

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

2

Folio 240

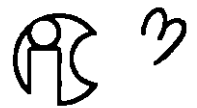
ANEXOS DE LA SOLICITUD

- Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica ☒
- Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la SIC *Adjunto* ☒
- Recibo de la tasa respectiva ☒
- Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras de la publicación ☐
- Si se reivindica prioridad Andina: ☐
- Copia de la primera solicitud ☐
- Traducción oficial ☐
- Si se reivindica prioridad Unionista: ☐
- Copia certificada de la primera solicitud ☒
- Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior ☐
- Traducción simple ☒
- Capítulo descriptivo ☒
- Dibujos, planos necesarios ☐
- Capítulo reivindicatorio ☒
- Tarjeta archivo propietarios según formato ☒
- Tarjeta archivo temático según formato ☒
- Extracto para publicación según formato ☒
- Arte final 12 x 12 y 6 x 6 cms ☐
- Otros Documentos ☐

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO
QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA 

NOMBRE CARLOS R. OLARTE CC. 79.782.747 de Bogotá T.P.No. 74.295



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA Y DEPARTAMENTO
Radiografía : 20350046 00000000 Folio: 2-7
NIT : Fecha (NT): 2703-01 24 17:00:27
Trámite : 000 PATENTES D : REGISTRO/ 411 PRESENTA
Dependencia: 2723 ACTIVIDAD DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 35,489
FECHA : JUNIO 7 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Vr. PAGO
ALVARO CORREA ORDONEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00110-6	2852510	23,935,000.00

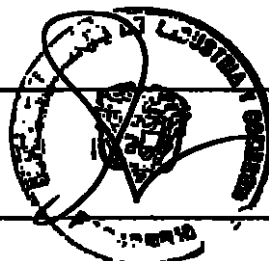
***** CONCEPTO *****

CANT. HISTORICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608,000.00
	TOTAL :	\$ 608,000.00

CON: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

100 101 102

A M

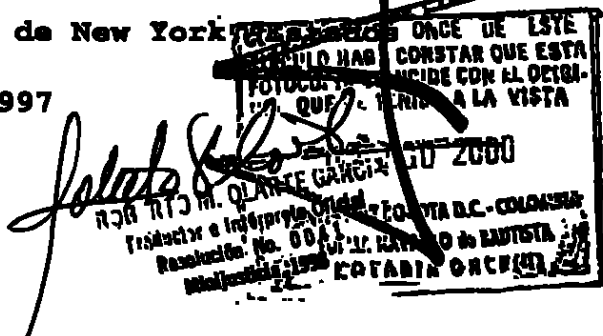
Raisbeck, Lara, Rodríguez
Miembros de la Firma
BAKER & MCKENZIE
Abogados
Apartado Aéreo 3746
Teléfono : 285-1400
Santa fe de Bogotá, D.C.
Colombia

PODER

La abajo firmante **PFIZER PRODUCTS INC.**, una sociedad constituida bajo las leyes del Estado de Connecticut, Estados Unidos de América, domiciliada en **Eastern Point Road, Groton Connecticut 06340, Estados Unidos de América**, declara por el presente otorgar a **ALVARO CORREA ORDÓÑEZ y/o JAMES W.F. RAISBECK y/o LUZ HELENA VILLAMIL y/o CARLOS R. OLARTE** poder especial amplio y bastante para recabar de las oficinas y autoridades nacionales que correspondan, la obtención de: **Registro de marcas, renovaciones, fusiones, cambios de nombre, traspasos, presentación y tramitación de oposiciones, depósitos de nombres comerciales, cambios de dirección registro de patentes de invención, fusiones, cambios de nombre, traspasos, presentación y tramitación de oposiciones, cambios de dirección**, a cuyo efecto los faculta para dar ante dichas autoridades, todos los pasos necesarios al objeto indicado, elevar solicitudes, formular descripciones, protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos, oblar impuestos, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede a los expresados mandatarios poder bastante par recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quien vayan a representar a la compañía judicial y estrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de las marcas se presentaren y hacer cuanto fuere necesario, ante las autoridades administrativas o judiciales de cualquier orden, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y en caso necesario revocar dichas sustituciones.

Dado y firmado en Nueva York, Estado de New York, Estados Unidos de América.

A los 8 días del mes de Octubre de 1997



54

Comisión expira el 19 de mayo de 1998

[illegible]

6 ~~h~~

CERTIFICADO NOTARIAL

A los 8 días del mes de Octubre de 1997, el suscrito Notario

DA FE

1. Que **ALLEN J. SPIEGEL**, mayor y domiciliado en Nueva York, Estado de New York, Estados Unidos de América, suscribió de su puño y letra el siguiente documento que antecede
2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.
3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de **Vicepresidente** de la persona jurídica **PFIZER PRODUCTS INC.**
4. Que la persona jurídica **PFIZER PRODUCTS INC.** con sede en **Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340, Estados Unidos de América** está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se ha otorgado el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.
5. Que el otorgante efectivamente tiene la representación que ostenta y que está es legítima.
6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto exhibieron y que menciono específicamente con sus fechas y de su origen o procedencia

Resolución de Pfizer Products Inc. de fecha 24 de febrero de 1997.

anterior

7 0

Firmado John (ilegible)

JOHN ALPHONSO

El Notario Público

Notario Público, Estado de Nueva York

No. 30-4859888

Calificado en el Condado de Nassau

Certificado Registrado en el Condado de Nueva York

Comisión expira el 19 de mayo de 1998-08-13

Estado de Nueva York)

)b.j.

Condado de Nueva York)

No.21320

Yo, **NORMAN GOODMAN**, Funcionario del Condado y Funcionario de la Corte Suprema del Estado de Nueva York, en y para el Condado de Nueva York, una Corte de Registro, poseedor, por ley, un sello, CERTIFICO POR EL PRESENTE que

JOHN ALPHONSO

A través de quién se ejecutó el anterior reconocimiento de prueba, y cuyo nombre está suscrito en el mismo, era en el momento de ejecutar dicha prueba, un NOTARIO PUBLICO residente en el Estado de Nueva York, debidamente comisionada juramentada y autorizada por las leyes de dicho Estado, para tomar tales reconocimiento de prueba de escrituras y de otros instrumentos por escrito para ser registrados en dicho estado, y para tomar juramentos o afirmaciones en dicho Condado; que he comparado la firma de dicho NOTARIO PUBLICO con el ejemplar de su firma del archivo de mi oficina y creo firmemente que la firma del anterior certificado original es genuina.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, fijo mi firma y sello este 14 de octubre de 1997.

Firma ilegible

Funcionario del Condado

Funcionario de la Corte Suprema

Condado de Nueva York

Notario Público
Resolución No. 0041
Ministerio de Justicia 1996

A
8

Legalización No. 148381 del Consulado de Colombia en Nueva York de la firma de Norman Goodman como Funcionario del Condado de Nueva York. Julio 31 de 1997.

Firma ilegible

Federico Mejía Mejía

Cónsul de Colombia

Legalización No. 065918 del Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia de la firma de Federico Mejía como Cónsul de Colombia en Nueva York, Estados Unidos de América. Santa fe de Bogotá, agosto 13 de 1998.

Firma ilegible

Jefe de Legalizaciones

Traducción Oficial, de un texto del idioma inglés.

Traducción Oficial realizada por **ROBERTO M. OLARTE GARCIA**, Traductor e intérprete oficial juramentado según Resolución 0041 del Ministerio de Justicia 1996. Santa fe de Bogotá, agosto 13, 1998.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

98 AUG 18 AM 9: 53

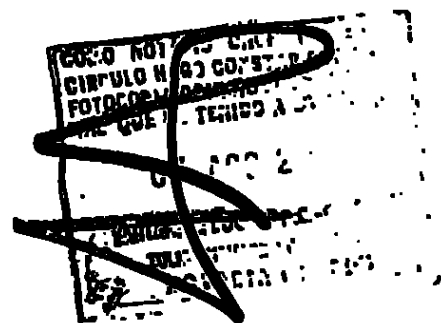
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTA FE DE BOGOTA D.C.

Roberto M. Olarte Garcia
ROBERTO M. OLARTE GARCIA
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0041
Ministerio de Justicia 1996

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

1738182

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS





CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

10 EAST 46TH STREET, NUEVA YORK, NY 10017

TEL. (212) 370-0004 FAX (212) 972-1725

2
9

EL SUSCRITO CONSUL DE COLOMBIA

VISTOS LOS DOCUMENTOS PRESENTADOS POR LOS INTERESADOS

CERTIFICA:

Que el (la) Sr.(a) **NORMAN GOODMAN**, Clerk del Condado de New York Estados Unidos de América, certifica que **JOHN ALPHONSO** es Notario Público del Estado de New York y que ejercía en la fecha las funciones allí expresadas y que la firma y sellos que en el documento aparecen como suyos son los que usa y acostumbra en sus actos oficiales.

Que el notario citado autenticó el documento adjunto firmado por **ALLEN SPIEGEL** en su calidad de **VICEPRESIDENTE** de la firma **PFIZER PRODUCTS INC.**, compañía legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de su país y cumple con su objeto social de acuerdo con las mismas.

Que ha tenido a la vista los documentos probatorios de los hechos citados y constatados por el Notario Público y el County Clerk de New York, los cuales forman parte integral del presente documento.

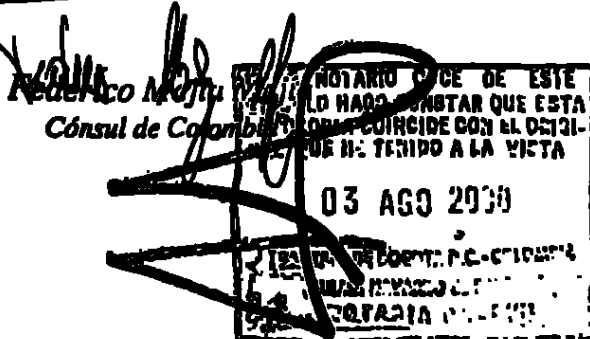
Se expide esta certificación en concordancia con el artículo 259 del Código de Procedimiento Civil y 480 del Código de Comercio a solicitud del interesado a los 31 días del mes de Julio de 1998.

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD POR EL CONTENIDO DE LOS DOCUMENTOS ADJUNTOS.

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE Y DERECHOS CONSULARES

VALOR CINCUENTA Y SEIS DOLARES US\$56.00 RECIBO No. 148781

RECEIVED
CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
NUEVA YORK
JUL 31 1998



PFIZER PRODUCTS INC.

EXTERIORES
100-365918
CIVIL AEREA PARECE EN:
DOCUMENTO DESAMPE
LAS FUNCIONES INDICAD.

98 AUG 13 1985

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTA FE DE BOGOTA D.C.



10 81

State of New York
County of New York, ss:

NEW YORK

21320

I, NORMAN GOODMAN, County Clerk of the Supreme Court of the State of New York, in and for the County of New York, a Court of Record, having by law a seal,
DO HEREBY CERTIFY pursuant to the Executive Law of the State of New York, that

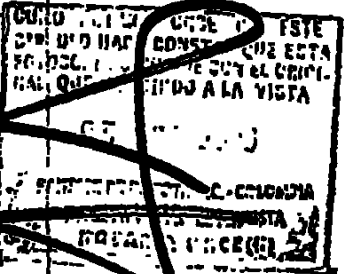
whose name is subscribed to the annexed affidavit, deposition, certificate of acknowledgment or proof, was at the time of taking the same a NOTARY PUBLIC in and for the State of New York duly commissioned, sworn and qualified to act as such; that pursuant to law, a commission or a certificate of his official character, with his autograph signature has been filed in my office; that at the time of taking such proof, acknowledgment or certificate, he was duly authorized to take the same; that I am well acquainted with the handwriting of such NOTARY PUBLIC, or have compared the signature on the annexed instrument with his autograph signature deposited in my office, and I believe that such signature is genuine.

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand affixed my official seal this

OCT 14 1997

FEES PAID \$1.00

Norman Goodman
County Clerk and Clerk of the Supreme Court, New York County





RAISBECK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA

Members of the Firm

BAKER & MCKENZIE

ATTORNEYS AT LAW

APARTADO AEREO 3746

TELEFONO: 286-1469

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

COLOMBIA

11 90

POWER OF ATTORNEY

The undersigned, PFIZER PRODUCTS INC., a corporation organized under the laws of the State of Connecticut, United States of America, located in Eastern Point Road, Groton Connecticut 06340, United States of America, declares that it hereby grants to

ALVARO CORREA ORDOÑEZ and/or
JAMES W.F. RAISBECK and/or
LUZ HELENA VILLAMIL and/or
CARLOS R. OLARTE

a full and sufficient power of attorney to apply to the proper national officers and authorities for the issue of:

Trademark registrations, renewals, mergers, changes of name, assignments, filing and prosecution of oppositions, deposit of commercial names, changes of address.

Letters Patent, mergers, changes of name, assignments, filing and prosecution of oppositions, changes of address,

to which end it empowers them to take all steps necessary before said authorities for the objects stated, to file petitions, prepare descriptions, make protests, declarations, appeals and objections, pay imposts, apply for certifications, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. To the said mandatories sufficient power is granted hereby to receive notifications for and on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the marks, and to do everything that may be required, before administrative or judicial officers of any class giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions if necessary.

Done and subscribed in New York, New York, USA

Dated 08 October 1997

PFIZER PRODUCTS INC.


ALLEN J. SPIEGEL
VICE PRESIDENT

PODER

La abajo firmada

PFIZER PRODUCTS INC.

domicilada en
Eastern Point Road, Groton
Connecticut 06340,
Estados Unidos de América.

declara por el presente otorgar a
ALVARO CORREA ORDOÑEZ y/o
JAMES W. F. RAISBECK y/o
LUZ HELENA VILLAMIL y/o
CARLOS R. OLARTE

poder especial amplio y bastante para recabar de las oficinas y autoridades nacionales que correspondan, la obtención de: Registro de marcas renovaciones, fusiones, cambios de nombre, traspasos, presentación y tramitación de oposiciones, depositos de nombres comerciales, cambios de dirección, continuar a través a cuyo efecto los faculta para dar ante dichas autoridades, todos los pasos necesarios al objeto indicado, elevar solicitudes, formular descripciones, protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos, oblar impuestos, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, deslitr y percibir. Se concede a los expresados mandatarios poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de las marcas se presentaren y hacer cuanto fuere necesario, ante las autoridades administrativas o judiciales de cualquier orden, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y en caso de ausencia de estas dichas sustituciones.

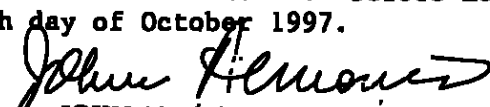
Dado y firmado en New York, Estado de

New York, Estados Unidos de América

a los 8 días del mes de Octubre de 1997

State of New York)
County of New York)

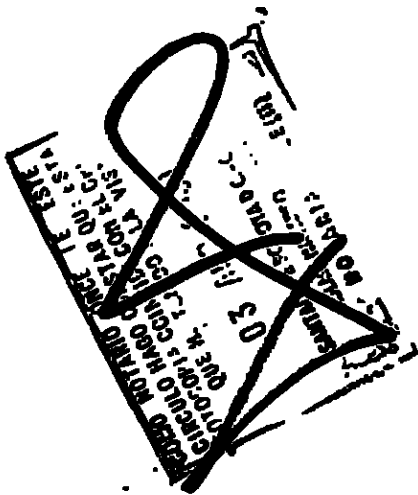
SUBSCRIBED AND SWORN to before me this
8th day of October 1997.


JOHN ALPHONSO
Notary Public, State of New York
No. 30-4859888
Qualified in Nassau County
Certificate filed in New York County
Commission Expires May 19, 1998.



* Continuación...

Registro de Patentes de Invención,
fusiones, cambios de nombre,
traspasos, presentación y
tramitación de oposiciones,
cambios de dirección.



RAISBECK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA

Members of the Firm

BAKER & MCKENZIE

ATTORNEYS AT LAW

APARTADO AEREO 3748

TELEFONO: 222-1400

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

COLOMBIA

NOTARIAL CERTIFICATION

On this 8th day of October

1997, the undersigned Notary

CERTIFIES

1. That ALLEN J. SPIEGEL

of legal age and domiciled in New York, New York,
United States of America,

set his hand on the foregoing document

2. That the grantor is to me personally know and that he/she has
legal capacity to execute the instrument

3. That the grantor has executed the foregoing document
as

VICE PRESIDENT

of the juridical person

PFIZER PRODUCTS INC.

4. That the juridical person
PFIZER PRODUCTS INC.

having its home office in Eastern Point Road, Groton,
Connecticut 06340, United States of America,

is duly organized, has present existence and that the purposes for
which the power of attorney is given are within the scope of its corporate
purposes.

5. That the grantor has in fact the referred to authority and that his/her
representation is legal.

6. That I have based certifications 3, 4 and 5 above on the following authentic
documents for such purpose exhibited to me and which I mention
specifically, giving their dates and their origin or source:

Resolution of Pfizer Products Inc. dated
24 February 1997.

John Alphonso

JOHN ALPHONSO

Notary Public, State of New York

NY 504859888

Qualified in Nassau County

Certificate filed in New York County

Commission Expires May 19, 1998

CERTIFICACION NOTARIAL

A los 8 dias del mes de Octubre

de 19 97, el suscrito Notario

DA FE

1. Que ALLEN J. SPIEGEL

mayor y domiciliado en
New York, Estado de New York,
Estados Unidos de América.
suscrito de su puño y letra el documento que antecede

2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal
para el otorgamiento

3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su
carácter de:

Vice-presidente

de la persona jurídica

PFIZER PRODUCTS INC.

4. Que la persona jurídica

PFIZER PRODUCTS INC.

con sede en
Eastern Point Road, Groton,
Connecticut 06340, Estados Unidos de América
está legalmente constituida, que ha sido debidamente legalizada y que el
acto para el cual se otorga el poder está comprendido entre los
que constituyen su objeto social.

5. Que el otorgante efectivamente tiene la representación que ostenta
y que esta es legal.

6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los
siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y
que menciono específicamente su expresión de sus fechas y de su
origen o procedencia:

Resolución de Pfizer Products Inc. de
fecha 24 de febrero de 1997.

El Notario Público



B 7

A QUIENES LES SEAN PRESENTADOS ESTOS DOCUMENTOS:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

La Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

5 de abril de 2000

POR LA PRESENTE CERTIFICO QUE EL DOCUMENTO ADJUNTO ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL DE LA SOLICITUD DE PATENTE IDENTIFICADA MAS ADELANTE, A LA QUE LE FUE OTORGADA FECHA DE PRESENTACION AL CUMPLIR LOS REQUISITOS ESTABLECIDOS EN EL ARTICULO 111 TITULO 35 DEL CODIGO DE LOS ESTADOS UNIDOS, Y QUE OBRA EN EL REGISTRO DE LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS.

NUMERO DE SOLICITUD: 60/148,547

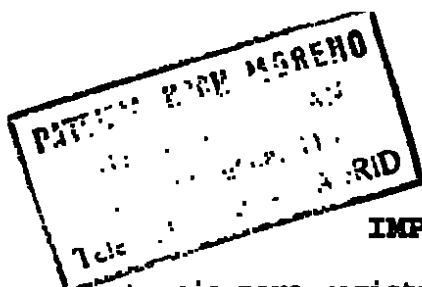
FECHA DE PRESENTACION: 12 de agosto de 1999

Por delegación del

COMISIONADO DE PATENTES Y MARCAS

P. SWAIN

Oficial de certificaciones



14 15

IMPRESO DE SOLICITUD PROVISIONAL

Instancia para registrar una SOLICITUD PROVISIONAL bajo CFR 37 1.53(b) (2).

N° de Archivo PC10625 Escriba una cruz (+) en esta casilla ±

2° Apellido	1er Apellido	Inicial	Residencia (ciudad y estado o país)
BLAGG	JULIAN		CANTERBURY, ENGLAND

TITULO DE LA INVENCION (máximo 280 caracteres)

PIRIMIDINA-2,4,6-TRIONAS INHIBIDORES DE METALOPROTEINASAS

DIRECCION PARA LA CORRESPONDENCIA

Paul H. Ginsburg
Pfizer Inc.
235 East 42nd Street, 20th Floor
New York, NY 10017-5755

ANEXOS DE LA SOLICITUD (Revisar todas los aplicables)

☒ Descripción,	38
☒ Reivindicaciones,	4
☐ Dibujos	Núm. hojas
☒ Otros (especificar)	Resumen, 1 página

FORMA DE PAGO (señalar una de las opciones)

☐ Se adjunta cheque o pago en metálico para cubrir tasas solicitud provisional	IMPORTE TASAS SOLICITUD PROVISIONAL (\$) \$150
☒ El Comisionado está autorizado para cargar las tasas de solicitud en la Cuenta número 16-1445	

La invención fue realizada por una agencia del Gobierno de los Estados Unidos o bajo contrato con una agencia del Gobierno de los Estados Unidos

☒ No

☐ Sí, el nombre de la agencia del Gobierno de los Estados Unidos y el n° de contrato son:

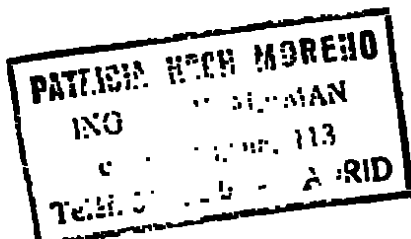
Respetuosamente presentado,
FIRMA (ilegible)
GARTH BUTTERFIELD

FECHA 12 agosto 1999
N° DE REGISTRO 36,997
(si procede)

☐ Inventores Adicionales es especifican en las hojas adjuntas

UNICAMENTE SOLICITUD PROVISIONAL

CORREO URGENTE N° EM484850186US



15 \$

PC10625

-1-

US 60/148,547 solicitada el 12 de agosto de 1999

PIRIMIDINA-2,4,6-TRIONAS INHIBIDORES DE METALOPROTEINASAS

Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere a pirimidina-2,4,6-trionas inhibidores de metaloproteinasas, y a composiciones 5 farmacéuticas y procedimientos de tratamiento de la inflamación, el cáncer, así como de otros trastornos.

Los compuestos de la presente invención son inhibidores de las cinc metaloendopeptidasas, en especial las que pertenecen a las subfamilias de metaloproteinasa de la matriz 10 (también denominadas MMP o matrixina) y de reprotisina (también conocida como adamilsina) de las metzincinas (Rawlings, et al., Methods in Enzymology, 248, 183-228 (1995) y Stocker, et al., Protein Science, 4, 823-840 (1995)).

La subfamilia de enzimas MMP, cuenta en la actualidad 15 con diecisiete miembros (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-18, MMP-19 y MMP-20). La mayoría de las MMP son bien conocidas por su función en la regulación de la renovación de las proteínas de la matriz extracelular y como 20 tales desempeñan importantes funciones en los procesos fisiológicos normales como la reproducción, el desarrollo y la diferenciación. Además, las MMP se expresan en muchas situaciones patológicas en las que se produce una renovación anómala del tejido conectivo. Por ejemplo, la MMP-13, una 25 enzima con una potente actividad para degradar el colágeno

tipo II (el principal colágeno en el cartílago), ha demostrado que se sobreexpresa en el cartílago osteoartrítico (Mitchell, et al., J. Clin. Invest., 97, 761 (1996)). Otras MMP (MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-12) también se
5 sobreexpresan en el cartílago osteoartrítico y cabe esperar que la inhibición de algunas o todas estas MMP ralentice o bloquee la pérdida acelerada de cartílago típica de enfermedades de las articulaciones como la osteoartritis o la artritis reumatoide.

10 Las reprotisinas de mamífero se conocen como ADAM (del inglés *A Disintegrin And Metalloproteinase*) (Una disintegrina y metaloproteinasa (Wolfberg, et al., J. Cell. Biol., 131, 275-278 (1995)) y contienen un dominio de disintegrina junto con un dominio del tipo de las metaloproteinasas. Hasta la
15 fecha, se han identificado veintitrés ADAM distintas.

La ADAM-17, también conocida como enzima conversora del factor alfa de necrosis tumoral (TACE) es la ADAM mejor conocida. La ADAM-17 (TACE) es responsable de la escisión del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α , también conocido como
20 caquectina unido a las células). Se sabe que el TNF- α está implicado en muchas enfermedades infecciosas y autoinmunes (W. Friers, FEBS Letters, 285, 199 (1991)). Además, se ha demostrado que el TNF- α es el mediador principal de la respuesta inflamatoria observada en la septicemia y el choque
25 séptico (Spooner, et al., Clinical Immunology and

Immunopathology, 62, S11 (1992)). Existen dos formas de TNF- α , una proteína de membrana tipo II de masa molecular relativa 26.000 (26 kD) y una forma soluble de 17 kD generada a partir de la proteína unida a las células por escisión proteolítica específica. La forma soluble de 17 kD del TNF- α es liberada por las células y se asocia a los efectos perjudiciales del TNF- α . Esta forma de TNF- α también puede actuar en sitios alejados del lugar de la síntesis. Así, los inhibidores de la TACE evitan la formación de TNF- α soluble y previenen los efectos perjudiciales del factor soluble.

Los compuestos seleccionados de la invención son potentes inhibidores de la agrecanasa, una enzima importante en la degradación del agrecano del cartílago. Se cree también que la agrecanasa es una ADAM (Tortorella et al., Science, 284, 1664 (1999)). La pérdida de agrecano de la matriz del cartílago es un factor importante en la progresión de enfermedades de las articulaciones como osteoartritis y artritis reumatoide y es de esperar que la inhibición de agrecanasa ralentice o bloquee la pérdida de cartílago en estas enfermedades.

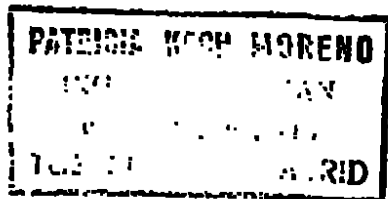
Otras ADAM que han demostrado expresión en situaciones patológicas incluyen ADAM TS-1 (Kuno et al., J. Biol. Chem., 272, 556-562 (1997)) y ADAM 10, 12 y 15 (Wu, et al., Biochem. Biophys. Res. Comm., 235, 437-442 (1997)). Como reconocimiento de la expresión, se apreciará que la asociación de substratos

fisiológicos y enfermedad de las ADAM aumenta la importancia de la función inhibidora de esta clase de enzimas.

Es conocido que diferentes combinaciones de MMP y ADAM se expresan en diferentes situaciones patológicas. Como
5 tales, para determinadas enfermedades individuales pueden preferirse inhibidores con selectividades específicas para determinadas ADAM y/o MMP. Por ejemplo, la artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria de las articulaciones caracterizada por niveles excesivos de TNF y
10 por la pérdida de los constituyentes de la matriz de la articulación. En este caso, la terapia preferida puede ser un compuesto que inhiba la TACE y la agrecanasa, además de las MMP, tal como MMP-13. Por el contrario, en una enfermedad de las articulaciones menos inflamatoria como la
15 osteoartritis, pueden preferirse los compuestos que inhiban las MMP que degradan la matriz como MMP-13, pero no la TACE.

Los autores de la presente invención han descubierto también que es posible identificar inhibidores de fórmula I con actividad diferencial de metaloproteinasas y reprotisinas
20 (preferiblemente actividad inhibidora de MMP-13). Un grupo de inhibidores preferidos de fórmula I que los inventores han podido identificar incluye aquellos que inhiben selectivamente MMP-13 preferentemente sobre MMP-1.

Los inhibidores de la metaloproteinasa de la matriz y
25 de la reprotisina son bien conocidos en la bibliografía.



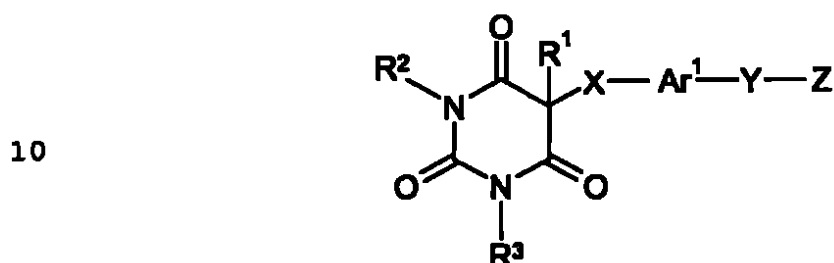
19

Especialmente, la publicación de documento PCT WO 98/58925, publicada el 30 de diciembre de 1998 se refiere a ciertas pirimidina-2,4,6-trionas inhibidores de MMP. La publicación de patente europea 606.046, publicada el 13 de julio de 1994, se refiere a ciertos inhibidores heterocíclicos de las MMP. La patente de los Estados Unidos 5.861.510, expedida el 19 de enero de 1999, se refiere a ácidos arilsulfonilaminohidroxámicos cíclicos que son útiles como inhibidores de las MMP. La publicación del documento PCT WO98/34918, publicada el 13 de agosto de 1998, se refiere a ácidos hidroxámicos heterocíclicos que incluyen ciertos compuestos dialquil sustituidos, que son útiles como inhibidores de las MMP. Las publicaciones de documentos PCT WO 96/27583 y WO 98/07697, publicadas el 7 de marzo de 1996 y el 26 de febrero de 1998, respectivamente, se refieren a ácidos arilsulfonilhidroxámicos. La publicación del documento PCT WO 98/03516, publicada el 29 de enero de 1998 se refiere a fosfinatos con actividad frente a las MMP. La publicación del documento PCT 98/33768, publicada el 6 de agosto de 1998, se refiere a ácidos arilsulfonilamino-hidroxámicos con el N no sustituido. La publicación del documento PCT WO 98/08825 y WO 98/08815, publicadas ambas el 5 de marzo de 1998, se refieren a ciertos inhibidores de las MMP heterocíclicos. Las solicitudes de patente de los Estados Unidos 60/096232 y 60/096256, presentadas ambas el 12 de agosto de 1998, se

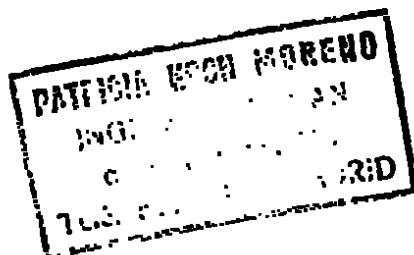
refieren también a ácidos hidroxámicos heterocíclicos inhibidores de las MMP y del TACE. Cada una de las publicaciones y solicitudes anteriormente citadas se incorpora en la presente memoria como referencia en su totalidad.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula



R¹ es hidrógeno, perfluoroalquilo C₁-C₄, alquilo C₁-C₈ o cicloalquilo C₃-C₈, pudiendo contener dichos alquilo C₁-C₈ o cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente de uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, >NR⁵ y azufre; pudiendo estar también dichos alquilo C₁-C₈ o cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituidos por uno a dos sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁-C₄, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₂-C₁₀, OH, NH₂, (alquil C₁-C₄)amino, di[alquil C₁-C₄]amino, (cicloalquil C₃-C₈)amino, (cicloalquil C₃-C₈)(alquil C₁-C₄)amino, alcoxi C₁-C₄, -CONH₂, -CONHR⁴, -CON(R⁴)₂ y cicloalquilo C₃-C₈, pudiendo contener dicho cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente de >NR⁵, oxígeno o azufre.



21 2

-7-

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de hidrógeno o alquilo C_1-C_4 , pudiendo contener dicho alquilo C_1-C_4 opcionalmente un heteroátomo seleccionado de oxígeno, $>NR^5$ o azufre y pudiendo estar dicho alquilo C_1-C_4 opcionalmente
5 sustituido por arilo C_6-C_{10} , heteroarilo C_2-C_{10} , OH, NH_2 , (alquil C_1-C_4)amino, di[(alquil C_1-C_4)]amino, (cicloalquil C_3-C_8)amino, (cicloalquil C_3-C_8) (alquil C_1-C_4)amino, alcoxi C_1-C_4 , $-CON(R^4)_2$ o cicloalquilo C_3-C_8 , pudiendo contener dicho cicloalquilo C_3-C_8 uno o dos heteroátomos seleccionados
10 independientemente de $>NR^5$, oxígeno o azufre;

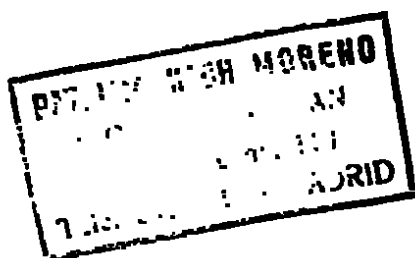
X se selecciona del grupo formado por oxígeno, azufre, $>SO_2$, $>S=O$, $>NR^4$, $-CH_2O-$, $-OCH_2-$, $-CH_2S-$, $-CH_2(S=O)-$, $-CH_2SO_2-$, $-SCH_2-$, $-SOCH_2-$, $-SO_2CH_2-$, $-N(R^4)CH_2-$, $-CH_2N(R^4)-$, $-N(R^4)SO_2-$ y $-SO_2N(R^4)-$;

15 R^4 , siempre que esté presente, se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo C_1-C_4 ;

R^5 , siempre que esté presente, se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C_1-C_4 , arilo C_6-C_{10} , heteroarilo C_2-C_{10} , OH, $-CONH_2$, $-CONHR^4$, $-CON(R^4)_2$ y
20 cicloalquilo C_3-C_8 ;

Y se selecciona del grupo formado por un enlace, oxígeno, azufre, $>SO_2$, $>S=O$, $>NH$, $-CH_2-$, $-CH_2O-$, $-OCH_2-$, $-CH_2S-$, $-CH_2(S=O)-$, $-CH_2SO_2-$, $-SCH_2-$, $-SOCH_2-$, $-SO_2CH_2-$, $-NHCH_2-$, $-CH_2NH-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH=CH-$, $-NHSO_2-$ y $-SO_2NH-$;

25 Ar^1 es arilo C_6-C_{10} o heteroarilo C_2-C_{10} ; y



22 K

-8-

Z es arilo C_6-C_{10} , cicloalquilo C_3-C_8 , (cicloalquil C_3-C_8) (alquilo C_1-C_4) o heteroarilo C_1-C_{10} ; pudiendo estar uno o dos de los átomos de carbono del anillo de dichos cicloalquilo C_3-C_8 o (cicloalquil C_3-C_8) (alquilo C_1-C_4) 5 opcionalmente reemplazados por heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y NR^5 ;

Ar^1 y Z pueden estar opcionalmente sustituidos en cualquiera de los átomos de carbono del anillo que puedan formar un enlace adicional por uno a tres sustituyentes 10 seleccionados independientemente de F, Cl, Br, CN, OH, alquilo C_1-C_4 , perfluoroalquilo C_1-C_4 , perfluoroalcoxi C_1-C_4 , alcoxi C_1-C_4 , cicloalquiloxi C_3-C_8);

o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La presente invención también se refiere a las sales de 15 adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I. Los ácidos que se usan para preparar las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los compuestos básicos anteriormente citados de esta invención son aquellos que forman sales de adición de ácidos 20 no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables como clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, acetato, lactato, citrato, citrato ácido, tartrato, bitartrato, succinato, maleato, fumarato, gluconato, 25 sacarato, benzoato, metanosulfonato, etanosulfonato,

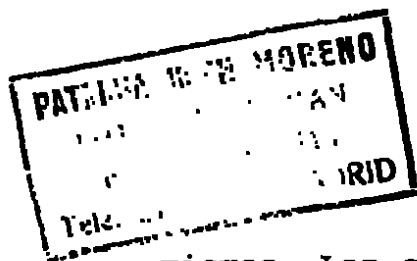
-9-

bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato [es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)].

La invención también se refiere a las sales por adición de bases de fórmula I. Las bases químicas que se usan como reactivos para preparar las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I que son de naturaleza ácida son aquellas que forman sales de adición de bases no tóxicas con dichos compuestos. Tales sales de adición de bases no tóxicas incluyen, aunque sin quedar limitadas a las mismas, las derivadas de cationes farmacológicamente aceptables como cationes de metales alcalinos (por ejemplo, potasio y sodio) y cationes de metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio y magnesio), sales de amonio o de adición de aminas solubles en agua como N-metilglucamina (meglumina) y las sales de (alcohol inferior)amonio y otras sales de adición de bases de aminas orgánicas farmacéuticamente aceptables.

El término "enlace", tal y como se usa en el grupo Y, se refiere a que los grupos Ar^1 y Z están conectados directamente a través de un enlace carbono-carbono de manera que forman anillos arilo pendientes como difenilo.

El término "alquilo" tal como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye radicales hidrocarburo monovalentes saturados con restos lineales, ramificados o cíclicos, o combinaciones de los



-10-

mismos. Los grupos alquilo, cuando estén presentes, pueden estar opcionalmente sustituidos con un sustituyente adecuado.

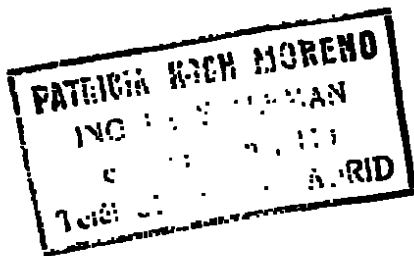
El término "alquenilo", tal y como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye 5 radicales hidrocarburo que contienen al menos un enlace olefínico y que tienen restos lineales, ramificados o cíclicos o combinaciones de los mismos.

El término "alquinilo", tal y como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye 10 radicales hidrocarburo que contienen al menos un enlace carbono-carbono triple y que tienen restos lineales, ramificados o cíclicos o combinaciones de los mismos.

El término "alcoxi" tal como se usa en la presente memoria, incluye grupos O-alquilo en los que "alquilo" se 15 define como antes.

El término "halo", tal y como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye flúor, cloro, bromo o yodo, preferiblemente flúor o cloro.

El término "arilo", tal como se usa en la presente 20 memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye un radical orgánico derivado de un hidrocarburo aromático por eliminación de uno o más hidrógenos, como fenilo o naftilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes adecuados seleccionados del grupo formado por fluoro, cloro, ciano, 25 nitro, trifluorometilo, alcoxi C_1-C_6 , ariloxi C_6-C_{10} ,



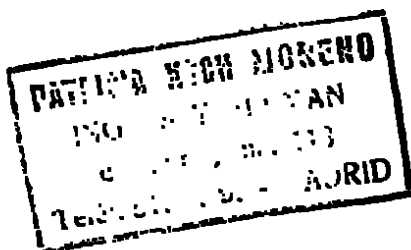
25 28

-11-

cicloalquiloxi C_3-C_6 , trifluorometoxi, difluorometoxi o alquilo C_1-C_6 .

El término "heteroarilo", tal como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye un
5 radical orgánico derivado de un compuesto heterocíclico aromático por eliminación de uno o más hidrógenos, como piridilo, furilo, pirrolilo, tienilo, isotiazolilo, imidazolilo, benzoimidazolilo, tetrazolilo, pirazinilo, pirimidilo, quinolilo, isoquinolilo, benzofurilo,
10 isobenzofurilo, benzotienilo, pirazolilo, indolilo, isoindolilo, purinilo, carbazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, benzotiazolilo o benzoxazolilo, opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes adecuados como los
definidos más adelante, tales como fluoro, cloro,
15 trifluorometilo, alcoxi C_1-C_6 , ariloxi C_6-C_{10} , trifluorometoxi, difluorometoxi o alquilo C_1-C_6 .

"Un sustituyente adecuado" se refiere a un grupo funcional, química o farmacéuticamente aceptable, es decir, un resto que no anule la actividad inhibidora de los
20 compuestos de la invención. Tales sustituyentes adecuados se pueden seleccionar de forma rutinaria por los técnicos en la materia. Ejemplos ilustrativos de sustituyentes adecuados incluyen, aunque sin estar limitados a los mismos, grupos halógeno, grupos perfluoroalquilo, grupos perfluoroalcoxi,
25 grupos alquilo, grupos hidroxilo, grupos oxo, grupos mercapto,



26
2

-12-

grupos alquiltio, grupos alcoxi, grupos arilo o heteroarilo, grupos ariloxi o heteroariloxi, grupos aralquilo o heteroaralquilo, grupos aralcoxi o heteroaralcoxi, grupos carboxi, grupos amino, grupos alquil- y dialquilamino, grupos
5 carbamoilo, grupos alquilcarbonilo, grupos alcoxycarbonilo, grupos alquilaminocarbonilo, grupos dialquilaminocarbonilo, grupos arilcarbonilo, grupos ariloxycarbonilo, grupos alquilsulfonilo y grupos arilsulfonilo y grupos similares.

Algunos compuestos de fórmula I contienen centros
10 quirales y por tanto existen en diferentes formas enantioméricas. Esta invención se refiere a todos los isómeros ópticos, enantiómeros, diastereoisómeros y estereoisómeros de los compuestos de fórmula I y a sus mezclas. Los compuestos de la invención también existen en
15 diferentes formas tautómeras. Esta invención se refiere a todos los tautómeros de fórmula I.

Compuestos preferidos de la invención incluyen aquellos en los que X es oxígeno, $-OCH_2-$, $-CH_2O-$, más preferiblemente, en los que Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$,
20 $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$.

Otras realizaciones de la invención incluyen los compuestos de fórmula I en los que X es azufre, $>SO_2$, $-SCH_2-$, $-CH_2S-$, $-CH_2SO_2-$ o $-SO_2CH_2-$, más preferiblemente, en los que Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$.

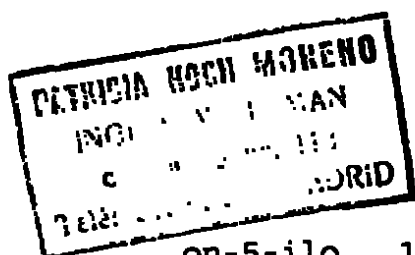
25 Otras realizaciones de la invención incluyen los

compuestos de fórmula I en los que X es $>NR^1$, $-CH_2NR^1-$ o $-NR^1CH_2-$, más preferiblemente, en los que Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$.

Otras realizaciones de la invención incluyen los
5 compuestos de fórmula I en los que X es $-N(R^1)SO_2-$ o $-SO_2N(R^1)-$, más preferiblemente, en los que Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$.

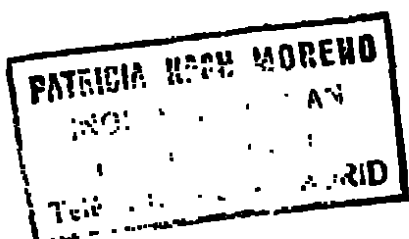
Otras realizaciones de la invención incluyen los
compuestos de fórmula I en los que Z es arilo C_6-C_{10} ,
10 preferiblemente fenilo, sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes, preferiblemente cero, uno o dos sustituyentes, seleccionados independientemente de F, Cl, Br, $-CN$, OH, alquilo C_1-C_4 , perfluoroalquilo C_1-C_4 , perfluoroalcoxi C_1-C_4 , alcoxi C_1-C_4 y cicloalquiloxi C_3-C_8 .

Otras realizaciones de la invención incluyen los
compuestos de fórmula I en los que Z es cicloalquilo C_3-C_8 ,
en el que uno o dos de los átomos de carbono del anillo de
dicho cicloalquilo C_3-C_8 pueden estar opcionalmente
reemplazados por heteroátomos seleccionados
20 independientemente de oxígeno, azufre o NR^3 , siendo R^3 hidrógeno, alquilo C_1-C_4 , arilo C_6-C_{10} , heteroarilo C_2-C_{10} , OH, $-CONH_2$, $-CONR^4$, $-CON(R^4)_2$ y cicloalquilo C_3-C_8 . Tales grupos preferidos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, N-metil-
25 3-azetidínilo, piperazinilo, piperidínilo, 1,3-oxazolidín-4-



-14-

on-5-ilo, 1,3-oxazolidin-2,4-dion-5-ilo, 4,5-dihidro-1,2-oxazolidin-3-on-4-ilo, 1,3-tiazolidin-4-on-5-ilo, 1,3-tiazolidin-2,4-dion-5-ilo, 1,3-imidazolidin-4-on-5-ilo, 1,3-imidazolidin-2,4-dion-5-ilo, 1,2-pirazolidin-3-on-4-ilo,
5 tetrahidro-1,3-oxazin-4-on-5-ilo, tetrahidro-1,3-oxazin-2,4-dion-5-ilo, morfolinilo, morfolin-3-on-2-ilo, morfolin-3,5-dion-2-ilo, 2,3-dihidro-1,4-oxazin-3-on-2-ilo, tetrahidro-1,3-tiazin-4-on-5-ilo, tetrahidro-1,3-tiazin-2,4-dion-5-ilo, tiomorfolinilo, tiomorfolin-3-on-2-ilo, tiomorfolin-3,5-dion-
10 2-ilo, 2,3-dihidro-1,4-tiazin-3-on-2-ilo, hexahidro-1,2-diazin-3-on-4-ilo, 4,5-dihidro-2H-piridazin-3-on-4-ilo, hexahidro-1,3-diazin-2,4-dion-5-ilo, piperazin-2-on-3-ilo, piperazin-2,6-dion-3-ilo, tetrahidro-1,3,4-tiadiazin-5-on-6-ilo, 5,6-dihidro-1,3,4-tiadiazin-5-on-6-ilo, 1,3,4-oxadiazin-
15 5-on-6-ilo, 5,6-dihidro-1,2,4-oxadiazin-5-on-6-ilo, tetrahidro-1,2,4-oxadiazin-5-on-6-ilo, 1,2,4-triazin-5-on-6-ilo, tetrahidro-1,2,4-oxadiazin-5-on-6-ilo, 5,6-dihidro-1,2,4-oxadiazin-5-on-6-ilo, 1,2,4-oxadiazin-3,5-dion-6-ilo, y 1,2,4-triazin-6-on-5-ilo, preferiblemente ciclopropilo,
20 ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, N-metil-3-azetidino, piperazinilo, piperidinilo, N-metilpiperidinilo y morfolinilo, más preferiblemente ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, tetrahidrofuranilo y tetrahidropiranilo, lo más
25 preferible, ciclopropilo, tetrahidrofuranilo y



29 7

-15-

tetrahidropirani.

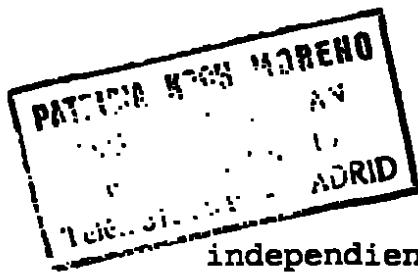
Otras realizaciones de la invención incluyen los compuestos de fórmula I en los que Z es (cicloalquil C₃-C₈) (alquilo C₁-C₄); pudiendo estar uno o dos de los átomos de carbono del anillo de dicho (cicloalquil C₃-C₈) (alquilo C₁-C₄) opcionalmente reemplazado por heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre o >NR⁵, siendo R⁵ hidrógeno, alquilo C₁-C₄, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₂-C₁₀, OH, -CONH₂, -CONHR⁴, -CON(R⁴)₂ y cicloalquilo C₃-C₈. Los anillos cicloalquilo y heterocicloalquilo preferidos son como los descritos antes. Los grupos alquilo preferidos de dicho (cicloalquil C₃-C₈) (alquilo C₁-C₄) son metileno y etileno.

Otras realizaciones de la invención incluyen los compuestos de fórmula I en los que Z es heteroarilo C₂-C₉; preferiblemente piridilo, furilo, pirroilo, tienilo, isotiazolilo, imidazolilo, benzoimidazolilo, tetrazolilo, pirazinilo, pirimidilo, quinolilo, isoquinolilo, benzofurilo, isobenzofurilo, benzotienilo, pirazolilo, indolilo, isoindolilo, purinilo, carbazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, benzotiazolilo o benzoxazolilo, más preferiblemente, piridilo, pirimidilo o pirazinilo, lo más preferible, piridilo opcionalmente sustituido por 1 a 3 sustituyentes adecuados, como fluoro, cloro, trifluorometilo, alcoxi C₁-C₆, ariloxi C₆-C₁₀, trifluorometoxi, difluorometoxi o alquilo C₁-C₆.

