



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61963 (13) C2

(51) 7 C07C311/29, C07D211/66,

A61K31/19, 31/215, 31/445

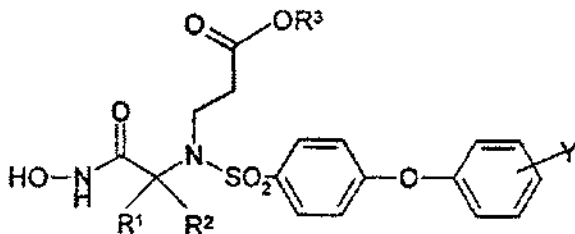
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПОХІДНІ АРИЛОКСИСУЛЬФОНАМІНОГІДРОКСАМОВОЇ КИСЛОТИ, ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ НА ЇХ ОСНОВІ, СПОСІБ СЕЛЕКТИВНОГО ІНГІБУВАННЯ МАТРИЧНОЇ МЕТАЛПРОТЕІНАЗИ-13 У ССАВЦІВ ТА СПОСІБ ЛІКУВАННЯ

1

2

- (21) 2000020651
(22) 21 07 1998
(24) 15 12 2003
(86) PCT/IB98/01113, 21 07 1998
(31) 60/055,207
(32) 08 08 1997
(33) US
(46) 15 12 2003, Бюл. № 12, 2003 р
(72) Робінсон Ральф Пелтон, US
(73) ПФАЙЗЕР ПРОДАКТС ІНК., US
(56) EP 0606046 A, 13 07 1994
WO 9627583 A, 12 09 1996
(57) 1 Похідні арилоксисульфонаміногідроксамової кислоти формули



- або їх фармацевтично прийнятні солі, в яких
R¹ є (C₁-C₆)алкілом,
R² є (C₁-C₆)алкілом,
або R¹ та R² взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють кільце, що вибрано з (C₅-C₇)циклоалкилу, 4-тетрагідропіранілу і 4-піперидинілу,
R³ являє собою водень або (C₁-C₆)алкіл,
Y - замісник приєднаний до будь-якого атому вуглецю фенільного кільця, здатного нести додатковий зв'язок, незалежно вибраний з водню, фтору, хлору, трифторметилу, (C₁-C₆)алкокси, трифторметокси, дифторметокси і (C₁-C₆)алкилу
2 Сполука згідно з пунктом 1, в якій Y є воднем, фтором або хлором
3 Сполука згідно з пунктом 1, в якій Y є 4-фтором або 4-хлором
4 Сполука згідно з пунктом 1, в якій R¹ та R² взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють цикlopентильне кільце

- 5 Сполука згідно з пунктом 3, в якій R¹ та R² взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють цикlopентильне кільце
6 Сполука згідно з пунктом 1, в якій R¹ та R² взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 4-тетрагідропіранильне кільце
7 Сполука згідно з пунктом 1, в якій R¹ та R² обидва є метилами
8 Сполука згідно з пунктом 3, в якій R¹ та R² обидва є метилами
9 Сполука згідно з пунктом 1, в якій R³ є воднем
10 Сполука згідно з пунктом 3, в якій R³ є воднем
11 Сполука згідно з пунктом 4, в якій R³ є воднем
12 Сполука згідно з пунктом 1, в якому згадану сполуку вибирають з групи, що вміщує
етилловий естер 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоілциклопентил)аміно]пропіонової кислоти,
3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоілциклопентил)аміно]пропіонову кислоту,
етилловий естер 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-1-метилетил)аміно]пропіонової кислоти, і
3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-1-метилетил)-аміно]пропіонову кислоту
13 Фармацевтична композиція для (а) лікування артритів або раку та інших захворювань, що характеризуються активністю матричної металпротеїнази або (б) селективного інгібування матричної металпротеїнази-13 у ссавців, включаючи людину, яка містить ефективну при такому лікуванні або інгібуванні кількість сполуки згідно з пунктом 1 або її фармацевтично прийнятну сіль, та фармацевтично прийнятний носій
14 Спосіб селективного інгібування матричної металпротеїнази-13 у ссавців, включаючи людину, при якому призначають вказаному ссавцю ефективну кількість сполуки згідно з пунктом 1 або її фармацевтично прийнятної солі
15 Спосіб лікування артриту або раку та інших захворювань, що характеризуються активністю матричної металпротеїнази-13 у ссавців, включа-

(13) C2

(11) 61963

(19) UA

ючи людину, при якому призначають вказаному ссавцю ефективну при лікуванні таких станів киль-

кість сполуки згідно з пунктом 1 або II фармацевтично прийнятної солі

Даний винахід стосується похідних арилокси-сульфоніламіногідроксамової кислоти. Ці сполуки є селективними інгібіторами матричної металопро-теїнази-13 і таким чином використовуються в ліку-ванні станів, вибраних з групи, яка складається з артритів, раку, утворення виразок тканин, ресто-нозу, захворювань пародонту, бульозного епіде-рмолізу, втрата кісткової маси, розриви в місцях з'єднання штучних імплантатів, атеросклероз, роз-сіяний склероз, очний ангіогенез (наприклад, ма-кулярна дегенерація) та інших захворювань, що характеризуються активністю матричної металпро-теїнази.

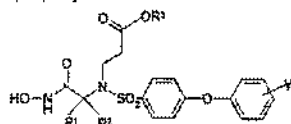
Цей винахід також стосується способів вико-ристання цих сполук в лікуванні згаданих вище захворювань у ссавців, особливо людей, та до фармацевтичних композицій, що використовують-ся при цьому.

Існує ряд ферментів, які призводять до розри-ву структурних білків та які структурно подібні до металопротеїнази. Металопротеїнази, що руйнують матрицю, такого типу як желатиназа, стромелізин та колагеназа, беруть участь в матричному роз-кладі тканини (наприклад, колапс колагену) та зу-мовляють багато патологічних станів, які характе-ризуються аномаліями з'єднувальної тканини та метаболізмом базальної матриці мембран, таких, як артрит (наприклад, остеоартрит та ревматоїд-ний артрит), виразки тканин (наприклад рожева, епідермальна та шлункова виразки), аномальне загоєння ран, захворювання пародонту, кісткові захворювання (наприклад хвороба Педжета та остеопороз), метастаз пухлини або інвазія, а також ВІЛ-інфекція (J Leuk Biol, 52 (2) 244-248, 1992).

