



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(51) МПК
C07D 405/04 (2006.01)
A61K 31/4166 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007105822/04, 17.08.2005

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
17.08.2005(30) Конвенционный приоритет:
19.08.2004 US 60/602,736

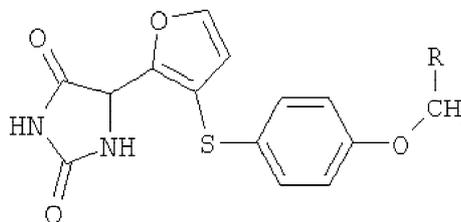
(43) Дата публикации заявки: 27.09.2008

(45) Опубликовано: 10.06.2010 Бюл. № 16

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: US 20040067996 A1, 08.08.2004. WO
2004108086 A2, 16.12.2004. RU 2150469 C1,
10.06.2000. SU 555636 A, 23.06.1983.(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную
фазу: 19.03.2007(86) Заявка РСТ:
US 2005/029259 (17.08.2005)(87) Публикация РСТ:
WO 2006/023562 (02.03.2006)Адрес для переписки:
191036, Санкт-Петербург, а/я 24,
"НЕВИНПАТ", пат.пов. А.В.Поликарпову(72) Автор(ы):
ЯНГ Фуде (US)(73) Патентообладатель(и):
Квест Фармасьютикал Сёвисес (КьюПиЭс)
(US)(54) 5-[3-(4-БЕНЗИЛОКСИФЕНИЛТИО)-ФУР-2-ИЛ]-ИМИДАЗОЛИДИН-2,4-ДИОН И
АНАЛОГИ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ ЭЛАСТАЗЫ МАКРОФАГОВ

(57) Реферат:

Изобретение относится к новым соединениям- 5-[3-(4-бензилоксифенилтио)-фур-2-ил]-имидазолидин-2,4-дионам и их формулы (IV) или его фармацевтически приемлемым солям



(IV)

где R выбран из группы, состоящей из фенила, 4-бензилоксифенила, 4-дифенила, 4-метоксифенила, 3-метоксифенила, 2-метоксифенила, 3,5-диметоксифенила, 4-хлорфенила, 3-хлорфенила, 2-хлорфенила, 4-

метилфенила, 3-метилфенила, 2-метилфенила и 3-трифторметилфенила, полезным в качестве ингибиторов эластазы макрофагов человека

(ММР-12), а также фармацевтическим композициям на их основе и способу ингибирования. 3 н. и 3 з.п. ф-лы, 1 ил., 1 табл.

R U 2 3 9 1 3 3 9 C 2

R U 2 3 9 1 3 3 9 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
C07D 405/04 (2006.01)
A61K 31/4166 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: **2007105822/04, 17.08.2005**

(24) Effective date for property rights:
17.08.2005

(30) Priority:
19.08.2004 US 60/602,736

(43) Application published: **27.09.2008**

(45) Date of publication: **10.06.2010 Bull. 16**

(85) Commencement of national phase: **19.03.2007**

(86) PCT application:
US 2005/029259 (17.08.2005)

(87) PCT publication:
WO 2006/023562 (02.03.2006)

Mail address:
**191036, Sankt-Peterburg, a/ja 24, "NEVINPAT",
pat.pov. A.V.Polikarpovu**

(72) Inventor(s):
JaNG Fude (US)

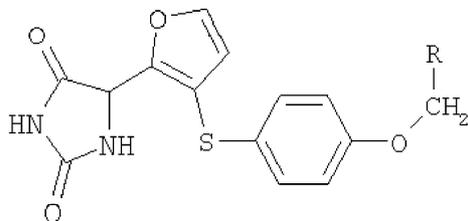
(73) Proprietor(s):
Kvest Farmas'jutikal Sevises (K'juPiEhs) (US)

(54) 5-[3-(4-BENZYLOXYPHENYLTHIO)-FUR-2-YL]-IMIDAZOLIDINE-2,4-DIONE AND ANALOGUES AS MICROPHAGE ELASTASE INHIBITORS

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to novel compounds - 5-[3-(4-benzyloxyphenylthio)-fur-2-yl]-imidazolidine-2,4-diones and their formula (IV) or pharmaceutically acceptable salts thereof