Otros compuestos preferidos de la invención incluyen los compuestos en los que Ar^1 es fenilo o heteroarilo C_2-C_{10} ; preferiblemente piridilo, furilo, pirroilo, tienilo, isotiazolilo, imidazolilo, benzoimidazolilo, tetrazolilo, 5 pirazinilo, pirimidilo, quinolilo, isoquinolilo, benzofurilo, isobenzofurilo, benzotienilo, pirazolilo, indolilo, isoindolilo, purinilo, carbazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, benzotiazolilo o benzoxazolilo, más preferiblemente, fenilo, pirimidilo, pirazinilo, pirimidilo, 10 lo más preferible, piridilo o fenilo opcionalmente sustituidos por 1 a 3 sustituyentes adecuados como fluoro, cloro, trifluorometilo, alcoxi C_1-C_6 , ariloxi C_6-C_{10} , trifluorometoxi, difluorometoxi o alquilo C_1-C_6 .

Otros compuestos preferidos de la invención incluyen 15 aquellos en los que Ar^1 y Z están sustituidos en cualquiera de los átomos de carbono del anillo que puede formar un enlace adicional por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de F, Cl, Br, -CN, OH, alquilo C_1-C_4 , perfluoroalquilo C_1-C_4 , perfluoroalcoxi C_1-C_4 , alcoxi C_1-C_4 y 20 cicloalquiloxi C_3-C_8 .

Los compuestos más preferidos de la invención incluyen compuestos de fórmula I, en los que X es oxígeno, Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$; R^1 es hidrógeno o alquilo C_1-C_4 ; pudiendo contener dicho alquilo C_1- 25 C_4 opcionalmente uno a dos heteroátomos seleccionados



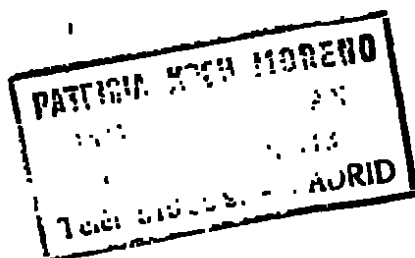
independientemente de oxígeno y $>NR^5$, pudiendo dicho alquilo C_1-C_4 estar además opcionalmente sustituido por uno a tres sustituyentes (preferiblemente, cero, uno o dos sustituyentes) seleccionados independientemente de alquilo C_1-C_4 , OH, NH_2 , (alquil C_1-C_4) amino, di[(alquil C_1-C_4)] amino, alcoxí C_1-C_4 , $-CONH_2$, $-CONHR^4$ y $CON(R^4)_2$; y R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C_1-C_4 .

Otras realizaciones de la invención incluyen compuestos de fórmula I en los que R^1 es alquilo C_1-C_8 que opcionalmente contienen uno a tres heteroátomos (preferiblemente dos heteroátomos separados por al menos un átomo de carbono, siendo dicho heteroátomo con preferencia $-NH-$ u O, lo más preferible O), estando dicho alquilo C_1-C_8 sustituido con OH, NH_2 , (alquil C_1-C_4) amino, di[(alquil C_1-C_4)] amino, alcoxí C_1-C_4 o $-CON(R^4)_2$, preferiblemente di[(alquil C_1-C_4)] amino.

Otras realizaciones de la invención incluyen compuestos de fórmula I, en la que al menos uno de R^2 y R^3 es alquilo C_1-C_4 , opcionalmente sustituido con un heteroátomo (siendo preferiblemente dicho heteroátomo $-NH-$ u $-O-$, lo más preferible $-O-$), estando dicho alquilo C_1-C_4 sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de arilo C_6-C_{10} o heteroarilo C_2-C_{10} .

Otros compuestos preferidos de la invención incluyen aquellos en los que:

R^1 es metilo; cada uno de R^2 y R^3 es hidrógeno; X es



32

73

-18-

oxígeno; Y es oxígeno o un enlace; y Z es arilo C_6-C_{10} ;

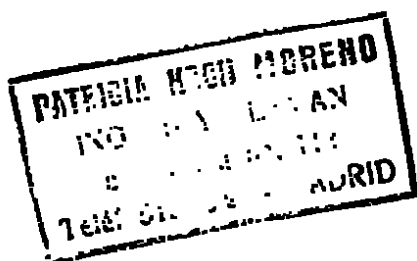
R^1 es n-butilo; cada uno de R^2 y R^3 es hidrógeno; X es oxígeno; Y es oxígeno o un enlace; y Z es arilo C_6-C_{10} ;

R^1 es metilo; cada uno de R^2 y R^3 es hidrógeno; X es
5 oxígeno; Y es oxígeno o un enlace; y Z es arilo C_6-C_{10} ; y

R^1 es n-butilo; cada uno de R^2 y R^3 es hidrógeno; X es oxígeno; Y es oxígeno o un enlace; y Z es arilo C_6-C_{10} .

Compuestos específicos preferidos de fórmula I se seleccionan del grupo formado por:

- 10 5-Metil-5-(4-fenoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
5-n-Butil-5-(4-fenoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
5-n-Butil-5-(4-(4'-fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-
15 2,4,6-triona;
5-Metil-5-(4-fenil-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
5-Metil-5-(3-fenil-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona; y
5-Metil-5-(4-benciloxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 20 Otros compuestos de la invención incluyen:
5-Metil-5-(4-(4'-clorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
5-Metil-5-(4-(4'-cianofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
25 5-Metil-5-(4-(4'-trifluorometilfenoxi)-fenoxi)-



33
22

pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-metoxifenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(3'-clorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(3'-fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(3'-trifluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

10 5-Metil-5-(4-(4'-clorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

15 5-Metil-5-(4-(4'-fluoro-2'-cloro-fenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-cloro-2'-fluoro-fenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

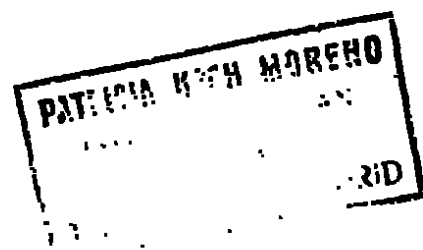
5-Metil-5-(4-(4'-fluoro-2'-metil-fenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

20 5-Metil-5-(4-(4'-fluoro-2'-trifluorometil-fenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluoro-2'-ciclopropil-fenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

25 5-Metil-5-(4-(piridin-2-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

...



34
A

-20-

5-Metil-5-(4-(4'-fluoro-piridin-2-il)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-cloro-piridin-2-il)-fenoxi)-pirimidina-
2,4,6-triona;

5 5-Metil-5-(4-(piridin-4-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-
triona;

5-Metil-5-(4-(piridin-3-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-
triona;

10 5-Metil-5-(4-(pirimidin-2-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-
triona;

5-Metil-5-(4-(pirimidin-4-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-
triona;

5-Metil-5-(4-(pirazin-3-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-
triona;

15 5-Metil-5-(4-(pirazin-4-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-
triona;

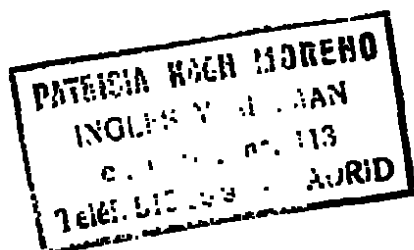
1,5-Dimetil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

20 1-Etil, 5-metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

1-(2-Metoxietil)-5-metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-
fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

1-(2-Dimetilamino-etil)-5-metil-5-(4-(4'-
fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

25 1-Ciclopropilmetil-5-metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-



35
35

-21-

fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Dimetilaminometil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

5-(2-Dimetilamino-etil)-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-
5 fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-(2-Metoxietil)-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

5-Ciclopropilmetil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

10 5-Etil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-
2,4,6-triona;

5-Trifluorometil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

5-Isopropil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-
15 pirimidina-2,4,6-triona;

5-Isobutiril-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

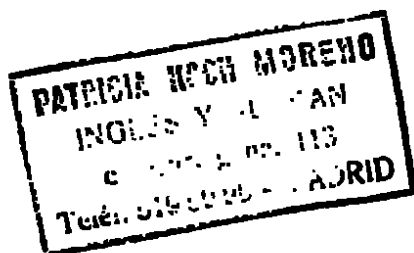
5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-feniltio)-
pirimidina-2,4,6-triona;

20 5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenilsulfonil)-
pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenilsulfoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(N-4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenilamino)-
25 pirimidina-2,4,6-triona;

..



36
ch
25

-22-

5-Metil-5-(N-Metil-N-4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenil-amino)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-(4-(4'-Fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-(4-(4'-Clorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5 5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenil)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-clorofenil)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

10 5-Metil-5-(3-(4'-fluorofenil)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(3-(4'-clorofenil)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(5-(4'-fluorofenoxi)-2-piridiloxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

15 5-Metil-5-(2-(4'-fluorofenoxi)-5-piridiloxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(3-(4'-fluorofenoxi)-6-piraziniloxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

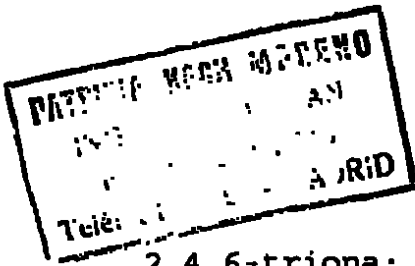
20 5-Metil-5-(2-(4'-fluorofenoxi)-5-pirimidiloxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(ciclopropilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(ciclobutilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

25 5-Metil-5-(4-(ciclopentilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-

37 4 21



-23-

2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(3'-tetrahidrofuranilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-tetrahidropirasilmetoxi)-fenoxi)-
5 pirimidina-2,4,6-triona; y

5-Metil-5-(4-(N-metil-3-azetidiniilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La presente invención también se refiere a una
10 composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno
seleccionado del grupo formado por artritis (incluyendo
osteoartritis y artritis reumatoide), enfermedad inflamatoria
del intestino, enfermedad de Crohn, enfisema, síndrome del
distrés respiratorio agudo, asma, enfermedad pulmonar
15 obstructiva crónica, enfermedad de Alzheimer, toxicidad en
el trasplante de un órgano, caquexia, reacciones alérgicas,
hipersensibilidad alérgica por contacto, cáncer (tal como
cáncer de tumores sólidos, incluyendo cáncer de colon, cáncer
de mama, cáncer de pulmón y cáncer de próstata y procesos
20 hematopoyéticos malignos, incluyendo leucemias y linfomas),
ulceración de tejidos, restenosis, enfermedad periodontal,
epidermólisis vesicular, osteoporosis, falta de firmeza en
implantes de articulaciones artificiales, aterosclerosis
(incluyendo ruptura de la placa aterosclerótica), aneurisma
25 aórtico (incluyendo aneurisma aórtico abdominal y aneurisma

aórtico cerebral), insuficiencia cardíaca congestiva, infarto de miocardio, apoplejía, isquemia cerebral, traumatismo craneal, lesión de la médula espinal, trastornos neurodegenerativos (agudos y crónicos), trastornos autoinmunes, 5 enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, migraña, depresión, neuropatía periférica, dolor, angiopatía amiloide cerebral, potenciación nootrópica o cognitiva, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, angiogénesis ocular, lesión corneal, degeneración macular, curación 10 anómala de heridas, quemaduras, diabetes, invasión tumoral, crecimiento de tumores, metástasis tumoral, cicatrices corneales, escleritis, SIDA, septicemia y choque séptico y otras enfermedades caracterizadas por actividad de metaloproteinasas y otras enfermedades caracterizadas por 15 actividad de reprotisina de mamífero en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende una cantidad de un compuesto de fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, eficaz en tales tratamientos y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 La presente invención se refiere también a una composición farmacéutica para la inhibición de (a) metaloproteinasas de la matriz u otras metaloproteinasas implicadas en la degradación de la matriz, o (b) una reprotisina de mamífero (como agrecanasa o ADAM TS-1, 10, 12, 25 15 y 17, lo más preferible ADAM-17) en un mamífero,

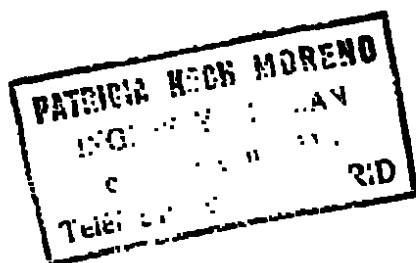


39 23

-25-

incluyendo un ser humano, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención se refiere también a un
5 procedimiento para tratar un trastorno seleccionado del grupo formado por artritis (incluyendo osteoartritis y artritis reumatoide), enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, enfisema, síndrome del distrés respiratorio agudo, asma, enfermedad pulmonar obstructiva
10 crónica, enfermedad de Alzheimer, toxicidad en el trasplante de un órgano, caquexia, reacciones alérgicas, hipersensibilidad alérgica por contacto, cáncer (tal como cáncer de tumores sólidos, incluyendo cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de pulmón y cáncer de próstata y procesos
15 hematopoyéticos malignos, incluyendo leucemias y linfomas), ulceración de tejidos, restenosis, enfermedad periodontal, epidermólisis vesicular, osteoporosis, falta de firmeza en implantes de articulaciones artificiales, aterosclerosis (incluyendo ruptura de la placa aterosclerótica), aneurisma
20 aórtico (incluyendo aneurisma aórtico abdominal y aneurisma aórtico cerebral), insuficiencia cardíaca congestiva, infarto de miocardio, apoplejía, isquemia cerebral, traumatismo craneal, lesión de la médula espinal, trastornos neurodegenerativos (agudos y crónicos), trastornos autoinmunes,
25 enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, migraña,



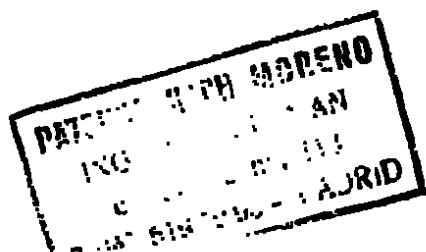
40 JS

-26-

depresión, neuropatía periférica, dolor, angiopatía amiloide cerebral, potenciación nootrópica o cognitiva, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, angiogénesis ocular, lesión corneal, degeneración macular, curación
5 anómala de heridas, quemaduras, diabetes, invasión tumoral, crecimiento de tumores, metástasis tumoral, cicatrices corneales, escleritis, SIDA, septicemia, choque séptico y otras enfermedades caracterizadas por actividad de metaloproteinasas de la matriz y otras enfermedades
10 caracterizadas por actividad de reprotisina de mamífero en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad de un compuesto de fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo eficaz para tratar dicho trastorno.

15 El término "tratar" tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a invertir, aliviar, inhibir el progreso de una enfermedad o trastorno al que se aplica el término, o prevenirlo, o de uno o más síntomas de dicha enfermedad o trastorno. El término "tratamiento" tal y como se usa en la
20 presente memoria, se refiere a la acción de tratar, siendo "tratar" como se acaba de definir.

La presente invención se refiere además a un procedimiento para la inhibición de (a) metaloproteinasas de la matriz u otras metaloproteinasas implicadas en la
25 degradación de la matriz, o (b) una reprotisina de mamífero

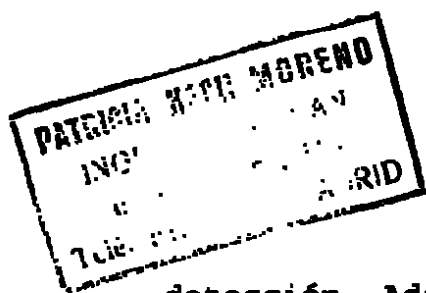


41 d

-27-

(como agrecanasa o ADAM TS-1, 10, 12, 15 y 17, preferiblemente ADAM-17) en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal
5 farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención incluye además compuestos marcados con isótopos, que son idénticos a los compuestos de Fórmula I, salvo por el hecho de que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número
10 másico diferente de la masa atómica o número másico normalmente encontrado en la forma natural. Ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O ,
15 ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{33}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente. Los compuestos de la presente invención, sus profármacos y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos o de dichos profármacos que contienen los isótopos anteriormente citados y/u otros isótopos de otros átomos están dentro del alcance
20 de esta invención. Ciertos compuestos marcados con isótopos de la presente invención, por ejemplo, aquellos en los que se incorporan isótopos radiactivos como ^3H y ^{14}C , son útiles en ensayos de distribución de fármacos y/o tejidos substrato. Los isótopos tritio, es decir ^3H , y carbono 14, es decir ^{14}C ,
25 son particularmente preferidos por su fácil preparación y

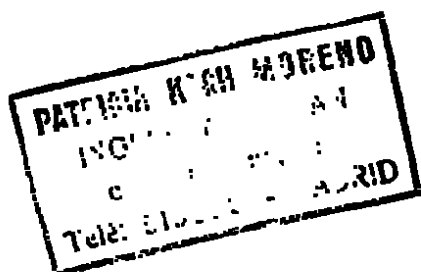


42 \$

-28-

detección. Además, la sustitución con isótopos más pesados como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas derivadas de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, mayor semivida in vivo o menores
5 requerimientos de dosificación y, por tanto, se pueden preferir en determinadas circunstancias. Los compuestos marcados con isótopos de Fórmula I de esta invención y sus profármacos pueden prepararse de forma general llevando a cabo los procedimientos descritos en los Esquemas y/o
10 Ejemplos y Preparaciones expuestos más adelante, sustituyendo un reactivo no marcado con isótopos por un reactivo marcado con isótopos fácilmente disponible.

Esta invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen profármacos de los compuestos de
15 fórmula I. Esta invención también incluye procedimientos para tratar o prevenir trastornos que se pueden tratar o prevenir mediante la inhibición de metaloproteinasas de la matriz o la inhibición de reprotisina de mamífero, que comprenden administrar profármacos de compuestos de fórmula I. Los
20 compuestos de fórmula I que tengan grupos amino, amido, hidroxilo, ácido hidroxámico, sulfonamida o ácido carboxílico libres se pueden convertir en profármacos. Los profármacos incluyen compuestos en los que un resto aminoácido, o una cadena polipeptídica de dos o más restos aminoácido (por
25 ejemplo, dos, tres o cuatro), están unidos covalentemente a



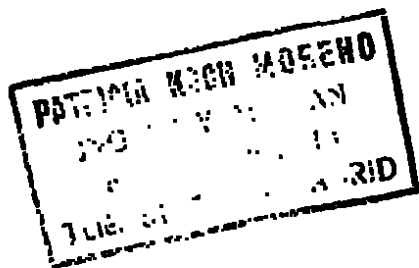
43 26

-29-

través de enlaces peptídicos a los grupos amido, amino, hidroxilo o ácido carboxílico libres de los compuestos de fórmula I. Los restos aminoácido incluyen los 20 aminoácidos naturales designados corrientemente por símbolos de tres 5 letras y también incluyen 4-hidroxiprolina, hidroxilisina, demosina, isodemosina, 3-metilhistidina, norvalina, beta-alanina, ácido gamma-aminobutírico, citrulina, homocisteína, homoserina, ornitina y metioninasulfona. Los profármacos también incluyen compuestos en los que carbonatos, 10 carbamatos, amidas y ésteres de alquilo están unidos covalentemente a los sustituyentes anteriores de los compuestos de fórmula I a través de la cadena lateral del profármaco en el carbono carbonílico.

Un técnico en la materia apreciará que los compuestos 15 de la invención son de utilidad en el tratamiento de una serie de enfermedades. Un técnico en la materia también apreciará que cuando se usan los compuestos de la invención en el tratamiento de una enfermedad específica, los compuestos de la invención se pueden combinar con diversos 20 agentes terapéuticos existentes usados para dicha enfermedad.

Para el tratamiento de artritis reumatoide, los compuestos de la invención se pueden combinar con agentes como inhibidores de TNF- α tales como anticuerpos monoclonales anti-TNF y moléculas de inmunoglobulina receptoras de TNF 25 (como Enbrel®), metotrexato en bajas dosis, lefunimida,



44 37

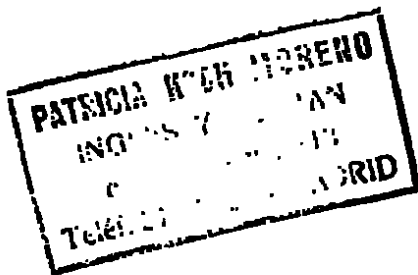
-30-

hidroxicloroquina, d-penicilamina, auranofina u oro por vía oral o parenteral.

Los compuestos de la invención se pueden usar también en combinación con agentes terapéuticos existentes para el
5 tratamiento de osteoartritis. Agentes adecuados para usar en combinación incluyen agentes antiinflamatorios no esteroideos convencionales (en lo sucesivo AINE) como piroxicam, diclofenaco, ácidos propiónicos como naproxeno, flubiprofeno, fenoprofeno, cetoprofeno e ibuprofeno, fenamatos como ácido
10 mefenámico, indometacina, sulindaco, apazona, pirazolonas como fenilbutazona, salicilatos como aspirina, inhibidores de la COX-2 como celecoxib y rofecoxib, analgésicos y terapias intraarticulares como corticosteroides y ácidos hialurónicos como hialgan y sinvisc.

15 Los compuestos de la presente invención se pueden usar combinados con agentes contra el cáncer como endostatina y angiostatina o con fármacos citotóxicos como adriamicina, daunomicina, cis-platino, etopósido, taxol, taxótero y alcaloides, como vincristina y antimetabolitos como
20 metotrexato.

Los compuestos de la presente invención también se pueden usar combinados con agentes cardiovasculares como bloqueantes de los canales del calcio, agentes para la
disminución del nivel de lípidos como estatinas, fibratos,
25 beta-bloqueantes, inhibidores de la ECA, antagonistas del



95

-31-

receptor de angiotensina-2 e inhibidores de la agregación plaquetaria.

Los compuestos de la presente invención también se pueden usar combinados con agentes que actúan sobre el SNC
5 como antidepresivos (como sertralina), fármacos contra el Parkinson (como deprenil, L-dopa, requip, mirapex, inhibidores de la MAOB como selegilina y rasagilina, inhibidores de comP como Tasmar, inhibidores de A-2, inhibidores de la recaptación de la dopamina, antagonistas
10 del NMDA, agonistas de la nicotina, agonistas de la dopamina e inhibidores de la óxido nítrico sintasa neuronal) y fármacos contra el Alzheimer como donepezil, tacrina, inhibidores de la COX-2, propentofilina o metrifonato.

Los compuestos de la presente invención se pueden usar
15 también combinados con agentes contra la osteoporosis como raloxifeno, droloxifeno o fosomax y agentes inmunosupresores como FK-506 y rapamicina.

Descripción detallada de la invención

Los siguientes Esquemas de reacción ilustran la
20 preparación de los compuestos de la presente invención. A no ser que se indique de otro modo, en los Esquemas de reacción y la siguiente descripción, X, Y, Ar¹, Z, R¹, R² y R³ son como se han definido antes.

47 20

Esquema 2



10

15

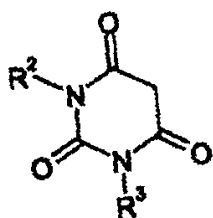
20

25

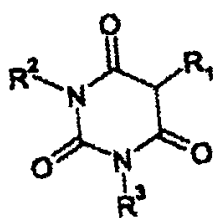
PATRICIA MORENO
INC
Tel: 222 2222 RID

-34-

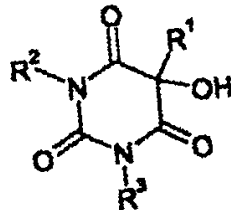
Esquema 3



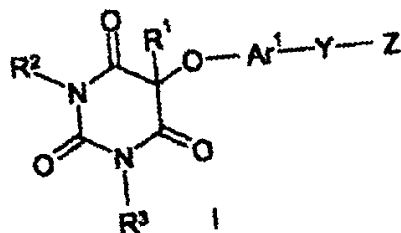
XII



X



XI



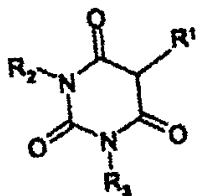
I

PATHEM KEN MORENO
INGENIERO EN QUIMICA
C. 100.000.000
TEL. 50.11.11. AURID

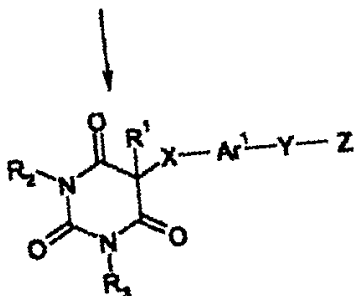
49 ~~82~~

-35-

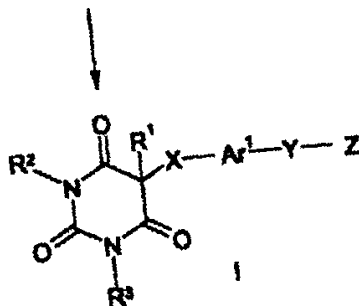
Esquema 4



X

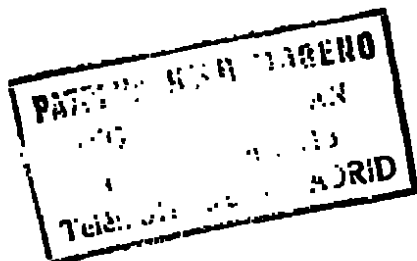


XIV



I

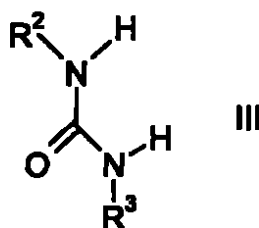
20



58
27

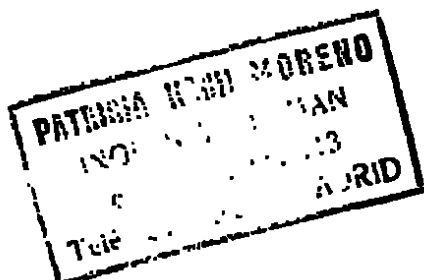
El Esquema 1 se refiere a la preparación de compuestos de fórmula I en una síntesis de dos etapas a partir de compuestos de fórmula V. Haciendo referencia al Esquema 1, se prepara un compuesto de fórmula I a partir de un compuesto 5 de fórmula IV, en el que L¹ y L² son grupos salientes como metoxi, etoxi, benciloxi o cloro, preferiblemente etoxi, mediante la reacción con un derivado de urea de fórmula III:

10



en presencia de una base fuerte y en un disolvente polar. Las bases adecuadas incluyen metóxido sódico, etóxido sódico y 15 metóxido magnésico, preferiblemente etóxido sódico. Los disolventes adecuados incluyen alcoholes (como etanol) o tetrahidrofurano, preferiblemente etanol absoluto. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 90°C, preferiblemente, 20 de aproximadamente 50°C a aproximadamente 65°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas. MARCA

El compuesto de fórmula IV se prepara a partir de un compuesto de fórmula V, en el que L¹ es un grupo saliente 25 como halo, p-tolilsulfonilo (OTs) o metilsulfonilo (OMs),



51
\$

-37-

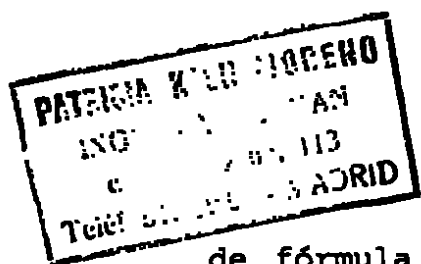
preferiblemente halo, lo más preferible cloro o bromo, mediante la reacción con un compuesto de fórmula $HX-Ar^1-Y-Z$ en presencia de una base en un disolvente polar. Los disolventes adecuados incluyen dimetilformamida (DMF),
5 alcoholes (como etanol) o tetrahidrofurano, preferiblemente etanol. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente $20^{\circ}C$ a aproximadamente $90^{\circ}C$, preferiblemente de aproximadamente $50^{\circ}C$ a aproximadamente $65^{\circ}C$ durante un período de tiempo de aproximadamente 15
10 minutos a aproximadamente 16 horas.

Los compuestos de fórmula V se pueden preparar por procedimientos bien conocidos en la técnica tales como los descritos en la publicación de documento PCT WO 98/58925 o revisados en The Organic Chemistry of Drug Synthesis, D.
15 Lednicer and L. A. Mitscher, Volumen 1, páginas 167 a 277 y las referencias citadas en el mismo. Cada una de las publicaciones y solicitudes referenciadas antes se incorporan en la presente memoria como referencia en su totalidad.

Los compuestos de fórmula III están disponibles
20 comercialmente o se pueden preparar por procedimientos bien conocidos por técnicos en la materia.

Los compuestos de fórmula $HX-Ar^1-Y-Z$ están disponibles comercialmente o se pueden preparar por procedimientos bien conocidos por los técnicos en la materia.

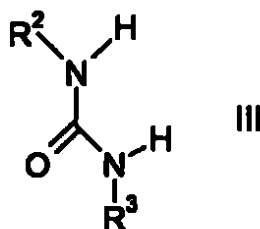
25 El Esquema 2 se refiere a la preparación de compuestos



- 38 -

de fórmula I en una síntesis de tres etapas a partir de compuestos de fórmula VI o VII. Haciendo referencia al Esquema 2, se prepara un compuesto de fórmula I a partir de un compuesto de fórmula IX mediante la reacción con una base adecuada y un agente alquilante adecuado de fórmula R^1L^1 en presencia de un disolvente. Las bases adecuadas incluyen hidruro sódico, carbonato potásico, carbonato sódico, trietilamina, piridina o trietanolamina; lo más preferible, hidruro sódico. Agentes alquilantes adecuados incluyen aquellos en los que L^1 es halo, p-tolilsulfoniloxi (OTs) o metilsulfoniloxi (OMs), preferiblemente halo, lo más preferible cloro o bromo; o los agentes alquilantes incluyen compuestos tales como las sales de Eshenmoser; epóxidos o aziridinas electrófilas sustituidas de forma adecuada. Los disolventes adecuados dependen de la base usada pero se pueden elegir de N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano, acetonitrilo y agua. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 30°C, preferiblemente de aproximadamente 20°C a aproximadamente 25°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

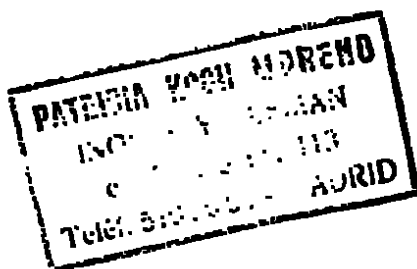
Se puede preparar un compuesto de fórmula IX a partir de un compuesto de fórmula VIII mediante la reacción con una urea de fórmula



5

en presencia de una base fuerte en un disolvente polar. Las bases adecuadas incluyen metóxido sódico, etóxido sódico y metóxido magnésico; preferiblemente etóxido sódico. Los disolventes adecuados incluyen alcoholes (como etanol) o tetrahidrofurano, preferiblemente etanol absoluto. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 90°C, preferiblemente, de aproximadamente 50°C a aproximadamente 65°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

Se puede preparar un compuesto de fórmula VIII a partir de un compuesto de fórmula VI, en el que L³ es un grupo saliente como halo, p-tolilsulfonilo (OTs) o metilsulfonilo (OMs), preferiblemente halo, lo más preferible cloro, mediante la reacción con un compuesto de fórmula HX-Ar¹-Y-Z en presencia de una base en un disolvente polar. Las bases adecuadas incluyen metóxido sódico, etóxido sódico, carbonato potásico e hidruro sódico; preferiblemente etóxido sódico. Los disolventes adecuados incluyen dimetilformamida (DMF), alcoholes (como etanol) o



54 7
6

-40-

tetrahidrofurano, preferiblemente etanol. La reacción anteriormente citada se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 90°C, preferiblemente, de aproximadamente 50°C a aproximadamente 70°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas, preferiblemente, de aproximadamente 3 horas. Las reacciones de este tipo se ilustran con más detalle por el procedimiento de J. B. Niederl and R. T. Roth, J. Amer. Chem. Soc., 62, 1154 (1940).

10 Como alternativa, se puede preparar también un compuesto de fórmula VIII a partir de un compuesto de fórmula VII en presencia de un catalizador adecuado, preferiblemente acetato de rodio(II) según el procedimiento descrito por M. Campbell et al., Aust. J. Chem., 45, 2061 (1992).

15 Los compuestos de fórmula VI y VII están disponibles comercialmente o se pueden obtener fácilmente a partir de materiales de partida disponibles fácilmente según procedimientos bien conocidos por los técnicos en la materia. Por ejemplo, los compuestos de Fórmula VII se pueden preparar
20 según el procedimiento de D. W. Peace et al., Synthesis, 658 (1971).

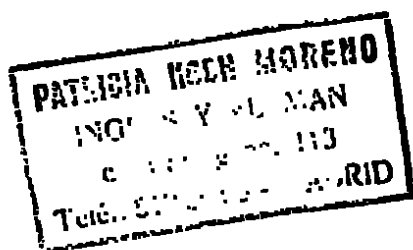
Los compuestos de fórmula III están disponibles comercialmente o se pueden preparar por procedimientos bien conocidos por los técnicos en la materia.

25 El Esquema 3 se refiere a la preparación de compuestos

de fórmula I, en particular aquellos en los que X es oxígeno u -OCH₂-. Haciendo referencia al Esquema 3, se puede obtener un compuesto de fórmula I mediante alquilación de un compuesto de fórmula XI con un fenol adecuado de fórmula HOAr¹-Y-Z según el procedimiento de O. Mitsunobu (Synthesis, 1 (1981)) o por alquilación con un agente alquilante adecuado de fórmula L³CH₂Ar¹-Y-Z, donde L³ es un grupo saliente como halo, p-tolilsulfoniloxi (OTs) o metilsulfoniloxi (OMs), preferiblemente halo, lo más preferible cloro o bromo, en un disolvente adecuado como N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano o acetonitrilo en presencia de una base adecuada como hidruro sódico, carbonato potásico, trietilamina, piridina o trietanolamina. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 50°C, preferiblemente a aproximadamente 20°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

Los compuestos de fórmula XI se pueden preparar a partir de compuestos de fórmula X según el procedimiento de J. A. Vida et al., J. Med. Chem., 17, 732 (1974).

Los compuestos de fórmula X se pueden preparar a partir de un compuesto de fórmula XII mediante reacción con una base adecuada, en presencia de un agente alquilante adecuado R¹L⁴ y un disolvente, como se describe en Biehl et al., J. Het. Chem., 23, 9 (1986). Las bases adecuadas incluyen hidruro



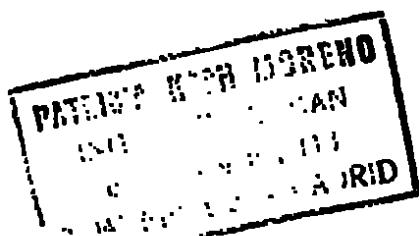
50 41

-42-

sódico, carbonato potásico, trietilamina, piridina o trietanolamina; lo más preferible, trietanolamina. Agentes alquilantes adecuados incluyen aquellos en los que L' es halo, p-tolilsulfonilo (OTs) o metilsulfonilo (OMs),
5 preferiblemente halo, lo más preferible cloro o bromo; o agentes alquilantes tales como las sales de Eschenmoser; epóxidos o aziridinas electrófilas sustituidas de forma adecuada. Los disolventes adecuados dependen de la base usada pero se pueden elegir de N,N-dimetilformamida,
10 tetrahidrofurano, acetonitrilo y agua. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 30°C, preferiblemente de aproximadamente 20°C a aproximadamente 25°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

15 Los compuestos de fórmula XII están disponibles de forma comercial o se pueden preparar fácilmente por un técnico en la materia según los procedimientos revisados en The Organic Chemistry of Drug Synthesis, D. Lednicer and L. A. Mitscher, Volumen 1, páginas 167 a 277 y las referencias citadas en el
20 mismo.

El Esquema 4 se refiere a la preparación de compuestos de fórmula I, en los que X es azufre o -SCH₂-, o sus derivados oxidados >SO₂, >SO, -SO₂CH₂-, -SOCH₂-. Haciendo referencia al Esquema 4, dicho compuesto de fórmula I se
25 puede obtener por alquilación del anillo de pirimidina-2,4,6-



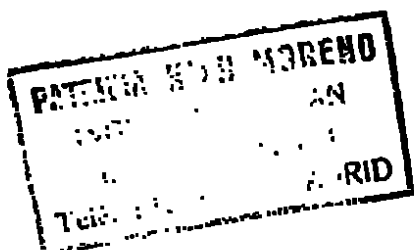
57
40

-43-

triona de un compuesto de fórmula XIV (en el que R^1 y R^2 son hidrógeno) con un agente alquilante adecuado L^3R^1 o L^3R^2 , siendo L^3 un grupo saliente como halo, p-tolilsulfoniloxi (OTs) o metilsulfoniloxi (OMs), preferiblemente halo, lo más
5 preferible cloro o bromo en un disolvente adecuado como N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano o acetonitrilo en presencia de una base adecuada como hidruro sódico, carbonato potásico, trietilamina, piridina o trietanolamina. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de
10 aproximadamente 20°C a aproximadamente 70°C, preferiblemente a aproximadamente 20°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

Los compuestos de fórmula XIV se pueden preparar por alquilación de un compuesto de fórmula X con un disulfuro
15 adecuado de fórmulas $(SAr^1-Y-Z)_2$ o $(SCH_2Ar^1-Y-Z)_2$ en un disolvente adecuado como N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano o acetonitrilo en presencia de una base adecuada como hidruro sódico, carbonato potásico, trietilamina, piridina o trietanolamina. La reacción anterior
20 se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 70°C, preferiblemente a aproximadamente 20°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

Los disulfuros $(SAr^1-Y-Z)_2$ o $(SCH_2Ar^1-Y-Z)_2$ se pueden
25 preparar a partir de los tioles correspondientes $HSAr^1-Y-Z$ o



-45-

compuestos básicos de esta invención son los que forman sales de adición de ácidos no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, tales como las sales clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato o bisulfato, fosfato o fosfato ácido, acetato, lactato, citrato o citrato ácido, tartrato o bitartrato, succinato, maleato, fumarato, gluconato, sacarato, benzoato, metanosulfonato y pamoato [es decir, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)].

Los compuestos de fórmula I que son de naturaleza ácida pueden formar sales de adición de bases con diferentes cationes farmacológicamente aceptables. Ejemplos de tales sales incluyen las sales de metales alcalinos y de metales alcalinotérreos y, en particular, las sales de sodio y de potasio. Estas sales se preparan todas por técnicas convencionales. Las bases químicas que se usan como reactivos para preparar las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables de esta invención son aquellas que forman sales de bases no tóxicas con los compuestos ácidos de fórmula I descritos en la presente. Estas sales de base no tóxicas incluyen las sales derivadas de cationes farmacológicamente aceptables como el sodio, potasio, calcio y magnesio y similares. Estas sales se pueden preparar fácilmente tratando el compuesto ácido correspondiente con una solución acuosa que contiene los cationes farmacológicamente aceptables

-46-

deseados, y luego evaporando la solución resultante a sequedad, preferiblemente a presión reducida.

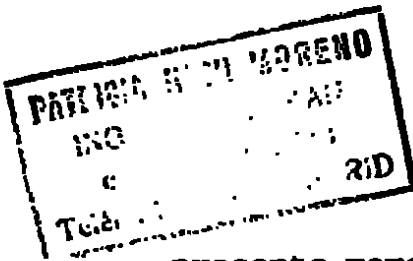
Como alternativa, éstas se pueden preparar además mezclando soluciones en alcoholes inferiores de los
5 compuestos ácidos y el alcóxido de metal alcalino deseado y, seguidamente, evaporando la solución resultante a sequedad de la misma forma que antes. En cualquier caso, preferiblemente se emplean cantidades estequiométricas de los reactivos con el fin de asegurar la finalización de la
10 reacción y los máximos rendimientos del producto final deseado.

ENSAYOS BIOLÓGICOS

La capacidad de los compuestos de fórmula I o sus sales
15 farmacéuticamente aceptables (en lo sucesivo denominados compuestos de la presente invención) para inhibir metaloproteinasas de la matriz o reprotisina de mamífero y, por consiguiente, demostrar su eficacia para tratar enfermedades caracterizadas por actividad de metaloproteinasa
20 o de reprotisina de mamífero (tal como la producción de factor de necrosis tumoral) se muestra por los siguientes ensayos *in vitro*.

Ensayos de MMP

Por inhibidores selectivos de colagenasa-3
25 (metaloproteinasa de la matriz 13) tal como se usa en la



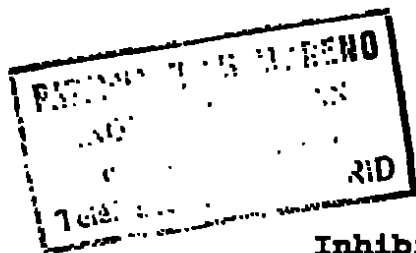
61 \$

-47-

presente memoria, se entiende agentes que presentan al menos una selectividad de 100 veces para la inhibición de la actividad de la enzima colagenasa-3 respecto a la actividad de la enzima colagenasa-1 y una potencia inferior a 100 nM como se define por los resultados de IC_{50} de los ensayos de fluorescencia de MMP-13/MMP-1 descritos a continuación. Los inhibidores selectivos de colagenasa-3 se pueden identificar evaluando los inhibidores de la presente invención por los ensayos de fluorescencia de MMP-13/MMP-1 descritos a continuación y seleccionando aquellos agentes con relaciones de IC_{50} para la inhibición MMP-13/MMP-1 superiores o iguales a 100 y una potencia inferior a 100 nM.

Por inhibidores no selectivos de colagenasa, tal como se usa en la presente memoria, se entiende agentes que presentan una selectividad inferior a 100 veces para la inhibición de la actividad de la enzima colagenasa-3 respecto a la actividad de la enzima colagenasa-1 o una potencia superior a 100nM como se define por los resultados de IC_{50} de los ensayos de fluorescencia de MMP-13/MMP-1 descritos a continuación.

La capacidad de los inhibidores de colagenasa para inhibir la actividad de colagenasa es bien conocida en la técnica. Los siguientes ensayos se pueden usar para identificar inhibidores de las metaloproteinasas de la matriz.



to 62

Inhibición de collagenasa humana (MMP-1)

Se activa collagenasa humana recombinante con tripsina. La cantidad de tripsina se optimiza para cada lote de collagenasa-1, aunque una reacción típica usa la siguiente 5 relación: 5 μ g de tripsina por 100 μ g de collagenasa. La tripsina y la collagenasa se incuban a temperatura ambiente durante 10 minutos y se añade después un exceso de cinco veces (50 mg/10 mg de tripsina) de inhibidor de tripsina de soja.

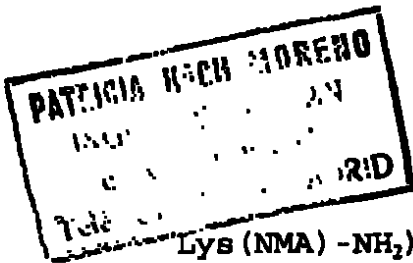
- 10 Se preparan soluciones madre (10 mM) de inhibidores en dimetil sulfóxido y se diluyen después usando el siguiente esquema:

10 mM $\rightarrow$ 120 μ M $\rightarrow$ 12 μ M $\rightarrow$ 1,2 μ M $\rightarrow$ 0,12 μ M

- Después se añaden, por triplicado, veinticinco 15 microlitros de cada concentración a pocillos apropiados de una placa Microfluor de 96 pocillos. La concentración final de inhibidor será una dilución 1:4 después de la adición de enzima y substrato. Se disponen controles positivos (con 20 enzima y sin inhibidor) en los pocillos D7-D12 y controles negativos (sin enzima y sin inhibidor) en los pocillos D1-D6.

Se diluye collagenasa-1 hasta 240 ng/ml y se añaden después 25 μ l a pocillos apropiados de la placa Microfluor. La concentración final de collagenasa en el ensayo es 60 ng/ml.

- 25 Se prepara substrato (DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-



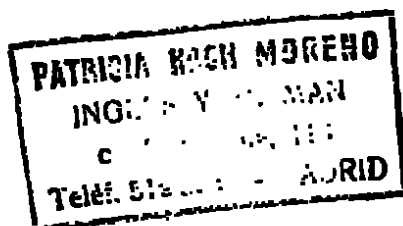
63
62

-49-

Lys (NMA) -NH₂) como solución madre 5 mM en dimetilsulfóxido y se diluye después hasta 20 μ M en tampón del ensayo. El ensayo se inicia por la adición de 50 μ l de substrato por pocillo de la placa Microfluor para dar una concentración final de 5 10 μ M.

Se toman lecturas de la fluorescencia (360 nm en excitación y 460 nm en emisión) a tiempo 0 y después a intervalos de 20 minutos. El ensayo se realiza a temperatura ambiente con un tiempo típico de ensayo de 3 horas.

10 Se construye después una gráfica de la fluorescencia en función del tiempo, tanto para las muestras que contienen colagenasa como para las del ensayo en blanco (en las determinaciones por triplicado, se determina el valor medio). Para determinar valores de la IC₅₀ se elige un tiempo que
15 proporciona una buena señal (al menos cinco veces el valor del blanco) y que está en la parte lineal de la curva (normalmente alrededor de 120 minutos). Los valores correspondientes al tiempo cero se usan como blanco para cada compuesto a cada concentración y estos valores se restan de
20 los datos correspondientes a 120 minutos. Los datos se representan gráficamente como concentración de inhibidor frente a porcentaje de control (fluorescencia del inhibidor dividida por fluorescencia de colagenasa sola y multiplicada por 100). Se determinan las IC₅₀ a partir de la concentración
25 de inhibidor que da una señal que es el 50% de la del



65 4

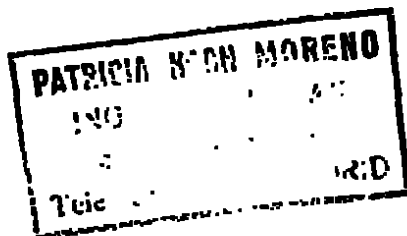
-51-

(con enzima, sin inhibidor).

Se diluye la enzima activada hasta 100 ng/ml en tampón de ensayo, se añaden 25 μ l por pocillo a los pocillos apropiados de la placa de microvaloración. La concentración de enzima final en el ensayo es de 25 ng/ml (0,34 nM).

Se diluye una solución madre 5 mM en dimetilsulfóxido de sustrato (Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂) en tampón de ensayo hasta 20 μ M. El ensayo se inicia mediante la adición de 50 μ l de sustrato diluido proporcionando una concentración final de ensayo de sustrato 10 μ M. A tiempo cero, se toman inmediatamente lecturas de fluorescencia (320 en excitación y 390 en emisión) y posteriormente se toman cada quince minutos a temperatura ambiente con un lector de placas PerSeptive Biosystems CytoFluor Multi-Well Plate Reader con la ganancia a 90 unidades.

El valor medio de la fluorescencia de la enzima y del blanco se representan frente al tiempo. Para las determinaciones de la IC₅₀ se elige un punto de los primeros valores de tiempo en la parte lineal de la curva. El punto a tiempo cero para cada compuesto y cada dilución se resta del punto a último tiempo y se expresan los datos como porcentaje del control de la enzima (fluorescencia del inhibidor dividida por fluorescencia del control de enzima positivo y multiplicada por 100). Los datos se representan como concentración de inhibidor frente a porcentaje del



66 \$

-52-

control de la enzima. Las IC_{50} se definen como la concentración de inhibidor que produce una señal que es el 50% de la del control de enzima positivo.