Фактор некрозу пухлини, як визнають, зумов-лює ряд інфекційних та аутоімунних захворювань (W Fiers, FEBS Letters, 1991, 285, 199). Крім того, було показано, що TNF - головний медіатор запал-ної реакції, що спостерігається при сепсисі та септичному шоку (CE Spooner et al, Clinical Immunology and Immunopathology, 1992, 62 S11).

Короткий зміст винаходу

Представлений винахід стосується сполуки формули



або їх фармацевтично прийнятні солі, в яких

R^1 є (C_1-C_6) алкілом,

R^2 є (C_1-C_6) алкілом,

або R^1 та R^2 взяті разом з атомом вуглецю до якого вони приєднані утворюють кільце, що вибрано з (C_5-C_7) циклоалкілу, 4-тетрагідропранілу і 4-піперидинілу,

R^3 являє собою водень або (C_1-C_6) алкіл,

Y - замісник приєднаний до будь якого атому вуглецю фенільного кільця, здатного нести додат-

ковий зв'язок, переважно від 1 до 2 замісників (більш переважно, один замісник, більш переважно, один замісник в 4 положенні) фенільного кільця, незалежно вибраний з водню, фтору, хлору, трифторметилу, (C_1-C_6) алкокси, трифторметокси, дифторметокси і (C_1-C_6) алкілу.

Термін "алкіл", що застосований тут, якщо не вказано інше, означає насичені моновалентні вуглеводневі радикали, що мають нерозгалужену, розгалужену або циклічну будову або їх комбінації.

Термін "алкокси", що застосований тут, означає O-алкільні групи, де "алкіл" визначений вище.

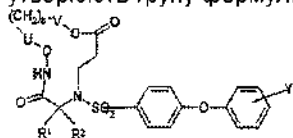
Представлений винахід також стосується фармацевтично прийнятних кислотно-адитивних солей сполук формули I. Кислотами, які використовуються для одержання фармацевтично прийнятних кислотно-адитивних солей вищезгаданих основних сполук цього винаходу, є такі, що утворюють нетоксичні адитивні солі, тобто, солі, які містять фармакологічно прийнятні аніони, такі як гідрохлоридні, гідробромідні, гідрододидні, нітратні, сульфатні, бісульфатні, фосфатні, кислофосфатні, ацетатні, лактатні, цитратні, кислоситратні, тартратні, бітартратні, сукцинатні, малеатні, фумаратні, глюконатні, сахаратні, бензоатні, метансульфонатні, етансульфонатні, бензолсульфонатні, п-толуолсульфонатні та памоатні (наприклад, 1,1-метилен-біс-(2-гідрокси-3-нафтоат)) солі.

Винахід також стосується основно-адитивних солей формули I. Хімічні основи, що можуть бути використані в якості реагентів для одержання фармацевтично прийнятних солей сполук формули I, що мають кислотну функцію і що утворюють нетоксичні основні солі з такими сполуками. Такими нетоксичними основними солями є, але не обмежуються, наступними похідними від наступних фармацевтично прийнятних катіонів, таких як, катіони лужних металів (наприклад, калію і натрію) і катіонів лужноземельних металів (наприклад, кальцію і магнію), амонієвих або водорозчинних аміно-адитивних солей, таких як, N-метилглюамін (меглумін) і низькоалканоламонієвих і інших основних солей фармацевтично прийнятних органічних амінів.

Сполука формули I може мати хіральні центри і тому існувати в різноманітних енантіомерних формах. Цей винахід стосується усіх оптичних ізомерів та стереоізомерів сполук формули I та їх сумішей.

Цей винахід також стосується фармацевтичних композицій, що вміщують проліки сполук формули I і способів лікування або попередження, що полягають у призначенні проліків сполук формули I. Сполуки формули I маючи вільні аміно, амідно, гідрокси або карбоксильні групи можуть бути перетворені у проліки. Проліки включають сполуки, в яких амінокислотні залишки або поліпептидний ланцюг, що складається з двох або більшої кількості (наприклад, двох, трьох або чотирьох) амінокис-

слотних залишків, які ковалентно приєднані за допомогою пептидних зв'язків до вільної аміно, гідрокси або карбоксильної групи сполуки формули I. Амінокислотні залишки включають 20 амінокислот, що зустрічаються в природі і позначаються за допомогою трохлітерних позначень і також включають 4-гідроксипролін, гідроксилізін, демозин, ізодемозин, 3-метилгістидин, норвалін, бетааланін, гаммааміномасляна кислота, цитрулін, гомоцистеїнугомосерин, омїтин і метіонін сульфон. Проліки також включають сполуки, в яких карбонати, карбамати, аміді і алкілові естери ковалентно приєднані до вищезгаданих замісників формули I через карбонільний атом вуглецю бічного ланцюгу пролікарської форми. Проліки також включають сполуки формули I, в яких гідроксимова кислота і карбонільний фрагмент, коли вони взяті разом утворюють групу формули



в якій R^1 , R^2 і Y такі, як зазначено для формули I та U і V , незалежно, карбоніл, метилен, SO_3 або SO_3^- знаходиться в інтервалі від одного до трьох, в якій кожна метиленова група, необов'язково, заміщена гідроксигрупою.

Переважаючими сполуками формули I є сполуки, в яких Y є воднем, фтором або хлором, переважно, 4-фтор або 4-хлор.

Іншими переважними сполуками формули I є сполуки, в яких R^1 та R^2 узяті разом з атомом вуглецю до якого вони приєднані, утворюють цикlopентильне або 4-тетрагідропіранильне кільце.

Іншими переважними сполуками формули I є сполуки, в яких R^1 та R^2 обидва є метилами.