(IV)

where R is selected from a group consisting of phenyl, 4-benzyloxyphenyl, 4-diphenyl, 4-methoxyphenyl, 3-methoxyphenyl, 2-methoxyphenyl, 3,5-dimethoxyphenyl, 4-chlorophenyl, 3-chlorophenyl, 2-chlorophenyl, 4-methylphenyl, 3-methylphenyl, 2-methylphenyl and 3-trifluoromethylphenyl, useful as human microphage elastase (MMP-12) inhibitors, as well as pharmaceutical compositions based on the said compounds and inhibition method.

EFFECT: obtaining compounds useful as human microphage elastase (MMP-12) inhibitors, as well as design of pharmaceutical compositions based on the said compounds and inhibition method.

6 cl, 1 dwg, 1 tbl, 1 ex

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

В данной заявке испрашивается приоритет предварительной заявки на патент США номер 60/602736, поданной 19 августа 2004, полное содержание которой включено в данное описание путем ссылки в полном объеме.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

1. Область изобретения

Данное изобретение относится к новым соединениям, которые являются полезными в качестве ингибиторов матриксных металлопротеиназ при лечении заболеваний, ассоциированных с этими ферментами.

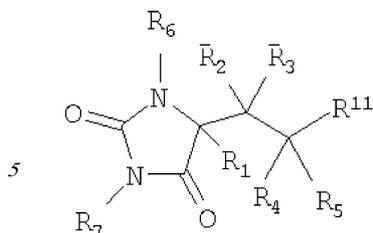
2. Описание уровня техники

Матриксные металлопротеиназы (ММП) представляют собой суперсемейство протеиназ, число которых за последние годы резко возросло. Считают, что они важны при неконтролируемом распаде соединительной ткани, который связан с некоторыми болезненными процессами, такими как ревматоидный артрит, остеоартрит, язвенная болезнь желудка, астма, эмфизема и опухолевые метастазы. Следовательно, ингибирование одной или более чем одной ММП может оказывать полезное действие при этих заболеваниях.

Эластаза макрофагов человека (ММП-12) проявляет все свойства других ММП, но преимущественно продуцируется из макрофагов, инфильтрирующих в ткани, где происходит повреждение или ремоделирование, и разрушает внеклеточный матрикс. Обнаружение повышения уровня ММП-12 в процессе проявления эмфиземы позволяет выдвинуть предположение о решающей роли этого фермента. Подобным образом в модели нокаут-мышей ММП-12 также продемонстрировано отсутствие развития эмфиземы в результате длительного периода воздействия сигаретного дыма (Science, 1997, 277: 2002-2004). Недавно, используя модель астмы с дефицитом по ММП-12, автор изобретения выдвинул предположение о вовлечении ММП-12 в развитие хронической астмы (FASEB, 2002, 16: A 590). Эти результаты подразумевают, что ингибиторы ММП-12 могут быть очень полезны в лечении легочных заболеваний, таких как хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), эмфизема и астма.

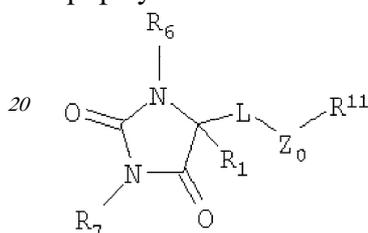
Показано, что ММП-12 секретируется из альвеолярных макрофагов курильщиков (Shapiro et al., 1993, Journal of Biological Chemistry, 268: 23824), в ксантомных клетках в атеросклеротических повреждениях (Matsumoto et al., 1998, Am J Pathol 153: 109) и в модели нефрита крыс (Yoshikatsu Kaneko et al., 2003, J Immunol 170: 3377). Также было показано, что ММП-12 играет роль в болезни коронарных артерий (Sofia Jormsjo et al., 2000, Circulation Research, 86: 998). Эти наблюдения позволили предположить, что ММП-12 могут представлять собой мишени терапий этих заболеваний.