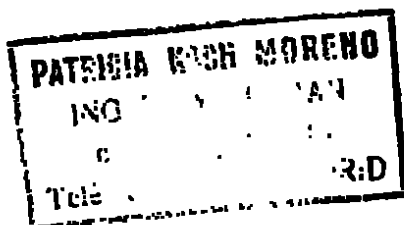
Inhibición de la actividad de la estromelisina (MMP-3)

- 5 Se activa estromelisina humana recombinante (MMP-3, estromelisina-1) durante 20 a 22 horas con acetato p-aminofenil-mercúrico 2 mM (de una solución madre 100 mM recién preparada en NaOH 0,2N) a 37°C.

10 Se diluyen en serie soluciones madre de inhibidores 10 mM en dimetilsulfóxido en tampón de ensayo (TRIS 50 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, CaCl₂ 10 mM y BRIJ-35 al 0,05% (vol/vol)) usando el esquema siguiente:

10 mM → 120 μM → 12 μM → 1,2 μM → 0,12 μM

- 15 Si es necesario, se realizan otras diluciones adicionales siguiendo este mismo esquema. En cada ensayo, se llevan a cabo un mínimo de cuatro concentraciones de inhibidor para cada compuesto. Se añaden entonces 25 μl de cada concentración a pocillos por triplicado de una placa Microfluor de 96 pocillos con fondo en U negra. Como el
20 volumen final del ensayo es de 100 μl, las concentraciones finales de inhibidor son el resultado de una dilución 1:4 adicional (es decir, 30 μM → 3 μM → 0,3 μM → 0,03 μM, y así sucesivamente). También se preparan por triplicado un blanco (sin enzima y sin inhibidor) y un control positivo de enzima
25 (con enzima, sin inhibidor).



67 46

-53-

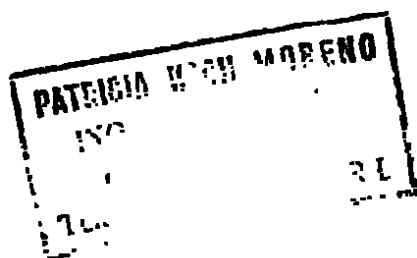
Se diluye la enzima activada hasta 200 ng/ml en tampón de ensayo, se añaden 25 μ l por pocillo a los pocillos apropiados de la placa de microvaloración. La concentración de enzima final en el ensayo es de 50 ng/ml (0,875 nM).

- 5 Se diluye una solución madre 10 mM en dimetilsulfóxido de sustrato (Mca-Arg-Pro-Lys-Pro-Val-Glu-Nva-Trp-Arg-Lys(Dnp)-NH₂) en tampón de ensayo hasta 6 μ M. El ensayo se inicia mediante la adición de 50 μ l de sustrato diluido proporcionando una concentración final de ensayo de sustrato
- 10 3 μ M. A tiempo cero, se toman inmediatamente lecturas de fluorescencia (320 en excitación y 390 en emisión) y posteriormente se toman cada quince minutos a temperatura ambiente con un lector de placas PerSeptive Biosystems CytoFluor Multi-Well Plate Reader con la ganancia a 90
- 15 unidades.

El valor medio de la fluorescencia de la enzima y del blanco se representan frente al tiempo. Para las determinaciones de la IC₅₀ se elige un punto de los primeros valores de tiempo en la parte lineal de la curva. El punto

20 a tiempo cero para cada compuesto y cada dilución se resta del punto a último tiempo y se expresan los datos como porcentaje del control de la enzima (fluorescencia del inhibidor dividida por fluorescencia del control de enzima positivo y multiplicada por 100). Los datos se representan

25 como concentración de inhibidor frente a porcentaje del



68

60

-54-

control de la enzima. Las IC_{50} se definen como la concentración de inhibidor que produce una señal que es el 50% de la del control de enzima positivo.

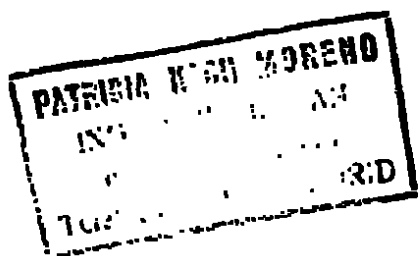
Inhibición de gelatinasa humana de 92 kD (MMP-9)

- 5 La inhibición de la actividad de gelatinasa de 92 kD (MMP-9) se ensaya usando el substrato Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂ (10 μ M) en condiciones similares a las descritas antes para la inhibición de la colagenasa humana (MMP-1).
- 10 Se activa gelatinasa humana recombinante de 92 kD (MMP-9, gelatinasa B) durante 2 horas con acetato p-aminofenil mercúrico 1 mM (de una solución madre 100 mM recién preparada en NaOH 0,2N) a 37°C.

Las soluciones madre 10 mM en dimetilsulfóxido de
15 inhibidores se diluyen en serie en tampón de ensayo (TRIS 50 mM, pH 7,5, NaCl 200 mM, CaCl₂ 5 mM, ZnCl₂ 20 μ M y BRIJ-35 al 0,02% (vol/vol)) usando el siguiente esquema:

10 mM $\rightarrow$ 120 μ M $\rightarrow$ 12 μ M $\rightarrow$ 1,2 μ M $\rightarrow$ 0,12 μ M

- Las diluciones posteriores se realizan según es
20 necesario siguiendo este mismo esquema. En cada ensayo, se realizan un mínimo de cuatro concentraciones de inhibidor para cada compuesto. Se añaden entonces 25 μ l de cada concentración a pocillos por triplicado de una placa Microfluor con fondo en U de 96 pocillos negra. Como el
25 volumen final del ensayo es 100 μ l, las concentraciones



69

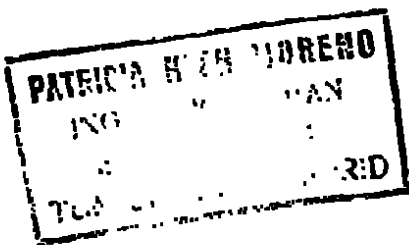
-55-

5 finales de inhibidor son el resultado de otra dilución 1:4 (es decir, $30 \mu\text{M} \rightarrow 3 \mu\text{M} \rightarrow 0,3 \mu\text{M} \rightarrow 0,03 \mu\text{M}$, y así sucesivamente). También se prepara por triplicado un ensayo blanco (sin enzima, sin inhibidor) y un control de enzima positivo (con enzima, sin inhibidor).

La enzima activada se diluye hasta 100 ng/ml en tampón de ensayo, se añaden $25 \mu\text{l}$ por pocillo a los pocillos apropiados de la placa de microvaloración. La concentración final de enzima en el ensayo es 25 ng/ml ($0,27 \text{ nM}$).

10 Se diluye en el tampón de ensayo hasta $20 \mu\text{M}$ una solución madre 5 mM en dimetil sulfoxido de substrato (Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂). El ensayo se inicia mediante la adición de $50 \mu\text{l}$ de substrato diluido proporcionando una concentración final de ensayo de substrato
15 $10 \mu\text{M}$. A tiempo cero, se toma una lectura de fluorescencia (320 en excitación; 390 en emisión) inmediatamente y se toman posteriores lecturas cada quince minutos a temperatura ambiente con un Lector de Placas PerSeptive Biosystems CytoFluor Multi-Well Plate Reader con la ganancia a 90
20 unidades.

El valor promedio de la fluorescencia de la enzima y del blanco se representan frente al tiempo. Para las determinaciones de la IC₅₀ se elige uno de los primeros valores de tiempo de la parte lineal de esta curva. El punto
25 a tiempo cero para cada compuesto y cada dilución se resta



70 50

-56-

del punto a último tiempo anterior y los datos se expresan entonces como porcentaje de control de la enzima (fluorescencia del inhibidor dividida por fluorescencia del control de enzima positivo x 100). Los datos se representan
5 como concentración de inhibidor frente a porcentaje de control de la enzima. Las IC_{50} se definen como la concentración de inhibidor que origina una señal que es el 50% de la del control de enzima positivo.

Inhibición de MMP-13

10 Se activa MMP-13 humana recombinante con APMA (acetato p-aminofenilmercúrico) 2 mM durante 1,5 horas a 37°C y se diluye hasta 400 mg/ml en tampón de ensayo (Tris 50 mM, pH 7,5, cloruro sódico 200 mM, cloruro cálcico 5 mM, cloruro de cinc 20 μ M y Brij al 0,02%). En una placa Microfluor de 96
15 pocillos se añaden veinticinco microlitros de enzima diluida por pocillo. La enzima se diluye después a una relación 1:4 en el ensayo por adición de inhibidor y sustrato para dar una concentración final en el ensayo de 100 mg/ml.

Se preparan soluciones madre 10 mM de inhibidores en
20 dimetilsulfóxido y se diluyen después en tampón de ensayo según el esquema de dilución de inhibidores del ensayo de inhibición de collagenasa humana (MMP-1). En la placa Microfluor se añaden, por triplicado, veinticinco microlitros de cada concentración. Las concentraciones finales en el
25 ensayo son 30 μ M, 3 μ M, 0,3 μ M y 0,03 μ M.

71 0

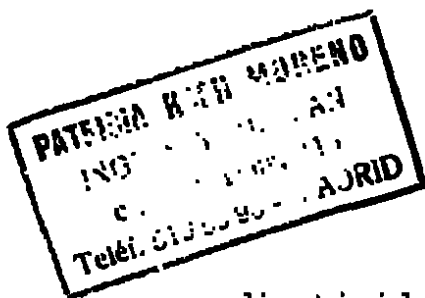
Se prepara el sustrato (DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH₂) como en el ensayo de inhibición de colagenasa humana (MMP-1) y se añaden 50 µl a cada pocillo para dar una concentración final en el ensayo de 10 µM. Se toman lecturas de la fluorescencia (360 nm en excitación y 450 nm en emisión) en el tiempo 0 y a intervalos de 5 minutos durante 1 hora.

Los controles positivos comprenden enzima y sustrato sin inhibidor y los blancos solo sustrato.

Se determinan las IC₅₀ como en el ensayo de inhibición de colagenasa humana (MMP-1). Si las IC₅₀ son inferiores a 0,03 µM, entonces los inhibidores se ensayan a concentraciones finales de 0,3 µM, 0,03 µM, 0,003 µM y 0,0003 µM.

Ensayo de MMP-13 en película de colágeno

Se marca colágeno de rata tipo I con anhídrido acético marcado con ¹⁴C (T. E. Cawston and A. J. Barrett, Anal. Biochem., 99, 340-345 (1979)) y se usa para preparar placas de 96 pocillos que contenían películas de colágeno radiomarcado (Barbara Johnson-Wint, Anal. Biochem., 104, 175-181 (1980)). Cuando se añade al pocillo una solución que contiene colagenasa, la enzima escinde el colágeno insoluble que se desenrolla y por tanto se solubiliza. La actividad de colagenasa es directamente proporcional a la cantidad de colágeno solubilizado, determinado por la proporción de



72 1

-58-

radiactividad liberada en el sobrenadante, medida en un contador de centelleo convencional. Los inhibidores de la colagenasa son por tanto compuestos que reducen el recuento de radiactividad liberada con respecto a los controles sin la presencia de inhibidor. Una realización específica de este ensayo se describe a continuación con detalle.

Para determinar la selectividad de los compuestos por MMP-13 frente a MMP-1 usando colágeno como substrato se usa el siguiente procedimiento. Se activa proMMP-13 o proMMP-1 humanas recombinantes conforme a los procedimientos descritos antes. La MMP-13 o MMP-1 activadas se diluyen hasta 0,6 ug/ml con tampón (Tris 50 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, CaCl₂ 10 mM, ZnCl₂ 1 uM, Brij-35 al 0,05%, azida de sodio al 0,02%).

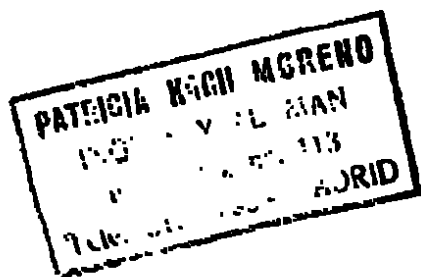
Se preparan soluciones madre de los compuestos de ensayo (10 mM) en dimetilsulfóxido. Las diluciones de los compuestos de ensayo en el tampón Tris, anterior, se preparan hasta 0,2, 2,0, 20, 200, 2000 y 20000 nM.

Se pipetea 100 µl de la dilución de fármaco apropiada y 100 µl de enzima diluida en los pocillos de una placa de 96 pocillos que contienen películas de colágeno marcadas con colágeno ¹⁴C. La concentración final de enzima es 0,3 µg/ml, mientras que la concentración final de fármaco es 0,1, 1,0, 10, 100, 1000 nM. Cada concentración de fármaco y control se analiza por triplicado. También se preparan controles por triplicado en los que no hay enzima y con enzima en ausencia

de compuesto.

Las placas se incuban a 37°C durante un período de tiempo tal que aproximadamente el 30-50% del colágeno disponible se solubilice - determinado por recuento adicional
5 de los pocillos de control a diversos tiempos. En la mayoría de los casos, son necesarias aproximadamente 9 horas de incubación. Cuando el ensayo ha progresado suficientemente, se retira el sobrenadante de cada pocillo y se recuenta en un contador de centelleo. Los recuentos de fondo
10 (determinados por los recuentos en los pocillos sin enzima) se restan de cada muestra y se calcula el % liberado en relación a los pocillos con enzima sola y sin inhibidor. Se promedian los valores por triplicado para cada tiempo y se representan los datos como liberación porcentual frente a
15 concentración de fármaco. Las IC₅₀ se determinan a partir del punto en el que se obtuvo una inhibición del 50% de la liberación de colágeno radiomarcado.

Para determinar la identidad de las colagenasas activas en medio condicionado de cartílago, se llevaron a cabo
20 ensayos usando colágeno como sustrato, medio condicionado de cartílago que contenía actividad de colagenasa e inhibidores de diferente selectividad. El medio condicionado de cartílago se recogió durante el tiempo en el que se produjo la degradación del colágeno y por tanto es
25 representativo de las colagenasas responsables de la



74 13

-60-

degradación del colágeno. Los ensayos se llevaron a cabo como se ha explicado antes salvo porque en lugar de MMP-13 o MMP-1 recombinante, el medio condicionado de cartílago fue la fuente de enzima.

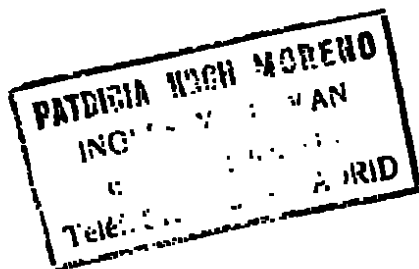
5 Degradación de colágeno de cartílago procedente de cartílago nasal bovino inducida por IL-1

Este ensayo usa explantes de cartílago nasal bovino que se usan corrientemente para ensayar la eficacia de diversos compuestos para inhibir la degradación de proteoglucano
10 inducida por IL-1 o la degradación de colágeno inducida por IL-1. El cartílago nasal bovino es un tejido que es muy similar al cartílago articular, es decir, condrocitos rodeados por una matriz que fundamentalmente es de colágeno tipo II y agrecano. El tejido se usa porque: (1) es muy
15 similar al cartílago articular, (2) está fácilmente disponible, (3) es relativamente homogéneo y (4) se degrada con una cinética predecible después de la estimulación con IL-1.

Se han usado dos variantes de este ensayo para ensayar
20 los compuestos. Ambas variantes proporcionan datos similares. A continuación se describen las dos variantes:

Variante 1

Se colocan tres tapones de cartílago nasal bovino (aproximadamente de 2 mm de diámetro x 1,5 mm de longitud)
25 en cada uno de los pocillos de una placa de cultivo tisular

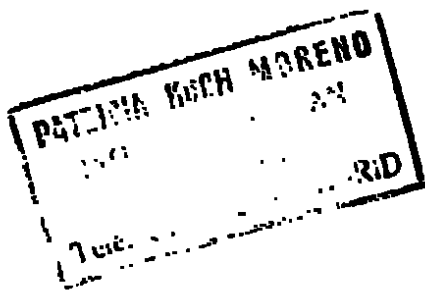


75 J

-61-

de 24 pocillos. Se añade entonces 1 ml de medio exento de suero a cada pocillo. Los compuestos se preparan como soluciones madre 10 mM en DMSO y luego se diluyen apropiadamente en medio exento de suero hasta las 5 concentraciones finales, por ejemplo 50, 500 y 5000 nM. Cada concentración se ensaya por triplicado.

Se añade, por triplicado, IL-1 α humana recombinante (IL-1) (5 ng/ml) a los pocillos de control y a cada uno de los pocillos que contiene fármaco. También se preparan pocillos 10 de control por triplicado a los que no se añade ni fármaco ni IL-1. El medio se retira y se añaden medio que contiene IL-1 y concentraciones de fármaco apropiadas los días 6, 12, 18 y 24 o cada 3-4 días, si fuera necesario. Los medios retirados en cada tiempo se almacenan a -20°C para el 15 análisis posterior. Cuando el cartílago en los pocillos que únicamente contienen IL-1 se ha reabsorbido casi totalmente (aproximadamente el día 21), finaliza el experimento. El medio se retira y se almacena. Se agrupan alícuotas (100 μ l) de cada pocillo a cada tiempo, se digieren con papaína y 20 luego se analizan para determinar el contenido de hidroxiprolina. La hidroxiprolina de fondo (media de los pocillos sin IL-1 y sin fármaco) se resta de cada punto de datos y se calcula la media para cada uno por triplicado. Los datos se expresan entonces como porcentaje del valor promedio 25 de IL-1 solo y se representan gráficamente. A partir de este



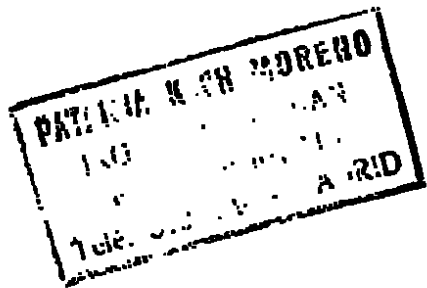
76 5

-62-

gráfico se determinan las IC_{50} .

Variante 2

La disposición experimental es la misma que se ha descrito para la Variante 1, hasta el día 12. El día 12, se
5 retira el medio condicionado de cada pocillo y se congela. A continuación, se añade 1 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) que contenía $0,5 \mu\text{g/ml}$ de tripsina a cada pocillo y se continúa la incubación durante 48 horas a 37°C . Después de 48 horas de incubación en tripsina, se retira la
10 solución de PBS. Se agrupan alícuotas ($50 \mu\text{l}$) de la solución de PBS/tripsina y los dos tiempos previos (días 6 y 12), se hidrolizan y se determina el contenido en hidroxiprolina. La hidroxiprolina de fondo (media de los pocillos sin IL-1 y sin fármaco) se resta de cada punto de datos y se calcula la
15 media de cada uno por triplicado. Los datos se expresan entonces como porcentaje del valor promedio de IL-1 solo y se representan gráficamente. A partir de este gráfico se determinan las IC_{50} . En esta variante, el lapso de tiempo del experimento es considerablemente menor. La adición de
20 tripsina durante 48 horas después de 12 días de estimulación con IL-1 libera posiblemente todo el colágeno tipo II que haya sido dañado por la actividad de colagenasa pero que todavía no se ha liberado de la matriz del cartílago. En ausencia de estimulación con IL-1, el tratamiento con
25 tripsina produce solo bajos niveles de fondo de degradación



77 2

de colágeno en explantes de cartílago.

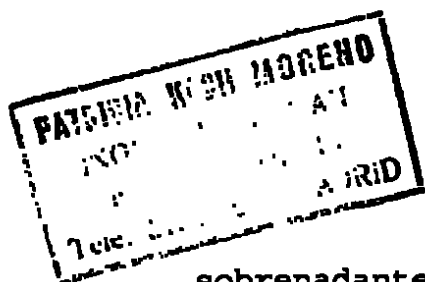
Inhibición de la producción de TNF

La capacidad de los compuestos o de las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para inhibir la producción de TNF y, en consecuencia, demostrar su eficacia para tratar enfermedades que conllevan la producción de TNF se muestra por el siguiente ensayo *in vitro*:

Ensayo de monocitos humanos

Se aislaron células humanas mononucleares de sangre humana anticoagulada, usando una técnica de separación de Ficoll-hypaque de una etapa. (2) Las células mononucleares se lavaron tres veces en solución salina de Hanks equilibrada (HBSS) con cationes divalentes y se volvieron a suspender a una densidad de $2 \times 10^6/\text{ml}$ en HBSS que contenía un 1% de BSA. Los recuentos diferenciales determinados usando el analizador Abbott Cell Dyn 3500 indicaron que, en estas preparaciones, los monocitos variaban de 17 a 24% de las células totales.

Se colocaron partes alícuotas de 180 μ l de la suspensión celular en placas de 96 pocillos de fondo plano (Costar).
20 Adiciones de compuestos y de LPS (concentración final de 100 ng/ml) dieron un volumen final de 200 μ l. Todas las condiciones se realizaron por triplicado. Después de incubar durante cuatro horas a 37°C en un incubador con CO₂ humidificado, se retiraron las placas y se centrifugaron (10
25 minutos a aproximadamente 250xg), se retiraron los líquidos



78

sobrenadantes y se ensayó en ellos el TNFAa usando el estuche R&D ELISA.

Ensayo de agrecanasa

Se aislaron por digestión secuencial con tripsina y
5 colagenasa condrocitos primarios porcinos de cartílago de
articulación, seguido por digestión durante toda la noche con
colagenasa y se cultivaron a una densidad de 2×10^5 células
por pocillo en placas de 48 pocillos con $5 \mu\text{Ci/ml}$ de azufre
 ^{35}S (1000 Ci/mmol) en las placas revestidas de colágeno tipo
10 I. Se dejó incorporar el marcador en la matriz de
proteoglucano de las células (aproximadamente 1 semana) a
 37°C , en una atmósfera de CO_2 al 5%.

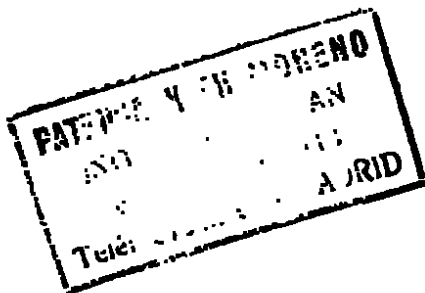
La noche antes de iniciarse el ensayo, se lavaron las
monocapas de condrocitos dos veces en DMEM/PSF al 1%/G y
15 luego se dejaron incubar en DMEM/FBS al 1% recién preparado
durante toda la noche.

A la mañana siguiente, los condrocitos se lavaron una
vez en DMEM/PSF al 1%/G. El líquido de lavado final se dejó
reposar en las placas en el incubador mientras se preparaban
20 las diluciones.

Los medios y diluciones se pueden preparar tal y como
se describe en la siguiente Tabla.

Medios de control	DMEM solo (medios de control)
Medios IL-1	DMEM + IL-1 (5 ng/ml)
5 Diluciones de fármacos	Preparar todas las soluciones madre de los compuestos a 10 mM en DMSO Preparar una solución madre 100 uM de cada compuesto en DMEM en placa de 96 pocillos. Almacenar en el congelador durante toda la noche. El día siguiente realizar diluciones en serie en DMEM con IL-1 hasta 5 uM, 500 nM y 50 nM. Aspirar el líquido de lavado final de los pocillos y añadir 50 ul de compuesto de las diluciones anteriores hasta 450 ul de medios IL-1 en los pocillos apropiados de las placas de 48 pocillos. Las concentraciones finales de compuesto son 500 nM, 50 nM y 5 nM. Todas las muestras se realizaron por triplicado con muestras de control y de IL-1 solo en cada placa.

Las placas se marcan y solo se usan los 24 pocillos
 10 interiores de la placa. En una de las placas, se designan
 varias columnas como IL-1 (sin fármaco) y Control (sin IL-1,
 sin fármaco). Estas columnas de control se recuentan de forma
 periódica para controlar la liberación de ³⁵S-proteoglucano.
 Los medios de control e IL-1 se añaden a los pocillos (450
 15 ul) seguidos por el compuesto (50 ul) con el fin de iniciar



80 \$

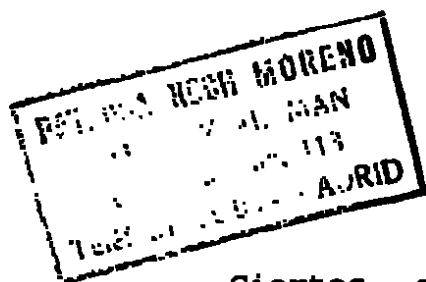
-66-

el ensayo. Las placas se incuban a 37°C con una atmósfera de CO₂ al 5%.

El ensayo termina al llegar a una liberación de 40-50% (cuando los CPM de los medios IL-1 son 4-5 veces los de los 5 medios de control) determinada por recuento de centelleo líquido (LSC) de las muestras (9-12 horas). Los medios se retiran de todos los pocillos y se colocan en tubos de centelleo. Se añade líquido de centelleo y se toman los recuentos radiactivos (LSC). Para solubilizar las capas de 10 células, se añaden a cada pocillo 500 ul de tampón de digestión de papaína (Tris 0,2 M, pH 7,0, EDTA 5 mM, DTT 5 mM y 1 mg/ml de papaína). Las placas con solución de digestión se incuban a 60°C durante toda la noche. La capa de células se retira de las placas al día siguiente y se 15 coloca en los tubos de centelleo. Se añade líquido de centelleo y se realiza el recuento de las muestras (LSC).

Se determina en cada pocillo el porcentaje de recuentos emitidos de los totales presentes. Se realiza el promedio de las muestras por triplicado, restando de cada pocillo el 20 valor de fondo del control. El porcentaje de inhibición de compuesto se basa en muestras de IL-1 como inhibición 0% (100% de los recuentos totales).

Los compuestos de la presente invención que se ensayaron tuvieron IC₅₀ menores que 100 µM, preferiblemente menores que 25 100 nM, en al menos uno de los ensayos descritos antes.



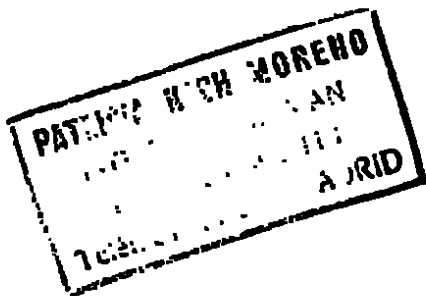
81 2

-67-

Ciertos grupos preferidos de compuestos poseen una selectividad diferencial hacia las diversas MMP o ADAM. Un grupo de compuestos preferidos posee actividad selectiva hacia MMP-13 respecto a MMP-1. Otro grupo preferido de 5 compuestos posee actividad de agrecanasa además de selectividad por MMP-13 respecto a MMP-1.

Para administración a mamíferos, incluyendo seres humanos, para la inhibición de metaloproteinasas de la matriz o reprotisina de mamífero, se pueden usar una diversidad de 10 vías de administración convencionales que incluyen la vía oral, parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular o subcutánea), sublingual, rectal y tópica. En general, los compuestos de la invención (en lo sucesivo los compuestos activos) se pueden administrar en dosificaciones que varían 15 de aproximadamente 0,1 a 25 mg/kg de peso corporal del sujeto que se trata por día, preferiblemente de aproximadamente 0,3 a 5 mg/kg. Preferiblemente, el compuesto activo se administrará por vía oral o parenteral. Sin embargo, se producirá necesariamente alguna variación de la dosis 20 dependiendo del trastorno del sujeto que se trate. El responsable de la administración determinará en cualquier caso la dosificación apropiada para cada sujeto particular.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en una amplia gama de formas de dosificación 25 diferentes, en general, los compuestos terapéuticamente

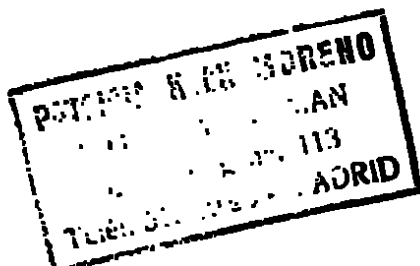


82

-68-

eficaces de esta invención están presentes en dichas formas de dosificación en niveles de concentración que varían de aproximadamente un 5,0% a aproximadamente un 70% en peso.

Para administración oral, pueden emplearse comprimidos
5 que contienen diferentes excipientes como celulosa microcristalina, citrato sódico, carbonato cálcico, fosfato dicálcico y glicina, junto con diferentes disgregantes como almidón (y con preferencia, almidón de maíz, patata o tapioca), ácido algínico y ciertos silicatos complejos, junto
10 con ligantes de granulación como polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina y goma arábiga. Además, a efectos de la preparación de comprimidos, son muy útiles con frecuencia agentes lubricantes como estearato de magnesio, laurilsulfato sódico y talco. También pueden emplearse composiciones
15 sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina; incluyendo además los materiales preferidos a este respecto lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular. Cuando se desean suspensiones acuosas y/o elixires para administración oral,
20 el ingrediente activo se puede combinar con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, materiales colorantes o tintes y, si así se desea, también agentes de emulsión y/o de suspensión, junto con diluyentes como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y diferentes combinaciones de los
25 mismos. En el caso de animales, éstos estarán contenidos



84

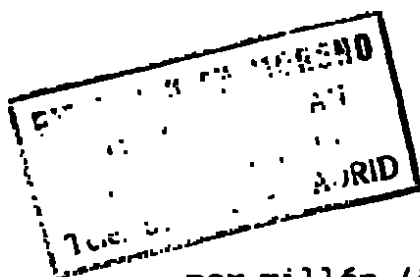
7

-70-

formular también en composiciones rectales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, conteniendo bases convencionales de supositorios como manteca de cacao u otros glicéridos.

5 Para administración intranasal o administración por inhalación, los compuestos activos de la invención se liberan convenientemente en forma de una solución o suspensión desde un recipiente pulverizador de bombeo que es presionado o bombeado por el paciente o como una presentación de
10 pulverizador en aerosol desde un recipiente a presión o un nebulizador, usando un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la
15 dosificación unitaria se puede determinar disponiendo una válvula para liberar una cantidad medida. El recipiente a presión o nebulizador puede contener una solución o suspensión del compuesto activo. Se pueden formular cápsulas o cartuchos (realizados, por ejemplo, en gelatina) para usar
20 en un inhalador o insuflador, que contienen una mezcla en polvo de un compuesto de la invención y una base en polvo adecuada como lactosa o almidón.

 Los siguientes Ejemplos ilustran la preparación de los compuestos de la presente invención. Los puntos de fusión
25 están sin corregir. Los datos de RMN se expresan en partes



85. ~~88~~

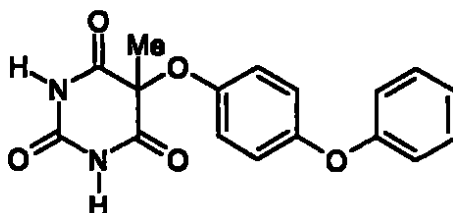
-71-

por millón (δ) y están referidos a la señal de estabilización del deuterio del disolvente de la muestra (deuterocloroformo, a no ser que se indique otro). Los reactivos comerciales se usaron sin purificación adicional. THF se refiere a tetrahidrofurano. DMF se refiere a N,N-dimetilformamida. Cromatografía se refiere a cromatografía en columna realizada usando gel de sílice de 32-63 μ m y llevada a cabo en condiciones de presión de nitrógeno (cromatografía ultrarrápida). Temperatura ambiente se refiere a 20-25°C.

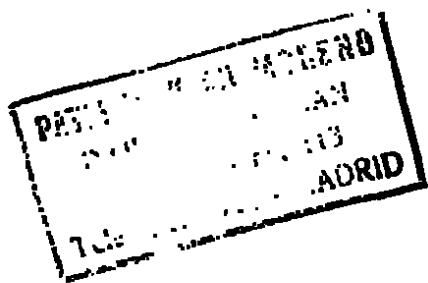
10 Todas las reacciones no acuosas se realizaron en atmósfera de nitrógeno por cuestiones de conveniencia y para maximizar los rendimientos. Concentración a presión reducida significa que se usó un evaporador rotatorio.

EJEMPLO 1

15 **5-Metil, 5-(4'-fenoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona**



20 Se añadió lentamente y de forma cuidadosa sodio (190 mg, 8,26 mM) a etanol absoluto (25 ml) y se agitó hasta que la solución fue homogénea. Se añadió urea (620 mg, 10,32 mM) y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Se añadió gota a gota una solución de 2-metil 2-(4'-fenoxi-fenoxi)malonato de dietilo (1,48 g, 4,13 mM) en etanol absoluto (25 ml) y la



86

-72-

mezcla resultante se calentó a reflujo (6 horas). La reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente, se evaporó hasta sequedad y se repartió entre acetato de etilo (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó, se acidificó hasta pH 1
5 con HCl 1N y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos reunidos se secaron sobre sulfato de magnesio ($MgSO_4$), se filtraron y evaporaron hasta sequedad. El polvo blanco resultante se cristalizó en cloruro de metileno caliente dando el compuesto deseado como un material
10 blanco cristalino (310 mg; véase la Tabla 1 para los datos analíticos).

EJEMPLOS 2 A 9

Los Ejemplos 2 a 9 se prepararon por un procedimiento similar al descrito antes, salvo porque se reemplazó el 2-
15 metil-2-(4'-fenoxi-fenoxi)malonato de dietilo por el malonato apropiado. En la siguiente tabla, Me es metilo, Bu es n-butilo, Ej. N° es el Ejemplo Número y m/z es un peso de ion molecular a baja resolución.

PATRICIA MORENO
AN
TUC. ...
AURID

87 J

Tabla 1

5

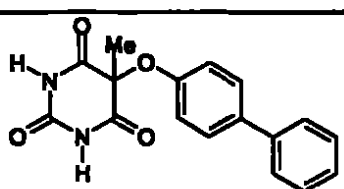
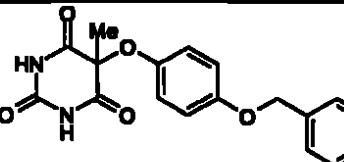
10

15

20

Ej. Nº	Estructura	m/z	Datos de RMN (400MHz)	Punto de fusión °C
1		325,2	δ (d ⁶ -acetona); 1,95 (s, 3H); 2,85 (s, s, 2H); 6,85-7,00 (m, 6H); 7,05 (m, 1H); 7,30-7,35 (m, 2H).	182
2		367,3	δ (d ⁶ -acetona); 0,95 (t, 3H); 1,40 (m, 2H); 1,55 (m, 2H); 2,25 (m, 2H); 2,85 (s, s, 2H); 6,82-7,00 (m, 6H); 7,05 (m, 1H); 7,10-7,15 (m, 2H).	59-60
3		343,2	δ (d ⁶ -acetona); 1,95 (s, 3H); 2,85 (s, s, 2H); 6,85-7,00 (m, 6H); 7,10-7,15 9m, 2H).	187-9
4		385,2	δ (d ⁶ -acetona); 0,95 (t, 3H); 1,40 (m, 2H); 1,55 (m, 2H); 2,25 (m, 2H); 2,85 (s, s, 2H); 6,82-7,00 (m, 6H); 7,10-7,15 (m, 2H).	183
5		309,3	δ (d ⁶ -acetona); 1,97 (s, 3H); 2,80 (s, s, 2H); 6,75-6,78 (dd, 1H); 7,061-7,067 (m, 1H); 7,27-7,48 (m, 5H); 7,57 - 7,59 (d, 2H).	175

5

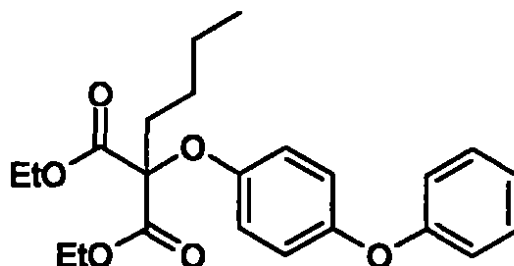
Ej. Nº	Estructura	m/z	Datos de RMN (400MHz)	Punto de fusión °C
6		309,3	δ (d^4 -acetona): 1,95 (s, 3H); 6,88-6,89 (dd, 1H); 7,27-7,82 (m, 8H).	200-202
7		339,1	δ (d^4 -acetona): 1,88 (s, 3H); 5,03 (s, 2H); 6,77-6,91 (m, 4H); 7,30-7,45 (m, 5H).	-

10

Preparación 1:

2-n-butil-2-(4'-fenoxi-fenoxi)malonato de dietilo

15



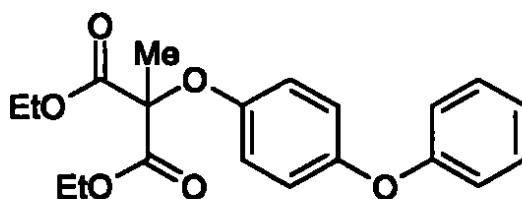
Se añadió lentamente y de forma cuidadosa sodio (112 mg) a etanol absoluto (25 ml) y se agitó hasta que se observó una solución homogénea. Se añadió lentamente 4-fenoxifenol (910 mg) (Aldrich Chemical Company) y la mezcla resultante se agitó (30 minutos, temperatura ambiente); se añadió, gota a gota, dietil- α -bromo- α -n-butil-malonato (1,44 g) (Véase la preparación 3) en etanol absoluto (25 ml) y la mezcla resultante se calentó hasta reflujo (1 hora). La mezcla de



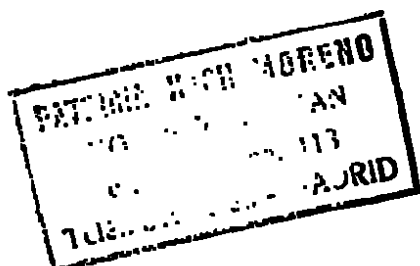
reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se evaporó hasta sequedad y se repartió entre acetato de etilo (100 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con agua (3 x 100 ml), se secó (MgSO_4), se filtró y se evaporó dando el compuesto deseado como un aceite transparente (1,82 g).
RMN de ^1H (CDCl_3): δ 0,85-0,88 (t, 3H); 1,21-1,25 (t, 6H); 1,31-1,39 (m, 4H); 2,2-2,27 (m, 2H); 4,23-4,28 (q, 4H); 6,80-6,95 (m, 6H); 7,03-7,08 (t, 1H); 7,25-7,31 (q, 2H); $m/z = 401$ (M^+).

10

15



Se añadió lentamente y de forma cuidadosa sodio (112 mg) a etanol absoluto (25 ml) y se agitó hasta que se observó una solución homogénea. Se añadió lentamente 4-fenoxifenol (910 mg) (Aldrich Chemical Company) y la mezcla resultante se agitó (30 minutos, temperatura ambiente); se añadió, gota a gota, dietil- α -bromo- α -metil-malonato (1,23 g) (Aldrich Chemical Company) en etanol absoluto (25 ml) y la mezcla resultante se calentó hasta reflujo (1 hora). La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se evaporó hasta sequedad y se repartió entre acetato de etilo (100 ml)



90 52

-76-

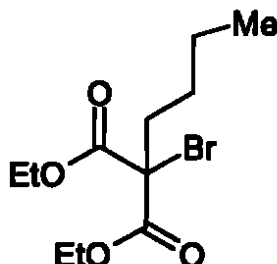
y agua (100 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con agua (3 x 100 ml), se secó (MgSO_4), se filtró y se evaporó dando el compuesto deseado como un aceite transparente (1,48 g). RMN de ^1H (CDCl_3): δ = 1,25-1,28 (t, 6H); 1,71 (s, 3H); 4,24-4,30 (q, 4H); 6,88-6,97 (m, 6H); 7,04-7,08 (t, 1H); 7,25-7,32 (q, 2H); m/z = 359 (M^+).

Los malonatos incluidos los contenidos en la Tabla 2 se prepararon usando procedimientos análogos a los descritos antes (preparaciones 1 y 2, partiendo del α -bromo, α -alquil malonato apropiado y el fenol apropiado. En la tabla siguiente, Me es metilo y Et es etilo.

Preparación 3:

Dietil- α -bromo- α -n-butilmalonato

5



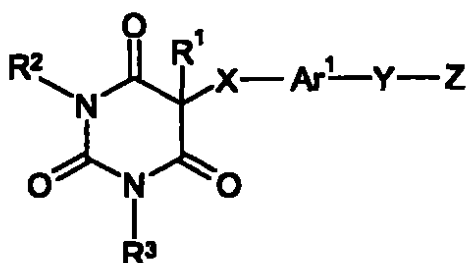
Se disolvió n-butil malonato de dietilo (32,3 g) en
cloruro de metileno (200 ml) y se trató, gota a gota, con una
10 solución de bromo (24,0 g), disuelto en cloruro de metileno
(25 ml). La mezcla resultante se agitó (1 hora a temperatura
ambiente), después de lo cual quedó una coloración naranja.
El disolvente se eliminó a vacío, y el residuo se destiló a
alto vacío dando el producto deseado como un aceite
15 transparente (p.eb. 105°C a 110°C; 36,0 g). RMN de ^1H (CDCl_3):
 δ = 0,89-0,92 (t, 3H); 1,25-1,29 (t, 6H); 1,35-1,37 (m, 4H);
2,2-2,26 (m, 2H); 4,23-4,29 (q, 4H); m/z =295 y 297 (M^+).

Habiendo descrito la invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula

5



10 R¹ es hidrógeno, perfluoroalquilo C₁-C₄, alquilo C₁-C₈ o cicloalquilo C₃-C₈, pudiendo contener dichos alquilo C₁-C₈ o cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente de uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, >NR⁵ y azufre; pudiendo estar también dichos alquilo C₁-C₈ o cicloalquilo C₃-
15 C₈ opcionalmente sustituidos por uno a dos sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁-C₄, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₂-C₁₀, OH, NH₂, (alquil C₁-C₄)amino, di[alquil C₁-C₄]amino, (cicloalquil C₃-C₈)amino, (cicloalquil C₃-C₈) (alquil C₁-C₄)amino, alcoxi C₁-C₄, -CONH₂, -CONHR⁴, -CON(R⁴)₂,
20 y cicloalquilo C₃-C₈, pudiendo contener dicho cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente de >NR⁵, oxígeno o azufre.

R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno o alquilo C₁-C₄, pudiendo contener dicho alquilo C₁-C₄
25 opcionalmente un heteroátomo seleccionado de oxígeno, >NR⁵ o

Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-\text{CH}_2-$, $>\text{SO}_2$, $-\text{OCH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{O}-$.

10. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que Ar^1 es fenilo.

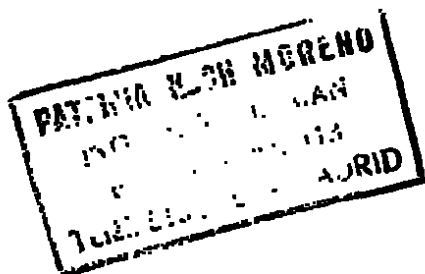
11. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
5 Z es arilo C_6-C_{10} .

12. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que Z es cicloalquilo C_3-C_8 o (cicloalquil C_3-C_8) (alquilo C_1-C_4); en los que uno o dos de los átomos de carbono del anillo de dicho cicloalquilo C_3-C_8 o (cicloalquil C_3-C_8) (alquilo C_1-C_4)
10 pueden estar opcionalmente reemplazados por heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre o NR^3 , siendo R^3 hidrógeno, alquilo C_1-C_4 , arilo C_6-C_{10} , heteroarilo C_2-C_{10} , OH, $-\text{CONH}_2$, $-\text{CONHR}^4$, $-\text{CON}(\text{R}^4)_2$ y cicloalquilo C_3-C_8 .

13. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
15 Z es heteroarilo C_2-C_{10} .

14. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que Ar^1 y Z están sustituidos en cualquiera de los átomos de carbono del anillo que puedan formar un enlace adicional por uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente de
20 F, Cl, Br, CN, OH, alquilo C_1-C_4 , perfluoroalquilo C_1-C_4 , perfluoroalquiloxi C_1-C_4 , alquiloxi C_1-C_4 y cicloalquiloxi C_3-C_8 .

15. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que X es oxígeno, Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-\text{CH}_2-$, $>\text{SO}_2$,
25 $-\text{OCH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{O}-$; R^1 es hidrógeno o alquilo C_1-C_4 ; pudiendo



97 

- 83 -

contener dicho alquilo C₁-C₄ opcionalmente uno a dos heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno y >NR⁵, pudiendo dicho alquilo C₁-C₄ estar opcionalmente sustituido por uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁-C₄, OH, NH₂, (alquil C₁-C₄)amino, di[(alquil C₁-C₄)amino, alquiloxi C₁-C₄, -CONH₂, -CONHR⁴ y -CONR⁴; y R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁-C₄.

16. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
10 R¹ es metilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es oxígeno;
Y es oxígeno o un enlace; y Z es arilo C₆-C₁₀.

17. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R¹ es n-butilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es oxígeno; Y es oxígeno o un enlace; y Z es arilo C₆-C₁₀.

15 18. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
R¹ es metilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es oxígeno;
Y es un oxígeno o un enlace; y Z es arilo C₆-C₁₀.

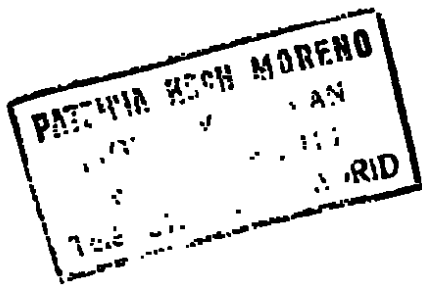
19. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
R¹ es n-butilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es
20 oxígeno; Y es oxígeno o un enlace; y Z es arilo C₆-C₁₀.

20. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se selecciona del grupo formado por:

5-Metil-5-(4-fenoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-

25 triona;



98 10

-84-

5-n-Butil-5-(4-fenoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-n-Butil-5-(4-(4'-fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

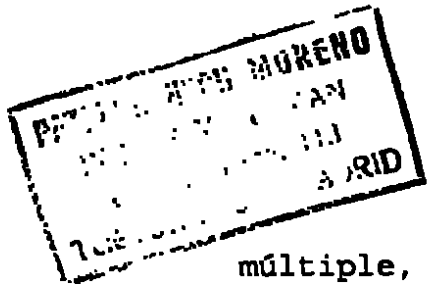
5-Metil-5-(4-fenil-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5 5-Metil-5-(3-fenil-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona; y

5-Metil-5-(4-benciloxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

21. Una composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno seleccionado del grupo formado por artritis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, enfisema, síndrome del distrés respiratorio agudo, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Alzheimer, toxicidad en el trasplante de un órgano, caquexia, reacciones alérgicas, hipersensibilidad alérgica por
15 contacto, cáncer, ulceración de tejidos, restenosis, enfermedad periodontal, epidermólisis vesicular, osteoporosis, falta de firmeza en implantes de articulaciones artificiales, aterosclerosis, aneurisma aórtico, insuficiencia cardíaca congestiva, infarto de miocardio,
20 apoplejía, isquemia cerebral, traumatismo craneal, lesión de la médula espinal, trastornos neurodegenerativos, trastornos autoinmunes, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, migraña, depresión, neuropatía periférica, dolor, angiopatía amiloide cerebral, potenciación nootrópica o
25 cognitiva, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis

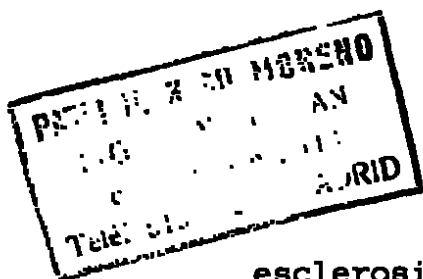


99 ~~8~~

-85-

múltiple, angiogénesis ocular, lesión corneal, degeneración macular, curación anómala de heridas, quemaduras, diabetes, invasión tumoral, crecimiento de tumores, metástasis tumoral, cicatrices corneales, escleritis, SIDA, septicemia y choque
5 séptico en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende una cantidad de un compuesto de la reivindicación 1, eficaz en dicho tratamiento, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

22. Un procedimiento para tratar un trastorno
10 seleccionado del grupo formado por artritis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, enfisema, síndrome del distrés respiratorio agudo, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Alzheimer, toxicidad en el trasplante de un órgano, caquexia, reacciones
15 alérgicas, hipersensibilidad alérgica por contacto, cáncer, ulceración de tejidos, restenosis, enfermedad periodontal, epidermólisis vesicular, osteoporosis, falta de firmeza en implantes de articulaciones artificiales, aterosclerosis, aneurisma aórtico, insuficiencia cardíaca congestiva, infarto
20 de miocardio, apoplejía, isquemia cerebral, traumatismo craneal, lesión de la médula espinal, trastornos neurodegenerativos, trastornos autoinmunes, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, migraña, depresión, neuropatía periférica, dolor, angiopatía amiloide cerebral, potenciación
25 nootrópica o cognitiva, esclerosis lateral amiotrófica,



100 SH

-86-

esclerosis múltiple, angiogénesis ocular, lesión corneal, degeneración macular, curación anómala de heridas, quemaduras, diabetes, invasión tumoral, crecimiento de tumores, metástasis tumoral, cicatrices corneales, escleritis, SIDA, 5 septicemia y choque séptico en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad de un compuesto de la reivindicación 1, eficaz en el tratamiento de dicho trastorno.