Іншими переважними сполуками формули I є сполуки, в яких R^3 є воднем.

Особливо переважними сполуками формули I є наступні:

етиловий естер 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-циклопентил)аміно]пропіонової кислоти,

3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоілциклопентил)аміно]-пропіонова кислота,

етиловий естер 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-1-метилетил)аміно]пропіонової кислоти, і

3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-1-метилетил)аміно]пропіонова кислота.

Іншими сполуками формули I є наступні:

3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(4-гідроксикарбамоїлтетрагідропіран-1-іл)-аміно]пропіонова кислота,

етиловий естер 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(4-гідроксикарбамоїлтетрагідропіран-1-іл)аміно]пропіонової кислоти,

3-[[4-(4-хлорфенокси)бензолсульфоніл]-(4-гідроксикарбамоїлтетрагідропіран-1-іл)-аміно]пропіонова кислота,

етиловий естер 3-[[4-(4-хлорфенокси)бензолсульфоніл]-(4-гідроксикарбамоїлтетрагідропіран-1-іл)аміно]пропіонової кислоти,

3-[[4-(4-гідроксикарбамоїлтетрагідропіран-4-іл)-(4-феноксибензолсульфоніл)аміно]-пропіонова кислота,

етиловий естер 3-[[4-(4-гідроксикарбамоїлтетрагідропіран-4-іл)-(4-феноксибензол-сульфоніл)аміно]пропіонової кислоти,

3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(4-гідроксикарбамоїлпиперидин-1-іл)-аміно]пропіонова кислота,

3-[[4-(4-хлорфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоїл-1-метилетил)-аміно]пропіонова кислота,

етиловий естер 3-[[4-(4-хлорфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоїл-1-метилетил)аміно]пропіонової кислоти,

3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоїлциклогексил)-аміно]пропіонова кислота,

3-[[1-гідроксикарбамоїлциклопентил]-(4-феноксибензолсульфоніл)аміно]-пропіонова кислота, та

3-[[4-(4-хлорфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоїлциклопентил)-аміно]пропіонова кислота.

Представлений винахід також стосується фармацевтичної композиції для (а) лікування станів, вибраних з групи, яка складається з артритів, раку, утворення виразок тканини, ретеннозу, захворювань періодонту, бульозного епідермолізу, втрата кісткової маси, розриви в місцях з'єднання штучних імплантатів, атеросклероз, розсіяний склероз, очний ангіогенез (наприклад, макулярна дегенерація) та інших захворювань, що характеризуються активністю матричної металопроїнази, або (б) селективного інгібування матричної металопроїнази-13 у ссавців, включаючи людину, яка містить деяку кількість сполуки формули I або її фармацевтично прийнятну сіль, що ефективна при такому лікуванні та фармацевтично прийнятний носій.

Представлений винахід також стосується способу селективного інгібування матричної металпроїнази-13 у ссавців, включаючи людину, який полягає у призначенні вказаному ссавцю ефективної кількості сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі.

Представлений винахід також стосується способу лікування станів, вибраних з групи, яка складається з артритів, раку, утворення виразок тканини, ретеннозу, захворювань періодонту, бульозного епідермолізу, втрата кісткової маси, розриви в місцях з'єднання штучних імплантатів, атеросклероз, розсіяний склероз, очний ангіогенез (наприклад, макулярна дегенерація) та інших захворювань обумовлених активністю матричної металпроїнази-13 у ссавців, включаючи людину, який полягає в призначенні вказаному ссавцю деякої кількості сполуки формули I або її фармацевтично прийнятної солі, ефективною при лікуванні таких станів.

Детальний опис винаходу

Наступні схеми реакцій розкривають одержання сполук представленого винаходу. Якщо не вказано інше, Y , R^1 , R^2 та R^3 в схемах реакцій та в наступному обговоренні, є такими, як визначено вище.

Схема 1

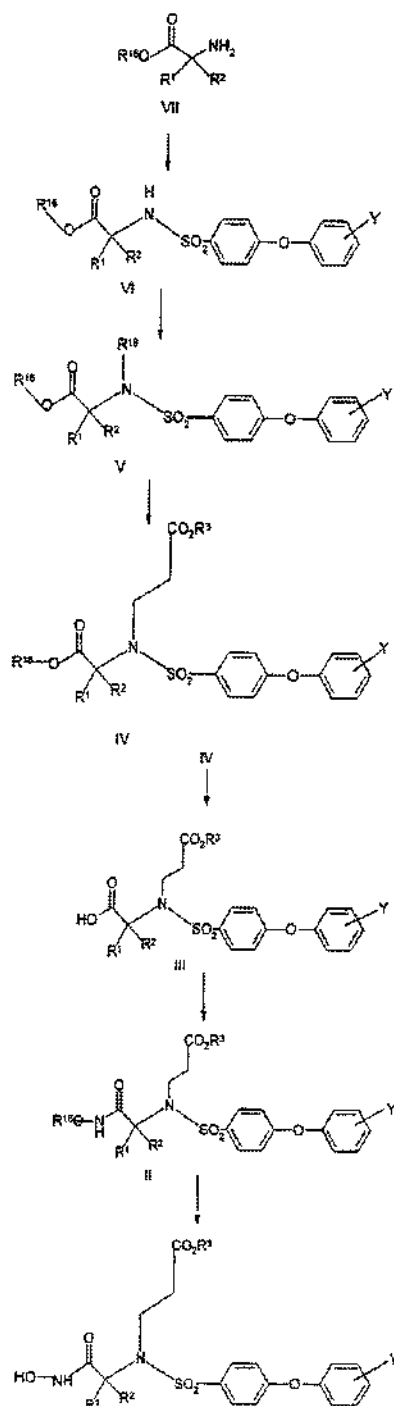
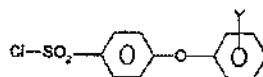


Схема 1 стосується одержання сполук формули I з сполук формули VII. Пояснення до Схеми 1, амінокислотну сполуку формули VII, в якій R^{16} є бензилом, перетворювали у відповідну сполуку формули VI взаємодією з реакційно функціональним похідним арилсульфонової кислоти формули



VIII

в присутності основи такої, як триетиламін в полярному розчиннику такому, як тетрагідрофуран, 1,2-діметоксиетан, діоксан, вода або ацетонітрил, переважно 1,2-діметоксиетан. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі, протягом часу від приблизно 10 хвилин до приблизно 24 годин, переважно приблизно 60 хвилин.

