

117

Señores

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá, D.C.

Re.. Código 02-01-444
Expediente No. 01-19.686
Solicitud de Patente
**SMITHKLINE BEECHAM
CORPORATION**

En relación con el Expediente de la referencia y dando cumplimiento a la última providencia recaída sobre este asunto por medio del presente escrito me permito manifestarles lo siguiente:

1. Debido a que hemos encontrado algunos errores de traducción y transcripción en el ejemplar de la descripción y reivindicaciones previamente allegado, me permito adjuntar a este escrito un nuevo ejemplar completamente revisado y corregido.
2. Acompaño el documento de cesión de los inventores a la sociedad solicitante.
3. Acompaño una copia de mi escrito radicado el pasado 30 de Marzo mediante el cual aporté la copia certificada de la solicitud de patente de la cual se reclama prioridad.

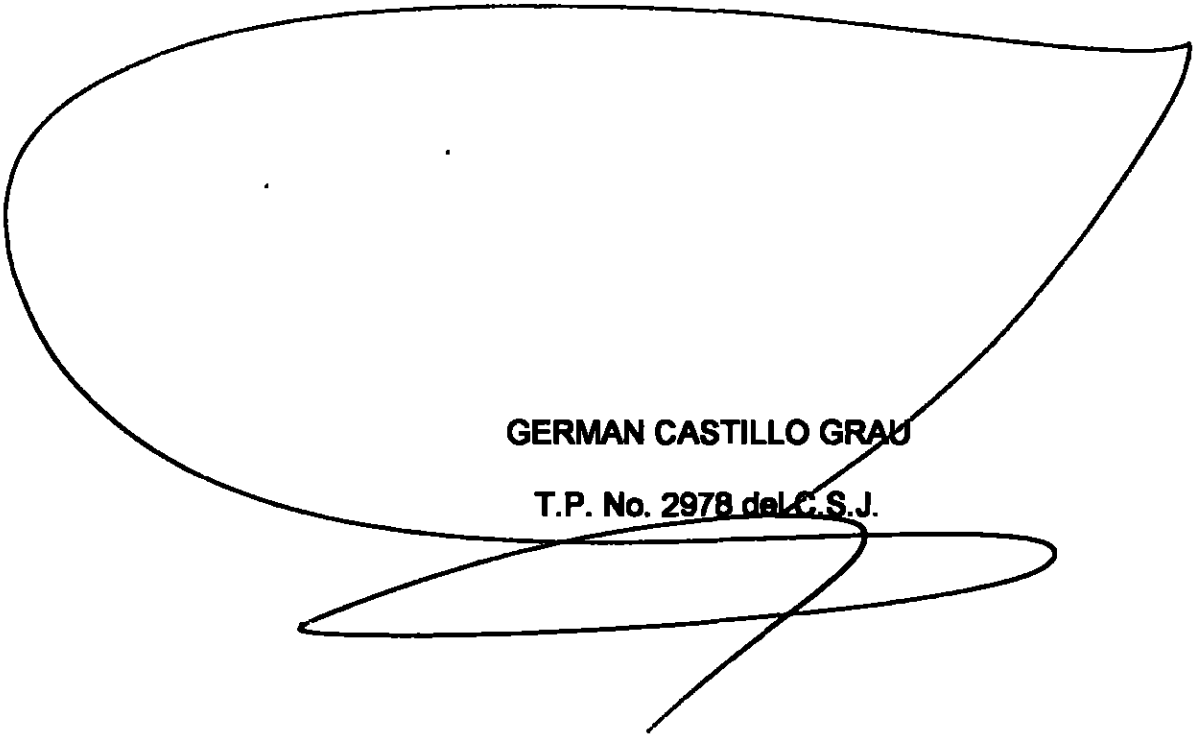
118
121

4. Adjunto el arte final por triplicado.

5. Igualmente acompaño el comprobante de pago por concepto de exceso de palabras en el extracto, recibo No. 32-189/01

Renuncio al término faltante de traslado, y les solicito ordenar la publicación del extracto.

De Ustedes Atentamente,



GERMAN CASTILLO GRAU
T.P. No. 2978 del C.S.J.

119
25**Industria y Comercio**
SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 01 - 32,180
FECHA : MAYO 22 DE 2001

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CASTILLO GRAU Y ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	4067612	22/05/2001	393,876.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
560	50005-01-01	SOLICITUDES	9 POR PALABRA ADICIONAL (A PARTIR D
		TOTAL :	\$ 302,400.00

SON: TRESCIENTOS DOS MIL CUATROCIENTOS PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

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

ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES IL-8

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a nuevos compuestos de difenilurea sustituidos con sulfonamidas, a composiciones farmacéuticas, procedimientos para su preparación, y a su uso para tratar enfermedades mediadas por IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 y ENA-78.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Se han aplicado muchos nombres diferentes a la interleuquina-8 (IL-8), tal como proteína-1 atrayente/activante de neutrófilos (NAP-1), factor quimiotáctico de neutrófilos derivado de monocitos (MDNCF), factor activante de neutrófilos (NAF) y factor quimiotáctico de los linfocitos de las células T. La interleuquina-8 es un agente quimioatrayente de neutrófilos, basófilos y una subserie de células T. Es producida por una mayoría de células nucleadas que incluyen macrófagos, fibroblastos, células endoteliales y epiteliales expuestas a TNF, IL-1 α , IL-1 β , o LPS, y por los neutrófilos en sí mismos cuando se exponen a LPS o factores quimiotácticos tales como FMLP. M. Baggiolini et al., J. Clin. Invest., 84, 1045 (1989); J. Schroeder et al., J. Immunol., 139, 3474 (1987) y J. Immunol., 144, 2223 (1990); Strieter et al., Science, 243, 1467 (1989) y J. Biol. Chem., 264, 10621 (1989); Cassatella et al., J. Immunol., 148, 3216 (1992).

GRO α , GRO β , GRO γ y NAP-2 también pertenecen a la familia de la quimioquina. Como la IL-8, estas quimioquinas también han sido denominadas por diferentes nombres. Por ejemplo, a GRO α , β , y γ se las ha denominado MGSA α , β y γ , respectivamente (actividad estimulante del crecimiento de los melanomas), véase Richmond et al., J. Cell Physiology, 129, 375 (1986) y Chang et al., J. Immunol. 148, 451 (1992). Todas las quimioquinas de la familia α que poseen el motivo ELR que precede directamente al motivo CXC se enlazan al receptor IL-8 B (CXCR2).

IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 y ENA-78 estimulan un número de funciones in vitro. Todas ellas han mostrado que tienen propiedades quimioatrayentes de los neutrófilos, mientras que IL-8 y GRO α han demostrado actividad quimio-
5 táctica basófila y para los linfocitos T. Además, IL-8 puede inducir la liberación de la histamina de los basófilos tanto a partir de individuos normales como atópicos. Además, IL-8 y GRO α inducen la liberación de enzimas lisosómicas y el estallido respiratorio de los neutrófilos. IL-8
10 también ha mostrado que aumenta la expresión superficial de Mac-1 (CD11b/CD18) en neutrófilos sin la síntesis de nuevas proteínas. Esto puede contribuir a acrecentar la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales vasculares. Muchas enfermedades conocidas se caracterizan por la infil-
15 tración masiva de neutrófilos. Ya que IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ y NAP-2 promueven la acumulación y activación de los neutrófilos, estas quimioquinas han estado implicadas en una amplia variedad de trastornos inflamatorios crónicos y agudos que incluyen la psoriasis y la artritis reumatoide,
20 Baggiolini et al., FEBS Lett. 307, 97 (1992); Miller et al., Crit. Rev. Immunol., 12, 17 (1992); Oppenheim et al., Annu. Rev. Immunol., 9, 617 (1991); Seitz et al., J. Clin. Invest., 87, 463 (1991); Miller et al., Am. Rev. Respir. Dis., 146, 427 (1992); Donnely et al., Lancet 341, 643
25 (1993). Además, las quimioquinas ELR (las que contienen el motivo ELR de aminoácidos justo antes del motivo CXC) también han estado implicadas en la angiostasis, Strieter et al., Science, 258, 1978 (1992).

In vitro, IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ y NAP-2 inducen cam-
30 bios en la forma de los neutrófilos, quimiotaxia, liberación de gránulos y estallido respiratorio, al enlazarse a y activar los receptores de la transmembrana-siete, familia ligada a la proteína G, en particular al enlazarse a los receptores IL-8, más especialmente al receptor IL-8 β
35 (CXCR2). Thomas et al., J. Biol. Chem. 266, 14839 (1991); y Holmes et al., Science 253, 1278 (1991). El desarrollo de

5

antagonistas no peptídicos de molécula pequeña para miembros de esta familia de receptores tiene precedentes. Para una revisión véase R. Freidinger en: Progress in Drug Research, vol. 40, pp. 33-98, Birkhauser Verlag, Basel 1993.

5 Por lo tanto, el receptor IL-8 representa un objetivo prometedor para el desarrollo de nuevos agentes antiinflamatorios.

Se han caracterizado dos receptores de alta afinidad de la IL-8 de los seres humanos (77% de homología): IL-8R α ,
10 que sólo se enlaza a la IL-8 con alta afinidad, e IL-8R β , que tiene alta afinidad por IL-8 así como por GRO α , GRO β , GRO γ y NAP-2. Véase Holmes et al., anteriormente; Murphy et al., Science 253, 1280 (1991); Lee et al., J. Biol. Chem., 267, 16283 (1992); LaRosa et al., J. Biol. Chem., 267,
15 25402 (1992); y Gayle et al., J. Biol. Chem. 268, 7283 (1993).

En este campo existe necesidad de un tratamiento de compuestos que sean capaces de enlazarse al receptor IL-8 α o al receptor IL-8 β . Por lo tanto, Las condiciones asociadas con un aumento de la producción de IL-8 (que es responsable de la quimiotaxia de los neutrófilos y de subseries de células T en el sitio inflamatorio) se verían beneficiadas por compuestos que sean inhibidores del enlace al receptor IL-8.

25

SUMARIO DE LA INVENCION

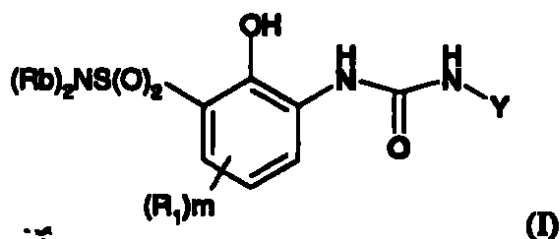
Esta invención proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por una quimioquina, en el que la quimioquina es una que se enlaza a un receptor IL-8 α o β , método que comprende administrar una cantidad efectiva de un
30 compuesto de fórmula (I) o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En particular, la quimioquina es IL-8.

Esta invención también se refiere a un método de inhibir el enlace de la IL-8 a sus receptores en un mamífero
35 que lo necesite, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula (I).

123 26

La presente invención también proporciona los nuevos compuestos de fórmula (I), y las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I), y un diluyente o vehículo farmacéutico.

5 Los compuestos de fórmula (I) útiles en la presente invención se representan mediante la estructura:



en la que

R_b se selecciona independientemente del grupo que consta de hidrógeno, NR_6R_7 , OH, OR_a , alquilo C_{1-5} , arilo, aril-alquilo C_{1-4} , aril-alqueno C_{2-4} , cicloalquilo, cicloalquil-alquilo C_{1-5} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , heteroaril-alqueno C_{2-4} , heterociclilo, heterociclil-alquilo C_{1-4} y un resto heterociclil-alqueno C_{2-4} , restos todos que pueden estar opcionalmente sustituidos de una a tres veces independientemente con un sustituyente seleccionado del grupo que consta de halógeno, nitro, alquilo C_{1-4} sustituido con halo, alquilo C_{1-4} , amino, amina mono- o di-sustituida con alquilo C_{1-4} , OR_a , $C(O)R_a$, $NR_aC(O)OR_a$, $OC(O)NR_6R_7$, hidroxilo, $NR_6C(O)R_a$, $S(O)_m \cdot R_a$, $C(O)NR_6R_7$, $C(O)OH$, $C(O)OR_a$, $S(O)_2NR_6R_7$ y $NHS(O)_2R_a$; o los dos sustituyentes R_b se unen para formar un anillo de 3-10 miembros, opcionalmente sustituido y que contiene, además de carbono, independientemente, de 1 a 3 restos opcionalmente sustituidos seleccionados del grupo que consta de NR_a , O, S, SO y SO_2 ; R_a se selecciona del grupo que consta de alquilo, arilo, aril-alquilo C_{1-4} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , heterociclilo, $COOR_a$, y un resto heterociclil-alquilo C_{2-4} , restos todos que pueden estar opcionalmente sustituidos;

m es un número entero que tiene un valor de 1 a 3;

7

m' es 0 o un número entero que tiene un valor de 1 ó 2;
 n es un número entero que tiene un valor de 1 a 3;
 q es 0, o un número entero que tiene un valor de 1 a 10;
 t es 0, o un número entero que tiene un valor de 1 ó 2;

s es un número entero que tiene un valor de 1 a 3;
 R_1 se selecciona independientemente del grupo que consta de hidrógeno, halógeno, nitro, ciano, alquilo C_{1-10} , alquilo C_{1-10} sustituido con halo, alquenilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} , alcoxi C_{1-10} sustituido con halo, azida, $S(O)_tR_4$, $(CR_8R_9)_qS(O)_tR_4$, hidroxilo, alquilo C_{1-4} hidroxilo sustituido, arilo, aril-alquilo C_{1-4} , aril-alquenilo C_{2-10} , ariloxi, aril-alquiloxi C_{1-4} , heteroarilo, heteroarilalquilo, heteroaril-alquenilo C_{2-10} , heteroaril-alquiloxi C_{1-4} , heterociclilo, heterociclil-alquilo C_{1-4} , heterociclil-alquiloxi C_{1-4} , heterociclil-alquenilo C_{2-10} , $(CR_8R_9)_qNR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_5$, alquenilo $C_{2-10}C(O)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_{10}$, $S(O)_3R_8$, $(CR_8R_9)_qC(O)R_{11}$, alquenilo $C_{2-10}C(O)R_{11}$, alquenilo $C_{2-10}C(O)OR_{11}$, $(CR_8R_9)_qC(O)OR_{11}$, $(CR_8R_9)_qOC(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNR_4C(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qC(NR_4)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qNR_4C(NR_5)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNHS(O)_2R_{13}$, y $(CR_8R_9)_qS(O)_2NR_4R_5$; o dos restos R_1 conjuntamente pueden formar $O-(CH_2)_nO$ o un anillo saturado o insaturado de 5 a 6 miembros, tal que los restos alquilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo o heterociclilo pueden estar opcionalmente sustituidos;

R_4 y R_5 se seleccionan independientemente del grupo que consta de hidrógeno, alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, aril-alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroaril-alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido, heterociclilo; y heterociclil-alquilo C_{1-4} , o R_4 y R_5 junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo de 5 a 7 miembros que opcionalmente puede comprender un heteroátomo adicional seleccionado de O, N y S;

125 120

R₆ y R₇ se seleccionan independientemente del grupo que consta de hidrógeno, alquilo C₁₋₄, heteroarilo, arilo, alquilarilo y alquilo C₁₋₄-heteroalquilo; o R₆ y R₇ junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo de 5 a 7 miembros, anillo que opcionalmente puede contener un heteroátomo adicional que se selecciona del grupo que consta de oxígeno, nitrógeno o azufre, y anillo que puede estar opcionalmente sustituido;

Y se selecciona del grupo que consta de furano, tiofeno, pirrol, oxazol, imidazol, tiazol, pirazol, isooxazol, isotiazol, 1,2,3- o 1,2,4-oxadiazol, 1,2,3- o 1,2,4-triazol, 1,2,3- o 1,2,4-tiadiazol, piridina, pirimidina, piridazina, pirazina, 1,3,5- o 1,2,3- o 1,2,4-triazina, 1,2,4,5-tetrazina, indol, benzofurano, indazol, bencimidazol, benzotiazol, quinolina, isoquinolina, cinolina, ftalazina, quinazolina y quinoxalina, restos todos que pueden estar 1-3 veces sustituidos con R₁;

R₈ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

R₉ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

R₁₀ es alquil de C₁₋₁₀-C(O)₂R₈;

R₁₁ se selecciona del grupo que consta de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, aril-alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroaril-alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido, heterociclilo opcionalmente sustituido; y heterociclil-alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido; y

R₁₃ se selecciona del grupo que consta de alquilo C₁₋₄, arilo, aril-alquilo C₁₋₄, heteroarilo, heteroaril-alquilo C₁₋₄, heterociclilo y heterociclil-alquilo C₁₋₄; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Los compuestos de fórmula (I) también se pueden usar en asociación con el tratamiento veterinario de mamíferos, diferentes de los seres humanos, que necesitan de la inhibición de la IL-8 o de otras quimioquinas que se enlazan

a los receptores IL-8 α y β . Las enfermedades mediadas por la quimioquinas, terapéutica o profilácticamente, a tratar en animales incluyen las enfermedades tales como las especificadas en esta memoria en la sección de métodos de tratamiento.