Учитывая вовлечение ММП-12 в ряд заболеваний, произведены попытки получить ее ингибиторы. Ряд ингибиторов ММП-12 известен (см., например, опубликованную патентную заявку РСТ № WO 00/40577; EP 1288199 A1, 2001, Shionogi & Co. ММП-12 Inhibitor; патент США №63529761 и публикацию патентной заявки США №2004/0072871; опубликованную Европейскую патентную заявку EP 1394159). Недавно в данной области техники раскрыт новый класс ингибиторов ММП. В опубликованной патентной заявке № WO 02/096426 описаны производные гидантоина формулы



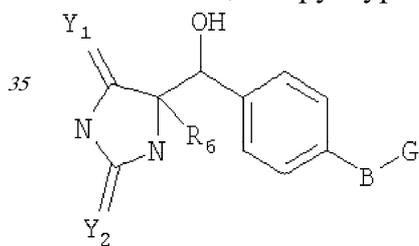
10 где заместители R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 и R_{11} определены широко. Эти производные активны в качестве ингибиторов ММР, в частности для фермента, превращающего фактор некроза опухоли α (ТАСЕ), и аггриканызы, хотя никаких биологических данных продемонстрировано не было. Признаком структур этих производных является спиро-связь между гидантоиновым кольцом и его боковой цепью.

15 В публикации патентной заявки США №2004/0067996 и в опубликованной патентной заявке РСТ № WO 2004/108086 описаны подобные производные гидантоина формулы



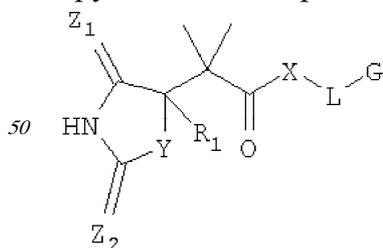
25 где R_1 , R_4 , R_5 и R_{11} также были определены широко. В этих двух патентах также указано, что эти производные в целом являются ингибиторами металлопротеиназы и, в частности, для ТАСЕ и аггреканызы. Также никаких биологических данных продемонстрировано не было.

30 В опубликованной патентной заявке РСТ № WO 02/074752 описан синтез производных гидантоина в качестве ингибиторов матричных металлопротеиназ. Они представляют собой первый ряд производных гидантоина в качестве ингибиторов ММР с общей структурой



40 где Y_1 , Y_2 , R_6 , B и G хорошо определены. В целом указано, что эти соединения проявили ингибиторные активности в отношении ММР, и обнаружено, что некоторые из них являются эффективными ингибиторами ММР-12, но конкретные биологические данные отсутствуют.

45 В другой опубликованной патентной заявке РСТ № WO 2004/020415 раскрыта группа ингибиторов ММР-12 формулы

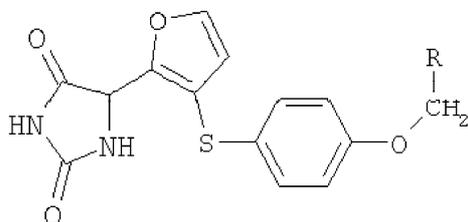


где R_1 , R_2 , R_3 , X , Y , Z_1 , Z_2 , L и G хорошо определены. Приведены значения IC_{50} некоторых соединений, но отсутствуют конкретные данные по избирательности.

Производные гидантоина представляют собой новый класс ингибиторов ММР. Желательно обнаружить еще новые соединения из этого класса с улучшенными специфичностью, эффективностью и фармакологическими характеристиками.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем изобретении авторами предложена новая группа производных гидантоина формулы (IV)



(IV)

где R представляет собой фенил-(IVa),

4-бензилоксифенил-(IVb),

4-дифенил-(IVc),

4-метоксифенил-(IVd),

3-метоксифенил-(IVe),

2-метоксифенил-(IVf),

3,5-диметоксифенил-(IVg),

4-хлорфенил-(IVh),

3-хлорфенил-(IVi),

2-хлорфенил-(IVj),

4-метилфенил-(IVk),

3-метилфенил-(IVo),

2-метилфенил-(IVp) или

3-трифторметилфенил-(IVq).