Арилсульфоніламіносполуку формули VI, в якій R^{16} є бензилом, перетворювали у відповідну сполуку формули V, в якій R^{16} є 3-третбутилдиметилсиланілоксипропанілом взаємодією з третбутил(3-галопропокси)диметилсиланом, переважно з йод похідним, в присутності основи такої, як карбонат калію, карбонат цезію, гексаметилдисилазид калію або ідрид натрію, переважно, гексаметилдисилазид калію. Реакційну суміш перемішували в полярному розчиннику такому, як диметилформамід або N-метилпіролідін-2-он при кімнатній температурі, протягом часу від приблизно 2 годин до приблизно 48 годин, переважно приблизно 18 годин.

Сполуку формули V перетворювали в похідне карбонової кислоти формули IV взаємодією з ефіратом трифтористогобору для одержання проміжного спирту, наступним окисненням і захистом шляхом естерифікації. Зокрема, реакцію з ефіратом трифтористогобору проводили в інертному розчиннику такому, як метиленхлорид, хлороформ, переважно метиленхлорид, при кімнатній температурі, протягом від приблизно 15 хвилин до приблизно 4 годин, переважно приблизно 1 годину. Окиснення спирту здійснювали використовуючи триоксид хрому у водному розчині сірчаної кислоти (реагент Джонса) приблизно при 0°C , від приблизно однієї до приблизно 6 годин, переважно приблизно 2 години. Захист карбонової кислоти здійснювали обробляючи вільну кислоту алкілюючим агентом таким, як R^3-L , в якому L група, що відходить така, як йод, бром, мезилат або тозилат, переважно йод, з основою такою, як карбонат калію або карбонат цезію, переважно карбонат калію, в полярному розчиннику такому, як диметилформамід, N-метилпіролідін-2-он або тетрагідрофуран, переважно диметилформамід, протягом від приблизно 1 до приблизно 24 годин, переважно 16 годин, при кімнатній температурі.

Сполуку формули IV перетворювали у сполуку формули III видаленням R^{16} захисної групи шляхом підрування, використовуючи паладій на вугіллі в розчиннику такому, як метанол або етанол, протягом від приблизно 30 хвилин до приблизно 48 годин, переважно 16 годин, при температурі від приблизно 20°C до приблизно 25°C , наприклад при кімнатній температурі.

Карбоксильну функцію сполуки формули III перетворювали у сполуку формули II з гідроксамової функцією, в якій R^{16} є бензилом, шляхом реакції активованої сполуки формули III з бензилгідроксиламіном. Сполуку формули III була активована шляхом обробки її гексафторфосфатом (бензтриазол-1-ілокси)трис(диметиламіно)фосфонію в присутності основи, при кімнатній температурі, в полярному розчиннику В попередньо згаданій

реакції час її проведення знаходився в інтервалі від приблизно 15 хвилин до приблизно 4 годин, переважно 1 година. Активоване похідне сполуки формули III перетворювали *in situ* у сполуку формули II реакцією з гідрохлоридом бензилгідроксиламіну. Реакцію з гідрохлоридом бензилгідроксиламіном здійснювали протягом від приблизно 1 години до приблизно 5 днів, переважно протягом 16 годин, при температурі від приблизно 40°C до приблизно 80°C, переважно при 60°C. Придатними основами є N-метилморфолін або діізопропілетиламін, переважно діізопропілетиламін. Придатним розчинником є N,N-диметилформамід або N-метилпіролідін-2-он, переважно N,N-диметилформамід.

Сполуку формули II перетворювали в сполуку I видаленням гідроксиламінозахисної групи. Видалення гідроксиламінозахисної групи здійснювали гідруванням бензильної захисної групи, використовуючи в якості катализатору паладій на сульфаті барію в полярному розчиннику, при температурі від приблизно 20°C до приблизно 25°C, наприклад, при кімнатній температурі, протягом часу від приблизно 1 години до приблизно 5 годин, переважно приблизно 3 години.

Сполуки формули VII та VIII є комерційно досяжними або можуть бути одержані за методиками добре відомими середньому спеціалісту в цій галузі.

Фармацевтично прийнятні солі кислих сполук винаходу – це солі, які утворені основами, а саме, катіонні солі, такі, як солі лужних та лужноземельних металів, таких як натрій, літій, калій, кальцій, магній, а також амонійні солі, такі, як солі амонію, триметиламонію, диметиламонію та сіль трис(гідроксиметил)метиламонію.

Аналогічно кислотно-адитивні солі, таких, як мінеральні кислоти, органічні карбонові та органічні сульфонові кислоти, наприклад соляна кислота, метансульфорова кислота, малеїнова кислота, також можуть містити основні групи, такі, як придин, що складають частину структури.

Сполуки формули I, що є основними за природою, здатні утворювати велику кількість різних солей з різними неорганічними та органічними кислотами. Хоча ці солі повинні бути фармацевтично прийнятними для призначення тваринам, на практиці часто бажано спочатку виділити сполуку формули I з реакційної суміші у вигляді фармацевтично прийнятної солі, і потім просто перетворити останню в сполуку у вигляді вільної основи обробкою лужним реагентом і потім перетворити вказану вільну основу в фармацевтично прийнятну кислотно-адитивну сіль. Кислотно-адитивні солі активних основних сполук цього винаходу легко одержуються обробкою основної сполуки, як правило, еквівалентною кількістю прийнятної мінеральної чи органічної кислоти в середовищі водного розчинника або приданого органічного розчинника, такого як метанол чи етанол. Обережним випаровуванням розчинника легко одержували бажану тверду сіль.

Кислоти, що використовувались для одержання фармацевтично прийнятних кислотно-адитивних солей сполук цього винаходу є солями, утвореними з нетоксичних кислотно-адитивних

солей, наприклад, солей, що містять фармацевтично прийнятний аніон такий, як гідрохлоридний, гідробромідний, гідрододидний, нітратний, сульфатний або бісульфатний, фосфатний або окислофосфатний, ацетатний, лактатний, цитратний або оксидцитратний, тартратний або оксидтартратний, сукцинатний, малеатний, фумаратний, глюконатний, сахаратний, бензоатний, метансульфонатний і паноатний [наприклад, 1,1'-метиленбіс(2-гідрокси-3-нафтоатна)]сіль.

Сполуки формули I, які також є кислими по природі, наприклад, коли R^3 є воднем, здатні утворювати основні солі з різноманітними фармацевтично прийнятними катіонами. Прикладами таких солей є солі лужних металів або лужноземельних металів і особливо, солі натрію і калію. Всі ці солі одержуються з використанням загальноприйнятих методик. Хімічні основи, що використовуються в якості реагентів для одержання фармацевтично прийнятних солей цього винаходу утворюють нетоксичні основні солі з описаними тут кислими сполуками формули I. Цими нетоксичними основами є похідні від фармацевтично прийнятних катіонів, таких як, натрій, калій, кальцій і магній та ін. Ці солі досить легко одержуються шляхом обробки відповідної сполуки, що містить кислотну функцію, водним розчином, що містить бажаний фармацевтично прийнятний катіон, наступним випаровуванням одержаного розчину до суха, переважно при пониженому тиску. Альтернативно, вони можуть бути одержані змішуванням нижчоспиртового розчину кислотної сполуки і алкоголю бажаного лужного металу разом, і випаровуванням одержаного розчину до суха за тим же самим способом, що описаний вище. В деяких випадках, краще використовувати стехіометрично еквівалентні кількості реагентів для забезпечення повного протікання реакції і максимізації виходу продукту.

Здатність сполук формули I або їх фармацевтично прийнятних солей (в подальшому також згаданих як MMP-13 селективних сполук представленого винаходу) інгібувати матричну металпротеїназу-13 (колагеназу 3) та, відповідно, проявляти ефективність при лікуванні захворювань, що характеризуються матричною металпротеїназою-13 підтверджується наступними виконаними *in vitro* тестами.

Біологічні тести

Інгібування Людської Колагенази (MMP-1)

Людську рекомбінантну колагеназу активували трипсином, використовуючи наступне співвідношення 10мкг трипсину на 100мкг колагенази. Трипсин та колагеназу культивували при кімнатній температурі протягом 10 хвилин, потім додавали п'ятикратний надлишок сполуки (50мкг/10мкг трипсину) інгібітору трипсину солі.

Готували 10мМ вихідні розчини інгібіторів в диметилсульфоксиді та потім розбавляли, використовуючи наступну схему:

10мМ → 120мМ → 12мМ → 1,2мМ → 0,12мМ

Двадцять п'ять мікролітрів кожної концентрації вносили у відповідні лунки 96-лункової мікрофторованої кювети в трьох серіях. Після додавання ензиму та субстрату кінцева концентрація інгібітору була 1/4 розведення. Позитивні контрольні тес-

ти (ензим, без інгібітору) здійснювали в лунках D1-D6 та тести порівняння (без ензиму, без інгібітору) проводили в лунках D7-D12

Колагеназу розводили до 400нг/мл і потім додавали 25мкл до відповідних лунок мікрофторованої кювети. Кінцева концентрація колагенази у випробуванні - 100нг/мл

Субстрат (DNP-Pro-Gly-Gly-Cys(me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH₂) одержували як 5мМ напівпродукт в диметилсульфоксиді та потім розводили до 20мкМ буфером випробування. Тест починали додаванням 50мкл субстрату в лунку мікрофторованої кювети з кінцевої концентрації 10мкМ

Флуоресцентні дані (360нм збудження, 460нм випромінювання) знімалися на початку відліку часу і потім через кожні 20 хвилин. Випробування проводили при кімнатній температурі з типовим часом випробування 3 години

Графік, флуоресценція від часу, будували як для порівняльного зразка, так і для зразків, що містили колагеназу (дані трикратних вимірювань усереднювали). Точку часу, яка забезпечує хороший сигнал (порівняльна) та точку, що знаходиться на лінійній частині кривої (зазвичай біля 120 хвилин), вибирали так, щоб визначити значення IC₅₀. Нульовий час використовували в якості порівняльного для кожної сполуки при кожній концентрації, та ці значення віднімали від 120 хвилинних даних. Результати показували, як залежність концентрації інгібітору від % контролю (флуоресценція інгібітору поділена на флуоресценцію самої колагенази x 100). IC₅₀ визначали з концентрації інгібітору, яка дає сигнал, який становить 50% від контрольного

Якщо встановлено, що IC₅₀ < 0,03мкМ, то інгібітори випробовували при кінцевих концентраціях 0,3мкМ, 0,03мкМ, 0,003мкМ та 0,0003мкМ

Інгібування MMP-13

Людський рекомбінантний MMP-13 активували 2мМ АРМА (п-амінофенілацетат ртуті) на протязі 1,5 годин, при 37°C та розбавляли до 400 мкл/мл в випробувальному буфері (Тріс 50мМ, рН 7,5, 200мМ хлориду натрію, 5мМ хлориду кальцію, 20мМ хлориду цинку, 0,02% бріджу). Двадцять п'ять мікролітрів розбавленого ензиму додавали в кожну лунку 96-пунктової мікрофторованої кювети. Ензим розбавляли до співвідношенні 1:4 в випробуванні додаванням інгібітору та субстрату, щоб одержати кінцеву концентрацію в випробуванні 100нг/мл

Вихідні розчини 10мМ інгібіторів одержували в диметилсульфоксиді та потім розбавляли буфером випробування відповідно до схеми розбавлення інгібітору при інгібванні людської колагенази (MMP-1). Двадцять п'ять мікролітрів кожної концентрації додавали у трьох серіях до мікрофторованої кювети. Кінцеві концентрації у випробуванні - 30мкМ, 3мкМ, 0,3мкМ та 0,03мкМ

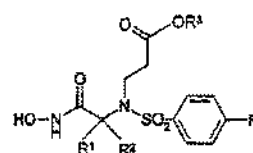
Субстрат (Dnp-Pro-Gly-Gly-Cys(me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH₂) готували, як для інгібвання людської колагенази (MMP-1) та 50мкл додавали до кожної лунки, щоб одержати кінцеву концентрацію у випробуванні 10мкМ. Флуоресцентні дані (360нм збудження, 460нм випромінювання) знімали на початку відліку часу та через кожні 5 хвилин на протязі 1 години

Позитивні контрольні лунки містили ензим та субстрат без інгібітору та порівняльні лунки містили лише субстрат

IC₅₀ визначали, як відсоток інгібвання людської колагенази (MMP-1). Якщо встановлено, що IC₅₀ < 0,03мкМ, то інгібітори випробовували при кінцевих концентраціях 0,3мкМ, 0,03мкМ, 0,003мкМ та 0,0003мкМ

Сполуки представленого винаходу проявляють неочікувану селективну активність по відношенню до матричної металопротеїнази-13 (колагенази 3) порівняно з матричною металопротеїназою-1 (колагеназою 1). Зокрема, сполуки формули I в 100 разів є більш ефективними до матричної металопротеїнази-13 (колагенази 3) ніж до матричної металопротеїнази-1 (колагенази 1) і мають IC₅₀ менше ніж 10нМ до матричної металопротеїнази-13 (колагенази 3). Таблиця 1 показує деякі сполуки, що демонструють неочікувану селективність сполук винаходу

ТАБЛИЦЯ 1



Приклад	R ¹	R ²	R ³	R	MMP 1 IC ₅₀ (нМ)	MMP 13 IC ₅₀ (нМ)
1	циклопентил	-	етил	4-фторфенокси	100	0.9
1	циклопентил	-	етил	4-фторфенокси	100	0.9
2	циклопентил	-	водень	4-фторфенокси	360	1.2
2	циклопентил	-	водень	4-фторфенокси	200	0.8
3	метил	метил	етил	4-фторфенокси	1200	1.6
3	метил	метил	етил	4-фторфенокси	1800	2.3
4	метил	метил	водень	4-фторфенокси	3600	5.7
4	метил	метил	водень	4-фторфенокси	2000	2.3
4	метил	метил	водень	4-фторфенокси	4800	8
	циклопентил	-	водень	метокси	800	21
	циклопентил	-	водень	метокси	700	25
	метил	метил	водень	метокси	12000	580
	метил	метил	водень	метокси	12000	730
	циклопентил	водень	водень	метокси	18	4
	циклопентил	водень	водень	метокси	22	2

Для призначення людям для інгібвання матричної металопротеїнази або утворення фактору некрозу пухлини (TNF), можуть бути застосовані різні шляхи, включаючи пероральний, парентеральний та місцевий. Взагалі, активна сполука буде призначатися орально або парентерально в дозах, що лежать в інтервалі від приблизно 0,1 до 25мг/кг ваги тіла пацієнта на добу, переважно від приблизно від 0,3 до 5мг/кг. Однак, деякі варіації в дозуванні обов'язково мають місце в залежності від станів пацієнтів. Особа відповідальна за призначення, в будь-якому випадку, визначить індивідуальну прийнятну дозу для кожного пацієнта

Сполуки представленого винаходу можуть призначатися в широкій різноманітності дозованих форм, загалом терапевтично ефективні сполуки цього винаходу присутні в таких дозованих формах в концентрації, що лежить в межах від приблизно 5,0ваг % до приблизно 70ваг %

Для орального призначення таблетки містять різноманітні екіпієнти, такі як мікрокристалічна

целюлоза, цитрат натрію, карбонат кальцію, гідрофосфат кальцію та гліцин можуть бути використані разом з різноманітними дезінтегрантами, такими як крохмаль (переважно кукурудзяний, картопляний або тапковий крохмаль), алгінатова кислота та певні комплексні силікати, разом зі зв'язуючими гранулятом, такими як полівінілпіролідон, цукроза, желатин та акація. Додатково, змащуючі агенти, такі як стеарат магнію, лаурилсульфат натрію та тальк, є часто дуже корисними для цілей таблетування. Тверді композиції подібного типу можуть також бути застосовані як наповнювач в желатинових капсулах, переважні матеріали, у цьому зв'язку, також включають лактозу або молочний цукор, а також поліетиленгліколи з великою молекулярною вагою. Коли для орального призначення бажані водні суспензії і/або еліксири, активний інгредієнт може бути скомбінований з різноманітними підсолоджуючими або ароматизуючими агентами, забарвлюючими речовинами або барвниками і, якщо це бажано, емульсифікуючими і/або суспендуючими агентами, а також з такими розбавниками, як вода, етанол, пропіленгліколь, гліцерин та різні подібні їх комбінації.

Для парентерального призначення (внутрішньо м'язове, внутрішньочеревне, підшкірне та внутрішньовенне використання) зазвичай готують стерильний ін'єкційний розчин активного інгредієнту. Розчини терапевтичних сполук представленого винаходу можуть застосовуватися або в кунжутному або арахісовому маслі або в водному пропіленгліколі. Водні розчини повинні відповідно регулюватися та буферизуватися, переважно з рН більшим, ніж 8, якщо необхідно, рідкий розчинник спочатку роблять ізотонічним. Ці водні розчини, придатні для внутрішньовенних ін'єкцій. Масляні розчини придатні для внутрішньо ротового, внутрішньо м'язового та підшкірного ін'єкційного застосування. Приготування всіх цих розчинів в стерильних умовах легко виконується за стандартними фармацевтичними методами, відомими фахівцю в даній галузі.

Наступні Приклади ілюструють одержання сполук представленого винаходу. Температура плавлення не корегувалась. Дані ЯМР знімали в частинах на мільйон (δ) і відносно до локального сигналу дейтерію зразка розчинника (дейтерованій диметилсульфоксид за винятком інших видів). Комерційні реагенти використовували без очистки. ТГФ означає тетрагідрофуран. ДМФА означає N,N-диметилформамід. Термін - хроматографія, означає колонкову хроматографію в якій використовуються 32-63mM силікагель та виконується під тиском азоту (флеш хроматографія). Під кімнатною або температурою оточуючого середовища розуміють температуру від 20 до 25°C. Всі реакції, що проводили в неводному середовищі проводили в атмосфері азоту для покращання результатів та максимізації виходів. Концентрування проводили при пониженому тиску використовуючи роторний випаровувач.

Приклад 1
Етиловий естер 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-циклопентил)аміно]пропіонової кислоти

(А) До розчину солі п-толуолсульфонової кислоти бензилового естеру 1-аміноциклопентанкарбонової кислоти (200 грам, 0,51моль) і триетиламін (177мл, 1,27моль) у воді (1л) і 1,2-диметоксиетану (1л) додавали 4-(4-фторфенокси)-бензолсульфонілхлорид (161 грам, 0,56моль). Суміш перемішували при кімнатній температурі 16 годин і потім більшу частину розчинника видаляли випарюванням під вакуумом. Суміш розводили етилацетатом і промивали послідовно розведеним розчином хлорводневої кислоти, водою і насиченим водним розчином хлориду натрію. Розчин сушили над сульфатом магнію і концентрували до коричневої твердої речовини. Розтирали з діетиловим ефіром одержуючи бензиловий естер 1-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]аміно]циклопентанкарбонової кислоти у вигляді жовто-коричневої твердої речовини, 167 грам (70%).

(В) До розчину бензилового естеру 1-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]аміно]циклопентанкарбонової кислоти (199 грам, 0,42моль) в сухому N,N-диметилформаміді (2,5л) при кімнатній температурі додавали гексаметилсилазид калію (100 грам, 0,50моль) і, через 3 години, третбутил-(3-йодпропокси)диметилсилан (150 грам, 0,50моль). Одержану суміш перемішували при кімнатній температурі 16 годин і додавали додаткову порцію третбутил-(3-йодпропокси)диметилсилану (20 грам, 0,067моль). Перемішували при кімнатній температурі вміст колби ще 3,5 години. Суміш гасили, додаючи насичений розчин хлориду амонію N,N-диметилформамід видаляли випарюванням під вакуумом. Залишок переносили в діетиловий ефір і промивали водою і насиченим водним розчином хлориду натрію. Після висушування над сульфатом магнію, діетиловий ефір відганяли одержуючи неочищений бензиловий естер 1-[[3-(третбутилдиметилсиланпрокси)-пропіл]-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]аміно]циклопентанкарбонової кислоти у вигляді масла бурштинового кольору (279,6 грам).

(С) До розчину неочищеного бензилового естеру 1-[[3-(третбутилдиметилсиланпрокси)-пропіл]-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]аміно]циклопентанкарбонової кислоти (279 грам) в метиленхлориді (1л) при кімнатній температурі додавали ефірат трифтористого бору (103мл, 0,84моль). Через 1 годину, реакційну суміш гасили послідовним додаванням насиченого розчину хлориду амонію і водою. Органічну фазу відділяли, промивали водою і насиченим водним розчином хлориду натрію і сушили над сульфатом магнію. Розчинник відганяли під вакуумом одержуючи неочищений бензиловий естер 1-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(3-гідроксипропіл)аміно]циклопентанкарбонової кислоти у вигляді масла бурштинового кольору (235 грам).

(D) Розчин неочищеного бензилового естеру 1-[[4-(4-фторфенокси)-бензолсульфоніл]-(3-гідроксипропіл)аміно]циклопентанкарбонової кислоти (235 грам) в ацетоні (2л) охолоджували на

льодяній бані і обробляли реагентом Джонса (приблизно 200мл) до збереження оранжевого кольору. Суміш перемішували протягом 1 години при температурі від 0°C до кімнатної температури. Після гасіння надлишку окиснику ізопропанолом (10мл), суміш фільтрували і фільтрат концентрували під вакуумом. Залишок переносили в етилацетат, промивали водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили над сульфатом магнію і концентрували одержуючи тверду речовину, яку розтирали з сумішшю діетиловий ефір і гексан одержуючи бензиловий естер 1-((2-карбоксиетил)-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]аміно)циклопентанкарбонової кислоти у вигляді білої твердої речовини (147 грам).

(Е) До розчину бензилового естеру 1-((2-карбоксиетил)-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]аміно)циклопентанкарбонової кислоти (147 грам) в N,N-диметилформаміді (3 л) при кімнатній температурі додавали карбонат калію (150 грам, 1,08моль) і етилийодид (32,4мл, 0,405моль). Суміш перемішували 16 годин при кімнатній температурі. Після фільтрування більшу частину розчинника відганяли під вакуумом. Залишок переносили у воду і підкислювали використовуючи 6N водний розчин хлорводневої кислоти. Одержану суміш екстрагували діетиловим ефіром. Органічний екстракт промивали водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили над сульфатом натрію і концентрували одержуючи бензиловий естер 1-((2-етоксикарбонілетил)-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]аміно)циклопентанкарбонової кислоти у вигляді жовтої майже твердої речовини (149,1 грам, 96%).

(F) Розчин бензилового естеру 1-((2-етоксикарбонілетил)-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]аміно)циклопентанкарбонової кислоти (74,5 грам, 0,13моль) в етанолі (1,6л) обробляли 10% паладієм на активованому вугіллі (7,4 грам) і гдрували в шейкері Парра™ при тиску 3 атмосфери протягом 16 годин. Після фільтрування крізь нейлон (розмір пор 0,45мкм) для видалення каталізатору, розчинник відганяли одержуючи 1-((2-етоксикарбонілетил)-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]аміно)циклопентанкарбонову кислоту у вигляді білої піни. Реакцію повторювали декілька разів для одержання загалом 125,2 грам бажаного продукту.

(G) Діізопропілетиламін (50мл, 0,286моль) і гексафторфосфонат(бензтриазол-1-ілоксит)ріс(диметиламіно)фосфонію (126,5 грам, 0,286моль) послідовно додавали до розчину 1-((2-етоксикарбонілетил)-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]аміно)циклопентанкарбонової кислоти (125,2 грам, 0,28моль) в N,N-диметилформаміді (2л). Суміш перемішували 1 годину. Додавали діізопропілетиламін (91мл, 0,52моль) і гідрохлорид О-бензилгідроксиламіну (53,8 грам, 0,338моль), одержану суміш перемішували при 60°C протягом 96 годин. Після концентрування під вакуумом залишок переносили у воду і

підкислювали 1N водним розчином хлорводневої кислоти. Суміш екстрагували етилацетатом і екстракт послідовно промивали водою, насиченим водним розчином бікарбонату натрію і насиченим водним розчином хлориду натрію. Розчин сушили над сульфатом магнію і концентрували одержуючи неочищений етиловий естер 3-((1-бензилоксикарбамоілциклопентил)-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]аміно)пропіонової кислоти у вигляді жовтого масла (164 грам).

І) Розчин неочищеного етилового естеру 3-((1-бензилоксикарбамоілциклопентил)-[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]аміно)пропіонової кислоти (164 грам) в етанолі (2,4л) обробляли 5% паладієм на сульфаті барію (50 грам) і гдрували в шейкері Парра при тиску 3 атмосфери протягом 3 годин. Після фільтрування крізь нейлон (розмір пор 0,45мкм) для видалення каталізатору, розчинник відганяли одержуючи масло. Після додавання етилацетату і гексану, фільтруванням відокремлювали етиловий естер 3-[[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоілциклопентил)аміно]пропіонової кислоти, у вигляді білих кристалів (73,5 грам). Фільтрат концентрували і залишок хроматографували на силікагелі використовуючи в якості елюенту 40% етилацетат в гексані одержуючи додаткову кількість бажаного продукту (32,5 грам).

Тпл 79-83°C ¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 10,40 (шс, 1 H), 8,78 (шс, 1H), 7,80-7,77 (м, 2H), 7,31-7,03 (м, 6H), 4,02 (к, J=7,3Гц, 2H), 3,49-3,45 (м, 2H), 2,70-2,67 (м, 2H), 2,24-2,21 (м, 2 H), 1,86-1,83 (м, 2 H), 1,53-1,50 (м, 4 H), 1,16 (т, J=7,3Гц, 3H) MS 493 (M-1)

Елементний аналіз розраховано для C₂₃H₂₇FN₂O₇S*H₂O C, 53,90, H, 5,70, N, 5,47 Знайдено C, 54,52, H, 5,63, N, 5,27

Приклад 2

3-[[4-(4-Фторфенок-си)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоілциклопентил)аміно]-пропіонова кислота

Розчин етилового естеру 3-[[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-циклопентил)аміно]пропіонової кислоти (106 грам, 0,214моль) в етанолі (2,5л) обробляли водним 1N розчином гідроксиду натрію (856мл, 0,856моль) і перемішували при кімнатній температурі 2 години. Суміш концентрували видаляючи етанол, розводили водою, підкислювали 8N водним розчином хлорводневої кислоти і екстрагували етилацетатом. Після промивання водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, органічний екстракт сушили над сульфатом магнію і концентрували до піни. Кристалізували з 30% етилацетату в гексані одержуючи 3-[[4-(4-фторфенок-си)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-циклопентил)аміно]пропіонову кислоту у вигляді білих кристалів (81,5 грам, 81%).

Тпл 170-172°C ¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 12,25 (шс, 1H), 10,40 (шс, 1H), 8,74 (шс, 1H), 7,79-7,77 (м, 2H), 7,29-7,03 (м, 6H), 3,45-3,41 (м, 2H), 2,61-2,57 (м, 2H), 2,24-2,21 (м, 2H), 1,88-1,82 (м, 2H), 1,53-1,50 (м, 4H) MS 465 (M-1)

Елементний аналіз розраховано для C₂₁H₂₃FN₂O₇S C, 54,07, H, 4,97, N, 6,00 Знайдено C, 54,17, H, 5,02, N, 6,05

Приклад 3
Етиловий естер 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-1-метилетил)аміно]пропіонової кислоти

Вказану в заголовку сполуку одержували згідно до методики вказаної в Прикладі 1 виходячи з солі п-толуолсульфонової кислоти бензилового естеру 2-аміно-2-метилпропіонової кислоти

Тпл 124,6-125°C ^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 10,37 (с, 1H), 8,74 (с, 1H), 7,86 (д, 2H, J=8,9Гц), 7,16-7,30 (м, 4H), 7,04 (д, 2H, J=8,7Гц), 3,99 (к, 2H, J=7,1Гц), 3,33-3,37 (м, 2H), 2,62-2,66 (м, 2H), 1,40 (с, 6H), 1,13 (т, 3H, J=7,1Гц) МС 467 (M-1)

Елементний аналіз розраховано для $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{FN}_2\text{O}_7\text{S}$ С, 53,84, Н, 5,38, N, 5,98 Знайдено

С, 54,00, Н, 5,12, N, 5,87

Приклад 4
3-[[4-(4-Фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-1-метилетил)аміно]-пропіонова кислота

Вказану в заголовку сполуку одержували з етилового естеру 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфоніл]-(1-гідроксикарбамоіл-1-метилетил)аміно]пропіонової кислоти згідно до методики описаної в Прикладі 2

Тпл 162-162,5°C МС 439 (M-1) ^1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 12,26 (с, 1H) 10-10,38 (с, 1H), 8,75 (с, 1H), 7,86-7,88 (м, 2H), 7,16-7,7,30 (м, 4H), 7,03-7,06 (м, 2H), 3,29-3,35 (м, 2H), 2,47-2,59 (м, 2H), 1,40 (с, 6H)