10 produced and secreted by a mononuclear cell, such as a macrophage and/or monocyte. Many other cells however also produce monokines, such as natural killer cells, fibroblasts, basophils, neutrophils, endothelial cells, brain astrocytes, bone marrow stromal cells, epidermal keratinocytes and B-lymphocytes. Lymphokines are generally referred to as being produced by lymphocyte cells. Examples of cytokines
15 include, but are not limited to, Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8), Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) and Tumor Necrosis Factor beta (TNF- β)

As used herein, the term "chemokine" refers to any secreted polypeptide that affects the functions of cells and is a molecule which modulates interactions between
20 cells in the immune, inflammatory or hematopoietic response, similar to the term "cytokine" above. A chemokine is primarily secreted through cell transmembranes and causes chemotaxis and activation of specific white blood cells and leukocytes, neutrophils, monocytes, macrophages, T-cells, B-cells, endothelial cells and smooth muscle cells. Examples of chemokines include, but are not limited to IL-8, GRO- α ,
25 GRO- β , GRO- γ , NAP-2, ENA-78, IP-10, MIP-1 α , MIP- β , PF4, and MCP 1, 2, and 3

In order to use a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof in therapy, it will normally be formulated into a pharmaceutical composition in accordance with standard pharmaceutical practice. This invention, therefore, also relates to a pharmaceutical composition comprising an effective, non-

toxic amount of a compound of Formula (I) and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent.

Compounds of Formula (I), pharmaceutically acceptable salts thereof and pharmaceutical compositions incorporating such may conveniently be administered by any of the routes conventionally used for drug administration, for instance, orally, topically, parenterally or by inhalation. The compounds of Formula (I) may be administered in conventional dosage forms prepared by combining a compound of Formula (I) with standard pharmaceutical carriers according to conventional procedures. The compounds of Formula (I) may also be administered in conventional dosages in combination with a known, second therapeutically active compound. These procedures may involve mixing, granulating and compressing or dissolving the ingredients as appropriate to the desired preparation. It will be appreciated that the form and character of the pharmaceutically acceptable carrier or diluent is dictated by the amount of active ingredient with which it is to be combined, the route of administration and other well-known variables. The carrier(s) must be "acceptable" in the sense of being compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient thereof.

The pharmaceutical carrier employed may be, for example, either a solid or liquid. Exemplary of solid carriers are lactose, terra alba, sucrose, talc, gelatin, agar, pectin, acacia, magnesium stearate, stearic acid and the like. Exemplary of liquid carriers are syrup, peanut oil, olive oil, water and the like. Similarly, the carrier or diluent may include time delay material well known to the art, such as glyceryl mono-stearate or glyceryl distearate alone or with a wax.

A wide variety of pharmaceutical forms can be employed. Thus, if a solid carrier is used, the preparation can be tableted, placed in a hard gelatin capsule in powder or pellet form or in the form of a troche or lozenge. The amount of solid carrier will vary widely but preferably will be from about 25mg to about 1g. When a liquid carrier is used, the preparation will be in the form of a syrup, emulsion, soft gelatin capsule, sterile injectable liquid such as an ampule or nonaqueous liquid suspension.

Compounds of Formula (I) may be administered topically, that is by non-systemic administration. This includes the application of a compound of Formula (I) externally to the epidermis or the buccal cavity and the instillation of such a compound into the ear, eye and nose, such that the compound does not significantly enter the blood stream. In contrast, systemic administration refers to oral, intravenous, intraperitoneal and intramuscular administration.

Formulations suitable for topical administration include liquid or semi-liquid preparations suitable for penetration through the skin to the site of inflammation such as liniments, lotions, creams, ointments or pastes, and drops suitable for administration to the eye, ear or nose. The active ingredient may comprise, for topical administration, from 0.001% to 10% w/w, for instance from 1% to 2% by weight of the Formulation. It may however comprise as much as 10% w/w but preferably will comprise less than 5% w/w, more preferably from 0.1% to 1% w/w of the Formulation.

Lotions according to the present invention include those suitable for application to the skin or eye. An eye lotion may comprise a sterile aqueous solution optionally containing a bactericide and may be prepared by methods similar to those for the preparation of drops. Lotions or liniments for application to the skin may also include an agent to hasten drying and to cool the skin, such as an alcohol or acetone, and/or a moisturizer such as glycerol or an oil such as castor oil or arachis oil.

Creams, ointments or pastes according to the present invention are semi-solid formulations of the active ingredient for external application. They may be made by mixing the active ingredient in finely-divided or powdered form, alone or in solution or suspension in an aqueous or non-aqueous fluid, with the aid of suitable machinery, with a greasy or non-greasy base. The base may comprise hydrocarbons such as hard, soft or liquid paraffin, glycerol, beeswax, a metallic soap, a mucilage, an oil of natural origin such as almond, corn, arachis, castor or olive oil, wool fat or its derivatives or a fatty acid such as stearic or oleic acid together with an alcohol such as propylene glycol or a macrogel. The formulation may incorporate any

suitable surface active agent such as an anionic, cationic or non-ionic surfactant such as a sorbitan ester or a polyoxyethylene derivative thereof. Suspending agents such as natural gums, cellulose derivatives or inorganic materials such as siliceous silicas, and other ingredients such as lanolin, may also be included.

5 Drops according to the present invention may comprise sterile aqueous or oily solutions or suspensions and may be prepared by dissolving the active ingredient in a suitable aqueous solution of a bactericidal and/or fungicidal agent and/or any other suitable preservative, and preferably including a surface active agent. The resulting solution may then be clarified by filtration, transferred to a
10 suitable container which is then sealed and sterilized by autoclaving or maintaining at 98-100 °C for half an hour. Alternatively, the solution may be sterilized by filtration and transferred to the container by an aseptic technique. Examples of bactericidal and fungicidal agents suitable for inclusion in the drops are phenylmercuric nitrate or acetate (0.002%), benzalkonium chloride (0.01%) and
15 chlorhexidine acetate (0.01%). Suitable solvents for the preparation of an oily solution include glycerol, diluted alcohol and propylene glycol.

Compounds of formula (I) may be administered parenterally, that is by intravenous, intramuscular, subcutaneous intranasal, intrarectal, intravaginal or intraperitoneal administration. The subcutaneous and intramuscular forms of
20 parenteral administration are generally preferred. Appropriate dosage forms for such administration may be prepared by conventional techniques. Compounds of Formula (I) may also be administered by inhalation, that is by intranasal and oral inhalation administration. Appropriate dosage forms for such administration, such as an aerosol formulation or a metered dose inhaler, may be prepared by
25 conventional techniques.

For all methods of use disclosed herein for the compounds of Formula (I), the daily oral dosage regimen will preferably be from about 0.01 to about 80 mg/kg of total body weight. The daily parenteral dosage regimen about 0.001 to about 80 mg/kg of total body weight. The daily topical dosage regimen will preferably be
30 from 0.1 mg to 150 mg, administered one to four, preferably two or three times.

daily The daily inhalation dosage regimen will preferably be from about 0.01 mg/kg to about 1 mg/kg per day. It will also be recognized by one of skill in the art that the optimal quantity and spacing of individual dosages of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof will be determined by the nature and extent of the condition being treated, the form, route and site of administration, and the particular patient being treated, and that such optimums can be determined by conventional techniques. It will also be appreciated by one of skill in the art that the optimal course of treatment, i.e., the number of doses of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof given per day for a defined number of days, can be ascertained by those skilled in the art using conventional course of treatment determination tests.

The invention will now be described by reference to the following biological examples which are merely illustrative and are not to be construed as a limitation of the scope of the present invention.

BIOLOGICAL EXAMPLES

The IL-8, and Gro- α chemokine inhibitory effects of compounds of the present invention were determined by the following *in vitro* assay.

Receptor Binding Assays.

[¹²⁵I] IL-8 (human recombinant) was obtained from Amersham Corp., Arlington Heights, IL, with specific activity 2000 Ci/mmol. Gro- α was obtained from NEN- New England Nuclear. All other chemicals were of analytical grade. High levels of recombinant human IL-8 type α and β receptors were individually expressed in Chinese hamster ovary cells as described previously (Holmes, et al., Science, 1991, 253, 1278). The Chinese hamster ovary membranes were homogenized according to a previously described protocol (Haour, et al., J Biol Chem., 249 pp 2195-2205 (1974)). Except that the homogenization buffer was changed to 10mM Tris-HCL, 1mM MgSO₄, 0.5mM EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), 1mM PMSF (α -toluenesulphonyl fluoride), 0.5 mg/L Leupeptin, pH 7.5. Membrane protein concentration was determined using Pierce Co. micro-assay kit using bovine serum albumin as a standard. All assays were performed in a 96-well

micro plate format. Each reaction mixture contained ^{125}I IL-8 (0.25 nM) or ^{125}I Gro- α and 0.5 $\mu\text{g/mL}$ of IL-8R α or 1.0 $\mu\text{g/mL}$ of IL-8R β membranes in 20 mM Bis-Trispropane and 0.4 mM Tris HCl buffers, pH 8.0, containing 1.2 mM MgSO_4 , 0.1 mM EDTA, 25 mM NaCl and 0.03% CHAPS. In addition, drug or compound of interest was added which had been pre-dissolved in DMSO so as to reach a final concentration of between 0.01 nM and 100 μM . The assay was initiated by addition of ^{125}I -IL-8. After 1 hour at room temperature the plate was harvested using a Tomtec 96-well harvester onto a glass fiber filtermat blocked with 1% polyethylenimine/0.5% BSA and washed 3 times with 25 mM NaCl, 10 mM TrisHCl, 1 mM MgSO_4 , 0.5 mM EDTA, 0.03% CHAPS, pH 7.4. The filter was then dried and counted on the Betaplate liquid scintillation counter. The recombinant IL-8 R α , or Type I, receptor is also referred to herein as the non-permissive receptor and the recombinant IL-8 R β , or Type II, receptor is referred to as the permissive receptor.

All of the exemplified compounds of Formulas (I) noted herein in the Synthetic Chemistry Section, Example 1 to 15, demonstrated an IC_{50} from about 45 to about $<1 \mu\text{g/mL}$ in the permissive models for IL-8 receptor inhibition. Of those compounds tested, Examples 1 to 12 were also found to be inhibitors of Gro- α binding at about the same level.

Chemotaxis Assay :

The in vitro inhibitory properties of these compounds are determined in the neutrophil chemotaxis assay as described in Current Protocols in Immunology, vol I, Suppl 1, Unit 6.12.3, whose disclosure is incorporated herein by reference in its entirety. Neutrophils were isolated from human blood as described in Current Protocols in Immunology Vol I, Suppl 1 Unit 7.23.1, whose disclosure is incorporated herein by reference in its entirety. The chemoattractants IL-8, GRO- α , GRO- β , GRO- γ and NAP-2 are placed in the bottom chamber of a 48 multiwell chamber (Neuro Probe, Cabin John, MD) at a concentration between 0.1 and 100 nM. The two chambers are separated by a 5 μm polycarbonate filter. When compounds of this invention are tested, they are mixed with the cells (0.001 - 1000

nM) just prior to the addition of the cells to the upper chamber. Incubation is allowed to proceed for between about 45 and 90 min at about 37°C in a humidified incubator with 5% CO₂. At the end of the incubation period, the polycarbonate membrane is removed and the top side washed, the membrane then stained using the Diff Quick staining protocol (Baxter Products, McGaw Park, IL, USA). Cells which have chemotaxed to the chemokine are visually counted using a microscope. Generally, four fields are counted for each sample, these numbers are averaged to give the average number of cells which had migrated. Each sample is tested in triplicate and each compound repeated at least four times. To certain cells (positive control cells) no compound is added, these cells represent the maximum chemotactic response of the cells. In the case where a negative control (unstimulated) is desired, no chemokine is added to the bottom chamber. The difference between the positive control and the negative control represents the chemotactic activity of the cells.