23. Una composición farmacéutica para el tratamiento 10 de un trastorno que se puede tratar mediante la inhibición de metaloproteinasas de la matriz en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende una cantidad de un compuesto de la reivindicación 1, eficaz en dicho tratamiento y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

24. Una composición farmacéutica para el tratamiento 15 de un trastorno que se puede tratar mediante la inhibición de una reprotisina de mamífero en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende una cantidad de un compuesto de la reivindicación 1, eficaz en dicho tratamiento y un vehículo 20 farmacéuticamente aceptable.

25. Un procedimiento para la inhibición de metaloproteinasas de la matriz en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1.

26. Un procedimiento para la inhibición de una

PRENSA NICH MORENO
INGLÉS - ESPAÑOL
CALLE DE LA FLORES 113
Tel. 510 113 - MADRID

101 882

-87-

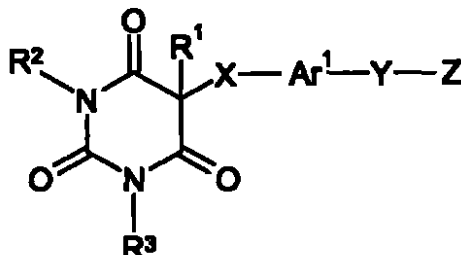
reprolisina de mamífero en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1.

PIRIMIDINA-2,4,6-TRIONAS INHIBIDORES DE METALOPROTEINASAS

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a pirimidina-2,4,6-trionas inhibidores de metaloproteinasas de fórmula

5



10 en la que X, Y, Ar¹, Z, R¹, R² y R³ son como se definen en la memoria descriptiva, y a composiciones farmacéuticas y procedimientos para tratar la inflamación, el cáncer y otros trastornos.

103 20

PATRICIA KOCH MORENO
INGLÉS Y ALEMÁN
C. V. G. nº. 113
Teléf. 519.8990 - MADRID

Doña PATRICIA KOCH MORENO, intérprete jurado de inglés y alemán, certifica que la adjunta es traducción fiel y completa al español del documento adjunto redactado en inglés.

En Madrid, a 03 JUL 2000

PATRICIA KOCH MORENO
INGLÉS Y ALEMÁN
C. V. G. nº. 113
Teléf. 519.8990 - MADRID

[Handwritten signature]

104 481



THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

April 05, 2000

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE UNDER 35 USC 111.

APPLICATION NUMBER: 60/148,547

FILING DATE: August 12, 1999



**By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS**

**P. SWAIN
Certifying Officer**

08/12/99
JES: U.S. PRO

1054p
H/PW

PROVISIONAL APPLICATION COVER SHEET

This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION under 37 CFR 1.53 (b)(2).

Docket Number		PC10625	Type a plus sign (+) inside this box	+
INVENTOR(s)/APPLICANT(s)				
LAST NAME	FIRST NAME	MIDDLE INITIAL	RESIDENCE (CITY AND EITHER STATE OR FOREIGN COUNTRY)	
BLAGG	JULIAN		CANTERBURY, ENGLAND	
TITLE OF THE INVENTION (280 characters max)				
PYRIMIDINE-2,4,6-TRIONE METALLOPROTEINASE INHIBITORS				
CORRESPONDENCE ADDRESS				
Paul H. Ginsburg Pfizer Inc 235 East 42nd Street New York, NY 10017-5755				
ENCLOSED APPLICATION PARTS (check all that apply)				
☒ Specification		Number of Pages: 38	☒ Claim(s)	
			Number of Pages: 4	
☒ Drawing(s)		Number of Sheets	☒ Other (specify)	
			Abstract: 1 page	
METHOD OF PAYMENT (check one)				
☒ A check or money order is enclosed to cover the Provisional filing fees. The Commissioner is hereby authorized to charge all required filing fees to, and credit any overpayment to Deposit Account Number: 16-1445. Two copies of this page are enclosed.			PROVISIONAL FILING FEE AMOUNT(\$)	\$150.00

The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government.
☒ No.
☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are: _____

Respectfully submitted,
SIGNATURE Garth Butterfield DATE: AUGUST 12, 1999
TYPED or PRINTED NAME GARTH BUTTERFIELD REGISTRATION NO: 36,997
(if appropriate)
☐ Additional inventors are being named on separately numbered sheets attached hereto.

PROVISIONAL APPLICATION FILING ONLY

EXPRESS MAIL NO.: EM484850186US

PYRIMIDINE-2,4,6-TRIONE METALLOPROTEINASE INHIBITORS**Background of the Invention**

The present invention relates to pyrimidine-2,4,6-trione metalloproteinase inhibitors, and to pharmaceutical compositions and methods of treatment of inflammation, cancer and other disorders.

The compounds of the present invention are inhibitors of zinc metalloendopeptidases, especially those belonging to the matrix metalloproteinase (also called MMP or matrxn) and reprolysin (also known as adamylsin) subfamilies of the metzincins (Rawlings, et al., Methods in Enzymology, 248, 183-228 (1995) and Stocker, et al., Protein Science, 4, 823-840 (1995)).

The MMP subfamily of enzymes, currently contains seventeen members (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-18, MMP-19, MMP-20). The MMP's are most well known for their role in regulating the turn-over of extracellular matrix proteins and as such play important roles in normal physiological processes such as reproduction, development and differentiation. In addition, the MMP's are expressed in many pathological situations in which abnormal connective tissue turnover is occurring. For example, MMP-13 an enzyme with potent activity at degrading type II collagen (the principal collagen in cartilage), has been demonstrated to be overexpressed in osteoarthritic cartilage (Mitchell, et al., J. Clin. Invest., 97, 781 (1996)). Other MMP's (MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-12) are also overexpressed in osteoarthritic cartilage and inhibition of some or all of these MMP's is expected to slow or block the accelerated loss of cartilage typical of joint diseases such as osteoarthritis or rheumatoid arthritis.

The mammalian reprolysin are known as ADAMs (A Disintegrin And Metalloproteinase) (Wolfberg, et al., J. Cell Biol., 131, 275-278 (1995)) and contain a disintegrin domain in addition to a metalloproteinase-like domain. To date twenty-three distinct ADAM's have been identified.

ADAM-17, also known as tumor necrosis factor-alpha converting enzyme (TACE), is the most well known ADAM. ADAM-17 (TACE) is responsible for cleavage of cell bound tumor necrosis factor-alpha (TNF- α , also known as cachectin). TNF- α is recognized to be involved in many infectious and autoimmune diseases (W. Fiers, FEBS Letters, 285, 199 (1991)). Furthermore, it has been shown that TNF- α is the prime mediator of the inflammatory response seen in sepsis and septic shock (Spooner, et al., Clinical Immunology and Immunopathology, 62 S11 (1992)). There are two forms of TNF- α , a type II membrane protein of relative molecular mass 26,000 (26 kD) and a soluble 17 kD form generated from the cell bound protein by specific proteolytic cleavage. The soluble 17 kD form of TNF- α is released by the cell and is associated with the deleterious effects of TNF- α . This form of

662180-24584109

07 #

TNF- α is also capable of acting at sites distant from the site of synthesis. Thus, inhibitors of TACE prevent the formation of soluble TNF- α and prevent the deleterious effects of the soluble factor.

Select compounds of the invention are potent inhibitors of aggrecanase, an enzyme
5 important in the degradation of cartilage aggrecan. Aggrecanase is also believed to be an ADAM (Tortorella *et al.*, *Science*, 284, 1664 (1999)). The loss of aggrecan from the cartilage matrix is an important factor in the progression of joint diseases such as osteoarthritis and rheumatoid arthritis and inhibition of aggrecanase is expected to slow or block the loss of cartilage in these diseases.

10 Other ADAMs that have shown expression in pathological situations include ADAM TS-1 (Kuno, *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 272, 556-562 (1997)), and ADAM's 10, 12 and 15 (Wu, *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 235, 437-442, (1997)). As knowledge of the expression, physiological substrates and disease association of the ADAM's increases the full significance of the role of inhibition of this class of enzymes will be appreciated.

15 It is recognized that different combinations of MMP's and ADAM's are expressed in different pathological situations. As such, inhibitors with specific selectivities for individual ADAM's and/or MMP's may be preferred for individual diseases. For example, rheumatoid arthritis is an inflammatory joint disease characterized by excessive TNF levels and the loss of joint matrix constituents. In this case, a compound that inhibits TACE and aggrecanase as
20 well as MMP's such as MMP-13 may be the preferred therapy. In contrast, in a less inflammatory joint disease such as osteoarthritis, compounds that inhibit matrix degrading MMP's such as MMP-13 but not TACE may be preferred.

The present inventors have also discovered that it is possible to identify inhibitors of
25 formula I with differential metalloprotease and reprotysin activity (preferably MMP-13 inhibitory activity). One group of preferred inhibitors of formula I the inventors have been able to identify include those which selectively inhibit MMP-13 preferentially over MMP-1.

Matrix metalloproteinase and reprotysin inhibitors are well known in the literature. Specifically, PCT publication WO 98/58925, published December 30, 1998, refers to certain pyrimidine-2,4,6 trione MMP inhibitors. European Patent Publication 606,046, published July
30 13, 1994, refers to certain heterocyclic MMP inhibitors. United States Patent 5,861,610, issued January 19, 1999, refers to cyclic arylsulfonylamino hydroxamic acids that are useful as MMP inhibitors. PCT Publication WO 98/34918, published August 13, 1998, refers to heterocyclic hydroxamic acids including certain dialkyl-substituted compounds that are useful as MMP inhibitors. PCT publications WO 98/27583 and WO 98/07697, published March 7,
35 1998 and February 26, 1998, respectively, refer to arylsulfonyl hydroxamic acids. PCT publication WO 98/03516, published January 29, 1998 refers to phosphinates with MMP

5

Summary of the Invention

The present invention relates to compounds of the formula:



10

20

25

R' wherever it occurs is independently selected from hydrogen and (C₁-C₄)alkyl;

R⁸ wherever it occurs is independently selected from hydrogen, (C₁-C₄)alkyl, (C₆-C₁₀)aryl, (C₇-C₁₀)heteroaryl, OH, -CONH₂, -CONHR⁸, -CON(R⁸)₂ or (C₃-C₆)cycloalkyl;

109

Y is selected from the group consisting of a bond, oxygen, sulfur, $>\text{SO}_2$, $>\text{S}=\text{O}$, $>\text{NH}$, $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{OCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2(\text{S}=\text{O})-$, $-\text{CH}_2\text{SO}_2-$, $-\text{SCH}_2-$, $-\text{SOCH}_2-$, $-\text{SO}_2\text{CH}_2-$, $-\text{NHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{NHSO}_2-$ and $-\text{SO}_2\text{NH}-$;

Ar^1 is $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ aryl or $(\text{C}_2-\text{C}_{10})$ heteroaryl; and

5 Z is $(\text{C}_5-\text{C}_{10})$ aryl, (C_3-C_6) cycloalkyl, (C_1-C_6) cycloalkyl (C_1-C_6) alkyl or $(\text{C}_2-\text{C}_{10})$ heteroaryl; wherein one or two of the ring carbon atoms of said (C_3-C_6) cycloalkyl or (C_3-C_6) cycloalkyl (C_1-C_6) alkyl may optionally be replaced by heteroatoms independently selected from oxygen, sulfur or NR^6 ;

10 Ar^1 and Z may be optionally substituted on any of the ring carbon atoms capable of forming an additional bond by one to three substituents independently selected from F, Cl, Br, CN, OH, (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) perfluoroalkyl, (C_1-C_6) perfluoroalkoxy, (C_1-C_6) alkoxy, (C_2-C_6) cycloalkyloxy;

or the pharmaceutically acceptable salts thereof.

15 The present invention also relates to the pharmaceutically acceptable acid addition salts of compounds of the formula I. The acids which are used to prepare the pharmaceutically acceptable acid addition salts of the aforementioned base compounds of this invention are those which form non-toxic acid addition salts, i.e., salts containing pharmacologically acceptable anions, such as the hydrochloride, hydrobromide, hydroiodide, nitrate, sulfate, bisulfate, phosphate, acid phosphate, acetate, lactate, citrate, acid citrate, tartrate, bitartrate, succinate, maleate, fumarate, gluconate, saccharate, benzoate, methanesulfonate, ethanesulfonate, benzenesulfonate, p-toluenesulfonate and pamoate [i.e., 1,1'-methylene-bis-(2-hydroxy-3-naphthoate)]salts.

25 The invention also relates to base addition salts of formula I. The chemical bases that may be used as reagents to prepare pharmaceutically acceptable base salts of those compounds of formula I that are acidic in nature are those that form non-toxic base salts with such compounds. Such non-toxic base salts include, but are not limited to those derived from such pharmacologically acceptable cations such as alkali metal cations (e.g., potassium and sodium) and alkaline earth metal cations (e.g., calcium and magnesium), ammonium or water-soluble amine addition salts such as N-methylglucamine-(meglumine), and the lower alkanolammonium and other base salts of pharmaceutically acceptable organic amines.

30 The term "a bond", as used herein in the group Y, means that the groups Ar^1 and Z are directly connected through a carbon-carbon bond so as to form pendent aryl rings such as diphenyl.

35 The term "alkyl", as used herein, unless otherwise indicated, includes saturated monovalent hydrocarbon radicals having straight, branched or cyclic moieties or combinations

thereof. Alkyl groups, wherever they occur, may be optionally substituted by a suitable substituent.

The term "alkenyl", as used herein, unless otherwise indicated, includes hydrocarbon radicals containing at least one olefin linkage and having straight, branched or cyclic moieties or combinations thereof.

The term "alkynyl", as used herein, unless otherwise indicated, includes hydrocarbon radicals containing at least one carbon-carbon triple bond linkage and having straight, branched or cyclic moieties or combinations thereof.

The term "alkoxy", as used herein, includes O-alkyl groups wherein "alkyl" is as defined above.

The term "halo", as used herein, unless otherwise indicated, includes fluorine, chlorine, bromine or iodine, preferably fluorine or chlorine.

The term "aryl", as used herein, unless otherwise indicated, includes an organic radical derived from an aromatic hydrocarbon by removal of one or more hydrogens, such as phenyl or naphthyl, optionally substituted by 1 to 3 suitable substituents such as fluoro, chloro, cyano, nitro, trifluoromethyl, (C₁-C₆)alkoxy, (C₁-C₁₀)aryloxy, trifluoromethoxy, difluoromethoxy, or (C₁-C₆)alkyl.

The term "heteroaryl", as used herein, unless otherwise indicated, includes an organic radical derived from an aromatic heterocyclic compound by removal of one or more hydrogens, such as pyridyl, furyl, pyrrolyl, thienyl, isothiazolyl, imidazolyl, benzimidazolyl, tetrazolyl, pyrazinyl, pyrimidyl, quinolyl, isoquinolyl, benzofuryl, isobenzofuryl, benzothienyl, pyrazolyl, indolyl, isoindolyl, purinyl, carbazolyl, isoxazolyl, thiazolyl, oxazolyl, benzthiazolyl or benzoxazolyl, optionally substituted by 1 to 3 suitable substituents as defined below such as fluoro, chloro, trifluoromethyl, (C₁-C₆)alkoxy, (C₁-C₁₀)aryloxy, trifluoromethoxy, difluoromethoxy or (C₁-C₆)alkyl.

"A suitable substituent" is intended to mean a chemically and pharmaceutically acceptable functional group i.e., a moiety that does not negate the inhibitory activity of the inventive compounds. Such suitable substituents may be routinely selected by those skilled in the art. Illustrative examples of suitable substituents include, but are not limited to halo groups, perfluoroalkyl groups, perfluoroalkoxy groups, alkyl groups, hydroxy groups, oxo groups, mercapto groups, alkylthio groups, alkoxy groups, aryl or heteroaryl groups, aryloxy or heteroaryloxy groups, aralkyl or heteroaralkyl groups, aralkoxy or heteroaralkoxy groups, carboxy groups, amino groups, alkyl- and dialkylamino groups, carbamoyl groups, alkylcarbonyl groups, alkoxy carbonyl groups, alkylaminocarbonyl groups, dialkylamino carbonyl groups, arylcarbonyl groups, aryloxy carbonyl groups, alkylsulfonyl groups, an arylsulfonyl groups and the like.

Some compounds of formula I contain chiral centers and therefore exist in different enantiomeric forms. This invention relates to all optical isomers, enantiomers, diastereomers and stereoisomers of the compounds of formula I and mixtures thereof. The compounds of the invention also exist in different tautomeric forms. This invention relates to all tautomers of formula I.

Preferred compounds of the invention include those wherein X is oxygen, $-\text{OCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{O}-$, more preferably wherein Y is a bond, oxygen, sulfur, $-\text{CH}_2-$, $-\text{SO}_2-$, $-\text{OCH}_2-$ or $-\text{CH}_2\text{O}-$.

Other embodiments of the invention include those compounds of formula I wherein X is sulfur, $-\text{SO}_2-$, $-\text{SCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{SO}_2-$ and $-\text{SO}_2\text{CH}_2-$, more preferably wherein Y is a bond, oxygen, sulfur, $-\text{CH}_2-$, $-\text{SO}_2-$, $-\text{OCH}_2-$ or $-\text{CH}_2\text{O}-$.

Other embodiments of the invention include those compounds of formula I wherein X is $-\text{NR}^4$, $-\text{CH}_2\text{NR}^4-$, NR^4CH_2- , more preferably wherein Y is a bond, oxygen, sulfur, $-\text{CH}_2-$, $-\text{SO}_2-$, $-\text{OCH}_2-$ or $-\text{CH}_2\text{O}-$.

Other embodiments of the invention include those compounds of formula I wherein X is $-\text{N}(\text{R}^4)\text{SO}_2-$ and $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^4)-$, more preferably wherein Y is a bond, oxygen, sulfur, $-\text{CH}_2-$, $-\text{SO}_2-$, $-\text{OCH}_2-$ or $-\text{CH}_2\text{O}-$.

Other embodiments of the invention include those compounds of formula I wherein Z is $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ aryl, preferably phenyl, optionally substituted with one or more substituents, preferably zero, one or two substituents, independently selected from F, Cl, Br, $-\text{CN}$, $-\text{OH}$, (C_1-C_4) alkyl, (C_1-C_4) perfluoroalkyl, (C_1-C_4) perfluoroalkoxy, (C_1-C_4) alkoxy, and (C_3-C_6) cycloalkyloxy.

Other embodiments of the invention include those compounds of formula I wherein Z is (C_3-C_6) cycloalkyl wherein one or two of the ring carbon atoms of said (C_3-C_6) cycloalkyl may optionally be replaced by heteroatoms independently selected from oxygen, sulfur or NR^5 , wherein R^5 is hydrogen, (C_1-C_4) alkyl, $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ aryl, $(\text{C}_2-\text{C}_{10})$ heteroaryl, $-\text{OH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{CONHR}^4$, $-\text{CON}(\text{R}^4)_2$ and (C_3-C_6) cycloalkyl. Such preferred groups include cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, tetrahydrofuranyl, tetrahydropyranyl, N-methyl-3-azolidinyl, piperazinyl, piperidinyl, 1,3-oxazolidin-4-on-5-yl, 1,3-oxazolidin-2,4-dion-5-yl, 4,5-dihydro-1,2-oxazolidin-3-on-4-yl, 1,3-thiazolidin-4-on-5-yl, 1,3-thiazolidin-2,4-dion-5-yl, 1,3-imidazolidin-4-on-5-yl, 1,3-imidazolidin-2,4-dion-5-yl, 1,2-pyrazolidin-3-on-4-yl tetrahydro-1,3-oxazin-4-on-5-yl, tetrahydro-1,3-oxazin-2,4-dion-5-yl, morpholinyl, morpholin-3-on-2-yl, morpholin-3,5-dion-2-yl, 2,3-dihydro-1,4-oxazin-3-on-2-yl, tetrahydro-1,3-thiazin-4-on-5-yl, tetrahydro-1,3-thiazin-2,4-dion-5-yl, , thiomorphinyl, thiomorpholin-3-on-2-yl, thiomorpholin-3,5-dion-2-yl, 2,3-dihydro-1,4-thiazin-3-on-2-yl, hexahydro-1,2-diazin-3-on-4-yl, 4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-on-4-yl, hexahydro-1,3-diazin-2,4-dion-5-yl, piperazin-2-on-3-yl, piperazin-2,6-dion-3-yl, tetrahydro-1,3,4-thiadiazin-5-on-8-yl, 5,6-dihydro-1,3,4-thiadiazin-5-on-8-yl, 1,3,4-oxadiazin-5-on-8-yl, 5,6-dihydro-1,2,4-oxadiazin-5-on-8-yl, tetrahydro-1,2,4-oxadiazin-5-on-8-yl, 1,2,4-triazin-5-on-8-yl, tetrahydro-

21

1,2,4-oxadiazin-5-on-6-yl, 5,6-dihydro-1,2,4-oxadiazin-5-on-6-yl, 1,2,4-oxadiazin-3,5-dion-6-yl, 1,2,4-triazin-6-on-5-yl, preferably cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, tetrahydrofuranyl, tetrahydropyranyl, N-methyl-3-azetidyl, piperaziny, piperidiny, N-methylpiperidiny, morpholiny more preferably cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, 5 tetrahydrofuranyl, tetrahydropyranyl, most preferably cyclopropyl, tetrahydrofuranyl and tetrahydropyranyl

Other embodiments of the invention include those compounds of formula I wherein Z is (C₂-C₉)cycloalkyl(C₁-C₄)alkyl; wherein one or two of the ring carbon atoms of said (C₂-C₉)cycloalkyl(C₁-C₄)alkyl may optionally be replaced by heteroatoms independently selected from oxygen, sulfur or >NR³, wherein R³ is hydrogen, (C₁-C₄)alkyl, (C₆-C₁₀)aryl, (C₂-C₁₀)heteroaryl, OH, -CONH₂, -CONHR⁴, -CON(R⁴)₂ and (C₂-C₉)cycloalkyl. Preferred cycloalkyl and heterocycloalkyl rings are as described above. Preferred alkyl of said (C₂-C₉)cycloalkyl(C₁-C₄)alkyl are methylene and ethylene.

Other embodiments of the invention include those compounds of formula I wherein Z is (C₂-C₁₀)heteroaryl; preferably pyridyl, furyl, pyrroly, thienyl, isothiazolyl, imidazolyl, benzimidazolyl, tetrazolyl, pyrazinyl, pyrimidyl, quinolyl, isoquinolyl, benzofuryl, isobenzofuryl, benzothienyl, pyrazolyl, indolyl, isoindolyl, purinyl, carbazolyl, isoxazolyl, thiazolyl, oxazolyl, benzthiazolyl or benzoxazolyl, more preferably pyridyl, pyrimidyl, pyrazinyl, most preferably pyridyl, optionally substituted by 1 to 3 suitable substituents, such as fluoro, chloro, trifluoromethyl, (C₁-C₄)alkoxy, (C₆-C₁₀)aryloxy, trifluoromethoxy, difluoromethoxy or (C₁-C₉)alkyl.

Other preferred compounds of the invention include those wherein Ar¹ is phenyl or (C₆-C₁₀)heteroaryl; preferably pyridyl, furyl, pyrroly, thienyl, isothiazolyl, imidazolyl, benzimidazolyl, tetrazolyl, pyrazinyl, pyrimidyl, quinolyl, isoquinolyl, benzofuryl, isobenzofuryl, benzothienyl, pyrazolyl, indolyl, isoindolyl, purinyl, carbazolyl, isoxazolyl, thiazolyl, oxazolyl, benzthiazolyl or benzoxazolyl, more preferably phenyl, pyridinyl, pyrazinyl, pyrimidyl, most preferably pyridyl or phenyl optionally substituted by 1 to 3 suitable substituents, such as fluoro, chloro, trifluoromethyl, (C₁-C₄)alkoxy, (C₆-C₁₀)aryloxy, trifluoromethoxy, difluoromethoxy or (C₁-C₉)alkyl.

Other preferred compounds of the invention include those wherein Ar¹ and Z are substituted on any of the ring carbon atoms capable of forming an additional bond by one or more substituents independently selected from F, Cl, Br, -CN, OH, (C₁-C₄)alkyl, (C₁-C₄)perfluoroalkyl, (C₁-C₄)perfluoroalkoxy, (C₁-C₄)alkoxy, and (C₂-C₉)cycloalkyloxy.

Most preferred compounds of the invention include compounds of formula I, wherein X is oxygen, Y is a bond, oxygen, sulfur, -CH₂-, >SO₂-, -OCH₂- or -CH₂O-; R¹ is hydrogen or (C₁-C₄)alkyl; wherein said (C₁-C₄)alkyl may optionally contain one to two heteroatoms independently selected from oxygen and >NR⁵, wherein said (C₁-C₄)alkyl chain may also optionally be substituted by one to three substituents (preferably zero, one or two substituents) independently

selected from (C₁-C₄)alkyl, OH, NH₂, (C₁-C₄)alkylamino, di[(C₁-C₄)alkyl]amino, (C₁-C₄)alkoxy, -CONH₂, -CONHR⁴ and CON(R⁴)₂; and R² and R³ are independently selected from hydrogen and (C₁-C₄)alkyl.

Other embodiments of the invention include compounds of the formula I, wherein R¹ is (C₁-C₆)alkyl optionally containing one to three heteroatoms (preferably two heteroatoms separated by at least one carbon atom preferably wherein said heteroatom is -NH- or O, most preferably O), wherein said (C₁-C₆)alkyl is substituted with OH, NH₂, (C₁-C₄)alkylamino, di[(C₁-C₄)alkyl]amino, (C₁-C₄)alkoxy or -CON(R⁴)₂, preferably di[(C₁-C₄)alkyl]amino.

Other embodiments of the invention include compounds of the formula I, wherein at least one of R² or R³ is (C₁-C₄)alkyl, optionally substituted with one heteroatom (preferably said heteroatom is -NH- or -O-, most preferably -O-), wherein said (C₁-C₄)alkyl is substituted with one or two groups independently selected from (C₆-C₁₀)aryl or (C₇-C₁₀)heteroaryl.

Other preferred compounds of the invention include those wherein:

R¹ is methyl; R² and R³ are each hydrogen; X is oxygen; Y is oxygen or a bond; and Z is (C₆-C₁₀)aryl;

R¹ is n-butyl; R² and R³ are each hydrogen; X is oxygen; Y is oxygen or a bond; and Z is (C₆-C₁₀)aryl;

R¹ is methyl; R² and R³ are each hydrogen; X is oxygen; Y is oxygen or a bond; and Z is (C₆-C₁₀)aryl; and

R¹ is n-butyl; R² and R³ are each hydrogen; X is oxygen; Y is oxygen or a bond; and Z is (C₆-C₁₀)aryl.

Specific preferred compounds of formula I are selected from the group consisting of:

5-Methyl-5-(4-phenoxy-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-n-Butyl-5-(4-phenoxy-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-n-Butyl-5-(4-(4'-fluorophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-Methyl-5-(4-phenyl-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-Methyl-5-(3-phenyl-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione; and

5-Methyl-5-(4-benzoyloxy-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

or pharmaceutically acceptable salts thereof.

Other compounds of the invention include:

5-Methyl-5-(4-(4'-chlorophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-Methyl-5-(4-(4'-cyanophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-Methyl-5-(4-(4'-trifluoromethylphenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-Methyl-5-(4-(4'-methoxyphenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-Methyl-5-(4-(3'-chlorophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

60148547-081299

114 3

- 5-Methyl-5-(4-(3'-fluorophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(3'-trifluorophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(4'-chlorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5 5-Methyl-5-(4-(4'-fluoro-2'-chloro-phenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(4'-chloro-2'-fluoro-phenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(4'-fluoro-2'-methyl-phenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(4'-fluoro-2'-trifluoromethyl-phenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 10 5-Methyl-5-(4-(4'-fluoro-2'-cyclopropyl-phenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(pyridin-2-yl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(4'-fluoro-pyridin-2-yl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(4'-chloro-pyridin-2-yl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 15 5-Methyl-5-(4-(pyridin-4-yl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(pyridin-3-yl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(pyrimidin-2-yl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(pyrimidin-4-yl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Methyl-5-(4-(pyrazin-3-yl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 20 5-Methyl-5-(4-(pyrazin-4-yl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 1,5-Dimethyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 1-Ethyl, 5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 1-(2-methoxyethyl)-5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 25 1-(2-dimethylamino-ethyl)-5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 1-Cyclopropylmethyl-5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Dimethylaminomethyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 30 5-(2-dimethylamino-ethyl)-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-(2-methoxyethyl)-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Cyclopropylmethyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 35 5-Ethyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
- 5-Trifluoromethyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

1154

- 5-Isopropyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Isobutyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenylthio)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenylsulfonyl)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenylsulfoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(N-4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenylamino)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(N-Methyl-N-4-(4'-fluorophenylmethoxy)-phenyl-amino)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-(4-(4'-Fluorophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-(4-(4'-Chlorophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenyl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(4-(4'-chlorophenyl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(3-(4'-fluorophenyl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(3-(4'-chlorophenyl)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(5-(4'-fluorophenoxy)-2-pyridyloxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(2-(4'-fluorophenoxy)-5-pyridyloxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(3-(4'-fluorophenoxy)-6-pyrazinyloxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(2-(4'-fluorophenoxy)-5-pyrimidyloxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(4-(cyclopropylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(4-(cyclobutylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(4-(cyclopentylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(4-(3'-tetrahydrofurylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;
5-Methyl-5-(4-(4'-tetrahydropyranylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione; and
5-Methyl-5-(4-(N-methyl-3-azetidinylmethoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione
or pharmaceutically acceptable salts thereof.

The present invention also relates to a pharmaceutical composition for the treatment of a condition selected from the group consisting of arthritis (including osteoarthritis and rheumatoid arthritis), inflammatory bowel disease, Crohn's disease, emphysema, acute respiratory distress syndrome, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, Alzheimer's disease, organ transplant toxicity, cachexia, allergic reactions, allergic contact hypersensitivity, cancer (such as solid tumor cancer including colon cancer breast cancer, lung cancer and prostate cancer and hematopoietic malignancies including leukemias and lymphomas), tissue ulceration, restenosis, periodontal disease, epidermolysis bullosa, osteoporosis, loosening of artificial joint implants, atherosclerosis (including atherosclerotic plaque rupture), aortic aneurysm (including abdominal aortic aneurysm and brain aortic aneurysm), congestive heart failure, myocardial infarction, stroke, cerebral ischemia, head trauma, spinal cord injury, neuro-degenerative

disorders (acute and chronic), autoimmune disorders, Huntington's disease, Parkinson's disease, migraines, depression, peripheral neuropathy, pain, cerebral amyloid angiopathy, nootropic or cognition enhancement, amyotrophic lateral sclerosis, multiple sclerosis, ocular angiogenesis, corneal injury, macular degeneration, abnormal wound healing, burns, diabetes, tumor invasion, tumor growth, tumor metastasis, corneal scarring, scleritis, AIDS, sepsis, septic shock and other diseases characterized by metalloproteinase activity and other diseases characterized by mammalian reprotin activity in a mammal, including a human, comprising an amount of a compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof effective in such treatments and a pharmaceutically acceptable carrier.

The present invention also relates to a pharmaceutical composition for the inhibition of (a) matrix metalloproteinases or other metalloproteinases involved in matrix degradation, or (b) a mammalian reprotin (such as aggrecanase or ADAMs TS-1, 10, 12, 15 and 17, most preferably ADAM-17) in a mammal, including a human, comprising an effective amount of a compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

The present invention also relates to a method for treating a condition selected from the group consisting of arthritis (including osteoarthritis and rheumatoid arthritis), inflammatory bowel disease, Crohn's disease, emphysema, acute respiratory distress syndrome, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, Alzheimer's disease, organ transplant toxicity, cachexia, allergic reactions, allergic contact hypersensitivity, cancer (such as solid tumor cancer including colon cancer breast cancer, lung cancer and prostate cancer and hematopoietic malignancies including leukemias and lymphomas), tissue ulceration, restenosis, periodontal disease, epidermolysis bullosa, osteoporosis, loosening of artificial joint implants, atherosclerosis (including atherosclerotic plaque rupture), aortic aneurysm (including abdominal aortic aneurysm and brain aortic aneurysm), congestive heart failure, myocardial infarction, stroke, cerebral ischemia, head trauma, spinal cord injury, neuro-degenerative disorders (acute and chronic), autoimmune disorders, Huntington's disease, Parkinson's disease, migraines, depression, peripheral neuropathy, pain, cerebral amyloid angiopathy, nootropic or cognition enhancement, amyotrophic lateral sclerosis, multiple sclerosis, ocular angiogenesis, corneal injury, macular degeneration, abnormal wound healing, burns, diabetes, tumor invasion, tumor growth, tumor metastasis, corneal scarring, scleritis, AIDS, sepsis, septic shock and other diseases characterized by matrix metalloproteinase activity and other diseases characterized by mammalian reprotin activity in a mammal, including a human, comprising administering to said mammal an amount of a compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof effective in treating such a condition.

The term "treating", as used herein, refers to reversing, alleviating, inhibiting the progress of, or preventing the disorder or condition to which such term applies, or one or more

50148547 - 81299

117 I

symptoms of such disorder or condition. The term "treatment", as used herein, refers to the act of treating, as "treating" is defined immediately above.

The present invention also relates to a method for the inhibition of (a) matrix metalloproteinases or other metalloproteinases involved in matrix degradation, or (b) a mammalian reprolysin (such as aggrecanase or ADAM's TS-1, 10, 12, 15 and 17, preferably ADAM-17) in a mammal, including a human, comprising administering to said mammal an effective amount of a compound of formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

The subject invention also includes isotopically-labelled compounds, which are identical to those recited in Formula I, but for the fact that one or more atoms are replaced by an atom having an atomic mass or mass number different from the atomic mass or mass number usually found in nature. Examples of isotopes that can be incorporated into compounds of the invention include isotopes of hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, phosphorous, fluorine and chlorine, such as ^3H , ^2H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{34}S , ^{18}F , and ^{36}Cl , respectively. Compounds of the present invention, prodrugs thereof, and pharmaceutically acceptable salts of said compounds or of said prodrugs which contain the aforementioned isotopes and/or other isotopes of other atoms are within the scope of this invention. Certain isotopically-labelled compounds of the present invention, for example those into which radioactive isotopes such as ^3H and ^{14}C are incorporated, are useful in drug and/or substrate tissue distribution assays. Tritiated, i.e., ^3H , and carbon-14, i.e., ^{14}C , isotopes are particularly preferred for their ease of preparation and detectability. Further, substitution with heavier isotopes such as deuterium, i.e., ^2H , can afford certain therapeutic advantages resulting from greater metabolic stability, for example increased *in vivo* half-life or reduced dosage requirements and, hence, may be preferred in some circumstances. Isotopically labelled compounds of Formula I of this invention and prodrugs thereof can generally be prepared by carrying out the procedures disclosed in the Schemes and/or in the Examples and Preparations below, by substituting a readily available isotopically labelled reagent for a non-isotopically labelled reagent.

This invention also encompasses pharmaceutical compositions containing prodrugs of compounds of the formula I. This invention also encompasses methods of treating or preventing disorders that can be treated or prevented by the inhibition of matrix metalloproteinases or the inhibition of mammalian reprolysin comprising administering prodrugs of compounds of the formula I. Compounds of formula I having free amino, amido, hydroxy, hydroxamic acid, sulfonamide or carboxylic groups can be converted into prodrugs. Prodrugs include compounds wherein an amino acid residue, or a polypeptide chain of two or more (e.g., two, three or four) amino acid residues which are covalently joined through peptide bonds to free amino, hydroxy or carboxylic acid groups of compounds of formula I. The amino acid residues include the 20

50148547-081299

118 ~~118~~

naturally occurring amino acids commonly designated by three letter symbols and also include, 4-hydroxyproline, hydroxylysine, demosine, isodemnosine, 3-methylhistidine, norvalin, beta-alanine, gamma-aminobutyric acid, citrulline, homocysteine, homoserine, ornithine and methionine sulfone. Prodrugs also include compounds wherein carbonates, carbamates, amides and alkyl esters which are covalently bonded to the above substituents of formula I through the carbonyl carbon prodrug sidechain.

One of ordinary skill in the art will appreciate that the compounds of the invention are useful in treating a diverse array of diseases. One of ordinary skill in the art will also appreciate that when using the compounds of the invention in the treatment of a specific disease that the compounds of the invention may be combined with various existing therapeutic agents used for that disease.

For the treatment of rheumatoid arthritis, the compounds of the invention may be combined with agents such as TNF- α inhibitors such as anti-TNF monoclonal antibodies and TNF receptor immunoglobulin molecules (such as Enbrel®), low dose methotrexate, lefunimide, hydroxychloroquine, d-penicillamine, auranofin or parenteral or oral gold.

The compounds of the invention can also be used in combination with existing therapeutic agents for the treatment of osteoarthritis. Suitable agents to be used in combination include standard non-steroidal anti-inflammatory agents (hereinafter NSAID's) such as piroxicam, diclofenac, propionic acids such as naproxen, flubiprofen, fenoprofen, ketoprofen and ibuprofen, fenamates such as mefenamic acid, indomethacin, sulindac, apazone, pyrazolones such as phenylbutazone, salicylates such as aspirin, COX-2 inhibitors such as celecoxib and rofecoxib, analgesics and intraarticular therapies such as corticosteroids and hyaluronic acids such as hyalgan and synvisc.

The compounds of the present invention may also be used in combination with anticancer agents such as endostatin and angiostatin or cytotoxic drugs such as adriamycin, daunomycin, cis-platinum, etoposide, taxol, taxotere and alkaloids, such as vincristine, and antimetabolites such as methotrexate.

The compounds of the present invention may also be used in combination with cardiovascular agents such as calcium channel blockers, lipid lowering agents such as statins, fibrates, beta-blockers, Ace inhibitors, Angiotensin-2 receptor antagonists and platelet aggregation inhibitors.

The compounds of the present invention may also be used in combination with CNS agents such as antidepressants (such as sertraline), anti-Parkinsonian drugs (such as deprenyl, L-dopa, requip, miratex, MAOB inhibitors such as selegine and rasagiline, comP inhibitors such as Tasmar, A-2 inhibitors, dopamine reuptake inhibitors, NMDA antagonists, Nicotine agonists, Dopamine agonists and inhibitors of neuronal nitric oxide synthase), and

50148547-081299

119 £

anti-Alzheimer's drugs such as donepezil, tacrine, COX-2 inhibitors, propentofylline or metyfonate.

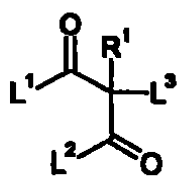
The compounds of the present invention may also be used in combination with osteoporosis agents such as roloxadene, droloxidene or fosomax and immunosuppressant agents such as FK-506 and rapamycin.

Detailed Description of the Invention

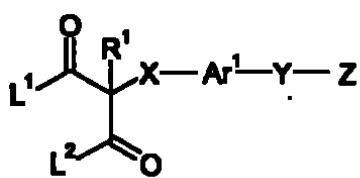
The following reaction Scheme illustrates the preparation of the compounds of the present invention. Unless otherwise indicated X, Y, Ar¹, Z, R¹, R² and R³ in the reaction Schemes and the discussion that follows is defined as above.

62180.7h584T05

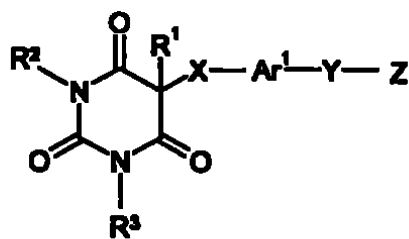
SCHEME 1



V

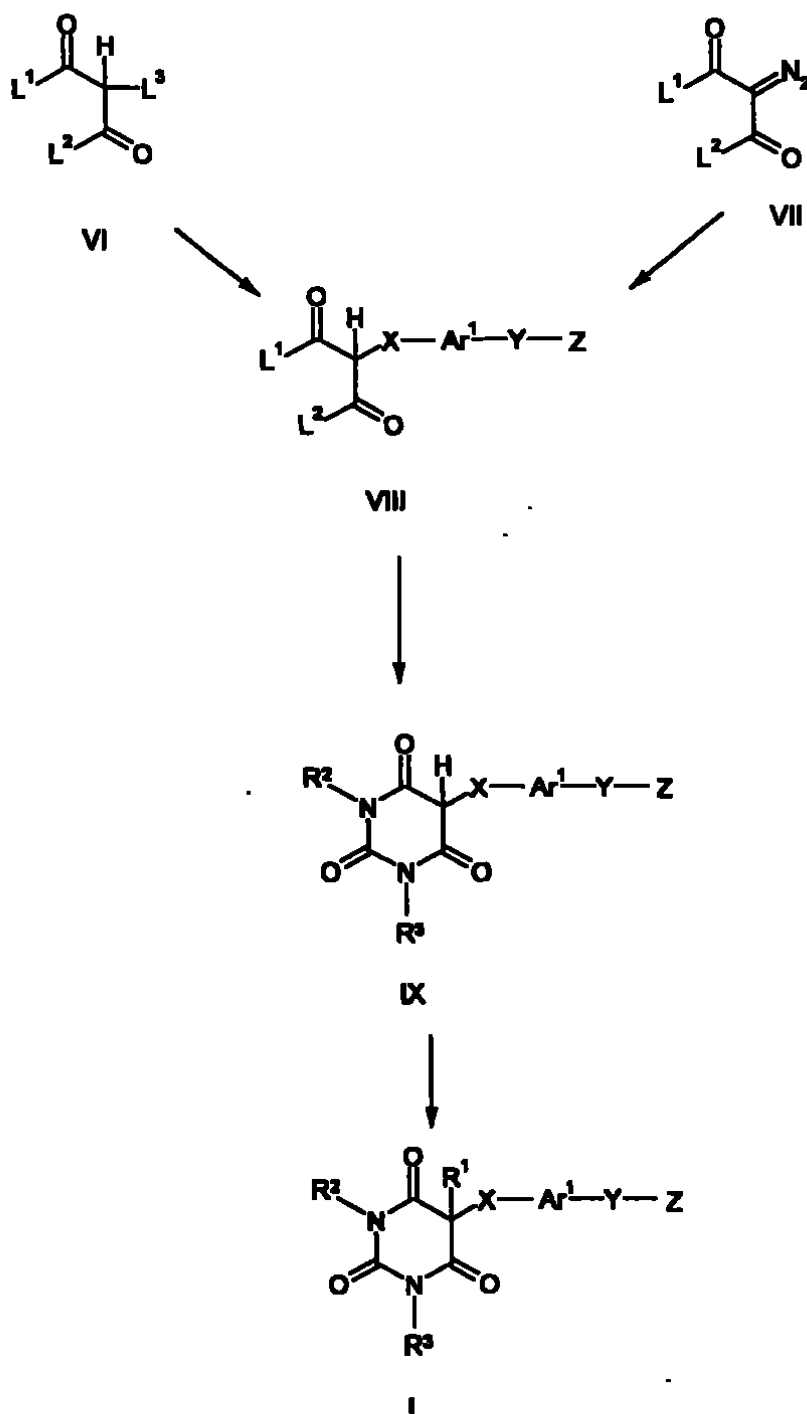


IV



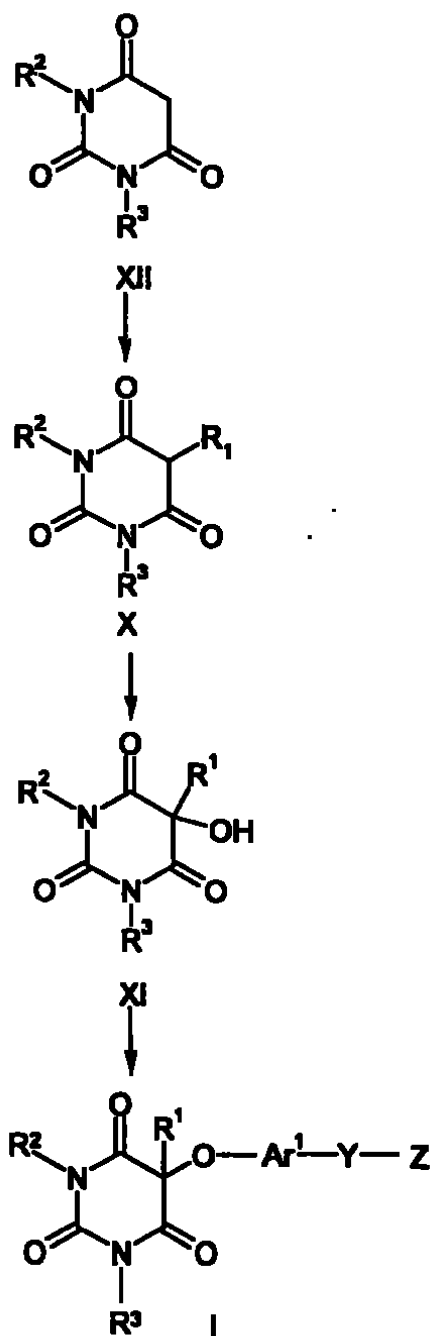
I

SCHEME 2



22

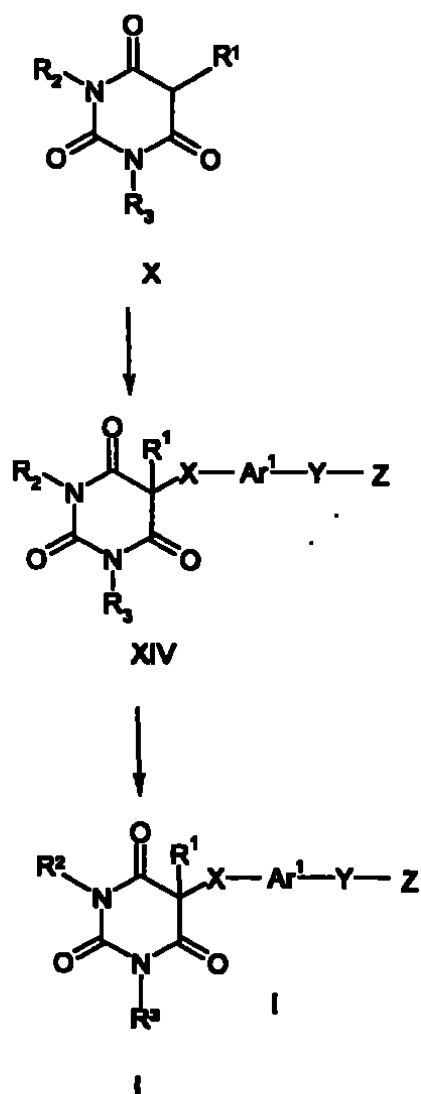
SCHEME 3



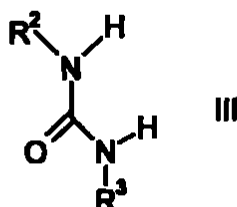
662780-21584109

321

SCHEME 4



Scheme 1 refers to the preparation of compounds of the formula I in a two step synthesis from compounds of the formula V. Referring to Scheme 1, a compound of the formula I is prepared from a compound of the formula IV, wherein L¹ and L² are leaving groups such as methoxy, ethoxy, benzyloxy or chloro, preferably ethoxy, by reaction with a urea derivative of the formula III:



in the presence of a strong base in a polar solvent. Suitable bases include sodium methoxide, sodium ethoxide and magnesium methoxide, preferably sodium ethoxide. Suitable solvents include alcohols (such as ethanol) or tetrahydrofuran, preferably absolute ethanol. The aforesaid reaction is conducted at a temperature of about 20°C to about 90°C preferably about 50°C to about 65°C for a time period between about 15 minutes to about 16 hours.