Convenientemente, R_b se selecciona independientemente de hidrógeno, NR_6R_7 , OH, OR_a , alquilo C_{1-4} , arilo, aril-alquilo C_{1-4} , aril-alquenilo C_{2-4} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , heteroaril-alquenilo C_{2-4} , heterociclilo, heterociclil-alquilo C_{1-4} , o un resto heterociclil-alquenilo C_{2-4} , restos todos que pueden estar opcionalmente sustituidos de una a tres veces independientemente con halógeno, nitro, alquilo C_{1-4} sustituido con halo, alquilo C_{1-4} , amino, amina mono- o di- sustituida con alquilo C_{1-4} , cicloalquilo, cicloalquil-alquilo C_{1-5} , OR_a , $C(O)R_a$, $NR_3C(O)OR_a$, $OC(O)NR_6R_7$, ariloxi, ariloxi C_{1-4} , hidroxí, alcoxi C_{1-4} , $NR_3C(O)R_a$, $S(O)_mR_a$, $C(O)NR_6R_7$, $C(O)OH$, $C(O)OR_a$, $S(O)_2NR_6R_7$ y $NHS(O)_2R_a$. Alternativamente, los dos sustituyentes R_b pueden unirse para formar un anillo de 3-10 miembros, opcionalmente sustituido y que contiene, además de carbono, independientemente, de 1 a 3 restos NR_a , O, S, SO o SO_2 que pueden estar opcionalmente sustituidos.

Convenientemente, R_a es un alquilo, arilo, aril-alquilo C_{1-4} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , heterociclilo, o un resto heterociclil-alquilo C_{2-4} , restos todos que pueden estar opcionalmente sustituidos.

Convenientemente, R_1 se selecciona independientemente de hidrógeno, halógeno, nitro, ciano, alquilo C_{1-10} sustituido con halo, tal como CF_3 , alquilo C_{1-10} , tal como metilo, etilo, isopropilo o n-propilo, alquenilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} , tal como metoxi o etoxi, alcoxi C_{1-10} sustituido con halo, tal como trifluorometoxi, azida, $(CR_6R_8)_qS(O)_tR_4$, en el que t es 0, 1 ó 2, hidroxí, hidroxí-alquilo C_{1-4} , tal como metanol o etanol, arilo, tal como fenilo o naftilo, aril-alquilo C_{1-4} , tal como bencilo, arilo, tal como fenilo o naftilo, aril-alquilo C_{1-4} , tal como bencilo, ariloxi, tal como fenoxi, aril-alquiloxi C_{1-4} , tal como benciloxi; hete-

127 130

roarilo, heteroarilalquilo, heteroaril-alquiloxi C_{1-4} ; aril-
alquenilo C_{2-10} , heteroaril-alquenilo C_{2-10} , heterociclil-al-
quenilo C_{2-10} , $(CR_8R_9)_qNR_4R_5$, alquenilo $C_{2-10}C(O)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_q$ -
C(O)NR₄R₅, $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_{10}$, S(O)₃H, S(O)₃R₈, $(CR_8R_9)_qC(O)R_{11}$,
5 alquenilo $C_{2-10}C(O)R_{11}$, alquenilo $C_{2-10}C(O)OR_{11}$, $(CR_8R_9)_q$ -
C(O)R₁₁, $(CR_8R_9)_qC(O)OR_{11}$, $(CR_8R_9)_qOC(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4$ -
C(O)R₁₁, $(CR_8R_9)_qC(NR_4)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qNR_4C(NR_5)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNH$ -
S(O)₂R₁₃, y $(CR_8R_9)_qS(O)_2NR_4R_5$. Todos los restos que contienen
10 arilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar opcional-
mente sustituidos como se define más adelante en esta memo-
ria.

Para el uso de esta memoria, la expresión "restos que
contienen arilo, heteroarilo y heterociclilo" se refiere
tanto al anillo como al alquilo, o si están incluidos, los
15 anillos de alquenilo, tales como anillos de arilo, arilal-
quilo y arilalquenilo. Los términos "restos" y "anillos" se
pueden usar intercambiabilmente a lo largo de toda la memo-
ria.

Convenientemente, R_4 y R_5 son independientemente
20 hidrógeno, alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido, arilo op-
cionalmente sustituido, aril-alquilo C_{1-4} opcionalmente sus-
tituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroaril-
alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido, heterociclilo, hete-
rociclil-alquilo C_{1-4} , o R_4 y R_5 junto con el nitrógeno al
25 que están unidos forman un anillo de 5 a 7 miembros que op-
cionalmente puede comprender un heteroátomo adicional se-
leccionado de O, N y S;

Convenientemente, R_8 es independientemente hidrógeno o
alquilo C_{1-4} .

30 Convenientemente, R_9 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} .

Convenientemente, q es 0 o un número entero que tiene
un valor de 1 a 10.

Convenientemente, R_{10} es alquilo $C_{1-10}C(O)_2R_8$, tal como
 $CH_2C(O)_2H$ o $CH_2C(O)_2CH_3$.

35 Convenientemente, R_{11} es hidrógeno, alquilo C_{1-4} , ari-
lo, aril-alquilo C_{1-4} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} ,
heterociclilo, o heterociclil-alquilo C_{1-4} .

Convenientemente, R_{12} es hidrógeno, alquilo C_{1-10} , arilo opcionalmente sustituido o arilalquilo opcionalmente sustituido.

Convenientemente, R_{13} es alquilo C_{1-4} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , heterociclilo o heterociclíl-alquilo C_{1-4} , en los que todos los restos que contienen arilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar todos opcionalmente sustituidos.

Convenientemente, Y es furano, tiofeno, pirrol, oxazol, imidazol, tiazol, pirazol, isooxazol, isotiazol, 1,2,3- o 1,2,4-oxadiazol, 1,2,3- o 1,2,4-triazol, 1,2,3- o 1,2,4-tiadiazol, piridina, pirimidina, piridazina, pirazina, 1,3,5- o 1,2,3- o 1,2,4-triazina, 1,2,4,5-tetrazina, indol, benzofurano, indazol, bencimidazol, benzotiazol, quinolina, isoquinolina, cinolina, ftalazina, quinazolina y quinoxalina, restos todos que pueden estar 1-3 veces sustituidos con R_1 , alquenilo $C_{2-10}C(O)OR_{11}$, $(CR_8R_9)_qC(O)OR_{12}$, $(CR_8R_9)_qOC(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qC(NR_4)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qNR_4C(NR_5)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNR_4C(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNHS(O)_2R_{13}$, o $(CR_8R_9)_qS(O)_2NR_4R_5$; o dos restos Y conjuntamente pueden formar $O-(CH_2)_s-O$ o un anillo saturado o insaturado de 5 a 6 miembros. Los restos que contienen arilo, heteroarilo o heterociclilo anteriormente indicados pueden estar todos opcionalmente sustituidos como se define en esta memoria.

Convenientemente, s es un número entero que tiene un valor de 1 a 3.

Convenientemente, R_a es un alquilo, aril-alquilo C_{1-4} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , heterociclilo, o un heterociclíl-alquilo C_{1-4} , en el que todos estos restos pueden estar todos opcionalmente sustituidos.

Tal y como se usa en esta memoria, "opcionalmente sustituido", a menos que se defina específicamente, quiere decir grupos tales como halógeno, tal como flúor, cloro, bromo o yodo, hidroxí, alquilo C_{1-10} sustituido con hidroxí, alcoxi C_{1-10} , tal como metoxi o etoxi, $S(O)_m$ -alquilo C_{1-10} , en el que m' es 0, 1 ó 2, tal como metiltio, metilsulfinilo o metilsulfonilo, amino, amino mono y di-sustituido, tal como

132
129

el grupo NR_4R_5 , NHC(O)R_4 , $\text{C(O)NR}_4\text{R}_5$, C(O)OH , $\text{S(O)}_2\text{NR}_4\text{R}_5$, $\text{NHS(O)}_2\text{R}_{20}$, alquilo C_{1-10} , tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo o t-butilo, alquilo C_{1-10} sustituido con halo, tal como CF_3 , un arilo opcionalmente sustituido, tal como
5 fenilo, o un arilalquilo opcionalmente sustituido, tal como bencilo o fenetilo, heterociclilo opcionalmente sustituido, heterociclilalquilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroaril-alquilo opcionalmente sustituido en los estos restos arilo, heteroarilo o hetero-
10 ciclilo pueden estar una o dos veces sustituidos con halógeno, hidroxí, alquilo sustituido con hidroxí, alcoxi C_{1-10} , S(O)_m -alquilo C_{1-10} , amino, amino mono y di-sustituido con alquilo, tal como el grupo NR_4R_5 , alquilo C_{1-10} , o alquilo C_{1-10} sustituido con halo, tal como CF_3 .

15 Convenientemente R_{20} es alquilo C_{1-4} , arilo, aril-alquilo C_{1-4} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , heterociclilo o heterociclil-alquilo C_{1-4} .

Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas son bien conocidas por los expertos en la técnica e incluyen
20 sales básicas de ácidos orgánicos e inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido acético, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido oxálico, ácido succínico, ácido
25 fumárico, ácido maleico, ácido benzoico, ácido salicílico, ácido fenilacético y ácido mandélico. Además, también se pueden formar sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) con un catión farmacéuticamente aceptable. Los cationes farmacéuticamente aceptables ade-
30 cuados son bien conocidos por los expertos en la técnica e incluyen cationes alcalinos y alcalinotérreos, amonio y amonio cuaternario.

Tal y como se usan en esta memoria, los siguientes términos se refieren a:

- 35 • "halo" - todos los halógenos, esto es, cloro, fluoro, bromo y yodo.

D

- 5 • "alquilo C_{1-10} " o "alquilo" - restos tanto de cadena lineal como ramificada de 1 a 10 átomos de carbono, a menos que la longitud de cadena esté de otra manera limitada, que incluyen, pero no están limitados a, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-pentilo y semejantes.
- 10 • "cicloalquilo" se usa en esta memoria para indicar un resto cíclico, preferiblemente de 3 a 8 átomos de carbono, que incluye pero no está limitado a, ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo y semejantes.
- 15 • "alquenilo" se usa en esta memoria en todos los casos para indicar un resto de cadena lineal o ramificada de 2-10 átomos de carbono, a menos que la longitud de cadena esté limitada, que incluye, pero no está limitado a, etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 2-metil-1-propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo y semejantes.
- 20 • "arilo" - fenilo y naftilo;
• "heteroarilo" (por sí mismo o en cualquier combinación, tal como "heteroariloxi", o "heteroarilalquilo") - un sistema de anillos aromáticos de 5-10 miembros en el que uno o más anillos contienen uno o más heteroátomos seleccionados del grupo que consta de N, O ó S, tal como, pero no limitándose a, pirrol, pirazol, furano, tiofeno, quinolina, isoquinolina, quinazolinilo, piridina, pirimidina, oxazol, tetrazol, tiazol, tiadiazol, triazol, imidazol o bencimidazol.
- 25 • "heterociclilo" (por sí mismo o en cualquier combinación, tal como "heterociclilalquilo") - un sistema de anillos saturados o parcialmente insaturados de 4-10 miembros en el que uno o más anillos contienen uno o más heteroátomos seleccionados del grupo que consta de N, O ó S; tal como, pero no li-
- 30 •
- 35 •

mitándose a, pirrolidina, piperidina, piperazina, morfolina, tetrahidropirano, tiomorfolina, o imidazolina. Además, el azufre puede estar opcionalmente oxidado a la sulfona o el sulfóxido.

- 5 • "aril-alquilo" o "heteroaril-alquilo" o "heterociclilalquilo" se usa en esta memoria para indicar, a menos que se indique lo contrario, alquilo C₁₋₁₀, como se definió anteriormente, unido a un resto arilo, heteroarilo o heterociclilo, que también se
- 10 definieron en esta memoria.
- "sulfinilo" - el óxido S(O) del correspondiente sulfuro, el término "tio" se refiere al sulfuro, y el término "sulfonilo" se refiere al resto S(O)₂ completamente oxidado.
- 15 • "en el que dos restos R₁ pueden formar conjuntamente un anillo saturado o insaturado de 5 ó 6 miembros" se usa en esta memoria para indicar la formación de un sistema de anillos aromáticos, tal como naftaleno, o es un resto fenilo que tiene uni-
- 20 do un anillo parcialmente saturado o insaturado de 6 miembros tal como cicloalqueno C₆, es decir hexeno, o un resto cicloalqueno C₅, tal como ciclopenteno.
- 25 Compuestos ilustrativos de fórmula (I) incluyen:
N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(piridin-2-il)urea;
N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-cloro-piridin-3-il)urea;
- 30 N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-fenil-1H-1,2,3-triazol-5-il)urea;
N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1,3-dimetilpirazol-5-il)urea;
- 35 N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-metilpirazol-5-il)urea; y
N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-metil-piridin-3-il)urea.

N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)urea;

N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-N-óxido-piridin-3-il)urea;

5 N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-cloro-1-N-óxido-piridin-3-il)urea;

N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(3-benziloxitieno[2,3-b]piridin-2-il)urea;

10 N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(3-metilisoxazol-4-il)urea; y

N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(5-metilisoxazol-4-il)urea.