Соединения формулы (IV) являются ингибиторами ММР-12 и могут быть использованы в лечении заболеваний или состояний, опосредованных ММР-12, таких как астма, хронические обструктивные заболевания легких (ХОЗЛ), артрит, рак, заболевание сердца и нефрит.

Различные признаки новизны, которые характеризуют данное изобретение, конкретно указаны в прилагаемой формуле изобретения и составляют часть описания. Для лучшего понимания изобретения, его действительных преимуществ и конкретных задач, решаемых его применением, следует сделать ссылку на графические материалы и содержание описания, в котором проиллюстрированы и описаны предпочтительные воплощения изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На чертеже проиллюстрирована реакционная схема синтеза соединений по настоящему изобретению.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВОПЛОЩЕНИЙ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Получение соединений по изобретению

Исходя из доступности химических реагентов и простоты условий реакций соединения по настоящему изобретению были синтезированы с использованием

способов, описанных ниже, и общая схема синтеза показана на чертеже. Эти способы представлены здесь только для примера, но не для ограничения настоящего изобретения.

Общие методики

⁵ ¹H ЯМР записывали на приборе Bruker AC300. Пики хлороформа-d (7,27 млн⁻¹) и диметилсульфоксида-d₆ (2,50 млн⁻¹) использовали в качестве внутреннего стандарта. Масс-спектры получали посредством масс-спектрометрии Turbo Ion Spray (Sciex API 4000). Колоночную хроматографию проводили, используя EMD силикагель 60.
¹⁰ Тонкослойную хроматографию проводили, используя силикагель 60 F254s (500 мкм для препаративной хроматографии) и J.T.Baker's Baker-flex силикагель IB2-F (аналитический). Чистоту соединений анализировали на системе для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) Shimadzu. Все реагенты и
¹⁵ растворители имели лабораторную степень чистоты и использовались непосредственно.

Пример 1 Получение 3-бромфуран-2-карбоксальдегида (I):

К раствору свежеприготовленного LDA (6,80 ммоль) в ТГФ (4 мл) при -78°C медленно добавляли 3-бромфуран (1,00 г, 6,80 ммоль) в ТГФ (5 мл). После
²⁰ перемешивания в течение 15 мин добавляли по каплям ДМФ (0,56 мл, 7,20 ммоль) в ТГФ (2 мл). Полученную в результате смесь перемешивали в течение 1 часа при -78°C и затем оставляли нагреваться до комнатной температуры. Реакционную смесь гасили водой и экстрагировали EtOAc (2×50 мл). Объединенные органические экстракты
²⁵ промывали H₂O, рассолом и сушили (MgSO₄). После удаления растворителя при пониженном давлении, в результате колоночной хроматографии остатка (силикагель, EtOAc/гексан, 20:80) получили соединение, указанное в заголовке, в виде масла (0,49 г, 41%), которое отвердевало после охлаждения.

MS: (M+H)⁺=175,177.

³⁰ ¹H ЯМР: 9.74-9.72 (1H, d), 7.64-7.63 (1H, m), 6.675-6.66 (1H, d).

Получение 3-(4-гидроксифенил)-тиофуран-2-карбоксальдегида (II):

К раствору 4-меркаптофенола (5 г, 40 ммоль) в 100 мл ТГФ медленно добавляли гидрид натрия (2,5 г, 104 ммоль). Эту смесь перемешивали в течение 10 мин и медленно
³⁵ добавляли 4,4 г (25 ммоль) 3-бромфуран-2-карбоксальдегида. Реакционную смесь перемешивали в течение 5 часов и продукт экстрагировали EtOAc. Экстракт сушили над MgSO₄. EtOAc удаляли на роторном испарителе. Остаток очищали путем колоночной хроматографии на силикагеле с последующей кристаллизацией, в
⁴⁰ результате которой получили 4,2 г соединения, указанного в заголовке.