The compound of formula IV is prepared from a compound of formula V, wherein L² is a leaving group such as halo, p-tolylsulfonyloxy (OTs) or methylsulfonyloxy (OMs), preferably halo, most preferably chloro or bromo, by reaction with a compound of the formula HX-Ar¹-Y-Z in the presence of a base in a polar solvent. Suitable solvents include dimethylformamide (DMF), alcohols (such as ethanol) or tetrahydrofuran, preferably ethanol. The aforesaid reaction is conducted at a temperature of about 20°C to about 90°C preferably about 50°C to about 65°C for a time period between about 15 minutes to about 16 hours.

The compounds of the formula V can be made by methods well known in the art such as those described in PCT Patent Publication WO 98/58825 or reviewed in The Organic Chemistry of Drug Synthesis, D. Lednicher and L. A. Mitscher, Volume 1, pages 167 to 277 and references therein. Each of the above referenced publications and applications is hereby incorporated by reference in its entirety.

Compounds of the formula III are commercially available or can be made by methods well known to those skilled in the art.

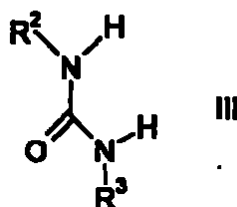
The compounds of formula HX-Ar¹-Y-Z are commercially available or can be made by methods well known to those skilled in the art.

Scheme 2 refers to the preparation of compounds of the formula I in a three-step synthesis from compounds of the formula VI or VII. Referring to Scheme 2, a compound of the formula I is prepared from a compound of the formula IX by reaction with a suitable base and a suitable alkylating agent of the formula R¹L⁴ in the presence of a solvent. Suitable bases include sodium hydride, potassium carbonate, sodium carbonate, triethylamine, pyridine or

125 4 1

triethanolamine; most preferably sodium hydride. Suitable alkylating agents include those wherein L⁴ is halo, p-tolylsulfonyloxy (OTs) or methylsulfonyloxy (OMs), preferably halo, most preferably chloro or bromo; or alkylating agents include such compounds as Eschenmoser's Salts; epoxides or suitably substituted electrophilic aziridines. Suitable solvents depend upon the base used but may be chosen from N,N-dimethylformamide, tetrahydrofuran, acetonitrile and water. The aforesaid reaction is conducted at a temperature of about 0°C to about 30°C preferably about 20°C to about 25°C for a time period between about 15 minutes to about 16 hours.

A compound of the formula IX may be prepared from a compound of the formula VIII by reaction with a urea of the formula



in the presence of a strong base in a polar solvent. Suitable bases include sodium methoxide, sodium ethoxide and magnesium methoxide; preferably sodium ethoxide. Suitable solvents include alcohols (such as ethanol) or tetrahydrofuran, preferably absolute ethanol. The aforesaid reaction is conducted at a temperature of about 20°C to about 80°C preferably about 50°C to about 65°C for a time period between about 15 minutes to about 16 hours.

A compound of the formula VIII may be prepared from a compound of the formula VI, wherein L³ is a leaving group such as halo, p-tolylsulfonyloxy (OTs) or methylsulfonyloxy (OMs), preferably halo, most preferably chloro, by reaction with a compound of the formula HX-Ar¹-Y-Z in the presence of a base in a polar solvent. Suitable bases include sodium methoxide, sodium ethoxide, potassium carbonate and sodium hydride; preferably sodium ethoxide. Suitable solvents include dimethylformamide (DMF), alcohols (such as ethanol) or tetrahydrofuran, preferably ethanol. The aforesaid reaction is conducted at a temperature of about 20°C to about 90°C preferably about 50°C to about 70°C for a time period between about 15 minutes to about 16 hours, preferably about 3 hours. Reactions of this type are further illustrated by the method of J. B. Niederl and R. T. Roth, J. Amer. Chem. Soc., 62, 1154 (1940).

Alternatively, a compound of the formula VIII may also be prepared from a compound of the formula VII in the presence of a suitable catalyst, preferably rhodium(II)acetate according to the procedure described by M. Campbell et al., Aust. J. Chem., 45, 2061 (1992).

Compounds of the formula VI and VII are commercially available or easily obtained from readily available starting materials according to methods well known to those skilled in the art.

60148517.081299

For example compounds of the Formula VII may be prepared according to the method of D. W. Peace et al, Synthesis, 658 (1971).

Compounds of the formula III are commercially available or can be prepared by methods well known to those skilled in the art.

5 Scheme 3 refers to the preparation of compounds of the formula I; in particular those wherein X is oxygen or $-OCH_2-$. Referring to Scheme 3, a compound of the formula I may be obtained by alkylation of a compound of the formula XI with a suitable phenol of the formula $HOAr^1-Y-Z$ according to the method of O. Mitsunobu (Synthesis, 1 (1981)) or by alkylation
10 with a suitable alkylating agent of the formula $L^3CH_2Ar^1-Y-Z$ wherein L^3 is a leaving group such as halo, p-tolylsulfonyloxy (OTs) or methylsulfonyloxy (OMs), preferably halo, most preferably chloro or bromo in a suitable solvent such as N,N-dimethylformamide, tetrahydrofuran, acetonitrile in the presence of a suitable base such as sodium hydride, potassium carbonate, triethylamine, pyridine or triethanolamine. The aforesaid reaction is conducted at a temperature of about 0°C to about 50°C preferably about 20°C for a time period between about 15 minutes to
15 about 16 hours.

Compounds of the formula XI may be prepared from compounds of the formula X according to the method of J. A. Vida et al., J. Med. Chem., 17, 732 (1974).

Compounds of the formula X may be prepared from a compound of the formula XII by reaction with a suitable base, in the presence of a suitable alkylating agent R^1L^4 and a solvent,
20 such as described in Blehl et al., J. Het. Chem., 23, 9 (1986). Suitable bases include sodium hydride, potassium carbonate, triethylamine, pyridine, triethanolamine; most preferably triethanolamine. Suitable alkylating agents include those wherein L^4 is halo, p-tolylsulfonyloxy (OTs) or methylsulfonyloxy (OMs), preferably halo, most preferably chloro or bromo; or alkylating agents such as Eschenmosers Salt; epoxides or suitably substituted electrophilic aziridines.
25 Suitable solvents depend upon the base used but may be chosen from N,N-dimethylformamide, tetrahydrofuran, acetonitrile and water. The aforesaid reaction is conducted at a temperature of about 0°C to about 30°C preferably about 20°C to about 25°C for a time period between about 15 minutes to about 16 hours.

Compounds of the formula XII are commercially available or can be easily prepared by those skilled in the art according to the methods reviewed in The Organic Chemistry of Drug Synthesis, D. Lednicer and L. A. Mitscher, Volume 1, pages 167 to 277 and references cited therein.
30

Scheme 4 refers to the preparation of compounds of the formula I, wherein X is sulfur or $-SCH_2-$, or their oxidized derivatives $>SO_2$, $>SO$, $-SO_2CH_2-$, $-SOCH_2-$. Referring to Scheme
35 4, such a compound of the formula I may be obtained by alkylation of the pyrimidine-2,4,6-trione ring of a compound of the formula XIV (wherein R^2 and R^3 are hydrogen) with a suitable

alkylating agent L^2R^2 or L^2R^3 wherein L^2 is a leaving group such as halo, p-tolylsulfonyloxy (OTs) or methylsulfonyloxy (OMs), preferably halo, most preferably chloro or bromo in a suitable solvent such as N,N-dimethylformamide, tetrahydrofuran, acetonitrile in the presence of a suitable base such as sodium hydride, potassium carbonate, triethylamine, pyridine or triethanolamine. The aforesaid reaction is conducted at a temperature of about 20°C to about 70°C preferably about 20°C for a time period between about 15 minutes to about 16 hours.

Compounds of the formula XIV, may be prepared by alkylation of a compound of the formula X with a suitable disulfide of the formulae $(SAr^1-Y-Z)_2$ or $(SCH_2Ar^1-Y-Z)_2$ in a suitable solvent such as N,N-dimethylformamide, tetrahydrofuran, acetonitrile in the presence of a suitable base, such as sodium hydride, potassium carbonate, triethylamine, pyridine or triethanolamine. The aforesaid reaction is conducted at a temperature of about 20°C to about 70°C preferably about 20°C for a time period between about 15 minutes to about 16 hours.

Disulfides $(SAr^1-Y-Z)_2$ or $(SCH_2Ar^1-Y-Z)_2$ may be prepared from the corresponding thiole $HSAr^1-Y-Z$ or $HSCH_2Ar^1-Y-Z$ by oxidative methods well known to those skilled the art.

Compounds of the formula X are commercially available or can be made by methods well known to those skilled in the art.

The compounds of the formula I which are basic in nature are capable of forming a wide variety of different salts with various inorganic and organic acids. Although such salts must be pharmaceutically acceptable for administration to animals, it is often desirable in practice to initially isolate a compound of the formula I from the reaction mixture as a pharmaceutically unacceptable salt and then simply convert the latter back to the free base compound by treatment with an alkaline reagent, and subsequently convert the free base to a pharmaceutically acceptable acid addition salt. The acid addition salts of the base compounds of this invention are readily prepared by treating the base compound with a substantially equivalent amount of the chosen mineral or organic acid in an aqueous solvent medium or in a suitable organic solvent such as methanol or ethanol. Upon careful evaporation of the solvent, the desired solid salt is obtained.

The acids which are used to prepare the pharmaceutically acceptable acid addition salts of the base compounds of this invention are those which form non-toxic acid addition salts, i.e., salts containing pharmacologically acceptable anions, such as hydrochloride, hydrobromide, hydroiodide, nitrate, sulfate or bisulfate, phosphate or acid phosphate, acetate, lactate, citrate or acid citrate, tartrate or bitartrate, succinate, maleate, fumarate, gluconate, saccharate, benzoate, methanesulfonate and pamoate [i.e., 1,1'-methylene-bis-(2-hydroxy-3-naphthoate)] salts.

Those compounds of the formula I which are also acidic in nature, are capable of forming base salts with various pharmacologically acceptable cations. Examples of such salts

60148547-081299

2

821

include the alkali metal or alkaline-earth metal salts and particularly, the sodium and potassium salts. These salts are all prepared by conventional techniques. The chemical bases which are used as reagents to prepare the pharmaceutically acceptable base salts of this invention are those which form non-toxic base salts with the herein described acidic compounds of formula 1. These non-toxic base salts include those derived from such pharmacologically acceptable cations as sodium, potassium, calcium and magnesium, etc. These salts can easily be prepared by treating the corresponding acidic compounds with an aqueous solution containing the desired pharmacologically acceptable cations, and then evaporating the resulting solution to dryness, preferably under reduced pressure.

Alternatively, they may also be prepared by mixing lower alkanolic solutions of the acidic compounds and the desired alkali metal alkoxide together, and then evaporating the resulting solution to dryness in the same manner as before. In either case, stoichiometric quantities of reagents are preferably employed in order to ensure completeness of reaction and maximum product yields.

BIOLOGICAL ASSAYS

The ability of the compounds of formula I or their pharmaceutically acceptable salts (hereinafter also referred to as the compounds of the present invention) to inhibit metalloproteinases or mammalian reprotolysin and, consequently, demonstrate their effectiveness for treating diseases characterized by metalloproteinase or the mammalian reprotolysin activity (such as the production of tumor necrosis factor) is shown by the following in vitro assay tests.

MMP Assays

Collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) selective inhibitors as used herein refer to agents which exhibit at least a 100 fold selectivity for the inhibition of collagenase-3 enzyme activity over collagenase-1 enzyme activity and a potency of less than 100 nM as defined by the IC_{50} results from the MMP-13/MMP-1 fluorescence assays described below. Collagenase-3 selective inhibitors can be identified by screening the inhibitors of the present invention through the MMP-13/MMP-1 fluorescence assays described below and selecting those agents with MMP-13/MMP-1 inhibition IC_{50} ratios of 100 or greater and potency of less than 100 nM.

Non-selective collagenase inhibitors as used herein refer to agents which exhibit less than a 100 fold selectivity for the inhibition of collagenase-3 enzyme activity over collagenase-1 enzyme activity or a potency of more than 100nM as defined by the IC_{50} results from the MMP-13/MMP-1 fluorescence assays described below.

The ability of collagenase inhibitors to inhibit collagenase activity is well known in the art. The following assays may be used to identify matrix metalloproteinase inhibitors.

50148547-0812 9

129 25

Inhibition of Human Collagenase (MMP-1)

Human recombinant collagenase is activated with trypsin. The amount of trypsin is optimized for each lot of collagenase-1 but a typical reaction uses the following ratio: 5 μ g trypsin per 100 μ g of collagenase. The trypsin and collagenase are incubated at room temperature for 10 minutes then a five fold excess (50 mg/10 mg trypsin) of soybean trypsin inhibitor is added.

Stock solutions (10 mM) of inhibitors are made up in dimethylsulfoxide and then diluted using the following scheme:

10 mM $\longrightarrow$ 120 μ M $\longrightarrow$ 12 μ M $\longrightarrow$ 1.2 μ M $\longrightarrow$ 0.12 μ M

Twenty-five microliters of each concentration is then added in triplicate to appropriate wells of a 96 well microfluor plate. The final concentration of inhibitor will be a 1:4 dilution after addition of enzyme and substrate. Positive controls (enzyme, no inhibitor) are set up in wells D7-D12 and negative controls (no enzyme, no inhibitors) are set in wells D1-D6.

Collagenase-1 is diluted to 240 ng/ml and 25 μ l is then added to appropriate wells of the microfluor plate. Final concentration of collagenase in the assay is 60 ng/mL.

Substrate (DNP-Pro-Gly-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH₂) is made as a 5 mM stock in dimethylsulfoxide and then diluted to 20 μ M in assay buffer. The assay is initiated by the addition of 50 μ l substrate per well of the microfluor plate to give a final concentration of 10 μ M.

Fluorescence readings (360 nm excitation, 460 nm emission) are taken at time 0 and then at 20 minute intervals. The assay is conducted at room temperature with a typical assay time of 3 hours.

Fluorescence versus time is then plotted for both the blank and collagenase containing samples (data from triplicate determinations is averaged). A time point that provides a good signal (at least five fold over the blank) and that is on a linear part of the curve (usually around 120 minutes) is chosen to determine IC₅₀ values. The zero time is used as a blank for each compound at each concentration and these values are subtracted from the 120 minute data. Data is plotted as inhibitor concentration versus % control (inhibitor fluorescence divided by fluorescence of collagenase alone x 100). IC₅₀'s are determined from the concentration of inhibitor that gives a signal that is 50% of the control.

If IC₅₀'s are reported to be less than 0.03 μ M then the inhibitors are assayed at concentrations of 0.3 μ M, 0.03 μ M, and 0.003 μ M.

662780-2584709

Inhibition of Gelatinase (MMP-2)

Human recombinant 72 kD gelatinase (MMP-2, gelatinase A) is activated for 16-18 hours with 1mM p-aminophenyl-mercuric acetate (from a freshly prepared 100 mM stock in 0.2 N NaOH) at 4°C, rocking gently.

- 5 10 mM dimethylsulfoxide stock solutions of inhibitors are diluted serially in assay buffer (50 mM TRIS, pH 7.5, 200 mM NaCl, 5 mM CaCl₂, 20 μM ZnCl₂ and 0.02% BRIJ-35 (vol./vol.)) using the following scheme:

10 mM → 120 μM → 12 μM → 1.2 μM → 0.12 μM

- Further dilutions are made as necessary following this same scheme. A minimum of four
10 inhibitor concentrations for each compound are performed in each assay. 25 μL of each concentration is then added to triplicate wells of a black 96 well U-bottomed microfluor plate. As the final assay volume is 100 μL, final concentrations of inhibitor are the result of a further 1:4 dilution (i.e. 30 μM → 3 μM → 0.3 μM → 0.03 μM, etc.). A blank (no enzyme, no inhibitor) and a positive enzyme control (with enzyme, no inhibitor) are also prepared in
15 triplicate.

Activated enzyme is diluted to 100 ng/mL in assay buffer, 25 μL per well is added to appropriate wells of the microplate. Final enzyme concentration in the assay is 25 ng/mL (0.34 nM).

- A five mM dimethylsulfoxide stock solution of substrate (Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-
20 Ala-Arg-NH₂) is diluted in assay buffer to 20 μM. The assay is initiated by addition of 50 μL of diluted substrate yielding a final assay concentration of 10 μM substrate. At time zero, fluorescence reading (320 excitation; 390 emission) is immediately taken and subsequent readings are taken every fifteen minutes at room temperature with a PerSeptive Biosystems CytoFluor Multi-Well Plate Reader with the gain at 90 units.

- 25 The average value of fluorescence of the enzyme and blank are plotted versus time. An early time point on the linear part of this curve is chosen for IC₅₀ determinations. The zero time point for each compound at each dilution is subtracted from the latter time point and the data then expressed as percent of enzyme control (inhibitor fluorescence divided by fluorescence of positive enzyme control x 100). Data is plotted as inhibitor concentration
30 versus percent of enzyme control. IC₅₀'s are defined as the concentration of inhibitor that gives a signal that is 50% of the positive enzyme control.

Inhibition of Stromelysin Activity (MMP-3)

- Human recombinant stromelysin (MMP-3, stromelysin-1) is activated for 20-22 hours
35 with 2 mM p-aminophenyl-mercuric acetate (from a freshly prepared 100 mM stock in 0.2 N NaOH) at 37°C.

60148547-081299

03/

10 mM dimethylsulfoxide stock solutions of inhibitors are diluted serially in assay buffer (50 mM TRIS, pH 7.5, 150 mM NaCl, 10 mM CaCl₂ and 0.05% BRIJ-35 (vol./vol.)) using the following scheme:

10 mM → 120 μM → 12 μM → 1.2 μM → 0.12 μM

- 5 Further dilutions are made as necessary following this same scheme. A minimum of four inhibitor concentrations for each compound are performed in each assay. 25 μL of each concentration is then added to triplicate wells of a black 96 well U-bottomed microfluor plate. As the final assay volume is 100 μL, final concentrations of inhibitor are the result of a further 1:4 dilution (i.e. 30 μM → 3 μM → 0.3 μM → 0.03 μM, etc.). A blank (no enzyme, no inhibitor) and a positive enzyme control (with enzyme, no inhibitor) are also prepared in triplicate.

Activated enzyme is diluted to 200 ng/mL in assay buffer, 25 μL per well is added to appropriate wells of the microplate. Final enzyme concentration in the assay is 50 ng/mL (0.875 nM).

- 15 A ten mM dimethylsulfoxide stock solution of substrate (Mca-Arg-Pro-Lys-Pro-Val-Glu-Nva-Trp-Arg-Lys(Dnp)-NH₂) is diluted in assay buffer to 6 μM. The assay is initiated by addition of 50 μL of diluted substrate yielding a final assay concentration of 3 μM substrate. At time zero, fluorescence reading (320 excitation; 390 emission) is immediately taken and subsequent readings are taken every fifteen minutes at room temperature with a PerSeptive Bioystems CytoFluor Multi-Well Plate Reader with the gain at 90 units.

- 20 The average value of fluorescence of the enzyme and blank are plotted versus time. An early time point on the linear part of this curve is chosen for IC₅₀ determinations. The zero time point for each compound at each dilution is subtracted from the latter time point and the data then expressed as percent of enzyme control (inhibitor fluorescence divided by fluorescence of positive enzyme control x 100). Data is plotted as inhibitor concentration versus percent of enzyme control. IC₅₀'s are defined as the concentration of inhibitor that gives a signal that is 50% of the positive enzyme control.

Inhibition of Human 92 kD Gelatinase (MMP-9)

- 30 Inhibition of 92 kD gelatinase (MMP-9) activity is assayed using the Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂ substrate (10 μM) under similar conditions as described above for the inhibition of human collagenase (MMP-1).

Human recombinant 92 kD gelatinase (MMP-9, gelatinase B) is activated for 2 hours with 1mM p-aminophenyl-mercuric acetate (from a freshly prepared 100 mM stock in 0.2 N NaOH) at 37 C.

60148547.081299

15

10 mM dimethylsulfoxide stock solutions of inhibitors are diluted serially in assay buffer (50 mM TRIS, pH 7.5, 200 mM NaCl, 5 mM CaCl₂, 20 μM ZnCl₂, 0.02% BRIJ-35 (vol./vol.)) using the following scheme:

10 mM → 120 μM → 12 μM → 1.2 μM → 0.12 μM

5 Further dilutions are made as necessary following this same scheme. A minimum of four inhibitor concentrations for each compound are performed in each assay. 25 μL of each concentration is then added to triplicate wells of a black 96 well U-bottomed microfluor plate. As the final assay volume is 100 μL, final concentrations of inhibitor are the result of a further 1:4 dilution (i.e. 30 μM → 3 μM → 0.3 μM → 0.03 μM, etc.). A blank (no enzyme, no inhibitor) and a positive enzyme control (with enzyme, no inhibitor) are also prepared in triplicate.

Activated enzyme is diluted to 100 ng/mL in assay buffer, 25 μL per well is added to appropriate wells of the microplate. Final enzyme concentration in the assay is 25 ng/mL (0.27 nM).

15 A five mM dimethylsulfoxide stock solution of substrate (Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂) is diluted in assay buffer to 20 μM. The assay is initiated by addition of 50 μL of diluted substrate yielding a final assay concentration of 10 μM substrate. A 0 time fluorescence reading (320 excitation; 390 emission) is immediately taken and subsequent readings are taken every fifteen minutes at room temperature with a PerSeptive Biosystems
20 CytoFluor Multi-Well Plate Reader with the gain at 90 units.

The average value of fluorescence of the enzyme and blank are plotted versus time. An early time point on the linear part of this curve is chosen for IC₅₀ determinations. The 0 time point for each compound at each dilution is subtracted from the latter time point and the data then expressed as percent of enzyme control (inhibitor fluorescence divided by
25 fluorescence of positive enzyme control x 100). Data is plotted as inhibitor concentration versus percent of enzyme control. IC₅₀'s are defined as the concentration of inhibitor that gives a signal that is 50% of the positive enzyme control.

Inhibition of MMP-13

30 Human recombinant MMP-13 is activated with 2 mM APMA (p-aminophenyl mercuric acetate) for 1.5 hours, at 37°C and is diluted to 400 mg/ml in assay buffer (50 mM Tris, pH 7.5, 200 mM sodium chloride, 5 mM calcium chloride, 20 μM zinc chloride, 0.02% brj). Twenty-five microliters of diluted enzyme is added per well of a 96 well microfluor plate. The enzyme is then diluted in a 1:4 ratio in the assay by the addition of inhibitor and substrate to give a final concentration in the assay of 100 mg/ml.

35 10 mM stock solutions of inhibitors are made up in dimethyl sulfoxide and then diluted in assay buffer as per the inhibitor dilution scheme for inhibition of human collagenase (MMP-1):

662180.258409

251

Twenty-five microliters of each concentration is added in triplicate to the microfluor plate. The final concentrations in the assay are 30 μ M, 3 μ M, 0.3 μ M, and 0.03 μ M.

Substrate (Dnp-Pro-Gly-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH₂) is prepared as for inhibition of human collagenase (MMP-1) and 50 μ l is added to each well to give a final assay concentration of 10 μ M. Fluorescence readings (380 nm excitation; 450 emission) are taken at time 0 and every 5 minutes for 1 hour.

Positive controls consist of enzyme and substrate with no inhibitor and blanks consist of substrate only.

IC₅₀'s are determined as per inhibition of human collagenase (MMP-1). If IC₅₀'s are reported to be less than 0.03 μ M, inhibitors are then assayed at final concentrations of 0.3 μ M, 0.03 μ M, 0.003 μ M and 0.0003 μ M.

Collagen film MMP-13 Assay

Rat type I collagen is radiolabeled with ¹⁴C acetic anhydride (T.E. Caverton and A.J. Barrett, Anal. Biochem., 99, 340-345 (1979)) and used to prepare 96 well plates containing radiolabeled collagen films (Barbara Johnson-Wint, Anal. Biochem., 104, 175-181 (1980)). When a solution containing collagenase is added to the well, the enzyme cleaves the insoluble collagen which unwinds and is thus solubilized. Collagenase activity is directly proportional to the amount of collagen solubilized, determined by the proportion of radioactivity released into the supernatant as measured in a standard scintillation counter. Collagenase inhibitors are, therefore, compounds which reduce the radioactive counts released with respect to the controls with no inhibitor present. One specific embodiment of this assay is described in detail below.

For determining the selectivity of compounds for MMP-13 versus MMP-1 using collagen as a substrate, the following procedure is used. Recombinant human proMMP-13 or proMMP-1 is activated according to the procedures outlined above. The activated MMP-13 or MMP-1 is diluted to 0.8 μ g/ml with buffer (50 mM Tris pH 7.5, 150 mM NaCl, 10 mM CaCl₂, 1 μ M ZnCl₂, 0.05% Brij-35, 0.02% sodium azide).

Stock solutions of test compound (10mM) in dimethylsulfoxide are prepared. Dilutions of the test compounds in the Tris buffer, above, are made to 0.2, 2.0, 20, 200, 2000 and 20000 nM.

100 μ l of appropriate drug dilution and 100 μ l of diluted enzyme are pipetted into wells of a 96 well plate containing collagen films labeled with ¹⁴C-collagen. The final enzyme concentration is 0.3 μ g/ml while the final drug concentration is 0.1, 1.0, 10, 100, 1000 nM. Each drug concentration and control is analyzed in triplicate. Triplicate controls are also run for the conditions in which no enzyme is present and for enzyme in the absence of any compound.

60148547-081299

134 25

The plates are incubated at 37°C for a time period such that around 30 - 50% of the available collagen is solubilized - determined by counting additional control wells at various time points. In most cases around 9 hours of incubation are required. When the assay has progressed sufficiently, the supernatant from each well is removed and counted in a scintillation counter. The background counts (determined by the counts in the wells with no enzyme) are subtracted from each sample and the % release calculated in relation to the wells with enzyme only and no inhibitor. The triplicate values for each point are averaged and the data graphed as percent release versus drug concentration. IC₅₀'s are determined from the point at which 50% inhibition of release of radiolabeled collagen is obtained.

To determine the identity of the active collagenases in cartilage conditioned medium, assays were carried out using collagen as a substrate, cartilage conditioned medium containing collagenase activity and inhibitors of varying selectivity. The cartilage conditioned medium was collected during the time at which collagen degradation was occurring and thus is representative of the collagenases responsible for the collagen breakdown. Assays were carried out as outlined above except that instead of using recombinant MMP-13 or recombinant MMP-1, cartilage conditioned medium was the enzyme source.

IL-1 Induced Cartilage Collagen Degradation From Bovine Nasal Cartilage

This assay uses bovine nasal cartilage explants which are commonly used to test the efficacy of various compounds to inhibit either IL-1 induced proteoglycan degradation or IL-1 induced collagen degradation. Bovine nasal cartilage is a tissue that is very similar to articular cartilage, i.e. chondrocytes surrounded by a matrix that is primarily type II collagen and aggrecan. The tissue is used because it: (1) is very similar to articular cartilage, (2) is readily available, (3) is relatively homogeneous, and (4) degrades with predictable kinetics after IL-1 stimulation.

Two variations of this assay have been used to assay compounds. Both variations give similar data. The two variations are described below:

Variation 1

Three plugs of bovine nasal cartilage (approximately 2 mm diameter x 1.5 mm long) are placed into each well of a 24 well tissue culture plate. One ml of serumless medium is then added to each well. Compounds are prepared as 10 mM stock solutions in DMSO and then diluted appropriately in serumless medium to final concentrations, e.g., 50, 500 and 5000 nM. Each concentration is assayed in triplicate.

Human recombinant IL-1 α (5ng/mL) (IL-1) is added to triplicate control wells and to each well containing drug. Triplicate control wells are also set up in which neither drug nor IL-1 are added. The medium is removed and fresh medium containing IL-1 and the appropriate drug concentrations is added on days 6, 12, 18 and 24 or every 3 - 4 days if necessary. The

62180-2058109

135
✓

media removed at each time point is stored at -20°C for later analysis. When the cartilage in the IL-1 alone wells has almost completely resorbed (about day 21), the experiment is terminated. The medium is removed and stored. Aliquots (100 μ l) from each well at each time point are pooled, digested with papain and then analyzed for hydroxyproline content.

5 Background hydroxyproline (average of wells with no IL-1 and no drug) is subtracted from each data point and the average calculated for each triplicate. The data is then expressed as a percent of the IL-1 alone average value and plotted. The IC_{50} is determined from this plot.

Variation 2

- The experimental set-up is the same as outlined above in Variation 1, until day 12.
- 10 On day 12, the conditioned medium from each well is removed and frozen. Then one ml of phosphate buffered saline (PBS) containing 0.5 μ g/ml trypsin is added to each well and incubation continued for a further 48 hours at 37°C. After 48 hours incubation in trypsin, the PBS solution is removed. Aliquots (50 μ l) of the PBS/trypsin solution and the previous two time points (days 6 and 12) are pooled, hydrolyzed and hydroxyproline content determined.
- 15 Background hydroxyproline (average of wells with no IL-1 and no drug) is subtracted from each data point and the average calculated for each triplicate. The data is then expressed as a percent of the IL-1 alone average value and plotted. The IC_{50} is determined from this plot. In this variation, the time course of the experiment is shortened considerably. The addition of trypsin for 48 hours after 12 days of IL-1 stimulation likely releases any type II collagen that
- 20 has been damaged by collagenase activity but not yet released from the cartilage matrix. In the absence of IL-1 stimulation, trypsin treatment produces only low background levels of collagen degradation in the cartilage explants.

Inhibition of TNF Production

- The ability of the compounds or the pharmaceutically acceptable salts thereof to inhibit
- 25 the production of TNF and, consequently, demonstrate their effectiveness for treating diseases involving the production of TNF is shown by the following in vitro assay:

Human Monocyte Assay

- Human mononuclear cells were isolated from anti-coagulated human blood using a one-step Ficoll-hypaque separation technique. (2) The mononuclear cells were washed three times
- 30 in Hanks balanced salt solution (HBSS) with divalent cations and resuspended to a density of 2×10^6 /ml in HBSS containing 1% BSA. Differential counts determined using the Abbott Cell Dyn 3500 analyzer indicated that monocytes ranged from 17 to 24% of the total cells in these preparations.

- 180 μ l of the cell suspension was aliquoted into flat bottom 96 well plates (Costar).
- 36 Additions of compounds and LPS (100 ng/ml final concentration) gave a final volume of 200 μ l. All conditions were performed in triplicate. After a four hour incubation at 37°C in an humidified

60148547-081299

136

CO₂ incubator, plates were removed and centrifuged (10 minutes at approximately 250 x g) and the supernatants removed and assayed for TNF α using the R&D ELISA kit.

Aggrecanase Assay

Primary porcine chondrocytes from articular joint cartilage are isolated by sequential trypsin and collagenase digestion followed by collagenase digestion overnight and are plated at 2 X 10⁵ cells per well into 48 well plates with 5 μ Cl / ml ³⁵S (1000 Ci/mmol) sulphur in type I collagen coated plates. Cells are allowed to incorporate label into their proteoglycan matrix (approximately 1 week) at 37°C, under an atmosphere of 5% CO₂.

The night before initiating the assay, chondrocyte monolayers are washed two times in DMEM/ 1% PSF/G and then allowed to incubate in fresh DMEM /1% FBS overnight.

The following morning chondrocytes are washed once in DMEM/1%PSF/G. The final wash is allowed to sit on the plates in the incubator while making dilutions.

Media and dilutions can be made as described in the Table below.

Control Media	DMEM alone (control media)
IL-1 Media	DMEM + IL-1 (5 ng/ml)
Drug Dilutions	Make all compounds stocks at 10 mM in DMSO. Make a 100 μ M stock of each compound in DMEM in 96 well plate. Store in freezer overnight. The next day perform serial dilutions in DMEM with IL-1 to 5 μ M, 500 nM, and 50 nM. Aspirate final wash from wells and add 50 μ l of compound from above dilutions to 450 μ l of IL-1 media in appropriate wells of the 48 well plates. Final compound concentrations equal 500 nM, 50 nM, and 5 nM. All samples completed in triplicate with Control and IL-1 alone samples on each plate.

Plates are labeled and only the interior 24 wells of the plate are used. On one of the plates, several columns are designated as IL-1 (no drug) and Control (no IL-1, no drug). These control columns are periodically counted to monitor ³⁵S-proteoglycan release. Control and IL-1 media are added to wells (450 μ l) followed by compound (50 μ l) so as to initiate the assay. Plates are incubated at 37°C, with a 5% CO₂ atmosphere.

At 40-50 % release (when CPM from IL-1 media is 4-5 times control media) as assessed by liquid scintillation counting (LSC) of media samples, the assay is terminated (9-12 hours). Media is removed from all wells and placed in scintillation tubes. Scintillate is

60148547-081299

137

added and radioactive counts are acquired (LSC). To solubilize cell layers, 500 ul of papain digestion buffer (0.2 M Tris, pH 7.0, 5 mM EDTA, 5 mM DTT, and 1 mg/ml papain) is added to each well. Plates with digestion solution are incubated at 60°C overnight. The cell layer is removed from the plates the next day and placed in scintillation tubes. Scintillate is then added, and samples counted (LSC).

The percent of released counts from the total present in each well is determined. Averages of the triplicates are made with control background subtracted from each well. The percent of compound inhibition is based on IL-1 samples as 0% inhibition (100% of total counts).

The compounds of the present invention that were tested all have IC_{50} 's in at least one of the above assays of less than 100 μ M preferably less than 100nM. Certain preferred groups of compounds possess differential selectivity toward the various MMP's or ADAMs. One group of preferred compounds possess selective activity towards MMP-13 over MMP-1. Another preferred group of compounds possess aggrecanase activity in addition to selectivity for MMP-13 over MMP-1.

For administration to mammals, including humans, for the inhibition of matrix metalloproteinases or mammalian reprodysin, a variety of conventional routes may be used including oral, parenteral (e.g., intravenous, intramuscular or subcutaneous), buccal, anal and topical. In general, the compounds of the invention (hereinafter also known as the active compounds) will be administered at dosages between about 0.1 and 25 mg/kg body weight of the subject to be treated per day, preferably from about 0.3 to 5 mg/kg. Preferably the active compound will be administered orally or parenterally. However, some variation in dosage will necessarily occur depending on the condition of the subject being treated. The person responsible for administration will, in any event, determine the appropriate dose for the individual subject.

The compounds of the present invention can be administered in a wide variety of different dosage forms. In general, the therapeutically effective compounds of this invention are present in such dosage forms at concentration levels ranging from about 5.0% to about 70% by weight.

For oral administration, tablets containing various excipients such as microcrystalline cellulose, sodium citrate, calcium carbonate, dicalcium phosphate and glycine may be employed along with various disintegrants such as starch (and preferably corn, potato or tapioca starch), alginic acid and certain complex alicates, together with granulation binders like polyvinylpyrrolidone, sucrose, gelatin and acacia. Additionally, lubricating agents such as magnesium stearate, sodium lauryl sulfate and talc are often very useful for tabletting purposes. Solid compositions of a similar type may also be employed as fillers in gelatin capsules;

662180-7n584109

251

preferred materials in this connection also include lactose or milk sugar as well as high molecular weight polyethylene glycols. When aqueous suspensions and/or elixirs are desired for oral administration, the active ingredient may be combined with various sweetening or flavoring agents, coloring matter or dyes, and, if so desired, emulsifying and/or suspending agents as well, together with such diluents as water, ethanol, propylene glycol, glycerin and various like combinations thereof. In the case of animals, they are advantageously contained in an animal feed or drinking water in a concentration of 5-5000 ppm, preferably 25 to 500 ppm.

For parenteral administration (intramuscular, intraperitoneal, subcutaneous and intravenous use) a sterile injectable solution of the active ingredient is usually prepared.

Solutions of a therapeutic compound of the present invention in either sesame or peanut oil or in aqueous propylene glycol may be employed. The aqueous solutions should be suitably adjusted and buffered, preferably at a pH of greater than 8, if necessary and the liquid diluent first rendered isotonic. These aqueous solutions are suitable intravenous injection purposes. The oily solutions are suitable for intraarticular, intramuscular and subcutaneous injection purposes.

The preparation of all these solutions under sterile conditions is readily accomplished by standard pharmaceutical techniques well known to those skilled in the art. In the case of animals, compounds can be administered intramuscularly or subcutaneously at dosage levels of about 0.1 to 50 mg/kg/day, advantageously 0.2 to 10 mg/kg/day given in a single dose or up to 3 divided doses.

The active compounds of the invention may also be formulated in rectal compositions such as suppositories or retention enemas, e.g., containing conventional suppository bases such as cocoa butter or other glycerides.

For intranasal administration or administration by inhalation, the active compounds of the invention are conveniently delivered in the form of a solution or suspension from a pump spray container that is squeezed or pumped by the patient or as an aerosol spray presentation from a pressurized container or a nebulizer, with the use of a suitable propellant, e.g., dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, dichlorotetrafluoroethane, carbon dioxide or other suitable gas. In the case of a pressurized aerosol, the dosage unit may be determined by providing a valve to deliver a metered amount. The pressurized container or nebulizer may contain a solution or suspension of the active compound. Capsules and cartridges (made, for example, from gelatin) for use in an inhaler or insufflator may be formulated containing a powder mix of a compound of the invention and a suitable powder base such as lactose or starch.

The following Examples illustrate the preparation of the compounds of the present invention. Melting points are uncorrected. NMR data are reported in parts per million (δ) and are referenced to the deuterium lock signal from the sample solvent (deuteriochloroform

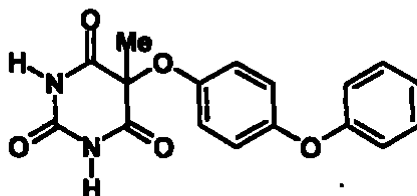
60148547-081299

139 12

unless otherwise specified). Commercial reagents were utilized without further purification. THF refers to tetrahydrofuran. DMF refers to N,N-dimethylformamide. Chromatography refers to column chromatography performed using 32-63 mm silica gel and executed under nitrogen pressure (flash chromatography) conditions. Room or ambient temperature refers to 20-25°C. All non-aqueous reactions were run under a nitrogen atmosphere for convenience and to maximize yields. Concentration at reduced pressure or *in vacuo* means that a rotary evaporator was used.

EXAMPLE 1:

5-Methyl, 5-(4'-phenoxy-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione.



10

Sodium (190mg, 8.26mM) was slowly and carefully added to absolute ethanol (25ml) and stirred until the solution was homogeneous. Urea (620mg, 10.32mM) was added and the mixture stirred for 30 minutes. A solution of diethyl-2-methyl-2-(4'-phenoxy-phenoxy)malonate (1.48gm, 4.13mM) in absolute ethanol (25ml) was added dropwise and the resultant mixture heated under reflux (8 hours). The reaction was allowed to cool to room temperature, evaporated to dryness and partitioned between ethylacetate (100ml) and water (100ml). The aqueous layer was separated, acidified to pH1 with aqueous 1N HCl and extracted with ethyl acetate (3 x 100ml). The combined organic extracts were dried over magnesium sulfate (MgSO₄), filtered and evaporated to dryness. The resultant white powder was crystallized from hot methylene chloride to give the target compound as a white crystalline material (310mg; see Table 1 for analytical data).

20

EXAMPLES 2 TO 9

Examples 2-9 were prepared by a similar procedure to that described above except that diethyl-2-methyl-2-(4'-phenoxy-phenoxy)malonate was replaced with the appropriately substituted malonate. In the table that follows, Me is methyl, Bu is n-butyl, Ex. No. is Example Number, and m/z is a low resolution molecular ion weight.

25

60148517-081299

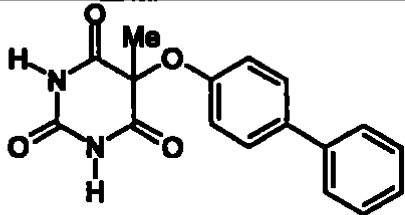
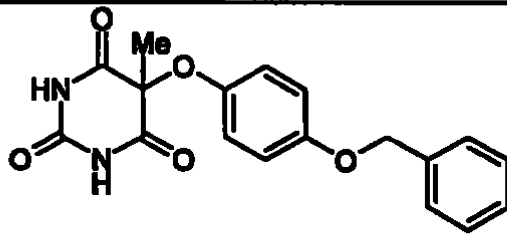
140 ~~141~~

Table 1

Ex. No.	Structure	m/z	NMR data (400MHz)	Melting Point °C
1		325.2	δ (d^6 -acetone); 1.95 (s, 3H); 2.85 (s, br, 2H); 6.85-7.00 (m, 6H); 7.05 (m, 1H); 7.30-7.35 (m, 2H).	182
2		387.3	δ (d^6 -acetone); 0.95 (t, 3H); 1.40 (m, 2H); 1.55 (m, 2H); 2.25 (m, 2H); 2.85 (s, br, 2H); 6.82-7.00 (m, 6H); 7.05 (m, 1H); 7.10-7.15 (m, 2H).	59-60
3		343.2	δ (d^6 -acetone); 1.95 (s, 3H); 2.85 (s, br, 2H); 6.85-7.00 (m, 6H); 7.10-7.15 (m, 2H).	187-9
4		385.2	δ (d^6 -acetone); 0.95 (t, 3H); 1.40 (m, 2H); 1.55 (m, 2H); 2.25 (m, 2H); 2.85 (s, br, 2H); 6.82-7.00 (m, 6H); 7.10-7.15 (m, 2H).	183
5		309.3	δ (d^6 -acetone); 1.97 (s, 3H); 2.90 (s, br, 2H); 6.75-6.78 (dd, 1H); 7.061-7.067 (m, 1H); 7.27-7.46 (m, 5H); 7.57 - 7.59 (d, 2H).	176

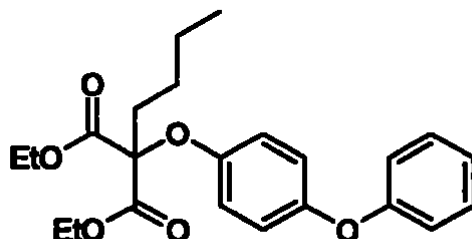
662180-28584109

141 ~~32~~

6		309.3	δ (d^6 -acetone); 1.95 (s, 3H); 6.88-6.89 (dd, 1H); 7.27-7.82 (m, 8H).	200-202
7		339.1	δ (d^6 -acetone); 1.88 (s, 3H); 5.03 (s, 2H); 6.77-6.91 (m, 4H); 7.30-7.45 (m, 5H).	-

Preparation 1:

Diethyl-2-n-butyl, 2-(4'-phenoxy-phenoxy)malonate



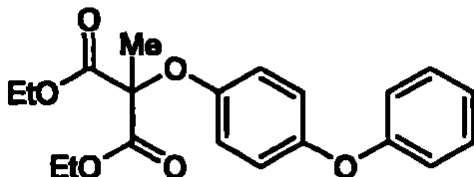
- 5 Sodium (112mg) was added slowly and carefully to absolute ethanol (25ml) and stirred until a homogeneous solution was observed. 4-phenoxyphenol (910mg) (Aldrich Chemical Company) was added slowly and the resultant mixture stirred (30min, room temperature); diethyl- α -bromo- α -n-butyl-malonate (1.44gm) (See Preparation 3) in absolute ethanol (25ml) was added dropwise and the resultant mixture heated to reflux (1hour). The
- 10 reaction mixture was cooled to room temperature, evaporated to dryness and partitioned between ethyl acetate (100ml) and water (100ml). The organic layer was separated, washed with water (3x100ml), dried ($MgSO_4$), filtered and evaporated to give the desired compound as a clear oil (1.82gm). ^1H NMR ($CDCl_3$): δ = 0.85-0.88 (t, 3H); 1.21-1.25 (t, 6H); 1.31-1.39 (m, 4H); 2.2- 2.27 (m, 2H); 4.23-4.28 (q, 4H); 6.80- 6.95 (m, 6H); 7.03- 7.08 (t, 1H); 7.25-7.31
- 15 (q, 2H); m/z = 401 (M^+).

662180-27584109

28/1

Preparation 2:

Diethyl-2-methyl, 2-(4'-phenoxy-phenoxy)malonate



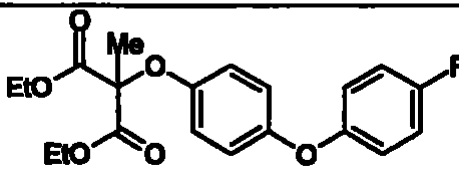
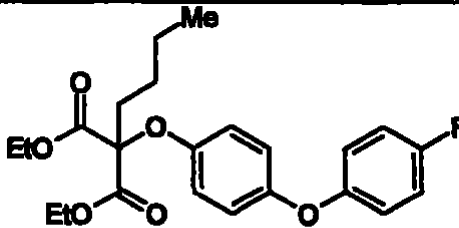
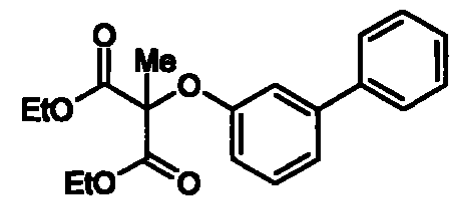
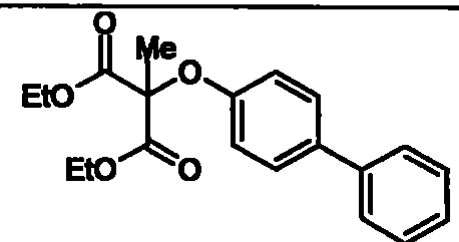
Sodium (112mg) was added slowly and carefully to absolute ethanol (25ml) and stirred until a homogeneous solution was observed. 4-Phenoxyphenol (910mg) (Aldrich Chemical Company) was added slowly and the resultant mixture stirred (30 minutes, room temperature); diethyl- α -bromo- α -methyl malonate (1.23gm) (Aldrich Chemical Company) in absolute ethanol (25ml) was added dropwise and the resultant mixture heated to reflux (1hour). The reaction mixture was cooled to room temperature, evaporated to dryness and partitioned between ethyl acetate (100ml) and water (100ml). The organic layer was separated, washed with water (3x100ml), dried (MgSO₄), filtered and evaporated to give the desired compound as a clear oil (1.48gm). ¹H nmr (CDCl₃): δ = 1.25-1.28 (t, 6H); 1.71 (s, 3H); 4.24-4.30 (q, 4H); 6.88-6.97 (m, 6H); 7.04-7.08 (t, 1H); 7.25-7.32 (q, 2H); m/z = 359 (M⁺).