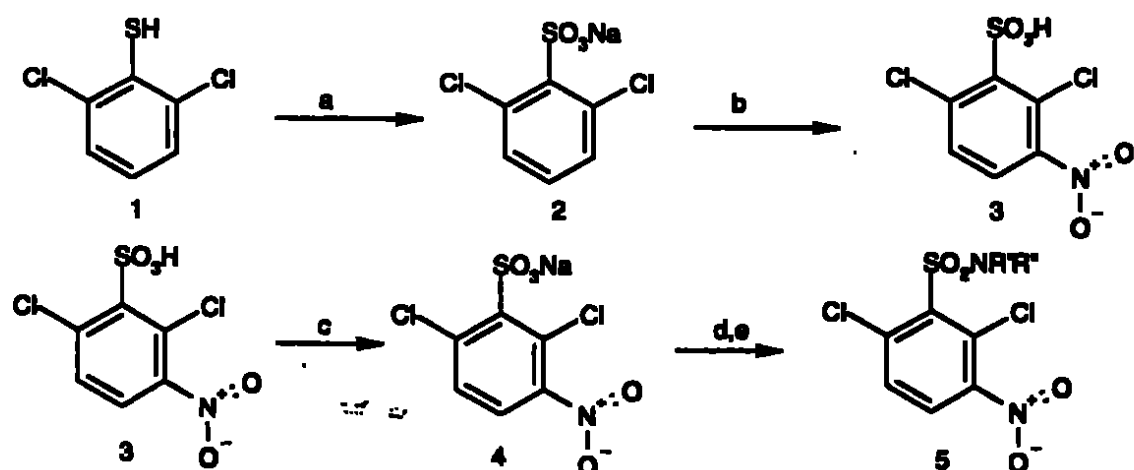
METODOS DE PREPARACION

15 Los compuestos de fórmula (I) se pueden obtener aplicando procedimientos sintéticos, algunos de los cuales se ilustran en los esquemas de más adelante. La síntesis proporcionada en estos esquemas es aplicable para la producción de compuestos de fórmula (I) que tienen una variedad
20 de grupos R, R₁ y Z diferentes que se hacen reaccionar, empleando sustituyentes opcionales que están adecuadamente protegidos, para lograr compatibilidad con las reacciones delineadas en los mismos. La desprotección subsiguiente, en esos casos, da entonces compuestos de la naturaleza generalmente descrita. Una vez se ha establecido el núcleo de
25 urea se pueden preparar más compuestos de esta fórmula aplicando técnicas estándar para la interconversión de grupos funcionales, bien conocidas en la técnica.

30

133 26

Esquema 1



a) i) NCS, AcOH, H₂O ii) NaOH MeOH b) H₂SO₄, HNO₃ c) NaOH MeOH d) PCl₅, POCl₃ e) NHRR', Et₃N, CH₂Cl₂

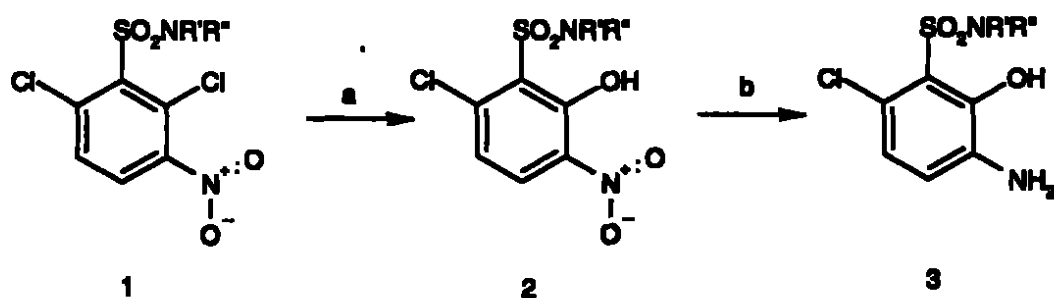
La ruta a la 2,4-diclorosulfonamida 5 del esquema 1 se delinea anteriormente, en la que el 2,6-diclorotiol comercialmente disponible se puede oxidar al haluro de sulfonilo usando un agente halogenante tal como NCS, NBS, cloro o bromo en presencia de un disolvente prótico tal como un alcohol, ácido acético o agua. El haluro de sulfonilo se puede hidrolizar usando un hidróxido metálico tal como hidróxido de sodio o de potasio para formar la correspondiente sal del ácido sulfónico. La sal del ácido sulfónico se puede a continuación nitrar en condiciones de nitración tales como con ácido nítrico en un disolvente fuertemente ácido tal como ácido sulfúrico para formar el ácido nitrofenilsulfónico 3 del esquema 1. El ácido nitrofenilsulfónico 3 del esquema 1 se puede convertir en la sulfonamida 5 del esquema 1 usando un procedimiento de tres etapas que supone la formación de la sal metálica usando una base tal como hidróxido de sodio, hidruro de sodio o carbonato de sodio para formar el compuesto 4 del esquema 1. La sal del ácido sulfónico se convierte a continuación en el cloruro de sulfonilo usando PCl₅ con POCl₃ como disolvente. El cloruro de sulfonilo se puede convertir a continuación en la

A

correspondiente sulfonamida usando la amina $\text{HNR}'\text{R}''$ deseada en un disolvente no prótico tal como CH_2Cl_2 usando una base tal como trietilamina a temperaturas que varían de -78°C a 60°C , para formar la correspondiente sulfonamida 5 del esquema 3. Este método no está limitado al 2,6-diclorofeniltiol, también se puede aplicar al 2,6-difluorofeniltiol, 2,6-dibromofeniltiol y al 2,6-diiodofeniltiol. Los halógenos de estos compuestos se pueden convertir en los correspondientes compuestos ciano, amino, tiol, o alcoxi por reacciones de desplazamiento nucleófilo usando nucleófilos tales como alquiltiolatos, alcóxidos, aminas y cianuros. Además, los halógenos se pueden funcionalizar por reacciones de acoplamiento con paladio y de carbonilación, bien conocidas en la técnica, para formar los correspondientes productos sustituidos con amido, carbonilo, alqueno, alquilo, fenilo y heterociclilo, como requiere la fórmula (I).

El orto-cloruro se puede hidrolizar selectivamente usando una base tipo hidróxido en un disolvente prótico o no prótico o por generación in situ de un hidróxido mediante el uso de NaH y agua en un disolvente no prótico tal como THF para formar el compuesto 2 del esquema 2. A continuación, el grupo nitro se puede reducir usando un número de agentes reductores tales como paladio sobre carbono e hidrógeno, cloruro de estaño, hierro, rodio o sulfito de sodio, para formar la anilina 3 deseada del esquema 2.

Esquema 2



a) NaH , H_2O , THF b) Pd/C , H_2 , EtOAc

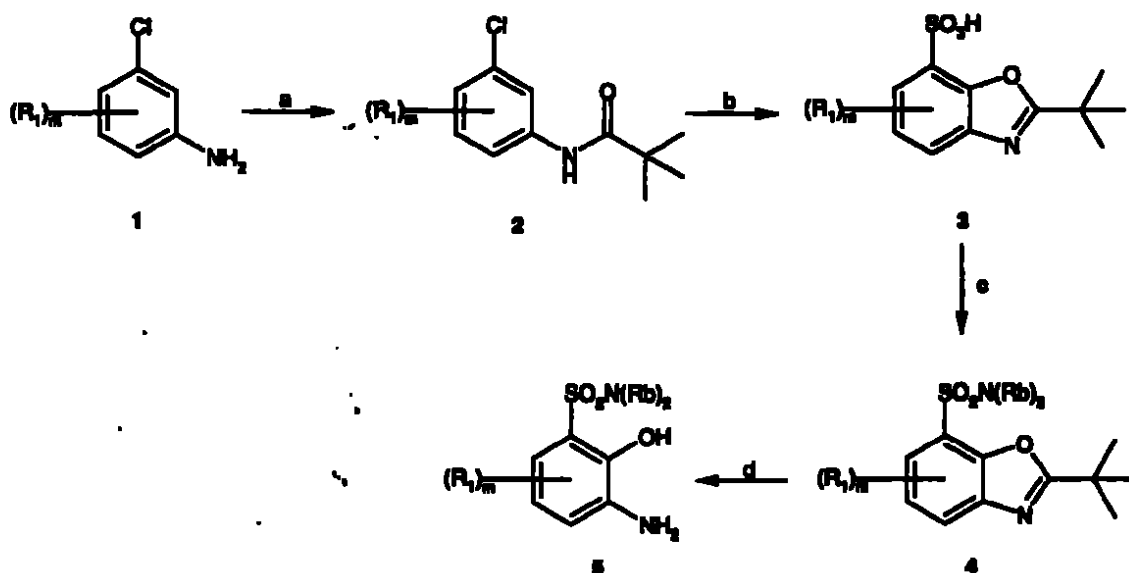
Sí la hidroxianilina deseada 3 del esquema 2 no está comercialmente disponible se puede preparar como se delinea en el esquema 3. Las 3-cloroanilinas 1 comercialmente disponibles se pueden convertir en la amida 2 usando condiciones estándar bien conocidas en la técnica tal como cloruro de pivaloilo y trietilamina en un disolvente orgánico adecuado tal como cloruro de metileno. La amida 2 se puede convertir en el benzoxazol 3 usando una cantidad en exceso de una base fuerte tal como butil-litio en un disolvente orgánico adecuado tal como THF a temperaturas de reacción reducidas (-20 a -40°C) seguido por una rápida parada de la reacción con gas dióxido de azufre. El ácido sulfónico 3 se puede convertir en la sulfonamida 4 usando el compuesto intermedio cloruro de sulfurilo. El cloruro de sulfonilo se puede obtener a partir del ácido sulfónico 3 usando condiciones estándar bien conocidas en la técnica, tales como cloruro de sulfurilo en un disolvente orgánico adecuado tal como cloruro de metileno. El cloruro de sulfonilo intermedio se puede transformar en la sulfonamida 4 usando condiciones estándar bien conocidas en la técnica haciéndolo reaccionar con la amina $\text{HN}(\text{R}_b)_2$ en presencia de una base tipo amina adecuada, tal como trietilamina, en un disolvente orgánico adecuado, tal como cloruro de metileno. La fenolanilina 5 deseada se puede obtener a partir del benzoxazol 4 usando condiciones estándar de hidrólisis bien conocidas en la técnica, tales como ácido sulfúrico en agua y calentamiento a 85°C.

30

35

136 199

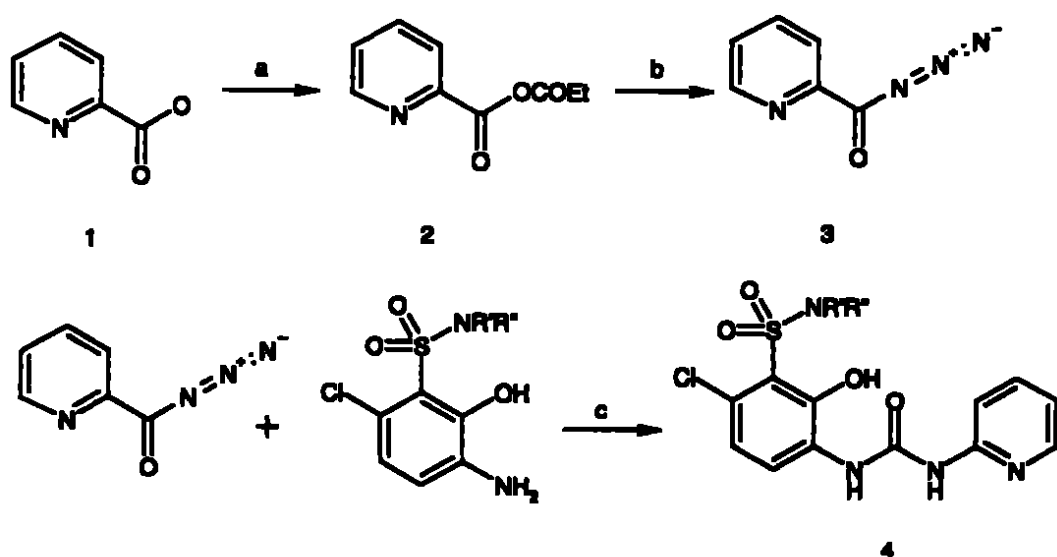
Esquema 3



a) PivCl, TEA; b) i. *n*-BuLi (2 eq.), -40°C, THF, ii. SO₂; c) i. SO₂Cl₂, ii. HN(R_b)₃, TEA; d) H₂SO₄, H₂O

La urea se puede formar por acoplamiento del isocianato heterociclilo con la hidroxianilina deseada. Si el isocianato heterociclilo deseado es inestable como el 2-piridil-isocianato, el isocianato se genera en presencia de hidroanilina premezclando la acilazida con hidroxianilina y atrapando el isocianato heterociclilo in situ. La acilazida se puede generar tratando el carboxi heterociclo con DPPA o mediante un procedimiento de dos etapas que supone la formación del haluro de ácido o del anhídrido mixto seguido por ataque con una sal de azida tal como azida de sodio. Si el isocianato es estable, entonces el isocianato se puede formar por reacción de la correspondiente amina heterocíclica con trifosgeno.

Esquema 4



a) EtOCCl , Et_3N , acetona/agua, b) NaN_3 , c) DMF

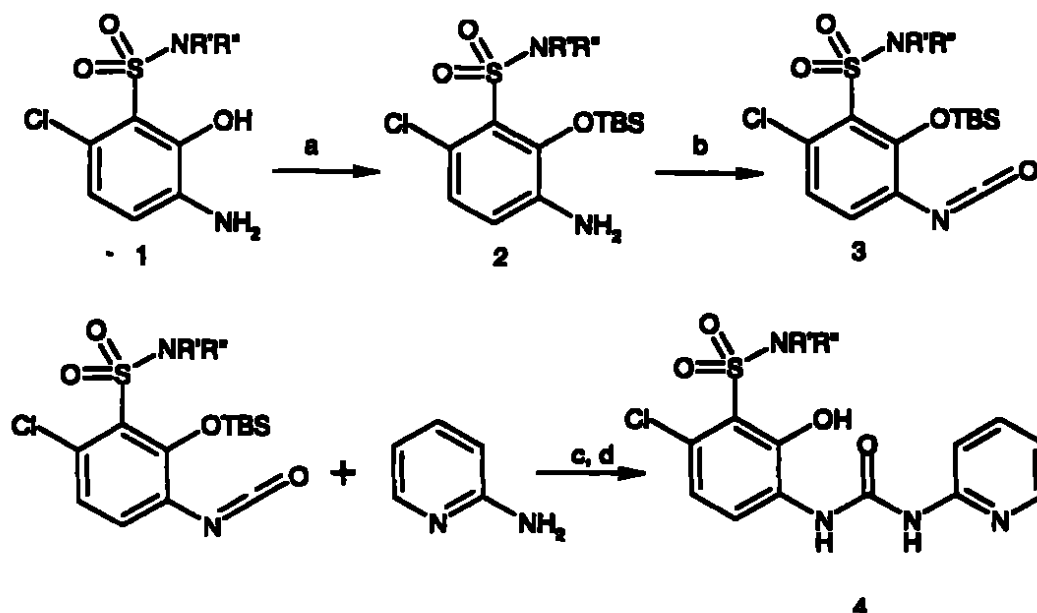
5

Alternativamente, el isocianato se puede formar en el otro lado de la urea protegiendo en primer lugar el grupo hidroxilo usando un grupo protector estándar tal como TBS para formar el compuesto 2 del esquema 5. A continuación, la hidroxianilina protegida se convierte en el isocianato usando condiciones estándar tales como tratamiento con trifosgeno en presencia de una base tal como trietilamina o bicarbonato de sodio para formar el compuesto 3 del esquema 5. A continuación, el isocianato se acopla con una amina heterocíclica para formar la correspondiente urea seguida por desprotección del grupo fenol usando procedimientos estándar para formar el compuesto 4 deseado del esquema 5.