MS:(M+H)⁺=221.

¹H ЯМР: 9.77-9.757 (1H, s), 7.495-7.485 (1H, d), 7.47-7.417 (2H, m), 6.925-6.822 (2H, m), 6.082-6.067 (1H, d), 5.6-5.5 (1H, s).

⁴⁵ Получение R-CH₂-замещенного 3-(4-гидроксифенил)-тиофуран-2-карбоксальдегида (III):

Смесь RCH₂X (5,1 ммоль), 3-(4-гидроксифенил)-тиофуран-2-карбоксальдегида (600 мг, 2,7 ммоль) и карбоната калия (1,5 г, 10,9 ммоль) в 40 мл ацетонитрила кипятили с обратным холодильником в течение 3-7 часов и продукт экстрагировали EtOAc. После
⁵⁰ удаления EtOAc остаток очищали путем перекристаллизации или хроматографии на силикагеле, в результате чего получили соединение III, указанное в заголовке.

Получение соединения IV:

Смесь III (0,3 ммоль), 260 мг (NH₄)₂CO₃, 33 мг KCN, 2 мл EtOH и 1 мл H₂O в

герметично закрытой пробирке нагревали при 60-70°C в течение 20 часов. Затем реакционную смесь экстрагировали EtOAc. После удаления EtOAc остаток очищали путем тонкослойной хроматографии, а затем перекристаллизовывали. Все конечные продукты показали правильную молекулярную массу и спектры ЯМР.

- 5 IVa, 5-[3-(4-Бензилоксифенилтио)фур-2-ил]имидазолин-2,4-дион
MS: (M+H)⁺=381,5
Н ЯМР: 11.06-10.95 (1H, s), 8.44-8.32 (1H, s), 7.83-7.75 (1H,d), 7.51-7.30 (5H, m), 7.30-7.20 (2H, m), 7.05-6.92 (2H, m), 6.55-6.45 (1H, d), 5.52-5.42 (1H, d), 5.16-5.01 (2H, s).
- 10 IVb, 5-{3-[4-(4-Бензилоксибензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион
MS: (M-H)⁻=485,8
Н ЯМР: 11.02-11.00 (1H, s), 8.39-8.365 (1H, d), 7.79-7.775 (1H, d), 7.47-7.24 (8H, m), 7.04-6.94 (4H, m), 6.495-6.48 (1H, d), 5.475-5.462 (1H, d), 5.12-5.09 (2H, s) и 5.000-4.975 (2H, s).
- 15 IVc, 5-{3-[4-(4-Дифенилметокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион
MS: (M-H)⁻=455,0
Н ЯМР: 5-{3-[4-(4-Дифенилметокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион (QPS021),
20 11.07-10.98 (1H, s), 8.40-8.36 (1H, s), 7.81-7.77 (1H, d), 7.74-7.62 (4H, m), 7.58-7.32 (5H, m), 7.32-7.25 (2H, m), 7.05-6.95 (2H, m), 6.53-6.48 (1H, d), 5.50-5.45 (1H,d), 5.17-5.13 (2H, s).
- IVd, 5-{3-[4-(4-Метоксибензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион
MS: (M-H)⁻=409,0
25 Н ЯМР: 11.09-10.91 (1H, s), 8.40-8.36 (1H, s), 7.79-7.75 (1H, d), 7.42-7.23 (4H, m), 7.00-6.90 (4H, m), 6.53-6.48 (1H, d), 5.56-5.41 (1H, d) 5.08-4.88 (2H, s), 3.84-3.62 (3H, s).
- IVe, 5-{3-[4-(3-Метоксибензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион
MS: (M-H)⁻=409,0
30 Н ЯМР: 11.03-10.98 (1H, s), 8.44-8.31 (1H, s), 7.84-7.74 (1H, d), 7.36-7.21 (3H, m), 7.06-6.93 (4H, m), 6.92-6.85 (1H, m), 6.54-6.46 (1H, d), 5.52-5.43 (1H, d), 5.11-5.00 (2H, s), 3.81-3.69 (3H, s).
- IVf, 5-{3-[4-(2-Метоксибензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион
MS: (M-H)⁻=409,0
35 Н ЯМР: 11.04-10.97 (1H, s), 8.40-8.36 (1H, s), 7.81-7.77 (1H, d), 7.40-7.24 (4H, m), 7.08-6.92 (4H, m), 6.52-6.48 (1H, d), 5.50-5.46 (1H, d), 5.05-5.02.
- IVg, 5-{3-[4-(3,5-Диметоксибензокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолин-2,4-дион
MS: (M-H)⁻=439,0
40 Н ЯМР: 11.04-10.96 (1H, s), 8.41-8.34 (1H, s), 7.82-7.75 (1H, d), 7.31-7.22 (2H, d), 7.02-6.92 (2H, d), 6.62-6.54 (2H, d), 6.53-6.46 (1H, d), 6.46-6.39 (1H, t), 5.50-5.44 (1H, d), 5.06-4.97 (2H, s), 3.80-3.66 (6H, s).
- IVh, 5-{3-[4-(4-Хлорбензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион
MS:(M-H)⁻=413,0, 415,0
45 Н ЯМР: 11.09-10.95 (1H, s), 8.49-8.27 (1H, s), 7.80-7.78 (1H, d), 7.47-7.42 (4H, s), 7.33-7.23 (2H, d), 7.00-6.95 (2H, d), 6.53-6.48 (1H, d), 5.50-5.45 (1H, d), 5.13-5.08 (2H, s).
- IVi, 5-{3-[4-(3-Хлорбензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион
MS: (M-H)⁻=413,0, 415,0
50 Н ЯМР: 11.05-10.94 (1H, s), 8.45-8.31 (1H, s), 7.82-7.75 (1H, d), 7.53-7.35 (4H, m), 7.32-7.22 (2H, m), 7.05-6.93 (2H, m), 6.54-6.44 (1H, d), 5.52-5.42 (1H, d), 5.18-5.03 (2H, s).
- IVj, 5-{3-[4-(2-Хлорбензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион
MS: (M-H)⁻=413,0, 415,0

Н ЯМР: 11.05-10.96 (1H, s), 8.42-8.33 (1H, s), 7.84-7.74 (1H, d), 7.63-7.35 (4H, m), 7.33-7.24 (2H, m), 7.06-6.95 (2H, m), 6.54-6.48 (1H, d), 5.51-5.45 (1H, d), 5.18-5.08 (2H, s).

IVk, 5-{3-[4-(4-Метилбензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион

MS: (M-H)⁻=393,0

Н ЯМР: 11.04-10.96 (1H, s), 8.84-8.34 (1H, s), 7.82-7.76 (1H, d), 7.36-7.14 (6H, m), 7.02-6.92 (2H, m), 6.51-6.46 (1H, d), 5.50-5.43 (1H, d), 5.06-4.99 (2H, s), 2.34-2.24 (3H, s).

IVo, 5-{3-[4-(3-Метил-бензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион

MS: (M-H)⁻=393,0

Н ЯМР: 11.04-10.97 (1H, s), 8.41-8.34 (1H, s), 7.82-7.76 (1H, d), 7.35-7.10 (6H, m), 7.02-6.93 (2H, m), 6.52-6.46 (1H, d), 5.50-5.44 (1H, s), 5.08-5.00 (2H, s), 2.34-2.28 (3H, s).

IVp, 5-{3-[4-(2-Метил-бензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион

MS: (M-H)⁻=393,0

Н ЯМР: 11.04-10.97 (1H, s), 8.43-8.34 (1H, s), 7.82-7.76 (1H, d), 7.42-7.34 (1H, d), 7.33-7.15 (5H, m), 7.06-6.97 (2H, m), 6.54-6.48 (1H, d), 5.51-5.44 (1H, d), 5.11-5.02 (2H, s), 2.35-2.27 (3H, s).

IVq, 5-{3-[4-(3-Трифторметил-бензилокси)фенилтио]фур-2-ил}имидазолидин-2,4-дион

MS: (M-H)⁻=447,0

Н ЯМР: 11.03-10.97 (1H, s), 8.40-8.33 (1H, t), 7.85-7.59 (6H, m), 7.34-7.21 (2H, m), 7.05-6.97 (2H, m), 6.51-6.48 (1H, d), 5.48-5.46 (1H, d), 5.30-5.24 (1H, d), 5.22-5.16 (2H, s).

Все соединения, перечисленные выше, показали ингибиторную активность в отношении MMP-12 с различной эффективностью (все IC₅₀ ниже чем 0,3 мкМ) и избирательностью по сравнению с другими MMP, определенной путем анализов MMP, как описано ниже.

Анализы ингибирования MMP

Ферментативные активности MMP анализировали согласно протоколам изготовителя (Biomol Research Laboratory, Inc. E-mail: info@biomol.com). Все ферменты представляют собой рекомбинантные человеческие активные домены из E. coli (Biomol). Флуоресцентный субстрат имеет последовательность (7-метоксикумарин-4-ил)ацетил-Pro-Leu-Gly-Leu-N-3-(2,4-динитрофенил)-L-α,β-диаминопропионил-Ala-Arg-NH₂.AcOH. Все анализы проводили при комнатной температуре с использованием 96-луночного планшета с черным плоским дном (Nalge Nunc International, номер по каталогу 465200). Кратко, определенное количество фермента в 89 мкл аналитического буфера (50 mM Hepes, 10 mM CaCl₂, 0,05% Brij 35, pH 7,5) инкубировали с ингибитором (7 концентраций на опыт) или без ингибитора (в 1 мкл ДМСО или только 1 мкл ДМСО) в течение 20 мин. Затем ферментативную реакцию инициировали добавлением субстрата (40 мкМ в 10 мкл аналитического буфера, и конечная концентрация субстрата составляла 4 мкМ). Активность определяли путем измерения флуоресценции при Ex/Em=328 нм/393 нм, и она была линейной в пределах 2 часов. Флуоресценцию считывали при 0 и 20 или 40 мин. Считывание в момент времени 0 следует рассматривать в качестве фона и вычитать из конечного считывания. Значения IC₅₀ получали путем нанесения на график флуоресценции против концентраций ингибиторов каждого анализа с использованием программного обеспечения Prism. Полученные значения IC₅₀ находились в интервале от 0,007 мкМ до 0,26 мкМ. Исследования механизма позволили выявить, что ингибиторы являются конкурентными. Для конкурентного ингибитора:

$$K_i = IC_{50} / (1 + [S] / K_m)$$

В условиях анализа [S](4 мкМ) меньше, чем Km (20 мкМ для MMP-12). Таким образом, Ki равна IC₅₀/1,2, что немного меньше, чем IC₅₀, или приблизительно равно IC₅₀.

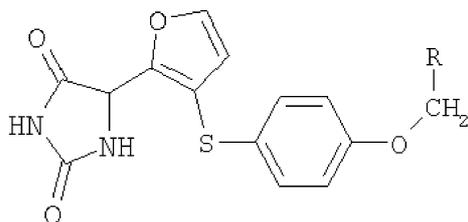
Как показано с помощью приведенной ниже таблицы, все соединения, протестированные в вышеописанных анализах, проявляют желаемую активность и благоприятный профиль избирательности. Значения IC₅₀ в отношении MMP-12 попадают в интервал 1-300 нМ, поэтому все они считаются активными. Большинство из приведенных выше соединений не проявляют ингибирования в отношении MMP-1 и MMP-7 при 10 мкМ. Их избирательность в отношении MMP-12 по сравнению с MMP-2, MMP-3, MMP-9 и MMP-13 находится в интервале значений от 50- до 1000-кратных.

Соединение	IC ₅₀ (мкМ)						
	MMP-12	MMP-1	MMP-2	MMP-3	MMP-7	MMP-9	MMP-13
IVa	0,013	>40	0,447	2,099	63,67	0,7266	1,072
IVb	0,084	>40	1,18	0,3829	1,882	4,468	0,3353
IVc	0,131	>40	1,735	35,91	1,039	3220	0,7065
IVd	0,01	>40	0,422	0,3176	7,6	0,74	0,26
IVe	0,019	>40	2,009	3,624	27,43	3,755	2,438
IVf	0,202	>40	232,832	603601	315599	30,38	11,63
IVg	0,264	>40	ND	7,947	309192	35,77	16,82
IVh	0,007	>40	0,235	0,1569	7,451	0,2551	0,3291
IVi	0,022	>40	1,022	0,2975	675,9	1,441	0,7728
IVj	0,057	>40	1,845	1,093	64248	1,131	2,415
IVk	0,015	>40	0,612	0,5863	30,88	0,4724	0,6435
IVo	0,011	>40	1,115	1,35	46,73	2,954	1,953
IVp	0,042	>40	7,032	4,044	539384	2,075	4,261
IVq	0,034	>40	2,13	3,312	5095	2,884	2,062

Данное изобретение не ограничено воплощениями, описанными выше, которые представлены только в качестве примеров, но могут быть модифицированы различными путями в пределах объема защиты, определенного прилагаемой патентной формулой изобретения.

Формула изобретения

1. Соединение формулы (IV) или его фармацевтически приемлемая соль

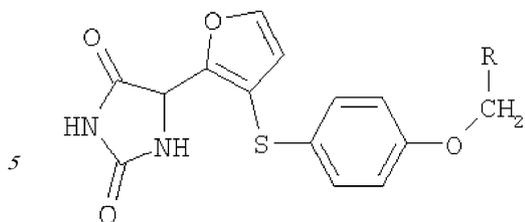


(IV)

где R выбран из группы, состоящей из фенила, 4-бензилоксифенила, 4-дифенила, 4-метоксифенила, 3-метоксифенила, 2-метоксифенила, 3,5-диметоксифенила, 4-хлорфенила, 3-хлорфенила, 2-хлорфенила, 4-метилфенила, 3-метилфенила, 2-метилфенила и 3-трифторметилфенила.

2. Соединение по п.1, где R представляет собой 4-метоксифенил.

3. Фармацевтическая композиция, обладающая ингибирующим действием в отношении эластазы макрофагов человека (MMP-12), содержащая соединение формулы (IV) или его фармацевтически приемлемую соль

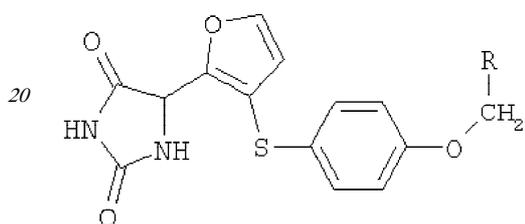


(IV)

10 где R представляет собой замещенную группу, выбранную из группы, состоящей из фенила, 4-бензилоксифенила, 4-дифенила, 4-метоксифенила, 3-метоксифенила, 2-метоксифенила, 3,5-диметоксифенила, 4-хлорфенила, 3-хлорфенила, 2-хлорфенила, 4-метилфенила, 3-метилфенила, 2-метилфенила и 3-трифторметилфенила.

4. Композиция по п.3, где R представляет собой 4-метоксифенил.

15 5. Способ ингибирования эластазы макрофагов человека (ММР-12), включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения формулы (IV) или его фармацевтически приемлемой соли



(IV)

25 где R представляет собой замещенную группу, выбранную из группы, состоящей из фенила, 4-бензилоксифенила, 4-дифенила, 4-метоксифенила, 3-метоксифенила, 2-метоксифенила, 3,5-диметоксифенила, 4-хлорфенила, 3-хлорфенила, 2-хлорфенила, 4-метилфенила, 3-метилфенила, 2-метилфенила и 3-трифторметилфенила.

30 6. Способ по п.5, где R представляет собой 4-метоксифенил.

35

40

45

50