Malonates including those contained in Table 2 were prepared using analogous procedures to those described above (preparations 1 and 2) starting from the appropriate α -bromo- α -alkyl malonate and the appropriate phenol. In the table that follows, Me is methyl and Et is ethyl.

662180-7584109

143 ~~15~~

Table 2

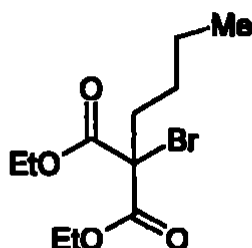
Structure	¹ H NMR	m/z
	δ (d^6 -acetone); 1.19-1.23 (t, 6H); 1.64 (s, 3H); 4.19-4.24 (q, 4H); 6.90-7.14 (m, 9H).	377.2
	δ (d^3 - chloroform); 0.88-0.88 (t, 3H); 1.21-1.23 (t, 6H); 1.25-1.38 (m, 4H); 2.18-2.22 (m, 2H); 4.20 - 4.25 (q, 4H); 6.80-7.00 (m, 8H).	419.3
	δ (d^6 -acetone); 1.19-1.23 (t, 6H); 1.75 (s, 3H); 4.24-4.29 (q, 4H); 6.95 - 7.83 (m, 9H).	343.3
	δ (d^6 -acetone); 1.19-1.22 (t, 6H); 1.72 (s, 3H); 4.23-4.28 (q, 4H); 6.89 - 7.80 (m, 9H).	343.3

662T80-27584T09

144

Preparation 3:

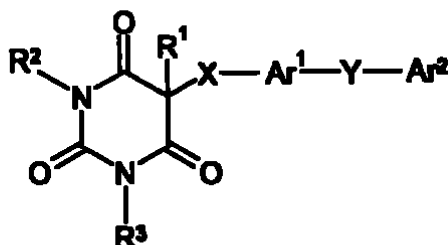
Diethyl- α -bromo- α -n-butyrmalonate



Diethyl-n-butyrmalonate (32.2gm) was dissolved in methylene chloride (200ml) and
 5 treated, dropwise, with a solution of bromine (24.0gm) dissolved in methylene chloride (25ml).
 The resultant mixture was stirred (1hour, room temperature) whereupon an orange coloration
 persisted. The solvent was removed under vacuum, and the residue distilled under high
 vacuum to give the desired product as a clear oil (bpt 105 to 110°C; 36.0gm). ¹H NMR
 (CDCl₃): δ = 0.88-0.92 (t, 3H); 1.25-1.29(t, 6H); 1.35-1.37 (m, 4H); 2.2- 2.28 (m, 2H); 4.23-
 10 4.29 (q, 4H); m/z = 285 and 287 (M⁺).

662180-27584109

1. A compound of the formula



R² and R³ are independently selected from hydrogen or (C₁-C₄)alkyl; wherein said (C₁-C₄)alkyl may optionally contain one heteroatom selected from oxygen, >NR⁵ or sulfur; wherein said (C₁-C₄)alkyl may also optionally be substituted by (C₁-C₁₀)aryl, (C₂-C₂₀)heteroaryl, OH, NH₂, (C₁-C₄)alkylamino, di[(C₁-C₄)alkyl]amino, (C₃-C₆)cycloalkylamino, (C₃-C₆)cycloalkyl(C₁-C₄)alkylamino, (C₁-C₄)alkoxy, -CON(R⁴)₂ or (C₃-C₆)cycloalkyl; wherein said (C₃-C₆)cycloalkyl may contain one or two heteroatoms independently selected from >NR⁵, oxygen or sulfur;

R⁴ wherever it occurs is independently selected from hydrogen and (C₁-C₆) alkyl.

Y is selected from the group consisting of a bond, oxygen, sulfur, $>\text{SO}_2$, $>\text{S}=\text{O}$, $>\text{NH}$,
 25 $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{OCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2(\text{S}=\text{O})-$, $-\text{CH}_2\text{SO}_2-$, $-\text{SCH}_2-$, $-\text{SOCH}_2-$, $-\text{SO}_2\text{CH}_2-$, $-\text{NHCH}_2-$,
 $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{NHSO}_2-$ and $-\text{SO}_2\text{NH}-$;

Ar¹ is (C₆-C₁₀)aryl or (C₂-C₁₀)heteroaryl; and

Z is (C₆-C₁₀)aryl, (C₇-C₉)cycloalkyl, (C₇-C₉)cycloalkyl(C₁-C₄)alkyl or (C₂-C₁₀)heteroaryl; wherein one or two of the ring carbon atoms of said (C₇-C₉)cycloalkyl or (C₇-C₉)cycloalkyl(C₁-C₄)alkyl may optionally be replaced by heteroatoms independently selected from oxygen, sulfur or NR^E.

97/

Ar¹ and Z may be optionally substituted on any of the ring carbon atoms capable of forming an additional bond by one to three substituents independently selected from F, Cl, Br, CN, OH, (C₁-C₄)alkyl, (C₁-C₄)perfluoroalkyl, (C₁-C₄)perfluoroalkoxy, (C₁-C₄)alkoxy, (C₂-C₆)cycloalkyloxy;

5 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

2. A compound according to claim 1, wherein X is oxygen, -OCH₂- or -CH₂O-.

3. A compound according to claim 1, wherein X is sulfur, >SO₂, -SCH₂-, -CH₂S-, -CH₂SO₂- or -SO₂CH₂-.

4. A compound according to claim 1, wherein X is, >NR⁴, -CH₂N(R⁴)- or
10 N(R⁴)CH₂-.

5. A compound according to claim 1, wherein X is -N(R⁴)SO₂- and -SO₂N(R⁴)-.

6. A compound according to claim 2, wherein Y is a bond, oxygen, sulfur, -CH₂-, >SO₂, -OCH₂- or -CH₂O-.

7. A compound according to claim 3, wherein Y is a bond, oxygen, sulfur, -CH₂-, >SO₂, -OCH₂- or -CH₂O-.

8. A compound according to claim 4, wherein Y is a bond, oxygen, sulfur, -CH₂-, >SO₂, -OCH₂- or -CH₂O-.

9. A compound according to claim 5, wherein Y is a bond, oxygen, sulfur, -CH₂-, >SO₂, -OCH₂- or -CH₂O-.

10. A compound according to claim 1, wherein Ar¹ is phenyl.

11. A compound according to claim 1, wherein Z is (C₁-C₁₀)aryl.

12. A compound according to claim 1, wherein Z is (C₂-C₆)cycloalkyl or (C₂-C₆)cycloalkyl(C₁-C₄)alkyl; wherein one or two of the ring carbon atoms of said (C₂-C₆)cycloalkyl or (C₂-C₆)cycloalkyl(C₁-C₄)alkyl may optionally be replaced by heteroatoms independently
25 selected from oxygen, sulfur or NR⁵, wherein R⁵ is hydrogen, (C₁-C₄)alkyl, (C₁-C₁₀)aryl, (C₂-C₁₀)heteroaryl, OH, -CONH₂, -CONHR⁴, -CON(R⁴)₂ and (C₂-C₆)cycloalkyl.

13. A compound according to claim 1, wherein Z is (C₁-C₁₀)heteroaryl.

14. A compound according to claim 1, wherein Ar¹ and Z are substituted on any of the ring carbon atoms capable of forming an additional bond by one to three substituents
30 independently selected from F, Cl, Br, CN, OH, (C₁-C₄)alkyl, (C₁-C₄)perfluoroalkyl, (C₁-C₄)perfluoroalkoxy, (C₁-C₄)alkoxy and (C₂-C₆)cycloalkyloxy.

15. A compound according to claim 1 wherein X is oxygen, Y is a bond, oxygen, sulfur, -CH₂-, >SO₂, -OCH₂- or -CH₂O-; R¹ is hydrogen or (C₁-C₄)alkyl, wherein said (C₁-C₄)alkyl may optionally contain one to two heteroatoms independently selected from oxygen and >NR⁵,
35 and wherein said (C₁-C₄)alkyl may optionally be substituted by one to three substituents independently selected from (C₁-C₄)alkyl, OH, NH₂, (C₁-C₄)alkylamino, di(C₁-C₄)alkylamino, (C₁-

60148547-081299

42/

C₄alkyloxy, -CONH₂, -CONHR⁴ and -CONR⁴ and R² and R³ are independently selected from hydrogen and (C₁-C₄)alkyl

16. A compound according to claim 1, wherein R¹ is methyl; R² and R³ are each hydrogen; X is oxygen; Y is oxygen or a bond; and Z is (C₆-C₁₀)aryl

17. A compound according to claim 1, wherein R¹ is n-butyl; R² and R³ are each hydrogen; X is oxygen; Y is oxygen or a bond; and Z is (C₆-C₁₀)aryl

18. A compound according to claim 1, wherein R¹ is methyl; R² and R³ are each hydrogen; X is oxygen; Y is oxygen or a bond; and Z is (C₆-C₁₀)aryl

19. A compound according to claim 1, wherein R¹ is n-butyl; R² and R³ are each hydrogen; X is oxygen; Y is oxygen or a bond; and Z is (C₆-C₁₀)aryl

20. A compound according to claim 1, wherein said compound is selected from the group consisting of:

5-Methyl-5-(4-phenoxy-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-Methyl-5-(4-(4'-fluorophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-n-Butyl-5-(4-phenoxy-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-n-Butyl-5-(4-(4'-fluorophenoxy)-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-Methyl-5-(4-phenyl-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

5-Methyl-5-(3-phenyl-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione; and

5-Methyl-5-(4-benzyloxy-phenoxy)-pyrimidine-2,4,6-trione;

or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

21. A pharmaceutical composition for the treatment of a condition selected from the group consisting of arthritis, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, emphysema, acute respiratory distress syndrome, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, Alzheimer's disease, organ transplant toxicity, cachexia, allergic reactions, allergic contact hypersensitivity, cancer, tissue ulceration, restenosis, periodontal disease, epidermolysis bullosa, osteoporosis, loosening of artificial joint implants, atherosclerosis, aortic aneurysm, congestive heart failure, myocardial infarction, stroke, cerebral ischemia, head trauma, spinal cord injury, neurodegenerative disorders, autoimmune disorders, Huntington's disease, Parkinson's disease, migraine, depression, peripheral neuropathy, pain, cerebral amyloid angiopathy, nootropic or cognition enhancement, amyotrophic lateral sclerosis, multiple sclerosis, ocular angiogenesis, corneal injury, macular degeneration, abnormal wound healing, burns, diabetes, tumor invasion, tumor growth, tumor metastasis, corneal scarring, scleritis, AIDS, sepsis and septic shock in a mammal, including a human, comprising an amount of a compound of claim 1 effective in such treatment and a pharmaceutically acceptable carrier.

22. A method for treating a condition selected from the group consisting of arthritis, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, emphysema, acute respiratory distress

50148547.081299

881

syndrome, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, Alzheimer's disease, organ transplant toxicity, cachexia, allergic reactions, allergic contact hypersensitivity, cancer, tissue ulceration, restenosis, periodontal disease, epidermolysis bullosa, osteoporosis, loosening of artificial joint implants, atherosclerosis, aortic aneurysm, congestive heart failure, myocardial infarction, stroke, cerebral ischemia, head trauma, spinal cord injury, neuro-degenerative disorders, autoimmune disorders, Huntington's disease, Parkinson's disease, migraine, depression, peripheral neuropathy, pain, cerebral amyloid angiopathy, nootropic or cognition enhancement, amyotrophic lateral sclerosis, multiple sclerosis, ocular angiogenesis, corneal injury, macular degeneration, abnormal wound healing, burns, diabetes, tumor invasion, tumor growth, tumor metastasis, corneal scarring, scleritis, AIDS, sepsis and septic shock in a mammal, including a human, comprising administering to said mammal an amount of a compound of claim 1, effective in treating such a condition.

23. A pharmaceutical composition for the treatment of a condition which can be treated by the inhibition of matrix metalloproteinases in a mammal, including a human, comprising an amount of a compound of claim 1 effective in such treatment and a pharmaceutically acceptable carrier.

24. A pharmaceutical composition for the treatment of a condition which can be treated by the inhibition of a mammalian reprotin in a mammal, including a human, comprising an amount of a compound of claim 1 effective in such treatment and a pharmaceutically acceptable carrier.

25. A method for the inhibition of matrix metalloproteinases in a mammal, including a human, comprising administering to said mammal an effective amount of a compound of claim 1.

26. A method for the inhibition of a mammalian reprotin in a mammal, including a human, comprising administering to said mammal an effective amount of a compound of claim 1.

662180-2458109

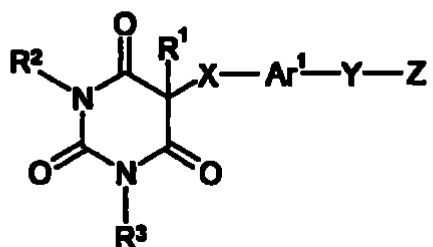
149 ~~927~~

EXPRESS MAIL NO. EM 484850186 US
-44-

PYRIMIDINE-2,4,6-TRIONE METALLOPROTEINASE INHIBITORS

Abstract

The present invention relates to pyrimidine-2,4,6-trione metalloproteinase inhibitors of the formula



I

5

wherein X, Y, Ar¹, Z, R¹, R² and R³ are as defined in the specification, and to pharmaceutical compositions and methods of treating inflammation, cancer and other disorders.

60148547-081299

PIRIMIDINA-2,4,6-TRIONAS INHIBIDORES DE METALOPROTEINASAS**Antecedentes de la invención**

La presente invención se refiere a pirimidina-2,4,6-trionas inhibidores de metaloproteinasas, y a composiciones farmacéuticas y procedimientos de tratamiento de la inflamación, el cáncer, así como de otros trastornos.

Los compuestos de la presente invención son inhibidores de las cinc metaloendopeptidasas, en especial las que pertenecen a las subfamilias de metaloproteinasa de la matriz (también denominadas MMP o matrixina) y de reprotisina (también conocida como adamilsina) de las metzincinas (Rawlings, et al., Methods in Enzymology, 248, 183-228 (1995) y Stocker, et al., Protein Science, 4, 823-840 (1995)).

La subfamilia de enzimas MMP, cuenta en la actualidad con diecisiete miembros (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-18, MMP-19 y MMP-20). La mayoría de las MMP son bien conocidas por su función en la regulación de la renovación de las proteínas de la matriz extracelular y como tales desempeñan importantes funciones en los procesos fisiológicos normales como la reproducción, el desarrollo y la diferenciación. Además, las MMP se expresan en muchas situaciones patológicas en las que se produce una renovación anómala del tejido conectivo. Por ejemplo, la MMP-13, una enzima con una potente actividad para degradar el colágeno

151

-2-

tipo II (el principal colágeno en el cartílago), ha demostrado que se sobreexpresa en el cartílago osteoartrítico (Mitchell, et al., J. Clin. Invest., 97, 761 (1996)). Otras MMP (MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-12) también se
5 sobreexpresan en el cartílago osteoartrítico y cabe esperar que la inhibición de algunas o todas estas MMP ralentice o bloquee la pérdida acelerada de cartílago típica de enfermedades de las articulaciones como la osteoartritis o la artritis reumatoide.

10 Las reprotisinas de mamífero se conocen como ADAM (del inglés *A Disintegrin And Metalloproteinase*) (Una disintegrina y metaloproteinasa (Wolfberg, et al., J. Cell. Biol., 131, 275-278 (1995)) y contienen un dominio de disintegrina junto con un dominio del tipo de las metaloproteinasas. Hasta la
15 fecha, se han identificado veintitrés ADAM distintas.

La ADAM-17, también conocida como enzima conversora del factor alfa de necrosis tumoral (TACE) es la ADAM mejor conocida. La ADAM-17 (TACE) es responsable de la escisión del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α , también conocido como
20 caquectina unido a las células). Se sabe que el TNF- α está implicado en muchas enfermedades infecciosas y autoinmunes (W. Friers, FEBS Letters, 285, 199 (1991)). Además, se ha demostrado que el TNF- α es el mediador principal de la respuesta inflamatoria observada en la septicemia y el choque
25 séptico (Spooner, et al., Clinical Immunology and

1525

-3-

Immunopathology, 62, S11 (1992)). Existen dos formas de TNF- α , una proteína de membrana tipo II de masa molecular relativa 26.000 (26 kD) y una forma soluble de 17 kD generada a partir de la proteína unida a las células por escisión
5 proteolítica específica. La forma soluble de 17 kD del TNF- α es liberada por las células y se asocia a los efectos perjudiciales del TNF- α . Esta forma de TNF- α también puede actuar en sitios alejados del lugar de la síntesis. Así, los inhibidores de la TACE evitan la formación de TNF- α soluble
10 y previenen los efectos perjudiciales del factor soluble.

Los compuestos seleccionados de la invención son potentes inhibidores de la agrecanasa, una enzima importante en la degradación del agrecano del cartílago. Se cree también que la agrecanasa es una ADAM (Tortorella et al., Science,
15 284, 1664 (1999)). La pérdida de agrecano de la matriz del cartílago es un factor importante en la progresión de enfermedades de las articulaciones como osteoartritis y artritis reumatoide y es de esperar que la inhibición de agrecanasa ralentice o bloquee la pérdida de cartílago en
20 estas enfermedades.

Otras ADAM que han demostrado expresión en situaciones patológicas incluyen ADAM TS-1 (Kuno et al., J. Biol. Chem., 272, 556-562 (1997)) y ADAM 10, 12 y 15 (Wu, et al., Biochem. Biophys. Res. Comm., 235, 437-442 (1997)). Como reconocimiento
25 de la expresión, se apreciará que la asociación de substratos

153 \$

-4-

fisiológicos y enfermedad de las ADAM aumenta la importancia de la función inhibidora de esta clase de enzimas.

Es conocido que diferentes combinaciones de MMP y ADAM se expresan en diferentes situaciones patológicas. Como
5 tales, para determinadas enfermedades individuales pueden preferirse inhibidores con selectividades específicas para determinadas ADAM y/o MMP. Por ejemplo, la artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria de las articulaciones caracterizada por niveles excesivos de TNF y
10 por la pérdida de los constituyentes de la matriz de la articulación. En este caso, la terapia preferida puede ser un compuesto que inhiba la TACE y la agrecanasa, además de las MMP, tal como MMP-13. Por el contrario, en una enfermedad de las articulaciones menos inflamatoria como la
15 osteoartritis, pueden preferirse los compuestos que inhiban las MMP que degradan la matriz como MMP-13, pero no la TACE.

Los autores de la presente invención han descubierto también que es posible identificar inhibidores de fórmula I con actividad diferencial de metaloproteinasas y reprotisinas
20 (preferiblemente actividad inhibidora de MMP-13). Un grupo de inhibidores preferidos de fórmula I que los inventores han podido identificar incluye aquellos que inhiben selectivamente MMP-13 preferentemente sobre MMP-1.

Los inhibidores de la metaloproteinasa de la matriz y
25 de la reprotisina son bien conocidos en la bibliografía.

154/4

-5-

Especialmente, la publicación de documento PCT WO 98/58925, publicada el 30 de diciembre de 1998 se refiere a ciertas pirimidina-2,4,6-trionas inhibidores de MMP. La publicación de patente europea 606.046, publicada el 13 de julio de 1994, se refiere a ciertos inhibidores heterocíclicos de las MMP. La patente de los Estados Unidos 5.861.510, expedida el 19 de enero de 1999, se refiere a ácidos arilsulfonilaminohidroxámicos cíclicos que son útiles como inhibidores de las MMP. La publicación del documento PCT WO98/34918, publicada el 13 de agosto de 1998, se refiere a ácidos hidroxámicos heterocíclicos que incluyen ciertos compuestos dialquil sustituidos, que son útiles como inhibidores de las MMP. Las publicaciones de documentos PCT WO 96/27583 y WO 98/07697, publicadas el 7 de marzo de 1996 y el 26 de febrero de 1998, respectivamente, se refieren a ácidos arilsulfonilhidroxámicos. La publicación del documento PCT WO 98/03516, publicada el 29 de enero de 1998 se refiere a fosfinatos con actividad frente a las MMP. La publicación del documento PCT 98/33768, publicada el 6 de agosto de 1998, se refiere a ácidos arilsulfonilamino-hidroxámicos con el N no sustituido. La publicación del documento PCT WO 98/08825 y WO 98/08815, publicadas ambas el 5 de marzo de 1998, se refieren a ciertos inhibidores de las MMP heterocíclicos. Las solicitudes de patente de los Estados Unidos 60/096232 y 60/096256, presentadas ambas el 12 de agosto de 1998, se

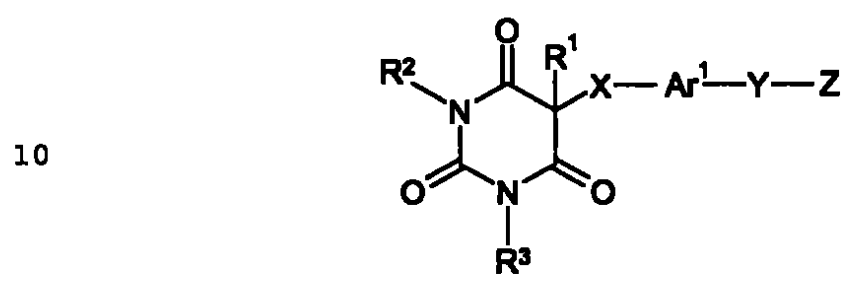
..

155 p. 1

refieren también a ácidos hidroxámicos heterocíclicos
 inhibidores de las MMP y del TACE. Cada una de las
 publicaciones y solicitudes anteriormente citadas se
 incorpora en la presente memoria como referencia en su
 5 totalidad.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula



en la que R¹ es hidrógeno, perfluoroalquilo C₁-C₄, alquilo C₁-
 C₈ o cicloalquilo C₃-C₈, pudiendo contener dichos alquilo C₁-C₈
 15 o cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente de uno a tres heteroátomos
 seleccionados independientemente de oxígeno, >NR⁵ y azufre;
 pudiendo estar también dichos alquilo C₁-C₈ o cicloalquilo C₃-
 C₈ opcionalmente sustituidos por uno a dos sustituyentes
 seleccionados independientemente de alquilo C₁-C₄, arilo C₆-
 20 C₁₀, heteroarilo C₂-C₁₀, OH, NH₂, (alquil C₁-C₄) amino, di[alquil
 C₁-C₄] amino, (cicloalquil C₃-C₈) amino, (cicloalquil C₃-
 C₈) (alquil C₁-C₄) amino, alcoxi C₁-C₄, -CONH₂, -CONHR⁴, -CON(R⁴)₂
 y cicloalquilo C₃-C₈, pudiendo contener dicho cicloalquilo C₃-
 C₈ opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados
 25 independientemente de >NR⁵, oxígeno y azufre.

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de hidrógeno o alquilo C_1-C_4 , pudiendo contener dicho alquilo C_1-C_4 opcionalmente un heteroátomo seleccionado de oxígeno, $>NR^5$ o azufre y pudiendo estar dicho alquilo C_1-C_4 opcionalmente

5 sustituido por arilo C_6-C_{10} , heteroarilo C_2-C_{10} , OH, NH_2 , (alquil C_1-C_4)amino, di[(alquil C_1-C_4)]amino, (cicloalquil C_3-C_8)amino, (cicloalquil C_3-C_8)(alquil C_1-C_4)amino, alcoxi C_1-C_4 , $-CON(R^4)_2$ o cicloalquilo C_3-C_8 , pudiendo contener dicho cicloalquilo C_3-C_8 uno o dos heteroátomos seleccionados

10 independientemente de $>NR^5$, oxígeno y azufre;

X se selecciona del grupo formado por oxígeno, azufre, $>SO_2$, $>S=O$, $>NR^4$, $-CH_2O-$, $-OCH_2-$, $-CH_2S-$, $-CH_2(S=O)-$, $-CH_2SO_2-$, $-SCH_2-$, $-SOCH_2-$, $-SO_2CH_2-$, $-N(R^4)CH_2-$, $-CH_2N(R^4)-$, $-N(R^4)SO_2-$ y $-SO_2N(R^4)-$;

15 R^4 , siempre que esté presente, se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo C_1-C_4 ;

R^5 , siempre que esté presente, se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C_1-C_4 , arilo C_6-C_{10} , heteroarilo C_2-C_{10} , OH, $-CONH_2$, $-CONHR^4$, $-CON(R^4)_2$ y

20 cicloalquilo C_3-C_8 ;

Y se selecciona del grupo formado por un enlace, oxígeno, azufre, $>SO_2$, $>S=O$, $>NH$, $-CH_2-$, $-CH_2O-$, $-OCH_2-$, $-CH_2S-$, $-CH_2(S=O)-$, $-CH_2SO_2-$, $-SCH_2-$, $-SOCH_2-$, $-SO_2CH_2-$, $-NHCH_2-$, $-CH_2NH-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH=CH-$, $-NHSO_2-$ y $-SO_2NH-$;

25 Ar^1 es arilo C_6-C_{10} o heteroarilo C_2-C_{10} ; y

157 I

-8-

Z es arilo C_6-C_{10} , cicloalquilo C_3-C_8 , (cicloalquil C_3-C_8) (alquilo C_1-C_4) o heteroarilo C_2-C_{10} ; pudiendo estar uno o dos de los átomos de carbono del anillo de dichos cicloalquilo C_3-C_8 o (cicloalquil C_3-C_8) (alquilo C_1-C_4)
5 opcionalmente reemplazados por heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y NR^3 ;

pudiendo estar Ar^1 y Z opcionalmente sustituidos en cualquiera de los átomos de carbono del anillo que puedan formar un enlace adicional por uno a tres sustituyentes
10 seleccionados independientemente de F, Cl, Br, CN, OH, alquilo C_1-C_4 , perfluoroalquilo C_1-C_4 , perfluoroalcoxi C_1-C_4 , alcoxi C_1-C_4 y cicloalquiloxi C_3-C_8);

o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La presente invención también se refiere a las sales de
15 adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I. Los ácidos que se usan para preparar las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los compuestos básicos anteriormente citados de esta invención son aquellos que forman sales de adición de ácidos
20 no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables como clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, acetato, lactato, citrato, citrato ácido, tartrato, bitartrato, succinato, maleato, fumarato, gluconato,
25 sacarato, benzoato, metanosulfonato, etanosulfonato,

..

158

-9-

bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato [es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)].

La invención también se refiere a las sales por adición de bases de fórmula I. Las bases químicas que se usan como reactivos para preparar las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I que son de naturaleza ácida son aquellas que forman sales de adición de bases no tóxicas con dichos compuestos. Tales sales de adición de bases no tóxicas incluyen, aunque sin quedar limitadas a las mismas, las derivadas de cationes farmacológicamente aceptables como cationes de metales alcalinos (por ejemplo, potasio y sodio) y cationes de metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio y magnesio), sales de amonio o de adición de aminas solubles en agua como N-metilglucamina (meglumina) y las sales de (alcohol inferior)amonio y otras sales de adición de bases de aminas orgánicas farmacéuticamente aceptables.

El término "enlace", tal y como se usa en el grupo Y, se refiere a que los grupos Ar^1 y Z están conectados directamente a través de un enlace carbono-carbono de manera que forman anillos arilo pendientes como difenilo.

El término "alquilo" tal como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye radicales hidrocarburo monovalentes saturados con restos lineales, ramificados o cíclicos, o combinaciones de los

159

mismos. Los grupos alquilo, cuando estén presentes, pueden estar opcionalmente sustituidos con un sustituyente adecuado.

El término "alquenilo", tal y como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye
5 radicales hidrocarburo que contienen al menos un enlace olefínico y que tienen restos lineales, ramificados o cíclicos o combinaciones de los mismos.

El término "alquinilo", tal y como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye
10 radicales hidrocarburo que contienen al menos un enlace carbono-carbono triple y que tienen restos lineales, ramificados o cíclicos o combinaciones de los mismos.

El término "alcoxi" tal como se usa en la presente memoria, incluye grupos O-alquilo en los que "alquilo" se
15 define como antes.

El término "halo", tal y como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye flúor, cloro, bromo o yodo, preferiblemente flúor o cloro.

El término "arilo", tal como se usa en la presente
20 memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye un radical orgánico derivado de un hidrocarburo aromático por eliminación de uno o más hidrógenos, como fenilo o naftilo, opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes adecuados seleccionados del grupo formado por fluoro, cloro, ciano,
25 nitro, trifluorometilo, alcoxi C_1-C_6 , ariloxi C_6-C_{10} ,

160

cicloalquiloxi C₃-C₈, trifluorometoxi, difluorometoxi o alquilo C₁-C₆.

El término "heteroarilo", tal como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, incluye un
5 radical orgánico derivado de un compuesto heterocíclico aromático por eliminación de uno o más hidrógenos, como piridilo, furilo, pirrolilo, tienilo, isotiazolilo, imidazolilo, benzoimidazolilo, tetrazolilo, pirazinilo, pirimidilo, quinolilo, isoquinolilo, benzofurilo,
10 isobenzofurilo, benzotienilo, pirazolilo, indolilo, isoindolilo, purinilo, carbazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, benzotiazolilo o benzoxazolilo, opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes adecuados como los definidos más adelante, tales como fluoro, cloro,
15 trifluorometilo, alcoxi C₁-C₆, ariloxi C₆-C₁₀, cicloalquiloxi C₃-C₈, trifluorometoxi, difluorometoxi o alquilo C₁-C₆.

"Un sustituyente adecuado" se refiere a un grupo funcional, química o farmacéuticamente aceptable, es decir, un resto que no anule la actividad inhibidora de los
20 compuestos de la invención. Tales sustituyentes adecuados se pueden seleccionar de forma rutinaria por los técnicos en la materia. Ejemplos ilustrativos de sustituyentes adecuados incluyen, aunque sin estar limitados a los mismos, grupos halógeno, grupos perfluoroalquilo, grupos perfluoroalcoxi,
25 grupos alquilo, grupos hidroxilo, grupos oxo, grupos mercapto,

2. Q,
161

-12-

grupos alquiltio, grupos alcoxi, grupos arilo o heteroarilo, grupos ariloxi o heteroariloxi, grupos aralquilo o heteroaralquilo, grupos aralcoxi o heteroaralcoxi, grupos carboxi, grupos amino, grupos alquil- y dialquilamino, grupos carbamóilo, grupos alquilcarbonilo, grupos alcoxicarbonilo, grupos alquilaminocarbonilo, grupos dialquilaminocarbonilo, grupos arilcarbonilo, grupos ariloxicarbonilo, grupos alquilsulfonilo y grupos arilsulfonilo y grupos similares.

Algunos compuestos de fórmula I contienen centros quirales y por tanto existen en diferente formas enantioméricas. Esta invención se refiere a todos los isómeros ópticos, enantiómeros, diastereoisómeros y estereoisómeros de los compuestos de fórmula I y a sus mezclas. Los compuestos de la invención también existen en diferentes formas tautómeras. Esta invención se refiere a todos los tautómeros de fórmula I.

Los compuestos preferidos de la invención son aquellos en los que R^2 y R^3 son cada uno hidrógeno.

Otros compuestos preferidos de la invención incluyen aquellos en los que X es oxígeno, $-OCH_2-$, $-CH_2O-$, más preferiblemente, en los que X es oxígeno; más preferiblemente, en los que Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$, más preferiblemente, en los que Y es oxígeno, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$, lo más preferible en los que Y es oxígeno.

62

-13-

Otras realizaciones de la invención incluyen los compuestos de fórmula I en los que X es azufre, $>SO_2$, $-SCH_2-$, $-CH_2S-$, $-CH_2SO_2-$ o $-SO_2CH_2-$, más preferiblemente, en los que Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$, $-OCH_2-$ o $-CH_2O$, más
5 preferiblemente, en los que Y es oxígeno, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$, lo más preferible, en los que Y es oxígeno.

Otras realizaciones de la invención incluyen los compuestos de fórmula I en los que X es $>NR^1$, $-CH_2NR^1-$ o $-NR^1CH_2-$, más preferiblemente, en los que Y es un enlace,
10 oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$, $-OCH_2-$ o $-CH_2O$, más preferiblemente, en los que Y es oxígeno, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$, lo más preferible, en los que Y es oxígeno.

Otras realizaciones de la invención incluyen los compuestos de fórmula I en los que X es $-N(R^1)SO_2-$ o $-SO_2N(R^1)-$,
15 , más preferiblemente, en los que Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$, más preferiblemente, en los que Y es oxígeno, $-OCH_2-$, lo más preferible, en los que Y es oxígeno.

Otros compuestos preferidos son aquellos en los que Ar^1
20 es fenilo opcionalmente sustituido.

Otras realizaciones de la invención incluyen los compuestos de fórmula I en los que Z es arilo C_6-C_{10} , preferiblemente fenilo, sustituido opcionalmente con uno o
más sustituyentes, preferiblemente cero, uno o dos
25 sustituyentes, seleccionados independientemente de F, Cl, Br,

20
163

-14-

-CN, OH, alquilo C₁-C₄, perfluoroalquilo C₁-C₄, perfluoroalcoxi C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄ y cicloalquiloxi C₃-C₈.

Otras realizaciones de la invención incluyen los compuestos de fórmula I en los que Z es cicloalquilo C₃-C₈ (es decir, cicloalquilo C₃-C₈ o (cicloalquiloxi C₃-C₈)-(alquilo C₁-C₄)), en los que uno o dos de los átomos de carbono del anillo de dicho cicloalquilo C₃-C₈ pueden estar opcionalmente reemplazados por heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre o NR⁵, estando
10 seleccionado R⁵ de hidrógeno, alquilo C₁-C₄, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₂-C₁₀, OH, -CONH₂, -CONR⁴, -CON(R⁴)₂ y cicloalquilo C₃-C₈. Tales grupos preferidos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, tetrahydrofuranilo, tetrahidropiraniilo, N-metil-3-
15 azetidiniilo, piperaziniilo, piperidiniilo, 1,3-oxazolidin-4-on-5-ilo, 1,3-oxazolidin-2,4-dion-5-ilo, 4,5-dihidro-1,2-oxazolidin-3-on-4-ilo, 1,3-tiazolidin-4-on-5-ilo, 1,3-tiazolidin-2,4-dion-5-ilo, 1,3-imidazolidin-4-on-5-ilo, 1,3-imidazolidin-2,4-dion-5-ilo, 1,2-pirazolidin-3-on-4-ilo,
20 tetrahydro-1,3-oxazin-4-on-5-ilo, tetrahydro-1,3-oxazin-2,4-dion-5-ilo, morfoliniilo, morfolin-3-on-2-ilo, morfolin-3,5-dion-2-ilo, 2,3-dihidro-1,4-oxazin-3-on-2-ilo, tetrahydro-1,3-tiazin-4-on-5-ilo, tetrahydro-1,3-tiazin-2,4-dion-5-ilo, tiomorfoliniilo, tiomorfolin-3-on-2-ilo, tiomorfolin-3,5-dion-
25 2-ilo, 2,3-dihidro-1,4-tiazin-3-on-2-ilo, hexahidro-1,2-

179
164

-15-

diazin-3-on-4-ilo, 4,5-dihidro-2H-piridazin-3-on-4-ilo, hexahidro-1,3-diazin-2,4-dion-5-ilo, piperazin-2-on-3-ilo, piperazin-2,6-dion-3-ilo, tetrahidro-1,3,4-tiadiazin-5-on-6-ilo, 5,6-dihidro-1,3,4-tiadiazin-5-on-6-ilo, 1,3,4-oxadiazin-5-on-6-ilo, 5,6-dihidro-1,2,4-oxadiazin-5-on-6-ilo, tetrahidro-1,2,4-oxadiazin-5-on-6-ilo, 1,2,4-triazin-5-on-6-ilo, tetrahidro-1,2,4-oxadiazin-5-on-6-ilo, 5,6-dihidro-1,2,4-oxadiazin-5-on-6-ilo, 1,2,4-oxadiazin-3,5-dion-6-ilo, y 1,2,4-triazin-6-on-5-ilo, preferiblemente ciclopropilo, 10 ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, N-metil-3-azetidino, piperazino, piperidino, N-metilpiperidino y morfolino, más preferiblemente ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, tetrahidrofuranilo y tetrahidropiranilo, lo más 15 preferible, ciclopropilo, tetrahidrofuranilo y tetrahidropiranilo.

Otras realizaciones de la invención incluyen los compuestos de fórmula I en los que Z es (cicloalquil C₃-C₈) (alquilo C₁-C₄); pudiendo estar uno o dos de los átomos de 20 carbono del anillo de dicho (cicloalquil C₃-C₈) (alquilo C₁-C₄) opcionalmente reemplazado por heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre o >NR⁵, seleccionándose R⁵ de hidrógeno, alquilo C₁-C₄, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₂-C₁₀, OH, -CONH₂, -CONHR⁴, -CON(R⁴)₂ y cicloalquilo C₃-C₈. Los anillos 25 cicloalquilo y heterocicloalquilo preferidos son como los

99X
165

descritos antes. Los grupos alquilo preferidos de dicho (cicloalquil C₃-C₈) (alquilo C₁-C₄) son metileno y etileno.

Otras realizaciones de la invención incluyen los compuestos de fórmula I en los que Z es heteroarilo C₁-C₁₀;
5 preferiblemente piridilo, furilo, pirroilo, tienilo, isotiazolilo, imidazolilo, benzoimidazolilo, tetrazolilo, pirazinilo, pirimidilo, quinolilo, isoquinolilo, benzofurilo, isobenzofurilo, benzotienilo, pirazolilo, indolilo, isoindolilo, purinilo, carbazolilo, isoxazolilo, tiazolilo,
10 oxazolilo, benzotiazolilo o benzoxazolilo, más preferiblemente, piridilo, pirimidilo o pirazinilo, lo más preferible, piridilo; pudiendo estar cada uno de dichos heteroarilo C₁-C₁₀ opcionalmente sustituido por 1 a 3 sustituyentes adecuados, como fluoro, cloro, trifluorometilo,
15 alcoxi C₁-C₆, ariloxi C₆-C₁₀, trifluorometoxi, difluorometoxi o alquilo C₁-C₆.

Otros compuestos preferidos de la invención incluyen los compuestos en los que Ar¹ es fenilo o heteroarilo C₁-C₁₀;
preferiblemente piridilo, furilo, pirroilo, tienilo,
20 isotiazolilo, imidazolilo, benzoimidazolilo, tetrazolilo, pirazinilo, pirimidilo, quinolilo, isoquinolilo, benzofurilo, isobenzofurilo, benzotienilo, pirazolilo, indolilo, isoindolilo, purinilo, carbazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, benzotiazolilo o benzoxazolilo, más
25 preferiblemente, fenilo, pirimidilo, pirazinilo, pirimidilo,

lo más preferible, piridilo o fenilo opcionalmente sustituidos por 1 a 3 sustituyentes adecuados como fluoro, cloro, trifluorometilo, alcoxi C₁-C₆, ariloxi C₆-C₁₀, trifluorometoxi, difluorometoxi o alquilo C₁-C₆.

5 Otros compuestos preferidos de la invención incluyen aquellos en los que Ar¹ y Z están sustituidos en cualquiera de los átomos de carbono del anillo que puede formar un enlace adicional por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de F, Cl, Br, -CN, OH, alquilo C₁-C₄,
10 perfluoroalquilo C₁-C₄, perfluoroalcoxi C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄ y cicloalquiloxi C₃-C₈.

Los compuestos más preferidos de la invención incluyen compuestos de fórmula I, en los que X es oxígeno, Y es un enlace, oxígeno, azufre, -CH₂-, >SO₂, -OCH₂- o -CH₂O-; R¹ es
15 hidrógeno o alquilo C₁-C₄; pudiendo contener dicho alquilo C₁-C₄ opcionalmente uno a dos heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno y >NR⁵, pudiendo dicho alquilo C₁-C₄ estar además opcionalmente sustituido por uno a tres
20 sustituyentes (preferiblemente, cero, uno o dos sustituyentes) seleccionados independientemente de alquilo C₁-C₄, OH, NH₂, (alquil C₁-C₄)amino, di[(alquil C₁-C₄)amino, alcoxi C₁-C₄, -CONH₂, -CONHR⁴ y CON(R⁴)₂; y R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁-C₄.

Otras realizaciones de la invención incluyen compuestos
25 de fórmula I en los que R¹ es alquilo C₁-C₈ que opcionalmente

167

contienen uno a tres heteroátomos (preferiblemente dos heteroátomos separados por al menos un átomo de carbono, siendo dicho heteroátomo con preferencia -NH- u O, lo más preferible O), estando dicho alquilo C₁-C₈ sustituido con OH, 5 NH₂, (alquil C₁-C₄)amino, di[(alquil C₁-C₄)]amino, alcoxi C₁-C₄ o -CON(R⁴)₂, preferiblemente di[(alquil C₁-C₄)]amino.

Otras realizaciones de la invención incluyen compuestos de fórmula I, en la que al menos uno de R² y R³ es alquilo C₁-C₄, opcionalmente sustituido con un heteroátomo (siendo 10 preferiblemente dicho heteroátomo -NH- u -O-, lo más preferible -O-), estando dicho alquilo C₁-C₄ sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo C₂-C₁₀.

Otros compuestos preferidos de la invención incluyen 15 aquellos en los que:

R¹ es metilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es oxígeno; Y es oxígeno; y Z es arilo C₆-C₁₀;

R¹ es n-butilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es oxígeno; Y es oxígeno; y Z es arilo C₆-C₁₀;

20 R¹ es metilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es oxígeno; Y es oxígeno; y Z es arilo C₆-C₁₀; y

R¹ es n-butilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es oxígeno; Y es oxígeno; y Z es arilo C₆-C₁₀.

Compuestos específicos preferidos de fórmula I se 25 seleccionan del grupo formado por:

- 5-Metil-5-(4-fenoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 5-n-Butil-5-(4-fenoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 5 5-n-Butil-5-(4-(4'-fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 5-Metil-5-(4-fenil-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 5-Metil-5-(3-fenil-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona; y
 5-Metil-5-(4-benciloxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 10 o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
 Otros compuestos de la invención incluyen:
 5-Metil-5-(4-(4'-clorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 5-Metil-5-(4-(4'-cianofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 15 5-Metil-5-(4-(4'-trifluorometilfenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 5-Metil-5-(4-(4'-metoxifenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 20 5-Metil-5-(4-(3'-clorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 5-Metil-5-(4-(3'-fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 5-Metil-5-(4-(3'-trifluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;
 25 2,4,6-triona;

OK
169

5-Metil-5-(4-(4'-clorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-
2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-
2,4,6-triona;

5 5-Metil-5-(4-(4'-fluoro-2'-cloro-fenilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-cloro-2'-fluoro-fenilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

10 5-Metil-5-(4-(4'-fluoro-2'-metil-fenilmetoxi)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluoro-2'-trifluorometil-fenilmetoxi)-
fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluoro-2'-ciclopropil-fenilmetoxi)-
fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

15 5-Metil-5-(4-(piridin-2-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-
triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluoro-piridin-2-il)-fenoxi)-
pirimidina-2,4,6-triona;

20 5-Metil-5-(4-(4'-cloro-piridin-2-il)-fenoxi)-pirimidina-
2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(piridin-4-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-
triona;

5-Metil-5-(4-(piridin-3-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-
triona;

25 5-Metil-5-(4-(pirimidin-2-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-

2
178

-21-

triona;

5-Metil-5-(4-(pirimidin-4-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5 5-Metil-5-(4-(pirazin-3-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(pirazin-4-il)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

1,5-Dimetil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

10 1-Etil, 5-metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

1-(2-Metoxietil)-5-metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

15 1-(2-Dimetilamino-etil)-5-metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

1-Ciclopropilmetil-5-metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Dimetilaminometil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

20 5-(2-Dimetilamino-etil)-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-(2-Metoxietil)-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

25 5-Ciclopropilmetil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

2
171

5-Etil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Trifluorometil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5 5-Isopropil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Isobutiril-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

10 5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-feniltio)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenilsulfonil)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenilsulfoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

15 5-Metil-5-(N-4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenilamino)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(N-Metil-N-4-(4'-fluorofenilmetoxi)-fenilamino)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-(4-(4'-Fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

20 5-(4-(4'-Clorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenil)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-clorofenil)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

25 5-Metil-5-(3-(4'-fluorofenil)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-

...

172

triona;

5-Metil-5-(3-(4'-clorofenil)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-

triona;

5-Metil-5-(5-(4'-fluorofenoxi)-2-piridiloxi)-pirimidina-

5 2,4,6-triona;

5-Metil-5-(2-(4'-fluorofenoxi)-5-piridiloxi)-pirimidina-

2,4,6-triona;

5-Metil-5-(3-(4'-fluorofenoxi)-6-piraziniloxi)-

pirimidina-2,4,6-triona;

10 5-Metil-5-(2-(4'-fluorofenoxi)-5-pirimidiloxi)-

pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(ciclopropilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-

2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(ciclobutilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-

15 2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(ciclopentilmetoxi)-fenoxi)-pirimidina-

2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(3'-tetrahidrofuranilmetoxi)-fenoxi)-

pirimidina-2,4,6-triona;

20 5-Metil-5-(4-(4'-tetrahidropirasilmetoxi)-fenoxi)-

pirimidina-2,4,6-triona; y

5-Metil-5-(4-(N-metil-3-azetidilmetoxi)-fenoxi)-

pirimidina-2,4,6-triona;

o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

25 La presente invención también se refiere a una

~~173~~
173

composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno
seleccionado del grupo formado por artritis (incluyendo
osteoartritis y artritis reumatoide), enfermedad inflamatoria
del intestino, enfermedad de Crohn, enfisema, síndrome del
5 distrés respiratorio agudo, asma, enfermedad pulmonar
obstructiva crónica, enfermedad de Alzheimer, toxicidad en
el trasplante de un órgano, caquexia, reacciones alérgicas,
hipersensibilidad alérgica por contacto, cáncer (tal como
invasión tumoral, crecimiento de tumores, metástasis tumoral,
10 cáncer de tumores sólidos, incluyendo cáncer de colon, cáncer
de mama, cáncer de pulmón y cáncer de próstata y procesos
hematopoyéticos malignos, incluyendo leucemias y linfomas),
ulceración de tejidos, restenosis, enfermedad periodontal,
epidermólisis vesicular, osteoporosis, falta de firmeza en
15 implantes de articulaciones artificiales, aterosclerosis
(incluyendo ruptura de la placa aterosclerótica), aneurisma
aórtico (incluyendo aneurisma aórtico abdominal y aneurisma
aórtico cerebral), insuficiencia cardíaca congestiva, infarto
de miocardio, apoplejía, isquemia cerebral, traumatismo
20 craneal, lesión de la médula espinal, trastornos neurodege-
nerativos (agudos y crónicos), trastornos autoinmunes,
enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, migraña,
depresión, neuropatía periférica, dolor, angiopatía amiloide
cerebral, potenciación nootrópica o cognitiva, esclerosis
25 lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, angiogénesis

174

ocular, lesión corneal, degeneración macular, curación anómala de heridas, quemaduras, diabetes, cicatrices corneales, escleritis, SIDA, septicemia y choque séptico y otras enfermedades caracterizadas por actividad de metaloproteinasas y otras enfermedades caracterizadas por actividad de reprotisina de mamífero en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende una cantidad de un compuesto de fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, eficaz en tales tratamientos y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención se refiere también a una composición farmacéutica para la inhibición de (a) metaloproteinasas de la matriz u otras metaloproteinasas implicadas en la degradación de la matriz, o (b) una reprotisina de mamífero (como agrecanasa o ADAM TS-1, 10, 12, 15 y 17, lo más preferible agrecanasa o ADAM-17) en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención se refiere también a un procedimiento para tratar un trastorno seleccionado del grupo formado por artritis (incluyendo osteoartritis y artritis reumatoide), enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, enfisema, síndrome del distrés respiratorio agudo, asma, enfermedad pulmonar obstructiva

175

-26-

crónica, enfermedad de Alzheimer, toxicidad en el trasplante de un órgano, caquexia, reacciones alérgicas, hipersensibilidad alérgica por contacto, cáncer (tal como invasión tumoral, crecimiento de tumores, metástasis tumoral, 5 cáncer de tumores sólidos, incluyendo cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de pulmón y cáncer de próstata y procesos hematopoyéticos malignos, incluyendo leucemias y linfomas), ulceración de tejidos, restenosis, enfermedad periodontal, epidermólisis vesicular, osteoporosis, falta de firmeza en 10 implantes de articulaciones artificiales, aterosclerosis (incluyendo ruptura de la placa aterosclerótica), aneurisma aórtico (incluyendo aneurisma aórtico abdominal y aneurisma aórtico cerebral), insuficiencia cardíaca congestiva, infarto de miocardio, apoplejía, isquemia cerebral, traumatismo 15 craneal, lesión de la médula espinal, trastornos neurodegenerativos (agudos y crónicos), trastornos autoinmunes, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, migraña, depresión, neuropatía periférica, dolor, angiopatía amiloide cerebral, potenciación nootrópica o cognitiva, esclerosis 20 lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, angiogénesis ocular, lesión corneal, degeneración macular, curación anómala de heridas, quemaduras, diabetes, cicatrices corneales, escleritis, SIDA, septicemia, choque séptico y otras enfermedades caracterizadas por actividad de 25 metaloproteinasas de la matriz y otras enfermedades

176

caracterizadas por actividad de reprotisina de mamífero en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad de un compuesto de fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo
5 eficaz para tratar dicho trastorno.