20

21

Esquema 5



a) TBSCl, imid, CH₂Cl₂, b) trifosgeno, Et₃N, CH₂Cl₂, c) DMF, d) TBAF, CH₂Cl₂

5

EJEMPLOS SINTETICOS

La invención se describirá ahora con referencia a los siguientes ejemplos que son meramente ilustrativos y no se pretende sean una limitación del alcance de la presente invención. Todas las temperaturas se dan en grados centígrados, todos los disolventes son de la pureza más alta disponible y todas las reacciones se realizaron en condiciones anhidras en atmósfera de argón, a menos que se indique lo contrario.

En los ejemplos, todas las temperaturas son en grados centígrados (°C). A menos que se indique lo contrario, los espectros de masas se realizaron en un espectrofotómetro de masas VG Zab usando bombardeo de átomos rápidos. Los espectros de ¹H-RMN (de aquí en adelante "RMN") se registraron a 250 MHz usando un espectrómetro Bruker AM 250 o un Am 400. Las multiplicidades indicadas son: s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuartete, m = multiplete y br

indica una señal ancha. Sat. indica una disolución saturada, eq indica la proporción de un equivalente molar de reactivo en relación al reaccionante principal.

5 Método General

Síntesis de 3-(aminosulfonil)-4-cloro-2-hidroxianilina

a) Cloruro de 2,6-diclorobencenosulfonilo

- 10 A una mezcla de 200 mililitros (en lo sucesivo, ml) de ácido acético, agua y diclorometano (3/1/4, v/v/v) se añadieron 2,6-diclorobencenotiol (10,0 gramos (en lo sucesivo g), 55,8 milimoles (en lo sucesivo, mmoles)), N-clorosuccinimida (37,28 g, 279 mmoles) y acetato de potasio
- 15 (2,29 g, 27,9 mmoles). La mezcla resultante se agitó a 0°C, y a continuación se calentó a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, la mezcla se diluyó con 200 ml de diclorometano, y se lavó con agua (3 x 100 ml). La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró para dar el
- 20 producto deseado (11 g, 80%). ¹H-RMN (CDCl₃): δ 7,57 (d, 2H), 7,47 (t, 1H). Ácido 2,6-dicloro-3-nitrobencenosulfónico. Se añadió hidróxido de litio hidratado (12,64 g, 0,301 moles) a una disolución de cloruro de 2,6-diclorobencenosulfonilo (35,53 g, 0,146 moles) en MeOH
- 25 (600 ml) y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se filtró para separar los sólidos suspendidos y a continuación se concentró. El sólido resultante se secó a vacío durante toda la noche para separar el MeOH residual. A continuación, el sólido se disolvió en H₂SO₄ (300 ml) y se enfrió en un baño de hielo. A
- 30 continuación, se añadió lentamente durante 90 min a la anterior reacción una disolución de H₂SO₄ (35 ml) y HNO₃ (13,2 ml). Se permitió que la reacción se calentara hasta la temperatura ambiente durante toda la noche y a continuación se
- 35 vertió lentamente en agua con hielo (1200 ml) y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron para dar ácido 2,6-dicloro-3-

140 x 13

nitrobencenosulfónico (44,35 g, 99%) como el dihidrato. EI-MS (m/z) 270 (M-H)⁻.

b) Cloruro de 2,6-dicloro-3-nitrobencenosulfonilo.

Se añadió hidróxido de potasio (12,07 g, 0,215 moles)
5 a una disolución de ácido 2,6-dicloro-3-nitrobencenosulfónico dihidratado (44,35 g, 0,144 moles) en MeOH (850 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 14 h. La mezcla de reacción se concentró y el sólido resultante se secó a vacío durante toda la noche. A éste
10 se añadió PCl₅ (30,00 g, 0,144 moles) seguido por POCl₃ (475 ml) y la mezcla se mantuvo a reflujo durante toda la noche. A continuación, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. La mezcla resultante se absorbió en EtOAc y se enfrió en un baño de hielo. Se añadieron tro-
15 zos de hielo lentamente a la mezcla de reacción para destruir cualquier residuo de PCl₅. Cuando cesó el borboteo se añadió agua y la mezcla de reacción se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró para dar el cloruro de 2,6-dicloro-3-nitrobencenosulfonilo (40,42 g,
20 97%). ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 7,88 (d, 1H), 7,75 (d, 1H).

c) 2,6-dicloro-3-nitrobencenosulfonamida

Se borboteó amoníaco gas, a -78°C, durante 6 horas, por una disolución de cloruro de 2,6-dicloro-3-nitrobencenosulfonilo
25 (9,48 g, 32,6 mmoles) en 105 ml de diclorometano. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se acidificó a pH > 1 con HCl acuoso 6N, y a continuación se extrajo con acetato de etilo. A continuación, la capa orgánica combinada se concentró para dar el material bruto.
30 La cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/hexano (50/50, v/v), dio el producto deseado (6,30 g, 71%). ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 8,26 (s, 2H), 8,20 (d, 1H), 7,92 (d, 1H).

35 d) 6-cloro-2-hidroxi-3-nitrobencenosulfonamida

Se calentó a 45°C mientras se mantenía en atmósfera de argón durante 3 días una mezcla de 2,6-dicloro-3-

24

141 ~~144~~

nitrobenzenosulfonamida (2,61 g, 9,64 mmoles), 60% de hidruro de sodio (1,15 g, 28,9 mmoles) y agua (174 μ l, 9,64 mmoles). La reacción se vigiló por ^1H -RMN. Cuando la reacción no había finalizado se añadió a la mezcla 0,1 equivalentes de agua. El disolvente se evaporó cuando la reacción había casi finalizado, tal y como indicó la ^1H -RMN. El residuo se diluyó con acetato de etilo y se lavó con HCl acuoso 1N. El disolvente se concentró para dar el material bruto. La cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo/hexano/ácido acético (50/48/2, v/v/v) dio el producto deseado (1,87 g, 77%). EI-MS (m/z) 250,84, 252,89 (M^-).

e) 3-amino-6-cloro-2-hidroxibencenosulfonamida

Se añadió Pd10%/C (1,24 g) a una disolución de 6-cloro-2-hidroxi-3-nitrobenzenosulfonamida (3 g, 11,9 mmoles) en acetato de etilo. La mezcla se borboteó con argón y a continuación se agitó en un aparato Parr a 2,7 atm durante 25 min a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de celite y el celite se lavó con metanol. El disolvente se evaporó para dar el producto deseado (2,51 g, 95%). EI-MS (m/z) 222,75, 224,74 (M^-).

f) N-(3,4-diclorofenil)-2,2-dimetil-propionamida

Se enfrió 3,4-dicloroanilina (150 g) en TBME (1 l) a 10-15°C. Se añadió NaOH acuoso al 30% (141 g, 1,14 eq.), y la disolución se agitó vigorosamente vía un agitador mecánico suspendido por la parte superior. Se añadió cloruro de trimetilacetilo ("PivCl", 126 ml) a un caudal tal que la temperatura interna se mantuviera por debajo de 30°C. Durante esta adición, la mezcla en disolución se hace espesa, con producto sólido blanco. Cuando se finalizó la adición (10-15 min), la mezcla se calentó a 30-35°C durante 1 h, y a continuación se la dejó enfriar. La mezcla de reacción se mantuvo a -5°C (toda la noche) y a continuación se filtró, lavando primero con agua/MeOH 90:10 (600 ml) y luego con

agua (900 ml). El secado a vacío dio 195 g (86%) de producto, como cristales blancos apagados, LCMS m/z 246 (M-H)⁺.

5 g) Cloruro de 2-terc-butil-6-cloro-benzoxazol-7-sulfonilo

La disolución de N-(3,4-diclorofenil)-2,2-dimetilpropionamida (10 g, 41 mmoles) en THF seco (100 ml) se enfrió a -72°C en argón. Se añadió gota a gota n-butil-litio (1,6M en hexano, 64 ml, 102 mmoles). La disolución se calentó hasta aproximadamente -50°C durante 45 min, y a continuación se mantuvo en el intervalo de -25 a -10°C durante 2 h. A continuación, la disolución se volvió a enfriar a -78°C y se borboteó dióxido de azufre a través de la disolución durante 30 min. A continuación, se permitió que la disolución se calentara a temperatura ambiente durante 2 h, y se borboteó una corriente de Ar a través de la disolución, con una salida de gas para que cualquier exceso de dióxido de azufre pudiera escapar durante el calentamiento. La disolución en THF se enfrió en un baño de hielo, y se añadió cloruro de sulfurilo (3,58 ml, 44,9 mmoles) gota a gota. Después de unos pocos minutos, la disolución se calentó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla se concentró, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua. Se añadió carbono decolorante y la mezcla se filtró. La disolución resultante se secó (sulfato de sodio), se filtró y se concentró para dar el compuesto del título (12,4 g, 98%). ¹H-RMN (CDCl₃): δ 7,92 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 7,57 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 1,57 (s, 9H).

30 Procedimiento general de hidrólisis del benzoxazol a la anilina deseada.

Se trató con agua (4 ml) y H₂SO₄ (4 ml) concentrado una disolución de 2-terc-butil-6-cloro-7-(aminosulfonil)-benzoxazol en 1,4-dioxano (20 ml). La mezcla se calentó a 35 85°C durante 14 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, y a continuación se basificó a pH = 14 con NaOH acuoso al 25%. Se lavó. La mezcla se extrajo con acetato de

etilo (3 veces), se secó con MgSO_4 , se filtró, y se concentró para dar el compuesto del título.

Ejemplo 1

5 Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(piridin-2-il)urea

a) 2-(azidocarbonil)-piridina

Se añadió trietilamina (1,7 ml, 12,2 mmoles) a una disolución de ácido picolínico (1,0 g, 8,12 mmoles) en una
10 mezcla de acetona (10 ml) y agua (3 ml). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo. A continuación se añadió cloroformiato de etilo (1,32 g, 12,2 mmoles) y la mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a 0°C. Se añadió azida de
15 sodio (0,844 g, 13,0 mmoles) a la mezcla, y la mezcla se agitó durante otras 1,5 horas. La mezcla se concentró, el residuo se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 y se concentró para dar el producto deseado (817 mg, 68%). $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3): δ 8,74
20 (d, 1H), 8,15 (d, 1H), 7,88 (m, 1H), 7,55 (m, 1H).

b) N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(piridin-2-il)urea

Se calentó, en argón, a 80°C durante 2 horas una disolución de 3-amino-6-cloro-2-hidroxibencenosulfonamida (300
25 mg, 1,35 mmoles) y 2-(azidocarbonil)-piridina (400 mg, 2,70 mmoles) en 5 ml de N,N-dimetilformamida. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente durante otras 20 horas. La purificación usando un HPLC Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10, v/v, durante 10 min) dio el
30 producto deseado (287 mg, 62%). LC-MS (m/z) 343,0 (M^+).

Ejemplo 2

35 Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-cloro-piridin-3-il)urea

a) 3-(azidocarbonil)-2-cloropiridina

Se añadió trietilamina (0,97 ml, 6,98 mmoles) a una disolución de ácido 2-cloronicotínico (1,0 g, 6,35 mmoles) en una mezcla de acetona (14 ml) y agua (6 ml). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo. A continuación se añadió cloroformiato de etilo (1,03 g, 9,5 mmoles) y la mezcla resultante se agitó durante 1,0 h a 0°C. Se añadió azida de sodio (0,70 g, 10,8 mmoles) a la mezcla, y la mezcla se agitó durante otras 3 horas. La mezcla se concentró, el residuo se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. La
5
10
capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró para dar el producto deseado (550 mg, 48%). ¹H-RMN (CDCl₃): δ 8,57 (d, 1H), 8,22 (d, 1H), 7,37 (t, 1H).

b) N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-cloro-piridin-3-il)urea
15

Se agitó en argón a temperatura ambiente durante 3 días una disolución de 3-amino-6-cloro-2-hidroxibencenosulfonamida (50 mg, 0,22 mmoles) y 3-(azidocarbonil)-2-cloropiridina (123 mg, 0,67 mmoles) en 1
20
ml de N,N-dimetilformamida. La purificación usando un HPLC Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10, v/v, durante 10 min) dio el producto deseado (15 mg, 18%). LC-MS (m/z) 377,0 (M⁺).

25

Ejemplo 3

Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-fenil-1H-1,2,3-triazol-5-il)urea

a) 5-(azidocarbonil)-1-fenil-1H-1,2,3-triazol
30
Se añadió trietilamina (0,55 ml, 3,96 mmoles) a una disolución de ácido 1-fenil-1H-1,2,3-triazol-5-carboxílico (500 mg, 2,64 mmoles) en una mezcla de acetona (10 ml) y agua (5 ml). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo. A continuación se añadió cloroformiato de etilo (573 mg,
35
5,28 mmoles) y la mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a 0°C. Se añadió azida de sodio (0,844 g, 13,0 mmoles) a la mezcla, y la mezcla se agitó durante otras 1,5 horas. La

mezcla se concentró, el residuo se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró para dar el producto deseado (100 mg, 18%).
¹H-RMN (CDCl₃): δ 8,30 (s, 1H), 7,57 (t, 3H), 7,51 (d, 2H).

5

b) N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-fenil-1H-1,2,3-triazol-5-il)urea

Se agitó en argón durante 3 días a temperatura ambiente una disolución de 3-amino-6-cloro-2-hidroxibencenosulfonamida (104 mg, 0,46 mmoles) y 5-(azidocarbonil)-1H-1,2,3-triazol (100 mg, 0,46 mmoles) en 5 ml de N,N-dimetilformamida. La purificación usando un HPLC Wilson dos veces, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10, v/v, durante 10 min) dio el producto deseado (2,7 mg, 1,4%). LC-MS (m/z) 409,9 (M⁺).

15

Ejemplo 4

Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1,3-dimetilpirazol-5-il)urea

20

a) 5-(azidocarbonil)-1,3-dimetilpirazol

Se añadió trietilamina (0,75 ml, 7,13 mmoles) a una disolución de ácido 1,3-dimetilpirazol-5-carboxílico (500 mg, 3,57 mmoles) en una mezcla de acetona (10 ml) y agua (5 ml). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo. A continuación se añadió cloroformiato de etilo (774 mg, 7,13 mmoles) y la mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a 0°C. Se añadió azida de sodio (0,844 g, 13,0 mmoles) a la mezcla, y la mezcla se agitó durante otras 1,5 horas. La mezcla se concentró, el residuo se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró para dar el producto deseado (203 mg, 34%).
¹H-RMN (CDCl₃): δ 6,60 (s, 1H), 4,11 (s, 3H), 2,25 (s, 3H).

30

b) N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1,3-dimetilpirazol-5-il)urea

35

Se agitó en argón a temperatura ambiente durante 3 días una disolución de 3-amino-6-cloro-2-hidroxibencenosulfonamida (137 mg, 0,61 mmoles) y 5-(azidocarbonil)-1,3-dimetilpirazol (203 mg, 1,23 mmoles) en 2 ml de N,N-dimetilformamida. La purificación usando un HPLC Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10, v/v, durante 10 min) dio el producto deseado (17 mg, 7,7%). LC-MS (m/z) 360,2 (M⁺).

10

Ejemplo 5

Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-metilpirazol-5-il)urea

a) 5-(azidocarbonil)-1-metilpirazol

15 Se añadió trietilamina (0,83 ml, 5,94 mmoles) a una disolución de ácido 1-metilpirazol-5-carboxílico (500 mg, 3,96 mmoles) en una mezcla de acetona (6,6 ml) y agua (3,3 ml). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo. A continuación se añadió cloroformiato de etilo (774 mg, 7,13 20 mmoles) y la mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a 0°C. Se añadió azida de sodio (0,52 g, 7,92 mmoles) a la mezcla, y la mezcla se agitó durante otras 2 horas. La mezcla se concentró, el residuo se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se 25 concentró para dar el producto deseado (280 mg, 47%). ¹H-RMN (CDCl₃): δ 7,48 (s, 1H), 6,86 (s, 1H), 4,21 (s, 3H).

b) N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-metilpirazol-5-il)urea

30 Se agitó, en argón, a temperatura ambiente durante 3 días una disolución de 3-amino-6-cloro-2-hidroxibencenosulfonamida (100 mg, 0,45 mmoles) y 5-(azidocarbonil)-1-metilpirazol (280 mg, 1,85 mmoles) en 2 ml de N,N-dimetilformamida. La purificación usando un HPLC 35 Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10, v/v, durante 10 min) dio el producto deseado (12 mg, 7,7%). LC-MS (m/z) 346,0 (M⁺).

147 150

Ejemplo 6

5 Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-metilpiridin-3-il)urea

a) 3-(azidocarbonil)-2-metilpiridina

Se añadió trietilamina (1,02 ml, 7,3 mmoles) a una di-
 10 solución de ácido 2-metilnicotínico (500 mg, 3,65 mmoles)
 en una mezcla de acetona (6,6 ml) y agua (3,3 ml). La mez-
 cla se enfrió a 0°C en un baño de hielo. A continuación, se
 añadió cloroformiato de etilo (0,79 g, 7,3 mmoles) y la
 mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a 0°C. Se añadió
 15 azida de sodio (0,47 g, 7,3 mmoles) a la mezcla, y la mez-
 cla se agitó durante otras 1,5 horas. La mezcla se concen-
 tró, el residuo se diluyó con diclorometano y se lavó con
 agua. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró
 para dar el producto deseado (390 mg, 62%). ¹H-RMN (CDCl₃):
 20 δ 8,67 (d, 1H), 8,21 (d, 1H), 7,24 (t, 1H), 2,88 (s, 3H).

b) N-(3-aminoaminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-metilpiridin-3-il)urea

Se agitó en argón a temperatura ambiente durante 20
 25 horas una disolución de 3-amino-6-cloro-2-
 hidroxibencenosulfonamida (64 mg, 0,29 mmoles) y 3-
 (azidocarbonil)-2-metilpiridina (390 mg, 2,41 mmoles) en 1
 ml de N,N-dimetilformamida. La purificación usando un HPLC
 Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10,
 30 v/v, durante 10 min) dio el producto deseado (32 mg, 31%).
 LC-MS (m/z) 357,0 (M⁺).

Ejemplo 7

35 Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)urea

148 15+

a) N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)urea

Se agitó en atmósfera de argón a temperatura ambiente durante 20 horas una disolución de 3-amino-6-cloro-2-hidroxibencenosulfonamida (50 mg, 0,23 mmoles) e isocianato de 3,5-dimetilisoxazol-4-ilo (31 mg, 0,23 mmoles) en 1,0 ml de N,N-dimetilformamida. La purificación usando un HPLC Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10, v/v, durante 10 min) dio el producto deseado (40 mg, 49%).
LC-MS (m/z) 361,0 (M⁺).

Ejemplo 8

Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(5-metilisoxazol-4-il)urea

15

a) 4-(azidocarbonil)-5-metilisooxazol

Se añadió trietilamina (0,83 ml, 5,91 mmoles) a una disolución de ácido 5-metilisoxazol-4-carboxílico (500 mg, 3,94 mmoles) en una mezcla de acetona (10 ml) y agua (3 ml). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo. A continuación, se añadió cloroformiato de etilo (640 mg, 5,91 mmoles) y la mezcla resultante se agitó durante 1,5 h a 0°C. Se añadió azida de sodio (410 mg, 6,30 mmoles) a la mezcla, y la mezcla se agitó durante otras 2 horas. La mezcla se concentró, el residuo se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró para dar el material bruto que se usó en el acoplamiento sin más purificación.

b) N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(5-metilisooxazol-4-il)urea

Se agitó en argón durante 18 horas a temperatura ambiente una disolución de 3-amino-6-cloro-2-hidroxibencenosulfonamida (238 mg, 1,07 mmoles) y el material bruto de 4-(azidocarbonil)-5-metilisooxazol en 5 ml de N,N-dimetilformamida. La purificación usando un HPLC Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10,

32

v/v, durante 10 min) dio el producto deseado (86 mg, 23%).
LC-MS (m/z) 347,0 (M⁺).

5

Ejemplo 9

Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(3-metilisoxazol-4-il)urea

a) N-(3-aminoaminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-
10 (3-metilisoxazol-4-il)urea

Se calentó en argón a 80°C la mezcla de ácido 3-metilisoxazol-4-carboxílico (100 mg, 0,79 mmoles) en 2 ml de N,N-dimetilformamida. Se añadieron difenilfosforilazida (216 mg, 0,79 mmoles) y trietilamina (0,11 ml, 0,79 mmoles). La mezcla resultante se calentó durante otras 2 horas manteniendo la temperatura a 80°C. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y a continuación se añadió una disolución de 3-amino-6-cloro-2-hidroxibencenosulfonamida (176 mg, 0,79 mmoles) en 1 ml de N,N-dimetilformamida. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La purificación usando un HPLC Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10, v/v, durante 10 min) dio el producto deseado (43 mg, 16%). LC-MS (m/z) 347,0 (M⁺).

25

Ejemplo 10

Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(3-benciloxitieno[2,3-b]piridin-2-il)urea

a) N-(3-aminoaminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-
30 N'-(3-benciloxitieno[2,3-b]piridin-2-il)urea

Se calentó en argón a 80°C la mezcla de ácido 3-(benciloxi)tieno[2,3-b]piridina-2-carboxílico (150 mg, 0,53 mmoles) en 2 ml de N,N-dimetilformamida. Se añadieron difenilfosforilazida (146 mg, 0,53 mmoles), 3-amino-6-cloro-2-hidroxibencenosulfonamida (117 mg, 0,53 mmoles) y trietilamina (0,054 ml, 0,53 mmoles). La mezcla resultante se calentó durante otras 18 horas manteniendo la temperatura a

150 ~~31~~

70°C. La purificación usando un HPLC Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10, v/v, durante 10 min) dio el producto deseado (70 mg, 26%). LC-MS (m/z) 505,2 (M⁺).

5

Ejemplo 11

Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-cloro-1-N-óxido-piridin-3-il)urea

10 a) N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-cloro-1-N-óxido-piridin-3-il)urea

La mezcla de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-cloro-piridin-3-il)urea (50 mg, 0,13 mmoles) y peróxido de hidrógeno (1,5 ml, disolución al 33% en peso en agua) en 5 ml de ácido acético se agitó durante 15 18 horas a temperatura ambiente. La purificación usando un HPLC Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10, v/v, durante 10 min) dio el producto deseado (1,7 mg, 3%). LC-MS (m/z) 393,0 (M⁺).

20

Ejemplo 12

Preparación de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-N-óxido-piridin-2-il)urea

25 La mezcla de N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(piridin-2-il)urea (50 mg, 0,13 mmoles) y ácido 3-cloroperoxibenzoico (189 mg, 0,62 mmoles) en 5 ml de acetona se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La purificación usando un HPLC Gilson, eluyendo con acetonitrilo/agua (10/90, v/v a 90/10, v/v, durante 10 min) dio 30 el producto deseado (11 mg, 7%). LC-MS (m/z) 359,0 (M⁺).

METODO DE TRATAMIENTO

35 Los compuestos de fórmula (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden usar en la fabricación de una medicina para el tratamiento profiláctico o terapéutico de cualquier enfermedad en un ser humano, u otro mamífero, que ha sido exacerbada o provocada por una producción excesiva

34

o no regulada de la citoquina IL-8 por tales células de mamíferos tales como, pero no limitadas a, monocitos y/o macrófagos, u otras quimioquinas que se enlazan al receptor IL-8 α o β , también denominados receptores del tipo I o II.

5 Por consiguiente, la presente invención proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por una quimioquina, en la que la quimioquina es una que se enlaza a un receptor IL-8 α o β , y cuyo método comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una de
10 sus sales farmacéuticamente aceptables. En particular, las quimioquinas son IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78.

Los compuestos de fórmula (I) se administran en una cantidad suficiente para inhibir la función de las citoquinas, en particular IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78,
15 tal que sean biológicamente reguladas hacia los valores normales de la función fisiológica, o en algún caso a valores por debajo de los normales, para mejorar la enfermedad. Por ejemplo, en el contexto de la invención valores anormales de IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78 constituyen:
20 (i) valores de IL-8 libre mayores o iguales que 1 picogramo por ml; (ii) cualquier célula asociada con IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78 por encima de las concentraciones fisiológicas normales; o (iii) la presencia de IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78 por encima de los valores
25 basales en células o tejidos en los que se producen, respectivamente, IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78.

Los compuestos de fórmula (I) han mostrado generalmente tener un $t_{1/2}$ más largo y una biodisponibilidad oral mejorada que otros compuestos descritos en los documentos WO
30 96/25157 y WO 97/29743, cuyas descripciones se incorporan a esta memoria por referencia.

Existen muchas enfermedades en las cuales una producción excesiva o no regulada de la IL-8 está implicada en la exacerbación y/o en la causa de la enfermedad. Las enfermedades mediadas por las quimioquinas incluyen la psoriasis,
35 dermatitis atópica, osteoartritis, artritis reumatoide, as-

ma, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, síndrome de angustia respiratoria en adultos, enfermedades inflamatorias de los intestinos, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, apoplejía, choque séptico, esclerosis múltiples, 5 choque endotóxico, sepsis gram negativa, síndrome de choques tóxicos, lesiones de reperfusión cardíaca y renal, glomerulonefritis, trombosis, enfermedad injerto contra receptor, enfermedad de Alzheimer, rechazos de aloinjertos, malaria, restenosis, angiogénesis, aterosclerosis, osteoporosis, gingivitis y liberación no deseada de células del 10 tronco hematopoyético y enfermedades provocadas por virus respiratorios, virus del herpes y virus de la hepatitis, meningitis, fibrosis quística, parto prematuro, tos, prurito, disfunciones multiorgánicas, traumatismos, esguinces, 15 torceduras, contusiones, artritis psoriática, herpes, encefalitis, vasculitis CNS, lesiones traumáticas del cerebro, tumores CNS, hemorragia subaracnoide, traumatismo posquirúrgico, neumonía intersticial, hipersensibilidad, artritis inducida por cristales, pancreatitis aguda y crónica, hepatitis alcohólica aguda, enterocolitis necrotizante, sinusitis crónica, uveitis, polimiositis, vasculitis, acné, úlceras gástricas y duodenales, enfermedad celíaca, esofagitis, glositis, obstrucción de las vías respiratorias, hipersensibilidad de las vías respiratorias, bronconeumonía obstructiva asociada a neumonía, bronquiectasia, bronconeumonía, bronconeumonía obstructiva, bronquitis crónica, cardiopatía pulmonar, disnea, enfisema, hipercapnea, distensión pulmonar, hipoxemia, inflamaciones inducidas por la hiperoxia, hipoxia, reducción quirúrgica del volumen de los 20 pulmones, fibrosis pulmonar, hipertensión pulmonar, hipertrofia del ventrículo derecho, sarcoidosis, enfermedades de las vías respiratorias pequeñas, descompensación ventilación-perfusión, estertores secos, resfriados y lupus. 25

Estas enfermedades se caracterizan primariamente por 35 una infiltración masiva de neutrófilos, infiltración de células T o crecimiento neovascular y están asociadas con una producción incrementada de IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-

2 o ENA-78 que es responsable de la quimiotaxia de los neutrófilos en el lugar inflamatorio o en el crecimiento direccional de las células endoteliales. En contraste con otras citoquinas inflamatorias (IL-1, TNF e IL-6), IL-8, 5 GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78 tienen la propiedad única de promover la quimiotaxia de los neutrófilos, la liberación de enzimas que incluye, pero no está limitada a, la liberación de la elastasa así como la producción y activación del ion superóxido. Las α -quimioquinas, pero particularmente 10 GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78, que trabajan a través del receptor IL-8 del tipo I o II pueden promover la neovascularización de tumores promoviendo el crecimiento direccional de células endoteliales. Por lo tanto, la inhibición de la activación o de la quimiotaxia inducida por 15 IL-8 conduciría a una reducción directa de la infiltración de neutrófilos.

Una evidencia reciente también implica el papel de las quimioquinas en el tratamiento de las infecciones HIV, Littleman et al., Nature, 381, pp. 661 (1996) y Koup et al., 20 Nature, 381, pp. 667 (1996).

Una evidencia actual también indica el uso de inhibidores de la IL-8 en el tratamiento de la aterosclerosis. La primera referencia, Boisvert et al., J. Clin. Invest., 1998, 101:353-363 muestra, por medio de un transplante de 25 médula ósea, que la ausencia de receptores IL-8 en células madre (y, por lo tanto, en monocitos/macrófagos) conduce a una reducción del desarrollo de placas ateroscleróticas en ratones deficientes en el receptor LDL. Referencias soporte adicionales son: Apostolopoulos et al., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1996, 16:1007-1012; Liu et al., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1997, 17:317-323; Rus et al., Atherosclerosis, 1996, 127:263-271; Wang et al., J. Biol. Chem. 1996, 271:8837-8842; Yue et al., Eur. J. Pharmacol. 1993, 240:81-84; Koch et al., Am. J. Pathol. 1993, 35 142:1423-1431; Lee et al., Immunol. Lett., 1996, 53, 109-113; y Terkeltaub et al., Arterioscler. Thromb., 1994, 14:47-53.

154 ~~152~~

La presente invención también proporciona un medio para tratar, en un cuadro agudo, así como para prevenir, en los individuos susceptibles las lesiones CNS mediante los compuestos de fórmula (I) antagonistas de los receptores de las quimioquinas.

Las lesiones CNS como se definen en esta memoria incluyen los traumatismos craneoencefálicos tanto penetrantes como abiertos, tales como los ocasionados por cirugía, o una lesión provocada por un traumatismo craneoencefálico cerrado, tal como la ocasionada por una lesión en la región de la cabeza. También se incluyen dentro de esta definición la apoplejía isquémica, particularmente en el área del cerebro.

La apoplejía isquémica se puede definir como un trastorno neurológico focal que es el resultado de un suministro insuficiente de sangre a un área particular del cerebro, usualmente como consecuencia de una embolia, trombo, o cierre ateromatoso local del vaso sanguíneo. El papel de las citoquinas inflamatorias en este área es cada vez más claro y la presente invención proporciona un medio para el tratamiento potencial de estas lesiones. Para lesiones agudas, tal como éstas, han estado disponibles tratamientos relativamente escasos.

La TNF- α es una citoquina con acciones proinflamatorias, que incluyen la expresión de moléculas para la adhesión endotelial de los leucocitos. Los leucocitos se infiltran en las lesiones isquémicas del cerebro y por lo tanto los compuestos que inhiben o disminuyen las concentraciones de TNF serían útiles para el tratamiento de lesiones isquémicas del cerebro. Véase Liu et al, Stroke, vol. 25, n° 7, pp. 1481-88 (1994) cuya descripción se incorpora a esta memoria por referencia.

En Shohami et al., J. Of Vasc & Clinical Physiology and Pharmacology, vol. 3, n° 2, pp. 99-107 (1992) se discuten modelos de lesiones cerradas de cabeza y su tratamiento con agentes mixtos 5-LO/CO, cuya descripción se incorpora a esta memoria por referencia. Se encontró que el tratamien-

155 X

to, que reduce la formación de edema, mejoraba la respuesta funcional en los animales tratados.

Los compuestos de fórmula (I) se administran en una cantidad suficiente para inhibir la IL-8, que se enlaza a los receptores IL-8 alfa o beta, a partir del enlace de estos receptores, tal como se pone en evidencia mediante una reducción de la activación y quimiotaxia de los neutrófilos. El descubrimiento de que los compuestos de fórmula (I) son inhibidores del enlace de la IL-8 se basa en los efectos de los compuestos de fórmula (I) en los ensayos in vitro de enlace a receptores que se describen en esta memoria. Se ha mostrado que los compuestos de fórmula (I) son inhibidores de los receptores IL-8 del tipo II.

Tal y como se usa en esta memoria, la expresión "enfermedad o estado enfermizo mediado por la IL-8" se refiere a cualquier y todas las enfermedades en las que IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78 juegan un papel, bien mediante la producción de IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78 en sí misma, o mediante IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78 que provocan que se libere otra monoquina, tal como, pero no limitándose a, IL-1, IL-6 o TNF. Una enfermedad en la que, por ejemplo, IL-1 sea el componente principal y cuya producción o acción es exacerbada o secretada en respuesta a IL-8 se consideraría por lo tanto como una enfermedad mediada por IL-8.

Tal y como se usa en esta memoria, la expresión "enfermedad o estado enfermizo mediado por una quimioquina" se refiere a cualquier y todas las enfermedades en las que juega un papel una quimioquina que se enlaza a un receptor IL-8 α o β , tal como, pero no limitadas a, IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2 o ENA-78. Esto incluiría una enfermedad en la que la IL-8 juega un papel bien mediante la producción de IL-8 en sí misma o mediante IL-8 que provoca que se libere otra monoquina, tal como, pero no limitándose a, IL-1, IL-6 o TNF. Una enfermedad en la que, por ejemplo, IL-1 sea el componente principal y cuya producción o acción es

156. 59

exacerbada o secretada en respuesta a IL-8 se consideraría por lo tanto como una enfermedad mediada por IL-8.

Tal y como se usa en esta memoria, el término "citoquina" se refiere a cualquier polipéptido secretado que
5 afecte a las funciones de las células y es una molécula que modula las interacciones entre células en la respuesta inmune, inflamatoria o hematopoyética. Las citoquinas incluyen, pero no están limitadas a, monoquinas y linfoquinas, independientemente de las células que las producen. Por
10 ejemplo, generalmente se considera que una monoquina es producida y secretada por una célula mononuclear, tal como un macrófago y/o un monocito. Sin embargo, muchas otras células producen monoquinas, tales como células asesinas naturales, fibroblastos, basófilos, neutrófilos, células endoteliales, astrocitos del cerebro, células estromales de
15 la médula ósea, queratinocitos epiderales y linfocitos B. Generalmente se considera que las linfoquinas son producidas por las células linfocíticas. Ejemplos de citoquinas incluyen, pero no están limitadas a, interleuquina-1 (IL-
20 1), interleuquina-6 (IL-6), interleuquina-8 (IL-8), factor alfa de la necrosis tumoral (TNF- α) y factor beta de la necrosis tumoral (TNF- β).

Tal y como se usa en esta memoria, el término "quimioquina" se refiere a cualquier polipéptido secretado que
25 afecte a las funciones de las células y es una molécula que modula las interacciones entre las células en la respuesta inmune, inflamatoria o hematopoyética, similar al término "citoquina" anterior. Una quimioquina es primariamente secretada a través de las transmembranas celulares y provoca
30 quimiotaxia y activación de leucocitos y células sanguíneas blancas específicas, neutrófilos, monocitos, macrófagos, células T, células B, células endoteliales y células del músculo liso. Ejemplos de quimioquinas incluyen, pero no están limitadas a, IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ , NAP-2, ENA-78,
35 IP-10, MIP-1 α , MIP- β , PF4 y MCP 1, 2 y 3.

Con el fin de usar un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en una terapia,

40

157 100

normalmente se formulará en una composición farmacéutica según la práctica farmacéutica estándar. Por lo tanto, esta invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva y no tóxica de un compuesto de fórmula (I) o un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de fórmula (I), sus sales farmacéuticamente aceptables y las composiciones farmacéuticas que los incorporan se pueden administrar convenientemente por cualquiera de las rutas convencionalmente usadas para la administración de fármacos, por ejemplo, oral, tópica o parenteralmente o por inhalación. Los compuestos de fórmula (I) se pueden administrar en formas de dosificación convencional preparadas combinando un compuesto de fórmula (I) con vehículos farmacéuticos estándar según procedimientos convencionales. Los compuestos de fórmula (I) también se pueden administrar en dosificaciones convencionales en combinación con un segundo compuesto conocido terapéuticamente activo. Estos procedimientos pueden suponer mezclado, granulación y compresión o disolución de los ingredientes como sea apropiado para la preparación deseada. Se apreciará que la forma y carácter del diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable está dictada por la cantidad de ingrediente activo con la cual se tiene que combinar, la ruta de administración y otras variables bien conocidas. El(los) vehículo(s) tiene(n) que ser "aceptable(s)" en el sentido de ser compatible(s) con los otros ingredientes de la formulación y no dañino(s) para su receptor.

El vehículo farmacéutico empleado puede ser, por ejemplo, un sólido o un líquido. Ejemplos de vehículos sólidos son lactosa, tierra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, acacia, estearato de magnesio, ácido esteárico y semejantes. Ejemplos de vehículos líquidos son el jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, agua y semejantes. Similarmente, el vehículo o diluyente puede incluir un material que retrase el tiempo de liberación bien conocido en

4/

la técnica, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

Se pueden emplear una gran variedad de formas farmacéuticas. Así, si se utiliza un vehículo sólido, la preparación se puede transformar en comprimidos, colocar en una cápsula de gelatina dura en forma de polvo o de pelets o en forma de grageas o pastillas. La cantidad de vehículo sólido variará ampliamente, pero preferiblemente será desde aproximadamente 25 mg a aproximadamente 1 g. Cuando se use un vehículo líquido, la preparación estará en forma de jarabe, emulsión, cápsula de gelatina blanda, líquido inyectable estéril tal como una ampolla a una suspensión líquida no acuosa.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden administrar tópicamente, esto es mediante administración no sistémica. Esto incluye la aplicación de un compuesto de fórmula (I) externamente a la epidermis o la cavidad bucal y la instilación de tal compuesto en el oído, ojos y nariz, tal que el compuesto no entre significativamente en la corriente sanguínea. En contraste, la administración sistémica se refiere a la administración oral, intravenosa, intraperitoneal e intramuscular.

Las formulaciones adecuadas para la administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semilíquidas adecuadas para la penetración a través de la piel hasta el lugar de la inflamación, tales como linimentos, lociones, cremas, ungüentos o pastas, y gotas adecuadas para administración a los ojos, oídos o nariz. El ingrediente activo puede comprender, para la administración tópica, de 0,001% a 10% en peso/peso, por ejemplo de 1% a 2% en peso de la formulación. Sin embargo, comprenderá tanto como 10% en peso/peso, pero preferiblemente comprenderá menos que 5% en peso/peso, más preferiblemente de 0,1% a 1% en peso/peso de la formulación.

Las lociones según la presente invención incluyen aquéllas adecuadas para la aplicación a la piel o a los ojos. Una loción para los ojos puede comprender una disolu-

ción acuosa estéril que opcionalmente contiene un agente bactericida y que se puede preparar mediante métodos similares a los utilizados para la preparación de gotas. Las lociones o linimentos para la aplicación a la piel también
5 pueden incluir un agente para acelerar el secado y para enfriar la piel, tal como un alcohol o acetona, y/o un agente humectante tal como glicerina o un aceite tal como aceite de ricino o aceite de cacahuete.

Las cremas, ungüentos o pastas según la presente invención son formulaciones semisólidas del ingrediente activo para aplicación externa. Se pueden fabricar mezclando el ingrediente activo en forma finamente dividida o en polvo, sólo o en disolución o en suspensión en un fluido acuoso o no acuoso, con la ayuda de maquinaria adecuada, con una base
10 se grasa o no grasa. La base puede comprender hidrocarburos tales como parafina dura, blanda o líquida, glicerina, cera de abejas, un jabón metálico; un mucílago; un aceite de origen natural tal como aceite de almendra, de maíz, de cacahuete, de ricino o de oliva; grasa de lana o sus derivados o un ácido graso tal como ácido esteárico o ácido oleico
15 co junto con un alcohol tal como propilenglicol o un macrogel. La formulación puede incorporar cualquier agente tensioactivo adecuado tal como un tensioactivo aniónico, catiónico o no iónico tal como un éster de sorbitán o uno de sus derivados polioxietilenados. También se pueden incluir
20 agentes de suspensión tales como gomas naturales, derivados de celulosa o materiales inorgánicos tales como sílices silíceas, y otros ingredientes tales como lanolina.

Las gotas según la presente invención pueden comprender disoluciones o suspensiones acuosas u oleosas estériles y se pueden preparar disolviendo el ingrediente activo en una disolución acuosa adecuada de un agente bactericidas y/o fungicidas y/o cualquier otro agente conservante adecuado, y preferiblemente incluyen un agente tensioactivo.
25 La disolución resultante se puede clarificar a continuación por filtración, transferirse a un recipiente adecuado, que a continuación se sella y se estiliza en un autoclave, o se

45

160 167

mantiene a 98-100°C durante media hora. Alternativamente, la disolución se puede esterilizar por filtración y transferirse al recipiente mediante una técnica aséptica. Ejemplos de agentes bactericidas y fungicidas adecuados para

5 incluir en las gotas son el nitrato o el acetato fenilmercuríco (0,002%) cloruro de benzalconio (0,01%) y acetato de clorhexidina (0,01%). Los disolventes adecuados para la preparación de una disolución oleosa incluyen glicerina, alcohol diluido y propilenglicol.

10 Los compuestos de la fórmula (I) se pueden administrar y parenteralmente, esto es por administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, intranasal, intrarectal, intravaginal o intraperitoneal. Generalmente, se prefieren las formas subcutánea e intramuscular de administraciones

15 parenteral. Las formas de dosificación apropiadas para tal administración se pueden preparar mediante técnicas convencionales. Los compuestos de fórmula (I) también se pueden administrar por inhalación, esto es por administración de inhalación intranasal u oral. Las formas de dosificación

20 apropiadas para tal administración, tales como una formulación de aerosol o un inhalador para dosis cuantificadas, se pueden preparar mediante técnicas convencionales.

Para todos los métodos de uso descritos en esta memoria para los compuestos de fórmula (I) el régimen de dosificación diario será preferiblemente desde aproximadamente

25 0,1 a aproximadamente 80 mg/kg de peso total corporal. El régimen de dosificación diaria parenteral será aproximadamente a 0,001 a aproximadamente 80 mg/kg de peso total corporal. El régimen de dosificación tópica diario será preferiblemente de 0,1 mg a 150 mg, administrados de una a cuatro, preferiblemente de dos a tres veces diarias. El régimen de dosificación diaria por inhalación será preferiblemente de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 1

30 mg/kg por día. Un experto en la técnica también reconocerá que la cantidad y el espaciado óptimos de las dosificaciones individuales de un compuesto de fórmula (I) o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables estarán determinadas

44

161 164

por la naturaleza y extensión del estado que se esté tratando, la forma, ruta y lugar de la administración y el paciente particular que se esté tratando, y que tales óptimos se pueden determinar mediante técnicas convencionales. Un experto en la técnica también apreciará que el curso óptimo del tratamiento, es decir, el número de dosis dadas por día de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se puede encontrar por los expertos en la técnica usando procedimientos convencionales de ensayos de determinación de tratamientos.

La invención se describirá ahora con referencia a los siguientes ejemplos biológicos, que son meramente ilustrativos y no se pretende que limiten el alcance de la presente invención.

EJEMPLOS BIOLOGICOS

Los efectos inhibidores de los compuestos de la presente invención sobre las quimioquinas IL-8 y GRO- α se determinaron mediante los siguientes ensayos in vitro.

Ensayos de enlace a receptores:

Se obtuvo [125 I]IL-8 (recombinante humana) de Amersham Corp., Arlington Heights, IL, con una actividad específica de 2000 Ci/mmol. Se obtuvo GRO- α de NEN-New England Nuclear. Todos los demás compuestos químicos son de calidad analítica. Se expresaron individualmente altas concentraciones de receptores IL-8 tipo α y β recombinantes de seres humanos en células de ovarios de hámsters chinos como se describió previamente (Holmes et al., Science, 1991, 253, 1278). Las membranas de ovarios de hámster chinos se homogeneizaron según un protocolo previamente descrito (Haour et al., J. Biol. Chem., 249 pp 2195-2205 (1974), excepto que la disolución amortiguadora de homogeneización se cambió a Tris-HCl 10 mM, MgSO₄ 1 mM, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) 0,5 mM, PMSF (fluoruro de α -toluensulfonilo) 1 mM, Leupeptina 0,5 mg/l, pH 7,5. La concentración de proteínas de la membrana se determinó usando

45

162 / 16

un estuche de microanálisis Pierce Co. Usando albúmina de suero bovino como patrón. Todos los ensayos se realizaron en un formato de placa de 96 micropocillos. Cada mezcla de reacción contenía ^{125}I -IL-8 (0,25 nM) o ^{125}I -GRO- α y 0,5
5 $\mu\text{g/ml}$ de membranas IL-8R α ó 1 $\mu\text{g/ml}$ de membranas de IL-8R β en disoluciones amortiguadoras bis-trispropano 20 mM y Tris-HCl 0,4 mM, pH 8,0, que contenían MgSO_4 1,2 mM, EDTA 0,1 mM, Na 25 mM y CHAPS 0,03%. Además, se añadió un fármaco o compuesto de interés que se había predisoluelto en DMSO
10 hasta alcanzar una concentración final de entre 0,01 nM y 100 μM . El ensayo se inició por adición de ^{125}I -IL-8. Después de 1 hora a temperatura ambiente se cosechó la placa usando un cosechador Tomtec de 96 pocillos sobre una estera filtrante de fibra de vidrio bloqueado con polietilenimina
15 1%/BSA 0,5% y se lavó 3 veces con NaCl 25 mM, Tris-HCl 10 mM, MgSO_4 1 mM, EDTA 0,5 mM, CHAPS 0,03%, pH 7,4. A continuación, el filtro se secó y se realizó el recuento en el contador de centelleo de líquidos Betaplate. En esta memoria al receptor IL-8R α recombinante, o de tipo I, también
20 se le denomina receptor no permisivo y al receptor IL-8R β recombinante, o de tipo II, se le denomina receptor permisivo.

Los compuestos representativos de fórmula (I), ejemplos 1 a 106, exhibieron en este ensayo una actividad inhibidora positiva a concentraciones $\text{IC}_{50} < 30 \mu\text{M}$.
25

Ensayo de quimiotaxia:

Las propiedades inhibidoras in vitro de estos compuestos se determinan en el ensayo de quimiotaxia de neutrófilos que se describe en Current Protocols in Immunology, vol. I, Suppl 1, Unidad 6.12.3, cuya descripción se incorpora en su totalidad a esta memoria por referencia. Se aislaron neutrófilos de sangre de seres humanos como se describe en Current Protocols in Immunology, vol. I, Suppl 1,
30 Unidad 7.23.1, cuya descripción se incorpora en su totalidad a esta memoria por referencia. Las sustancias quimioa-
35

46

trayentes IL-8, GRO α , GRO β , GRO γ y NAP-2 se colocan en la cámara del fondo de una cámara de 48 multipocillos (Neuro Probe, Cabin John, MD) a una concentración entre 0,1 y 100 nM. Las dos cámaras están separadas por un filtro de policarbonato 5 μ M. Cuando se ensayan los compuestos de esta invención, se mezclan con las células (0,001-1000 nM) justo antes de la adición de las células a la cámara superior. Se permite que transcurra la incubación entre aproximadamente 45 y 90 min a aproximadamente 37°C en un incubador humidificado con 5% de CO₂. Al final de período de incubación, se separa la membrana de policarbonato y se lava el lado superior, tiñéndose a continuación la membrana usando el protocolo de tinción Diff Quick (Baxter Products, McGaw Park, IL, EE.UU.). Las células que habían experimentado quimiotaxia a la quimioquina se contaron visualmente usando un microscopio. Generalmente, se contaron cuatro campos para cada muestra, estos números se promedian para dar el número medio de células que habían migrado. Cada muestra se ensayó por triplicado y cada compuesto se repitió al menos cuatro veces. No se añadió ningún compuesto a ciertas células (células testigo positivas). Estas células representan la máxima respuesta quimiotáctica de las células. En los casos en los que se deseaba un testigo negativo (no estimulado) no se añadió ninguna quimioquina a la cámara del fondo. La diferencia entre el testigo positivo y el testigo negativo representa la actividad quimiotáctica de las células.

Ensayo de liberación de la elastasa:

Los compuestos de esta invención se ensayaron respecto a su capacidad para impedir la liberación de la elastasa por neutrófilos de seres humanos. Los neutrófilos se aislaron de sangre de seres humanos como se describe en Current Protocols in Immunology, vol. I, Suppl 1, Unidad 7.23.1. Se colocaron $0,88 \times 10^6$ células PMNs suspendidas en una disolución de Ringer (NaCl 118, KCl 4,56, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1,03, Glucosa 11,1, HEPES 5 mM, pH 7,4) en cada pocillo de una placa de 96 pocillos en un volumen de 50 μ l. A esta

161 162

placa se añadió el compuesto a ensayar (0,001-1000 nM) en un volumen de 50 µl, citocalasina B en un volumen de 50 µl (20 µg/ml) y disolución amortiguadora de Ringers en un volumen de 50 µl. Se permitió que estas células se calentaran (37°C, 5% de CO₂, 95% de HR) durante 5 min antes de que se añadieran IL-8, GROα, GROβ, GROγ y NAP-2 en una concentración final de 0,01-1000 nM. Se permitió que la reacción transcurriera durante 45 min antes de centrifugar (800 x g, 5 min) la placa de 96 pocillos y se separaron 100 µl de sobrenadante. El sobrenadante se añadió a una segunda placa de 96 pocillos seguido por un sustrato artificial de elastasa (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC, Nova Biochem, La Jolla, CA) hasta una concentración final de 6 µg/ml disueltos en una disolución salina tamponada con fosfatos. Inmediatamente la placa se colocó en un lector fluorescente de placas de 96 pocillos (Cytofluor 2350, Millipore, Bedford, MA) y los datos se recogieron a intervalos de 3 min según el método de Nakajima et al J. Biol. Chem. 254, 4027 (1979). La cantidad de elastasa liberada por las PMNs se calculó midiendo la tasa de degradación de MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC.

TNF-α en el Ensayo de lesiones traumáticas del cerebro:

El presente ensayo se proporciona para el examen de la expresión del RNAm del factor de la necrosis tumoral en regiones específicas del cerebro, que sigue experimentalmente a las lesiones traumáticas del cerebro (TBI) en ratas inducidas por la percusión lateral de un fluido. Se anestesiaron ratas adultas Sprague-Dawley (n = 42) con pentobarbital de sodio (60 mg/kg, i.p.) y se sometieron a una lesión del cerebro de moderada gravedad (2,4 atm) por percusión lateral de un fluido centrada en la corteza temporoparietal izquierdo (n = 18), o tratamiento "engañoso" (anestesia y cirugía sin lesiones, n = 18). Los animales se sacrificaron por decapitación a las 1, 6 y 24 h después de la lesión, se separaron los cerebros y se prepararon muestras de tejido

48

de la corteza parietal izquierda (LC) (lesionada), del área correspondiente en la corteza derecha contralateral (RC), la corteza adyacente a la corteza parietal (LA) lesionada, del área correspondiente adyacente en la corteza derecha (RA), el hipocampo izquierdo (LH) y el hipocampo derecho (RH). Se aisló el RNA total y se realizó la hibridación de manchas Northern y se cuantificó en relación a un RNA testigo positivo de TNF- α (macrófago = 100%). Se observó un marcado aumento de la expresión del mRNA del TNF- α en LH (104 $\pm$ 17% de testigo positivo, $p < 0,05$ en comparación con el engañoso), LC (105 $\pm$ 21%, $p < 0,05$) y LA (69 $\pm$ 8%, $p < 0,01$) en el hemisferio traumatizado 1 h después de la lesión. También se observó una expresión acrecentada del mRNA del TNF- α en LH (46 $\pm$ 8%, $p < 0,05$), LC (30 $\pm$ 3%, $p < 0,01$) y LA (32 $\pm$ 3%, $p < 0,01$) a las 6 h que se resuelve tras 24 horas de la lesión. En el hemisferio contralateral, la expresión del mRNA del TNF- α aumentó en RH (46 $\pm$ 2%, $p < 0,01$), RC (4 $\pm$ 3%) y RA (22 $\pm$ 8%) 1h después de la lesión, y en RH (28 $\pm$ 11%), RC (7 $\pm$ 5%) y RA (26 $\pm$ 6%, $p < 0,05$) 6h pero no 24 h después de la lesión. En animales engañados (cirugía sin lesión) o en animales no maleados no se observó ningún cambio consistente en la expresión del mRNA del TNF- α en ninguna de las 6 áreas del cerebro en ningún hemisferio en ningún momento. Estos resultados indican que a continuación de la lesión parasagital del cerebro por percusión de un fluido, se altera la expresión temporal del mRNA del TNF- α en regiones específicas del cerebro, incluyendo las del hemisferio no traumatizado. Puesto que el TNF- α es capaz de inducir al factor del crecimiento de los nervios (NGF) y estimular la liberación de otras citoquinas por astrocitos activados, esta alteración postraumática en la expresión del gen del TNF- α juega un importante papel tanto en la respuesta aguda como regenerativa al traumatismo CNS.

35 **Model de lesiones CNS del mRNA de la IL-1 β**

Este ensayo caracteriza la expresión regional del mRNA de la interleuquina-1 β (IL-1 β) en regiones específicas del cerebro que siguen a las lesiones traumáticas del cerebro (TBI) por percusión lateral de un fluido en ratas. Se anes-

5 tesiaron ratas adultas Sprague-Dawley (n = 42) con pento-
barbital de sodio (60 mg/kg, i.p.) y se sometieron a una
lesión del cerebro de moderada gravedad (2,4 atm) por per-
cusión lateral de un fluido centrada en la corteza tempora-
parietal izquierda (n = 18), o tratamiento "engañoso"

10 (anestesia y cirugía sin lesiones). Los animales se sacri-
ficaron a las 1, 6 y 24 h después de la lesión, se separa-
ron los cerebros y se prepararon muestras de tejido de la
corteza parietal izquierda (LC) (lesionada), del área co-
rrespondiente en la corteza derecha contralateral (RC), la

15 corteza adyacente a la corteza parietal (LA) lesionada, del
área correspondiente adyacente en la corteza derecha (RA),
el hipocampo izquierdo (LH) y el hipocampo derecho (RH). El
RNA total se aisló y se realizó la hibridación de manchas
Northern y la cantidad del mRNA de la IL-1 β del tejido ce-

20 rebral se presentó como el porcentaje de la radioactividad
relativa del RNA macrófago positivo de la IL-1 β que se car-
gó en el mismo gel. Se observó un marcado y significativo
aumento de la expresión del mRNA de la IL-1 β en LC
(20,0 $\pm$ 0,7% de testigo positivo, n = 6, p < 0,05 en compara-

25 ción con un animal engañado), LH (24,5 $\pm$ 0,9%, p < 0,05) y LA
(21,5 $\pm$ 3,1%, p < 0,05) en el hemisferio herido 1 h después
de la lesión en el cerebro, que permaneció elevado hasta
las 6 h después de la lesión en LC (4,0 $\pm$ 0,4%, n = 6, p <
0,05), y LH (5,0 $\pm$ 1,33%, p < 0,05). En animales engañados o

30 en animales no maleados no se observó ninguna expresión del
mRNA de la IL-1 β en ninguna de las áreas respectivas del
cerebro. Estos resultados indican que a continuación de la
TBI se estimula regionalmente la expresión temporal del
mRNA de la IL-1 β en regiones específicas del cerebro. Estos

35 cambios regionales de las citoquinas, tales como la IL-1 β ,
juegan un papel en las lesiones postraumáticas.

167 75

Todas las publicaciones, incluyendo pero no estando limitadas a las patentes y las solicitudes de patentes, citadas en esta memoria descriptiva se incorporan a la misma por referencia como si cada publicación individual fuera
 5 específica e individualmente incorporada por referencia a esta memoria como si se pusiera de manifiesto completamente.

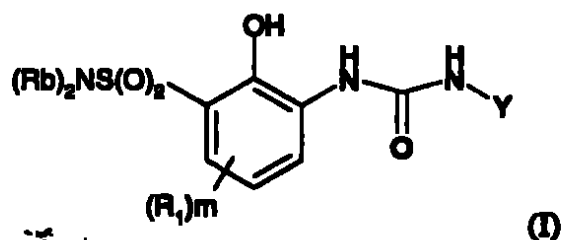
La descripción anterior describe completamente la invención incluyendo sus realizaciones preferidas. Las modificaciones y mejoras de las realizaciones específicamente
 10 descritas en la misma están dentro del alcance de las reivindicaciones siguientes. Sin más elaboración se cree que un experto en la técnica puede, usando la descripción precedente, usar la presente invención en su más completa extensión.
 15 Por lo tanto, los ejemplos de esta memoria se dan con fines meramente ilustrativos y de ninguna manera como una limitación del alcance de la presente invención. Las realizaciones de la invención en las que se reivindica la propiedad o privilegio exclusivo se definen como sigue.

20

51

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



en la que

- 5 R_1 se selecciona independientemente del grupo que consta de hidrógeno, NR_6R_7 , OH, OR_8 , alquilo C_{1-5} , arilo, aril-alquilo C_{1-4} , aril-alquenilo C_{2-4} , cicloalquilo, cicloalquilo-alquilo C_{1-5} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , heteroaril-alquenilo C_{2-4} , heterociclilo, heterociclil-alquilo C_{1-4} y un resto heterociclil-alquenilo C_{2-4} , restos todos que pueden estar opcionalmente sustituidos de una a tres veces independientemente con un sustituyente seleccionado del grupo que consta de halógeno, nitro, alquilo C_{1-4} sustituido con halo, alquilo C_{1-4} , amino, amina mono- o di-
- 10 alquilo C_{1-4} sustituida, OR_8 , $C(O)R_8$, $NR_8C(O)OR_8$, $OC(O)NR_6R_7$, hidroxilo, $NR_8C(O)R_8$, $S(O)_m \cdot R_8$, $C(O)NR_6R_7$, $C(O)OH$, $C(O)OR_8$, $S(O)_2NR_6R_7$ y $NHS(O)_2R_8$; o los dos sustituyentes R_b se unen para formar un anillo de 3-10 miembros, opcionalmente sustituido y que contiene, además de carbono, independiente-
- 15 mente, de 1 a 3 restos opcionalmente sustituidos seleccionados del grupo que consta de NR_8 , O, S, SO y SO_2 ; R_8 se selecciona del grupo que consta de alquilo, arilo, aril-alquilo C_{1-4} , heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4} , heterociclilo, $COOR_8$, y un resto heterociclil-alquilo C_{2-4} , restos todos que pueden estar opcionalmente sustituidos;
- 20 m es un número entero que tiene un valor de 1 a 3;
- 25 m' es 0 o un número entero que tiene un valor de 1 ó 2;
- n es un número entero que tiene un valor de 1 a 3;

q es 0, o un número entero que tiene un valor de 1 a 10;

t es 0, o un número entero que tiene un valor de 1 ó 2;

5 s es un número entero que tiene un valor de 1 a 3;

10 R_1 se selecciona independientemente del grupo que consta de hidrógeno, halógeno, nitro, ciano, alquilo C_{1-10} , alquilo C_{1-10} sustituido con halo, alquenilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} , alcoxi C_{1-10} sustituido con halo, azida, $S(O)_tR_4$, $(CR_8R_9)_qS(O)_tR_4$, hidroxil, alquilo C_{1-4} , hidroxil sustituido, arilo, aril-alquilo C_{1-4} , aril-alquenilo C_{2-10} , ariloxil, aril-alquiloxil C_{1-4} , heteroarilo, heteroarilalquilo, heteroaril-alquenilo C_{2-10} , heteroaril-alquiloxil C_{1-4} , heterocicclilo, heterocicclil-alquilo C_{1-4} , heterocicclil-alquiloxil C_{1-4} , heterocicclil-alquenilo C_{2-10} , $(CR_8R_9)_qNR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_5$, alquenilo $C_{2-10}C(O)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qC(O)NR_4R_{10}$, $S(O)_3R_9$, $(CR_8R_9)_qC(O)R_{11}$, alquenilo $C_{2-10}C(O)R_{11}$, alquenilo $C_{2-10}C(O)OR_{11}$, $(CR_8R_9)_qC(O)OR_{11}$, $(CR_8R_9)_qOC(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNR_4C(O)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qC(NR_4)NR_4R_5$, $(CR_8R_9)_qNR_4C(NR_5)R_{11}$, $(CR_8R_9)_qNHS(O)_2R_{13}$, y 20 $(CR_8R_9)_qS(O)_2NR_4R_5$, o dos restos R_1 conjuntamente pueden formar $O-(CH_2)_nO$ o un anillo saturado o insaturado de 5 a 6 miembros, tal que los restos alquilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo o heterocicclilo pueden estar opcionalmente sustituidos;

25 R_4 y R_5 se seleccionan independientemente del grupo que consta de hidrógeno, alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, aril-alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroaril-alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido, heterocicclilo, y heterocicclil-alquilo C_{1-4} , o R_4 y R_5 junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo de 5 a 7 ② miembros que opcionalmente puede comprender un heteroátomo adicional seleccionado de O, N y S;

35 R_6 y R_7 se seleccionan independientemente del grupo que consta de hidrógeno, alquilo C_{1-4} , heteroarilo, arilo, alquilarilo y alquil C_{1-4} -heteroalquilo; o R_6 y R_7 junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo de 5 a 7 ②

miembros, anillo que opcionalmente puede contener un heteroátomo adicional que se selecciona del grupo que consta de oxígeno, nitrógeno o azufre, y anillo que puede estar opcionalmente sustituido;

- 5 ^(Y) se selecciona del grupo que consta de furano, tiofeno, pirrol, oxazol, imidazol, tiazol, tieno(2,3-b)piridina, pirazol, isoxazol, isotiazol, 1,2,3- o 1,2,4-oxadiazol, 1,2,3- o 1,2,4-triazol, 1,2,3- o 1,2,4-tiadiazol, piridina, piridina-N-óxido, pirimidina, piridazina, pirazina, 1,3,5-
 10 o 1,2,3- o 1,2,4-triazina, 1,2,4,5-tetrazina, indol, benzofurano, indazol, bencimidazol, benzotiazol, quinolina, isoquinolina, cinolina, ftalazina, quinazolina y quinoxalina, restos todos que pueden estar 1-3 veces sustituidos con R₁;

R₈ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

- 15 R₉ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

R₁₀ es alquil de C₁₋₁₀-C(O)₂R₈;

- 20 ^(R₁₁) se selecciona del grupo que consta de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, aril-alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, heteroaril-alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido, heterociclilo opcionalmente sustituido; y heterociclil-alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido; y

- 25 ^(R₁₂) se selecciona del grupo que consta de alquilo C₁₋₄, arilo, aril-alquilo C₁₋₄, heteroarilo, heteroaril-alquilo C₁₋₄, heterociclilo y heterociclil-alquilo C₁₋₄;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

- 30 2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R₁ está sustituido en la posición 4 por un resto atractor de electrones.

3. El compuesto según la reivindicación 2, en el que R₁ es un halógeno, metilo, ciano o nitro.

- 35 4. El compuesto según la reivindicación 3, en el que R₁ es halógeno.

171 174

5. El compuesto según la reivindicación 4, en el que R_1 es independientemente flúor, cloro o bromo.

6. El compuesto según la reivindicación 1, en el que Y está monosustituido en la posición 2' o 3', o está disustituido en la posición 2' ó 3' de un anillo monocíclico.

7. El compuesto según la reivindicación 6, en el que Y es piridina y pirazol.

10

8. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R_b es hidrógeno, alquilo C_{1-4} , o alquilo C_{1-4} sustituido con $C(O)OH$, o $C(O)OR_a$.

15

9. El compuesto según la reivindicación 1, que es:

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(piridin-2-il)urea;

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-cloro-piridin-3-il)urea;

20

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-fenil-1H-1,2,3-triazol-5-il)urea;

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1,3-dimetilpirazol-5-il)urea;

25

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-metilpirazol-5-il)urea; y

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-metil-piridin-3-il)urea

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)urea;

30

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(1-N-óxido-piridin-3-il)urea;

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(2-cloro-1-N-óxido-piridin-3-il)urea;

35

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(3-benziloxitieno[2,3-b]piridin-2-il)urea;

. N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(3-metilisoxazol-4-il)urea;

W

N-(3-aminosulfonil-4-cloro-2-hidroxifenil)-N'-(5-metilisoxazol-4-il)urea.

10. Un compuesto según la reivindicación 9, en el que
5 el compuesto está en su forma de sal de sodio.

11. Un compuesto según la reivindicación 10, en el que el compuesto está en su forma de sal de potasio.

10 12. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 13. Un método para tratar una enfermedad mediada por una quimioquina, en el que la quimioquina se enlaza a un receptor IL-8 α o β en un mamífero, método que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.

20

14. El método según la reivindicación 13, en el que el mamífero está afligido por una enfermedad mediada por una quimioquina seleccionada del grupo que consta de:
psoriasis, dermatitis atópica, osteoartritis, artritis reu-
25 matoide, asma, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, síndrome de angustia respiratoria en adultos, enfermedades inflamatorias de los intestinos, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, apoplejía, choque séptico, esclerosis múltiples, choque endotóxico, sepsis gram negativa, síndrome de choque tóxico, lesiones de reperfusión cardíaca y renal, glomerulonefritis, trombosis, enfermedad injerto co-?
30 ntra receptor, enfermedad de Alzheimer, rechazos de aloinjertos, malaria, restenosis, angiogénesis, aterosclerosis, osteoporosis, gingivitis y liberación no deseada de células
35 del tronco hematopoyético y enfermedades provocadas por virus respiratorios, virus del herpes y virus de la hepatitis, meningitis, fibrosis quística, parto prematuro, tos,

123 210

prurito, disfunciones multiorgánicas, traumatismos, esguin-
ces, torceduras, contusiones, artritis psoriática, herpes,
encefalitis, vasculitis CNS, lesiones traumáticas del cere-
bro, tumores CNS, hemorragia subaracnoide, traumatismo pos-
5 quirúrgico, neumonía intersticial, hipersensibilidad, ar-
tritis inducida por cristales, pancreatitis aguda y cróni-
ca, hepatitis alcohólica aguda, enterocolitis necrotizante,
sinusitis crónica, uveitis, polimiositis, vasculitis, acné,
úlceras gástricas y duodenales, enfermedad celiaca, esofa-
10 gitis, glositis, obstrucción de las vías respiratorias, hi-
persensibilidad de las vías respiratorias, bronconeumonía
obstructiva asociada a neumonía, bronquiectasia, bronconeu-
monía, bronconeumonía obstructiva, bronquitis crónica, car-
diopatía pulmonar, disnea, enfisema, hipercapnea, disten-
15 sión pulmonar, hipoxemia, inflamaciones inducidas por la
hiperoxia, hipoxia, reducción quirúrgica del volumen de los
pulmones, fibrosis pulmonar, hipertensión pulmonar, hiper-
trofia del ventrículo derecho, sarcoidosis, enfermedades de
las vías respiratorias pequeñas, descompensación ventila-
20 ción-perfusión, estertores secos, resfriados y lupus.

25

30

RESUMEN

35 Esta invención se refiere a nuevos compuestos de fór-
mulas (I) a (VII), y a sus composiciones, útiles para el

57

174 ~~22~~

55

tratamiento de enfermedades mediadas por la quimioquina interleuquina-8 (IL-8).

58

125 178

Insert here full name and
address of inventor

El abajo firmado **Katherine Louisa Widdowson y Qi Jon** domiciliados en King of Prussia, Pennsylvania, E.U.A.

Leave blank

Title of Invention

nombró por el presente **Al Dr. Germán Castillo Grau y/o Luis Felipe Castillo Gibsone**

Name and address of
assignee

domiciliados en Bogotá República de Colombia, con dirección en la carrera 6a. No. 11-87, Oficina No. 206 de la misma ciudad, como su representante con poder amplio y suficiente, incluyendo el de recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extra-judiciales, para solicitar y obtener de las oficinas y autoridades nacionales **Antagonistas del Receptor de IL-8**

Amount of consideration, if
any

cuyo título deberá extenderse a **SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION** domiciliada en Filadelfia, Pennsylvania

a quien ha cedido todos sus derechos a la invención anteriormente citada en cuanto se refiere al territorio de Colombia, sin restricción de ninguna clase, mediante el pago de que declara haber recibido. El cesionario firma también el presente en prueba de aceptación de la cesión y nombra igualmente al expresado apoderado como su representante en Bogotá con iguales facultades, y para dar ante dichas oficinas y autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos; formular y firmar descripciones, enmiendas y apelaciones; pagar todos los impuestos y cuotas y efectuar toda clase de pagos determinados por la ley y retirar los mismos si fuere necesario; recibir todos los documentos y valores dando el descargo respectivo; desistir y percibir, llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyere conducentes al resguardo de los intereses del mandante, quien ratifica y confirma por el presente todo cuanto hiciera legalmente dicho apoderado en virtud del presente poder, con plena facultad de sustitución y renovación y de nombrar apoderados judiciales y extra-judiciales y recibir notificaciones.

Place and date of execution

King of Prussia, Pennsylvania, U.S.A. on 20 February 2001


KATHERINE LOUISA WIDDOWSON


QI JIN

Notarize both inventor's
and applicant's signature.
Legalize by Colombian
Consular Officer

The undersigned **KATHERINE LOUISA WIDDOWSON** of 1047 Old Valley Forge Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, United States of America, a citizen of Canada, and **QI JIN** of 649 South Henderson Road, King of Prussia, Pennsylvania 19406, United States of America, a citizen of the People's Republic of China,

hereby appoints Dr. German Castillo Grau, and/or Dr. Alvaro Castillo Grau, and/or Luis Felipe Castillo Gibsone

domiciled in Carrera 13 N° 37-43 Piso 12 in Bogotá Colombia as attorney with ample and sufficient power, including that of receiving notifications and appointing judicial and extra-judicial attorneys, to apply for and obtain from the national offices and authorities Patent of invention for "IL-8 RECEPTOR ANTAGONISTS"

to be issued in the name of **SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION** of One Franklin Plaza, Philadelphia, Pennsylvania 19103, United States of America

to whom assignment has been made of all rights and titles on said invention for the territory of Colombia, without any restriction whatsoever, the consideration for said assignment being the sum of receipt whereof is hereby acknowledged. The assignee also signs this document in acknowledgement of acceptance of said assignment and hereby appoints the above mentioned attorney as his representative in Bogotá with the same faculties; and to take all necessary steps before said offices and authorities for the purpose stated above, to file applications, declarations and claims; to draw and sign specifications, amendments and appeals; to pay all fees and installments and to make all payments required by law and withdraw the same if necessary; to receive all documents and securities issuing receipts therefor, to desist and to receive; to fulfill all other requirements and finally, to use all means which said attorney shall deem proper for the safe guard of the interests of the constituent, who hereby ratifies and confirms all and whatsoever the said attorney shall lawfully do by virtue of these present with full powers of substitution and to receive notifications and to appoint extra-judicial or judicial attorneys. Given and signed at King of Prussia, PA, U.S.A. on 19 February 2001

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

BY: 
Stephen Venetianer
Vice President, Pharmaceuticals
Corporate Intellectual Property

La declaración Notarial a la visita

Notarial acknowledgment on other side

DECLARACION NOTARIAL
(Individuals)

A los días del mes de 2001 comparecí personalmente ante mi Notario Público

a quien(es) doy fe de conocer y me consta que es (son) la(s) persona(s) descrita(s) y firmante(s) del documento que precede, declarando ante mí que otorga(n) el mismo para los fines que en él se expresan.

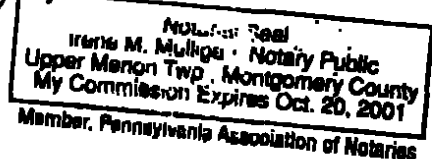
El Notario Público,

NOTARIAL CERTIFICATE
(Individual)

On this 20th day of February, 2001 personally appeared before me, a Notary Public, KATHERINE LOUISA WIDDOWSON and QI JIN,

to me known, and known to me to be the person(s) described in and who executed the foregoing document, and he (they) duly acknowledged to me that he (they) executed same for the uses and purposes therein expressed.

Irene M. Mulligan
Notary Public



(Sociedades)

El infrascrito Notario certifica: que la(s) firma(s) que antecede(n) y dice(n).....

es (son) auténtica(s); que el (los) signatario(s) es (son)

de

que tiene(n) facultad para otorgar este poder; y que dicha compañía exists y está domiciliada en

conforme a las leyes de

Todos los hechos anteriores le constan por haber examinado los documentos respectivos y de todo ello da fe.

Dado y firmado en

a

El Notario Público,

(Corporations)

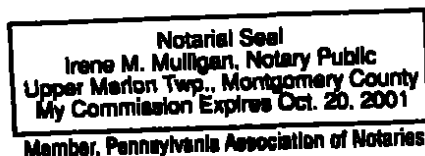
The undersigned Notary Public certifies: that the preceding signature(s) reading Stephen Venetianer is (are) authentic(s); that the signer(s) is (are) Vice President, Pharmaceuticals of SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

and that he (they) is (are) empowered to grant this power; and that said company exists and is domiciled at One Franklin Plaza, Philadelphia, Pennsylvania 19103, United States of America in accordance with the laws of the Commonwealth of Pennsylvania.

All the foregoing facts are known to the Notary who examined the respective documents, to which he, the Notary attests.

Granted and signed in King of Prussia, Pennsylvania, United States of America on this 19th day of February, 2001.

Irene M. Mulligan
Notary Public



126 77

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America
2. This public document has been signed by **Irene M. Mulligan**
3. acting in the capacity of **Notary Public, Montgomery County**
4. bears the seal/stamp **Irene M. Mulligan, Notary Public, Commonwealth of Pennsylvania**

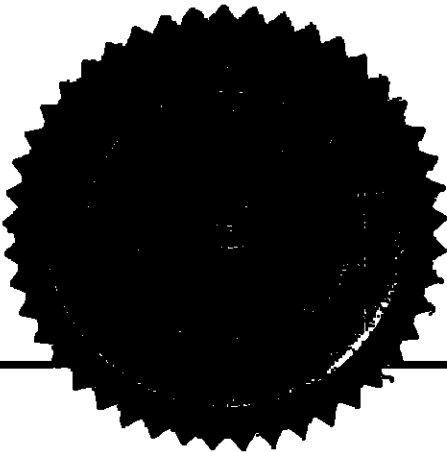
Certified

5. at Harrisburg, Pennsylvania
6. The 3rd day of May, 2001
7. by Kim Pizzingrilli, Secretary of the Commonwealth of Pennsylvania

8. No. 0110610

9. Seal/Stamp

10. Signature:



Kim Pizzingrilli

Kim Pizzingrilli