Elastase Release Assay

The compounds of this invention are tested for their ability to prevent Elastase release from human neutrophils. Neutrophils are isolated from human blood as described in Current Protocols in Immunology Vol I, Suppl 1 Unit 7.23.1 PMNs 0.88×10^6 cells suspended in Ringer's Solution (NaCl 118, KCl 4.56, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.03, Glucose 11.1, HEPES 5 mM, pH 7.4) are placed in each well of a 96 well plate in a volume of 50 µl. To this plate is added the test compound (0.001 - 1000 nM) in a volume of 50 µl, Cytochalasin B in a volume of 50 µl (20 µg/ml) and Ringers buffer in a volume of 50 µl. These cells are allowed to warm (37 °C, 5% CO₂, 95% RH) for 5 min before IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ or NAP-2 at a final concentration of 0.01 - 1000 nM was added. The reaction is allowed to proceed for 45 min before the 96 well plate is centrifuged (800 xg 5 min) and 100 µl of the supernatant removed. This supernatant is added to a second 96 well plate followed by an artificial elastase substrate (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC, Nova Biochem, La Jolla, CA) to a final concentration of 6 µg/ml dissolved in phosphate buffered saline. Immediately, the plate is placed in a fluorescent 96 well plate reader (Cytofluor 2350, Millipore, Bedford, MA) and data collected at 3 min.

intervals according to the method of Nakajima et al J Biol Chem 254 4027 (1979)
The amount of Elastase released from the PMNs is calculated by measuring the rate
of MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC degradation

TNF- α in Traumatic Brain Injury Assay

5 The present assay provides for examination of the expression of tumor
necrosis factor mRNA in specific brain regions which follow experimentally induced
lateral fluid-percussion traumatic brain injury (TBI) in rats. Adult Sprague-Dawley
rats (n=42) were anesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg, i p) and
subjected to lateral fluid-percussion brain injury of moderate severity (2.4 atm)
10 centered over the left temporoparietal cortex (n=18), or "sham" treatment (anesthesia
and surgery without injury, n=18). Animals are sacrificed by decapitation at 1, 6 and
24 hr post injury, brains removed, and tissue samples of left (injured) parietal cortex
(LC), corresponding area in the contralateral right cortex (RC), cortex adjacent to
injured parietal cortex (LA), corresponding adjacent area in the right cortex (RA),
15 left hippocampus (LH) and right hippocampus (RH) are prepared. Total RNA was
isolated and Northern blot hybridization is performed and quantitated relative to an
TNF- α positive control RNA (macrophage = 100%). A marked increase of TNF- α
mRNA expression is observed in LH ($104 \pm 17\%$ of positive control, $p < 0.05$
compared with sham), LC ($105 \pm 21\%$, $p < 0.05$) and LA ($69 \pm 8\%$, $p < 0.01$) in the
20 traumatized hemisphere 1 hr following injury. An increased TNF- α mRNA
expression is also observed in LH ($46 \pm 8\%$, $p < 0.05$), LC ($30 \pm 3\%$, $p < 0.01$) and LA
($32 \pm 3\%$, $p < 0.01$) at 6 hr which resolves by 24 hr following injury. In the
contralateral hemisphere, expression of TNF- α mRNA is increased in RH ($46 \pm 2\%$,
 $p < 0.01$), RC ($4 \pm 3\%$) and RA ($22 \pm 8\%$) at 1 hr and in RH ($28 \pm 11\%$), RC ($7 \pm 5\%$)
25 and RA ($26 \pm 6\%$, $p < 0.05$) at 6 hr but not at 24 hr following injury. In sham
(surgery without injury) or naive animals, no consistent changes in expression of
TNF- α mRNA are observed in any of the 6 brain areas in either hemisphere at any
times. These results indicate that following parasagittal fluid-percussion brain
injury, the temporal expression of TNF- α mRNA is altered in specific brain regions,
30 including those of the non-traumatized hemisphere. Since TNF- α is able to induce

nerve growth factor (NGF) and stimulate the release of other cytokines from activated astrocytes, this post-traumatic alteration in gene expression of TNF- α plays an important role in both the acute and regenerative response to CNS trauma.

CNS Injury model for IL- β mRNA

5 This assay characterizes the regional expression of interleukin-1 β (IL-1 β) mRNA in specific brain regions following experimental lateral fluid-percussion traumatic brain injury (TBI) in rats. Adult Sprague-Dawley rats (n=42) are anesthetized with sodium pentobarbital (60 mg/kg, i.p.) and subjected to lateral fluid-percussion brain injury of moderate severity (2.4 atm.) centered over the left
10 temporoparietal cortex (n=18), or "sham" treatment (anesthesia and surgery without injury). Animals are sacrificed at 1, 6 and 24 hr post injury, brains removed, and tissue samples of left (injured) parietal cortex (LC), corresponding area in the contralateral right cortex (RC), cortex adjacent to injured parietal cortex (LA), corresponding adjacent area in the right cortex (RA), left
15 hippocampus (LH) and right hippocampus (RH) are prepared. Total RNA is isolated and Northern blot hybridization was performed and the quantity of brain tissue IL-1 β mRNA is presented as percent relative radioactivity of IL-1 β positive macrophage RNA which was loaded on same gel. At 1 hr following brain injury, a marked and significant increase in expression of IL-1 β mRNA is observed in LC
20 (20.0 $\pm$ 0.7% of positive control, n=6, p < 0.05 compared with sham animal), LH (24.5 $\pm$ 0.9%, p < 0.05) and LA (21.5 $\pm$ 3.1%, p < 0.05) in the injured hemisphere, which remained elevated up to 6 hr post injury in the LC (4.0 $\pm$ 0.4%, n=6, p < 0.05) and LH (5.0 $\pm$ 1.3%, p < 0.05). In sham or naive animals, no expression of IL-1 β mRNA is observed in any of the respective brain areas. These results
25 indicate that following TBI, the temporal expression of IL-1 β mRNA is regionally stimulated in specific brain regions. These regional changes in cytokines, such as IL-1 β play a role in the post-traumatic

All publications, including but not limited to patents and patent applications, cited in this specification are herein incorporated by reference as if

each individual publication were specifically and individually indicated to be incorporated by reference herein as though fully set forth.

The above description fully discloses the invention including preferred embodiments thereof. Modifications and improvements of the embodiments

5 specifically disclosed herein are within the scope of the following claims

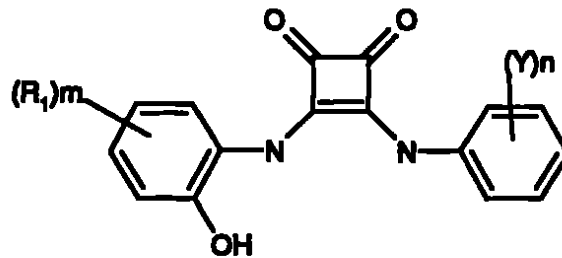
Without further elaboration, it is believed that one skilled in the area can, using the preceding description, utilize the present invention to its fullest extent.

Therefore the Examples herein are to be construed as merely illustrative and not a limitation of the scope of the present invention in any way. The embodiments of

10 the invention in which an exclusive property or privilege is claimed are defined as follows

What is claimed is

1 A compound of the formula.



(I)

wherein

R₁ is independently selected from the group consisting of hydrogen, halogen, nitro,
 cyano, halosubstituted C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkyl, C₂₋₁₀ alkenyl, C₁₋₁₀ alkoxy,
 halosubstituted C₁₋₁₀ alkoxy, azide, (CR₈R₈)_q S(O)_tR₄, hydroxy, hydroxy C₁₋₄-
 alkyl, aryl, aryl C₁₋₄ alkyl, aryloxy, aryl C₁₋₄ alkyloxy, heteroaryl,
 heteroarylalkyl, heterocyclic, heterocyclic C₁₋₄alkyl,, heteroaryl C₁₋₄ alkyloxy,
 aryl C₂₋₁₀ alkenyl, heteroaryl C₂₋₁₀ alkenyl, heterocyclic C₂₋₁₀ alkenyl,
 (CR₈R₈)_qNR₄R₅, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)NR₄R₅, (CR₈R₈)_q C(O)NR₄R₅,
 (CR₈R₈)_q C(O)NR₄R₁₀, S(O)₃H, S(O)₃R₈, (CR₈R₈)_q C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl
 C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)OR₁₁(CR₈R₈)_q C(O)OR₁₂, (CR₈R₈)_q OC(O)
 R₁₁, (CR₈R₈)_qNR₄C(O)R₁₁, (CR₈R₈)_q NHS(O)₂R₁₇, (CR₈R₈)_q, and
 (O)₂NR₄R₅, or two R₁ moieties together y form O-(CH₂)_sO- or a 5 to 6
 membered unsaturated ring,

q is 0, or an integer having a value of 1 to 10,

t is 0, or an integer having a value of 1 or 2,

s is an integer having a value of 1 to 3,

R₄ and R₅ are independently selected from the group consisting of hydrogen,

optionally substituted C₁₋₄ alkyl, optionally substituted aryl, optionally

substituted aryl C₁₋₄alkyl, optionally substituted heteroaryl, optionally substituted heteroaryl C₁₋₄alkyl, heterocyclic, and heterocyclic C₁₋₄ alkyl, or R₄ and R₅ together with the nitrogen to which they are attached form a 5 to 7 member ring which optionally comprises an additional heteroatom selected from oxygen, nitrogen or sulfur;

Y is independently selected from the group consisting of hydrogen, halogen, nitro, cyano, halosubstituted C₁₋₁₀ alkyl, C₁₋₁₀ alkyl, C₂₋₁₀ alkenyl, C₁₋₁₀ alkoxy, halosubstituted C₁₋₁₀ alkoxy, azide, (CR_gR_g)_q S(O)_tR₄, hydroxy, hydroxy C₁₋₄alkyl, aryl, aryl C₁₋₄ alkyl, aryloxy, aryl C₁₋₄ alkyloxy, heteroaryl, heteroarylalkyl, heteroaryl C₁₋₄ alkyloxy, heterocyclic, heterocyclic C₁₋₄alkyl, aryl C₂₋₁₀ alkenyl, heteroaryl C₂₋₁₀ alkenyl, heterocyclic C₂₋₁₀ alkenyl, (CR_gR_g)_q NR₄R₅, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)NR₄R₅, (CR_gR_g)_q C(O)NR₄R₅, (CR_gR_g)_q C(O)NR₄R₁₀, S(O)₃H, S(O)₃R_g, (CR_gR_g)_q C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)R₁₁, C₂₋₁₀ alkenyl C(O)OR₁₁, C(O)R₁₁, (CR_gR_g)_q C(O)OR₁₂, (CR_gR_g)_q OC(O) R₁₁, (CR_gR_g)_q NR₄C(O)R₁₁, (CR_gR_g)_q NHS(O)₂R_d, and (CR_gR_g)_q S(O)₂NR₄R₅, or two Y moieties together form O-(CH₂)₈O- or a 5 to 6 membered unsaturated ring,

n is an integer having a value of 1 to 5,

m is an integer having a value of 1 to 4,

R_g is hydrogen or C₁₋₄ alkyl,

R₁₀ is C₁₋₁₀ alkyl C(O)₂R_g,

R₁₁ is selected from the group consisting of hydrogen, C₁₋₄ alkyl, optionally substituted aryl, optionally substituted aryl C₁₋₄alkyl, optionally substituted heteroaryl, optionally substituted heteroaryl C₁₋₄alkyl, optionally substituted heterocyclic, and optionally substituted heterocyclic C₁₋₄alkyl,

R₁₂ is selected from hydrogen, C₁₋₁₀ alkyl, optionally substituted aryl and optionally substituted arylalkyl,

R₁₇ is selected from the group consisting of C₁₋₄alkyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylC₁₋₄alkyl, heterocyclic, and heterocyclicC₁₋₄alkyl, wherein the aryl, heteroaryl and heterocyclic rings are all optionally substituted

- 5 2 The compound according to Claim 1 which is
- 3-(2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dichlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 10 3-(2-methoxy-benzylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 15 3-(4-cyano-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dichlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-phenylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-ethylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 20 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-phenoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 6-Chloro-3-(3,4-dioxo-2-phenylamino-cyclobut-1-enylamino)-2-hydroxy-benzenesulfonamide,
 3,4-bis-(4-cyano-2-hydroxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 25 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dimethylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methyl-4-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,
 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-propylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-methyl-3-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2,3-dimethoxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

5 3-(2-Hydroxy-phenylamino)-4-(2-chloro-3-methylphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-bromophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

10 3-(4-nitro-2-hydroxy-phenylamino)-4-(2-chlorophenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

3,4-bis-(4-nitro-2-hydroxyphenylamino)-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

3-[(2-Hydroxy-phenyl)-methyl-amino]-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

3-(3-Hydroxy-pyridin-2-ylamino)-4-phenylamino-cyclobut-3-ene-1,2-dione,

or a pharmaceutically acceptable salt thereof

15

3 A pharmaceutical composition comprising an effective amount of a compound according to Claim 1, and a pharmaceutically acceptable carrier or diluent.