El término "tratar" tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a invertir, aliviar, inhibir el progreso de una enfermedad o trastorno al que se aplica el término, o prevenirlo, o de uno o más síntomas de dicha enfermedad o
10 trastorno. El término "tratamiento" tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a la acción de tratar, siendo "tratar" como se acaba de definir.

La presente invención se refiere además a un procedimiento para la inhibición de (a) metaloproteinasas de la matriz u otras metaloproteinasas implicadas en la
15 degradación de la matriz, o (b) una reprotisina de mamífero (como agrecanasa o ADAM TS-1, 10, 12, 15 y 17, preferiblemente agrecanasa o ADAM-17) en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende administrar a dicho
20 mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención incluye además compuestos marcados con isótopos, que son idénticos a los compuestos de Fórmula I, salvo por el hecho de que uno o más átomos están
25 reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número

AX
177

-28-

másico diferente de la masa atómica o número másico normalmente encontrado en la forma natural. Ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, 5 oxígeno, fósforo, flúor y cloro, como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente. Los compuestos de la presente invención, sus profármacos y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos o de dichos profármacos que contienen los isótopos anteriormente citados 10 y/u otros isótopos de otros átomos están dentro del alcance de esta invención. Ciertos compuestos marcados con isótopos de la presente invención, por ejemplo, aquellos en los que se incorporan isótopos radiactivos como ^3H y ^{14}C , son útiles en ensayos de distribución de fármacos y/o tejidos sustrato.

15 Los isótopos tritio, es decir ^3H , y carbono 14, es decir ^{14}C , son particularmente preferidos por su fácil preparación y detección. Además, la sustitución con isótopos más pesados como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas derivadas de una mayor estabilidad 20 metabólica, por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menores requerimientos de dosificación y, por tanto, se pueden preferir en determinadas circunstancias. Los compuestos marcados con isótopos de Fórmula I de esta invención y sus profármacos pueden prepararse de forma general llevando a 25 cabo los procedimientos descritos en los Esquemas y/o

5-4
170

Ejemplos y Preparaciones expuestos más adelante, sustituyendo un reactivo no marcado con isótopos por un reactivo marcado con isótopos fácilmente disponible.

Esta invención también incluye composiciones
5 farmacéuticas que contienen profármacos de los compuestos de fórmula I. Esta invención también incluye procedimientos para tratar o prevenir trastornos que se pueden tratar o prevenir mediante la inhibición de metaloproteinasas de la matriz o la inhibición de reprotisina de mamífero, que comprenden
10 administrar profármacos de compuestos de fórmula I. Los compuestos de fórmula I que tengan grupos amino, amido, hidroxilo, sulfonamido o carboxilo libres se pueden convertir en profármacos. Los profármacos incluyen compuestos en los que un resto aminoácido, o una cadena polipeptídica de dos
15 o más restos aminoácido (por ejemplo, dos, tres o cuatro), están unidos covalentemente a través de enlaces peptídicos a los grupos amido, amino, hidroxilo o ácido carboxílico libres de los compuestos de fórmula I. Los restos aminoácido incluyen los 20 aminoácidos naturales designados corriente-
20 mente por símbolos de tres letras y también incluyen 4-hidroxiprolina, hidroxilisina, demosina, isodemosina, 3-metilhistidina, norvalina, beta-alanina, ácido gamma-aminobutírico, citrulina, homocisteína, homoserina, ornitina y metioninasulfona. Los profármacos también incluyen
25 compuestos en los que carbonatos, carbamatos, amidas y

179

-30-

ésteres de alquilo están unidos covalentemente a los sustituyentes anteriores de los compuestos de fórmula I a través de la cadena lateral del profármaco en el carbono carbonílico.

5 Un técnico en la materia apreciará que los compuestos de la invención son de utilidad en el tratamiento de una serie de enfermedades. Un técnico en la materia también apreciará que cuando se usan los compuestos de la invención en el tratamiento de una enfermedad específica, los
10 compuestos de la invención se pueden combinar con diversos agentes terapéuticos existentes usados para dicha enfermedad.

Para el tratamiento de artritis reumatoide, los compuestos de la invención se pueden combinar con agentes como inhibidores de TNF- α tales como anticuerpos monoclonales
15 anti-TNF (como Remicade®) y moléculas de inmunoglobulina receptoras de TNF (como Enbrel®), metotrexato en bajas dosis, lefunimida, hidroxicloroquina, d-penicilamina, auranofina u oro por vía oral o parenteral.

Los compuestos de la invención se pueden usar también
20 en combinación con agentes terapéuticos existentes para el tratamiento de osteoartritis. Agentes adecuados para usar en combinación incluyen agentes antiinflamatorios no esteroideos convencionales (en lo sucesivo AINE) como piroxicam, diclofenaco, ácidos propiónicos como naproxeno, flubiprofeno,
25 fenoprofeno, cetoprofeno e ibuprofeno, fenamatos como ácido

180

-31-

mefenámico, indometacina, sulindaco, apazona, pirazolonas como fenilbutazona, salicilatos como aspirina, inhibidores de la COX-2 como celecoxib, valdecoxib, paracoxib y rofecoxib, analgésicos, inhibidores de LTD-4, LTB-4 y 5-LO, 5 inhibidores de quinasa p38 y terapias intraarticulares como corticosteroides y ácidos hialurónicos como hialgan y sinvisc.

Los compuestos de la presente invención se pueden usar combinados con agentes contra el cáncer como endostatina y 10 angiostatina o con fármacos citotóxicos como adriamicina, daunomicina, cis-platino, etopósido, taxol, taxótero y alcaloides, como vincristina y antimetabolitos como metotrexato.

Los compuestos de la presente invención también se 15 pueden usar combinados con agentes cardiovasculares como bloqueantes de los canales del calcio, agentes para la disminución del nivel de lípidos como estatinas, fibratos, beta-bloqueantes, inhibidores de la ECA, antagonistas del receptor de angiotensina-2 e inhibidores de la agregación 20 plaquetaria.

Los compuestos de la presente invención también se pueden usar combinados con agentes que actúan sobre el SNC como antidepresivos (como sertralina), fármacos contra el Parkinson (como deprenil, L-dopa, requip, mirapex, 25 inhibidores de la MAOB como selegilina y rasagilina,

181

-32-

inhibidores de comp como Tasmar, inhibidores de A-2, inhibidores de la recaptación de la dopamina, antagonistas del NMDA, agonistas de la nicotina, inhibidores de NK-1 agonistas de la dopamina e inhibidores de la óxido nítrico
5 sintasa neuronal) y fármacos contra el Alzheimer como donepezil, tacrina, inhibidores de la COX-2, propentofilina o metrifonato.

Los compuestos de la presente invención se pueden usar también combinados con agentes contra la osteoporosis como
10 raloxifeno, droloxifeno, lasofoxifeno o fosomax y agentes inmunosupresores como FK-506 y rapamicina.

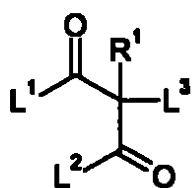
Descripción detallada de la invención

Los siguientes Esquemas de reacción ilustran la preparación de los compuestos de la presente invención. A no
15 ser que se indique de otro modo, en los Esquemas de reacción y la siguiente descripción, X, Y, Ar¹, Z, R¹, R² y R³ son como se han definido antes.

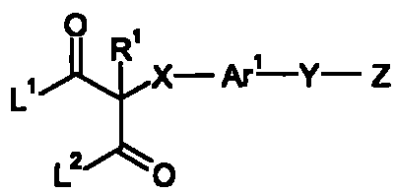
182

-33-

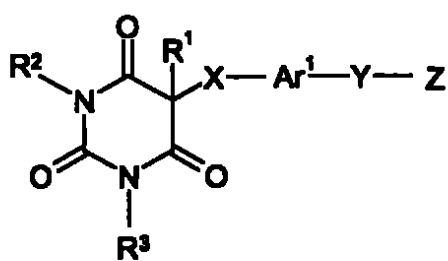
Esquema 1



V



IV



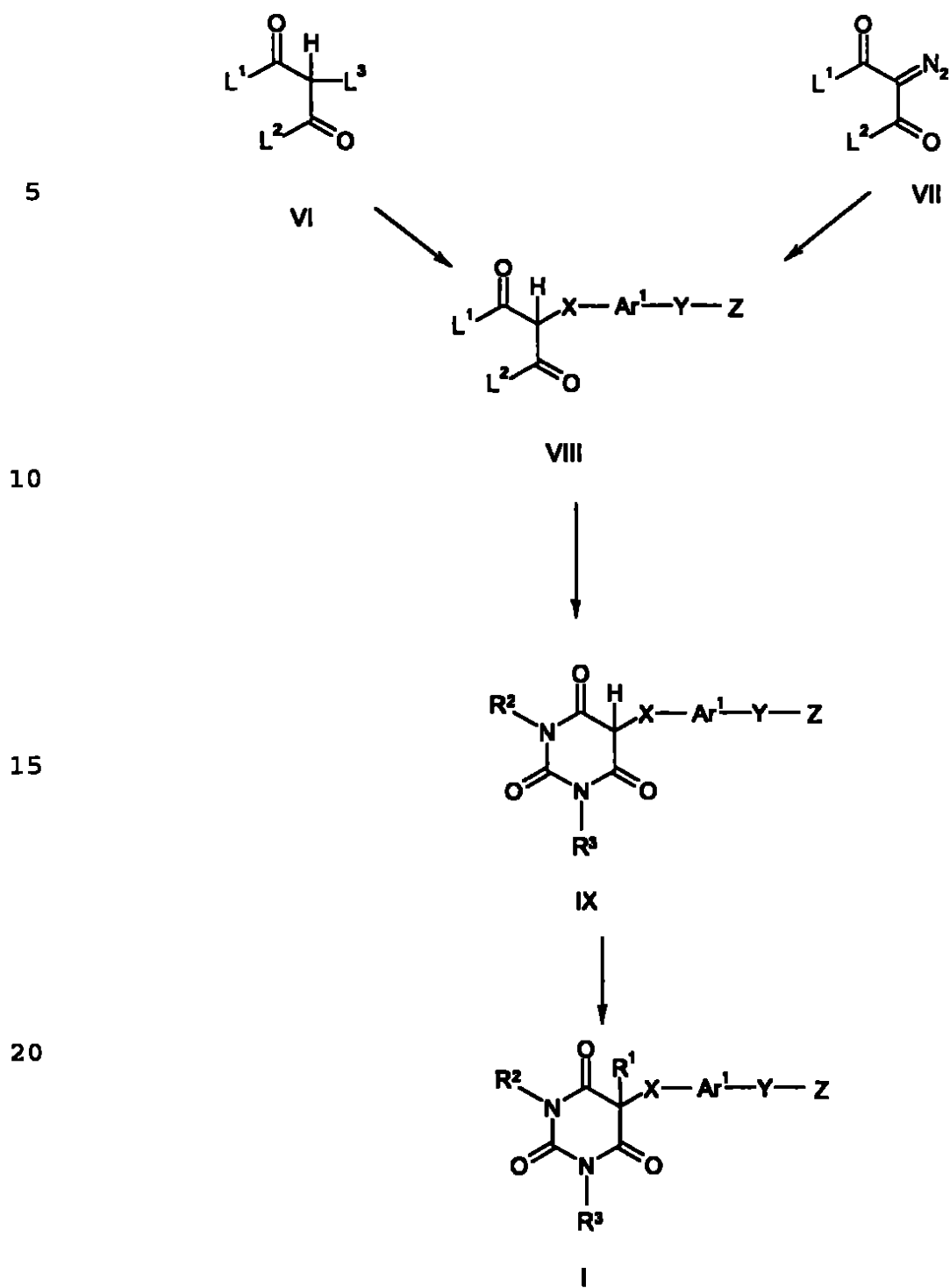
I

...

22
183

-34-

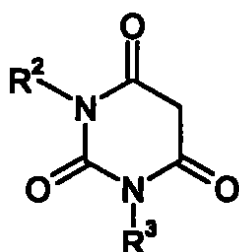
Esquema 2



184

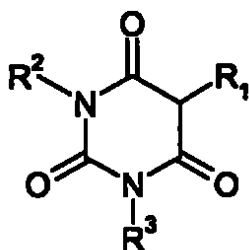
Esquema 3

5



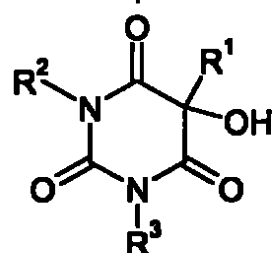
XII

10



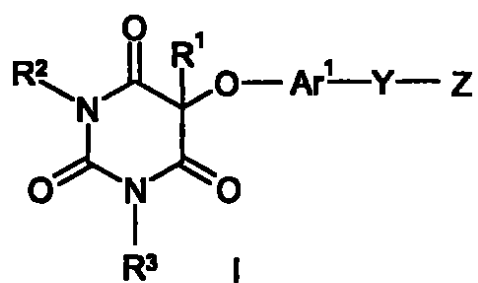
X

15



XI

20



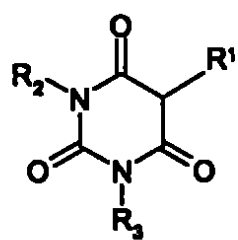
25

185

-36-

Esquema 4

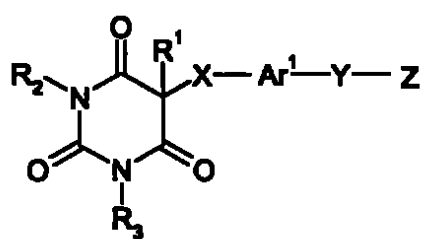
5



X



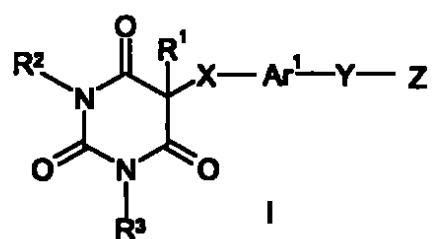
10



XIV



15



I

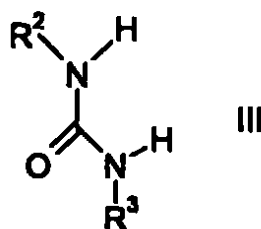
20

I

186

El Esquema 1 se refiere a la preparación de compuestos de fórmula I en una síntesis de dos etapas a partir de compuestos de fórmula V. Haciendo referencia al Esquema 1, se prepara un compuesto de fórmula I a partir de un compuesto
5 de fórmula IV, en el que L¹ y L² son grupos salientes como metoxi, etoxi, benciloxi o cloro, preferiblemente etoxi, mediante la reacción con un derivado de urea de fórmula III:

10



en presencia de una base fuerte y en un disolvente polar. Las bases adecuadas incluyen metóxido sódico, etóxido sódico y
15 metóxido magnésico, preferiblemente etóxido sódico. Los disolventes adecuados incluyen alcoholes (como etanol) o tetrahidrofurano, preferiblemente etanol absoluto. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 90°C, preferiblemente,
20 de aproximadamente 50°C a aproximadamente 65°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas. MARCA

El compuesto de fórmula IV se prepara a partir de un compuesto de fórmula V, en el que L³ es un grupo saliente
25 como halo, p-tolilsulfonilo (OTs) o metilsulfonilo (OMs),

...

187

-38-

preferiblemente halo, lo más preferible cloro o bromo, mediante la reacción con un compuesto de fórmula $HX-Ar^1-Y-Z$ en presencia de una base en un disolvente polar. Los disolventes adecuados incluyen dimetilformamida (DMF),
5 alcoholes (como etanol) o tetrahidrofurano, preferiblemente etanol. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 90°C, preferiblemente de aproximadamente 50°C a aproximadamente 65°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15
10 minutos a aproximadamente 16 horas.

Los compuestos de fórmula V se pueden preparar por procedimientos bien conocidos en la técnica tales como los descritos en la publicación de documento PCT WO 98/58925 o revisados en The Organic Chemistry of Drug Synthesis, D.
15 Lednicer and L. A. Mitscher, Volumen 1, páginas 167 a 277 y las referencias citadas en el mismo. Cada una de las publicaciones y solicitudes referenciadas antes se incorporan en la presente memoria como referencia en su totalidad.

Los compuestos de fórmula III están disponibles
20 comercialmente o se pueden preparar por procedimientos bien conocidos por técnicos en la materia.

Los compuestos de fórmula $HX-Ar^1-Y-Z$ están disponibles comercialmente o se pueden preparar por procedimientos bien conocidos por los técnicos en la materia.

25 El Esquema 2 se refiere a la preparación de compuestos

183

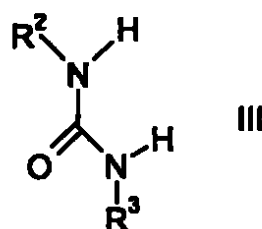
-39-

de fórmula I en una síntesis de tres etapas a partir de compuestos de fórmula VI o VII. Haciendo referencia al Esquema 2, se prepara un compuesto de fórmula I a partir de un compuesto de fórmula IX mediante la reacción con una base
5 adecuada y un agente alquilante adecuado de fórmula R^1L^1 en presencia de un disolvente. Las bases adecuadas incluyen hidruro sódico, carbonato potásico, carbonato sódico, trietilamina, piridina o trietanolamina; lo más preferible, hidruro sódico. Agentes alquilantes adecuados incluyen
10 aquellos en los que L^1 es halo, p-tolilsulfoniloxi (OTs) o metilsulfoniloxi (OMs), preferiblemente halo, lo más preferible cloro o bromo; o los agentes alquilantes incluyen compuestos tales como las sales de Eschenmoser; epóxidos o aziridinas electrófilas sustituidas de forma adecuada. Los
15 disolventes adecuados dependen de la base usada pero se pueden elegir de N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano, acetonitrilo y agua. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 30°C , preferiblemente de aproximadamente 20°C a
20 aproximadamente 25°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

Se puede preparar un compuesto de fórmula IX a partir de un compuesto de fórmula VIII mediante la reacción con una urea de fórmula

139

-40-



5 en presencia de una base fuerte en un disolvente polar. Las bases adecuadas incluyen metóxido sódico, etóxido sódico y metóxido magnésico; preferiblemente etóxido sódico. Los disolventes adecuados incluyen alcoholes (como etanol) o
10 tetrahidrofurano, preferiblemente etanol absoluto. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 90°C, preferiblemente, de aproximadamente 50°C a aproximadamente 65°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a
15 aproximadamente 16 horas.

Se puede preparar un compuesto de fórmula VIII a partir de un compuesto de fórmula VI, en el que L³ es un grupo saliente como halo, p-tolilsulfoniloxi (OTs) o metilsulfoniloxi (OMs), preferiblemente halo, lo más
20 preferible cloro, mediante la reacción con un compuesto de fórmula HX-Ar¹-Y-Z en presencia de una base en un disolvente polar. Las bases adecuadas incluyen metóxido sódico, etóxido sódico, carbonato potásico e hidruro sódico; preferiblemente etóxido sódico. Los disolventes adecuados incluyen
25 dimetilformamida (DMF), alcoholes (como etanol) o

190

tetrahidrofurano, preferiblemente etanol. La reacción anteriormente citada se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 90°C, preferiblemente, de aproximadamente 50°C a aproximadamente 70°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas, preferiblemente, de aproximadamente 3 horas. Las reacciones de este tipo se ilustran con más detalle por el procedimiento de J. B. Niederl and R. T. Roth, J. Amer. Chem. Soc., 62, 1154 (1940).

10 Como alternativa, se puede preparar también un compuesto de fórmula VIII a partir de un compuesto de fórmula VII en presencia de un catalizador adecuado, preferiblemente acetato de rodio(II) según el procedimiento descrito por M. Campbell et al., Aust. J. Chem., 45, 2061 (1992).

15 Los compuestos de fórmula VI y VII están disponibles comercialmente o se pueden obtener fácilmente a partir de materiales de partida disponibles fácilmente según procedimientos bien conocidos por los técnicos en la materia. Por ejemplo, los compuestos de Fórmula VII se pueden preparar
20 según el procedimiento de D. W. Peace et al., Synthesis, 658 (1971).

Los compuestos de fórmula III están disponibles comercialmente o se pueden preparar por procedimientos bien conocidos por los técnicos en la materia.

25 El Esquema 3 se refiere a la preparación de compuestos

191

de fórmula I, en particular aquellos en los que X es oxígeno u -OCH₂-. Haciendo referencia al Esquema 3, se puede obtener un compuesto de fórmula I mediante alquilación de un compuesto de fórmula XI con un fenol adecuado de fórmula HOAr¹-Y-Z según el procedimiento de O. Mitsunobu (Synthesis, 1 (1981)) o por alquilación con un agente alquilante adecuado de fórmula L³CH₂Ar¹-Y-Z, donde L³ es un grupo saliente como halo, p-tolilsulfoniloxi (OTs) o metilsulfoniloxi (OMs), preferiblemente halo, lo más preferible cloro o bromo, en un disolvente adecuado como N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano o acetonitrilo en presencia de una base adecuada como hidruro sódico, carbonato potásico, trietilamina, piridina o trietanolamina. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 50°C, preferiblemente a aproximadamente 20°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

Los compuestos de fórmula XI se pueden preparar a partir de compuestos de fórmula X según el procedimiento de J. A. Vida et al., J. Med. Chem., 17, 732 (1974).

Los compuestos de fórmula X se pueden preparar a partir de un compuesto de fórmula XII mediante reacción con una base adecuada, en presencia de un agente alquilante adecuado R¹L⁴ y un disolvente, como se describe en Biehl et al., J. Het. Chem., 23, 9 (1986). Las bases adecuadas incluyen hidruro

192

-43-

sódico, carbonato potásico, trietilamina, piridina o trietanolamina; lo más preferible, trietanolamina. Agentes alquilantes adecuados incluyen aquellos en los que L^+ es halo, p-tolilsulfoniloxi (OTs) o metilsulfoniloxi (OMs),
5 preferiblemente halo, lo más preferible cloro o bromo; o agentes alquilantes tales como las sales de Eshenmoser; epóxidos o aziridinas electrófilas sustituidas de forma adecuada. Los disolventes adecuados dependen de la base usada pero se pueden elegir de N,N-dimetilformamida,
10 tetrahidrofurano, acetonitrilo y agua. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 30°C , preferiblemente de aproximadamente 20°C a aproximadamente 25°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

15 Los compuestos de fórmula XII están disponibles de forma comercial o se pueden preparar fácilmente por un técnico en la materia según los procedimientos revisados en The Organic Chemistry of Drug Synthesis, D. Lednicer and L. A. Mitscher, Volumen 1, páginas 167 a 277 y las referencias citadas en el
20 mismo.

El Esquema 4 se refiere a la preparación de compuestos de fórmula I, en los que X es azufre o $-\text{SCH}_2-$, o sus derivados oxidados $>\text{SO}_2$, $>\text{SO}$, $-\text{SO}_2\text{CH}_2-$, $-\text{SOCH}_2-$. Haciendo referencia al Esquema 4, dicho compuesto de fórmula I se
25 puede obtener por alquilación del anillo de pirimidina-2,4,6-

193

-44-

triona de un compuesto de fórmula XIV (en el que R^2 y R^3 son hidrógeno) con un agente alquilante adecuado L^3R^2 o L^3R^3 , siendo L^3 un grupo saliente como halo, p-tolilsulfoniloxi (OTs) o metilsulfoniloxi (OMs), preferiblemente halo, lo más
5 preferible cloro o bromo en un disolvente adecuado como N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano o acetonitrilo en presencia de una base adecuada como hidruro sódico, carbonato potásico, trietilamina, piridina o trietanolamina. La reacción anterior se lleva a cabo a una temperatura de
10 aproximadamente 20°C a aproximadamente 70°C, preferiblemente a aproximadamente 20°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

Los compuestos de fórmula XIV se pueden preparar por alquilación de un compuesto de fórmula X con un disulfuro
15 adecuado de fórmulas $(SAr^1-Y-Z)_2$ o $(SCH_2Ar^1-Y-Z)_2$, en un disolvente adecuado como N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano o acetonitrilo en presencia de una base adecuada como hidruro sódico, carbonato potásico, trietilamina, piridina o trietanolamina. La reacción anterior
20 se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 20°C a aproximadamente 70°C, preferiblemente a aproximadamente 20°C durante un período de tiempo de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 16 horas.

Los disulfuros $(SAr^1-Y-Z)_2$ o $(SCH_2Ar^1-Y-Z)_2$ se pueden
25 preparar a partir de los tioles correspondientes $HSAr^1-Y-Z$ o

194

-45-

HSCH₂Ar¹-Y-Z por procedimientos oxidativos bien conocidos por los técnicos en la materia.

Los compuestos de fórmula X están disponibles comercialmente o se pueden preparar por procedimientos bien
5 conocidos por los técnicos en la materia.

Los compuestos de fórmula I que son de naturaleza básica pueden formar una amplia gama de sales con diferentes ácidos inorgánicos y orgánicos. Aunque tales sales deberán ser farmacéuticamente aceptables para la administración a
10 animales, con frecuencia lo deseable en la práctica es aislar inicialmente un compuesto de fórmula I de la mezcla de reacción como una sal farmacéuticamente no aceptable y luego simplemente convertir la última en el compuesto base libre por tratamiento con un reactivo alcalino y, seguidamente,
15 convertir la base libre en una sal de adición de ácidos farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de ácidos de los compuestos básicos de esta invención se preparan fácilmente tratando el compuesto básico con una cantidad sustancialmente equivalente del ácido mineral u orgánico
20 elegido en un medio disolvente acuoso o en un disolvente orgánico adecuado, como metanol o etanol. Tras evaporar cuidadosamente el disolvente, se obtiene la sal sólida deseada.

Los ácidos que se usan para preparar las sales de
25 adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los

95
195

compuestos básicos de esta invención son los que forman sales de adición de ácidos no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, tales como las sales clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato o bisulfato, fosfato o fosfato ácido, acetato, lactato, citrato o citrato ácido, tartrato o bitartrato, succinato, maleato, fumarato, gluconato, sacarato, benzoato, metanosulfonato y pamoato [es decir, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)].

10 Los compuestos de fórmula I que son de naturaleza ácida pueden formar sales de adición de bases con diferentes cationes farmacológicamente aceptables. Ejemplos de tales sales incluyen las sales de metales alcalinos y de metales alcalinotérreos y, en particular, las sales de sodio y de potasio. Estas sales se preparan todas por técnicas convencionales. Las bases químicas que se usan como reactivos para preparar las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables de esta invención son aquellas que forman sales de bases no tóxicas con los compuestos ácidos de fórmula I

20 descritos en la presente. Estas sales de base no tóxicas incluyen las sales derivadas de cationes farmacológicamente aceptables como el sodio, potasio, calcio y magnesio y similares. Estas sales se pueden preparar fácilmente tratando el compuesto ácido correspondiente con una solución acuosa

25 que contiene los cationes farmacológicamente aceptables

196

-47-

deseados, y luego evaporando la solución resultante a sequedad, preferiblemente a presión reducida.

Como alternativa, éstas se pueden preparar además mezclando soluciones en alcoholes inferiores de los
5 compuestos ácidos y el alcóxido de metal alcalino deseado y, seguidamente, evaporando la solución resultante a sequedad de la misma forma que antes. En cualquier caso, preferiblemente se emplean cantidades estequiométricas de los reactivos con el fin de asegurar la finalización de la
10 reacción y los máximos rendimientos del producto final deseado.

ENSAYOS BIOLÓGICOS

La capacidad de los compuestos de fórmula I o sus sales farmacéuticamente aceptables (en lo sucesivo denominados
15 compuestos de la presente invención) para inhibir metaloproteinasas de la matriz o reprotisina de mamífero y, por consiguiente, demostrar su eficacia para tratar enfermedades caracterizadas por actividad de metaloproteinasa o de reprotisina de mamífero (tal como la producción de
20 factor de necrosis tumoral) se muestra por los siguientes ensayos *in vitro*.

Ensayos de MMP

Por inhibidores selectivos de colagenasa-3 (metaloproteinasa de la matriz 13) tal como se usa en la
25 presente memoria, se entiende agentes que presentan al menos

una selectividad de 100 veces para la inhibición de la actividad de la enzima colagenasa-3 respecto a la actividad de la enzima colagenasa-1 y una potencia inferior a 100 nM como se define por los resultados de IC_{50} de los ensayos de fluorescencia de MMP-13/MMP-1 descritos a continuación. Los inhibidores selectivos de colagenasa-3 se pueden identificar evaluando los inhibidores de la presente invención por los ensayos de fluorescencia de MMP-13/MMP-1 descritos a continuación y seleccionando aquellos agentes con relaciones de IC_{50} para la inhibición MMP-13/MMP-1 superiores o iguales a 100 y una potencia inferior a 100 nM.

Por inhibidores no selectivos de colagenasa, tal como se usa en la presente memoria, se entiende agentes que presentan una selectividad inferior a 100 veces para la inhibición de la actividad de la enzima colagenasa-3 respecto a la actividad de la enzima colagena-1 o una potencia superior a 100nM como se define por los resultados de IC_{50} de los ensayos de fluorescencia de MMP-13/MMP-1 descritos a continuación.

La capacidad de los inhibidores de colagenasa para inhibir la actividad de colagenasa es bien conocida en la técnica. Los siguientes ensayos se pueden usar para identificar inhibidores de las metaloproteinasas de la matriz.

Inhibición de colagenasa humana (MMP-1)

56
1981

Se activa collagenasa humana recombinante con tripsina. La cantidad de tripsina se optimiza para cada lote de collagenasa-1, aunque una reacción típica usa la siguiente relación: 5 μ g de tripsina por 100 μ g de collagenasa. La tripsina y la collagenasa se incuban a temperatura ambiente durante 10 minutos y se añade después un exceso de cinco veces (50 mg/10 mg de tripsina) de inhibidor de tripsina de soja.

Se preparan soluciones madre (10 mM) de inhibidores en dimetil sulfóxido y se diluyen después usando el siguiente esquema:

10 mM $\rightarrow$ 120 μ M $\rightarrow$ 12 μ M $\rightarrow$ 1,2 μ M $\rightarrow$ 0,12 μ M

Después se añaden, por triplicado, veinticinco microlitros de cada concentración a pocillos apropiados de una placa Microfluor de 96 pocillos. La concentración final de inhibidor será una dilución 1:4 después de la adición de enzima y sustrato. Se disponen controles positivos (con enzima y sin inhibidor) en los pocillos D7-D12 y controles negativos (sin enzima y sin inhibidor) en los pocillos D1-D6.

Se diluye collagenasa-1 hasta 240 ng/ml y se añaden después 25 μ l a pocillos apropiados de la placa Microfluor. La concentración final de collagenasa en el ensayo es 60 ng/ml.

Se prepara sustrato (DNP-Pro-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMA)-NH₂) como solución madre 5 mM en dimetilsulfóxido y

199

se diluye después hasta 20 μM en tampón del ensayo. El ensayo se inicia por la adición de 50 μl de substrato por pocillo de la placa Microfluor para dar una concentración final de 10 μM .

5 Se toman lecturas de la fluorescencia (360 nm en excitación y 460 nm en emisión) a tiempo 0 y después a intervalos de 20 minutos. El ensayo se realiza a temperatura ambiente con un tiempo típico de ensayo de 3 horas.

Se construye después una gráfica de la fluorescencia en
10 función del tiempo, tanto para las muestras que contienen colagenasa como para las del ensayo en blanco (en las determinaciones por triplicado, se determina el valor medio). Para determinar valores de la IC_{50} se elige un tiempo que proporciona una buena señal (al menos cinco veces el valor
15 del blanco) y que está en la parte lineal de la curva (normalmente alrededor de 120 minutos). Los valores correspondientes al tiempo cero se usan como blanco para cada compuesto a cada concentración y estos valores se restan de los datos correspondientes a 120 minutos. Los datos se
20 representan gráficamente como concentración de inhibidor frente a porcentaje de control (fluorescencia del inhibidor dividida por fluorescencia de colagenasa sola y multiplicada por 100). Se determinan las IC_{50} a partir de la concentración de inhibidor que da una señal que es el 50% de la del
25 control.

200

Si las IC_{50} son inferiores a $0,03 \mu M$, entonces se ensayan los inhibidores a concentraciones de $0,3 \mu M$, $0,03 \mu M$ y $0,003 \mu M$.

Inhibición de gelatinasa (MMP-2)

5 Se activa gelatinasa humana recombinante de 72 kD (MMP-2, gelatinasa A) durante 16 a 18 horas con acetato p-aminofenil-mercúrico 1 mM (de una solución madre 100 mM recién preparada en NaOH 0,2N) a $4^{\circ}C$ y se agita suavemente.

10 Se diluyen en serie soluciones madre de inhibidores 10 mM en dimetilsulfóxido en tampón de ensayo (TRIS 50 mM, pH 7,5, NaCl 200 mM, $CaCl_2$ 5 mM, $ZnCl_2$ 20 μM y BRIJ-35 al 0,02% (vol/vol)) usando el esquema siguiente:

10 mM $\rightarrow$ 120 μM $\rightarrow$ 12 μM $\rightarrow$ 1,2 μM $\rightarrow$ 0,12 μM

Si es necesario, se realizan otras diluciones
15 adicionales siguiendo el mismo esquema. En cada ensayo, se llevan a cabo un mínimo de cuatro concentraciones de inhibidor para cada compuesto. Se añaden entonces 25 μl de cada concentración a pocillos por triplicado de una placa Microfluor de 96 pocillos con fondo en U negra. Como el
20 volumen final del ensayo es de 100 μl , las concentraciones finales de inhibidor son el resultado de una dilución 1:4 adicional (es decir, 30 μM $\rightarrow$ 3 μM $\rightarrow$ 0,3 μM $\rightarrow$ 0,03 μM , y así sucesivamente). También se preparan por triplicado un blanco (sin enzima y sin inhibidor) y un control positivo de enzima
25 (con enzima, sin inhibidor).

Se diluye la enzima activada hasta 100 ng/ml en tampón de ensayo, se añaden 25 μ l por pocillo a los pocillos apropiados de la placa de microvaloración. La concentración de enzima final en el ensayo es de 25 ng/ml (0,34 nM).

5 Se diluye una solución madre 5 mM en dimetilsulfóxido de substrato (Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂) en tampón de ensayo hasta 20 μ M. El ensayo se inicia mediante la adición de 50 μ l de substrato diluido proporcionando una concentración final de ensayo de substrato 10 μ M. A tiempo
10 cero, se toman inmediatamente lecturas de fluorescencia (320 en excitación y 390 en emisión) y posteriormente se toman cada quince minutos a temperatura ambiente con un lector de placas PerSeptive Biosystems CytoFluor Multi-Well Plate Reader con la ganancia a 90 unidades.

15 El valor medio de la fluorescencia de la enzima y del blanco se representan frente al tiempo. Para las determinaciones de la IC₅₀ se elige un punto de los primeros valores de tiempo en la parte lineal de la curva. El punto a tiempo cero para cada compuesto y cada dilución se resta
20 del punto a último tiempo y se expresan los datos como porcentaje del control de la enzima (fluorescencia del inhibidor dividida por fluorescencia del control de enzima positivo y multiplicada por 100). Los datos se representan como concentración de inhibidor frente a porcentaje del
25 control de la enzima. Las IC₅₀ se definen como la

202 5/2/22

-53-

concentración de inhibidor que produce una señal que es el 50% de la del control de enzima positivo.

Inhibición de la actividad de la estromelisin (MMP-3)

Se activa estromelisin humana recombinante (MMP-3, 5 estromelisin-1) durante 20 a 22 horas con acetato p-aminofenil-mercúrico 2 mM (de una solución madre 100 mM recién preparada en NaOH 0,2N) a 37°C.

Se diluyen en serie soluciones madre de inhibidores 10 mM en dimetilsulfóxido en tampón de ensayo (TRIS 50 mM, pH 10 7,5, NaCl 150 mM, CaCl₂ 10 mM y BRIJ-35 al 0,05% (vol/vol)) usando el esquema siguiente:

10 mM → 120 μM → 12 μM → 1,2 μM → 0,12 μM

Si es necesario, se realizan otras diluciones adicionales siguiendo este mismo esquema. En cada ensayo, se 15 llevan a cabo un mínimo de cuatro concentraciones de inhibidor para cada compuesto. Se añaden entonces 25 μl de cada concentración a pocillos por triplicado de una placa Microfluor de 96 pocillos con fondo en U negra. Como el volumen final del ensayo es de 100 μl, las concentraciones 20 finales de inhibidor son el resultado de una dilución 1:4 adicional (es decir, 30 μM → 3 μM → 0,3 μM → 0,03 μM, y así sucesivamente). También se preparan por triplicado un blanco (sin enzima y sin inhibidor) y un control positivo de enzima (con enzima, sin inhibidor).

25 Se diluye la enzima activada hasta 200 ng/ml en tampón

de ensayo, se añaden 25 μ l por pocillo a los pocillos apropiados de la placa de microvaloración. La concentración de enzima final en el ensayo es de 50 ng/ml (0,875 nM).

Se diluye una solución madre 10 mM en dimetilsulfóxido de substrato (Mca-Arg-Pro-Lys-Pro-Val-Glu-Nva-Trp-Arg-Lys(Dnp)-NH₂) en tampón de ensayo hasta 6 μ M. El ensayo se inicia mediante la adición de 50 μ l de substrato diluido proporcionando una concentración final de ensayo de substrato 3 μ M. A tiempo cero, se toman inmediatamente lecturas de fluorescencia (320 en excitación y 390 en emisión) y posteriormente se toman cada quince minutos a temperatura ambiente con un lector de placas PerSeptive Biosystems CytoFluor Multi-Well Plate Reader con la ganancia a 90 unidades.

El valor medio de la fluorescencia de la enzima y del blanco se representan frente al tiempo. Para las determinaciones de la IC₅₀ se elige un punto de los primeros valores de tiempo en la parte lineal de la curva. El punto a tiempo cero para cada compuesto y cada dilución se resta del punto a último tiempo y se expresan los datos como porcentaje del control de la enzima (fluorescencia del inhibidor dividida por fluorescencia del control de enzima positivo y multiplicada por 100). Los datos se representan como concentración de inhibidor frente a porcentaje del control de la enzima. Las IC₅₀ se definen como la

204 204

-55-

concentración de inhibidor que produce una señal que es el 50% de la del control de enzima positivo.

Inhibición de gelatinasa humana de 92 kD (MMP-9)

La inhibición de la actividad de gelatinasa de 92 kD (MMP-9) se ensaya usando el substrato Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂ (10 μ M) en condiciones similares a las descritas antes para la inhibición de la collagenasa humana (MMP-1).

Se activa gelatinasa humana recombinante de 92 kD (MMP-9, gelatinasa B) durante 2 horas con acetato p-aminofenil mercúrico 1 mM (de una solución madre 100 mM recién preparada en NaOH 0,2N) a 37°C.

Las soluciones madre 10 mM en dimetilsulfóxido de inhibidores se diluyen en serie en tampón de ensayo (TRIS 50 mM, pH 7,5, NaCl 200 mM, CaCl₂ 5 mM, ZnCl₂ 20 μ M y BRIJ-35 al 0,02% (vol/vol)) usando el siguiente esquema:

10 mM $\rightarrow$ 120 μ M $\rightarrow$ 12 μ M $\rightarrow$ 1,2 μ M $\rightarrow$ 0,12 μ M

Las diluciones posteriores se realizan según es necesario siguiendo este mismo esquema. En cada ensayo, se realizan un mínimo de cuatro concentraciones de inhibidor para cada compuesto. Se añaden entonces 25 μ l de cada concentración a pocillos por triplicado de una placa Microfluor con fondo en U de 96 pocillos negra. Como el volumen final del ensayo es 100 μ l, las concentraciones finales de inhibidor son el resultado de otra dilución 1:4

205' 900

-56-

(es decir, $30 \mu\text{M} \rightarrow 3 \mu\text{M} \rightarrow 0,3 \mu\text{M} \rightarrow 0,03 \mu\text{M}$, y así sucesivamente). También se prepara por triplicado un ensayo blanco (sin enzima, sin inhibidor) y un control de enzima positivo (con enzima, sin inhibidor).

5 La enzima activada se diluye hasta 100 ng/ml en tampón de ensayo, se añaden $25 \mu\text{l}$ por pocillo a los pocillos apropiados de la placa de microvaloración. La concentración final de enzima en el ensayo es 25 ng/ml ($0,27 \text{ nM}$).

Se diluye en el tampón de ensayo hasta $20 \mu\text{M}$ una
10 solución madre 5 mM en dimetil sulfoxido de substrato (Mca-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂). El ensayo se inicia mediante la adición de $50 \mu\text{l}$ de substrato diluido proporcionando una concentración final de ensayo de substrato $10 \mu\text{M}$. A tiempo cero, se toma una lectura de fluorescencia
15 (320 en excitación; 390 en emisión) inmediatamente y se toman posteriores lecturas cada quince minutos a temperatura ambiente con un Lector de Placas PerSeptive Biosystems CytoFluor Multi-Well Plate Reader con la ganancia a 90 unidades.

20 El valor promedio de la fluorescencia de la enzima y del blanco se representan frente al tiempo. Para las determinaciones de la IC₅₀ se elige uno de los primeros valores de tiempo de la parte lineal de esta curva. El punto a tiempo cero para cada compuesto y cada dilución se resta
25 del punto a último tiempo anterior y los datos se expresan

200 # 02

-57-

entonces como porcentaje de control de la enzima (fluorescencia del inhibidor dividida por fluorescencia del control de enzima positivo x 100). Los datos se representan como concentración de inhibidor frente a porcentaje de control de la enzima. Las IC_{50} se definen como la concentración de inhibidor que origina una señal que es el 50% de la del control de enzima positivo.

Inhibición de MMP-13

Se activa MMP-13 humana recombinante con APMA (acetato p-aminofenilmercúrico) 2 mM durante 1,5 horas a 37°C y se diluye hasta 400 mg/ml en tampón de ensayo (Tris 50 mM, pH 7,5, cloruro sódico 200 mM, cloruro cálcico 5 mM, cloruro de cinc 20 μ M y Brij al 0,02%). En una placa Microfluor de 96 pocillos se añaden veinticinco microlitros de enzima diluida por pocillo. La enzima se diluye después a una relación 1:4 en el ensayo por adición de inhibidor y sustrato para dar una concentración final en el ensayo de 100 mg/ml.

Se preparan soluciones madre 10 mM de inhibidores en dimetilsulfóxido y se diluyen después en tampón de ensayo según el esquema de dilución de inhibidores del ensayo de inhibición de collagenasa humana (MMP-1). En la placa Microfluor se añaden, por triplicado, veinticinco microlitros de cada concentración. Las concentraciones finales en el ensayo son 30 μ M, 3 μ M, 0,3 μ M y 0,03 μ M.

Se prepara el sustrato (DNP-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-

207 8802

-58-

Ala-Lys(NMA)-NH₂) como en el ensayo de inhibición de
colagenasa humana (MMP-1) y se añaden 50 µl a cada pocillo
para dar una concentración final en el ensayo de 10 µM. Se
toman lecturas de la fluorescencia (360 nm en excitación y
5 450 nm en emisión) en el tiempo 0 y a intervalos de 5 minutos
durante 1 hora.

Los controles positivos comprenden enzima y substrato
sin inhibidor y los blancos solo substrato.

Se determinan las IC₅₀ como en el ensayo de inhibición
10 de colagenasa humana (MMP-1). Si las IC₅₀ son inferiores a
0,03 µM, entonces los inhibidores se ensayan a
concentraciones finales de 0,3 µM, 0,03 µM, 0,003 µM y 0,0003
µM.

Ensayo de MMP-13 en película de colágeno

15 Se marca colágeno de rata tipo I con anhídrido acético
marcado con ¹⁴C (T. E. Cawston and A. J. Barrett, Anal.
Biochem., 99, 340-345 (1979)) y se usa para preparar placas
de 96 pocillos que contenían películas de colágeno
radiomarcado (Barbara Johnson-Wint, Anal. Biochem, 104, 175-
20 181 (1980)). Cuando se añade al pocillo una solución que
contiene colagenasa, la enzima escinde el colágeno insoluble
que se desenrolla y por tanto se solubiliza. La actividad
de colagenasa es directamente proporcional a la cantidad de
colágeno solubilizado, determinado por la proporción de
25 radiactividad liberada en el sobrenadante, medida en un

28 18

-59-

contador de centelleo convencional. Los inhibidores de la
colagenasa son por tanto compuestos que reducen el recuento
de radiactividad liberada con respecto a los controles sin
la presencia de inhibidor. Una realización específica de este
5 ensayo se describe a continuación con detalle.

Para determinar la selectividad de los compuestos por
MMP-13 frente a MMP-1 usando colágeno como substrato se usa
el siguiente procedimiento. Se activa proMMP-13 o proMMP-1
humanas recombinantes conforme a los procedimientos descritos
10 antes. La MMP-13 o MMP-1 activadas se diluyen hasta 0,6 ug/ml
con tampón (Tris 50 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, CaCl₂ 10 mM,
ZnCl₂ 1 uM, Brij-35 al 0,05%, azida de sodio al 0,02%).

Se preparan soluciones madre de los compuestos de ensayo
(10 mM) en dimetilsulfóxido. Las diluciones de los compuestos
15 de ensayo en el tampón Tris, anterior, se preparan hasta 0,2,
2,0, 20, 200, 2000 y 20000 nM.

