



(19) **UA** (11) **74 624** (13) **C2**
(51)МПК

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
УКРАИНЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ УКРАИНЫ

(21), (22) Заявка: 2003098169, 13.03.2002

(24) Дата начала действия патента: 16.01.2006

(30) Приоритет: 15.03.2001 SE 0100903-4

(46) Дата публикации: 15.01.2006C07D 233/78
20060101AFI20051220RHUA C07D
401/06 20060101ALI20051220RHUA
C07D 413/06
20060101ALI20051220RHUA A61P
11/00 20060101CLI20051220RHUA
A61P 19/00
20060101CLI20051220RHUA A61P
29/00 20060101CLI20051220RHUA
A61P 35/00
20060101CLI20051220RHUA A61K
31/444 20060101ALI20051220RHUA
A61K 31/4166
20060101ALI20051220RHUA

(86) Заявка PCT:
PCT/SE02/00474, 20020313

(72) Изобретатель:

Леписте Матти, SE,
Мунк Аф Росенскельд, SE

(73) Патентовладелец:

АСТРАЗЕНЕКА АБ, SE

(54) ИНГИБИТОРЫ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ

(57) Реферат:

Соединения формулы I, полезные как ингибиторы металлопротеиназы, в частности как ингибиторы MMP12, где R5 представляет моноциклическую группу.

Официальный бюлетень "Промышленная собственность". Книга 1 "Изобретения, полезные модели, топографии интегральных микросхем", 2006, N 1, 15.01.2006. Государственный департамент интеллектуальной собственности Министерства образования и науки Украины.

UA
74624
C2

UA
74624
C2



(19) **UA** (11) **74 624** (13) **C2**

(51) Int. Cl.

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF
UKRAINE

STATE DEPARTMENT OF INTELLECTUAL
PROPERTY

(12) **DESCRIPTION OF PATENT OF UKRAINE FOR INVENTION**

(21), (22) Application: 2003098169, 13.03.2002

(24) Effective date for property rights: 16.01.2006

(30) Priority: 15.03.2001 SE 0100903-4

(46) Publication date: 15.01.2006C07D 233/78
20060101AFI20051220RHUA C07D
401/06 20060101ALI20051220RHUA
C07D 413/06
20060101ALI20051220RHUA A61P
11/00 20060101CLI20051220RHUA
A61P 19/00
20060101CLI20051220RHUA A61P
29/00 20060101CLI20051220RHUA
A61P 35/00
20060101CLI20051220RHUA A61K
31/444 20060101ALI20051220RHUA
A61K 31/4166
20060101ALI20051220RHUA

(86) PCT application:
PCT/SE02/00474, 20020313

(72) Inventor:
Lepisto Matti, SE,
Munck Af Rosenschold, SE

(73) Proprietor:
ASTRAZENECA AB, SE

(54) metalloproteinase inhibitors

(57) Abstract:

Compounds of the formula (I) useful as metalloproteinase inhibitors, especially as inhibitors of MMP12, wherein R5 is a monocyclic group.

Official bulletin "Industrial property". Book 1 "Inventions, utility models, topographies of integrated circuits", 2006, N 1, 15.01.2006. State Department of Intellectual Property of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

U A 7 4 6 2 4 C 2

U A 7 4 6 2 4 C 2



(19) **UA** (11) **74 624** (13) **C2**
(51)МПК

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ

(12) ОПИС ВИНАХОДУ ДО ПАТЕНТУ УКРАЇНИ

(21), (22) Дані стосовно заявки:
2003098169, 13.03.2002

(24) Дата набуття чинності: 16.01.2006

(30) Дані стосовно пріоритету відповідно до Паризької конвенції : 15.03.2001 SE 0100903-4

(46) Публікація відомостей про видачу патенту (деклараційного патенту): 15.01.2006C07D 233/78
20060101AFI20051220RHUA C07D
401/06 20060101ALI20051220RHUA
C07D 413/06
20060101ALI20051220RHUA A61P
11/00 20060101CLI20051220RHUA
A61P 19/00
20060101CLI20051220RHUA A61P
29/00 20060101CLI20051220RHUA
A61P 35/00
20060101CLI20051220RHUA A61K
31/444 20060101ALI20051220RHUA
A61K 31/4166
20060101ALI20051220RHUA

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки відповідно до договору РСТ:
PCT/SE02/00474, 20020313

(72) Винахідник(и):
Лепісте Матті , SE,
Мунк Аф Росенскельд Магнус , SE

(73) Власник(и):
АСТРАЗЕНЕКА АБ, SE

(54) ІНГІБІТОРИ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ

(57) Реферат:
Сполуки формули I, корисні як інгібітори

металопротеїнази, зокрема як інгібітори MMP12, де R5 представляє моноциклічну групу.

U
A
7
4
6
2
4
C
2

U
A
7
4
6
2
4
C
2

Опис винаходу

Даний винахід стосується сполук, корисних при інгібуванні металопротеїназ і, зокрема, фармацевтичних композицій, що їх містять, а також їх застосування.

Сполуки цього винаходу є інгібіторами одного чи більше металопротеїназних ферментів. Металопротеїнази є надродиною протеїназ (ферментів), число яких в останні роки різко зросло. На основі структурних та функціональних досліджень ці ферменти було розподілені на родини та підродини, як описано в N.M. Hooper (1994) FEBS Letters 354:1-6. Приклади металопротеїназ включають матричні металопротеїнази (MMP), як-то колагенази (MMP1, MMP8, MMP13), желатинази (MMP2, MMP9), стромелізини (MMPS, MMP10, MMP11), матрилізін (MMP7), металоеластаза (MMP12), енамелізін (MMP19), МТ-MMP (MMP14, MMP15, MMP16, MMP17); репролізін або адамалізін, або МDC родину, яка включає секретази та шедази, як-то перетворюючі TNF ферменти (ADAM 10 та TACE); астацінову родину, що включає ферменти, як-то перетворююча проколаген протеїназа (PCP); та інші металопротеїнази, як-то агреканаза, родина перетворюючих ендотелій ферментів та родина перетворюючих ангіотензин ферментів.

Металопротеїнази, можна вважати важливими при гіперволемії фізіологічних хворобливих процесів, що включають корекцію тканини, як-то розвиток ембріону, утворення кісток та корекцію матки при менструації. Це базується на здатності металопротеїназ розщеплювати багато матричних субстратів, як-то колаген, протеоглікан та фібронектин. Металопротеїнази, можна також вважати важливими при перетворенні або секреції біологічно важливих клітинних посередників, як-то фактор некрозу пухлин (TNF); та посттрансляційне протеолізне перетворення, або втрата, біологічно важливих мембранних білків, як-то рецептор CD23 з низькою спорідненістю до IgE [для повнішого огляду див. N.M. Hooper et al., (1997) BiochemJ. 321:265-279].

Металопротеїнази було пов'язано з багатьма хворобами або станами. Інгібування активності одної чи більше металопротеїназ може бути дуже корисним при цих хворобах або умови, наприклад, при різних запальних та алергічних хворобах, як-то, запалення суглобів (особливо ревматоїдний артрит, остеоартрит та подагра), запалення шлунково-кишкового тракту (особливо запальна хвороба кишечника, виразковий коліт та гастрит), запалення шкіри (особливо псоріаз, екзема, дерматит); при метастазах або інвазії пухлин; при хворобі, пов'язаній з нерегульованою деградацією екстрацелюлярної матриці, як-то остеоартрит; при резорбтивній хворобі кісток (як-то остеопороз та хвороба Педжета); при хворобах, пов'язаних з порушенням ангіогенезом; пов'язана з діабетом посилена корекція колагену, хвороба зубів (як-то гінгівіт), покриття виразками рогової шкіри, покриття виразками шкіри, постопераційні стани (як-то анастомоз товстої кишки) та загоєння поранень шкіри; демієлінізуючі хвороби центральної та периферійної нервових систем (як-то розсіяний склероз); хвороба Альцгеймера; корекція екстрацелюлярної матриці, яку спостерігають при серцево-судинних хворобах, як-то рестеноз та атеросклероз; астма, риніт; та хронічні обструктивні хвороби легенів (COPD).

MMP12, відома також як еластаза або металоеластаза макрофагів, була спочатку клонована у мишах за допомоги Shapiro et. al [1992, J. Biol. Chem. 267: 4664] та у людини за допомоги тієї ж групи у 1995. MMP-12 преференційно експресується в активованих макрофагах, і було виявлено, що вона секретується з альвеолярних макрофагів курців [Shapiro et al., 1993, J. Biol. Chem., 268: 23824], а також у пінних клітинах в атеросклеротичних ураженнях [Matsumoto et al, 1998, Am J Pathol 153: 109]. Мишача модель COPD базується на контрольному зараженні мишей сигаретним димом протягом 6 місяців, двома сигаретами 6 днів на тиждень Дикі миші формують емфізему легенів після цієї обробки. Коли уражених MMP12 мишей тестували у цій моделі, вони не формували значної емфіземи, чітко вказуючи, що MMP-12 є ключовим ферментом у патогенезі COPD. Роль MMP, як-то MMP12 у COPD (емфізема та бронхіт) було обговорено [Anderson та Shinagawa, 1999, Current Opinion in Anti-inflammatory, та Immunomodulatory Investigational Drugs 1(1): 29-38]. Зараз було виявлено, що паління збільшує інфільтрацію макрофагів та похідну від макрофагів експресію MMP-12 у бляшках Кангаварі сонної артерії людини [Matetzky S, Fishbein MC et al., Circulation 102:(181. 36-39 Suppl. S. Oct 31, 2000].

MMP13, або колагеназа 3, була спочатку клонована з похідної пухлин молочної залози бібліотеки кДНК [J. M. P. Freije et al. (1994) J. Biol. Chem. 269(24): 16766-16773]. ПЛР-РНК-аналіз РНК з великого числа тканин показав, що експресія MMP13 була обмежена карциномами молочної залози, оскільки її не було виявлено у фіброаденомах молочної залози, нормальних або спочиваючих грудних залозах, плаценті, печінці, яєчнику, матці, простаті або завушній залозі або у лініях клітин раку молочної залози (T47-D, MCF-7 та ZR75-1). На додаток до цього спостереження, MMP13 було виявлено у трансформованих епідермальних кератиноцитах [N. Johansson et al., (1997) Cell Growth Differ. 8(2): 243-250], сквамозно-клітинній карциномі [N. Johansson et al., (1997) Am. J. Pathol. 151(2):499-508] та епідермальних пухлинах [K. Airola et al., (1997) J. Invest. Dermatol. 109(2): 225-231]. Ці результати підтверджують, що MMP13 секретується у трансформованих епітеліальних клітинах та може бути включена у деградацію екстрацелюлярної матриці та клітинно-матричну взаємодію, пов'язану з метастазом, як зокрема спостерігали при ураженнях раком молочної залози та при злякисному рості епітелію при карциногенезі шкіри.

Нещодавно опубліковані дані свідчать, що MMP13 грає важливу роль в обороті інших сполучних тканин. Наприклад, сумісна з MMP13-субстратною специфічністю та перевагою стосовно деградації колагену типу II [P.G. Mitchell et al., (1996) J. Clin. Invest 97(3): 761-765; V. Knauper et al., (1996) The Biochemical Journal 271: 1544-1550], MMP13, як припущено, грає роль під час первинного формування кісток та корекції скелета [M. Stahle-Backdahl et al., (1997) Lab. Invest. 76(5):717-728; N. Johansson et al., (1997) Dev. Dyn. 208(3): 387-397], при деструктивних хворобах суглобів, як-то ревматоїдний та остео-артрит [D. Wernicke et al., (1996) J. Rheumatol. 23: 590-595; P.G. Mitchell et al., (1996) J. Clin. Invest 97(3): 761-768; O. Lindy

et al., (1997) *Arthritis Rheum* 40(8): 1391-1399]; та при асептичному ослабленні заміни стегна [S. Imai et al., (1998) *J. Bone Joint Surg. Br*, 80(4): 701-710]. MMP13 також було залучено у хронічний пародонтоз у дорослих, оскільки вона локалізована в епітелії хронічно запаленої слизової тканини ясен людини [V.J. Uitto et al., (1998) *Am. J. Pathol.* 152(6): 1489-1499] та при корекції колагеної матриці при хронічних пораненнях [M. Vaalamo et al., (1997) *J. Invest Dermatol.* 109(1): 96-101].

MMP9 (Желатиназа В; 92кДа Колагеназа типу IV; 92кДа Желатиназа) є секретованим білком, який спочатку очищали, потім клонували та секвенсували, у 1989 [S.M. Wilhelm et al., (1989) *J. Biol Chem.* 264 (29): 17213-17221; опублікована помилка у *J. Biol Chem.* (1990) 265 (36): 22570]. Нещодавній огляд MMP9 пропонує чудове джерело детальної інформації та посилань на цю протеазу: T.H. Vu & Z. Werb (1998) [In: *Matrix Metalloproteinases*. 1998. Edited by W.C. Parks & R.P. Mecham. pp.115-148. Academic Press. ISBN 0-12-545090-7]. Наступні відомості взяті з цього огляду T.H. Vu & Z. Werb (1998).

Експресія MMP9 звичайно обмежена кількома типами клітин, включаючи трофобласти, остеокласти, нейтрофіли та макрофаги. Однак, її експресію можна індукувати у тих же самих клітинах та у інших типах клітин кількома посередниками, включаючи обробку клітин факторами росту або цитокінами. Вони є посередниками, часто залученими у початкову запальну реакцію. Як інші секретовані MMP, MMP9 вивільняється як неактивний профермент, який далі розщеплюється з утворенням активного ферменту. Потрібні для цієї активації протеази *in vivo* невідомі. Баланс активної MMP9 відносно неактивного ферменту далі регулюється *in vivo* взаємодією з TIMP-1 (Інгібітор тканинної металопротеїнази-1), природно існуючим білком. TIMP-1 приєднується до С-термінального регіону MMP9, призводячи до інгібування каталітичного домену MMP9. Баланс індукованої експресії ProMMP9, розщеплення Pro- в активну MMP9 та наявність TIMP-1 комбінують для визначення кількості каталітично активної MMP9, яка є присутньою на локальній ділянці. Протеолітично активна MMP9 атакує субстрати, що включають желатин, еластин, та природні колагени типу IV та типу V; вона не має активності проти природного колагену типу I, протеогліканів або ламінінів.

З'являється багато даних стосовно ролі MMP9 у різних фізіологічних та патологічних процесах. Фізіологічні ролі включають інвазію ембріональних трофобластів через епітелій матки на ранніх етапах ембріональної імплантації; деяку роль у рості та розвитку кісток; та міграцію запальних клітин з судинної системи у тканини.

Вивільнення MMP-9, виміряне з використанням ферментного імунодослідження, було значно підвищеним у тканинних рідинах та в АМ-надосадковій рідинах від нелікованих астматиків порівняно з астматиками з інших популяцій [*Am. J. Resp. Cell & Mol. Biol.*, (Nov 1997) 17(5): 583-591]. Також, збільшену експресію MMP9 виявлено у деяких інших патологічних станах, що свідчить про залучення MMP9 у хворобливі процеси, як-то COPD, артрит, метастази пухлин, хвороба Альцгеймера, розсіяний склероз, та руйнування тромбоцитів при атеросклерозі, що призводить до гострих коронарних станів, як-то інфаркт міокарду.

MMP-8 (колагеназа-2, нейтрофільна колагеназа) є ферментом розміром 53кДа родини матричних металопротеїназ, що преференційно експресується у нейтрофілах. Останні дослідження свідчать, що MMP-8 експресується також в інших клітинах, як-то остеоартритні хондроцити. [Shlopov et al., (1997) *Arthritis Rheum*, 40:2065]. Вироблена нейтрофілами MMP може викликати корекцію тканини, а тому блокування MMP-8 повинно мати позитивний вплив у фіброзних хворобах, наприклад, легенів, та при дегративних хворобах типу емфіземи легенів. MMP-8 була також виявлена як зверхрегульована при остеоартриті, свідчачи тим, що блокування MMP-8 може також бути корисним при цій хворобі.

MMP-3 (стромелізин-1) є ферментом розміром 53кДа родини матричних металопротеїназ. Активність MMP-3 продемонстрована у фіброблестах, виділених із запалених ясен [Uitto V. J. et al., (1981) *J. Periodontal Res.*, 16:417-424], та рівні ферменту скорельовані з суворістю хвороби ясен [Overall C.M. et al., (1987) *J. Periodontal Res.*, 22:81-88]. MMP-3 продукуються також у базальних кератиноцитах у багатьох хронічних виразках [Saarialho-Kere U.K. et al, (1994) *J. Clin. Invest*, 94:79-88]. MMP-3 mPHK та білок було виявлено у базальних кератиноцитах, суміжних з, але на відстані від краю поранення, в якому можливо представлено ділянки проліферуючого епідермісу. MMP-3 може тим самим заважати загоєнню епідермісу. Кілька дослідників продемонстрували стійке підвищення MMP-3 у синовіальних з рідинах від пацієнтів з ревматоїдним та остеоартритом порівняно з контрольною групою [Walakovits L.A. et al., (1992) *Arthritis Rheum.*, 35:35-42; Zafarullah M. et al., (1993) *J. Rheumatol.*, 20:693-697]. Ці дослідження дають основу для думки, що інгібітор MMP-3 лікуватиме хвороби, при яких залучено руйнування екстрацелюлярної матриці, що призводить до обумовленого інфільтрацією лімфоцитів запалення або втрати необхідної для функції органу структурної цілісності.

Ряд інгібіторів металопротеїнази відомі [див., наприклад, огляд інгібіторів MMP Beckett R.P. та Whittaker M., 1998, *Exp. Opin. Ther. Patents*, 8(3):25 9-282]. Відмінні класи сполук можуть мати відмінні ступені потужності та селективності інгібування різних металопротеїназ.

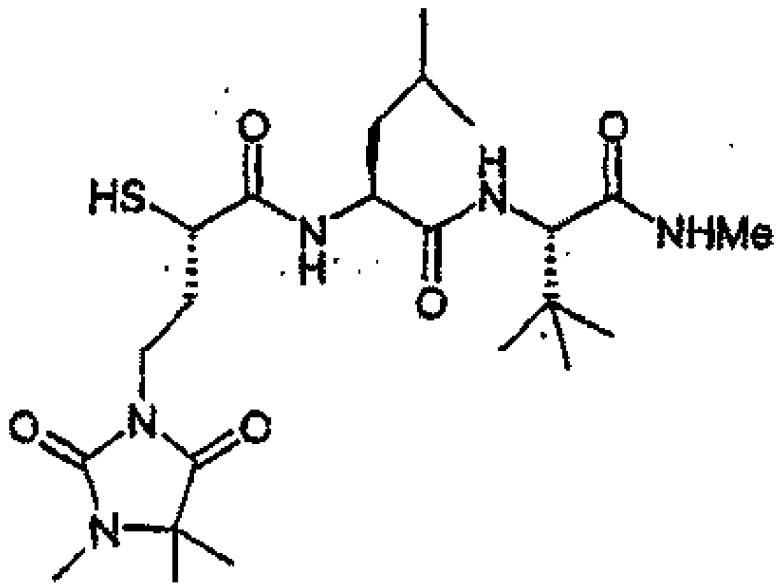
[Whittaker M. et al., (1999) *Chemical Reviews* 99(9):2735-2776] розглядають багато відомих сполук інгібіторів MMP. Вони констатують, що ефективний інгібітор MMP потребує зв'язувальної цинк групи або ZBG (функціональної групи, здатної хелатувати активну ділянку з іоном цинку(II)), щонайменше однієї функціональної групи, яка забезпечує водневий зв'язок з основою ферменту, та одного чи більше бічних ланцюгів, які забезпечують ефективну ван-дер-ваальсівську взаємодію з ділянками ферменту. Зв'язувальні цинк групи у відомих інгібіторах MMP включають карбоксильні групи, гідроксамові групи, сульфідрильні групи або меркаптогрупи, тощо. Наприклад, Whittaker M. et al. обговорюють такі інгібітори MMP:

5

10

15

20



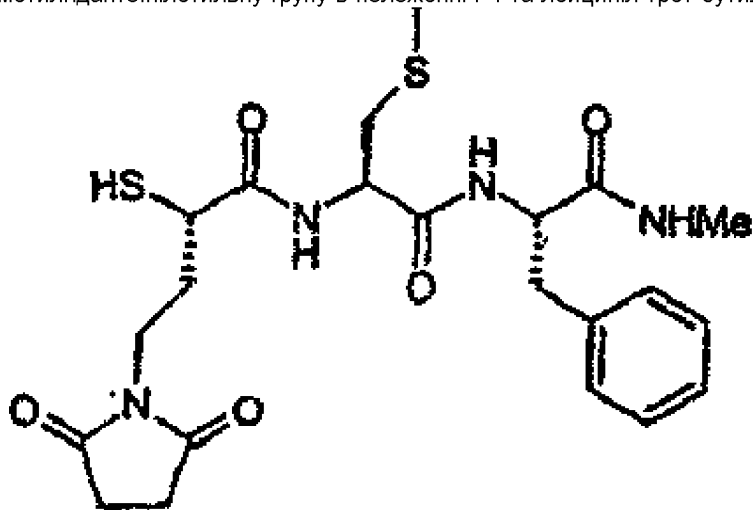
Вищенаведена сполука створена для клінічної розробки. Вона має меркаптоацильну зв'язувальну цинк групу, триметилгідантоїнілетильну групу в положенні Р1 та лейциніл-трет-бутилгліциніловий скелет.

25

30

35

40



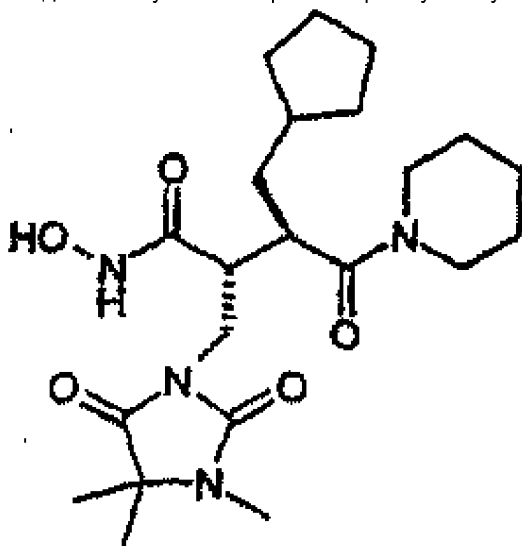
Вищенаведена сполука має меркаптоацильну зв'язувальну цинк групу та імідну групу в положенні Р1.

45

50

55

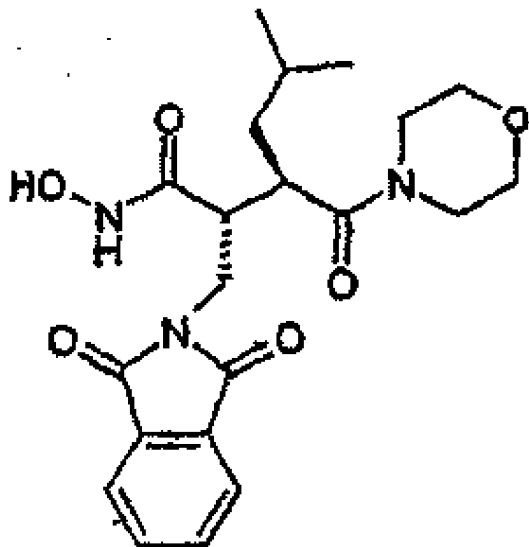
60



Вищенаведена сполука була розроблена для лікування артриту. Вона має непептидну сукциніл-гідроксаматну зв'язувальну цинк групу та триметилгідантоїнілетильну групу в положенні Р1.

65

5



10

15

20

Вищенаведена сполука є фталімідним похідним, що інгібує колагенази. Вона має непептидну сукциніл-гідроксаматну зв'язувальну цинк групу та циклічну імідну групу в положенні P1.

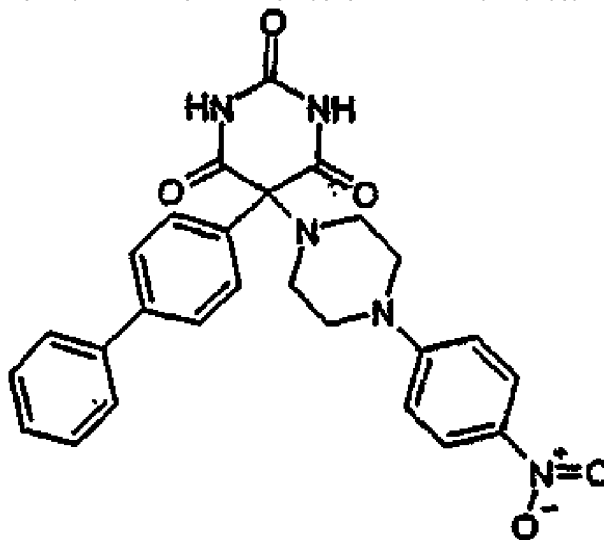
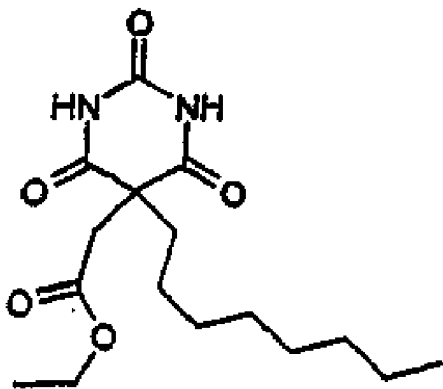
Whittaker M. et al також обговорюють інші інгібітори MMP, що мають циклічну імідну групу в положенні P1 та різні зв'язувальні цинк групи (сукцинілгідроксаматну, карбоксильну, тіолову, групу на основі фосфору).

25

30

35

40



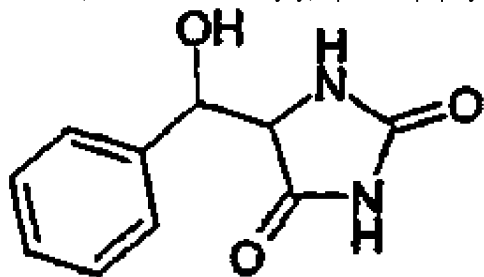
45

Вищенаведені сполуки виявилися гарними інгібіторами MMP8 та MMP9 [PCT заявки WO9858925, WO9858915]. Вони мають піримідин-2,3,4-трионову зв'язувальну цинк групу.

Наступні сполуки невідомі як інгібітори MMP:

Патент Японії №5097814 (1993) описує спосіб отримання сполук, корисних як інтермедіати для продукування антибіотиків, включаючи сполуку, що має формулу:

50



55

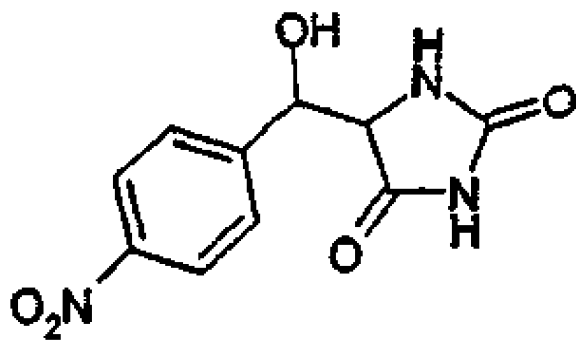
Morton et al. [1993, J Agric Food Chem 41(1): 148-152] описують отримання сполук з фунгіцидною активністю, включаючи сполуку, що має формулу:

60

65

5

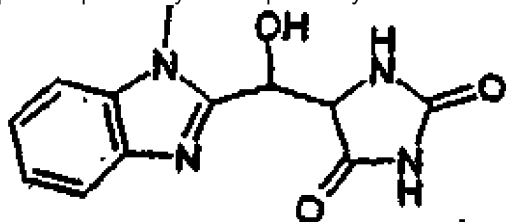
10



15

Dalgatov, D et al. [1967, Khim. Geterotsikl. Soedin. 5:908-909] описують синтез такої сполуки без пропозиції застосування цієї сполуки:

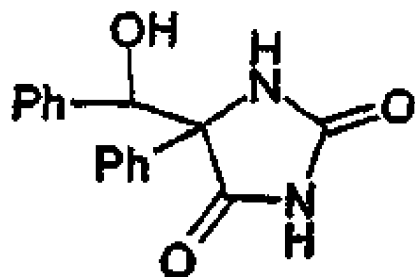
20



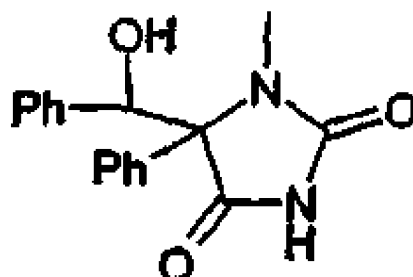
25

Crooks, P et al. [1989, J. Heterocyclic Chem. 26(41:1113-171)] описують синтез таких сполук, які тестували стосовно антиконвульсивної активності у мишей:

30

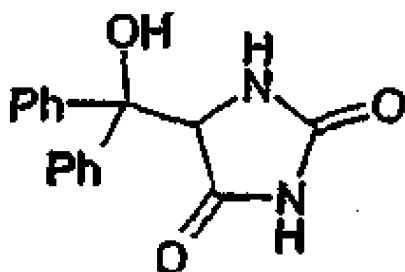


35



[Gramain, J.C. et al. (1990) Reel. Trav. Chim. Pays-Bas 109:325-331] описують синтез такої сполуки:

40

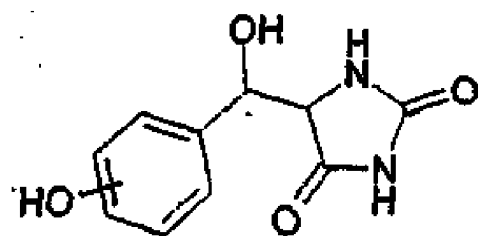


45

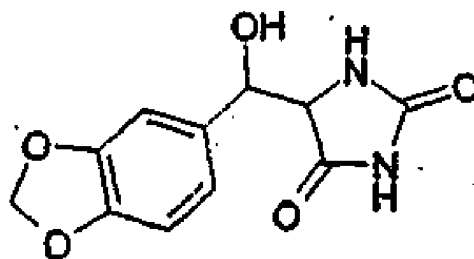
Патент Японії №63079879 (1988) описує спосіб синтезу інтермедіатів на шляху до важливих амінокислот. Як вихідні матеріали застосовані такі сполуки:

50

55

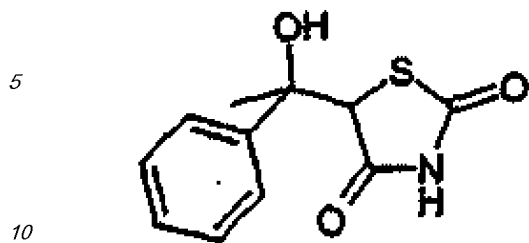


60

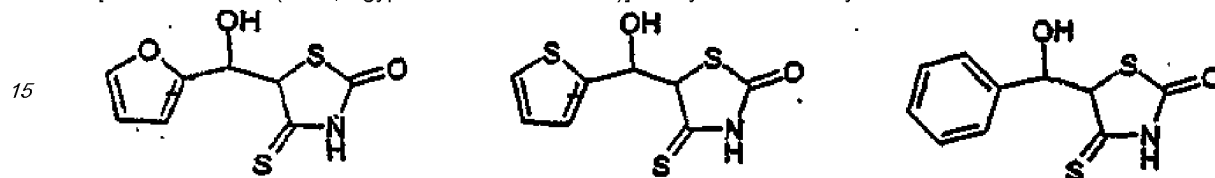


[Wolfe, J, et al, (1971, Synthesis 6:310-311)] описують синтез такої сполуки без пропозиції застосування цієї сполуки:

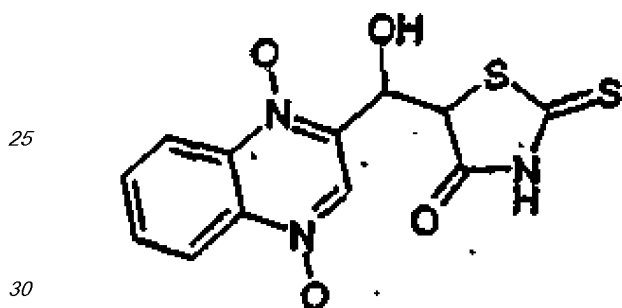
65



[Moharram et al. (1983, Egypt J. Chem. 26:301-11)] описують такі сполуки:

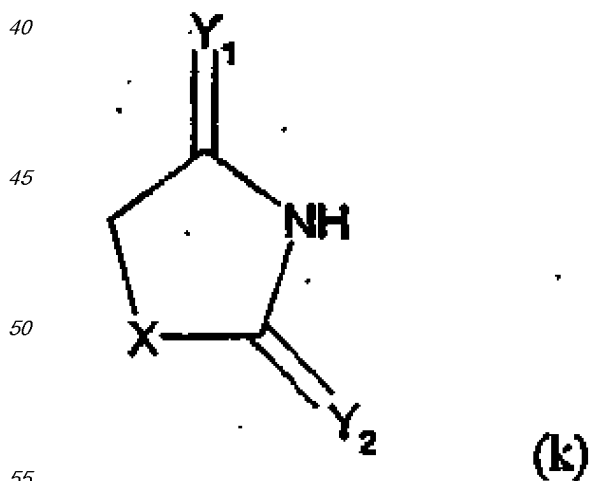


Патент Угорщини №26403 (1983) описує синтез та застосування як харчових добавок такої сполуки:



Ми розкрили новий клас сполук, що є інгібіторами металопротеїназ та представляють особливий інтерес в інгібуванні MMP, як-то MMP-12. Сполуки є інгібіторами метал опротеїнази, що мають зв'язувальну метал групу, якої нема у відомих інгібіторах металопротеїнази. Зокрема, ми відкрили сполуки, що є потужними інгібіторами MMP12 та мають потрібні профілі активності. Сполуки цього винаходу мають корисну потужність, селективність та/або фармакокінетичні властивості.

Сполуки інгібіторів металопротеїназ згідно з винаходом мають зв'язувальну метал групу та одну або більше функціональних груп чи бічних ланцюгів, що відрізняються тим, що зв'язувальна металева група має формулу (к)



де X вибрано з групи: NR1, O, S;
 Y1 та Y2 незалежно вибрані з групи: O, S;
 R1 вибрано з групи: H, алкіл, галогеналкіл;

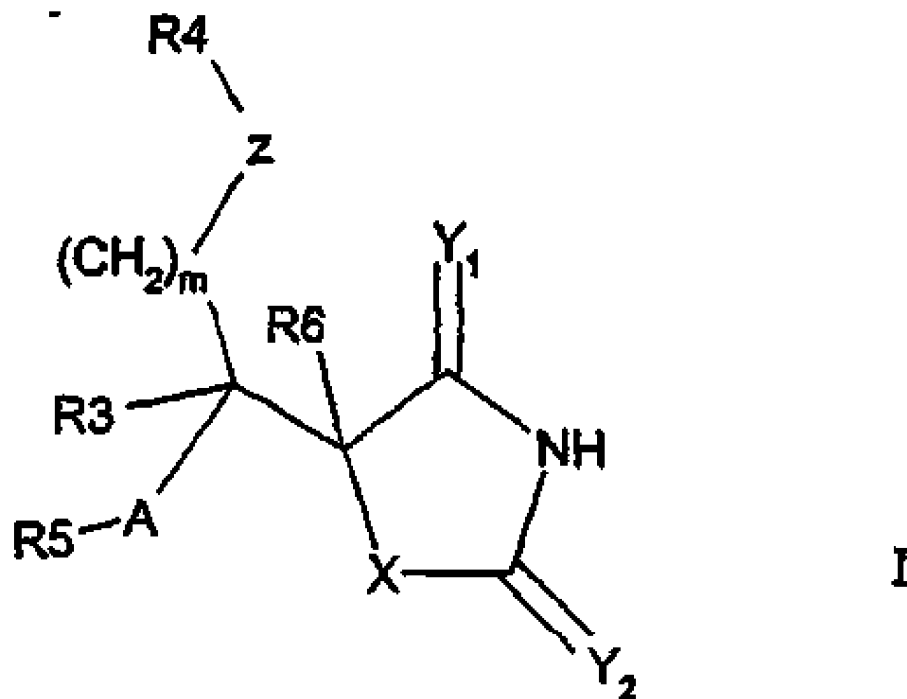
Будь-які вищенаведені алкілгрупи можуть бути лінійними чи розгалуженими; будь-яка вищенаведена алкілгрупа представляє переважно (C1-7)алкіл, а найпереважніше (C1-6)алкіл.

Сполука інгібітору металопротеїнази є сполукою, що інгібує активність ферменту металопротеїнази (наприклад, MMP). Як необмежувальний приклад, сполука інгібітору може виявляти величини IK_{50} in vitro в межах 0,1-10000наномоль, переважно 0,1-1000наномоль.

Зв'язувальна метал група є функціональною групою, здатною приєднувати іон металу на активній ділянці ферменту. Наприклад, зв'язувальна метал група буде зв'язувальною цинк групою в інгібіторах MMP, що

зв'язують активну ділянку з іоном цинку(II). Зв'язувальна метал група формули (к) базується на п'яти-членній кільцевій структурі та є переважно гідантоїновою групою, найпереважніше 5-заміщеним 1-Н,3-Н-імідазолідин-2,4-діоном.

Згідно з першим аспектом винаходу нами запропоновані сполуки формули I



де

X вибрано з групи: NR1, O, S;

Y1 та Y2 незалежно вибрані з групи: O, S;

Z вибрано з групи: NR2, O, S;

m дорівнює 0 чи 1;

A вибрано з групи: безпосередній зв'язок, (C1-6)алкіл, (C1-6)алкеніл, (C1-6)галогеналкіл, або (C1-6)гетероалкіл, що містить гетерогрупу, вибрану з груп: N, O, S, SO, SO2, або містить дві гетерогрупи, які вибрані з груп: N, O, S, SO, SO2 та розділені щонайменше двома атомами карбону;

R1 вибрано з групи: H, алкіл, галогеналкіл;

R2 вибрано з групи: H, алкіл, галогеналкіл;

R3 та R6 незалежно вибрані з групи: H, галоген (переважно F), алкіл, галогеналкіл, алкоксалкіл, гетероалкіл, циклоалкіл, арил, алкіларил, гетероалкіл-арил, гетероарил, алкілгетероарил, гетероалкіл-гетероарил, арилалкіл, арил-гетероалкіл, гетероарил-алкіл, гетероарил-гетероалкіл, бісарил, арил-гетероарил, гетероарил-арил, бісгетероарил, циклоалкіл або гетероциклоалкіл, що містять 3-7 кільцевих атомів, де радикали алкілу, гетероалкілу, арилу, гетероарилу, циклоалкілу або гетероциклоалкілу можуть бути, як варіант, заміщеними одною чи більше групами, незалежно вибраними з груп: гідроксил, алкіл, гетероалкіл, циклоалкіл, арил, гетероарил, галоген, галогеналкіл, гідроксіалкіл, алкоксил, алкоксалкіл, галогеналкоксил, галогеналкоксалкіл, карбоксил, карбоксалкіл, алкілкарбоксил, аміногрупа, N-алкіламіногрупа, N,N-діалкіламіногрупа, алкіламіногрупа, алкіл(N-алкіл)аміногрупа, алкіл(N,N-діалкіл)аміногрупа, амідогрупа, N-алкіламідогрупа, N,N-діалкіламідогрупа, алкіламідогрупа, алкіл(N-алкіл)амідогрупа, алкіл(N,N-діалкіл)амідогрупа, тіол, сульфен, сульфенаміногрупа, алкілсульфенаміногрупа, арилсульфенаміногрупа, сульфенамідогрупа, галогеналкіл сульфен, алкілтіогрупа, арилтіогрупа, алкілсульфен, арилсульфен, аміноссульфен, N-алкіламіноссульфен, N,N-діалкіламіноссульфен, алкіламіноссульфен, ариламіноссульфен, ціаногрупа, алкілціаногрупа, гуанідиногрупа, N-ціано-гуанідиногрупа, тіогуанідиногрупа, амідиногрупа, N-аміноссульфен-амідиногрупа, нітрогрупа, алкілнітрогрупа, 2-нітро-етен-1,1-діамін;

R4 вибрано з групи: H, алкіл, гідроксіалкіл, галогеналкіл, алкоксалкіл, галогеналкоксил, аміноалкіл, амідоалкіл, тіоалкіл;

R5 представляє моноциклічну групу, що містять 3-7 кільцевих атомів, незалежно вибраних з групи: циклоалкіл, арил, гетероциклоалкіл або гетероарил, як варіант, заміщений одним чи більше замісниками, незалежно вибраними з групи: галоген, гідроксил, галогеналкоксил, аміногрупа, N-алкіламіногрупа, N,N-діалкіламіногрупа, ціаногрупа, нітрогрупа, алкіл, алкоксил, алкілсульфен, галогеналкіл сульфен, карбоніл, карбоксил, де будь-який алкіл у будь-якому заміснику може сам бути, як варіант, заміщеним одною чи більше групами, вибраними з групи: галоген, гідроксил, аміногрупа, N-алкіламіногрупа, N,N-діалкіламіногрупа, алкілсульфенаміногрупа, алкілкарбоксіаміногрупа, ціаногрупа, нітрогрупа, тіол, алкілтіол, алкілсульфеногрупа, алкіламіноссульфеногрупа, алкілкарбоксилат, амідогрупа, N-алкіламідогрупа, N,N-діалкіламідогрупа, алкоксил, галогеналкоксил, карбоніл, карбоксил;

Будь-яка гетероалкілгрупа, визначена вище, є заміщеним гетероатомом алкілом, що містить одну чи більше гетерогруп, незалежно вибраних з групи: N, O, S, SO, SO₂, (а гетерогрупою є гетероатом або група атомів);

Будь-який гетероциклоалкіл або гетероарил, визначений вище, містить одну чи більше гетерогруп, незалежно вибраних з групи: N, O, S, SO, SO₂;

Будь-який алкіл, алкеніл або алкініл, визначені вище, можуть бути лінійними чи , розгалуженими; якщо не встановлено інше, будь-яка вищенаведена алкілгрупа представляє переважно (C1-7)алкіл, а найпереважніше (C1-6)алкіл;

За умови, що:

коли X представляє NR₁, R₁ представляє H, Y₁ представляє O, Y₂ представляє O, Z представляє O, m дорівнює 0, A є безпосереднім зв'язком, R₃ представляє H, R₄ представляє H та R₆ представляє H, тоді R₅ не представляє феніл, нітрофеніл, пдроксифеніл, алкоксифеніл або піридин;

коли X представляє NR₁, R₁ представляє H або метил, Y₁ представляє O, Y₂ представляє O, Z представляє O, m дорівнює 0, A є безпосереднім зв'язком, R₃ представляє H, R₄ представляє H та R₆ представляє феніл, тоді R₅ не представляє феніл;

коли X представляє NR₁, R₁ представляє H, Y₁ представляє O, Y₂ представляє O, Z представляє O, m дорівнює 0, A є безпосереднім зв'язком, R₃ представляє феніл, R₄ представляє H та R₆ представляє H, тоді R₅ не представляє феніл;

коли X представляє S, щонайменше один з Y₁ та Y₂ представляє O, m дорівнює 0, A є безпосереднім зв'язком, R₃ представляє H або метил, R₆ представляє H або метил, тоді R₅ не представляє феніл, піридин, пірол, тіофен або фуран;

коли X представляє O, Y₁ представляє O, Y₂ представляє O, Z представляє O, m дорівнює 0, A є безпосереднім зв'язком, R₃ представляє метилхлорид, R₄ представляє H та R₆ представляє H, тоді R₅ не представляє феніл.

Бажаними сполуками формули I є сполуки, де використано один чи більше з наступного:

X представляє NR₁;

Щонайменше один з Y₁ та Y₂ представляє O; зокрема, обидва Y₁ та Y₂ представляють O;

Z представляє O;

m дорівнює 0;

A є безпосереднім зв'язком;

R₁ представляє H, (C1-3)алкіл або (C1-3)галогеналкіл; зокрема, R₁ представляє H або (C1-3)алкіл; найпереважніше R₁ представляє H;

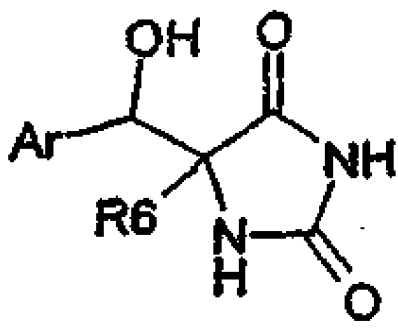
R₃ представляє H, алкіл або галогеналкіл; особливо R₃ представляє H, (C1-6)алкіл або (C1-6)галогеналкіл; найпереважніше R₃ представляє H;

R₄ представляє H, алкіл або галогеналкіл; зокрема, R₄ представляє H, (C1-6)алкіл або (C1-6)галогеналкіл; найпереважніше R₄ представляє H;

R₅ представляє, як варіант, заміщене 5 або 6 членне кільце, незалежно вибране з групи: циклоалкіл, арил, гетероциклоалкіл або гетероарил; зокрема, R₅ представляє 5 або 6 членний арил або гетероарил;

R₆ представляє H, алкіл, пдроксіалкіл, аміноалкіл, циклоалкіл-алкіл, алкіл-циклоалюл, арилалкіл, алкіларил, гетероалкіл, гетероциклоалкіл-алкіл, алкіл-гетероциклоалкіл, гетероарил-алкіл або гетероалкіл-арил; зокрема, R₆ представляє алкіл, аміноалкіл або гетероарил-алкіл.

Особливі сполуки даного винаходувключають сполуки формули II:



Формула II

де

Ar є 5 або 6 членним арилом або гетероарилом, як варіант, заміщеним одним або двома замісниками, вибраними з групи: галоген, аміногрупа, нітрогрупа, (C1-6)алкіл, (C1-6)алкоксил або (C1-6)галогеналкоксил;

R₆ вибрано з групи: H, арил або (C1-6)алкіл та R₆ є, як варіант, заміщений групою, вибраною з групи: гідроксил, тіоалкіл, феніл, галогенфеніл, піридил або карбамат.

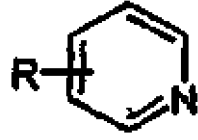
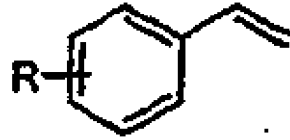
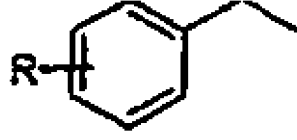
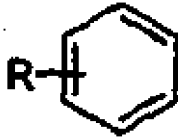
Бажаними сполуками формули II є ті, де використано один чи більше з наступного:

Ar представляє феніл або заміщений феніл, окрема, феніл, заміщений одним або двома галогеновими замісниками; або Ar представляє 5 або 6-членне гетероарильне кільце, що містить два гетероатоми, незалежно вибрані з групи: O та N;

R₆ представляє феніл, феніл, заміщений з галогеном, метиленпіридином, або (C1-3)алкіл, як варіант, заміщений з гідроксилом, тіометилом або бензилкарбаматом.

Придатні значення для R5 у сполуках формули I або для Ag у сполуках формули II включають:

5



10

15



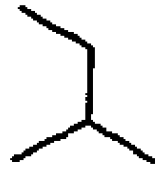
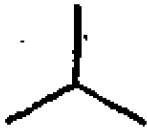
R= H, (C1-6)алкіл, OH, CH3O, CF3, CF3O, F, Cl, Br, I

X=O, S або N

20

Придатні значення для R6 у сполуках формули I або формули II включають наступні:

25



Метил Етил Пропіл Бутил

30

35

40

45

50

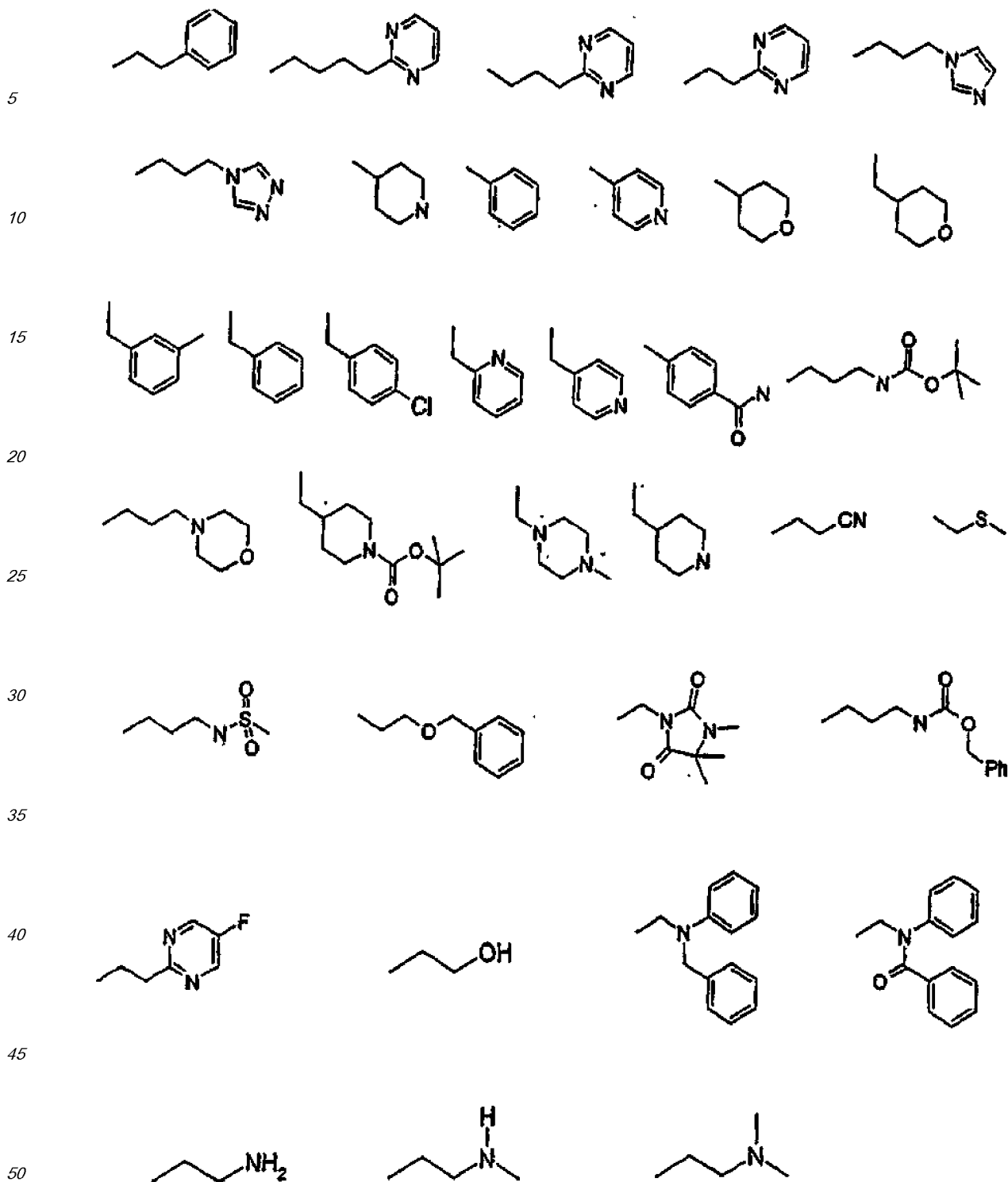
55

60

65

U A 7 4 6 2 4 C 2

U A 7 4 6 2 4 C 2



Треба розуміти, що певні замісники та ряд замісників у сполуках формули I або формули II вибирають так, щоб попередити стерично небажані комбінації.

Кожна сполука-приклад представляє особливий та незалежний аспект винаходу.

55 Коли у сполуках формули I або формул II наявні оптично активні центри, ми розкриваємо усі індивідуальні оптично активні форми та їх комбінації як певні індивідуальні втілення винаходу, а також їх відповідні рацемати. Рацемати можна розділити на індивідуальні оптично активні форми з використанням відомих способів [cf. Advanced Organic Chemistry: 3rd Edition: author J March, ст.104-107], включаючи, наприклад, утворення діастереомерних похідних, що мають звичайні оптично активні допоміжним, з їх наступним відділенням та розщепленням.

Треба розуміти, що сполуки згідно з винаходом можуть містити один чи більше асиметрично заміщених атомів карбону. Наявність одного чи більше цих асиметричних центрів (хіральні центри) у сполуці формули I або формул II може давати стереоізомери, та у кожному випадку, як зрозуміло, поширюватися на всі такі стереоізомери, включаючи енантіомери та діастереомери, та суміші, включаючи їх рацемічні суміші.

65 Коли у сполуках формули I або формули II наявні таутомери, ми розкриваємо усі індивідуальні таутомерні форми та їх комбінації як певні індивідуальні втілення винаходу.

Як визначено вище, сполуки винаходу є інгібіторами металопротеїнази, зокрема, вони є інгібіторами MMP12. Кожне з вищенаведених визначень для сполук формули I або формули II представляє незалежне та особливе втілення винаходу.

Певні сполуки винаходу мають особливе використання як інгібітори MMP13 та/або MMP9 та/або MMP8 та/або MMP3. Певні сполуки винаходу мають особливе використання як інгібітори агреканази, тобто інгібітори деградації агрекану.

Сполуки даного винаходу виявляють сприятливий профіль селективності. Не вдаючись до теоретичних міркувань, можна вважати, що сполуки винаходу виявляють селективне інгібування для будь-якого одного з вищенаведених визначень стосовно будь-якої інгібіторної активності відносно MMP1, як необмежувальний приклад, вони можуть виявляти 100-1000-кратно більшу селективність по відношенню до інгібіторної активності відносно MMP1.

Сполуки даного винаходу можна забезпечувати як фармацевтично прийнятні солі. Вони включають кислотну-адитивні солі, як-то гідрохлорид, гідробромід, цитрат та малеат, та солі, утворені з фосфатною та сульфатною кислотами. Згідно з наступним аспектом, придатними солями є солі основ, як-то сіль лужного металу, наприклад, натрію або калію, сіль лужноземельного металу, наприклад, кальцію або магнію, або сіль органічного аміну, наприклад, триетиламіну.

їх можна також забезпечувати як здатні до гідролізу in vivo естери. Ними є фармацевтично прийнятні естери, що гідролізуються у тілі людини, утворюючи вихідну сполуку. Такі естери можна ідентифікувати уведенням, наприклад внутрішньовенно тестованій тварині, досліджуваної сполуки, з наступним обстеженням рідин з організму тест-тварини. Придатні здатні до гідролізу in vivo естери для карбоксилу включають метоксиметил, а для гідроксилу включають форміл та ацетил, зокрема ацетил.

Для застосування сполуки інгібітору металопротеїнази винаходу (сполуки формули I або формули II) або її фармацевтично прийнятної солі або здатного до гідролізу in vivo естеру для терапевтичного лікування (включаючи профілактичне лікування) свавців, включаючи людину, її звичайно формують згідно зі стандартною фармацевтичною практикою як фармацевтичну композицію.

Тому, згідно з наступним аспектом нами запропоновано фармацевтичну композицію, яка містить сполуку винаходу (сполуку формули I або формули II) або її фармацевтично прийнятну сіль або здатний до гідролізу in vivo естер та фармацевтично прийнятний носій.

Фармацевтичні композиції цього винаходу можна вводити стандартним чином при хворобі або стані, що треба лікувати, наприклад пероральним, локальним, парентеральним, букальним, назальним, вагінальним або ректальним уведенням або інгаляцією. Для цього, сполуки цього винаходу можна формувати відомими у рівні техніки засобами, наприклад, у таблетки, капсули, водні або масляні розчини, суспензії, емульсії, креми, мазі, гелі, назальні спреї, супозиторії, високодисперсні порошки або аерозолі для інгаляції, а для парентерального застосування (включаючи внутрішньовенне, внутрішньом'язове або вливаннями) стерильні водні або масляні розчини або суспензії або стерильні емульсії.

На додаток до сполук винаходу, фармацевтична композиція цього винаходу може також містити, або може бути уведеною разом (одночасно або послідовно) з одним чи більше потрібними фармакологічними засобами при лікуванні одної чи більше хвороб або станів, згаданих вище.

Фармацевтичні композиції цього винаходу звичайно вживатимуться людиною так, щоб, наприклад, отримувати добову дозу 0,5-75мг/кг маси тіла (та переважно 0,5-30мг/кг маси тіла). Цю добову дозу можна давати поділеними дозами, якщо необхідно, точна кількість отриманої сполуки та шлях уведення залежить від маси, віку та статі пацієнта, якого лікують, та від певної хвороби або стану, якого лікують згідно з відомими у рівні техніки принципами.

Звичайно одиничні дозовані форми містять приблизно 1мг-500мг сполуки цього винаходу.

Тому згідно з наступним аспектом, нами запропоновано сполуку формули I або формул II або її фармацевтично прийнятну сіль або здатний до гідролізу in vivo естер для застосування у способі терапевтичного лікування людини або тварин, або для застосування як терапевтичного засобу. Ми розкрили застосування при лікуванні хвороби або стану, опосередкованих одним чи більше металопротеїназними ферментами, зокрема, ми розкрили застосування при лікуванні хвороби або стану, опосередкованих MMP12 та/або MMP13 та/або MMP9 та/або MMP8 та/або MMP3 та/або агреканазою; особливо застосування при лікуванні хвороби або стану, опосередкованих MMP12 або MMP9; найкраще, застосування при лікуванні хвороби або стану, опосередкованих MMP12.

Згідно з подальшим аспектом нами запропоновано спосіб лікування опосередкованих металопротеїназою хвороби або стану, що включає уведення теплокровній тварині терапевтично ефективної кількості сполуки формули I або формули II або її фармацевтично прийнятної солі або здатного до гідролізу in vivo естеру. Ми також розкрили застосування сполуки формули I або формули II або її фармацевтично прийнятної солі або здатного до гідролізу in vivo попереднику у виробництві медикаменту для застосування при лікуванні хвороби або стану, опосередкованих одним чи більше металопротеїназними ферментами.

Опосередковані металопротеїназою хвороби або стани включають астму, риніт, хронічні обструктивні хвороби легенів (COPD), артрит (як-то ревматоїдний артрит та остеоартрит), атеросклероз та рестеноз, рак, інвазію та метастаз, хвороби, при яких залучено деструкцію тканин, послаблення заміни суглобу стегна, хворобу зубів, фіброзну хворобу, інфаркт та хворобу серця, фіброз печінки та нирок, ендометріоз, хвороби, пов'язані з ослабленням екстрацелюлярної матриці, серцеву нестачу, аневризми аорти, хвороби центральної нервової системи, як-то хвороба Альцгеймера та розсіяний склероз (MS), гематологічні розлади.

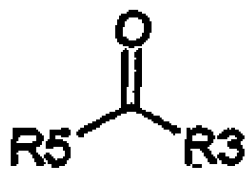
Отримання сполук винаходу

Згідно з наступним аспектом, даний винахід стосується способів отримання сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі або здатного до гідролізу in vivo естеру, як описано в (а) до (д) нижче (X, Y1, Y2, Z, m, A та R1-R6 визначені раніше для сполуки формули I).

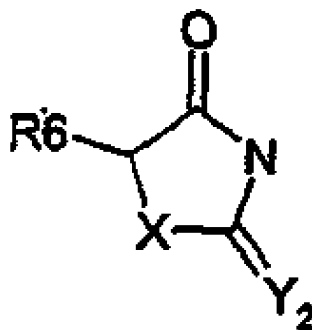
(а) Сполуку формули I можна перетворити у сіль, зокрема, у фармацевтично прийнятну сіль, або навпаки, відомими способами; у сіль, зокрема, фармацевтично прийнятну сіль, сполуку формули I можна перетворити у відмінну сіль, зокрема, фармацевтично прийнятну сіль, відомими способами.

(б) Сполуки формули I, в якій Z=O, а R4=H, можна отримати реакцією сполуки формули IIa зі сполукою формули IIIa або з придатно захищеною формою сполуки формули IIIa (як показано на схемі 1), та, як варіант, після цього, утворенням її фармацевтично прийнятної солі або здатного до гідролізу in vivo естеру:

Схема 1



IIa



IIIa

Альдегіди або кетони формули IIa та сполуки формули IIIa у придатному розчиннику обробляють основою, переважно у межах температури від зовнішньої до температури кипіння під зворотним холодильником. Кращі комбінації основа-розчинник включають аліфатичні аміни, як-то триметиламін, піролідин або піперидин у розчинниках, як-то метанол, етанол, тетрагідрофуран, ацетонітрил або диметилформамід, з додаванням води за необхідності для розчинення реагентів [Phillips, AP та Murphy, JG, 1951, J. Org. Chem. 16]; або гексаметилдисилазан літію у тетрагідрофурані [Mio, S et al., 1991, Tetrahedron 47:2121-2132]; або октагідрат гідроксиду барію у суміші ізопропанол-вода [Ajinomoto KK, 1993, Патент Японії №05097814].

Переважно, при отриманні сполуки формули I цим способом, R3, R5 або R6 не містять додаткових функціональних груп, альдегідних, кетонних, галогенованих радикалів або будь-яких інших радикалів, що добре відомі фахівцям, які мають потенціал впливу на реакцію утворення зв'язку, конкурування з нею або її інгібування.

Слід зазначити, що багато потрібних вихідних матеріалів є комерційно або інакше доступними, або їх можна синтезувати відомими способами чи знайти у науковій літературі.

Для отримання сполук винаходу загальної формули IIIa (R6 описано вище), сполуки формули IIIa, в яких R6 представляє H, можуть реагувати з прийнятним альдегідом або кетоном, з наступною дегідратацією та наступним відновленням утвореного подвійного зв'язку способами, що добре відомі фахівцям.

(с) Сполуки формули I, в якій Z=O, R4=H та X=N або NR1, зокрема, їх певні стереоізомери, можна також отримати, як описано для двох з чотирьох можливих стереоізомерів на схемах 2 та 3 нижче.

Схема 2

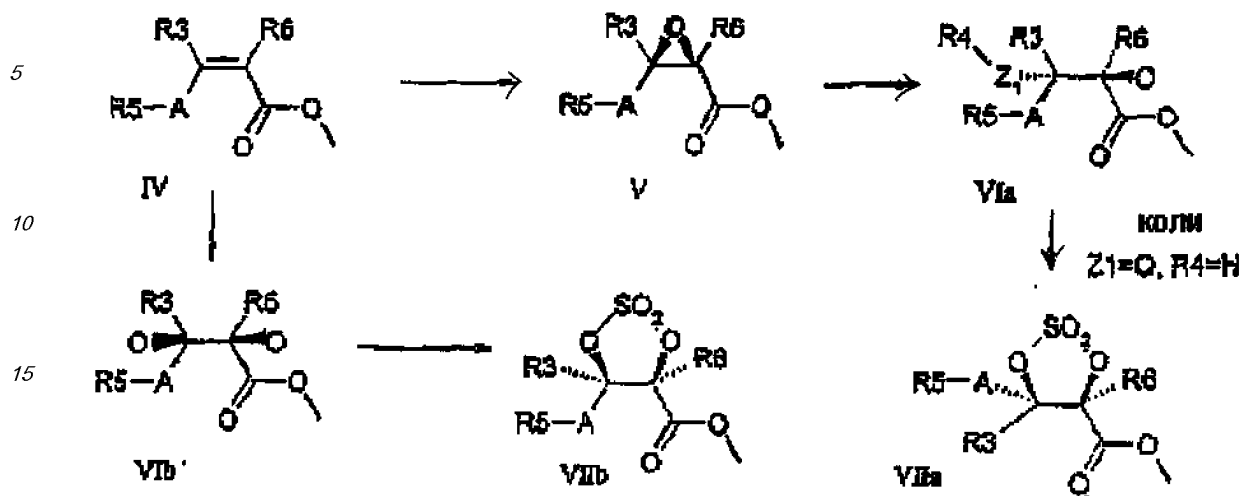
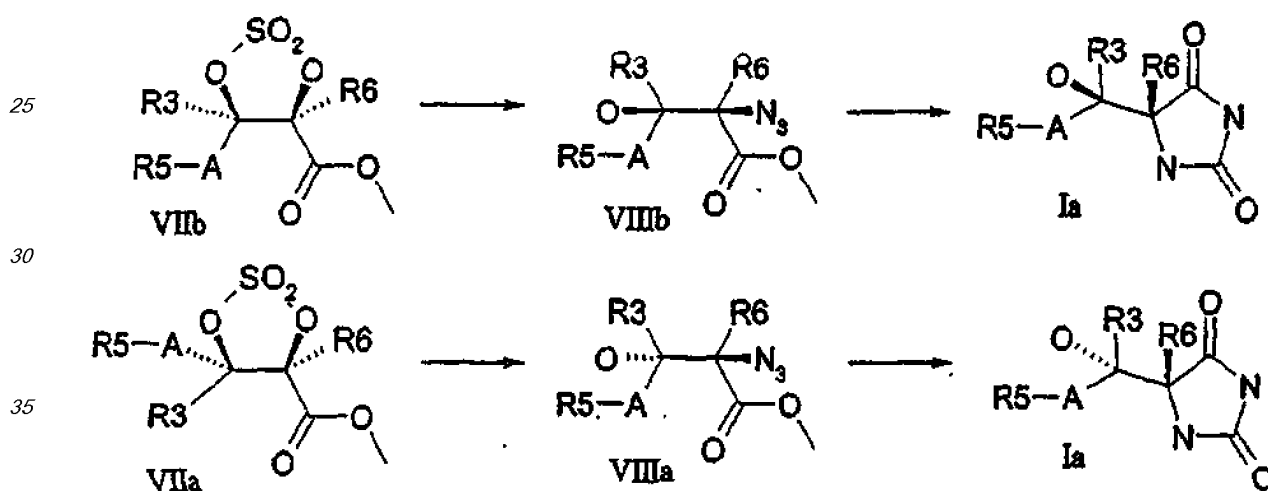


Схема 3



Починаючи з пропеноатних похідних формули IV, через діоли VIa або VIb асиметричним епоксидуванням, з наступним регіоселективним розкриттям водою, або асиметричним дигідроксилюванням. Залежно від хірального допоміжнику при епоксидуванні або дигідроксилюванні, можна отримати показані стереоізомери або їх енантіомери діолів формул VIa або VIb. [Наприклад, Ogino, Y. et al., 1991, Tetrahedron Lett. 32 (41):5761-5764; Jacobsen, E.N. et al., 1994, Tetrahedron, 50(15):4323-4334; Song, C.E. et al., 1997, Tetrahedron Asymmetry, 8 (6):841-844]. Обробка органічною основою та тіонілхлоридом та наступне каталізоване окиснення тетраоксидом рутенію дає циклічні сульфати VIIa та VIIb.

Циклічні сульфати формули VIIa та VIIb перетворюють у гідроксіязиди (Схема 3) формули VIIIa та VIIIb обробкою азидом натрію у диметилформаміді з наступним обережним гідролізом напівсульфатних інтермедіатів перед обробкою водою. [Gao, Sharpless, 1988, J. Am. Chem. Soc., 110:7538; Kim, Sharpless, 1989, Tetrahedron Lett., 30:655]. Гідроксіязиди формули VIIIa та VIIIb гідролізують та відновлюють до β-гідрокси-α-амінокислоти (не показано на схемі 3), переважно гідроліз LiOH у ТГФ, з наступним відновленням гідросульфідом, магнієм у метанолі або органічними фосфінами способом Стаудингера. β-гідрокси-α-амінокислоти у свою чергу дають сполуки формули Ia при обробці ціанатом та кислотою у водному середовищі.

(d) Сполуки формули I, в якій Z=O, а R4 не представляє H, зокрема їх певні стереоізомери, можна також отримати, як описано для двох з чотирьох можливих стереоізомерів на схемах 2 та 3. Сполуки можна отримати реакцією епоксидів формули V на схемі 2 зі спиртом формули R4-OH, отримавши спирти VIa. Наступне перетворення в азиди фосфоазидатом [Thompson, A. S. et al., 1993, J. Org. Chem. 58(22):5 8 86-5 8 88] дає етерні аналоги азидоестерів VIIIa на схемі 3, які можна довести до кінцевих продуктів, як описано у способі (c). Радикал R4 у спиртах R4-OH та радикали R3, R5 та R6 можна придатно захищати. Захисні групи можна видаляти на останньому етапі після перетворення у гідантоїни формули I.

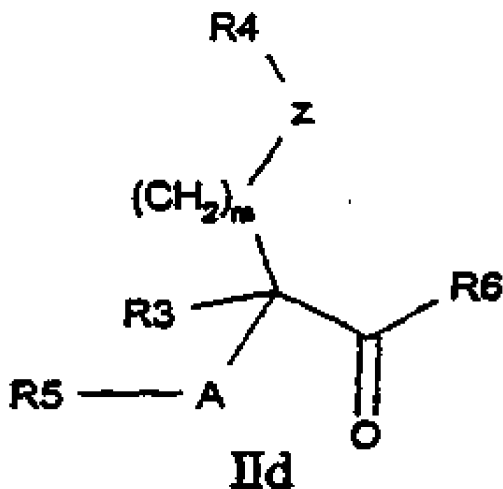
(e) Сполуки формули I, в якій Z представляє S або NR2 та Y1 та/або Y2 представляє O, зокрема їх певні стереоізомери, можна також отримати, як описано для двох з чотирьох можливих стереоізомерів на схемах 2 та 3. Сполуки можна синтезувати розкриттям епоксидів формули V (Схема 2) тіолами R4-SH або амінами R4-NH₂ та після цього піддавати аналогічним перетворенням, як описано для спиртів VIIIa та VIIIb на схемі 3. Коли аміни R4-NH₂ використовують, можна виявитися необхідним N-захист проміжних аміноспиртів, зокрема, коли радикал R4 представляє n-алкілгруп.

(f) Сполуки формули I, в якій X представляє S та Y1 та/або Y2 представляє O, зокрема їх певні

стереоізомери, можна також отримати, як описано для двох з чотирьох можливих стереоізомерів на схемах 2 та 3. Сполуки можна отримати реакцією циклічних сульфатів формули VIIa або VIIb, або α -гідроксилових естерів формули VIa через їх сульфонатні естери, з тіосечовиною та кислотою [1997, Патент Японії №09025273].

Пропеноатні похідні формули IV легко досяжні, наприклад, з альдегідів та фосфонієвих або фосфонатних похідних оцтової кислоти реакціями Віттига або Хорнера-Еммонса [наприклад, van Heerden, P.S. et al., 1997, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1(8):141-1(146)].

(g) Сполуки формули I, в якій X=NR1 та R1=H можна отримати реакцією прийнятеного заміщеного альдегіду або кетону формули IId з карбонатом амонію та ціанідом калію у водних спиртах при 50-100°C у герметичній посудині протягом 4-24 годин.



Сполуки даного винаходу можна оцінювати, наприклад, у таких аналізах:

Аналізи виділених ферментів

Родина матричних металопротеїназ, включаючи наприклад MMP12, MMP13.

Рекомбінантний каталітичний домен MMP12 людини можна експресувати та очищати, як описано Parkar A.A. et al., (2000), Protein Expression and Purification, 20:152. Очищений фермент можна використовувати для контролю активності інгібіторів таким чином: MMP12 (50нг/мл кінцева концентрація) інкубують протягом 30 хвилин при кімнатній температурі у буфері для аналізу (0,1M Tris-HCl, pH 7,3, що містить 0,1M NaCl, 20mM CaCl₂, 0,040mM ZnCl₂ та 0,05% (за масою/об'ємом) Brij 35) з використанням синтетичного субстрату Mac-Pro-Cha-Gly-Nva-His-Ala-Dpa-NH₂ за наявності чи відсутності інгібіторів. Активність визначають вимірюванням флуоресценції при $\lambda_{\text{екс}}$ 328nm та $\lambda_{\text{ем}}$ 393nm. Процент інгібування розраховують таким чином: % Інгібування дорівнює [Флуоресценція з інгібітором - Флуоресценція фонова] поділені на [Флуоресценція без інгібітору - Флуоресценція фонова].

Рекомбінантний proMMP13 людини можна експресувати та очищати, як описано Knauper et al. [V. Knauper et al., (1996) The Biochemical Journal 271:1544-1550 (1996)]. Очищений фермент можна використовувати для контролю активності інгібіторів таким чином: очищений proMMP13 активують з використанням 1 mM амінофенілртутної кислоти (APMA), 20 годин при 21°C; активований MMP13 (11,25ng на аналіз) інкубують протягом 4-5 годин при 35°C у буфері для аналізу (0,1M Tris-HCl, pH 7,5, що містить 0,1M NaCl, 20mM CaCl₂, 0,02mM ZnCl₂ та 0,05% (за масою/об'ємом) Brij 35) з використанням синтетичного субстрату (7-метоксикумарин-4-іл)ацетил.Pro.Leu.Gly.Leu.N-3-(2,4-динітрофеніл)-1-2,3-діамінопропіоніл.Ala.Arg.NH₂ за наявності чи відсутності інгібіторів. Активність визначають вимірюванням флуоресценції при $\lambda_{\text{екс}}$ 328nm та $\lambda_{\text{ем}}$ 393nm. Процент інгібування розраховують таким чином: % Інгібування дорівнює [Флуоресценція з інгібітором - Флуоресценція фонова] поділені на [Флуоресценція без інгібітору - Флуоресценція фонова].

Подібний протокол можна застосовувати для інших експресованих та очищених proMMP з використанням субстратів та буферів, оптимальних для певних MMP, наприклад, як описано [C. Graham Knight et al., (1992) FEES Lett. 296(3):263-266].

Адамалізинова родина, включаючи наприклад TNF-конвертазу

Здатність сполук інгібувати фермент proTNF α -конвертази можна визначити з використанням аналізу частково очищеного, виділеного ферменту, який отримано з мембран THP-1, як описано K.M. Mohler et al., (1994) Nature 370:218-220. Активність очищеного ферменту та його інгібування визначають інкубуванням частково очищеного ферменту при наявності чи відсутності тест-сполук з використанням субстрату 4',5'-диметоксифлуорецеїніл Ser.Pro.Leu.Ala.Gln.Ala.Val.Arg.Ser.Ser.Ser.Arg.Cys(4-(3-сукцинімід-1-іл)-флуорецеїн)-NH₂ у буфері для аналізу (50mM Tris-HCl, pH 7,4, що містить 0,1% (за масою/об'ємом) Triton X-100 та 2mM CaCl₂), при 26°C протягом 18 годин. Ступінь інгібування визначають як для MMP13 за винятком того, що використовували $\lambda_{\text{екс}}$ 490nm та $\lambda_{\text{ем}}$ 530nm. Субстрат синтезували таким чином. Пептидну частину субстрату сажали на Fmoc-N-H-Rink-MBHA-полістирольну смолу вручну або на автоматичному синтезаторі пептидів стандартними способами, в яких залучено використання Fmoc-амінокислоти та гексафлуорфосфату O-бензотриазол-і-іл-N,N,N',N'-тетраметилуронію (HBTU) як засобу сполучення з щонайменше 4- або 5-кратним надлишком Fmoc-амінокислоти та HBTU. Ser¹ та Pro² були подвійно сполучені. Застосовували наступну

стратегію захисту бічного ланцюга; Ser¹(But), Ghi⁵(Trityl), Arg^{8,12}(Pmc або Pbf), Ser^{9,10,11}(Trityl), Cys¹³(Trityl). Після приєднання N-термінальну Fmoc-захисну групу видаляли обробкою Fmoc-пептидильної смоли у ДМФ. Отриману так аміно-пептидильну смолу активували обробкою протягом 1,5-2 годин при 70 °С з 1,5-2 еквівалентами 4',5'-диметокси-флуорецеїн-4(5)-карбонової кислоти [Khanna & Ullman, (1980) Anal Biochem. 108:156-161], яка попередньо активована діізопропілкарбодіімідом та 1-гідроксибензотриазолом у ДМФ]. Диметоксифлуорецеїн-пептид далі одночасно позбавляли захисту та відщеплювали від смоли обробкою трифлуороцтовою кислотою, що містить по 5% кожного з води та триетилсилану. Диметоксифлуорецеїн-пептид виділяли випарюванням, розтиранням з діетиловим етером та фільтруванням. Виділений пептид реагував з 4-(N-малеїнімідо)-флуорецеїном у ДМФ, що містить діізопропілетиламін, продукт очищали за допомогою ОФ-ВЕРХ та під кінець виділяли сублімацією з водної оцтової кислоти. Продукт характеризували за допомогою MS MALDI-TOF та амінокислотного аналізу.

Природні субстрати

Активність сполук винаходу як інгібіторів деградації агрекану можна аналізувати з використанням способів, основаних, наприклад, на відкритті [E.C. Arner et al., (1998) Osteoarthritis and Cartilage 6:214-228; (1999) J. Biol. Chem., 274 (10) 6594-6601 та описаних там антитілах]. Потужність сполук як інгібіторів проти колагенази можна визначити, як описано [T. Cawston та A. Barrett. O979) Anal. Biochem. 99:340-345].

Інгібування активності металопротеїнази в активності на базі клітин/тканин

Тест як засіб інгібування мембранних шедаз, як-то TNF-конвертази

Здатність сполук цього винаходу інгібувати клітинне перетворення продукування TNF α можна визначити у клітинах THP-1 з використанням ELISA для детектування вивільненого TNF, як описано по суті [K.M. Mohler et al., (1994) Nature 370:218-220]. Подібним чином перетворення або втрату інших мембранних молекул, як-то описаних у [N.M. Hooper et al., (1997) Biochem. J. 321:265-279] можна тестувати, застосовуючи прийнятні лінії клітин та з придатними антитілами для визначення відкинутого білку.

Тест як засіб інгібування інвазії на базі клітин

Здатність сполуки цього винаходу інгібувати міграцію клітин у аналізі інвазії можна визначити, як описано [A. Albin et al., (1987) Cancer Research 47:3239-3245].

Тест як засіб інгібування шедазної активності TNF суцільної крові

Здатність сполук цього винаходу інгібувати продукування TNF α визначають у аналізі суцільної крові людини, де для стимуляції вивільнення TNF α використовують LPS. Гепаризовану (10одиниць/мл) кров людини, отриману від волонтерів, розбавляють 1:5 середовищем (RPMI1640 + гідрокарбонат, пеніцилін, стрептомицин та глютамін) та інкубують (160мкл) з 20мкл тест-сполуки (при потроєнні), у ДМСО або прийнятному носії, протягом 30 хвилин при 37°C у зволоженому (5%CO₂/95%повітря) інкубаторі, перед додаванням 20мкл LPS (E. coli. 0111:B4; кінцева концентрація 10мкг/мл). Кожний аналіз включає контроль розбавленої крові, інкубованої із одним середовищем (6комірок/планшет) або з відомим інгібітором TNF α як стандартом. Планшети далі інкубують протягом 6 годин при 37°C (зволожений інкубатор), центрифугують (2000об/хвил протягом 10 хвилин; 4°C), плазму збирають (50-100мкл) та зберігають у 96-коміркових планшетах при -70°C до наступного аналізу концентрації TNF α за допомогою ELISA.

Тест як засіб інгібування in vitro деградації хряща

Здатність сполук цього винаходу інгібувати деградацію агреканового або колагенового компонентів хряща можна визначити, як описано по суті [K.M. Bottomley et al., (1997) Biochem J. 323:483-488].

Фармакодинамічний тест

Для оцінки здатності до виведення та біозасвоюваності сполук цього винаходу ex vivo застосовують фармакодинамічний тест, який використовує вищенаведені аналізи з синтетичним субстратом або альтернативно ВЕРХ або мас-спектрометричний аналіз. Це є загальним тестом, який можна використовувати для оцінки швидкості виведення сполук через ряд видів. Тварин (наприклад, щурів, мавп) дозують внутрішньовенно або перорально розчинною розчинною композицією сполуки (як-то 20% за масою/об'ємом ДМСО, 60% за масою/об'ємом PEG400) та у наступний момент часу (наприклад, 5, 15, 30, 60, 120, 240, 480, 720, 1220 хвилин) зразки крові переносять з прийнятної посудини у 10U гепарину. Фракції плазми отримують, центрифугують та білки плазми осаджують ацетонітрилом (80% за масою/об'ємом кінцева I концентрація). Через 30 хвилин при -20°C білки плазми осаджують центрифугуванням та надосадкову фракцію випарюють до суха з використанням апарату Savant speed vac. Осад відтворюють у буфері для аналізу досліджуваної сполуки, а далі аналізують на вміст сполуки аналізом з синтетичним субстратом. Коротше, для оцінюваних сполук будують криву концентрація сполуки - реакція. Серійні розбавлення екстрактів відтвореної плазми аналізують на активність, та кількість сполуки, представленої у вихідному зразку плазми, розраховують з використанням кривої концентрація сполуки - реакція, зважаючи на фактор розбавлення загальної плазми.

Дослідження in vivo Тест як засобу проти TNF

Здатність сполук цього винаходу як ex vivo TNF α інгібіторів визначають на щурах. Коротше, групи самців щурів Wistar Alderley Park (AP) (180-210г) дозують сполукою (6 щурів) або носієм ліків (10 щурів) прийнятним шляхом наприклад, пероральним, інтраперитональним, підшкірним. Через 90 хвилин щурів вбивали з використанням збільшеної концентрації CO₂ та позбавляли крові через сідничну вену у 5 одиниць натрій-гепарину/мл крові. Зразки крові негайно поміщають на лід та центрифугують при 2000об./хвил. протягом 10 хвилин при 4°C та зібрані плазми заморожують при -20°C для наступного аналізу їх дії на продукування TNF α стимульованою LPS кров'ю людини. Зразки плазми щурів розтоплюють та 175мкл кожного зразку додають у 96-комірковий планшет. П'ятдесят мкл гепаризованої крові людини далі додають до кожної комірки, змішують та

планшет інкубують протягом 30 хвилин при 37 °С (зволожений інкубатор). LPS (25мкл; кінцева концентрація 10мкг/мл) додають до комірок та інкубування продовжують ще 5,5 годин. Контрольні комірки інкубують з 25мкл одного середовища. Планшети далі центрифугують протягом 10 хвилин при 2000об./хвил. та 200мкл надсадкової рідини переносять у комірковий планшет та заморожують при -20 °С для наступного аналізу концентрації TNF за допомогою ELISA.

Результати аналізу розраховують за допомогою програмного забезпечення для кожної сполуки/дозы:

$$\% \text{ інбування TNF } \alpha = \frac{\text{Значення TNF } \alpha \text{ (Контролі)} - \text{Значення TNF } \alpha \text{ (оброблені)}}{\text{Значення TNF } \alpha \text{ (Контролі)}} \times 100$$

Тест як засобу проти артриту

Активність сполуки як засобу проти артриту тестують у індукованому колагеном артриті (CIA) як визначено [D.E. Trentham et al., (1977) J. Exp. Med. 146,:857]. У цій моделі кислотний розчинний природний колаген типу II викликає поліартрит у щурів при застосуванні у неповному ад'юванті Фрейнда. Подібні умови можна використовувати для виклику артриту у мишей та приматів.

Тест як засобу проти раку

Активність сполуки як засобу проти раку можна визначити, як описано по суті [I.J. Fidler (1978) Methods in Cancer Research .15:399-439], застосовуючи, наприклад, лінію клітин B16 [описану В. Hibner et al., Abstract 283 p75 10th NCI-EORTC Symposium, Amsterdam June 16-19 1998].

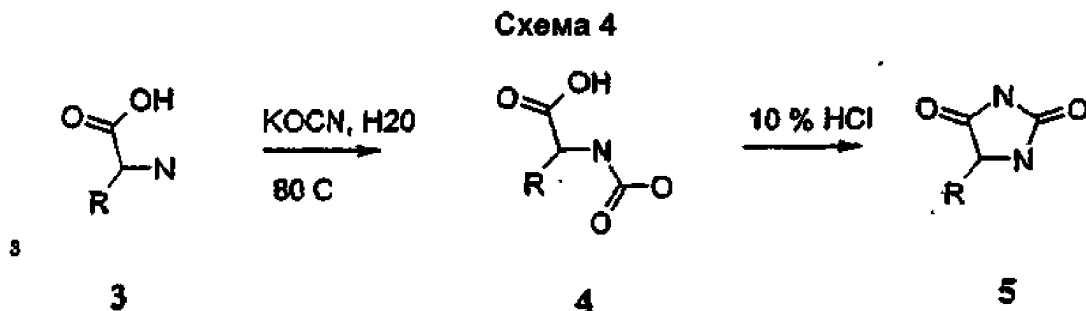
Тест як засобу проти емфіземи

Активність сполуки як засобу проти емфіземи можна визначити, як описано по суті [Hautamaki et al. (1997) Science, 277:2002].

Винахід далі ілюстровано, але без обмеження наступними прикладами:

Отримання вихідних матеріалів

Згідно зі схемою 4 нижче, підантоїни 5 отримували двома етапами із загальних амінокислот 3 з виділенням інтермедіатів 4.

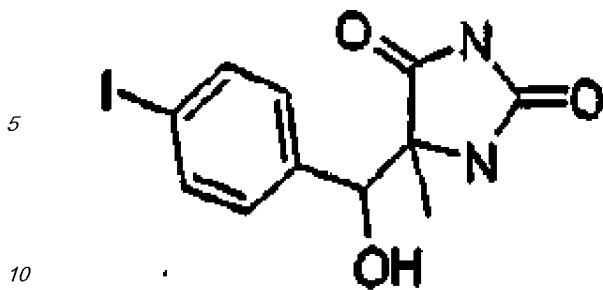


В таблиці 1 наведено деякі з вихідних матеріалів, 5, що були синтезовані. Загальний спосіб отримання був таким. Кашку амінокислоти 3 (25ммоль) та ціанату калію (5,1г, 63ммоль) у воді (75мл) гріли при 80°C протягом приблизно 1 годин. Прозорий розчин охолоджували до 0°C та підкислювали до рН приблизно 1 концентрованою гідрохлоридною кислотою (водн). Утворений білий осад 4 нагрівали при температурі кипіння під зворотним холодильником для 0,5-1 годин, а тоді охолоджували на льоді. У деяких випадках повного перетворення не було досягнуто через 1 годину нагрівання. У цих випадках сирий матеріал обробляли за тим же протоколом знову. Білий твердий продукт фільтрували, промивали водою, сушили та аналізували за допомогою HNMP та LCMS.

Вихідні матеріали		
Сполуки 5 на схемі 4	Вихід (%)	APCI MS m/z: [MH ⁺]
5-(4-Хлор-бензил)-імідазолідин-2,4-діон	87	224,9
[3-(2,5-Діоксо-імідазолідин-4-іл)-пропіл]-карбамової кислоти бензиловий естер	50	292,0
5-ізобутил-імідазолідин-2,4-діон	85	157,0
5-Метилсульфанілметил-імідазолідин-2,4-діон	45	161,0
5-втор-бутил-імідазолідин-2,4-діон	52	157,0
5-(2-Гідроксіетил)-імідазолідин-2,4-діон	36	

Приклад 1

5-[Гідрокси-(4-йод-феніл)-метил]-5-метил-імідазолідин-2,4-діон



15 4-Йод-бензальдегід (9,280г, 40,0ммоль), 5-метил-гідантоїн (4,564г, 40,0ммоль) та 45% водного триметиламіну (6,40мл, 40,0ммоль) нагрівали при температурі кипіння під зворотним холодильником в етанолі (60мл) та воді (40мл) протягом 20 годин під азотом. Утворився білий осад. Після охолодження при кімнатній температурі протягом приблизно 15 хвилин осад збирали фільтруванням, промивали послідовно етанолом (50%, 50мл), водою (50мл) та діетиловим етером (50мл). Сушіння відсмоктуванням повітря дала потрібну сполуку (7,968г, 23,0ммоль) з 57,5% виходом як білий твердий продукт з у формі чистого сіастереоізомера.

¹H ЯМР (300МГц, ДМСО-d₆): δ 10,19 (1H, s); 8,08 (1H, s); 7,64 (2H, d, J=8,6Гц); 7,07 (2H, d, J=8,4Гц); 5,98 (1H, d, J=4,5Гц); 4,57 (1H, d, J=4,3Гц); 1,40 (3H, s), APCI-MS m/z: 346,9 [MН⁺].

20 Хроматографічне розділення:

25 Частину з 0,158г діастереомерно чистого 5-(гідрокси-(4-йодфеніл)-метил)-5-метил-імідазолідин-2,4-діону розчиняли у 205мл суміші абсолютний етанол/ізо-гексан (50:50) та фільтрували через 0,45мкм нейлоновий фільтр. Об'єми 5,0мл повторювально вводили у хіральну колонку (Chiralpak AD-H (2см ID x 25см л)), з'єднану з УФ-детектором (254нм) та колектором фракцій. Розділення проводили з суміші абсолютний етанол/ізо-гексан (50:50) як елюент при 6,0мл/хвилину швидкості потоку та чисті енантіомери елюювали. Фракції, що містять один енантіомер, поєднували, концентрували та аналізували на оптичну чистоту хіральною хроматографією (див. нижче).

Енантіомер А ("ранішні" фракції)

Вихід: 0,068г білого твердого продукту

30 Хіральна хроматографія (Chiralpak AD-H (0,45см I.D x 25см л) при 0,43мл/хвилину суміш абсолютний етанол/ізо-гексан (50:50))

Час утримання: 10,5 хвилин

Оптична чистота: 99,9% е.н (нема енантіомеру В)

Енантіомер В ("пізніші" фракції)

35 Вихід: 0,071г білого твердого продукту

Хіральна хроматографія (Chiralpak AD-H (0,45см I.D x 25см л) при 0,43мл/хвилину суміш абсолютний етанол/ізо-гексан (50:50))

Час утримання: 12,2 хвилин

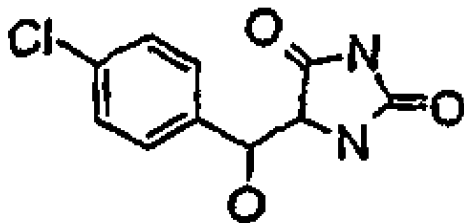
Оптична чистота: 99,6% е.н (представлено 0,24% енантіомеру В)

40 Спектри ЯМР чистих енантіомерів співпадали з спектрами чистих діастереоізомерів.

Наступні Приклади отримували наступним способом з прикладу 1. Якщо не встановлено інше, кінцеві сполуки представляють суміш чотирьох стереоізомерів. Колонкову хроматографію використовували для кінцевої очистки або для розділення сіастереоізомерів.

Приклад 2

45 5-((4-Хлор-Феніл)-гідрокси-метил)-імідазолідин-2,4-діон



55 Діастереоізомер А

¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): 10,32 (1H, s); 8,07 (1H, s); 7,37 (2H, d, J=8,5Гц); 7,30 (2H, d, J=8,5Гц); 5,94 (1H, d, J=3,9Гц); 4,92 (1H, t, J=3,2Гц); 4,35 (1H, dd, J=3,1, 1,0Гц).

¹³C ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): 173,00; 157,36; 138,41; 131,98; 128,86; 127,52; 71,65; 63,88.

APCI-MS m/z: 241 [MН⁺].

60 Діастереоізомер В

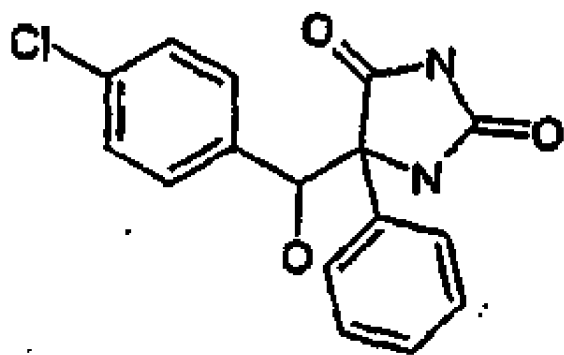
¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): 10,53 (1H, s); 7,54 (1H, s); 7,42-7,37 (4H, m); 5,83 (1H, d, J=5,6Гц); 4,91 (1H, dd, J=5,6, 2,6Гц); 4,23 (1H, dd, J=2,6, 1,5Гц).

¹³C ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): 173,97; 158,04; 140,62; 131,67; 128,15; 127,89; 70,08; 63,93.

APCI-MS m/z: 241 [MН⁺].

65 Приклад 3

5-((4-Хлор-феніл)-гідрокси-метил)1-5-феніл-імідазолідин-2,4-діон



APCI-MS m/z: 317,1 [MH⁺].

Приклад 4

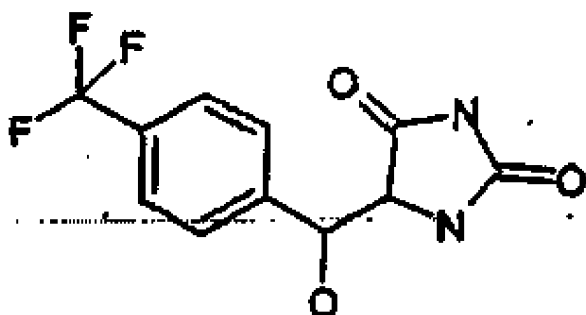
5-(4-Ціано-феніл)-гідрокси-метил)-5-ізобутил-імідазолідин-2,4-діон



APCI-MS m/z: 288.1- [MH⁺].

Приклад 5

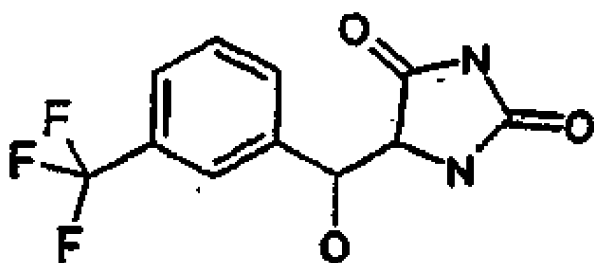
5-((4-Трифлуорметил-феніл)-гідрокси-метил)-імідазолідин-2,4-діон



APCI-MS m/z: 275.1 [MH⁺].

Приклад 6

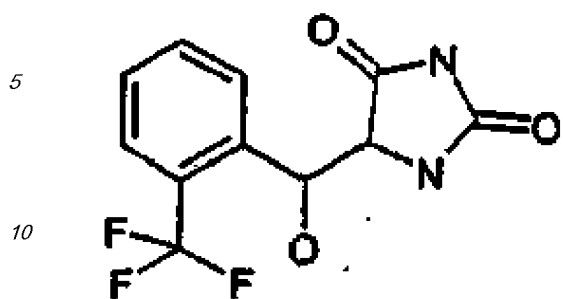
5-((3-Трифлуорметил-феніл)-гідрокси-метил)-імідазолідин-2,4-діон



APCI-MS m/z: 275.2 [MH⁺].

Приклад 7

5-((2-Трифлуорметил-Феніл)-гідрокси-метил)-імідазолідин-2,4-діон

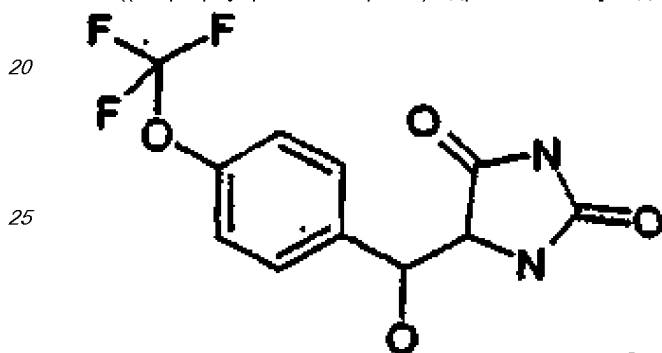


15

APCI-MS m/z: 275.1 [MH⁺].

Приклад 8

5-((4-Трифлуорметокси-феніл)-гідрокси-метил)-імідазолідин-2,4-діон

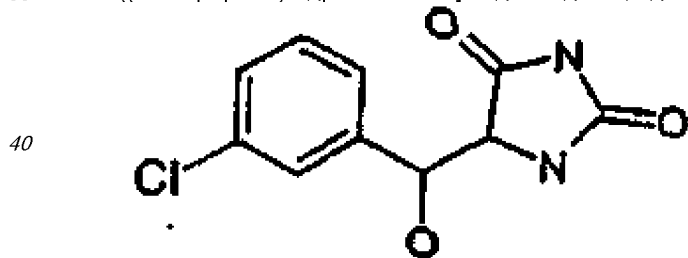


30

APCI-MS m/z: 291.3 [MH⁺].

Приклад 9

5-((3-Хлор-феніл)-гідрокси-метил)-імідазолідин-2,4-діон

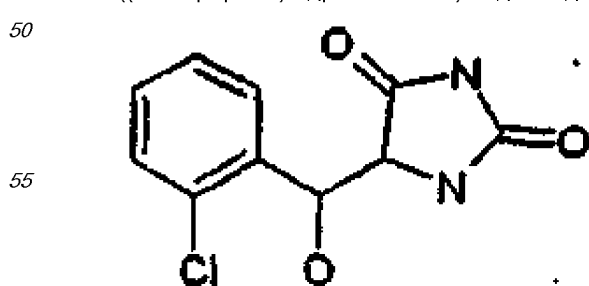


45

APCI-MS m/z: 241.0 [MH⁺].

Приклад 10

5-((2-Хлор-феніл)-гідрокси-метил)-імідазолідин-2,4-діон



60

APCI-MS m/z: 241.0 [MH⁺].

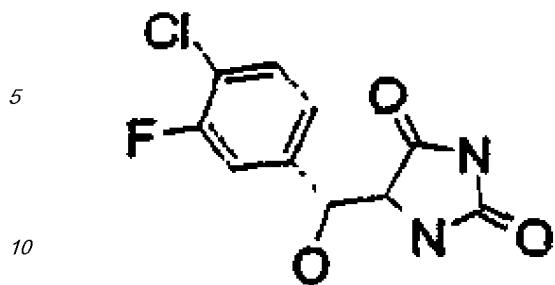
Приклад 11

5-((4-Хлор-3-флуор-феніл)-гідрокси-метил)-імідазолідин-2,4-діон

65

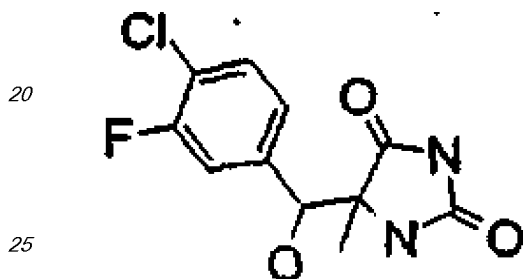
U
A
7
4
6
2
4
C
2

U
A
7
4
6
2
4
C
2



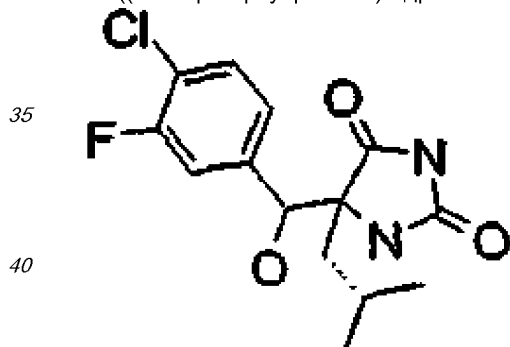
APCI-MS m/z: 259.0 [MH⁺]

15
 Приклад 12
 5-((4-Хлор-3-флуор-феніл)-гідрокси-метил)-5-метил-імідазолідин-2,4-діон



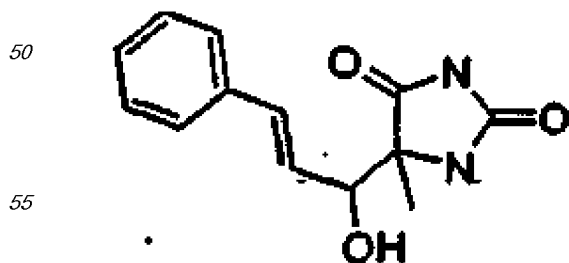
APCI-MS m/z: 272.9 [MH⁺]

30
 Приклад 13
 5-((4-Хлор-3-флуор-Феніл)-гідрокси-метил)-5-ізобутил-імідазолідин-2,4-діон



45
 АРСІ-МС m/z: 315.9 [MH⁺]

Приклад 14
 5-(1-Гідрокси-3-феніл-пропіл)-5-метил-імідазолідин-2,4-діон

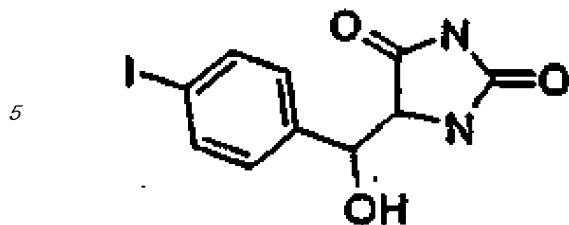


¹H ЯМР (400МГц, ДМСО-d₆): δ 10,45 (1H, s); 7,88 (1H, s); 7,38-7,22 (5H, m); 6,54 (1H, d, J=16,1Гц); 6,22 (1H, dd, J=7,3, 7,6Гц); 5,56 (1H, d, J=4,5Гц); 4,09 (1H, d, J=3,6, 4,5Гц); 1,27 (3H,s).

APCI-MS m/z: 247,1 [MH⁺].

Приклад 15
 5-[Гідрокси-(4-йод-феніл)-метил]-імідазолідин-2,4-діон

65

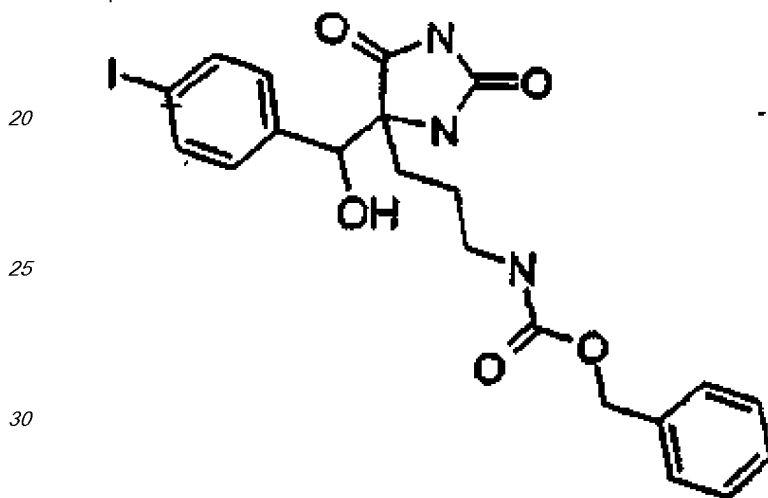


10 ^1H ЯМР (300МГц, ДМСО- d_6): δ 10,32 (1H, s); 8,06 (1H, s); 7,66 (2H, d, $J=8,1\text{Гц}$); 7,10 (2H, d, $J=8,3\text{Гц}$); 5,91 (1H, d, $J=3,9\text{Гц}$); 4,87 (1H, t, $J=2,7\text{Гц}$); 4,34 (1H, d, $J=2,5\text{Гц}$).

APCI-MS m/z : 333,1 [MH^+].

Приклад 16

15 (3-[4-[Гідрокси-(4-йод-феніл)-метил]-2,5-діоксо-імідазолідин-4-іл]-пропіл)-карбамової кислоти бензиловий естер

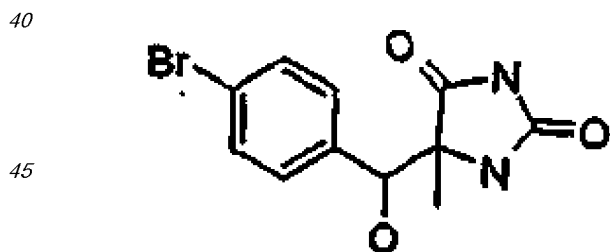


35 **APCI-MS m/z : 524.1 [MH^+].**

Приклад 17

5-[4-Бром-феніл]-гідрокси-метил]-5-метил-імідазолідин-2,4-діон

Отримано альдольною конденсацією 4-бром-бензальдегіду та 5-Метил-імідазолідин-2,4-діону.



50 ^1H ЯМР(400МГц, ДМСО- d_6): δ 10,18 (1 H, s); 8,08 (1H, s); 7,46 (2H, d, $J=8,4\text{Гц}$); 7,20 (2H, d, $J=8,4\text{Гц}$); 5,99 (1H, d, $J=4,4\text{Гц}$); 4,59 (1H, d, $J=3,81\text{Гц}$); 1,39 (3H,s).

APCI-MS m/z : 298,9 [MH^+].

Приклад 18

5-[(3,5-Диметил-ізоксазол-4-іл)-гідрокси-метил]-5-метил-імідазолідин-2,4-діон

55 Отримано альдольною конденсацією 3,5-диметил-ізоксазол-4-карбальдегіду та 5-Метил-імідазолідин-2,4-діону.

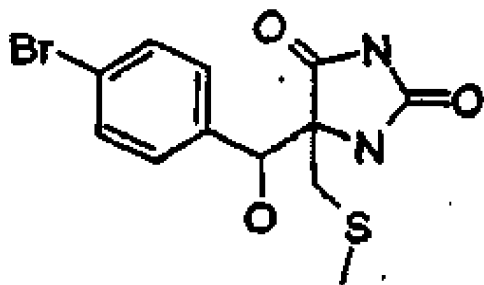
APCI-MS m/z : 240 [MH^+] 5

Приклад 19

5-[(4-Бром-феніл)-гідрокси-метил]-5-метилсульфанілметил-імідазолідин-2,4-діон

60 Отримано альдольною конденсацією 4-бром-бензальдегіду та 5-метилсульфанілметил-імідазолідин-2,4-діону.

65

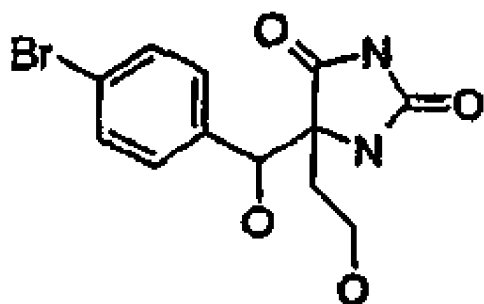


APCI-MS m/z : 347.1 $[MH^+]$.

15 Приклад 20

5-[(4-Бром-феніл)-гідрокси-метил]-5-(2-гідроксіетил)-імідазолідин-2,4-діон

Отримано альдольною конденсацією 4-бром-бензальдегіду та 5-(2-гідрокси-етил)-імідазолідин-2,4-діону.

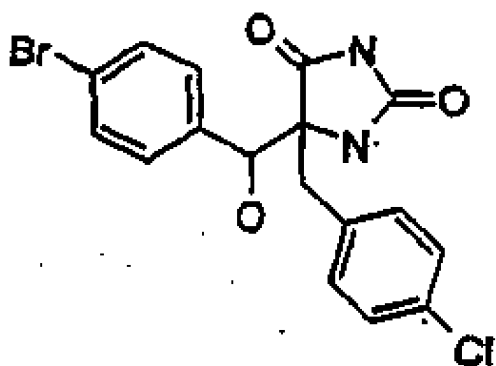


30 APCI-MS m/z 311.2 $[MH^+ - H_2O]$

35 Приклад 21

5-[(4-Бром-феніл)-гідрокси-метил]-5-(4-хлорбензил)-імідазолідин-2,4-діон

Отримано альдольною конденсацією 4-бром-бензальдегіду та 5-(4-хлор-бензил)-імідазолідин-2,4-діону.



50 APCI-MS m/z : 411 $[MH^+]$

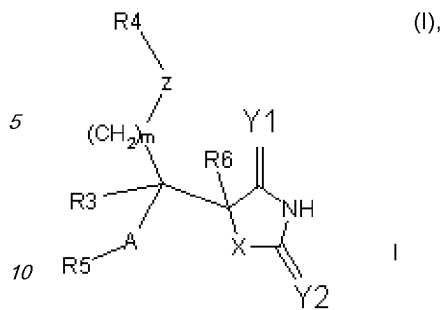
55 Приклад 22

5-[(4-Бромфеніл)гідрокси-метил]-5-піридин-2-ілметил-імідазолідин-2,4-діон

Отримано альдольною конденсацією 4-бром-бензальдегіду та 5-піридин-4-ілметил-імідазолідин-2,4-діону.

Формула винаходу

1. Сполука формули I або її фармацевтично прийнятна сіль чи здатний до гідролізу in vivo естер



де

X вибрано з групи: NR1, O, S;

Y1 та Y2 незалежно вибрані з групи: O, S;

Z вибрано з групи: NR2, O, S;

m дорівнює 0 чи 1;

A вибрано з групи: безпосередній зв'язок, (C1-6)алкіл, (C1-6)алкеніл, (C1-6)галогеналкіл, або (C1-6)гетероалкіл, що містить гетерогрупу, вибрану з груп: N, O, S, SO, SO₂, або містить дві гетерогрупи, вибрані з груп: N, O, S, SO, SO₂ та розділені щонайменше двома атомами карбону;

R1 вибрано з групи: H, алкіл, галогеналкіл;

R2 вибрано з групи: H, алкіл, галогеналкіл;

R3 та R6 незалежно вибрані з групи: H, галоген (переважно F), алкіл, галогеналкіл, алкоксіалкіл, гетероалкіл, циклоалкіл, арил, алкіларил, гетероалкіларил, гетероарил, алкілгетероарил, гетероалкілгетероарил, арилалкіл, арилгетероалкіл, гетероарилалкіл, гетероарилгетероалкіл, бісарил, арилгетероарил, гетероариларил, бісгетероарил, циклоалкіл або гетероциклоалкіл, що містять 3-7 кільцевих атомів, де радикали алкілу, гетероалкілу, арилу, гетероарилу, циклоалкілу або гетероциклоалкілу можуть бути, як варіант, заміщені однією або більше групами, незалежно вибраними з груп: гідроксил, алкіл, гетероалкіл, циклоалкіл, арил, гетероарил, галоген, галогеналкіл, гідроксіалкіл, алкоксил, алкоксіалкіл, галогеналкоксил, галогеналкоксіалкіл, карбоксил, карбоксіалкіл, алкілкарбоксил, аміногрупа,

N-алкіламіногрупа, N,N-діалкіламіногрупа, алкіламіногрупа, алкіл(N-алкіл)аміногрупа, алкіл(N,N-діалкіл)аміногрупа, амідогрупа, N-алкіламідогрупа, N,N-діалкіламідогрупа, алкіламідогрупа, алкіл(N-алкіл)амідогрупа, алкіл(N,N-діалкіл)амідогрупа, тіол, сульфен, сульфенаміногрупа, алкілсульфенаміногрупа, арилсульфенаміногрупа, сульфенамідогрупа, галогеналкілсульфон, алкілтіогрупа, арилтіогрупа, алкілсульфон, арилсульфон, аміноссульфон, N-алкіламіноссульфон, N,N-діалкіламіноссульфон, алкіламіноссульфон, ариламиноссульфон, ціаногрупа, алкілціаногрупа, гуанідиногрупа, N-ціаногуанідиногрупа, тіогуанідиногрупа, амідиногрупа, N-аміноссульфонамідиногрупа, нітрогрупа, алкілнітрогрупа, 2-нітро-етен-1,1-діамін;

R4 вибрано з групи: H, алкіл, гідроксіалкіл, галогеналкіл, алкоксіалкіл, галогеналкоксил, аміноалкіл, амідоалкіл, тіоалкіл;

R5 представляє моноциклічну групу, що містить 3-7 кільцевих атомів, незалежно вибраних з груп: циклоалкіл, арил, гетероциклоалкіл або гетероарил, як варіант, заміщений одним чи більше замісниками, незалежно вибраними з групи: галоген, гідроксил, галогеналкоксил, аміногрупа, N-алкіламіногрупа, N,N-діалкіламіногрупа, ціаногрупа, нітрогрупа, алкіл, алкоксил, алкілсульфон, галогеналкілсульфон, карбоніл, карбоксил, де будь-який алкіл у будь-якому заміснику може бути сам, як варіант, заміщений одною чи більше групами, вибраними з груп: галоген, гідроксил, аміногрупа, N-алкіламіногрупа, N,N-діалкіламіногрупа, алкілсульфенаміногрупа, алкілкарбоксіаміногрупа, ціаногрупа, нітрогрупа, тіол, алкілтіол, алкілсульфеногрупа, алкіламіноссульфеногрупа, алкілкарбоксилат, амідогрупа, N-алкіламідогрупа, N,N-діалкіламідогрупа, алкоксил, галогеналкоксил, карбоніл, карбоксил;

за умови, що:

коли X представляє NR1, R1 представляє H, Y1 представляє O, Y2 представляє O, Z представляє O, m дорівнює 0, A є безпосереднім зв'язком, R3 представляє H, R4 представляє H та R6 представляє H, тоді R5 не представляє феніл, нітрофеніл, гідроксифеніл, алкоксифеніл або піридин;

коли X представляє NR1, R1 представляє H або метил, Y1 представляє O, Y2 представляє O, Z представляє O, m дорівнює 0, A є безпосереднім зв'язком, R3 представляє H, R4 представляє H та R6 представляє феніл, тоді R5 не представляє феніл;

коли X представляє NR1, R1 представляє H, Y1 представляє O, Y2 представляє O, Z представляє O, m дорівнює 0, A є безпосереднім зв'язком, R3 представляє феніл, R4 представляє H та R6 представляє H, тоді R5 не представляє феніл;

коли X представляє S, щонайменше один з Y1 та Y2 представляє O, m дорівнює 0, A є безпосереднім зв'язком, R3 представляє H або метил, R6 представляє H або метил, тоді R5 не представляє феніл, піридин, пірол, тіофен або фуран;

коли X представляє O, Y1 представляє O, Y2 представляє O, Z представляє O, m дорівнює 0, A є безпосереднім зв'язком, R3 представляє метилхлорид, R4 представляє H та R6 представляє H, тоді R5 не представляє феніл.

2. Сполука формули I за п. 1 або її фармацевтично прийнятна сіль чи здатний до гідролізу in vivo естер,

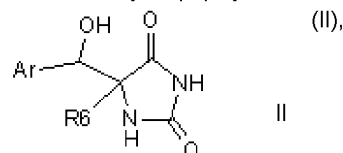
де X представляє NR1, R1 представляє H або (C1-3) алкіл, щонайменше один з Y1 та Y2 представляє O, Z представляє O, m дорівнює 0, та A є безпосереднім зв'язком.

3. Сполука за п. 1 або п. 2 або її фармацевтично прийнятна сіль чи здатний до гідролізу in vivo естер, де R3 представляє H, алкіл або галогеналкіл, R4 представляє H, алкіл або галогеналкіл.

4. Сполука за будь-яким з попередніх пунктів або її фармацевтично прийнятна сіль чи здатний до гідролізу in vivo естер, де R5 представляє, як варіант, заміщене 5- або 6-членне кільце, незалежно вибране з групи: циклоалкіл, арил, гетероциклоалкіл або гетероарил.

5. Сполука за будь-яким з попередніх пунктів або її фармацевтично прийнятна сіль чи здатний до гідролізу in vivo естер, де R6 представляє H, алкіл, гідроксилалкіл, аміноалкіл, циклоалкілалкіл, алкілциклоалкіл, арилалкіл, алкіларил, гетероалкіл, гетероциклоалкілалкіл, алкілгетероциклоалкіл, гетероарилалкіл або гетероалкіларил.

6. Сполука формули II або її фармацевтично прийнятна сіль чи здатний до гідролізу in vivo естер



де

Ar є 5- або 6-членним арилом або гетероарилом, як варіант, заміщеним одним або двома замісниками, вибраними з групи: галоген, аміногрупа, нітрогрупа, (C1-6)алкіл, (C1-6)алкоксил або (C1-6)галогеналкоксил;

R6 вибрано з групи: H, арил або (C1-6)алкіл та R6 є, як варіант, заміщеним групою, вибраною з групи: гідроксил, тіоалкіл, феніл, галогенфеніл, піридил або карбамат.

7. Сполука формули II за п. 6 або її фармацевтично прийнятна сіль чи здатний до гідролізу in vivo естер, де Ar представляє феніл або заміщений феніл, або Ar представляє 5- або 6-членне гетероарильне кільце, що містить два гетероатоми, незалежно вибрані з групи: O та N.

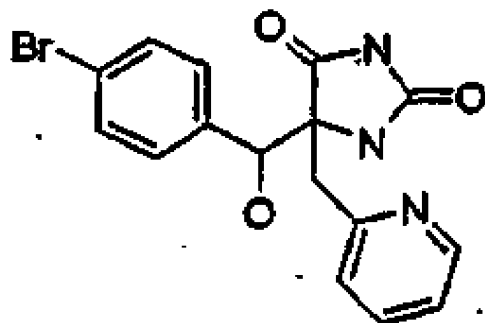
8. Сполука формули II за п. 6 або п. 7 або її фармацевтично прийнятна сіль чи здатний до гідролізу in vivo естер, де R6 представляє феніл, феніл, заміщений галогеном, метиленпіридином, або (C1-3)алкіл, як варіант, заміщений гідроксилом, тіометилом або бензилкарбаматом.

9. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку формули I за п. 1 або її фармацевтично прийнятну сіль чи здатний до гідролізу in vivo естер та фармацевтично прийнятний носій.

10. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку формули II за п. 6 або її фармацевтично прийнятну сіль чи здатний до гідролізу in vivo естер та фармацевтично прийнятний носій.

11. Спосіб лікування опосередкованої металопротеїназою хвороби або стану, який полягає в уведенні теплокровній тварині терапевтично ефективної кількості сполуки формули I або формули II або її фармацевтично прийнятної солі чи здатного до гідролізу in vivo естеру.

12. Застосування сполуки формули I або формули II або її фармацевтично прийнятної солі чи здатного до гідролізу in vivo попередника у виробництві медикаменту для застосування у лікуванні хвороби або стану, опосередкованих одним чи більше металопротеїназними ферментами.



APCI-MS m/z : 378.1 [MH⁺]

Офіційний бюлетень "Промислова власність". Книга 1 "Винаходи, корисні моделі, топографії інтегральних мікросхем", 2006, N 1, 15.01.2006. Державний департамент інтелектуальної власності Міністерства освіти і науки України.

U A 7 4 6 2 4 C 2

U A 7 4 6 2 4 C 2