20 4 A method of treating a chemokine mediated disease state, wherein the chemokine binds to an IL-8 α or β receptor in a mammal, which comprises administering to said mammal an effective amount of a compound of the formula according to claim 1

25 5 The method according to Claim 4 wherein the mammal is afflicted with a chemokine mediated disease selected from 17

6 The method according to Claim 16 wherein the mammal is afflicted with a chemokine mediated disease selected from atopic dermatitis, osteo arthritis,
30 rheumatoid arthritis, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, adult

respiratory distress syndrome, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, stroke, septic shock, multiple sclerosis, endotoxic shock, psoriasis, gram negative sepsis, toxic shock syndrome, cardiac and renal reperfusion injury, glomerulonephritis, thrombosis, graft vs host reaction, alzheimers disease, allograft
5 rejections, malaria, restinosis, angiogenesis, atherosclerosis, osteoporosis, gingivitis and undesired hematopoietic stem cells release, diseases caused by respiratory viruses, herpesviruses, and hepatitis viruses, meningitis, herpes encephalitis, CNS vasculitis, traumatic brain injury, CNS tumors, subarachnoid hemorrhage, post surgical trauma, cystic fibrosis, pre-term labour, cough, pruritus, interstitial
10 pneumonitis, hypersensitivity, crystal induced arthritis, lyme arthritis, fibrodysplasia ossificans progressiva, acute and chronic pancreatitis, acute alcoholic hepatitis, necrotizing enterocolitis, chronic sinusitis, uveitis, polymyositis, vasculitis, acne, gastric and duodenal ulcers, celiac disease, esophagitis, glossitis, airflow obstruction, airway hyperresponsiveness, bronchiolitis obliterans organizing pneumonia,
15 bronchiectasis, bronchiolitis, bronchiolitis obliterans, chronic bronchitis, cor pulmonae, dyspnea, emphysema, hypercapnea, hyperinflation, hypoxemia, hypoxia, surgical lung volume reduction, pulmonary fibrosis, pulmonary hypertension, right ventricular hypertrophy, sarcoidosis, small airway disease, ventilation-perfusion mismatching, wheeze and lupus

25
22

ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE LA INTERLEUCINA-8

CAMPO DEL INVENTO

Este invento se relaciona con un novedoso grupo de compuestos de escuarano de dianilino, procesos para la preparación de los mismos, el uso de los mismos en enfermedades mediadas por IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2, y ENA- 78 y las composiciones farmacéuticas para uso en tal terapia

ANTECEDENTES DEL INVENTO

Se le han dado diferentes nombres a la Interleucina -8 (IL- 8), como por ejemplo atrayente de neutrófilos/proteína de activación -1 (NAP- 1), factor quimiotáctico de neutrófilos derivado de monocitos (MDNCF), factor activador de neutrófilos (NAF), y factor quimiotáctico de linfocitos células T La interleucina- 8 es un quimioatrayente de neutrófilos, basófilos, y un subconjunto de células T Es producido por una mayoría de células nucleadas incluyendo los macrófagos, fibroblastos, células endoteliales y epiteliales expuestas al TNF, IL- 1 α , IL- 1 β ó LPS, y por los mismos neutrófilos al ser expuestos al LPS ó factores quimiotácticos tales como el FMLP M Baggiolini et al , J Clin Invest 84, 1045 (1989), Schroder et al , J Immunol 139, 3474 (1987) y J Immunol 144, 2223 (1990), Strieter, et al , Science 243, 1467 (1989) y J Biol Chem 264, 10621 (1989), Cassatella et al , J Immunol , 148, 3216 (1992)

GRO α , GRO β , GRO γ , y NAP- 2 también pertenecen a la familia quimiocina α Como la IL- 8, estas quimiocinas también se les conocen por diferentes nombres Por ejemplo, GRO α , β y γ también se les conoce como MGS α , β y γ

respectivamente (Actividad Estimuladora del Crecimiento de Melanoma), ver Richmond et al , J Cell Physiology 129, 375 (1986) y Chang et al , J Immunol 148, 451 (1992) Todas las quimiocinas de la familia α que poseen el motivo ELR que
5 precede directamente al motivo CXC se unen al receptor B de IL- 8

IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2, y ENA- 78 estimulan un número de funciones in vitro Todas han demostrado poseer propiedades quimioatrayentes para neutrófilos, mientras que
10 la IL- 8 y la GRO α han demostrado actividad quimiotáctica con respecto a linfocitos T y basófilos Adicionalmente, la IL- 8 puede inducir la liberación de histamina de los basófilos en individuos normales y atópicos La GRO- α y la IL- 8 pueden adicionalmente inducir la liberación de enzimas
15 lisosomales y explosión respiratoria a partir de neutrófilos La IL- 8 también ha demostrado aumentar la expresión superficial del Mac- 1 (CD11b/CD18) sobre neutrófilos sin la necesidad de síntesis proteica de novo Esto puede contribuir a una adhesión aumentada de los neutrófilos a las
20 células endoteliales vasculares Muchas enfermedades conocidas se caracterizan por masivas infiltraciones de neutrófilos Así como IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , y NAP- 2 promueven la acumulación y activación de neutrófilos, estas quimiocinas han sido implicadas en una amplia gama de
25 desórdenes inflamatorios agudos y crónicos incluyendo la psoriasis y la artritis reumatoidea, Baggiolini et al , FEBS Lett 307, 97 (1992), Miller et al , Crit Rev Immunol 12, 17 (1992) Oppenheim et al , Annu Rev Immunol 9, 617 (1991), Seitz et al , J Clin Invest 87, 463 (1991), Miller
30 et al , Am Rev Respir Dis , 146, 427 (1992), Donnelly et al , Lancet 341, 643 (1993) Adicionalmente, las quimiocinas

ELR (aquellas que contienen el motivo ELR justo antes del motivo CXC) también han sido implicadas en la angioestasis, Strieter et al , Science 258, 1798 (1992)

In vitro, IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 inducen cambios en la forma de neutrófilos, quimiotaxis, liberación de gránulos, y explosión respiratoria, al unirse y activar receptores de la familia de siete transmembranas proteína G-unida, en particular al unirse con receptores IL- 8, de manera más notable el receptor B, Thomas et al , J Biol Chem 266, 14839 (1991), y Holmes et al , Science 253, 1278 (1991) El desarrollo de antagonistas no- peptídicos de moléculas pequeñas para miembros de esta familia de receptores tiene precedente Para más información ver R Freidinger en Progress in Drug Research, Vol 40, pp 33- 98, Birkhauser Verlag, Basel 1993 Por lo tanto, el receptor IL- 8 representa un objetivo prometedor para el desarrollo de agentes novedosos anti- inflamatorios

Se han caracterizado dos receptores de IL- 8 humanos de alta afinidad (77% de homología) IL- 8R α , la cual sólo se une a IL- 8 con alta afinidad, e IL- 8R β , que tiene alta afinidad para IL- 8 al igual que para GRO α , GRO β , GRO γ , y NAP- 2 Ver Holmes et al , supra, Murphy et al , Science 253, 1280 (1991), Lee et al , J Biol Chem 267, 16283 (1992), LaRosa et al , J Biol Chem 267, 25402 (1992), y Gayle et al , J Biol Chem 268, 7283 (1993)

Existe una necesidad de tratamiento, en este campo, para compuestos capaces de unirse al receptor α ó β de la IL- 8 Por consiguiente, condiciones asociadas con un aumento de la producción de IL- 8 (responsable por la quimiotaxis de neutrófilos y subconjuntos de células T a un sitio de

28
25

inflamación) se beneficiarían con compuestos que sean inhibidores de la unión con receptores de la IL- 8

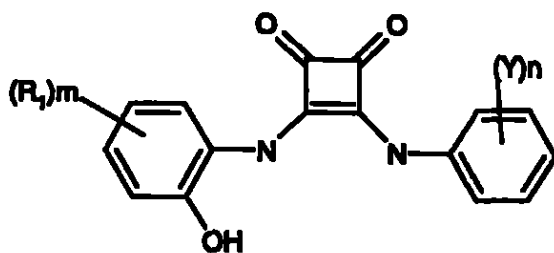
RESUMEN DEL INVENTO

5 Este invento proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por quimiocinas, en donde la quimiocina es aquella que se une a un receptor α ó β de la IL- 8 y dicho método comprende administrar una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente
10 aceptable de la misma En particular, la quimiocina es la IL- 8

Este invento también se relaciona con un método de inhibir la unión de la IL- 8 a sus receptores en un mamífero en necesidad del mismo, lo cual comprende administrar a dicho
15 mamífero una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula (I)

Los compuestos de la Fórmula (I) útiles en el presente invento están representados por la estructura

20



25

(I)

en donde

R_1 es seleccionado de manera independiente entre hidrógeno,
30 halógeno, nitro, ciano, alquilo C1- 10 halosustituido, alquilo C1- 10, alquenilo C2- 10, alcoxilo C1- 10, alcoxilo C1- 10 halosustituido, azida, $(CR_3R_3)_qS(O)_tR_4$, hidroxilo,

|

26

hidroxil C1- 10 alquilo, arilo, aril C1- 4 alquilo, ariloxilo, aril C1- 4 alquiloxilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, heterociclo, alquilo C1- 4 heterocíclico, heteroaril C1- 4 alquiloxilo, aril C2- 10 alquenilo, heteroaril C2- 10 alquenilo, alquenilo C2- 10 heterocíclico, $(CR_8R_8)qNR_4R_5$, alquenilo C2- 10 $C(O)NR_4R_5$, $(CR_8R_8)qC(O)NR_4R_5$, $(CR_8R_8)qC(O)NR_4R_{10}$, $S(O)_3H$, $S(O)_3R_8$, $(CR_8R_8)qC(O)R_{11}$, alquenilo C2- 10 $C(O)R_{11}$, alquenilo C2- 10 $C(O)OR_{11}(CR_8R_8)qC(O)R_{12}$, $(CR_8R_8)qOC(O)R_{11}$, $(CR_8R_8)qNR_4C(O)R_{11}$, $(CR_8R_8)qNHS(O)_2R_{17}$, $(CR_8R_8)qS(O)_2NR_4R_5$, o dos fracciones R_1 juntas forman $O-(CH_2)_5O-$ o un anillo insaturado de 5 a 6 miembros,

q es 0, o un entero con un valor entre 1 y 10,
t es 0, o un entero con un valor entre 1 y 2,
s es un entero con un valor entre 1 y 3,

R₄ y R₅ son seleccionados de manera independiente entre hidrógeno, alquilo C1- 4 opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo C1- 4 opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroarilalquilo C1- 4 opcionalmente sustituido, heterociclo, y alquilo C1- 4 heterocíclico, o R₄ y R₅ junto con el nitrógeno al cual están unidos forman un anillo de 5 a 7 miembros el cual opcionalmente comprende un heteroátomo adicional seleccionado entre oxígeno, nitrógeno o azufre,

Y es seleccionado de manera independiente entre hidrógeno, halógeno, nitro, ciano, alquilo C1- 10 halosustituido, alquilo C1- 10, alqueno C2- 10, alcoxilo C1- 10, alcoxilo C1- 10 halosustituido, azida, $(CR_3R_3)_qS(O)_tR_4$, hidroxilo, hidroxilo C1- 10 alquilo, arilo, aril C1- 4 alquilo, ariloxilo, aril C1- 4 alquiloxilo, heteroarilo, heteroarilalquilo,

heterociclo, alquilo C1- 4 heterocíclico, heteroaril C1- 4 alquilo, aril C2- 10 alquilo, heteroaril C2- 10 alquilo, alquilo C2- 10 heterocíclico, $(CR_8R_8)qNR_4R_5$, alquilo C2- 10 $C(O)NR_4R_5$, $(CR_8R_8)qC(O)NR_4R_5$,

5 $(CR_8R_8)qC(O)NR_4R_{10}$, $S(O)_3H$, $S(O)_3R_8$, $(CR_8R_8)qC(O)R_{11}$, alquilo C2- 10 $C(O)R_{11}$, alquilo C2- 10 $C(O)OR_{11}$, $C(O)R_{11}$, $(CR_8R_8)qC(O)OR_{12}$, $(CR_8R_8)qOC(O)R_{11}$, $(CR_8R_8)qNR_4C(O)R_{11}$, $(CR_8R_8)qNHS(O)_2R_d$, $(CR_8R_8)qS(O)_2NR_4R_5$, o dos fracciones Y juntas forman $O-(CH_2)_nO-$ o un anillo insaturado de 5 a 6 miembros,

10

n es un entero con un valor entre 1 y 5,

m es un entero con un valor entre 1 y 4,

R_8 es hidrógeno o alquilo C1- 4,

R_{10} es alquilo C1- 10 $C(O)2R_8$,

15

R_{11} es seleccionado entre hidrógeno, alquilo C1- 4, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo C1- 4 opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroarilalquilo C1- 4 opcionalmente sustituido, heterociclo
20 opcionalmente sustituido, y alquilo C1- 4 heterocíclico opcionalmente sustituido,

R_{12} es seleccionado entre hidrógeno, alquilo C1- 10, arilo opcionalmente sustituido y arilalquilo opcionalmente

25

sustituido,

R_{17} es seleccionado entre alquilo C1- 4, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo C- 14, heterociclo, y alquilo C1- 4 heterocíclico, en donde el arilo, heteroarilo, y

30

anillos heterocíclicos están todos opcionalmente sustituidos

DESCRIPCION DETALLADA DEL INVENTO

31
28

Los compuestos de la Fórmula (I) también pueden ser usados en asociación con el tratamiento veterinario de mamíferos, exceptuando los humanos, con necesidad de la IL- 8 u otras quimiocinas que se unen a los receptores IL- 8RA y

5 RB Las enfermedades mediadas por quimiocinas para tratamientos, terapéuticos o profilácticos, en animales incluyen enfermedades como aquellas expuestas en la sección denominada Métodos de Tratamiento

10 Los siguientes términos, tal como se utilizan en la presente, se refieren a

- "halo"- todos los halógenos, es decir, cloro, fluoro, yodo y bromo

15 - "alquilo C2- 5" o "alquilo"- fracciones de cadenas tanto lineales como ramificadas de 2 a 5 átomos de carbono, a menos que la longitud de cadena sea de otra manera limitada, incluyendo, pero no limitándose a metilo, etilo, n- propilo, iso- propilo, n- butilo, sec- butilo, iso- butilo, tert- butilo, n- pentilo y similares

20 - El término "alquenoilo" es utilizado en la presente siempre para significar fracciones de cadena lineal o ramificada con 2 hasta 10 átomos de carbono, a menos que la longitud de cadena sea limitada incluyendo, pero no limitándose a etenilo, 1- propenilo, 2- propenilo, 2- metil- 1- propenilo, 1- butenilo, 2- butenilo, y similares

25 - "arilo" - fenilo y naftilo,

- "heteroarilo" (por sí solo o cualquier combinación, tales como "heteroariloxilo", o "heteroarilalquilo")- un sistema cíclico aromático de 5 a 10 miembros en donde uno o más anillos contienen uno o más heteroátomos seleccionados
30 entre N, O, ó S tales como, pero no limitándose a pirrol, pirazol, furano, tiofeno, quinolina, isoquinolina,

quinazolinilo, piridina, pirimidina, oxazol, tiazol, tiadiazol, triazol, imidazol, o benzimidazol

- "heterociclo" (por sí solo o en cualquier combinación, como por ejemplo "alquilo heterocíclico")- un sistema cíclico de 4 a 10 miembros saturado o parcialmente insaturado, en donde uno o más anillos contienen uno o más heteroátomos seleccionados entre N, O ó S, tales como, pero no limitándose a pirrolidina, piperidina, piperazina, morfolina, tetrahidropirano, o imidazolidina

10 - El término "arilalquilo" o "heteroarilalquilo" o "alquilo heterocíclico" es usado en la presente para significar alquilo C1- 10, tal como se define anteriormente, adherido a una fracción de arilo, heteroarilo o heterocíclica, también como se definió anteriormente, a menos
15 que se indique lo contrario

Los compuestos ilustrativos de la Fórmula (I) incluyen
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- bromofenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2,3- diclorofenilamino)-
20 ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (4- nitro- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- fenilamino-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (4- ciano- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- fenilamino-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
25 3- (2- metoxil- bencilamino)- 4- fenilamino- ciclobut- 3- eno-
1,2- diona,
3- (4- ciano- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2-
bromofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (4- ciano- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2-
30 clorofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (4- ciano- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2,3-
diclorofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,

- 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- fenilfenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- metoxifenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 5 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- etilfenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- fenoxifenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- clorofenilamino)-
10 ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 6- cloro- 3- (3,4- dioxo- 2- fenilamino- ciclobut- 1-
enilamino)- 2- hidroxil- bencenosulfonamida,
3,4- bis- (4- ciano- 2- hidroxifenilamino)- ciclobut- 3- eno-
1,2- diona,
- 15 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2,3- dimetilfenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- metil- 4-
bromofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- propilfenilamino)-
20 ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- metil- 3-
clorofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2,3- dimetoxifenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 25 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- cloro- 3-
metilfenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 3- (4- nitro- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2-
clorofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
- 3,4- bis- (4- nitro- 2- hidroxifenilamino)- ciclobut- 3- eno-
30 1,2- diona,
- 3- [(2- hidroxil- fenil)- metil- amino]- 4- fenilamino-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,

3- (3- hidroxí- piridín- 2- ilamino)- 4- fenilamino-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

5

MÉTODOS DE PREPARACIÓN

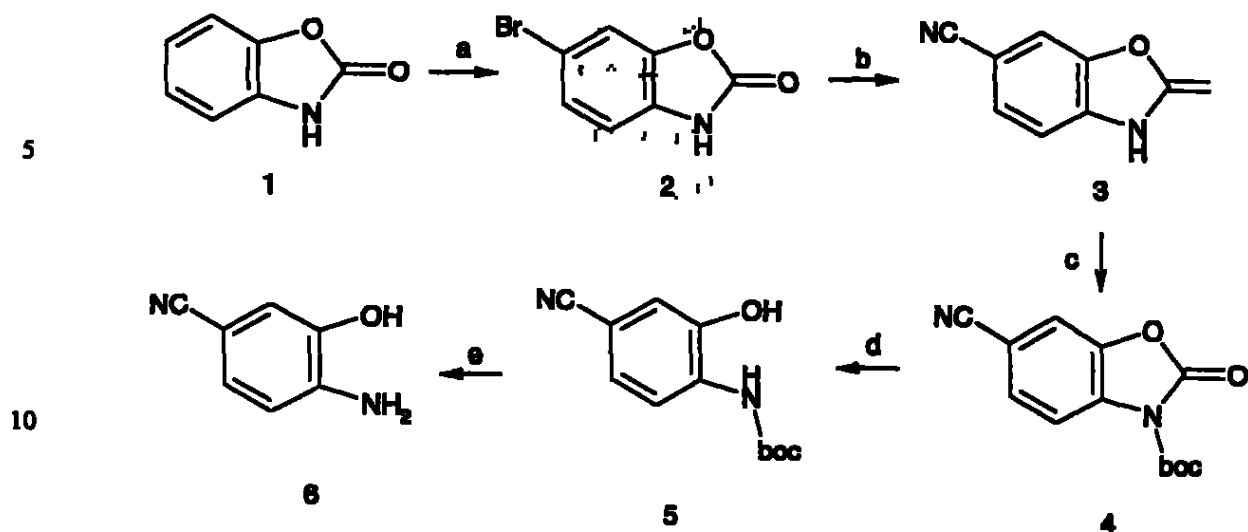
Los compuestos de la Fórmula (I) pueden obtenerse mediante la aplicación de procedimientos sintéticos, algunos de los cuales están ilustrados en los Esquemas a continuación. La síntesis proporcionada en estos Esquemas es aplicable para la producción de compuestos de la Fórmula (I) con una variedad de diferentes grupos R, R₁ y arilo los cuales son hechos reaccionar, empleando sustituyentes opcionales los cuales están adecuadamente protegidos, para lograr una compatibilidad con las reacciones esbozadas en la presente. Una desprotección subsecuente, en aquellos casos, luego proporciona los compuestos de la naturaleza generalmente divulgada. Una vez que el núcleo de guanidina se haya establecido, se pueden preparar compuestos adicionales de estas fórmulas al aplicar técnicas estándares para interconversión de grupos funcionales bastantes conocidos en el estado de la técnica. Aunque los esquemas son mostrados con compuestos sólo de la Fórmula (I), esto sólo es meramente ilustrativo.

25

30

35
32

Esquema 1

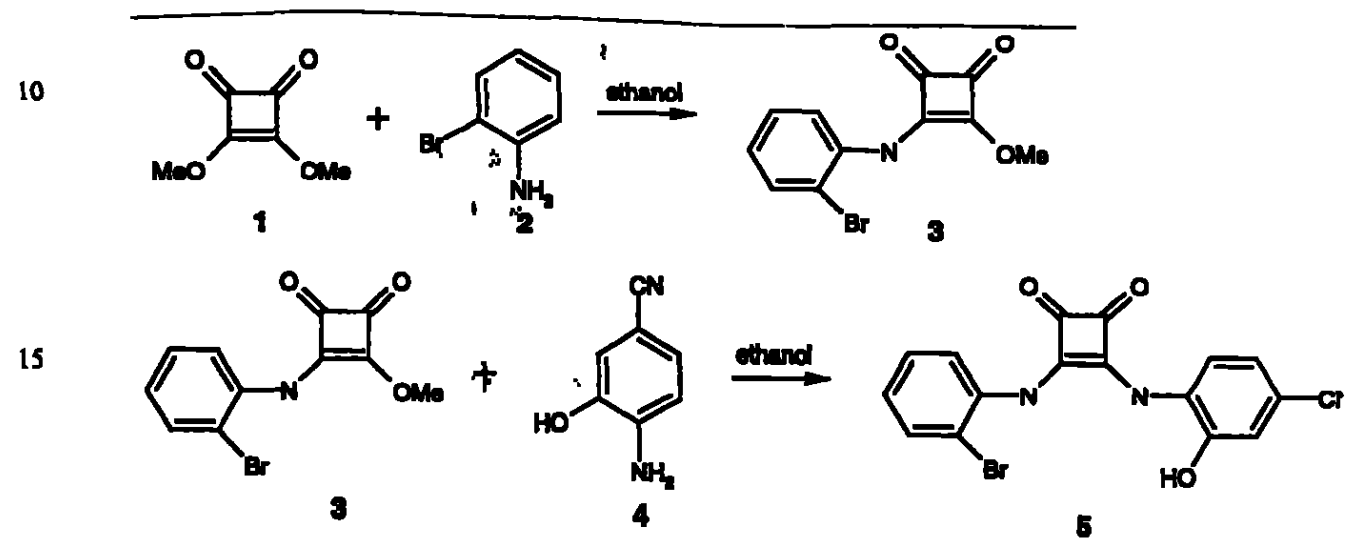


15 a) Br_2 , NaOAc, HOAc, b) CuCN, DMF, reflujo, c) $(\text{BOC})_2\text{O}$, DMAP, TEA, d) K_2CO_3 , MeOH, e) TFA

La anilina deseada del esquema 1 (6) puede ser preparada a partir de la benzoxazolinona del esquema 1 (1). El bromuro del esquema 1 (2) puede ser preparado a partir de la benzoxazolinona del esquema 1 (1) usando condiciones de brominación estándares tales como bromo y acetato de sodio en ácido acético. El bromuro del esquema 1 (2) puede ser convertido en el cianuro del esquema 1 (3) utilizando procedimientos estándares tales como cianuro de cobre (I) en DMF en reflujo. La amida del esquema 1 (3) puede ser convertida en el compuesto protegido por BOC del esquema 1 (4) usando condiciones estándares tales como anhídrido BOC y trietilamina con una cantidad catalítica dimetilaminopiridina en cloruro de metileno u otro solvente orgánico adecuado. La oxazolinona del esquema 1 (4) puede ser convertida en la anilina deseada del esquema 1 (6) mediante una primera hidrólisis logrando el fenol del esquema 1 (5) usando

condiciones estándares tales como carbonato de potasio en metanol seguido por una remoción del grupo protector BOC usando condiciones estándar tales como el ácido trifluoroacético en cloruro de metileno u otro solvente orgánico adecuado para dar la anilina del esquema 1 (6)

Esquema 2



Los compuestos de la estructura 5 serán obtenidos a partir del escuarato de dimetiléter 1 comercialmente disponible, tal como se esboza en el Esquema 1 El intermedio 3 puede ser obtenido al reaccionar el escuarato de dietiléter con la anilina deseada 2 en etanol en reflujo u otro solvente orgánico adecuado El compuesto de escuarano 5 deseado puede ser obtenido al reaccionar escuarano 3 con una segunda anilina 4 en etanol en reflujo u otro solvente orgánico adecuado

EJEMPLOS SINTÉTICOS

El invento ahora será descrito haciendo referencia a los siguientes ejemplos los cuales son meramente ilustrativos y no deben interpretarse como una limitación del alcance del presente invento. Todas las temperaturas están dadas en centígrados, todos los solventes son la pureza más alta disponible y todas las reacciones son corridas bajo condiciones anhidridas en ambiente de argón a menos que se indique lo contrario.

En los Ejemplos, todas las temperaturas están dadas en grados Celsius (°C). Los espectros de masa fueron realizados en un espectrómetro de masa VG Zab usando bombardeo atómico rápido, a menos que se indique lo contrario. Los espectros ¹H- NMR (de aquí en adelante "NMR") fueron registrados 250 MHz utilizando un espectrómetro Bruker AM 250 o AM 400. Las multiplicidades indicadas son s=sencillo, d=doble, t=triple, q=cuarteto, m=múltiple y br indica una señal amplia. Sat indica una solución saturada, eq indica la proporción de un equivalente molar de reactivo relativo al reactivo principal.

3- (2,3- dicloroanilino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

Se agregó 2,3- dicloroanilina (0.07mL, 0.43mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (100 mg, 0.43 mmol) en tolueno (2 ml) y DMSO (1 gota), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche. El sólido resultante fue recolectado por filtración, lavado con acetato de etilo para remover el tolueno y secado in vacuo. LC- MS (m/z) 349 (M+).

3- (2- bromoanilino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

Se agregó 2- bromoanilina (36 9 mg, 0 21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0 21 mmol) en DMSO (1 5 ml), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche La reacción fue

5 purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido (bajó concentración) El sólido fue secado in vacuo LC- MS (m/z) 359 (M⁻)

3- (2- fenilanolino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

10

Se agregó 2- aminobifenilo (36 3 mg, 0 21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0 21 mmol) en DMSO (1 5 ml), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche La reacción
15 fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido El sólido fue secado in vacuo LC- MS (m/z) 357 2 (M⁺)

3- (2- metoxianilino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

20

Se agregó 2- metoxianilina (0 024 ml, 0 21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0 21 mmol) en DMSO (1 5 ml), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche La reacción
25 fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido El sólido fue secado in vacuo LC- MS (m/z) 311 4 (M⁺)

3- (2- etilanolino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

30

Se agregó 2- etilanolina (0 024 ml, 0 21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2-

39
36

diona (50 mg, 0.21 mmol) en DMSO (1.5 ml), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche. La reacción fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido. El sólido fue secado in vacuo. LC-MS (m/z) 309 (M⁺)

3- (2- fenoxianilino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

Se agregó 2- fenoxianilina (49 mg, 0.21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0.21 mmol) en DMSO (1.5 ml), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche. La reacción fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido. El sólido fue secado in vacuo. LC-MS (m/z) 373 (M⁺)

3- (2- cloroanilino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

Se agregó 2- cloroanilina (0.023 ml, 0.21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0.21 mmol) en DMSO (1.5 ml), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche. La reacción fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido. El sólido fue secado in vacuo. LC-MS (m/z) 315 (M⁺)

3- (2- metilanilino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

Se agregó 2- metilanilina (0.023 ml, 0.21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0.21 mmol) en DMSO (1.5 ml), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche. La reacción

40
37

fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido El sólido fue secado in vacuo LC- MS (m/z) 295 (M⁺)

5 3- (2,3- dimetilanilino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

Se agregó 2,3- dimetilanilina (0 026 ml, 0 21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0 21 mmol) en DMSO (1 5 ml), y la
10 reacción fue agitada a 110°C por toda la noche La reacción fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido El sólido fue secado in vacuo LC- MS (m/z) 309 (M⁺)

15 3- (4- bromo- 2- metilanilino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

Se agregó 4- bromo- 2- metilanilina (40 mg, 0 21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0 21 mmol) en DMSO (1 5 ml), y la
20 reacción fue agitada a 110°C por toda la noche La reacción fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido El sólido fue secado in vacuo LC- MS (m/z) 373 (M⁺)

25 3- (2- propilanilino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

Se agregó 2- propilanilina (0 030 ml, 0 21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0 21 mmol) en DMSO (1 5 ml), y la
30 reacción fue agitada a 110°C por toda la noche La reacción fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue

47
38

diluido El sólido fue secado in vacuo LC- MS (m/z) 323
(M⁺)

3- (3- cloro- 2- metilanilino)- 4- (2- hidroxianilino)-
5 ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

Se agregó 3- cloro- 2- metilanilina (0.026 ml, 0.21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0.21 mmol) en DMSO (1.5 ml), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche. La reacción
10 fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido. El sólido fue secado in vacuo LC- MS (m/z) 329
(M⁺)

3- (2,3- metoxianilino)- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3-
15 eno- 1,2- diona

Se agregó 2,3- metoxianilina (0.031 ml, 0.21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0.21 mmol) en DMSO (1.5 ml), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche. La reacción
20 fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido. El sólido fue secado in vacuo LC- MS (m/z) 341
(M⁺)

3- (2- cloro- 3- metilanilino)- 4- (2- hidroxianilino)-
25 ciclobut- 3- eno- 1,2- diona

Se agregó 2- cloro- 3- metilanilina (0.026 ml, 0.21 mmol) a una solución de 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona (50 mg, 0.21 mmol) en DMSO (1.5 ml), y la reacción fue agitada a 110°C por toda la noche. La reacción
30 fue purificada en HPLC (acetonitrilo agua) y el producto fue diluido. El sólido fue secado in vacuo LC- MS (m/z) 329
(M⁺)

3- (2- hidroxianilino)- 4- (2- bromoanilino)- 3- ciclobuteno- 1,2- diona

Se agregó 214 µL de 2M trimetilaluminio en tolueno a
5 temperatura ambiente a bromoanilina (74 mg, 0.43 mmol). La
mezcla fue agitada hasta que el despidio gaseoso cesó, luego
se agregó 3- etoxi- 4- (2- hidroxianilino)- ciclobut- 3- eno-
1,2- diona (50 mg, 0.21 mmol) en 1 mL de cloruro de metileno.
La mezcla fue reaccionada a temperatura ambiente toda la
10 noche. La mezcla de reacción fue enfriada con agua, seguido
por una purificación acuosa. La capa orgánica fue secada
sobre sulfato de sodio y concentrada. Luego de HPLC de
Gilson, se obtuvo 14 mg (12%) de producto de purificado.
LCMS (H⁺) 359

3- (2- bromoanilino)- 4- (2- hidroxi- 4- cianoanilino)- 3- ciclobuteno- 1,2- diona

Una solución de 3,4- dietoxi- 3- ciclobuteno- 1,2- diona (1.2
ml, 8.12 mmol) y 3- hidroxi- 4- aminobenzonitrilo (1.25 g,
20 8.11 mmol) en etanol fue calentado a 85°C por toda la noche.
Se formó un precipitado de color canela. El sólido fue
filtrado y recolectado. Se obtuvo 1.12 g (53%) de 3- etoxi-
4- (2- hidroxi- 4- cianoanilino)- 3- ciclobuteno- 1,2- diona.
LC/MS (H⁺) 259

Una mezcla de 3- etoxi- 4- (2- hidroxi- 4- cianoanilino)- 3-
ciclobuteno- 1,2- diona (0.7 g, 2.71 mmol) y 2- bromoanilina
(0.47 g, 2.73 mmol) fueron calentados en 6 ml de DMSO por
toda la noche. La mezcla de reacción fue enfriada hasta
temperatura ambiente, y se agregó etilacetato y se formaron
30 precipitados. El filtrado fue partido entre etilacetato y
agua. La capa orgánica fue secada sobre sulfato de sodio y

43
40

concentrada Luego de HPLC de Gilson, se obtuvo 34 mg (3%) de producto de purificado LCMS(H⁺)386

3- (2- bromoanilino)- 4- (2- hidroxí- 4- nitroanilino)- 3-
5 ciclobuteno- 1,2- diona

Una solución de 3- etoxí- 4- (2- hidroxí- 4- nitroanilino)-
3- ciclobuteno- 1,2- diona (0 39 g, 1 4 mmol) y 2-
bromoanilina (0 36 g, 2 09 mmol) en 6 ml de DMSO fue
calentada a 110°C por toda la noche La mezcla de reacción
10 fue enfriada hasta temperatura ambiente, y se agregó
etilacetato y se formó un precipitado El filtrado fue
partido entre etilacetato y agua La capa orgánica fue
secada sobre sulfato de sodio y concentrada Titulación a
partir de acetona y hexanos dio 106 mg (19%) de 3- (2-
15 bromoanilino)- 4- (2- hidroxí- 4- nitroanilino)- 3-
ciclobuteno- 1,2- diona LCMS(H⁺)404

3- (2- cloroanilino)- 4- (2- hidroxí- 4- nitroanilino)- 3-
20 ciclobuteno- 1,2- diona

Una solución de 3- etoxí- 4- (2- hidroxí- 4- nitroanilino)-
3- ciclobuteno- 1,2- diona (0 38 g, 1 37 mmol) y 2-
cloroanilina (0 23 ml, 2 2 mmol) en 2 ml de DMSO fue
calentada a 110°C por toda la noche La mezcla de reacción
fue enfriada hasta temperatura ambiente, y se agregó
25 etilacetato y se formó un precipitado El filtrado fue
partido entre etilacetato y agua La capa orgánica fue
secada sobre sulfato de sodio y concentrada Recristalizado
a partir de etilacetato y hexanos, se obtuvo 203 mg (41%) de
3- (2- cloroanilino)- 4- (2- hidroxí- 4- nitroanilino)- 3-
30 ciclobuteno- 1,2- diona LCMS(H⁺)360

44
41

3- (2,3- dicloroanilino)- 4- (2- hidroxí- 4- nitroanilino)-
3- ciclobuteno- 1,2- diona

Una solución de 3- etoxí- 4- (2- hidroxí- 4- nitroanilino)-
3- ciclobuteno- 1,2- diona (0 40 g, 1 44 mmol) y 2,3-
5 dicloroanilina (0 34 g, 2 10 mmol) en 2 ml de DMSO fue
calentada a 110°C por toda la noche La mezcla de reacción
fue enfriada hasta temperatura ambiente, y se agregó
etilacetato y se formó un precipitado La torta de
filtración fue recolectada Titulación a partir de acetona y
10 hexanos dio 68 mg (11%) de 3- (2- cloroanilino)- 4- (2-
hidroxí- 4- nitroanilino)- 3- ciclobuteno- 1,2- diona
LCMS (H+) 394

MÉTODO DE TRATAMIENTO

15 Los compuestos de la fórmula (I), o una sal
farmacéuticamente aceptable de los mismos se pueden utilizar
en la fabricación de un medicamento para el tratamiento
profiláctico o terapéutico de cualquier estado patológico en
un humano, u otro mamífero, el cual es exacerbado o causado
20 por la producción excesiva o irregular de la citocina de la
IL- 8 por las células de dicho mamífero, tales como pero sin
limitar a monocitos y/o macrófagos, u otras quimiocinas las
cuales se unen al receptor α o β de la IL- 8, también
conocido como receptor tipo I o tipo II

25 Por consiguiente, el presente invento suministra un
método para tratar una enfermedad mediada por la quimiocina,
en donde la quimiocina se une al receptor α o β de la IL- 8 y
tal método comprende la administración de una cantidad
efectiva de un compuesto la fórmula (I) o una sal
30 farmacéuticamente aceptable del mismo En particular, las
quimiocinas son IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78

45
42

Los compuestos de la fórmula (I) son administrados en una cantidad suficiente para inhibir la función de las citocinas, en particular IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78, de manera que son biológicamente reguladas a niveles normales de función fisiológica, o en ciertos casos a niveles subnormales, para aliviar el estado patológico. Los niveles anormales de IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78 por ejemplo en el contexto del presente invento, constituyen (i) niveles de la IL- 8 libre mayores o iguales a 1 picogramo por mL, (ii) cualquier IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78 asociado a células por encima de niveles fisiológicos normales, o (iii) la presencia de IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78 por encima de niveles basales en células o tejidos en los cuales IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78 respectivamente, son producidos.

Los compuestos la fórmula (I), generalmente han demostrado tener un t_{1/2} prolongado y biodisponibilidad oral mejorada sobre los compuestos divulgados en WO 96/25157 y WO 97/29743 cuyas divulgaciones son incorporadas en la presente como referencia.

Hay muchos estados patológicos en los cuales la producción excesiva o irregular de la IL- 8 está involucrada en la exacerbación y/o causa de la enfermedad. Las enfermedades mediadas por las quimioquinas incluyen soriasis, dermatitis atópica, osteoartritis, artritis reumatoidea, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome de distrés respiratorio en el adulto, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, apoplejía, choque séptico, esclerosis múltiple, choque endotóxico, septicemia gram negativa, síndrome de choque tóxico, daño por reperfusión renal y cardíaca,

46
43

glomerulonefritis, trombosis, reacción injerto vs huésped, enfermedad de Alzheimer, rechazos de aloinjertos, malaria, restinosis, angiogénesis, aterosclerosis, osteoporosis, gingivitis y liberación de células madre hematopoyéticas no
5 deseadas y enfermedades producidas por virus respiratorios, virus herpes, y virus de la hepatitis, meningitis, herpes encefalitis, vasculitis del SNC, lesión cerebral traumática, tumores en SNC, hemorragia subaracnoidea, trauma post-quirúrgico, neumonitis intersticial, hipersensibilidad,
10 artritis inducida por cristales (gotosa), pancreatitis aguda y crónica, hepatitis alcohólica aguda, enterocolitis necrotizante, sinusitis crónica, uveítis, polimiositis, vasculitis, acné, úlceras gástricas y duodenales, enfermedad celíaca, esofagitis, glositis, obstrucción de vías
15 respiratorias, hipersensibilidad de vías respiratorias, bronquiolitis obliterante, neumonía organizante, bronquiestasia, bronquiolitis, bronquiolitis obliterante, bronquitis crónica, cor pulmonar, disnea, enfisema, hipercapnea, hipoxemia, reducción quirúrgica de volumen
20 pulmonar, hipertensión pulmonar, hipertrofia ventricular derecha, sarcoidosis, enfermedad de vías respiratorias menores, desequilibrio ventilación- perfusión, respiración asmática y lupus

Esas enfermedades principalmente son caracterizadas por
25 infiltración masiva de neutrófilos, infiltración de células-T, o crecimiento neovascular, y están asociadas con producción aumentada de IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78, la cual es responsable de la quimiotaxia de neutrófilos hacia el sitio inflamatorio o el crecimiento
30 direccional de células endoteliales En contraste con otras citocinas inflamatorias (IL- 1, TNF α , IL- 6), IL- 8, GRO α ,

44 47

GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78 tienen la propiedad
característica de promover la quimiotaxia de neutrófilos,
liberación de enzimas incluyendo pero sin limitar a
liberación de elastasa así como también producción y
5 activación de superóxidos Las α - quimiocinas pero
particularmente, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78, que
actúan a través del receptor tipo I o II de la IL- 8 pueden
promover la neovascularización de tumores mediante la
promoción del crecimiento direccional de células
10 endoteliales Por lo tanto, la inhibición de la quimiotaxia o
activación inducida por la IL- 8 produciría la reducción
directa de la infiltración de neutrófilos

Evidencia reciente también implica el rol de las
quimiocinas el tratamiento de infecciones de VIH, Littleman
15 Nature 381, pp 661 (1996) y Koup, Nature 381, pp 667
(1996)

Evidencia actual también indica el uso de inhibidores de la
IL- 8 en el tratamiento de aterosclerosis La primera
20 referencia, Boisvert J Clin Invest, 1998, 101 353- 363
muestra a través de trasplante medular, que la ausencia de
receptores de la IL- 8 sobre células madre (y, por lo tanto,
sobre monocitos/macrófagos) lleva a una reducción en el
desarrollo de placas ateroscleróticas en ratones con
25 deficiencia del receptor LDL Referencias adicionales de
soporte son Apostolopoulos, Arterioscler, Thomb Vasc Biol
1996, 16 1007- 1012, Liu, Arterioscler Thromb Vasc Biol
1997, 17 317- 323, Rus, Atherosclerosis 1996, 127 263- 271 ,
Wang , J Biol chem 1996, 271 8837- 8842, Yue, Eur J
30 Pharmacol 1993, 240 81- 84, Koch, Am J Pathol 1993,
142 1423- 1431 , Lee, Immunol Lett 1996, 53, 109- 113 , y

45-48

El presente invento también suministra un medio para tratar, en un ambiente agudo, así como para prevenir, en aquellos
5 individuos considerados susceptibles, lesiones del SNC mediante compuestos del antagonista del receptor de la quimiocina de la fórmula (I)

Los lesiones del SNC como se definen en la presente incluyen
10 trauma cefálico abierto o penetrante, tal como en cirugía, o daño por trauma cefálico cerrado, tal como mediante una cirugía a la región en la cabeza También incluida dentro de esta definición está la apoplejía isquémica, particularmente en el área cerebral

15 La apoplejía isquémica se puede definir como un trastorno neurológico focal que resulta del suministro insuficiente de sangre hacia una área del cerebro particular, usualmente como una consecuencia de un émbolo, trombos, o cierre ateromatoso
20 local del vaso sanguíneo El papel de las citoquinas inflamatorias en esta área ha sido emergente y el presente invento suministra un medio para el tratamiento potencial de estas lesiones Relativamente poco tratamiento ha estado disponible para una lesión aguda de este tipo

25 TNF- α es una citocina con acciones proinflamatorias, incluyendo expresión de moléculas de adhesión de leucocitos endoteliales Los leucocitos se infiltra en las lesiones cerebrales isquémica y por lo tanto los compuestos que
30 inhiben o disminuyen los niveles de TNF serían útiles para el tratamiento de lesión cerebral isquémica Ver Liu, Stroke, Vol 25 , No 7, pp 1481- 88 (1994) cuya divulgación es

incorporada en la presente como referencia

Los modelos de lesiones cefálicas cerradas y tratamiento con agentes mixtos 5LO/CO es discutido en Shohami, J de Vaise &
5 Clinical Physiology and Pharmacology Vol 3, No 2, pp 99-107 (1992) cuya divulgación es incorporada en la presente como referencia El tratamiento, cuya formación reducida de edema, se encontró que mejoró el resultado funcional en aquellos animales tratados

10

Los compuestos de la fórmula (I) son administrados en una cantidad suficiente para inhibir la unión de la IL- 8 a los receptores α o β de la IL- 8, tal como se evidenció mediante la reducción en activación y quimiotaxia de neutrófilos El
15 descubrimiento de los compuestos de la fórmula (I) son inhibidores de unión a la IL- 8 se basa en los efectos de los compuestos de la fórmula (I) en los ensayos de unión de receptores *in vitro* los cuales son descritos en la presente Los compuestos de la fórmula (I) han sido mostrados como
20 inhibidores de los receptores de la IL- 8 tipo II

Como se utiliza en la presente, el término "estado patológico o enfermedad mediada por la IL- 8" se refiere a cualquiera y a todos los estados patológicos en los cuales IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78 juega un papel, ya
25 sea mediante la producción de los mismos IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78, o mediante IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78 haciendo que otra monocina sea liberada, tal como pero sin limitar a IL- 1, IL- 6, o TNF Un estado patológico en el cual, por ejemplo, IL- 1 es el principal
30 componente, y cuya producción o acción, es exacerbada o secretada en respuesta a la IL- 8, sería por lo tanto

50
47

considerado como un estado patológico mediado por la IL- 8

Como se utiliza en la presente, el término "estado patológico o enfermedad mediada por quimiocina" se refiere a cualquiera y a todos los estados patológicos en los cuales

5 una quimiocina la cual se une a un receptor α o β de la IL- 8 juega un papel, tal como pero sin limitar a IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2 O ENA- 78 Esto incluiría un estado patológico en el cual, la IL- 8 juega un papel, ya se mediante la producción de la misma IL- 8, o mediante la IL- 8
10 haciendo que otra monocina sea liberada, tal como pero sin limitar a IL- 1, IL- 6 o YNF Un estado patológico en el cual, por ejemplo, IL- 1 es un componente principal, y cuya producción o acción, es exacerbada o secretada en respuesta a la IL- 8, por lo tanto sería considerado un estado patológico
15 mediado por la IL- 8

Como se utiliza en la presente, el término "citocina" se refiere a cualquier polipéptido secretado que afecta las funciones de las células y es una molécula, la cual modula las interacciones entre células en la respuesta inmune,

20 inflamatoria o hematopoyética Una citocina incluye, pero no está limitada a monocinas y linfocinas, sin tener en cuenta cuales células las producen Por ejemplo, una monocina generalmente es conocida por ser producida y secretada por una célula mononuclear, tal como un macrófago y/o monocito
25 Sin embargo, muchas otras células también producen monocinas, tales como células asesinas, fibroblastos, basófilos, neutrófilos, células endoteliales, astrocitos cerebrales, células medulares de estroma, queratinocitos epiderales y linfocitos B Las linfocinas generalmente son conocidas por
30 ser producidas por linfocitos Ejemplos de citoquinas incluyen, pero no se limitan a, Interleucina- 1 (IL- 1),

48

Interleucina- 6 (IL- 6), Interleucina- 8 (IL- 8), Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α) y factor de necrosis Tumoral- β (TNF- β)

5 Como se utiliza aquí, el término "quimiocina" se refiere a cualquier polipéptido secretado que afecta las funciones de las células y es una molécula que modula las interacciones entre las células en la respuesta inmune, inflamatoria o hematopoyética, similar al término "citocina" anterior. Una quimiocina es principalmente secretada a través de transmembranas celulares y produce la quimiotaxia y activación de glóbulos blancos específicos y leucocitos, neutrófilos, monocitos, macrófagos, células- T, células- B, células endoteliales y células de músculo liso. Ejemplos de quimiocinas incluyen pero no se limitan a IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP- 2, ENA- 78, IP- 10, MIP- 1 α , MIP- β , PFA, y MCP 1, 2, y 3.

10 Con el objeto de utilizar un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en terapia, normalmente éste será formulado en una composición farmacéutica según la práctica farmacéutica estándar. Por lo tanto, este invento se relaciona con una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva no tóxica de un compuesto de la fórmula (I) y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

25 Los compuestos de la fórmula (I), sales farmacéuticamente aceptables del mismos y composiciones farmacéuticas que los incorporan pueden convenientemente se administrados mediante cualquiera de las rutas convencionalmente utilizadas para administración de fármacos, por ejemplo, de manera oral, tópica, parenteral o por inhalación. Los compuestos de la fórmula (I) se pueden

administrar en formas de dosis convencionales preparadas combinando un compuesto la fórmula (I) con vehículos farmacéuticos estándares según procedimientos convencionales Los compuestos de la fórmula (I) también se pueden

5 administrar en dosis convencionales en combinación con un segundo compuesto terapéuticamente activo conocido Estos procedimientos pueden involucrar el mezclado, granulación y compresión o disolución de los ingredientes según sea apropiado para la preparación deseada Se apreciará que la forma y carácter del vehículo o diluyente farmacéuticamente
10 aceptable es dictada por la cantidad de ingrediente activo con la cual se va a combinar, la ruta de administración y otras variables conocidas El vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatibles con ingredientes de la
15 formulación y no perjudicial para receptor del mismo

El vehículo farmacéutico empleado puede ser, por ejemplo, un sólido o un líquido Ejemplos de vehículos sólidos son lactosa, yeso, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, acacia, estearato de magnesio, ácido esteárico y
20 similares Ejemplos de vehículos líquidos son jarabe, aceite de maní, aceite de oliva, agua y similares De manera similar, el vehículo o diluyente puede incluir un material retardante conocido en el estado de la técnica, tal como mono- estearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo
25 o con una cera

Se pueden emplear una amplia variedad de formas farmacéuticas Así, si se utiliza un vehículo sólido, la preparación puede ser tabletas, colocado en una cápsula de gelatina dura en forma de polvo o píldora o en forma de una
30 pastilla La cantidad de vehículo sólido variará ampliamente pero preferiblemente estará entre 25 mg y 1g aproximadamente Cuando se utiliza un vehículo líquido, la preparación será en

53
50

forma de jarabe, emulsión, cápsula de gelatina suave, líquido inyectable estéril tal como ampolleta o suspensión líquida no acuosa

Los compuestos de la fórmula (I) se pueden administrar tópicamente, es decir mediante administración no sistemática. Esto incluye la aplicación de un compuesto de la fórmula (I) de manera externa a la epidermis o la cavidad bucal y la instilación de tal compuesto en el oído, ojo y nariz, tal que el compuesto no entre significativamente al torrente sanguíneo. En contraste, la administración sistémica se refiere a administración oral, intravenosa, intraperitoneal e intramuscular.

Las formulaciones apropiadas para administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semi-líquidas apropiadas para penetración a través de la piel hacia el sitio de inflamación tal como linimentos, lociones, cremas, ungüentos o pastas, y gotas apropiadas para administración a ojos, oídos o nariz. El ingrediente activo puede comprender, para administración tópica, entre 0.001% y 10% por peso, por ejemplo entre 1% y 2% por peso de la formulación. Sin embargo puede comprender tanto como 10% por peso pero preferiblemente comprenderá menos de 5% por peso, más preferiblemente entre 0.1% y 1% por peso de la formulación.

Las lociones según el presente invento incluyen aquellas apropiadas para aplicación a piel u ojos. Una loción para ojos puede comprender una solución acuosa estéril opcionalmente conteniendo un bactericida y puede ser preparada mediante métodos similares a aquellos para la preparación de gotas. Las lociones o linimentos para aplicación a la piel pueden también incluir un agente para acelerar el secado y para refrescar la piel, tal como un alcohol o acetona, y/o humectante tal como glicerol o un

54
57

aceite tal como aceite de ricino, aceite de cacahuete

Cremas, ungüentos o pastas según el presente invento son formulaciones semi- sólidas del ingrediente activo para aplicación externa. Estas pueden ser hechas mezclando el
5 ingrediente activo en forma finamente dividida o en polvo, sola o en solución o suspensión en un fluido acuoso o no acuoso, con la ayuda de maquinaria apropiada, con una base grasosa o no grasosa. La base puede comprender hidrocarburos tales como parafina dura, suave o líquida, glicerol, cera de
10 abejas, jabón metálico, mucílago, un aceite de origen natural tal como aceite de almendra, maíz, cacahuete, ricino u oliva, lanolina o sus derivados o un ácido graso tal como ácido esteárico u oléico junto con un alcohol tal como glicol de propileno o un macrogel. La formulación puede incorporar
15 cualquier agente activo de superficie apropiada tal como un surfactante aniónico, catiónico o no iónico tal como un éster de sorbitan o un derivado de polioxietileno del mismo. Agentes de suspensión tales como gomas naturales, derivados de celulosa o materiales inorgánicos tales como sílices
20 silicáceas, y otros ingredientes tales como lanolina, se pueden incluir.

Gotas según el presente invento pueden comprender soluciones o suspensiones aceitosas o acuosas estériles y se pueden preparar disolviendo el ingrediente activo en una
25 solución acuosa apropiada de un agente bactericida y/o fungicida y/o cualquier otro preservativo apropiado, y preferiblemente incluyendo un agente tensoactivo. La solución resultante puede entonces ser clarificada mediante filtración, transferida a un recipiente apropiado el cual es
30 luego sellado y esterilizado mediante autoclave o manteniéndola a 98- 100°C durante media hora. Alternativamente, la solución puede ser esterilizada mediante

52

filtración y transferida hacia el recipiente mediante una técnica aséptica. Ejemplos de agentes bactericidas y fungicidas apropiados para inclusión en las gotas son acetato o nitrito fenilmercúrico (0.002%), cloruro de benzaconio

5 (0.01%) y acetato de clorhexidina (0.01%). Solventes apropiados para la preparación de una solución aceitosa incluyen glicerol, alcohol diluido y glicol de propileno.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser administrados parenteralmente, es decir mediante administración

10 intravenosa, intramuscular, subcutánea, intravenosa, intrarectal, intravaginal o intraperitoneal. Las formas subcutánea e intramuscular de administración parenteral son generalmente preferidas. Formas de dosificación apropiadas para tal administración pueden ser preparadas mediante

15 técnicas convencionales. Los compuestos de la fórmula (I) también se pueden administrar mediante inhalación, es decir mediante administración por inhalación intranasal u oral. Formas de dosificación apropiadas para tal administración, tal como una formulación de aerosol o inhalador de dosis

20 medida, se pueden preparar mediante técnicas convencionales.

Para todos los métodos de uso divulgados en la presente para los compuestos de la fórmula (I), el régimen de dosificación oral diaria preferiblemente estará entre 0.01 y 80 mg/kg aproximadamente del peso total del cuerpo. El

25 régimen diario de dosificación tópica preferiblemente estará entre 0.1 mg y 150 mg, administrado entre 1 y 4

preferiblemente entre 2 y 3 veces al día. El régimen diario de dosificación de inhalación preferiblemente estará entre 0.01 mg/kg y 1 mg/kg aproximadamente por día. Alguien con

30 experiencia en el estado de la técnica reconocerá que la cantidad óptima y tiempo entre dosis individuales de un compuesto de la fórmula (I) una sal farmacéuticamente

46
53

aceptable del mismo serán determinados por la naturaleza y medida de la condición tratada, la forma, ruta y sitio de administración, y el paciente particular tratado, y tales óptimos se pueden determinar mediante técnicas

5 convencionales También se apreciará por alguien con habilidad en el estado de la técnica que el curso óptimo de tratamiento, es decir, el número de dosis de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo dado por día durante un numero definido de días, puede
10 ser indagado por aquellos con experiencia en el estado de la técnica utilizando el curso convencional de pruebas de determinación de tratamiento

El invento ahora será descrito como referencia a los siguientes ejemplos biológicos los cuales son meramente
15 ilustrativos y no para ser interpretados como una limitación del alcance del presente invento

EJEMPLOS BIOLÓGICOS

Los efectos inhibitorios de las quimiocinas IL- 8 y Gro-
20 α de los compuestos del presente invento fueron determinados usando los siguientes ensayos in vitro

Ensayos de Unión a Receptores

IL- 8 [125 I] (recombinante humano) fue obtenido de Amersham Corp , Arlington Heights, IL, con una actividad
25 específica de 2000 Ci/mmol Gro- α fue obtenida de NEN- New England Nuclear Todos los otros químicos fueron de categoría analítica Altos niveles de receptores α y β de IL- 8 humana recombinante fueron individualmente expresados en células de ovario de hamsters chinos tal como se describió
30 anteriormente (Holmes et al , Science, 1991, 253, 1278) Las membranas de ovario de hamster chino fueron homogenizadas de

54

acuerdo a un protocolo antes descrito (Haour, et al , J Biol Chem , 249 pp 2195- 2205 (1974)), con la excepción que el buffer de homogenización fue cambiado a 10mM tris- HCl, 1mM MgSO₄, 0 5mM EDTA (ácido etilendiaminatetraacético), 1mM PMSF (fluoruro de α - toluensulfonilo), 0 5 mg/l Leupeptina, pH 7 5 La concentración proteica de membrana fue determinada usando un kit de micro- ensayo de Pierce Co usando albúmina sérica bovina como estándar Todos los ensayos fueron realizados en un formato de microplaca de 96 pozos Cada mezcla de reacción contuvo ¹²⁵I IL- 8 (0 25 nM) ó ¹²⁵I Gro- α y 0 5 μ g/ml de membranas de IL- 8R α ó 1 0 μ g/ml de membranas de IL- 8R β en buffers de 20 mM bis- trispropano y 0 4 mM tris HCl, pH 8 0, que contienen 1 2 mM MgSO₄, 0 1 mM EDTA, 25 mM NaCl y 0 03% CHAPS Adicionalmente, el medicamento o compuesto de interés fue agregado el cual había sido pre- disuelto en DMSO para así lograr una concentración final entre 0 01nM y 100 μ M El ensayo fue iniciado al agregar ¹²⁵I IL- 8 Luego de permanecer una hora a temperatura ambiente, la placa fue cosechada usando un cosechador de 96- pozos Tomtec sobre un medio de filtración de fibra de vidrio con polietilenimina al 1%/BSA al 0 5% y lavado tres veces con 25 mM NaCl, 10mM trisHCl, 1 mM MgSO₄, 0 5 mM EDTA, 0 03% CHAPS, pH 7 4 El filtro luego fue secado y contado en el contador de centelleo líquido Betaplate El receptor IL- 8R α recombinante, ó Tipo I, también se le refiere en la presente como el receptor no- permisivo y el receptor IL- 8R β recombinante, ó Tipo II, se le refiere en la presente como el receptor permisivo

Todos los compuestos de ejemplo de las Fórmulas (I) expuestos en la Sección de Química Sintética de la presente, Ejemplos 1- 15, demostraron un IC₅₀ entre 45 hasta <1 μ g/ml en

55

los modelos permisivos para inhibición de receptores IL- 8
De aquellos compuestos ensayados, los Ejemplos 1- 12 también
resultaron ser inhibidores de la unión de Gro- α a
aproximadamente el mismo nivel

5 Ensayo de Quimiotaxis:

Las propiedades inhibitorias in vitro de estos
compuestos son determinadas en el ensayo de quimiotaxis de
neutrófilos tal como se describe en Protocolos Actuales en
Inmunología (*Current Protocols in Immunology*), vol I, Suppl
10 1, Unidad 6 12 3 , cuya divulgación está incorporada en la
presente como referencia Los neutrófilos fueron aislados a
partir de sangre humana tal como se describe en Protocolos
Actuales en Inmunología, vol I, Suppl 1, Unidad 7 23 1 ,
cuya divulgación está incorporada en la presente como
15 referencia Los quimioatrayentes IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , y
NAP- 2 son colocados en la cámara inferior de una cámara
multipozo (48) (Neuro Probe, Cabin John, MD) a una
concentración entre 0.1 y 100 nM Las dos cámaras están
separadas por un filtro de policarbonato de 5 μ m Al probar
20 compuestos de este invento, son mezclados con las células
(0.001- 1000 nM) justo antes de agregar las células a la
cámara superior Se permite que la incubación proceda por
45 hasta 90 minutos aproximadamente a 37°C en un incubador
humidificado con 5% CO₂ Al terminar el periodo de
25 incubación, la membrana de policarbonato es retirada y el
lado superior es lavado, luego la membrana es teñida usando
el protocolo de teñido Diff Quick (Baxter Products, McGaw
Park, IL, USA) Las células que se hayan aproximado
(chemotaxed) a la quimiocina son contadas visualmente usando
30 un microscopio Generalmente, se cuentan cuatro campos para
cada muestra, estos números son promediados para proporcionar

el número promedio de células que hayan migrado Cada muestra es probada en triplicado y cada compuesto es repetido por lo menos cuatro veces A ciertas células (células de control positivo) no se les agregó compuesto, estas células representan la máxima respuesta quimiotáctica de las células En el caso donde se desea un control negativo (sin estimulación), no se agrega quimiocinas a la cámara inferior La diferencia entre el control positivo y el control negativo representa la actividad quimiotáctica de las células

10 **Ensayo de Liberación de Elastasa:**

Los compuestos de este invento son ensayados por su habilidad de prevenir la liberación de elastasa a partir de neutrófilos humanos Los neutrófilos son aislados a partir de sangre humana tal como se describe en Protocolos Actuales en Inmunología, vol I, Suppl 1, Unidad 7 23 1 0 88 x 10⁶ células PMN suspendidas en Solución Ringer (NaCl 118, KCl 4 56, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1 03, Glucosa 11 1, HEPES 5 mM, pH 7 4) son colocadas en cada pozo de una placa de 96 pozos en un volumen de 50 ul A la placa se agrega el compuesto de prueba (0 001 - 1000 nM) en un volumen de 50ul, Cytochalasin B en un volumen de 50 ul (20 ug/ml) y buffer Ringer en un volumen de 50ul Se permite que las células se calienten (37°C, CO₂ al 5%, RH 95%) por cinco minutos antes de agregar IL- 8, GRO α , GRO β , GRO γ , y NAP- 2 a una concentración final de 0 01- 1000 nM Se permite que la reacción proceda por 45 minutos antes de que la placa de 96 pozos sea centrifugada (800 xg 5 minutos) y se retira 100 ul del sobrenadante Este sobrenadante es añadido a una segunda placa de 96 pozos seguido por un substrato de elastasa artificial (MeOSuc- Ala- Ala- Pro- Val- AMC, Nova Biochem, La Jolla, CA) a una concentración final de 6 ug/ml disuelto en solución salina amortiguada con fosfato Inmediatamente, la placa es

60
57

colocada en un lector de placas de 96 pozos fluorescente (Cytofluor 2350, Millipore, Bedford, MA) y los datos son recolectados en intervalos de 3 minutos según un método de Nakajima et al , J Biol Chem 254 4027 (1979) La cantidad de Elastasa liberada de los PMN's es calculada al medir la tasa de degradación de MeOSuc- Ala- Ala- Pro- Val- AMC

Ensayo de FNT- α en Lesión Cefálica Traumática

El presente ensayo proporciona la posibilidad de examinar la expresión del ARNm del factor de necrosis tumoral en regiones del cerebro específicas causadas por lesiones cefálicas traumáticas de percusión con fluido lateral experimentalmente inducido en ratas Ratas adultas Sprague-Dawley (n=42) fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (60 mg/kg, i p) y sujetas a lesión cefálica con percusión de fluido lateral de severidad moderada (2 4 atm) situado sobre la corteza temporoparietal izquierda (n=18), o tratamiento "sham" (anestesia y cirugía sin lesión, n=18) Los animales son sacrificados mediante decapitación a 1, 6 y 24 horas después de la lesión, los cerebros son retirados, y muestras de tejido de la corteza parietal izquierda (lesionada) (LC), área correspondiente en la corteza derecha contralateral (RC), corteza adyacente a la corteza parietal lesionada (LA), área adyacente correspondiente en la corteza derecha (RA), hipocampo izquierdo (LH) e hipocampo derecho (RH) son preparados El ARN total fue aislado y se realizó una hibridización Northern blot y cuantificado con relación a un ARN de control positivo de FNT- α (macrófago = 100%) Un aumento marcado en la expresión de ARNm de FNT- α se observa en LH (104 $\pm$ 17% de control positivo, p<0 05 comparado con sham), LC (105 $\pm$ 21%, p<0 05) y LA (69 $\pm$ 8%, p<0 01) en el hemisferio traumatizado una hora después de la lesión Un

aumento en la expresión de ARNm de FNT- α también se observa en LH ($46 \pm 8\%$, $p < 0.05$), LC ($30 \pm 3\%$, $p < 0.01$) y LA ($32 \pm 3\%$, $p < 0.01$) a seis horas lo cual se resuelve a 24 horas pasada la lesión. En el hemisferio contralateral, la expresión de ARNm de FNT- α está aumentado en RH ($46 \pm 2\%$, $p < 0.01$), RC ($4 \pm 3\%$), y RA ($22 \pm 8\%$) a una hora y en RH ($28 \pm 11\%$), RC ($7 \pm 5\%$), y RA ($26 \pm 6\%$, $p < 0.05$) a seis horas pero no a 24 horas después de la lesión. En el caso de *sham* (cirugía sin lesión), no se observó ningún cambio consistente en la expresión de ARNm de FNT- α en ninguna de las seis áreas del cerebro, en ningún hemisferio y a ningún momento. Estos resultados indican que después de una lesión cefálica por percusión con fluido parasagital, la expresión temporal de ARNm de FNT- α es alterada en regiones cerebrales específicas, incluyendo a aquellas del hemisferio no traumatizado. Puesto que el FNT- α es capaz de inducir factor de crecimiento neuronal (NGF, por su sigla en inglés) y estimular la liberación de otras citocinas a partir de astrocitos activados, esta alteración pos-traumática en la expresión genética del FNT- α juega un papel importante en la respuesta aguda y regenerativa al trauma del sistema nervioso central.

Modelo de lesión del SNC para ARNm del IL- β

Este ensayo caracteriza la expresión regional del ARNm de la interleucina- 1β (IL- 1β) en regiones del cerebro específicas después de una lesión experimental cefálica traumática por percusión con fluido lateral en ratas. Ratas adultas Sprague-Dawley ($n=42$) fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (60 mg/kg , i.p.) y sujetas a lesión cefálica con percusión de fluido lateral de severidad moderada ($2-4 \text{ atm}$) situado sobre la corteza temporoparietal.

izquierda (n=18), o tratamiento "sham" (anestesia y cirugía sin lesión, n=18) Los animales son sacrificados mediante decapitación a 1, 6 y 24 horas después de la lesión, los cerebros son retirados, y muestras de tejido de la corteza parietal izquierda (lesionada) (LC), área correspondiente en la corteza derecha contralateral (RC), corteza adyacente a la corteza parietal lesionada (LA), área adyacente correspondiente en la corteza derecha (RA), hipocampo izquierdo (LH) e hipocampo derecho (RH) son preparados El ARN total fue aislado y se realizó una hibridización Northern blot y la cantidad de ARNm del IL- 1 β de tejido cerebral es presentado como porcentaje de radioactividad relativa de ARN macrófago positivo del IL- 1 β cargado en el mismo gel A la hora después de la lesión, un incremento marcado y significativo en la expresión de ARNm del IL- 1 β es observado en LC (20 0 $\pm$ 7% de control positivo, n = 6, p<0 05 comparado con sham), LH (24 5 $\pm$ 9%, p<0 05) y LA (21 5 $\pm$ 3 1%, p<0 05) en el hemisferio lesionado, lo cual permaneció elevado por hasta seis horas después de la lesión en el LC (4 0 $\pm$ 4%, n=6, p<0 05) y LH (5 0 $\pm$ 1 3%, p<0 05) En los animales sham, no se observa ninguna expresión del ARNm del IL- 1 β en ninguna de las áreas corticales respectivas Estos resultados indican que después de la lesión cefálica traumática, la expresión temporal del ARNm del IL- 1 β es regionalmente estimulada en regiones del cerebro específicas Estos cambios regionales en las citocinas, tales como el IL- 1 β juegan un papel luego de un trauma

Todas las publicaciones, incluyendo pero limitándose a patentes y solicitudes de patentes, citadas en esta especificación, están incorporadas en la presente

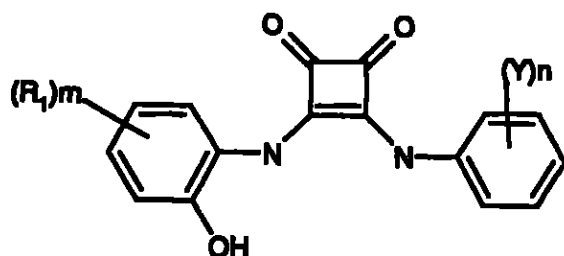
La descripción anterior divulga totalmente el invento incluyendo las realizaciones preferidas del mismo Las modificaciones y mejoramientos de las realizaciones específicamente divulgadas en la presente están dentro del

5 alcance de las siguientes reivindicaciones Sin más por añadir, se cree que cualquier con habilidad en el estado de la técnica, usando a anterior descripción, puede utilizar el invento en su mayor alcance Por lo tanto, los Ejemplos dados en la presente se deben tomar como meramente

10 ilustrativos y no como limitación del alcance del invento de ninguna manera Las realizaciones del invento en donde una propiedad o privilegio exclusivo es reivindicado se definen a continuación

REIVINDICACIONES

1 Un compuesto de la fórmula



(I)

en donde

R_1 es seleccionado de manera independiente entre hidrógeno, halógeno, nitro, ciano, alquilo C1- 10 halosustituido, alquilo C1- 10, alquenilo C2- 10, alcoxilo C1- 10, alcoxilo C1- 10 halosustituido, azida, $(CR_8R_9)_qS(O)_tR_4$, hidroxilo, hidroxilo C1- 10 alquilo, arilo, aril C1- 4 alquilo, ariloxilo, aril C1- 4 alquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, heterociclo, alquilo C1- 4 heterocíclico, heteroaril C1- 4 alquilo, aril C2- 10 alquenilo, heteroaril C2- 10 alquenilo, alquenilo C2- 10 heterocíclico, $(CR_8R_9)_qNR_4R_5$, alquenilo C2- 10 $C(O)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_{10}$, $S(O)_3H$, $S(O)_3R_8$, $(CR_8R_9)_qC(O)R_{11}$, alquenilo C2- 10 $C(O)R_{11}$, alquenilo C2- 10 $C(O)OR_{11}$, $(CR_8R_9)_qC(O)R_{12}$, $(CR_8R_9)_qOC(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNR_4C(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNHS(O)_2R_{17}$, $(CR_8R_9)_qS(O)_2NR_4R_5$, o dos fracciones R_1 juntas forman $O-(CH_2)_sO-$ o un anillo insaturado de 5 a 6 miembros,

q es 0, o un entero con un valor entre 1 y 10,

t es 0, o un entero con un valor entre 1 y 2,

s es un entero con un valor entre 1 y 3,

62

R_4 y R_5 son seleccionados de manera independiente entre hidrógeno, alquilo C1- 4 opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, arilalquilo C1- 4 opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroarilalquilo C1- 4 opcionalmente sustituido, heterociclo, y alquilo C1- 4 heterocíclico, o R_4 y R_5 junto con el nitrógeno al cual están unidos forman un anillo de 5 a 7 miembros el cual opcionalmente comprende un heteroátomo adicional seleccionado entre oxígeno, nitrógeno o azufre,

10

Y es seleccionado de manera independiente entre hidrógeno, halógeno, nitro, ciano, alquilo C1- 10 halosustituido, alquilo C1- 10, alquenilo C2- 10, alcoxilo C1- 10, alcoxilo C1- 10 halosustituido, azida, $(CR_8R_9)_qS(O)_tR_4$, hidroxilo, hidroxil C1- 10 alquilo, arilo, aril C1- 4 alquilo, ariloxilo, aril C1- 4 alquiloxilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, heterociclo, alquilo C1- 4 heterocíclico, heteroaril C1- 4 alquiloxilo, aril C2- 10 alquenilo, heteroaril C2- 10 alquenilo, alquenilo C2- 10 heterocíclico, $(CR_8R_9)_qNR_4R_5$,

15

20

alquenilo C2- 10 $C(O)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_{10}$, $S(O)_3H$, $S(O)_3R_8$, $(CR_8R_9)_qC(O)R_{11}$, alquenilo C2- 10 $C(O)R_{11}$, alquenilo C2- 10 $C(O)OR_{11}$, $C(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qC(O)OR_{12}$, $(CR_8R_9)_qOC(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNR_4C(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNHS(O)_2R_d$, $(CR_8R_9)_qS(O)_2NR_4R_5$, o dos fracciones Y juntas forman $O-(CH_2)_6O-$ o un anillo insaturado de 5 a 6 miembros,

25

n es un entero con un valor entre 1 y 5,

m es un entero con un valor entre 1 y 4,

R_8 es hidrógeno o alquilo C1- 4,

30

R_{10} es alquilo C1- 10 $C(O)2R_8$,

R₁₁ es seleccionado entre hidrógeno, alquilo C1- 4, arilo
opcionalmente sustituido, arilalquilo C1- 4 opcionalmente
sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido,
heteroarilalquilo C1- 4 opcionalmente sustituido, heterociclo
5 opcionalmente sustituido, y alquilo C1- 4 heterocíclico
opcionalmente sustituido,

R₁₂ es seleccionado entre hidrógeno, alquilo C1- 10, arilo
opcionalmente sustituido y arilalquilo opcionalmente
10 sustituido,

R₁₇ es seleccionado entre alquilo C1- 4, arilo, arilalquilo,
heteroarilo, heteroarilalquilo C- 14, heterociclo, y alquilo
C1- 4 heterocíclico, en donde el arilo, heteroarilo, y
15 anillos heterocíclicos están todos opcionalmente sustituidos

2 El compuesto según la Reivindicación 1, el cual es

3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- bromofenilamino)-
20 ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2,3- diclorofenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (4- nitro- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- fenilamino-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
25 3- (4- ciano- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- fenilamino-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- metoxil- bencilamino)- 4- fenilamino- ciclobut- 3- eno-
1,2- diona,
3- (4- ciano- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2-
30 bromofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (4- ciano- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2-
clorofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,

64

- 3- (4- ciano- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2,3-
diclorofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- fenilfenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
5 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- metoxifenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- etilfenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- fenoxifenilamino)-
10 ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- clorofenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
6- cloro- 3- (3,4- dioxo- 2- fenilamino- ciclobut- 1-
enilamino)- 2- hidroxil- bencenosulfonamida,
15 3,4- bis- (4- ciano- 2- hidroxifenilamino)- ciclobut- 3- eno-
1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2,3- dimetilfenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- metil- 4-
20 bromofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- propilfenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- metil- 3-
clorofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
25 3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2,3- dimetoxifenilamino)-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2- cloro- 3-
metilfenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (4- nitro- 2- hidroxil- fenilamino)- 4- (2-
30 clorofenilamino)- ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3,4- bis- (4- nitro- 2- hidroxifenilamino)- ciclobut- 3- eno-
1,2- diona,

3- [(2- hidroxí- fenil)- metil- amino]- 4- fenilamino-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,
3- (3- hidroxí- piridin- 2- ilamino)- 4- fenilamino-
ciclobut- 3- eno- 1,2- diona,

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

3 Una composición farmacéutica que comprende una cantidad
efectiva de un compuesto según la Reivindicación 1, y un
vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable

10

4 Un método de tratar una enfermedad mediada por
quimiocinas, en donde la quimiocina se une a un receptor IL-
8 α ó β en un mamífero, el cual comprende administrar a dicho
mamífero una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula
15 de acuerdo con la reivindicación 1

5 El método según la Reivindicación 4 en donde el mamífero
es afligido con una enfermedad mediada por quimiocinas
seleccionadas entre 17

20

6 El método según la Reivindicación 5 en donde el mamífero
es afligido con una enfermedad mediada por quimiocinas
seleccionada entre dermatitis atópica, osteoartritis,
artritis reumatoidea, asma, enfermedad pulmonar obstructiva
25 crónica, síndrome de distrés respiratorio en el adulto,
enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad de Crohn,
colitis ulcerativa, apoplejía, choque séptico, esclerosis
múltiple, choque endotóxico, septicemia gram negativa,
síndrome de choque tóxico, daño por reperfusión renal y
30 cardíaca, glomerulonefritis, trombosis, reacción injerto vs
huésped, enfermedad de Alzheimer, rechazos de aloinjertos,
malaria, retinosis, angiogenesis, aterosclerosis,

osteoporosis, gingivitis y liberación de células madre
hematopoyéticas no deseadas y enfermedades producidas por
virus respiratorios, virus herpes, y virus de la hepatitis,
meningitis, herpes encefalitis, vasculitis del SNC, lesión
5 cerebral traumática, tumores en SNC, hemorragia
subaracnoidea, trauma post- quirúrgico, neumonitis
intersticial, hipersensibilidad, artritis inducida por
cristales (gotosa), pancreatitis aguda y crónica, hepatitis
alcohólica aguda, enterocolitis necrotizante, sinusitis
10 crónica, uveítis, polimiositis, vasculitis, acné, úlceras
gástricas y duodenales, enfermedad celíaca, esofagitis,
glositis, obstrucción de vías respiratorias,
hipersensibilidad de vías respiratorias, bronquiolitis
obliterante, neumonía organizante, bronquiectasia,
15 bronquiolitis, bronquiolitis obliterante, bronquitis crónica,
cor pulmonar, disnea, enfisema, hipercapnea, hipoxemia,
reducción quirúrgica de volumen pulmonar, hipertensión
pulmonar, hipertrofia ventricular derecha, sarcoidosis,
enfermedad de vías respiratorias menores, desequilibrio
20 ventilación- perfusión, respiración asmática y lupus

RESUMEN DE DIVULGACIÓN DEL INVENTO

Este invento se relaciona con el uso novedoso de escuaratos
de dianilino en el tratamiento de enfermedades mediadas por
5 la quimiocina, Interleucina-8 (IL-8)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US01/17678

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) C07C 211/00
US CL 564/306

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
U.S. 564/306

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
NONE

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
STN CASONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Database CAPLUS on STN, AN 1999 79153 CHEN et al Chemical Abstract Online	1-3
—	Printout, "Synthesis of asymmetric aryl-substituted amides of acrylic acid and asymmetric	
A	isocyanurilium amides", Hechang Huaxue 1998, Vol 6, No. 4, pages 383-392.	4-6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "B" earlier application or patent published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 September 2001 (20 09 2001)

Name and mailing address of the ISA/US
Commissioner of Patents and Trademarks
Box PCT
Washington, D.C. 20231

Facsimile No (703)305-3230

Date of mailing of the international search report

Authorized officer
Samuel A. Barts

Telephone No 703-308-1235

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION	()	()
MODELO DE UTILIDAD	()	()
- Indicacion de que se solicita la concesion de una patente.	()	(X)
- Datos de Identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud	()	(X)
- Descripción de la invencion.	()	(X)
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	(X)
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas		

COMPLETA	(X)	INCOMPLETA	()	()
----------	-----	------------	-----	-----

DISEÑO INDUSTRIAL	()			
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()		
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	()	()		
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño	()	()		
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()		

COMPLETA	()	INCOMPLETA	()	()
----------	-----	------------	-----	-----

ESQUEMA DE TRAZADO	()			
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado	()	()		
- Datos de Identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud	()	()		
- Representación gráfica del esquema de trazado	()	()		
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()		

COMPLETA	()	INCOMPLETA	()	()
----------	-----	------------	-----	-----

Edwist Nuvano
Firma Responsable

02-11-2002
Fecha



2020
Bogotá, D C ,

Doctor
Carlos R. Olarte
Apoderado
Smithkline Beecham Corporation

Oficio N° 06399

ASUNTO:

Radicación N°	02-109201
Solicitud internacional	PCT/LJ\$01/17678
Fecha inicio fase nacional	30/12/2002
Trámite	011
Evento	379
Actuación	330
Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Unica de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- ☐ La solicitud no contiene la traducción de los anexos del reporte de examen preliminar internacional (Art. 38.2 b) del tratado PCT)
- ☐ La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486)
- ☐ La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.
- ☐ El solicitante debe aclarar si la solicitud corresponde al capítulo I o II del PCT por que la indicación en el petitorio no corresponde a los documentos del expediente, en caso necesario adjuntar los documentos que corresponden.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica N° 10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPÉDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

08 AGO 2003

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha, _____