Se pipeteen 100 µl de la dilución de fármaco apropiada
y 100 µl de enzima diluida en los pocillos de una placa de
96 pocillos que contienen películas de colágeno marcadas con
20 colágeno ¹⁴C. La concentración final de enzima es 0,3 µg/ml,
mientras que la concentración final de fármaco es 0,1, 1,0,
10, 100, 1000 nM. Cada concentración de fármaco y control se
analiza por triplicado. También se preparan controles por
triplicado en los que no hay enzima y con enzima en ausencia
25 de compuesto.

2090/27

-60-

Las placas se incuban a 37°C durante un período de tiempo tal que aproximadamente el 30-50% del colágeno disponible se solubilice - determinado por recuento adicional de los pocillos de control a diversos tiempos. En la mayoría de los casos, son necesarias aproximadamente 9 horas de incubación. Cuando el ensayo ha progresado suficientemente, se retira el sobrenadante de cada pocillo y se recuenta en un contador de centelleo. Los recuentos de fondo (determinados por los recuentos en los pocillos sin enzima) se restan de cada muestra y se calcula el % liberado en relación a los pocillos con enzima sola y sin inhibidor. Se promedian los valores por triplicado para cada tiempo y se representan los datos como liberación porcentual frente a concentración de fármaco. Las IC₅₀ se determinan a partir del punto en el que se obtuvo una inhibición del 50% de la liberación de colágeno radiomarcado.

Para determinar la identidad de las colagenasas activas en medio condicionado de cartílago, se llevaron a cabo ensayos usando colágeno como sustrato, medio condicionado de cartílago que contenía actividad de colagenasa e inhibidores de diferente selectividad. El medio condicionado de cartílago se recogió durante el tiempo en el que se produjo la degradación del colágeno y por tanto es representativo de las colagenasas responsables de la degradación del colágeno. Los ensayos se llevaron a cabo como

se ha explicado antes salvo porque en lugar de MMP-13 o MMP-1 recombinante, el medio condicionado de cartílago fue la fuente de enzima.

Degradación de colágeno de cartílago procedente de cartílago

5 nasal bovino inducida por IL-1

Este ensayo usa explantes de cartílago nasal bovino que se usan corrientemente para ensayar la eficacia de diversos compuestos para inhibir la degradación de proteoglucano inducida por IL-1 o la degradación de colágeno inducida por
10 IL-1. El cartílago nasal bovino es un tejido que es muy similar al cartílago articular, es decir, condrocitos rodeados por una matriz que fundamentalmente es de colágeno tipo II y agrecano. El tejido se usa porque: (1) es muy similar al cartílago articular, (2) está fácilmente
15 disponible, (3) es relativamente homogéneo y (4) se degrada con una cinética predecible después de la estimulación con IL-1.

Se han usado dos variantes de este ensayo para ensayar los compuestos. Ambas variantes proporcionan datos similares.
20 A continuación se describen las dos variantes:

Variante 1

Se colocan tres tapones de cartílago nasal bovino (aproximadamente de 2 mm de diámetro x 1,5 mm de longitud) en cada uno de los pocillos de una placa de cultivo tisular
25 de 24 pocillos. Se añade entonces 1 ml de medio exento de

21/2/20

suero a cada pocillo. Los compuestos se preparan como soluciones madre 10 mM en DMSO y luego se diluyen apropiadamente en medio exento de suero hasta las concentraciones finales, por ejemplo 50, 500 y 5000 nM. Cada 5 concentración se ensaya por triplicado.

Se añade, por triplicado, IL-1 α humana recombinante (IL-1) (5 ng/ml) a los pocillos de control y a cada uno de los pocillos que contiene fármaco. También se preparan pocillos de control por triplicado a los que no se añade ni fármaco 10 ni IL-1. El medio se retira y se añaden medio que contiene IL-1 y concentraciones de fármaco apropiadas los días 6, 12, 18 y 24 o cada 3-4 días, si fuera necesario. Los medios retirados en cada tiempo se almacenan a -20°C para el análisis posterior. Cuando el cartílago en los pocillos que 15 únicamente contienen IL-1 se ha reabsorbido casi totalmente (aproximadamente el día 21), finaliza el experimento. El medio se retira y se almacena. Se agrupan alícuotas (100 μ l) de cada pocillo a cada tiempo, se digieren con papaína y luego se analizan para determinar el contenido de 20 hidroxiprolina. La hidroxiprolina de fondo (media de los pocillos sin IL-1 y sin fármaco) se resta de cada punto de datos y se calcula la media para cada uno por triplicado. Los datos se expresan entonces como porcentaje del valor promedio de IL-1 solo y se representan gráficamente. A partir de este 25 gráfico se determinan las IC₅₀.

...

2/2

Variante 2

La disposición experimental es la misma que se ha descrito para la Variante 1, hasta el día 12. El día 12, se retira el medio condicionado de cada pocillo y se congela.

5 A continuación, se añade 1 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) que contenía 0,5 $\mu\text{g/ml}$ de tripsina a cada pocillo y se continúa la incubación durante 48 horas a 37°C. Después de 48 horas de incubación en tripsina, se retira la solución de PBS. Se agrupan alícuotas (50 μl) de la solución

10 de PBS/tripsina y los dos tiempos previos (días 6 y 12), se hidrolizan y se determina el contenido en hidroxiprolina. La hidroxiprolina de fondo (media de los pocillos sin IL-1 y sin fármaco) se resta de cada punto de datos y se calcula la media de cada uno por triplicado. Los datos se expresan

15 entonces como porcentaje del valor promedio de IL-1 solo y se representan gráficamente. A partir de este gráfico se determinan las IC_{50} . En esta variante, el lapso de tiempo del experimento es considerablemente menor. La adición de tripsina durante 48 horas después de 12 días de estimulación

20 con IL-1 libera posiblemente todo el colágeno tipo II que haya sido dañado por la actividad de collagenasa pero que todavía no se ha liberado de la matriz del cartílago. En ausencia de estimulación con IL-1, el tratamiento con tripsina produce solo bajos niveles de fondo de degradación

25 de colágeno en explantes de cartílago.

213 5/27

Inhibición de la producción de TNF

La capacidad de los compuestos o de las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para inhibir la producción de TNF y, en consecuencia, demostrar su eficacia para tratar enfermedades que conllevan la producción de TNF se muestra por el siguiente ensayo *in vitro*:

Ensayo de monocitos humanos

Se aislaron células humanas mononucleares de sangre humana anticoagulada, usando una técnica de separación de Ficoll-hypaque de una etapa. (2) Las células mononucleares se lavaron tres veces en solución salina de Hanks equilibrada (HBSS) con cationes divalentes y se volvieron a suspender a una densidad de $2 \times 10^6/\text{ml}$ en HBSS que contenía un 1% de BSA. Los recuentos diferenciales determinados usando el analizador Abbott Cell Dyn 3500 indicaron que, en estas preparaciones, los monocitos variaban de 17 a 24% de las células totales.

Se colocaron partes alícuotas de 180 μl de la suspensión celular en placas de 96 pocillos de fondo plano (Costar). Adiciones de compuestos y de LPS (concentración final de 100 ng/ml) dieron un volumen final de 200 μl . Todas las condiciones se realizaron por triplicado. Después de incubar durante cuatro horas a 37°C en un incubador con CO₂ humidificado, se retiraron las placas y se centrifugaron (10 minutos a aproximadamente 250xg), se retiraron los líquidos sobrenadantes y se ensayó en ellos el TNFAa usando el estuche

R&D ELISA.

Ensayo de agrecanasa

Se aislaron por digestión secuencial con tripsina y colagenasa condrocitos primarios porcinos de cartílago de articulación, seguido por digestión durante toda la noche con colagenasa y se cultivaron a una densidad de 2×10^5 células por pocillo en placas de 48 pocillos con $5 \mu\text{Ci/ml}$ de azufre ^{35}S (1000 Ci/mmol) en las placas revestidas de colágeno tipo I. Se dejó incorporar el marcador en la matriz de proteoglucano de las células (aproximadamente 1 semana) a 37°C , en una atmósfera de CO_2 al 5%.

La noche antes de iniciarse el ensayo, se lavaron las monocapas de condrocitos dos veces en DMEM/PSF al 1%/G y luego se dejaron incubar en DMEM/FBS al 1% recién preparado durante toda la noche.

A la mañana siguiente, los condrocitos se lavaron una vez en DMEM/PSF al 1%/G. El líquido de lavado final se dejó reposar en las placas en el incubador mientras se preparaban las diluciones.

Los medios y diluciones se pueden preparar tal y como se describe en la siguiente Tabla.

215 2

5

Medios de control	DMEM solo (medios de control)
Medios IL-1	DMEM + IL-1 (5 ng/ml)
Diluciones de fármacos	Preparar todas las soluciones madre de los compuestos a 10 mM en DMSO Preparar una solución madre 100 μM de cada compuesto en DMEM en placa de 96 pocillos. Almacenar en el congelador durante toda la noche. El día siguiente realizar diluciones en serie en DMEM con IL-1 hasta 5 μM, 500 nM y 50 nM. Aspirar el líquido de lavado final de los pocillos y añadir 50 μl de compuesto de las diluciones anteriores hasta 450 μl de medios IL-1 en los pocillos apropiados de las placas de 48 pocillos. Las concentraciones finales de compuesto son 500 nM, 50 nM y 5 nM. Todas las muestras se realizaron por triplicado con muestras de control y de IL-1 solo en cada placa.

Las placas se marcan y solo se usan los 24 pocillos interiores de la placa. En una de las placas, se designan varias columnas como IL-1 (sin fármaco) y Control (sin IL-1, sin fármaco). Estas columnas de control se recuentan de forma periódica para controlar la liberación de ³⁵S-proteoglucano. Los medios de control e IL-1 se añaden a los pocillos (450 μ l) seguidos por el compuesto (50 μ l) con el fin de iniciar

216
2

-67-

el ensayo. Las placas se incuban a 37°C con una atmósfera de CO₂ al 5%.

El ensayo termina al llegar a una liberación de 40-50% (cuando los CPM de los medios IL-1 son 4-5 veces los de los 5 medios de control) determinada por recuento de centelleo líquido (LSC) de las muestras (9-12 horas). Los medios se retiran de todos los pocillos y se colocan en tubos de centelleo. Se añade líquido de centelleo y se toman los recuentos radiactivos (LSC). Para solubilizar las capas de 10 células, se añaden a cada pocillo 500 ul de tampón de digestión de papaína (Tris 0,2 M, pH 7,0, EDTA 5 mM, DTT 5 mM y 1 mg/ml de papaína). Las placas con solución de digestión se incuban a 60°C durante toda la noche. La capa de células se retira de las placas al día siguiente y se 15 coloca en los tubos de centelleo. Se añade líquido de centelleo y se realiza el recuento de las muestras (LSC).

Se determina en cada pocillo el porcentaje de recuentos emitidos de los totales presentes. Se realiza el promedio de las muestras por triplicado, restando de cada pocillo el 20 valor de fondo del control. El porcentaje de inhibición de compuesto se basa en muestras de IL-1 como inhibición 0% (100% de los recuentos totales).

Los compuestos de la presente invención que se ensayaron tuvieron IC₅₀ menores que 100 µM, preferiblemente menores que 25 100 nM, en al menos uno de los ensayos descritos antes.

217

Ciertos grupos preferidos de compuestos poseen una selectividad diferencial hacia las diversas MMP o ADAM. Un grupo de compuestos preferidos posee actividad selectiva hacia MMP-13 respecto a MMP-1. Otro grupo preferido de 5 compuestos posee actividad de agrecanasa además de selectividad por MMP-13 respecto a MMP-1.

Para administración a mamíferos, incluyendo seres humanos, para la inhibición de metaloproteinasas de la matriz o reprotolisina de mamífero, se pueden usar una diversidad de 10 vías de administración convencionales que incluyen la vía oral, parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular o subcutánea), sublingual, rectal y tópica. En general, los compuestos de la invención (en lo sucesivo los compuestos activos) se pueden administrar en dosificaciones que varían 15 de aproximadamente 0,1 a 25 mg/kg de peso corporal del sujeto que se trata por día, preferiblemente de aproximadamente 0,3 a 5 mg/kg. Preferiblemente, el compuesto activo se administrará por vía oral o parenteral. Sin embargo, se producirá necesariamente alguna variación de la dosis 20 dependiendo del trastorno del sujeto que se trate. El responsable de la administración determinará en cualquier caso la dosificación apropiada para cada sujeto particular.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en una amplia gama de formas de dosificación 25 diferentes, en general, los compuestos terapéuticamente

218 24

eficaces de esta invención están presentes en dichas formas de dosificación en niveles de concentración que varían de aproximadamente un 5,0% a aproximadamente un 70% en peso.

Para administración oral, pueden emplearse comprimidos
5 que contienen diferentes excipientes como celulosa microcristalina, citrato sódico, carbonato cálcico, fosfato dicálcico y glicina, junto con diferentes disgregantes como almidón (y con preferencia, almidón de maíz, patata o tapioca), ácido algínico y ciertos silicatos complejos, junto
10 con ligantes de granulación como polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina y goma arábiga. Además, a efectos de la preparación de comprimidos, son muy útiles con frecuencia agentes lubricantes como estearato de magnesio, laurilsulfato sódico y talco. También pueden emplearse composiciones
15 sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina; incluyendo además los materiales preferidos a este respecto lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular. Cuando se desean suspensiones acuosas y/o elixires para administración oral,
20 el ingrediente activo se puede combinar con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, materiales colorantes o tintes y, si así se desea, también agentes de emulsión y/o de suspensión, junto con diluyentes como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y diferentes combinaciones de los
25 mismos. En el caso de animales, éstos estarán contenidos

219 612

-70-

ventajosamente en el alimento o en el agua de bebida del animal en una concentración de 5 a 5000 ppm, preferiblemente de 25 a 500 ppm.

Para administración parenteral (uso intramuscular, intraperitoneal, subcutáneo e intravenoso), se prepara normalmente una solución inyectable estéril del ingrediente activo. Se pueden emplear soluciones de un compuesto terapéutico de la presente invención en aceite de sésamo o de cacahuete o en propilenglicol acuoso. Las soluciones acuosas se ajustarán y tamponarán de modo adecuado, preferiblemente a un pH mayor que 8, si fuera necesario y el diluyente líquido se hará en primer lugar isotónico. Estas soluciones acuosas son adecuadas a efectos de inyección intravenosa. Las soluciones oleosas son adecuadas a efectos de inyección intraarticular, intramuscular o subcutánea. La preparación de todas estas soluciones en condiciones estériles se realiza de modo sencillo por técnicas farmacéuticas convencionales bien conocidas por los técnicos en la materia. En el caso de animales, los compuestos se pueden administrar por vía intramuscular o subcutánea en niveles de dosificación de aproximadamente 0,1 a 50 mg/kg/día, ventajosamente de 0,2 a 10 mg/kg/día, administrados en una única dosis o hasta en 3 dosis divididas.

Los compuestos activos de la invención se pueden

220 28

formular también en composiciones rectales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, conteniendo bases convencionales de supositorios como manteca de cacao u otros glicéridos.

5 Para administración intranasal o administración por inhalación, los compuestos activos de la invención se liberan convenientemente en forma de una solución o suspensión desde un recipiente pulverizador de bombeo que es presionado o bombeado por el paciente o como una presentación de
10 pulverizador en aerosol desde un recipiente a presión o un nebulizador, usando un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la
15 dosificación unitaria se puede determinar disponiendo una válvula para liberar una cantidad medida. El recipiente a presión o nebulizador puede contener una solución o suspensión del compuesto activo. Se pueden formular cápsulas o cartuchos (realizados, por ejemplo, en gelatina) para usar
20 en un inhalador o insuflador, que contienen una mezcla en polvo de un compuesto de la invención y una base en polvo adecuada como lactosa o almidón.

 Los siguientes Ejemplos ilustran la preparación de los compuestos de la presente invención. Los puntos de fusión
25 están sin corregir. Los datos de RMN se expresan en partes

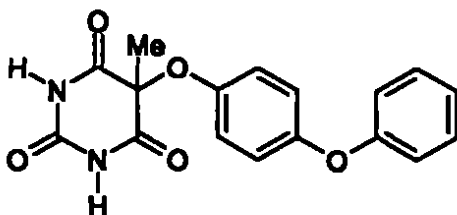
221

por millón (δ) y están referidos a la señal de estabilización del deuterio del disolvente de la muestra (deuterocloroformo, a no ser que se indique otro). Los reactivos comerciales se usaron sin purificación adicional. THF se refiere a tetrahidrofurano. DMF se refiere a N,N-dimetilformamida. Cromatografía se refiere a cromatografía en columna realizada usando gel de sílice de 32-63 mm y llevada a cabo en condiciones de presión de nitrógeno (cromatografía ultrarrápida). Temperatura ambiente se refiere a 20-25°C.

10 Todas las reacciones no acuosas se realizaron en atmósfera de nitrógeno por cuestiones de conveniencia y para maximizar los rendimientos. Concentración a presión reducida significa que se usó un evaporador rotatorio.

EJEMPLO 1

15 5-Metil, 5-(4'-fenoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona



20 Se añadió lentamente y de forma cuidadosa sodio (190 mg, 8,26 mM) a etanol absoluto (25 ml) y se agitó hasta que la solución fue homogénea. Se añadió urea (620 mg, 10,32 mM) y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Se añadió gota a gota una solución de -2-metil 2-(4'-fenoxi-fenoxi)malonato de

25 dietilo (1,48 g, 4,13 mM) en etanol absoluto (25 ml) y la

222

mezcla resultante se calentó a reflujo (6 horas). La reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente, se evaporó hasta sequedad y se repartió entre acetato de etilo (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó, se acidificó hasta pH 1 con HCl 1N y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos reunidos se secaron sobre sulfato de magnesio (MgSO_4), se filtraron y evaporaron hasta sequedad. El polvo blanco resultante se cristalizó en cloruro de metileno caliente dando el compuesto deseado como un material blanco cristalino (310 mg; véase la Tabla 1 para los datos analíticos).

EJEMPLOS 2 A 9

Los Ejemplos 2 a 9 se prepararon por un procedimiento similar al descrito antes, salvo porque se reemplazó el 2-metil-2-(4'-fenoxi-fenoxi)malonato de dietilo por el malonato apropiado. En la siguiente tabla, Me es metilo, Bu es n-butilo, Ej. N° es el Ejemplo Número y m/z es un peso de ion molecular a baja resolución.

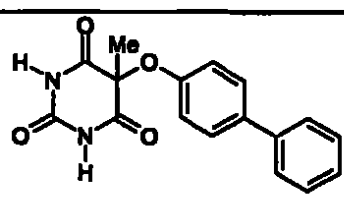
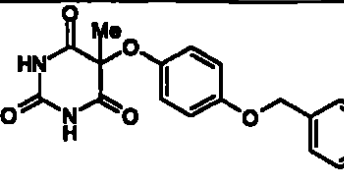
223928

Tabla 1

Ej. Nº	Estructura	m/z	Datos de RMN (400MHz)	Punto de fusión °C
1		326,2	δ (d^6 -acetona): 1,95 (s, 3H); 2,86 (s, s, 2H); 6,85-7,00 (m, 6H); 7,05 (m, 1H); 7,30-7,35 (m, 2H).	182
2		367,3	δ (d^6 -acetona): 0,95 (t, 3H); 1,40 (m, 2H); 1,55 (m, 2H); 2,25 (m, 2H); 2,85 (s, s, 2H); 6,82-7,00 (m, 6H); 7,05 (m, 1H); 7,10-7,15 (m, 2H).	58-60
3		343,2	δ (d^6 -acetona): 1,95 (s, 3H); 2,85 (s, s, 2H); 6,85-7,00 (m, 6H); 7,10-7,15 9m, 2H).	187-8
4		385,2	δ (d^6 -acetona): 0,95 (t, 3H); 1,40 (m, 2H); 1,55 (m, 2H); 2,25 (m, 2H); 2,85 (s, s, 2H); 6,82-7,00 (m, 6H); 7,10-7,15 (m, 2H).	183
5		308,3	δ (d^6 -acetona): 1,87 (s, 3H); 2,80 (s, s, 2H); 6,76-6,78 (dd, 1H); 7,061-7,067 (m, 1H); 7,27-7,48 (m, 5H); 7,57 - 7,59 (d, 2H).	175

224

5

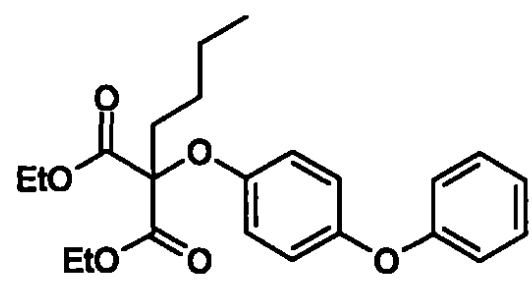
Ej. N°	Estructura	m/z	Datos de RMN (400MHz)	Punto de fusión °C
6		309,3	δ (d^6 -acetona): 1,95 (s, 3H); 6,88-6,89 (dd, 1H); 7,27-7,52 (m, 8H).	200-202
7		339,1	δ (d^6 -acetona): 1,88 (s, 3H); 5,03 (s, 2H); 6,77-6,91 (m, 4H); 7,30-7,45 (m, 5H).	-

10

Preparación 1:

2-n-butil-2-(4'-fenoxi-fenoxi)malonato de dietilo

15



Se añadió lentamente y de forma cuidadosa sodio (112 mg) a etanol absoluto (25 ml) y se agitó hasta que se observó una solución homogénea. Se añadió lentamente 4-fenoxifenol (910 mg) (Aldrich Chemical Company) y la mezcla resultante se agitó (30 minutos, temperatura ambiente); se añadió, gota a gota, dietil- α -bromo- α -n-butil-malonato (1,44 g) (Véase la preparación 3) en etanol absoluto (25 ml) y la mezcla resultante se calentó hasta reflujo (1 hora). La mezcla de

225

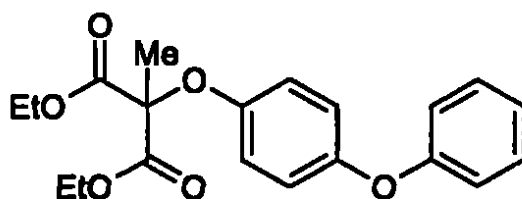
-76-

reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se evaporó hasta sequedad y se repartió entre acetato de etilo (100 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con agua (3 x 100 ml), se secó (sulfato de magnesio), se filtró y se evaporó dando el compuesto deseado como un aceite transparente (1,82 g). RMN de ^1H (CDCl_3): δ 0,85-0,88 (t, 3H); 1,21-1,25 (t, 6H); 1,31-1,39 (m, 4H); 2,2-2,27 (m, 2H); 4,23-4,28 (q, 4H); 6,80-6,95 (m, 6H); 7,03-7,08 (t, 1H); 7,25-7,31 (q, 2H); $m/z = 401$ (M^+).

10

Preparación 2:

2-metil-2-(4'-fenoxi-fenoxi)malonato de dietilo



15

Se añadió lentamente y de forma cuidadosa sodio (112 mg) a etanol absoluto (25 ml) y se agitó hasta que se observó una solución homogénea. Se añadió lentamente 4-fenoxifenol (910 mg) (Aldrich Chemical Company) y la mezcla resultante se agitó (30 minutos, temperatura ambiente); se añadió, gota a gota, dietil- α -bromo- α -metil-malonato (1,23 g) (Aldrich Chemical Company) en etanol absoluto (25 ml) y la mezcla resultante se calentó hasta reflujo (1 hora). La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se evaporó hasta sequedad y se repartió entre acetato de etilo (100 ml)

226
22

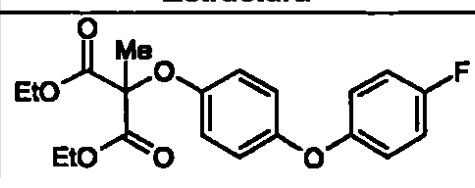
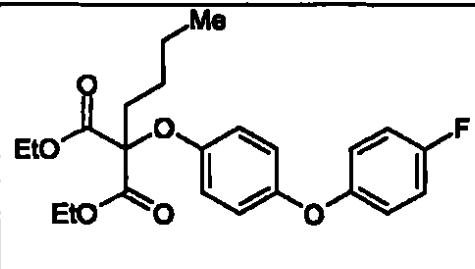
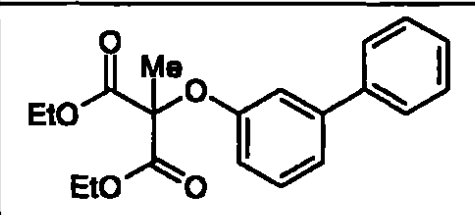
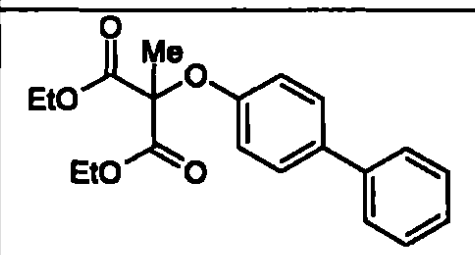
-77-

y agua (100 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con agua (3 x 100 ml), se secó (sulfato de magnesio), se filtró y se evaporó dando el compuesto deseado como un aceite transparente (1,48 g). RMN de ^1H (CDCl_3): δ = 1,25-1,28 (t, 6H); 1,71 (s, 3H); 4,24-4,30 (q, 4H); 6,88-6,97 (m, 6H); 7,04-7,08 (t, 1H); 7,25-7,32 (q, 2H); m/z = 359 (M^+).

Los malonatos incluidos los contenidos en la Tabla 2 se prepararon usando procedimientos análogos a los descritos antes (preparaciones 1 y 2, partiendo del α -bromo, α -alquil malonato apropiado y el fenol apropiado. En la tabla siguiente, Me es metilo y Et es etilo.

22/11/23

Tabla 2

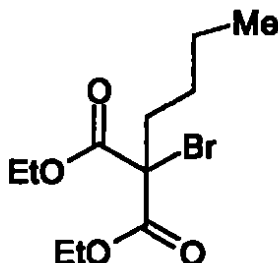
Estructura	RMN de ^1H	m/z
	δ (d^6 -acetona); 1,19-1,23 (t, 6H); 1,84 (s, 3H); 4,19-4,24 (q, 4H); 6,90-7,14 (m, 9H).	377,2
	δ (d^3 - cloroformo); 0,86-0,88 (t, 3H); 1,21-1,23 (t, 6H); 1,25-1,38 (m, 4H); 2,18-2,22 (m, 2H); 4,20 - 4,25 (q, 4H); 6,80-7,00 (m, 8H).	418,3
	δ (d^6 -acetona); 1,19-1,23 (t, 6H); 1,75 (s, 3H); 4,24-4,29 (q, 4H); 6,95 - 7,63 (m, 9H).	343,3
	δ (d^6 -acetona); 1,19-1,22 (t, 6H); 1,72 (s, 3H); 4,23-4,28 (q, 4H); 6,89 - 7,60 (m, 9H).	343,3

22822

Preparación 3:

Dietil- α -bromo- α -n-butilmalonato

5



Se disolvió n-butil malonato de dietilo (32,3 g) en
cloruro de metileno (200 ml) y se trató, gota a gota, con una
10 solución de bromo (24,0 g), disuelto en cloruro de metileno
(25 ml). La mezcla resultante se agitó (1 hora a temperatura
ambiente), después de lo cual quedó una coloración naranja.
El disolvente se eliminó a vacío, y el residuo se destiló a
alto vacío dando el producto deseado como un aceite
15 transparente (p.eb. 105°C a 110°C; 36,0 g). RMN de ^1H (CDCl_3):
 δ = 0,89-0,92 (t, 3H); 1,25-1,29 (t, 6H); 1,35-1,37 (m, 4H);
2,2-2,26 (m, 2H); 4,23-4,29 (q, 4H); m/z =295 y 297 (M^+).

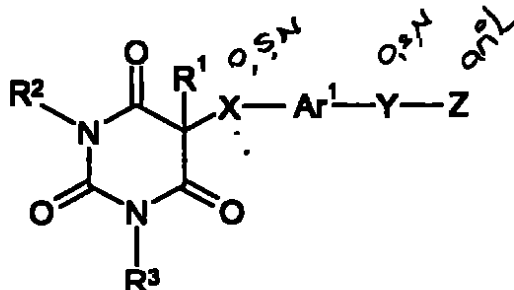
229

Habiendo descrito la invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula

5



10 en la que R¹ es hidrógeno, perfluoroalquilo C₁-C₄,
alquilo C₁-C₈ o cicloalquilo C₃-C₈, pudiendo contener dichos
alquilo C₁-C₈ o cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente de uno a tres
heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno,
>NR⁵ y azufre; pudiendo estar también dichos alquilo C₁-C₈ o
15 cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituidos por uno a dos
sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁-
C₄, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₂-C₁₀, OH, NH₂, (alquil C₁-
C₄)amino, di[alquil C₁-C₄]amino, (cicloalquil C₃-C₈)amino,
(cicloalquil C₃-C₈)(alquil C₁-C₄)amino, alcoxi C₁-C₄, -CONH₂, -
20 CONHR⁴, -CON(R⁴)₂ y cicloalquilo C₃-C₈, pudiendo contener dicho
cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente uno o dos heteroátomos
seleccionados independientemente de >NR⁵, oxígeno o azufre.

R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno
o alquilo C₁-C₄, pudiendo contener dicho alquilo C₁-C₄
25 opcionalmente un heteroátomo seleccionado de oxígeno, >NR⁵ o

230-28

azufre y pudiendo estar dicho alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido por arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₂-C₁₀, OH, NH₂, (alquil C₁-C₄)amino, di[(alquil C₁-C₄)amino, (cicloalquil C₃-C₈)amino, (cicloalquil C₃-C₈)(alquil C₁-C₄)amino, alcoxi C₁-C₄,
5 -CON(R⁴)₂ o cicloalquilo C₃-C₈, pudiendo contener dicho cicloalquilo C₃-C₈ uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente de >NR⁵, oxígeno o azufre;

X se selecciona del grupo formado por oxígeno, azufre, >SO₂, >S=O, >NR⁴, -CH₂O-, -OCH₂-, -CH₂S-, -CH₂(S=O)-, -CH₂SO₂-,
10 -SCH₂-, -SOCH₂-, -SO₂CH₂-, -N(R⁴)CH₂-, -CH₂N(R⁴)-, -N(R⁴)SO₂- y -SO₂N(R⁴)-;

R⁴, siempre que esté presente, se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo C₁-C₄;

R⁵, siempre que esté presente, se selecciona
15 independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₄, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₂-C₁₀, OH, -CONH₂, -CONHR⁴, -CON(R⁴)₂ y cicloalquilo C₃-C₈;

Y se selecciona del grupo formado por un enlace, oxígeno, azufre, >SO₂, >S=O, >NH, -CH₂-, -CH₂O-, -OCH₂-, -CH₂S-
20 , -CH₂(S=O)-, -CH₂SO₂-, -SCH₂-, -SOCH₂-, -SO₂CH₂-, -NHCH₂-,
-CH₂NH-, -CH₂CH₂-, -CH=CH-, -NHSO₂- y -SO₂NH-;

Ar¹ es arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo C₂-C₁₀; y

Z es arilo C₆-C₁₀, cicloalquilo C₃-C₈, (cicloalquil C₃-C₈)(alquilo C₁-C₄) o heteroarilo C₂-C₁₀; pudiendo estar uno o
25 dos de los átomos de carbono del anillo de dichos

cicloalquilo C_3-C_8 o (cicloalquil C_3-C_8) (alquilo C_1-C_4)
opcionalmente reemplazados por heteroátomos seleccionados
independientemente de oxígeno, azufre y NR^5 ;

pudiendo estar Ar^1 y Z opcionalmente sustituidos en
5 cualquiera de los átomos de carbono del anillo que puedan
formar un enlace adicional por uno a tres sustituyentes
seleccionados independientemente de F, Cl, Br, CN, OH,
alquilo C_1-C_4 , perfluoroalquilo C_1-C_4 , perfluoroalquiloxi C_1-C_4 ,
alquiloxi C_1-C_4 y cicloalquiloxi C_3-C_8 ;

10 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
cada uno de R^2 y R^3 son hidrógeno.

3. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que
X es oxígeno, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$.

15 4. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que
X es azufre, $>SO_2$, $-SCH_2-$, $-CH_2S-$, $-CH_2SO_2-$ o $-SO_2CH_2-$.

5. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que
X es $>NR^4$, $-CH_2N(R^4)-$ o $-N(R^4)CH_2-$.

6. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que
20 X es $-N(R^4)SO_2-$ o $-SO_2N(R^4)-$.

7. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que
Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$.

8. Un compuesto según la reivindicación 3, en el que
Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-CH_2-$, $>SO_2$, $-OCH_2-$ o $-CH_2O-$.

25 9. Un compuesto según la reivindicación 4, en el que

232 13

Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-\text{CH}_2-$, $>\text{SO}_2$, $-\text{OCH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{O}-$.

10. Un compuesto según la reivindicación 5, en el que
Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-\text{CH}_2-$, $>\text{SO}_2$, $-\text{OCH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{O}-$.

11. Un compuesto según la reivindicación 6, en el que
5 Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-\text{CH}_2-$, $>\text{SO}_2$, $-\text{OCH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{O}-$.

12. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que
Y es oxígeno, $-\text{OCH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{O}-$.

13. Un compuesto según la reivindicación 3, en el que
Y es oxígeno, $-\text{OCH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{O}-$.

10 14. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que
cada uno de X e Y es oxígeno.

15. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que
 Ar^1 es fenilo.

16. Un compuesto según la reivindicación 12, en el que
15 Ar^1 es fenilo.

17. Un compuesto según la reivindicación 13, en el que
 Ar^1 es fenilo.

18. Un compuesto según la reivindicación 14, en el que
 Ar^1 es fenilo.

20 19. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que
Z es arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ o heteroarilo $\text{C}_2\text{-C}_{10}$.

20. Un compuesto según la reivindicación 3, en el que
Z es arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ o heteroarilo $\text{C}_2\text{-C}_{10}$.

21. Un compuesto según la reivindicación 12, en el que
25 Z es arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ o heteroarilo $\text{C}_2\text{-C}_{10}$.

233

22. Un compuesto según la reivindicación 13, en el que Z es arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo C₂-C₁₀.

23. Un compuesto según la reivindicación 17, en el que Z es arilo C₆-C₁₀ o heteroarilo C₂-C₁₀.

5 24. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que Z es arilo C₆-C₁₀.

25. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que Z es cicloalquilo C₃-C₈ o (cicloalquil C₃-C₈) (alquilo C₁-C₄); en los que uno o dos de los átomos de carbono del anillo de
10 dicho cicloalquilo C₃-C₈ o (cicloalquil C₃-C₈) (alquilo C₁-C₄) pueden estar opcionalmente reemplazados por heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre o NR³, estando seleccionado R³ de hidrógeno, alquilo C₁-C₄, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₂-C₁₀, OH, -CONH₂, -CONHR⁴, -CON(R⁴)₂ y
15 cicloalquilo C₃-C₈.

26. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que Z es heteroarilo C₂-C₁₀.

27. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que Ar¹ y Z están sustituidos en cualquiera de los átomos de
20 carbono del anillo que puedan formar un enlace adicional por uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente de F, Cl, Br, CN, OH, alquilo C₁-C₄, perfluoroalquilo C₁-C₄, perfluoroalquiloxi C₁-C₄, alquiloxi C₁-C₄ y cicloalquiloxi C₃-C₈.

25 28. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que

234

X es oxígeno, Y es un enlace, oxígeno, azufre, $-\text{CH}_2-$, $>\text{SO}_2$,
-OCH₂- o -CH₂O-; R¹ es hidrógeno o alquilo C₁-C₄; pudiendo
contener dicho alquilo C₁-C₄ opcionalmente uno a dos
heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno y
5 $>\text{NR}^5$, pudiendo dicho alquilo C₁-C₄ estar opcionalmente
sustituido por uno a tres sustituyentes seleccionados
independientemente de alquilo C₁-C₄, OH, NH₂, (alquil C₁-
C₄)amino, di[(alquil C₁-C₄)amino, alquiloxi C₁-C₄, -CONH₂,
-CONHR⁴ y -CONR⁴; y R² y R³ se seleccionan independientemente
10 de hidrógeno y alquilo C₁-C₄.

29. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es oxígeno; Y es oxígeno;
y Z es heteroarilo C₂-C₁₀.

30. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
15 R¹ es metilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es oxígeno;
Y es oxígeno; y Z es arilo C₆-C₁₀.

31. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
R¹ es n-butilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es
oxígeno; Y es oxígeno; y Z es arilo C₆-C₁₀.

20 32. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
R¹ es metilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es oxígeno;
Y es un enlace; y Z es arilo C₆-C₁₀.

33. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que
R¹ es n-butilo; cada uno de R² y R³ es hidrógeno; X es
25 oxígeno; Y es un enlace; y Z es arilo C₆-C₁₀.

235 952

-86-

34. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se selecciona del grupo formado por:

5-Metil-5-(4-fenoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-(4'-fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-n-Butil-5-(4-fenoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-n-Butil-5-(4-(4'-fluorofenoxi)-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

5-Metil-5-(4-fenil-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

10 5-Metil-5-(3-fenil-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona; y

5-Metil-5-(4-benciloxi-fenoxi)-pirimidina-2,4,6-triona;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

35. Una composición farmacéutica para el tratamiento ^{6c} de un trastorno seleccionado del grupo formado por artritis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, enfisema, síndrome del distrés respiratorio agudo, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Alzheimer, toxicidad en el trasplante de un órgano, caquexia, reacciones alérgicas, hipersensibilidad alérgica por
15 contacto, cáncer, ulceración de tejidos, restenosis, enfermedad periodontal, epidermólisis vesicular, osteoporosis, falta de firmeza en implantes de articulaciones artificiales, aterosclerosis, aneurisma aórtico, insuficiencia cardíaca congestiva, infarto de miocardio,
20 apoplejía, isquemia cerebral, traumatismo craneal, lesión de

236
S
S

la médula espinal, trastornos neurodegenerativos, trastornos autoinmunes, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, migraña, depresión, neuropatía periférica, dolor, angiopatía amiloide cerebral, potenciación nootrópica o
5 cognitiva, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, angiogénesis ocular, lesión corneal, degeneración macular, curación anómala de heridas, quemaduras, diabetes, cicatrices corneales, escleritis, SIDA, septicemia y choque séptico en un mamífero, incluyendo un ser humano, que
10 comprende una cantidad de un compuesto de la reivindicación 1, eficaz en dicho tratamiento, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

36. Un procedimiento para tratar un trastorno *
seleccionado del grupo formado por artritis, enfermedad
15 inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, enfisema, síndrome del distrés respiratorio agudo, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Alzheimer, toxicidad en el trasplante de un órgano, caquexia, reacciones alérgicas, hipersensibilidad alérgica por contacto, cáncer,
20 ulceración de tejidos, restenosis, enfermedad periodontal, epidermólisis vesicular, osteoporosis, falta de firmeza en implantes de articulaciones artificiales, aterosclerosis, aneurisma aórtico, insuficiencia cardíaca congestiva, infarto de miocardio, apoplejía, isquemia cerebral, traumatismo
25 craneal, lesión de la médula espinal, trastornos neurodege-

23743

-88-

nerativos, trastornos autoinmunes, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, migraña, depresión, neuropatía periférica, dolor, angiopatía amiloide cerebral, potenciación nootrópica o cognitiva, esclerosis lateral amiotrófica, 5 esclerosis múltiple, angiogénesis ocular, lesión corneal, degeneración macular, curación anómala de heridas, quemaduras, diabetes, cicatrices corneales, escleritis, SIDA, septicemia y choque séptico en un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende administrar a dicho mamífero una 10 cantidad de un compuesto de la reivindicación 1, eficaz en el tratamiento de dicho trastorno.

37. Una composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno que se puede tratar mediante la inhibición de metaloproteinasas de la matriz en un mamífero, incluyendo 15 un ser humano, que comprende una cantidad de un compuesto de la reivindicación 1, eficaz en dicho tratamiento y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

38. Una composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno que se puede tratar mediante la inhibición de una reprotisina de mamífero en un mamífero, incluyendo un 20 ser humano, que comprende una cantidad de un compuesto de la reivindicación 1, eficaz en dicho tratamiento y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

39. Un procedimiento para la inhibición de 25 metaloproteinasas de la matriz en un mamífero, incluyendo un

...

238 9/2

-89-

ser humano, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1.

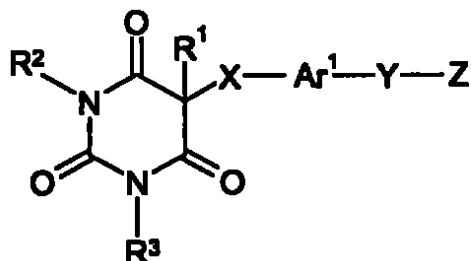
*) 40. Un procedimiento para la inhibición de una *
reprolisina de mamífero en un mamífero, incluyendo un ser
5 humano, que comprende administrar a dicho mamífero una
cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1.

239/2

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a pirimidina-2,4,6-trionas inhibidores de metaloproteinasas de fórmula

5



I

en la que X, Y, Ar¹, Z, R¹, R² y R³ son como se definen en la
10 memoria descriptiva, y a composiciones farmacéuticas y
procedimientos para tratar la inflamación, el cáncer y otros
trastornos.

Nota
los folios

241 Tarjeta archivo propietarios
242 a 244 " " temálico,

fueron retirados para archivo.

Octubre 11, 2000

* Se retiraron los folios 245 a 247
correspondientes al extracto para
publicación

202041
22 abril 02

Folios: 247

REQUISITOS MÍNIMOS

Industry

Folios: 247

Tribute: 6 CDS PRESENTES 2 I REGISTRO/ 101 PRESENTAC
Deposición: CDS PRESENTACION DE FOLIOS DEPRECIACIÓN

PATENTE DE INVENCION

MODELO DE UTILIDAD []

- Nombre e identificación del Solicitante 1 []
- Nombre e identificación del Inventor 1 []
- Título o nombre de la Invención 1 []
- Descripción 41 []
- Reivindicaciones 230 []
- Resumen 240 []
- Comprobante de Pago 3 []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL (I)

- **Nombre e identificación del peticionario** []
- **Nombre e identificación del inventor o diseñador** []
- **Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse** []
- **Representación gráfica** []
- **Comprobante de pago** []

COMPLETA [1]

INCOMPLETA 11

AES

Firma Responsable

Fecha: _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@sc.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES INTENDENCIA
PRIMER EXAMEN DE FORMA

EXPEDIENTE 00-58849

Practicado el examen jurídico de acuerdo con lo establecido en el art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de Patente de Invención:

SI ☐ NO ☐ NO APLICABLE ☒ Presentó los poderes necesarios en forma correcta (Decisión 344, art. 14-a).

SI ☒ NO ☐ NO APLICABLE ☐ Acreditó, en forma correcta, la existencia y representación de la persona jurídica solicitante (art. 14-c de la Decisión 344; literal g) del art. 4 del Decreto 117/94).

SI ☒ NO ☐ NO APLICABLE ☐ Presentó, en forma correcta, el comprobante de pago por la tasa de presentación establecida (art. 13-f de la Decisión 344 y la Resolución 02 del 4 de Enero del 2000)

SI ☒ NO ☐ EXTEMPORANEAMENTE ☐ Reivindicó prioridad, dentro del plazo y de acuerdo con lo previsto en el Artículo 4 del Convenio de París.

SI ☒ NO ☐ NO APLICABLE ☐ Presentó copia, certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, al momento de radicar la solicitud nacional.

SI ☒ NO ☐ NO APLICABLE ☐ Presentó la traducción del capítulo reivindicatorio de la solicitud de la cual se reivindica prioridad (Art. 4, D-3 Convenio de París; Concepto: 5 de enero de 1999 S.I.C.).

SI ☒ NO ☐ CUMPLE LOS REQUISITOS JURIDICOS

OBSERVACIONES:

Debe allegar comprobante de pago por exceso de 150 palabras del extracto de publicación.

En consecuencia, se conceptúa que esta solicitud:

SI ☒ NO ☐ Se ajusta a los aspectos FORMALES indicados en la Decisión 344 y por tanto,

SI ☒ NO ☐ Se recomienda PUBLICAR el extracto correspondiente.

Santafé de Bogotá, D.C., 9 de Agosto del 2000

EXAMINADOR JURIDICO.

202022

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES**PRIMER EXAMEN DE FORMA**

CONCEPTO TECNICO
EXPEDIENTE
IPC

1328
00 058.849
A 61 K 31/505 // 31/12

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del inventor (Art.8, Art.13-a).
SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del solicitante (Artículo 13-a).
SI ☒ NO ☐ Contiene el resumen con el objeto o finalidad de la invención en forma correcta (Art.13-e).
SI ☒ NO ☐ Contiene el título o nombre de la invención en forma correcta (Art.13-b).

SI ☒ NO ☐ Contiene la descripción clara y completa de la invención (Art.13-c).
SI ☒ NO ☐ Contiene los dibujos correctos (Art.14-c junto con el literal d) del Art. 4 del Dto. 117 /94).
SI ☒ NO ☐ Contiene las unidades de medida en el sistema exigido (Art.14-c junto con el Decreto 3464 del 26 de diciembre de 1980).
SI ☒ NO ☐ Contiene una o más reivindicaciones, en forma correcta, que precisen la materia para la cual se solicita la protección mediante la patente (Art.13-d).

SI ☒ NO ☐ Contiene el extracto y cumple con los requisitos para publicación (Art.14-c junto con el literal c) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
SI ☐ NO ☒ Contiene el arte final del dibujo característico y cumple con los requisitos (Art.14-c junto con el literal c) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo Temático [formato P-104] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo de Propietarios [formato P-105] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).

SI ☐ NO ☒ CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS

OBSERVACIONES Y OTROS: SI ☒ NO ☐ ver hoja(s) anexa(s)

Santa Fe de Bogotá, D.C.,
Octubre 12, 2000

EXAMINADOR TECNICO DE PATENTES
202007

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES**PRIMER EXAMEN DE FORMA**

CONCEPTO TECNICO	1328
EXPEDIENTE	00 058.849
IPC	A 61 K 31/505 // 31/12

Realizado el primer examen de forma de esta solicitud se hace las siguiente observación:

1. Debe adjuntarse el arte final de la fórmula química característica en papel fotográfico o papel mantequilla, tamaño 12 X 12 cm, por duplicado. Y otro, tamaño 6 X 6 cm, para la tarjeta del archivo temático.

EXAMINADOR TECNICO DE PATENTES 202007	JEFE DIVISIÓN NUEVAS CREACIONES	Santa Fe de Bogotá, D.C. Octubre 12 del 2000
--	------------------------------------	---

PC 244 252

Industria y Comercio

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES R I N T E N D E N C I A

EXPEDIENTE 00-58849

AUTO 2705

LA JEFE DE DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

DISPONE:

ARTICULO PRIMERO: Tener como representante de la sociedad solicitante al doctor JOSE ANTONIO LLOREDA.

ARTICULO SEGUNDO: Conforme lo establece el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, requiérsele al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del auto, presente respuesta a las observaciones o complementa los antecedentes señalados en el examen de forma.

ARTICULO TERCERO: Notificar por estado el presente auto, advirtiéndole que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

Dado en Bogotá D.C., a los _____

24 OCT. 2008

LA JEFE DE LA DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES,

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

Bogotá D.C.,

26 OCT 2008

Notificado por anotación en estado de esta misma fecha.

VENCIMIENTO NOTIFICACION ESTADO

SOLICITO PRORROGA TERMINO SI _____ NO _____

VENCIMIENTO TERMINO PRORROGA

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia