

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 940012 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 940012

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification

C07D213/42

C07C311/29

C07C317/14

C07C277/06

C07C311/15

C07C311/37

C07D211/38

C07D211/66

C07D215/12

C07D231/22

C07D233/64

C07D277/22

C07D295/15

C07D335/02

C07D401/06

C07D401/12

C07D417/12

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 03.01.1994

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 03.01.1994

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 07.07.1994

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 13.06.2019

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

06.01.1993 US 001136

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Novartis AG, Schwarzwaldallee 215, 4058 BASEL, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • MacPherson, Lawrence J., USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 • Parker, David Thomas, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Oy Jalo Ant-Wuorinen Ab, Iso Roobertinkatu 4 - 6 A, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Aryylisulfonamidsubstituoidut hydroksaamihapot

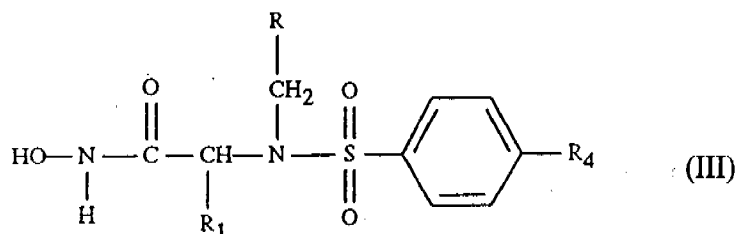
Arylsulfonamidsubstituerade hydroxamsyror

27

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten aryylisulfoniamidosubstituoitujen hydroksaamihappojen valmistamiseksi

5 Tämä keksintö koskee menetelmää kaavan III mukaisten terapeuttisesti käyttökelpoisten aryylisulfoniamidosubstituoitujen hydroksaamihappojen valmistamiseksi

10



jossa kaavassa R tarkoittaa heterosyklistä monosyklistä aryyliä, joka on tiatsolyyli tai pyridyyli, joista kumpikin on substituoimaton tai substituoitu alempialkyyllillä, tai R tarkoittaa fenyylä tai fenyylä, joka on substituoitu alempialkoksilla, mety-
 15 leenidioksilla tai halogeenilla, R₁ tarkoittaa alempialkyyliä, sykloheksyyliä tai R₃-CONH-alempialkyyliä, jossa R₃ tarkoittaa (di-alempialkyyliamino)-alempialkyyliä, ja R₄ tarkoittaa alempialkoksia tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien happoaditiosuolojen valmistamiseksi.

20 Edullinen suoritusmuoto käsittää menetelmän mainittujen kaavan III mukaisten yhdisteiden, joissa R tarkoittaa 2-, 3- tai 4-pyridyyliä tai fenyylä, R₁ tarkoittaa C₁-C₄-alkyyliä, sykloheksyyliä tai R₃-CONH-C₁-C₄-alkyyliä, jossa R₃ tarkoittaa di-C₁-C₄-alkyyliamino-C₁-C₄-alempialkyyliä, ja R₄ tarkoittaa alempialkoksia, tai jonkin niiden farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan valmistamiseksi.

25

Erityisen edullisia ovat mainitut kaavan III mukaiset yhdisteet, joissa R tarkoittaa 3-pyridyyliä tai 4-pyridyyliä, R₁ tarkoittaa isopropyylä tai sykloheksyyliä, ja R₄ tarkoittaa alempialkoksia, tai jokin niiden farmaseuttisesti hyväksyttävä happoadditiosuola.

30

Keksinnön mukaisella menetelmällä voidaan valmistaa erityisesti spesifisiä esimerkeissä kuvattuja yhdisteitä ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä happoadditiosuoloja.

Riippuen substituenttien luonteesta keksinnön mukaisesti valmistetuilla yhdisteillä on yksi tai useampi asymmetrinen hiiliatomi. Saadut diastereoisomeerit ja enantiomeerit kuuluvat tämän keksinnön piiriin.

- 5 Edullisia ovat sellaiset keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet, joissa asymmetrinen hiili yllä esitetyissä kaavoissa (johon hiileen R_1 on kiinnittynyt) vastaa D-aminohappoprekursorin vastaavaa hiiltä ja on (R)-konfiguraatiossa.

- 10 Yleisillä määritelmillä on seuraavat merkitykset tämän keksinnön suojapiirin puitteissa, ellei toisin esitetä.

Edellä ja jäljempänä orgaanisten ryhmien ja vastaavasti yhdisteiden yhteydessä käytetty ilmaus "alempi" tarkoittaa haarautuneita tai haarautumattomia ryhmiä tai yhdisteitä, joissa on 1-7, mielellään 1-4 ja edullisesti 1 tai 2 hiiliatomia.

15

Alempialkyyli ryhmä on haarautunut tai haarautumaton ja sisältää 1-7 hiiliatomia, edullisesti 1-4 hiiliatomia, ja se on esimerkiksi metyyli, etyyli, propyyli, butyyli, isopropyyli tai isobutyyli.

- 20 Alempialkoksi- (tai alkyylioksi-) ryhmä sisältää mielellään 1-4 hiiliatomia, edullisesti 1-3 hiiliatomia, ja se on esimerkiksi etoksi, propoksi, isopropoksi, tai kaikkien edullisimmin metoksi.

Halogeeni (halo) tarkoittaa klooria tai fluoria, mutta voi olla myös bromi tai jodi.

25

Aryyli tarkoittaa karbosyklistä tai heterosyklistä aryyliä.

Edullinen karbosykklisenä aryylinä on fenyyli tai fenyyli, joka on monosubstituoitu alempialkoksilla, metyleenidioksilla tai halogeenilla ja aivan erityisesti fenyyli.

30

Edullisesti heterosyklinen aryyli on pyridyyli tai tiatsolyyli, tai jompi kumpi näistä ryhmistä substituoituna, erityisesti mono- tai disubstituoituna alempialkyyllillä, ja aivan erityisesti pyridyyli.

5

Happamien yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat ovat emästen kanssa muodostettuja suoloja, nimittäin kationisia suoloja, kuten alkali- tai maa-alkali-metallisuoloja, kuten natrium-, litium-, kalium-, kalsium-, magnesium- ja myös ammoniumsuoloja, kuten ammonium-, trimetyyliammonium-, dietyyliammonium- ja tris-(hydroksimetyyli)-metyyliammoniumsuoloja.

10

Samoin happoadditiosuolat, kuten mineraalihappojen, orgaanisten karboksyyli- ja orgaaniset sulfonihappojen, esim. kloorivetyhapon, metaanisulfonihapon ja maleiinihapon suolat ovat myös mahdollisia, edellyttäen että rakenteen osana on emäksinen ryhmä, kuten pyridyyli.

15

Keksinnön mukaisesti valmistetuilla yhdisteillä on arvokkaita farmakologisia ominaisuuksia nisäkkäissä, ihminen mukaan lukien, ja ne ovat erityisen käyttökelpoisia matriksia hajottavien metalloproteinaasientsyymien (=metalloproteinaasien) inhibiittoreina.

20

Matriksia hajottavat metalloproteinaasit, kuten gelatinaasi, stromelysiini ja kollageenaasi, liittyvät kudismatriksin hajoamiseen (esim. kollageenikollapsiin), ja ovat osallisina monissa patologisissa tiloissa, jotka liittyvät epänormaaliin sidekudoksen ja peruskalvon matriksin metaboliaan, kuten niveltulehdukseen (arthritis) (esim. luu-niveltulehdukseen ja nivelreumaan), kudonhaavaumaan (esim. sarveiskalvon, ihon ja mahalaukun haavaumaan), epänormaaliin haavan parantumiseen, hammasta ympäröivän kudoksen sairauteen (ientulehdukseen), luusairauteen (esim. Paget'n tautiin ja osteoporoosiin), tuumorimetastaasiin tai -vaellukseen, samoin kuin HIV-infektioon (kuten on raportoitu J. Leuk. Biol. 52 (2):244-248, 1992).

30

Koska keksinnön mukaisesti valmistetut yhdisteet ovat stromelysiini-, gelatinaasi- ja/tai kollagenaasiaktiivisuuden inhibiittoreita ja inhiboivat matriksin hajoamista, ne ovat erityisen käyttökelpoisia nisäkkäille esim. luu-niveltulehduksen, nivelreuman, sarveiskalvon haavauman, ientulehduksen, tuumorimetastaasien, HIV-infektion etenemisen ja HIV-infektioon liittyvien tautien hoitoon.

Keksinnön mukaisesti valmistettujen yhdisteiden aktiivisuutta matriksia hajottavien metalloproteinaasien inhibiittoreina kuvaa se, että ne estävät eksogeenisen tai endogeenisen stromelysiinin aiheuttaman ruston hajoamisen nisäkkäissä. Ne inhiboivat esim. stromelysiinin indusoiman aggregaation (suuri aggregoituva proteoglykaani), linkkeriproteiinin tai tyypin 1X kollageenin hajoamisen nisäkkäissä.

Edulliset vaikutukset arvioidaan alalla yleisesti tunnetuissa ja tässä kuvatuissa farmakologisissa testeissä.

Yllä mainitut ominaisuudet voidaan osoittaa *in vitro* ja *in vivo* testeissä käyttäen edullisesti nisäkkäitä, esim. rottia, marsuja, koiria, kaneja, tai eristettyjä elimiä ja kudoksia, kuin myös nisäkkäiden entsyymipreparaatteja. Kyseisiä yhdisteitä voidaan antaa *in vitro* liuosten muodossa, esim. edullisesti vesiliuoksina, ja *in vivo* joko enteraalisesti tai parenteraalisesti, edullisesti oraalisesti, esim. suspensiona tai vesiliuoksena. Annostus *in vitro* voi vaihdella konsentraatiovälillä noin 10^{-5} M - 10^{-10} M. Annostus *in vivo* voi vaihdella, riippuen antotavasta, välillä noin 0,1 - 50 mg/kg.

Eräs koe stromelysiiniaktiivisuuden inhibition määrittämiseksi perustuu sen kykyyn hydrolysoida Ainetta P (Substance P) käyttäen muunnettua Harrison *et al.* -menetelmää (Harrison, R.A., Teahan, J. ja Stein, R. A semicontinuous, high performance chromatography based assay for stromelysin, Anal. Biochem. 180, 110-113 (1989). Tässä kokeessa Aine P hydrolysoidaan geeniteknisesti tuotetulla ihmisen stromelysiinillä, jotta saataisiin fragmentti, Aine P 7-11, joka voidaan määrittää kvantitatiivisesti HPLC:llä. Tyypillisessä määrittäyksessä koe yhdisteen 10 mM kantaliuos laimennetaan määrittäyspuskuriin konsentraatioon 50 μ M, sekoitetaan 1:1 8

5 μg :n kanssa ihmisen yhdistelmä-stromelysiiniä (mol.p. 45-47 kDa, 2 yksikköä, jolloin 1 yksikkö tuottaa 20 mmoolia Ainetta P 7-11 30 minuutissa) ja inkuboidaan yhdessä 0,5 mM kanssa Ainetta P lopullisessa tilavuudessa 0,125 ml 30 minuuttia 37 °C:ssa. Reaktio lopetetaan lisäämällä 10 mM EDTA:ta ja Aine P 7-11 määritetään kvantitatiivisesti RP-8-HPLC:llä. IC_{50} stromelysiiniaktiivisuuden inhibitiolle ja K_i lasketaan kontrollireaktiosta ilman inhibiittoria. Tyypillisesti K_i :ksi saadaan 10-200 nM.

10 Stromelysiiniaktiivisuus voidaan määrittää myös käyttäen substraattina ihmisen aggregaania. Tällä määrittelyllä voidaan varmistaa *in vitro* että yhdiste voi inhiboida stromelysiinin vaikutuksen sen voimakkaasti negatiivisesti varattuun luonnolliseen substraattiin, aggregaaniin (suuri aggregoituva proteoglykaani). Rustossa proteoglykaani esiintyy aggregaattina sitoutuneena hyaluronaattiin. Entsyymisubstraattina käytetään ihmisen proteoglykaania aggregoituneena hyaluronaattiin. Määrittäminen suori-
 15 tetaan 96-kuoppaisilla mikrotiitterilevyillä, mikä tekee mahdolliseksi yhdisteiden nopean arvioinnin. Määrittelyssä on kolme päävaihetta:

1) Levyt päällystetään hyaluronaatilla (ihmisen napajänne 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$), blokataan BSA:lla (5 mg/ml) ja sitten proteoglykaani (ihmisen articular cartilage D1, kondroitinaasi ABC digestoituna, 2 mg/ml) sidotaan hyaluronaattiin. Levyt pestään
 20 kunkin vaiheen välillä.

2) Puskurit + inhibiittori (1-5000 nM) + ihmisen yhdistelmä-stromelysiini (1-3 yksikköä/kuoppa) lisätään kuoppiin. Levyt suljetaan teipillä ja inkuboidaan yön yli
 25 37 °C:ssa. Sitten levyt pestään.

3) Primääristä (3B3) vasta-ainetta (hiiren IgM, 1:10000) käytetään loppufragmenttien detektoimiseksi. Sekundäärinen vasta-aine, peroksididaasikytketty anti-IgM, sitoutuu primääriseen vasta-aineeseen. OPD:tä lisätään sitten peroksidaasin substraatiksi ja reaktio lopetetaan rikkihapolla. IC_{50} -arvo stromelysiiniaktiivisuuden
 30 inhibitiolle määritetään graafisesti ja K_i lasketaan.

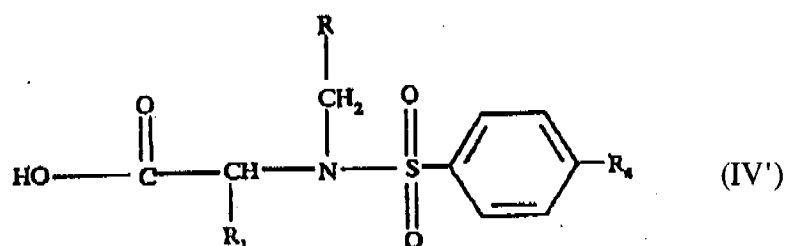
- Kollagenaasiaktiivisuus määritetään seuraavasti: 96-kuoppaiset tasapohjaiset mikrotiitterilevyt päällystetään ensin naudan tyypin I kollageenilla (35 μg /kuoppa) yli kahden päivän ajaksi 30 °C:ssa kostutetussa ja sitten kuivassa ympäristössä; levyt huuhdotaan, ilmakeivataan 3-4 tuntia, suljetaan Saran-kalvolla ja säilytetään jääkaapissa. Ihmisen yhdistelmä-fibroplastikollagenaasi ja koeyhdiste (tai puskuri) lisätään kuoppiin (kokonaistilavuus = 0,1 ml) ja levyjä inkuboidaan 2 tuntia 35 °C:ssa kostutetuissa olosuhteissa, kuoppaa kohti käytetty kollagenaasimäärä on sellainen, joka aikaansaa suunnilleen 80% kollageenin maksimaalisesta digestiosta. Inkubointialustat poistetaan kuopista, jotka sitten huuhdotaan puskurilla, ja sen jälkeen vedellä. Coomassie-sinistä lisätään kuoppiin 25 minuutiksi, poistetaan, ja kuopat huuhdotaan taas vedellä. Lisätään kaliundodekyylisulfaattia (20% 50%:isessa dimetyyliformamidissa vedessä) jäljellä olevan värjäytyneen kollageenin liuottamiseksi, ja optinen tiheys 570 nm:n aallonpituudella mitataan. Kollagenaasin aiheuttama optisen tiheyden pienenemistä (verrattuna kollageenin optiseen tiheyteen ilman entsyymiä) verrataan koeyhdisteen läsnäollessa olevan entsyymin optisen tiheyden pienenemiseen, ja lasketaan entsyymiaktiivisuuden prosenttinen inhibitio. IC_{50} :t määritetään inhibitiokonsentraatioiden sarjasta (4-5 konsentraatiota, kukin testataan kolmena rinnakkaisena), ja K_i -arvot lasketaan.
- Yhdisteiden vaikutus *in vivo* voidaan määrittää kaneilla. Tyypillisesti kaneille annetaan oraalisesti yhdistettä vähintään neljä tuntia ennen kuin niille injektoidaan nivellensisäisesti kumpaankin polveen (N = 8) 40 yksikköä ihmisen yhdistelmä-stromelysiiniä liuotettuna liuokseen, jossa on 20 mM Tris, 10 mM CaCl_2 ja 0,15 M NaCl pH:ssa 7,5. Kahden tunnin kuluttua kanit tapetaan, nivelvoiteen huuhteluneste kerätään ja voiteeseen vapautuneet kerataanisulfaatti (KS) ja sulfatoitu glykosaminoglykaani (S-GAG) -fragmentit määritetään kvantitatiivisesti. Kerataanisulfaatti mitataan inhibitio-ELISA:lla käyttäen Thonarin menetelmää (Thonar, E.-J.-M.A., Lenz, M.E., Klinsworth, G.K., Caterson, B., Pachman, L.M., Glickman, P., Katz, R., Huff, J., Keuttner, K.E. Quantitation of keratan sulfate in blood as a marker of cartilage catabolism, *Arthr. Rheum.* 28, 1367-1376 (1985)). Sulfatoidut glykosaminoglykaanit mitataan digestoimalla ensin nivelvoiteen huuhteluneste streptomyykeeteistä saadulla hyaluronidaasilla ja mitataan sitten DMB-värisitoutumisella

käyttäen Goldbergin menetelmää (Goldberg, R.L. ja Kolibas, L. Improved method for determining proteoglycan synthesized by chondrocytes in culture. Connect. Tiss. Res. 24, 265-275 (1990)). Intravenoosista tutkimusta varten yhdistettä annetaan 5 ml:ssa väkevöityä maissitärkkelystä kiloa kohti kehon painoa.

5

Kaavan III mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa kondensoimalla kaavan IV' mukainen karboksyylihapo

10



15

tai sen reaktiivinen funktionaalinen johdannainen, jossa kaavassa R, R₁ ja R₄ tarkoittavat samaa kuin edellä, kaavan V mukaisen hydroksyyliamiinin kanssa



20

joka on mahdollisesti suojatussa muodossa, tai sen suolan kanssa,

ja, tarvittaessa poistamalla mahdollinen suojaryhmä ja/tai muuttamalla saatu yhdiste vastaavaksi happoadditiosuolaksi.

25

Lähtöaineissa ja välituotteissa, jotka muutetaan keksinnön mukaisiksi yhdisteiksi tässä kuvatulla tavalla, läsnäolevat funktionaaliset ryhmät, kuten amino-, karboksyyli- tai hydroksiryhmät suojataan haluttaessa tavanomaisilla suojaryhmillä, jotka ovat tavallisia preparatiivisessa orgaanisessa kemiassa. Suojatut amino-, karboksyyli- ja hydroksiryhmät ovat sellaisia, jotka voidaan muuttaa miedoissa olosuhteissa vapaaksi amino- ja hydroksiryhmiksi ilman että molekyyli rakenne tuhoutuu tai että tapahtuu ei-toivottuja sivureaktioita.

30

Suojaryhmien käytön tarkoitus on suojata funktionaaliset ryhmät reaktiokomponenttien kanssa tapahtuvilta ei-toivotuilta reaktioilta halutun kemiallisen muutoksen suorittamiseksi käytetyissä olosuhteissa. Alan asiantuntija tietää onko suojaryhmien käyttö tietyssä reaktiossa tarpeen, ja mitä ryhmää kussakin reaktiossa on käytettävä, ja suojaryhmän laatu riippuu suojattavan funktionaalisen ryhmän luonteesta (hydroksiryhmä, aminoryhmä, jne.), sen molekyylin rakenteesta ja stabiilisuudesta, jonka osa substituentti on, ja reaktio-olosuhteista.

Hyvin tunnettuja suojaryhmiä, jotka täyttävät nämä kriteerit, ja niiden liittämistä ja poistoa on kuvattu esimerkiksi julkaisussa J.F.W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Lontoo, New York, 1973 ja T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, New York, 1991.

Tässä kuvatussa menetelmässä karboksyylihappojen reaktiivisia funktionaalisia johdannaisia ovat esimerkiksi niiden anhydritit, erityisesti seosanhydritit, happohalidit, happoatsidit, alempialkyyliesterit ja aktivoituneet esterit. Seosanhydritit ovat edullisesti pivaliinihapon seosanhydrideitä, tai hiilihapon alempialkyyli (etyyli, isobutyyl) hemiestereitä, happohalidit ovat esimerkiksi klorideita tai bromideita, aktivoituneet esterit esim. sukkinimido-, ftaali-imido- tai 4-nitrofenyyliestereitä, alempialkyyliesterit ovat esimerkiksi metyyli- tai etyyliestereitä.

Alkoholin reaktiivinen esteröity johdannainen missä tahansa tässä kuvatussa menetelmässä on mainittu alkoholi esteröitynä voimakkaalla hapolla, erityisesti voimakkaalla epäorgaanisella hapolla, kuten halogeenivetyhapolla, erityisesti kloorivety-, bromivety- tai jodivetyhapolla tai rikkihapolla, tai voimakkaalla orgaanisella hapolla, erityisesti voimakkaalla orgaanisella sulfonihapolla, kuten alifaattisella tai aromaattisella sulfonihapolla, esimerkiksi metaanisulfonihapolla, 4-metyyli-bentseenisulfonihapolla tai 4-bromibentseenisulfonihapolla. Mainittu reaktiivinen esteröity johdannainen on erityisesti halogeeni, esimerkiksi kloori, bromi tai jodi, tai alifaattisesti tai aromaattisesti substituoitu sulfonyylioksi, esimerkiksi metaanisulfonyylioksi, 4-metyyli-bentseenisulfonyylioksi (tosyylioksi).

Yllä mainitut menetelmät kaavan III mukaisten yhdisteiden syntetisoimiseksi voidaan suorittaa menetelmillä, jotka on alalla yleisesti tunnettu hydroksaamihappojen ja niiden johdannaisten valmistamiseksi.

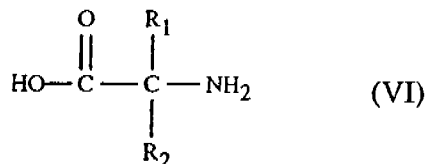
- 5 Yllä mainitun menetelmän mukainen synteesi (jossa kondensoidaan kaavan IV' mukainen karboksyylihappo kaavan V mukaisen mahdollisesti hydroksisuojatun hydroksyyliamiinijohdannaisen kanssa) voidaan suorittaa kondensoivan aineen, esimerkiksi 1,1'-karbonyyli-di-imidatsolin tai N-(dimetyyliaminopropyli)-N'-etyyli-karbodi-imidin tai disykloheksyylikarbodi-imidin läsnäollessa 1-hydroksibentsotriat-
- 10 solin kanssa tai ilman sitä inertissä polaarissa liuottimessa, kuten dimetyyliformamidissa tai dikloorimetaanissa, edullisesti huoneenlämmössä.

- Synteesi, jossa kondensoidaan kaavan IV' mukaisen hapon reaktiivinen funktionaalinen johdannainen, esim. happokloridi tai seosanhidridi mahdollisesti hydrok-
- 15 sisuojatun hydroksyyliamiinin tai sen suolan kanssa, emäksen, kuten trietyyliamiinin läsnäollessa, voidaan suorittaa lämpötilassa, joka on edullisesti välillä -78°C - $+75^{\circ}\text{C}$, inertissä orgaanisessa liuottimessa, kuten dikloorimetaanissa tai tolueenis-

- 20 (Kaavan V mukaisen) hydroksyyliamiinin suojatut muodot yllä mainitussa menetelmässä ovat sellaisia, joissa hydroksiryhmä on suojattu esimerkiksi t-butyylieetterinä, bentsyylieetterinä tai tetrahydropyranyylieetterinä. Tällaisten suojaryhmien poisto suoritetaan alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä, esim. hydraamalla tai happolla hydrolysoimalla. Hydroksyyliamiini valmistetaan edullisesti *in situ* hydrok-
- 25 syyliamiinisulasta, kuten hydroksyyliamiinihydrokloridista.

Lähtöaineena käytetyt kaavan IV' mukaiset karboksyylihapot voidaan valmistaa seuraavasti:

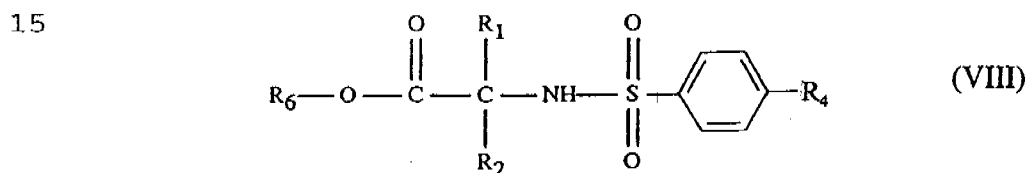
- 30 Kaavan VI mukainen aminohappo



- jossa kaavassa R_1 tarkoittaa samaa kuin edellä ja R_2 tarkoittaa vetyä, esteröidään ensin alempialkanolilla, esim. metanolilla, esim. tionyylikloridin läsnäollessa, jolloin saadaan aminoesteri, joka käsitellään sopivan kaavan VII mukaisen aryy-
- 5 lissulfonihapon reaktiivisella funktionaalisella johdannaisella



- 10 jossa R_4 tarkoittaa samaa kuin edellä, esim. aryyllisulfonyylikloridilla, sopivan emäksen, kuten trietyyliamiinin läsnäollessa käyttäen polaarista liuotinta, kuten tetrahydrofuraania, tolueenia tai asetonitriiliä, jolloin saadaan kaavan VIII mukainen yhdiste



- 20 jossa kaavassa R_1 , R_2 ja R_4 tarkoittavat samaa kuin edellä ja R_6 on suojaryhmä, esim. alempialkyyli. Se käsitellään kaavan IX mukaisen alkoholin reaktiivisella esteröidyllä johdannaisella



- 25 jossa kaavassa R tarkoittaa samaa kuin edellä, kuten halogenidi-, esim. kloridi-, bromidi- tai jodidijohdannaisella, sopivan emäksen, kuten kaliumkarbonaatin tai natriumhydridin läsnäollessa, polaarisisessa liuottimessa, kuten dimetyyliformamidissa. Saatu yhdiste, joka vastaa kaavan IV' mukaisen yhdisteen esterää, voidaan
- 30 sitten hydrolysoida kaavan IV' mukaiseksi hapoksi käyttäen esterihydrolyysin mietoja vakiomenetelmiä, edullisesti happamissa olosuhteissa.

Kaavojen VI, VII ja IX mukaiset lähtöaineet ovat joko alalla tunnettuja tai ne voidaan valmistaa alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä tai tässä kuvatuilla menetelmillä.

- 5 Yllä mainitut reaktiot suoritetaan standardimenetelmillä laimentimien läsnäollessa tai ilman niitä, edullisesti sellaisten, jotka ovat inerttejä reagenssien suhteen ja ovat niiden liuottimia, katalyyttien läsnäollessa tai ilman niitä, kondensoivien tai vastaa-
- 10 vasti muiden mainittujen aineiden läsnäollessa tai ilman niitä ja/tai inertissä atmosfäärissä, alhaisissa lämpötiloissa, huoneenlämmössä tai korotetuissa lämpötiloissa (edullisesti käytettyjen liuottimien kiehumislämpötilassa tai lähellä sitä), ja ilmake-
- hän tai superilmakehän paineessa. Edullisia liuottimia, katalyyttejä ja reaktio-olosuhteita on kuvattu oheisissa suoritusesimerkeissä.

- Keksintö sisältää edelleen minkä tahansa tässä esitetyn menetelmän muunnoksen,
- 15 jossa missä tahansa sen vaiheessa saatua välituotetta käytetään lähtöaineena, ja suoritetaan jäljellä olevat vaiheet, tai jossa prosessi keskeytetään missä tahansa sen vaiheessa, tai jossa lähtöaineet muodostetaan *in situ* reaktio-olosuhteissa, tai jossa reaktiokomponentteja käytetään suolojensa tai optisesti puhtaiden antipodiensa muodossa.

- 20 Yhdisteet ja välituotteet voidaan myös valmistaa toisikseen alalla yleisesti tunnetuilla menetelmillä.

- Riippuen lähtöaineiden ja menetelmien valinnasta uudet yhdisteet voivat olla jonkin
- 25 mahdollisen isomeerin tai niiden seosten muodossa, esimerkiksi olennaisesti puhtaina geometrisina (cis tai trans) isomeereina, optisina isomeereina (antipodit), rasemaatteina tai niiden seoksina.

- Mikä tahansa saatu isomeeriseos voidaan erottaa aineosien fysikaalis-kemiallisten
- 30 erojen perusteella puhtaksi geometrisiksi tai optisiksi isomeereiksi, diastereoisomeereiksi tai rasemaateiksi, esimerkiksi kromatografisesti ja/tai jakokiteytyksellä.

Mikä tahansa saatu lopputuotteen rasemaatti tai välituote voidaan erottaa optisiksi antipodeiksi tunnetuilla menetelmillä, esim. erottamalla niiden diastereoisomeeriset suolat, jotka on saatu optisesti aktiivisen hapon tai emäksen kanssa, ja vapauttamalla optisesti aktiivinen hapon tai emäksinen yhdiste. Hydroksaamihapot tai karboksyylihappovälituotteet voidaan siten erottaa optisiksi antipodeikseen esim. d- tai l-(α -metyyli-bentsyyliamiini, kinkonidiini, kinkoniini, kiniini, kinidiini, efedriini, dehydroabietyyliamiini, brusiini tai strykniini)-suolojen jakokiteytyksellä.

Lopuksi happamat yhdisteet saadaan joko vapaassa muodossa tai suolansa muodossa.

Happamat yhdisteet voidaan muuttaa suoloikseen farmaseuttisesti hyväksyttävillä emäksillä, esim. vesipitoisella alkalimetallihydroksidilla, edullisesti eetterisen tai alkoholisen liuottimen, kuten alempialkanolin läsnäollessa. Jälkimmäisten liuoksista suolat voidaan saostaa eettereillä, esim. dietyylieetterillä. Saadut suolat voidaan muuntaa vapaiksi yhdisteiksi käsittelemällä hapoilla. Näitä tai muita suoloja voidaan myös käyttää saatujen yhdisteiden puhdistukseen.

Koska vapaat yhdisteet ja suolojensa muodossa olevat yhdisteet ovat läheisessä suhteessa, milloin tahansa kun yhdisteisiin viitataan, tarkoitetaan myös vastaavaa suolaa, mikäli se on mahdollista tai sopivaa kyseisissä olosuhteissa.

Yhdisteet, samoin kuin niiden suolat, voidaan valmistaa myös hydraatteina, tai niiden kiteytykseen voidaan käyttää muita liuottimia.

Keksinnön mukaisesti valmistettuja yhdisteitä sisältävät farmaseuttiset koostumukset ovat sellaisia, jotka soveltuvat enteraaliseen, kuten oraaliseen tai rektaaliseen, transdermaaliseen ja parenteraaliseen antoon nisäkkäille, ihminen mukaan lukien, käytettäväksi inhiboimaan matriksia hajottavia metalloproteinaaseja, ja hoitamaan sen aiheuttamia sairauksia, ja sisältävät tehokkaan määrän farmakologisesti aktiivista kaavan III mukaista yhdistettä, yksin tai yhdistelmänä, yhden tai useamman farmaseuttisesti hyväksyttävän kantoaineen kanssa.

Keksinnön mukaisesti valmistetut farmakologisesti aktiiviset yhdisteet ovat käyttökelpoisia farmaseuttisten koostumusten valmistuksessa, jotka sisältävät tehokkaan määrän ainetta yhdessä tai seoksena joko enteraaliseen tai parenteraaliseen antoon sopivien täyteaineiden tai kantoaineiden kanssa. Edullisia ovat tabletit ja gelatiinikapselit, jotka sisältävät aktiivisen aineosan yhdessä a) laimentimien, esim. laktoosin, dekstroosin, sakkaroosin, mannitolin, sorbitolin, selluloosan ja/tai glysiinin kanssa, b) voiteluaineiden, esim. piihapon, steariinihapon, sen magnesium- tai kalsiumsuolojen ja/tai polyetyleeniglykolin kanssa, tabletteja varten myös c) sidonta-aineiden, esim. magnesiumaluminiumsilikaatin, tärkkelyspastan, liivatteen, tragantin, metyyliiselluloosan, natriumkarboksimeyyliiselluloosan ja/tai polyvinyylipyrrolidonin kanssa, haluttaessa d) hajotusaineiden, esim. tärkkelysten, agarin, algiinihapon tai sen natriumsuolan kanssa, tai kuohuseosten ja/tai e) absorboivien aineiden, väriaineiden, makuaineiden ja makeutusaineiden kanssa. Injektoitavat koostumukset ovat mieluiten vesipitoisia isotonisia liuoksia tai suspensioita, ja peräpuikot valmistetaan edullisesti rasvaemulsioista tai -suspensioista. Mainitut koostumukset voidaan steriloida ja/tai ne voivat sisältää apuaineita, kuten säilöntä-, stabilointi-, kostutus- tai emulgointiaineita, liukenemista edistäviä aineita, suoloja osmoottisen paineen säätämiseksi ja/tai puskureita. Lisäksi ne voivat myös sisältää muita terapeuttisesti arvokkaita aineita. Mainitut koostumukset valmistetaan tavanomaisilla sekoitus-, granulointi- tai vastaavasti päällystysmenetelmillä, ja ne sisältävät noin 0,1 - 75 %, edullisesti noin 1 - 50 % aktiivista aineosaa.

Sopivat valmisteet transdermaaliseen antoon sisältävät tehokkaan määrän kaavan III mukaista yhdistettä kantoaineen kanssa. Edullisia kantoaineita ovat absorboituvat farmakologisesti hyväksyttävät liuottimet, jotka auttavat aineen imeytymistä isännän ihon läpi. Luonteenomaisesti transdermaaliset välineet ovat siteen muodossa, joka sisältää taustaosan, säiliön, joka sisältää yhdisteen mahdollisesti kantoaineiden kanssa, mahdollisesti imeytymisnopeutta säätelevän esteen, jolloin isäntä saa yhdistettä ihonsa läpi säädellyllä ja ennalta määrätyllä nopeudella pidemmän ajan ku-
luessa, ja välineet, jotka kiinnittävät välineen iholle.

Sopivia valmisteita tooppiseen antoon, esim. iholle ja silmiin, ovat edullisesti vesipitoiset liuokset, salvat, voiteet tai geelit, jotka tunnetaan alalla hyvin.

5 Farmaseuttiset koostumukset sisältävät tehokkaan matriksia hajottavaa metalloproteinaasia inhiboivan määrän yllä määriteltä kaavan III mukaista yhdistettä joko yksin tai yhdessä toisen terapeuttisen aineen, esim. anti-inflammatorisen aineen kanssa, jolla on syklo-oksigenaasia inhiboiva aktiivisuus, ja kumpikin tekokkaana terapeuttisena annoksena, kuten alalla on esitetty. Tällaiset terapeuttiset aineet ovat alalla hyvin tunnettuja.

10

Esimerkkejä anti-inflammatorisista aineista, joilla on syklo-oksigenaasia inhiboiva aktiivisuus, ovat natriumdiklofenaakki, naprokseeni, ibuprofeeni ja vastaavat.

15 Toisen aktiivisen aineosan kanssa annettaessa keksinnön mukainen yhdiste voidaan antaa joko samanaikaisesti, ennen tai jälkeen toisen aktiivisen aineosan, joko erikseen samalla tai eri antotavalla tai yhdessä samassa farmaseuttisessa valmisteessa.

20 Annetun aktiivisen yhdisteen annostus riippuu lämminverisen eläimen (nisäkkään) lajista, kehon painosta, iästä ja yksilöllisestä tilasta, ja antomuodosta. Yksikköannos 50 - 70 kg painavalle nisäkkäälle suun kautta annettavaksi voi olla välillä noin 25 - 250 mg aktiivista aineosaa.

25 Seuraavien esimerkkien on tarkoitus kuvata keksintöä, eikä niiden pidä katsoa rajoittavan sitä. Lämpötilat on annettu Celsiusasteina. Ellei toisin ole mainittu, kaikki haihdutukset suoritetaan alipaineessa, mieluiten välillä noin 15 - 100 mmHg (= 20-133 mbar). Lopputuotteiden, välituotteiden ja lähtöaineiden rakenne varmenetaan analyttisillä standardimenetelmillä, esim. mikroanalyysillä ja spektroskooppisilla ominaisuuksilla (esim. MS, IR, NMR). Käytetyt lyhenteet ovat alalla tavomaisia.

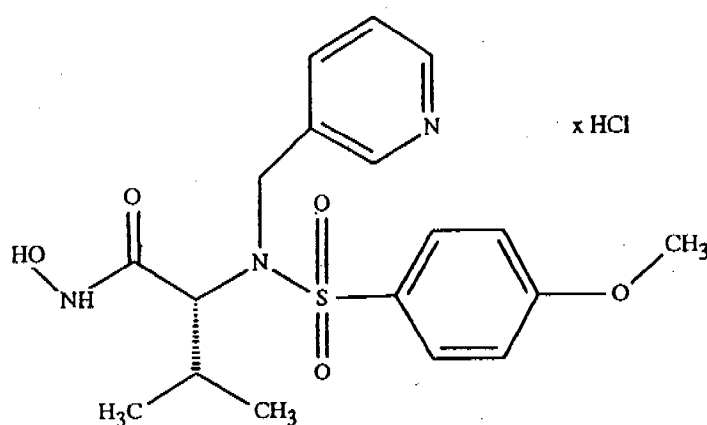
30

Esimerkki 1: N-(t-butylioksi)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutaaniamidi (4,1 g, 9,13 mmol) liuotetaan dikloorietaaniin (150

ml), joka sisältää etanolia (0,53 ml, 9,13 mmol) pyöreäpohjaisessa kolvissa, ja reaktio jäädytetään -10 °C:seen. Kloorivetyhappokaasua (lecture-pullosta) kuplitaan sen läpi 30 minuuttia. Reaktioastia suljetaan, sen annetaan hitaasti lämmetä huoneenlämpöön, ja sitä sekoitetaan kaksi päivää. Liuotin vähennetään 1/3 tilavuuteen haihduttamalla ja trituroidaan eetterin kanssa. Seos suodatetaan, suodatinkakku poistetaan ja kuivataan tyhjössä, jolloin saadaan N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutaaniamidi-hydrokloridi valkeana kiinteänä aineena, sul.p. 169-170 °C (haj.), ja sillä on seuraava rakenne

10

15



Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

20

D-valiinin (15,0 g, 128,0 mmol) liuokseen 1:1 dioksaani/vedessä (200 ml), joka sisältää trietyyliamiinia (19,4 g, 192,0 mmol), lisätään huoneenlämmössä 4-metoksibentseenisulfonyylikloridia (29,0 g, 141,0 mmol), ja reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämmössä yli yön. Seos laimennetaan sitten metyleenikloridilla, pestään 1N kloorivetyhapon vesiliuoksella ja vedellä. Orgaaninen kerros pestään vielä kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan, jolloin saadaan N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-(D)-valiini raakatuotteena. Tämän raakatuotteen (15,0 g) liuos tolueenissa (100 ml), joka sisältää N,N-dimetyyliformamidi-di-t-butyylasetaalia (50 ml, 206,5 mmol), kuumennetaan 95 °C:ssa 3 tuntia. Sitten liuotin haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan piihappogeelikromatografialla (30 % etyyliasetatti/heksaanit), jolloin saadaan N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-(D)-valiini-t-butyylisteri.

- Liuokseen, jossa on N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-(D)-valiini-t-butyyliesteriä (4,38 g, 13,0 mmol) dimetyyliformamidissa (200 ml), lisätään 3-pikolylikloridi-hydrokloridia (2,3 g, 14,0 mmol) ja sen jälkeen kaliumkarbonaattia (17,94 g, 130,0 mmol). Reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämmössä kaksi päivää. Seos
- 5 laimennetaan sitten vedellä ja uutetaan etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset uut-
teet pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdute-
taan. Raakatuote puhdistetaan piihappogeelikromatografialla (etyyliasetaatti), jolloin
saadaan t-butyyli-2(R)-[N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-(3-pikolyyli)amino]-3-
metyylibutanoaatti.
- 10 t-butyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutano-
aatti (5,3 g, 12,2 mmol) liuotetaan metyleenikloridiin (150 ml) ja jäähdytetään -10
 $^{\circ}\text{C}$:seen. Kloorivetyhappokaasua kuplitetaan liuokseen 10 minuutin ajan. Sitten
reaktioseos suljetaan, lämmitetään huoneenlämpöön ja sekoitetaan 4 tuntia. Sitten
- 15 liuotin haihdutetaan, jolloin saadaan 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-piko-
lyyli)amino]-3-metyylibutaanihappo-hydrokloridi.
- 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutaanihappo-
hydrokloridia (5,0 g, 12,06 mmol), 1-hydroksibentsotriatsolia (1,63 g, 12,06
20 mmol), 4-metyylimorfoliinia (6,6 ml, 60,31 mmol) ja O-t-butyylihydroksyy-
liamiinihydrokloridia (54,55 g, 36,19 mmol) liuotetaan metyleenikloridiin (200
ml). Lisätään N-[dimetyyliaminopropyli]-N'-etyyli-karbodi-imidihydrokloridia
(3,01 g, 15,68 mmol), ja reaktiota sekjoitetaan yli yön. Reaktio laimennetaan sitten
vedellä ja uutetaan metyleenikloridilla. Yhdistetyt orgaaniset tuotteet pestään kylläs-
25 tetyllä suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan. Raakatuote
puhdistetaan piihappogeelikromatografialla (2% metanoli/metyleenikloridi), jolloin
saadaan N-(t-butyylioni)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)-amino]-
3-metyylibutaaniamidi.
- 30 (b) L-viinihapon suola, sul.p. $114-116^{\circ}\text{C}$.
- (c) Metaanisulfonihapon suola, sul.p. $139-141,5^{\circ}\text{C}$.

(d) Maleiinihapon suola, sul.p. 133-134 °C.

Esimerkki 2: Seuraavat yhdisteet valmistetaan esimerkin 1 mukaisesti:

5 (a) N-hydroksi-2(S)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyyli-
libutaaniamidihydrokloridi, sul.p. 170,5-171 °C, jolloin synteesi aloitetaan L-va-
liinilla, ja seuraavat vaiheet suoritetaan kuten yllä on kuvattu.

10 (b) N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-4-metyyli-
lipentaaniamidihydrokloridi, sul.p. 128-129 °C.

Kaksi ensimmäistä vaihetta suoritetaan kuten esimerkissä 1 on kuvattu, paitsi että
synteesi aloitetaan D-leusiinilla. Alkylointivaihe on erilainen, kuten alla kuvataan.

15 Liuokseen, jossa on t-butyyl-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli]amino]-4-metyyli-
pentanoaattia (10,0 g, 27,92 mmol) dimetyyliformamidissa (250 ml) lisätään hu-
oneenlämmössä 3-pikolylikloridihydrokloridia (4,81 g, 29,32 mmol), ja sen jälkeen
natriumhydridiä (2,79 g, 69,80 mmol, 60% öljyssä). Reaktioseosta sekoitetaan
huoneenlämmössä 48 tuntia. Seos sammutetaan vedellä ja uutetaan etyyliasetaatilla.

20 Yhdistetyt orgaaniset uutteet pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan
(Na₂SO₄), ja liuotin haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan piihappogeelikroma-
tografialla (45 % etyyliasetaatti/heksaaneita), jolloin saadaan t-butyyl-2(R)-[[4-
metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-4-metyylipentanoaatti.

25 Kaikki seuraavat vaiheet suoritetaan samoin kuin yllä esimerkissä 1 on kuvattu.

(c) N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](6-klooripiperonyyli)amino]-4-
metyylipentaaniamidi, sul.p. 85-87 °C, jolloin synteesi aloitetaan D-leusiinilla ja
alkyloidaan 6-klooripiperonylikloridilla (= 6-kloori-3,4-metyleenidioksi-bentsyyli-
30 kloridi) kolmannessa vaiheessa.

- (d) N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](piperonyyli)amino]-4-metyylipentaaniamidi, sul.p. 145-147 °C, jolloin synteesi aloitetaan D-leusiinilla ja alkyloidaan piperonyylikloridilla (= 3,4-metyleenidioksi-bentsyylikloridi) kolmannessa vaiheessa.
- 5 (e) N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](2-pikolyyli)amino]-4-metyylipentaaniamidi, sul.p. 89-90 °C, jolloin synteesi aloitetaan D-leusiinilla ja alkyloidaan 2-pikolyylikloridilla kolmannessa vaiheessa.
- 10 (f) N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](2-pikolyyli)amino]-3-metyyllibutaaniamidihydrokloridi, sul.p. 140-142 °C, jolloin synteesi aloitetaan D-valiiniilla ja alkyloidaan 2-pikolyylikloridilla kolmannessa vaiheessa.
- 15 (g) N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-4,4-dimetyylipentaaniamidihydrokloridi, sul.p. 130-150 °C (hidas sulaminen), jolloin synteesi aloitetaan D-t-butyylialaniinilla ja alkyloidaan 3-pikolyylikloridilla kolmannessa vaiheessa.
- 20 (h) N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-2-sykloheksyyliasetamidihydrokloridi, sul.p. 149,5-152,0 °C, jolloin synteesi aloitetaan (D)-sykloheksyyliglysiinihydrokloridilla.

Lähtöaminohappo valmistetaan seuraavasti:

- 25 (D)-fenyyliglysiini (10,0 g, 66,2 mmol) suspendoidaan 2N kloorivetyhappoon (100 ml), joka sisältää platina(IV)oksidihydraattia (267 mg). Seosta ravistellaan Parrin hydrauslaitteessa 24 tuntia vetypaineessa 50 psi. Saatua suspensiossa olevaa kiteistä ainetta, (D)-sykloheksyyliglysiinihydrokloridia käytettiin ilman lisäpuhdistusta.

Lähtöaineena käytetty sulfonyylikloridi valmistetaan seuraavasti:

2,3-dihydrobentsofuraania (6,0 g, 49,94 mmol) lisätään 20 minuutin aikana kloorisulfonihappoon (29,09 g, 249,69 mmol) -20 °C:ssa. Reaktioseos sammutetaan
 5 lisäämällä jäätä ja sen jälkeen vettä (20 ml). Seos uutetaan sitten etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset uutteet pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan piihappogeelikromatografialla (30 % etyyliasetaatti/heksaani), jolloin saadaan 2,3-dihydrobentsofuraani-5-sulfonyylikloridi (3,3 g).

10

(i) N-hydroksi-2-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutaaniamidihydrokloridi, sul.p. 139,5-142,0 °C, jolloin synteesi aloitetaan DL-valiiniinilla.

15 (j) N-hydroksi-2(R)-[[4-etoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutaaniamidihydrokloridi, $[\alpha]_D^{25} = + 34,35$ ($c = 5,84$, CH_3OH).

(k) N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](2-pikolyyli)amino]-2-sykloheksyyliasetamidihydrokloridi, sul.p. 127-140 °C, jolloin synteesi aloitetaan (D)-sykloheksyyiliglysiinihydrokloridilla, ja suoritetaan seuraavat vaiheet, kuten edellä on
 20 kuvattu.

(l) N-hydroksi-2-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](2-metyylitiatsol-4-yylimetyyli)amino]-2-sykloheksyyliasetamidihydrokloridi, sul.p. 137-139 °C, käyttäen 4-kloorimetyyli-2-metyylitiatsolia alkylaatiovaiheessa.
 25

Esimerkki 3: 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-4-metyylipentaanihappo (4,38 g, 11,2 mmol) liuotetaan metyleenikloridiin (56,0 ml). Tähän liuokseen lisätään oksalyylikloridia (1,95 ml, 22,4 mmol) ja dimetyyliformamidia
 30 (0,86 ml, 11,2 mmol), ja reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämmössä 90 min. Sillä välin eri pullossa sekoitetaan hydroksyyliamiinihydrokloridia (3,11 g, 44,8 mmol) ja trietyyliamiinia (9,36 ml, 67,1 mmol) tetrahydrofuraanissa (50,0 ml) ja vedessä

- (3,5 ml) 0 °C:ssa 15 minuuttia. 90 minuutin kuluttua metyleenikloridiliuos lisätään yhtenä eränä toiseen pulloon, ja yhdistettyä sisältöä sekoitetaan kolme päivää pul-
lon vähitellen lämmitessä huoneenlämpöön. Reaktioseos laimennetaan sitten happa-
malla vedellä (pH = noin 3), ja uutetaan useita kertoja etyyliasetaatilla. Yhdistetyt
5 orgaaniset kerrokset kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan. Tuote puhdiste-
taan piihappogeelikromatografialla (1 % metanoli/metyleenikloridi), jolloin saadaan
N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-4-metyylipen-
taaniamidi, sul.p. 48-52 °C.
- 10 Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:
- (D)-leusiini (7,1 g, 53,9 mmol) liuotetaan dioksaaniin (60,0 ml) ja veteen (60,0
ml). Tähän liuokseen lisätään trietyyliamiinia (11,3 ml, 80,9 mmol) ja 4-metoksi-
bentseenisulfonyylikloridia (12,25 g, 59,3 mmol), ja reaktiota sekoitetaan huoneen-
15 lämmössä yli yön. Reaktio laimennetaan sitten metyleenikloridilla ja pestään peräk-
kään 2,5N kloorivetyhapolla, vedellä ja kyllästetyllä suolaliuoksella. Orgaaninen
faasi kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan, jolloin saadaan N-[4-metoksibent-
seenisulfonyyli]-(D)-leusiini, jota käytetään ilman lisäpuhdistusta.
- 20 N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-(D)-leusiini (14,0 g, 46,5 mmol) liuotetaan tolu-
eeniin (100,0 ml), ja kuumennetaan 90 °C:seen. N,N-dimetyyliformamidi-di-t-
butyyliasetaalia (45,0 ml, 186,0 mmol) lisätään tipoittain 20 minuutin aikana, ja
sitten reaktiota pidetään 90 °C:ssa vielä 2 tuntia. Kun se on uudelleen jäähdytetty,
reaktio laimennetaan etyyliasetaatilla ja pestään peräkkäin kyllästetyllä natriumbi-
25 karbonaatilla, vedellä ja kyllästetyllä suolaliuoksella. Orgaaninen faasi kuivataan
(Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan. Tuote puhdistetaan piihappogeelikromatografialla
(20 % etyyliasetaatti/heksaani), jolloin saadaan N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-
(D)-leusiini-t-butyyliesteri.
- 30 Natriumhydridin (0,68 g, 14,1 mmol) suspensioon dimetyyliformamidissa (60,0
ml), lisätään N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-(D)-leusiini-t-butyyliesteriä (5,02 g,
14,06 mmol) dimetyyliformamidissa (10,0 ml). Kun on sekoitettu huoneenlämmös-

5

10

15

20

25

30

(d) N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-4,4-dime-
tyylipentaaniamidi, aloittamalla synteesi (D)-neopentyyliglysiinillä, ja suorittamalla
seuraavat vaiheet kuten esimerkissä 3 on kuvattu.

Esimerkki 5: Liuosta, jossa on metyyli-2-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-4-(metyylisulfonyyli)butyraattia (900 mg, 2,0 mmol), natriummetoksidia, joka on etukäteen valmistettu natriummetallipalloista (100,0 mg, 4,5 mmol) ja

5 hydroksyyliamiinihydrokloridia (280,0 mg, 4,0 mmol) refluksoidaan 2 päivää. Seos jäähdytetään huoneenlämpöön, konsentroidaan tyhjössä, laimennetaan vedellä, hapotetaan sitruunahapolla, ja uutetaan etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset uut-

teet kuivataan (MgSO_4) ja liuotin haihdutetaan. Tuote puhdistetaan piihappogeeli-

kromatografialla (etyliasetaatti), jolloin saadaan N-hydroksi-2-[[4-metoksibent-

10 seenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-4-(metyylisulfonyyli)butyramidi, $[M+1] = 157$.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

Liukseen, jossa on raseemista metyyliesteriä (1,98 g, 10,0 mmol) metyleeniklori-

15 dissa (25 ml), joka sisältää trietyyliamiinia (2,0 ml, 14,3 mmol) lisätään 4-metoksi-

bentseenisulfonylikloridia (2,1 g, 10,2 mmol). Kun on sekoitettu 2 tuntia huone-

enlämmössä, seos laimennetaan 1N kloorivetyhapolla. Orgaaninen kerros poiste-

taan ja vesikerros uutetaan eetterillä. Yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestään kylläs-

tetyllä suolaliuoksella, kuivataan (MgSO_4), ja liuotin haihdutetaan. Konsentroituu

20 liuos trituroidaan eetterin kanssa, ja tuote kerätään suodattamalla, jolloin saadaan

metyyli-2-[[4-metoksibentseenisulfonyyli]amino]-4-(tiometyyli)butyraatti.

Metyyli-2-[[4-metoksibentseenisulfonyyli]amino]-4-(tiometyyli)butyraatin (2,1 g, 6,2 mmol) liukseen dimetyyliformamidissa (15 ml), joka sisältää kaliumkarbonaat-

25 tia (4,0 g, 29,0 mmol), lisätään bentsyylibromidia (1,5 ml, 12,6 mmol). Reak-

tioseosta sekoitetaan 1 tunti huoneenlämmössä. Seos sammutetaan vedellä ja uute-

taan eetterillä. Orgaaniset uutteet pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan

(MgSO_4), ja liuotin haihdutetaan. Tuote puhdistetaan piihappogeelikromatografialla

(30 % etyyliasetaatti/heksaanit), jolloin saadaan metyyli-2-[[4-metoksibentseenisul-

30 fonyyli](bentsyyli)amino]-4-(tiometyyli)butyraatti.

Seosta, jossa on metyyli-2-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-4-(tiometyyli)butyraattia (925,0 mg, 2,17 mmol) 25 %:isessa peretikkahapossa (5 ml), sekoitetaan yli yön huoneenlämmössä. Seos konsentroidaan tyhjössä, laimennetaan vedellä ja uutetaan etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset uutteet kuivataan

5 (MgSO₄), ja liuotin haihdutetaan, jolloin saadaan metyyli-2-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-4-(metyylisulfonyyli)butyraatti.

Esimerkki 6: (a) Liuokseen, jossa on 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-propionihappoa (1,04 g, 2,98 mmol) metyleenikloridissa (50 ml), joka

10 sisältää dimetyyliformamidia (230 ml, 2,98 mmol), lisätään huoneenlämmössä oksalyylikloridia (520 ml, 5,96 mmol) tipoittain 5 minuutin aikana. Seosta sekoitetaan 30 minuuttia huoneenlämmössä, sitten lisätään etukäteen valmistettu seos, jossa on hydroksyyliamiinihydrokloridia (828 mg, 11,92 mmol) ja trietyyliamiinia (2,5 ml, 17,9 mmol) tetrahydrofuraanissa (20 ml) ja vedessä (1,5 ml) 0 °C:ssa.

15 Reaktioseosta sekoitetaan 45 minuuttia 0 °C:ssa, ja lämmitetään sitten hitaasti huoneenlämpöön 15,5 tunniksi. Seos hapotetaan 1N kloorivetyhapolla ja uutetaan metyleenikloridilla. Yhdistetyt orgaaniset uuteet pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan (MgSO₄), ja liuotin haihdutetaan. Raakatuote kiteytetään uudelleen dietyylieetteri/etyyliasetaatista (1:1), jolloin saadaan N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-propionamidi, sul.p. 127-129 °C.

20

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

Liuokseen, jossa on D-alaniini-metyyliesterihydrokloridia (3,0 g, 21,5 mmol)

25 metanolissa (10 ml), lisätään bentsaldehydiä (2,3 ml, 22,6 mmol). Reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämmössä 3 tuntia. Sitten liuotin haihdutetaan. Saatuun jäännökseen lisätään etikkahappoa (15 ml) ja metanolia (1 ml), ja sen jälkeen lisätään erinä natriumsyanoboorihydridiä (1,35 g, 21,5 mmol) huoneenlämmössä. Seosta sekoitetaan yli yön, ja sitten liuotin haihdutetaan. Jäännös laimennetaan vedellä (75

30 ml) ja saatetaan emäksiseksi Na₂CO₃-lla. Seos uutetaan etyyliasetaatilla (3 x 75 ml). Yhdistetyt orgaaniset uuteet pestään kyllästetyllä suolaliuoksella (50 ml),

kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan, jolloin saadaan N-bentsyyli-D-alaniini-metyyliesteri.

Liuokseen, jossa on N-bentsyyli-D-alaniini-metyyliesteriä (noin 2 g) metyleenikloridissa (40 ml), joka sisältää trietyyliamiinia (2,47 ml, 17,7 mmol), lisätään 4-metoksibentseenisulfonyylikloridia (2,44 g, 11,8 mmol). Reaktioseosta sekoitetaan yli yön huoneenlämmössä. Seos hapotetaan 1N HCl:llä ja uutetaan metyleenikloridilla. Yhdistetyt orgaaniset uutteet pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan piihappogeelikromatografialla (10 % - >20 % etyyliasetaatti/heksaanit), jolloin saadaan metyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-propionaatti.

Liuokseen, jossa on metyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-propionaattia (1,05 g, 2,89 mmol) tetrahydrofuraanissa (60 ml), lisätään huoneenlämmössä 1N vesipitoista natriumhydroksidia (8,6 ml, 8,67 mmol). Reaktioseosta sekoitetaan 19 tuntia huoneenlämmössä. Sitten tetrahydrofuraani haihdutetaan. Saatu jäännös hapotetaan 1N kloorivetyhapolla ja uutetaan etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset uutteet pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan, jolloin saadaan 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-propionihappo.

Esimerkki 7: N-(t-butylioksi)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-6-[(N,N-dimetyyliglysyli)amino]heksanamidi (2,17 g, 3,86 mmol) liuotetaan dikloorietaaniin (12 ml), joka sisältää etanolia (0,22 ml, 3,86 mmol), ja reaktio jäähdytetään $-10\text{ }^\circ\text{C}$:seen. Kloorivetykaasua kuplitetaan tämän liuoksen läpi 30 minuuttia. Reaktio suljetaan, lämmitetään huoneenlämpöön ja sekoitetaan 2 päivää. Liuottimen määrä pienennetään puoleen tilavuuteen haihduttamalla liuotin, ja trituroidaan eetterin kanssa. Saatu kiinteä aine poistetaan ja kuivataan tyhjöissä, jolloin saadaan N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-6-[(N,N-dimetyyliglysyli)amino]heksanamidi-hydrokloridi, sul.p. $105\text{--}108\text{ }^\circ\text{C}$.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

Liukseen, jossa on 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-6-aminoheksanoaatti-hydrokloridia (7,5 g, 16,44 mmol) metyleenikloridissa (170 ml), lisätään 1-hydroksibentsotriatsoli-monohydraattia (2,64 g, 1726 mmol), N-metyylimorfoliinia (5,44 ml, 49,34 mmol), ja N,N-dimetyyliglysiiniä (1,86 g, 18,08 mmol), ja reaktio jäähdytetään 0 °C:seen. Lisätään N-[dimetyyliaminopropyyli]-N'-etyylikarbodi-imidi-hydrokloridia (6,30 g, 32,88 mmol) 0 °C:ssa. Reaktioseos lämmitetään huoneenlämpöön ja sitä sekoitetaan yli yön. Seos laimennetaan metyleenikloridilla ja pestään kyllästetyllä vesipitoisella natriumbikarbonaatilla, ja sitten kyllästetyllä suolaliuoksella. Orgaaninen kerros kuivataan (Na₂SO₄), suodatetaan, ja liuotin haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan piihappogeelikromatografialla (10/0,5/0,5 etyyliasetaatti/metanoli/ammoniumhydroksidi), jolloin saadaan metyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-6-[(N,N-dimetyyliglyssyyli)amino]heksanoaatti (6,04 g).

Liukseen, jossa on metyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-6-[(N,N-dimetyyliglyssyyli)amino]heksanoaattia (3,95 g, 7,82 mmol) tetrahydrofuraanissa (75 ml) 0 °C:ssa, lisätään 1N litiumhydroksidia (15,64 ml, 15,64 mmol). Reaktioseos lämmitetään huoneenlämpöön ja sitä sekoitetaan yli yön. Tetrahydrofuraani poistetaan ja jäljelle jäävä vesikerros hapotetaan 1N kloorivetyhapolla. Seos haihdutetaan kuiviin, jolloin saadaan 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-6-[(N,N-dimetyyliglyssyyli)amino]heksaanihapon hydrokloridi.

Liukseen, jossa on 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-6-[(N,N-dimetyyliglyssyyli)amino]heksaanihapon hydrokloridia (4,12 g, 7,82 mmol) metyleenikloridissa (78 ml), ja dimetyyliformamidissa (5 ml), lisätään 1-hydroksibentsotriatsolimonohydraattia (1,26 g, 8,21 mmol), N-metyylimorfoliinia (2,58 ml, 23,45 mmol), ja O-t-butyylhydroksyyliamiinihydrokloridia (1,08 g, 8,60 mmol). Reaktio jäähdytetään 0 °C:seen, ja lisätään N-[dimetyyliaminopropyyli]-N'-etyylikarbodi-imidi-hydrokloridia (3,0 g, 15,64 mmol). Reaktioseos lämmitetään huoneenlämpöön ja sekoitetaan yli yön. Seos laimennetaan sitten metyleenikloridilla ja pestään natriumbikarbonaalin kyllästetyllä vesiliuoksella, ja sitten kyllästetyllä suolaliuoksella. Orgaaninen kerros kuivataan (Na₂SO₄), suodatetaan, ja liuotin

haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan piihappogeelikromatografialla (10/0,5/0,5 etyyliasetaatti/metanoli/ammoniumhydroksidi), jolloin saadaan N-(t-butyylioni)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](bentsyyli)amino]-6-[(N,N-dimetyyliglysyli)-amino]heksanamidi.

5

Esimerkki 8: Oksalyylikloridia (106 ml, 1,22 mol) lisätään yhden tunnin aikana dimetyyliformamidiin (92 ml) metyleenikloridissa (1250 ml) 0 °C:ssa. Tähän lisätään liuos, jossa on 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutaanilahappohydrokloridia (248 g, 0,6 mol) dimetyyliformamidia (450 ml) 10 tunnin aikana, lämpötila pidetään samalla 0 °C:ssa. Tätä liuosta sekoitetaan 2 tuntia huoneenlämmössä, ja lisätään sitten tipoitain seokseen, jossa on hydroksyyliamiinia (460 g 50%:ista vesiliuosta, 6,82 mol) tetrahydrofuraanissa (2400 ml) Reaktiota sekoitetaan vielä 3 tuntia 5 °C:ssa, ja sitten huoneenlämmössä yli yön. Reaktioseos kerätään ja liuotin haihdutetaan. Raaka tuote liuotetaan uudelleen 15 metyleenikloridiin (2 l), pestään vedellä (2 x 1 l), kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla (4 x 1 l), kyllästetyllä suolaliuoksella (1 l), kuivataan (Na₂SO₄), ja liuotin haihdutetaan. Tuote liuotetaan etyyliasetaattiin (700 ml) ja laimennetaan eetterillä (1400 ml) saostumisen indusoimiseksi. Raakatuote kerätään suodattamalla, jolloin saadaan N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3- 20 metyylibutanamidi. Kun se on muunnettu hydrokloridisuolaksi, saadaan valkoinen kiinteä aine, sul.p. 169-170 °C (haj.).

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

25 Liuokseen, jossa on D-valiinia (2000 g, 17,09 mol) vedessä (16,9 l) ja asetonissa (9,5 l), jäädytetään 5 °C:seen, lisätään trietyyliamiinia (4769 ml, 34,22 mol), ja reaktiota sekoitetaan 30 minuuttia. Sitten lisätään 30 minuutin aikana liuos, jossa on 4-metoksibentseenisulfonyylikloridia (3524 g, 18,48 mol) asetonissa (7,4 l), ja reaktiota sekoitetaan huoneenlämmössä yli yön. Suurin osa asetonista haihdutetaan 30 pois, ja pH säädetään arvoon 8,25 6N natriumhydroksidilla. Raakatuote pestään toluenilla (2 x 10 l), ja sitten pH säädetään uudelleen arvoon 2,2 6N kloorivetyhappolla. Seos uutetaan sitten metyleenikloridilla (3 x 12 l), yhdistetyt orgaaniset ker-

rokset pestään 2N kloorivetyhapolla, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan, jolloin saadaan N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-(D)-valiinia.

5 Liuokseen, jossa on N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-(D)-valiinia (8369 g, 29,13 mol) metanolissa (30 l) 5 °C:ssa, lisätään tionyylikloridia (2176 ml, 29,7 mol) 2,5 tunnin aikana. Kun on sekoitettu 3 tuntia 5 °C:ssa, reaktiota sekoitetaan 36 tuntia huoneenlämmössä. Suurin osa liuottimesta haihdutetaan, ja raakatuote liuotetaan tolueeniin (80 l). Tolueenikerros pestään sitten vedellä (20 l), kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla (20 l), taas vedellä (20 l), 2N kloorivetyhapolla (20 l), kyllästetyllä
10 suolaliuoksella (20 l), kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan. Saatu kiinteä aine liuotetaan etyyliasetaattiin (8 l) ja lisätään heptania (16 l) kiteytymisen indusoimiseksi. Saostunut tuote kerätään suodattamalla, jolloin saadaan metyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli]amino]-3-metyylibutanoaatti.

15 Liuokseen, jossa on metyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli]amino]-3-metyylibutanoaattia (1662 g, 5,52 mol) dimetyyliformamidissa (10,9 l), lisätään 3-pikolyylikloridihydrokloridia (947,3 g, 5,77 mol), ja sen jälkeen jauhemaista kaliumkarbonaattia (2409,9 g, 17,36 mol). Reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämmössä 2 päivää. Tänä aikana lisätään vielä 3-pikolyylikloridihydrokloridia (95 g) ja jauhe-
20 maista kaliumkarbonaattia (241 g), ja reaktiota sekoitetaan vielä 3 päivää. Kiinteät aineet suodatetaan sitten pois, raakatuote kaadetaan veteen (22 l) ja pH säädetään arvoon 8 6N natriumhydroksidilla. Tämä liuos uutetaan hyvin tolueenilla (4 x 10 l), yhdistetyt orgaaniset kerrokset pestään vedellä (2 x 12 l), ja sitten 6N kloorivetyhapolla (3 x 1600 ml). Tämä vesikerros säädetään sitten uudelleen pH-arvoon 8
25 6N natriumhydroksidilla, uutetaan tolueenilla (4 x 10 l), kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan. Saatu öljy liuotetaan uudelleen etyyliasetaattiin (12 l), jäähdytetään 5 °C:seen, ja siihen lisätään metanolista HCl:ää 834 ml). Kun on sekoitettu 2 tuntia, saostunut tuote kerätään suodattamalla, jolloin saadaan metyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutanoaattihydrokloridi.

30

Metyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutanoaattihydrokloridia (7164 g, 16,7 mol) lisätään liuokseen, jossa on vettä (27 l) ja

väkevää kloorivetyhappoa (9 l), ja kuumennetaan 120 °C:ssa 3 päivää. Kun on jäähdytetty huoneenlämpöön, lisätään hiiltä (350 g), sekoitetaan jatkuvasti 45 minuuttia, reaktio suodatetaan, ja liuotin haihdutetaan. Raaka kiintoaine liuotetaan uudelleen metanoliin (7,1 l) ja etyyliasetaattiin (73 l), ja jäähdytetään 3 °C:seen 2 tunnin ajaksi. Saostunut tuote kerätään suodattamalla, jolloin saadaan 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutaanihapon hydrokloridi.

Esimerkki 9: N-bentsyylioksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutanamidi (ks. esimerkki 9a) saatetaan reagoimaan vedyn kanssa, kun läsnä on 10 % palladiumia hiilellä -katalyyttiä, huoneenlämmössä ilmakehän paineessa, jolloin saadaan N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutanamidi. Kun yhdiste on muunnettu hydrokloridisuolaksi, saadaan valkea kiinteä aine, sul.p. 169-170 °C (haj.).

(a) Yllä mainitun yhdisteen N-(bentsyylioksi)-substituoitu prodrug-johdannainen valmistetaan seuraavasti:

2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutaanihappo-hydrokloridi saatetaan reagoimaan O-bentsyylihydroksyyliamiinihydrokloridin kanssa samoissa olosuhteissa kuin on kuvattu reaktiolle O-t-butyylhydroksyyliamiinihydrokloridin kanssa, jolloin saadaan N-(bentsyylioksi)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutanamidi, sul.p. 74,5-76 °C.

(b) Vastaava N-(4-metoksibentsyylioksi)-substituoitu prodrug-johdannainen, N-(4-metoksibentsyylioksi)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutanamidi valmistetaan seuraavasti:

2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutaanihappo-hydrokloridia (2,41 g, 5,82 mmol), 1-hydroksibentsotriatsolia (0,786 g, 5,82 mmol), 4-metyylimorfoliinia (1,9 ml, 17,46 mmol) ja O-(4-metoksibentsyyli)hydroksyyliamiinia (1,78 g, 11,63 mmol) (valmistettu julkaisun Pol. J. Chem. 55, 1163-1167 (1981) mukaisesti) liuotetaan metyleenikloridiin (55 ml). Lisätään N-

[dimetyyliaminopropyyli]-N'-etyylikarbodi-imidihydrokloridia (1,45 g, 7,57 mmol), ja reaktiota sekoitetaan yli yön. Reaktio laimennetaan sitten vedellä ja uutetaan metyleenikloridilla. Yhdistetyt orgaaniset uutteen pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan piihappogeelekromatografialla (etyyliasetatti ja sen jälkeen 5% metanoli/etyyliasetatti), jolloin saadaan N-(4-metoksibentsyylioksi)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutanamidi, sul.p. 45-53 °C.

Samalla tavalla valmistetaan: (c) N-(2,4-dimetoksibentsyylioksi)-substituoitu prod-
rug-johdannainen, N-(2,4-dimetoksibentsyylioksi)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutanamidi, sul.p. 45-60 °C,

(d) N-(2-metoksibentsyylioksi)-substituoitu prod-
rug-johdannainen, N-(2-metoksibentsyylioksi)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutanamidi, sul.p. 46-56 °C,

Esimerkki 10: (a) N-(t-butylioksi)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](4-pikolyyli)amino]-sykloheksyyliasetamidi (1,9 g, 3,9 mmol) liuotetaan dikloorietaaniin (50 ml), joka sisältää etanolia (0,21 ml, 3,9 mmol) pyöreäpohjaisessa pullossa, ja reaktio jäähdytetään -10 °C:seen. Kloorivetyhappokaasua (lecture-pullosta) kuplite-
taan sen läpi 30 minuuttia. Reaktioastia suljetaan, sen annetaan hitaasti lämmetä huoneenlämpöön, ja sekoitetaan 4 päivää. Liuotin vähennetään 1/3 tilavuuteen haihduttamalla ja trituroidaan eetterin kanssa. Seos suodatetaan, suodatuskakku poistetaan ja kuivataan tyhjöissä, jolloin saadaan N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](4-pikolyyli)amino]-2-sykloheksyyliasetamidihydrokloridi valkoisena
kiinteänä aineena, sul.p. 154,5-156 °C.

Lähtöaine valmistetaan seuraavasti:

Liuokseen, jossa on D-sykloheksyyliiglysiinihydrokloridia (10,4 g, 53,7 mmol) 1:1 dioksaani/vesi-seoksessa (200 ml), joka sisältää trietyyliamiinia (37,0 g, 366,0 mmol) huoneenlämmössä, lisätään 4-metoksibentseenisulfonylikloridia (15,0 g,

73,0 mmol), ja reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämmössä yli yön. Seos laimennetaan sitten metyleenikloridilla, pestään 1N vesipitoisella kloorivetyhapolla ja vedellä. Orgaaninen kerros pestään taas kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan, jolloin saadaan N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-
 5 (D)-sykloheksyyliiglysiini raakatuotteena. Liuos, jossa on raakatuotetta tolueenissa (200 ml), joka sisältää N,N-dimetyyliformamid-di-t-butyylasetaalia (48,5 ml, 200,0 mmol), kuumennetaan 95 °C:seen 3 tunniksi. Sitten haihdutetaan liuotin. Raakatuote puhdistetaan piihappogeelikromatografialla (30 % etyyliasetaatti/heksaanit), jolloin saadaan N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-
 10 (D)-sykloheksyyliiglysiini-t-butyyliesteri.

Liuokseen, jossa on N-[4-metoksibentseenisulfonyyli]-
 (D)-sykloheksyyliiglysiini-t-butyyliesteriä (2,0 g, 4,1 mmol) dimetyyliformamidissa (100 ml), lisätään 4-pikolyylikloridihydrokloridia (0,74 g, 4,5 mmol), ja sen jälkeen kaliumkarbonaattia
 15 (5,61 g, 40,7 mmol). Reaktioseosta sekoitetaan huoneenlämmössä 4 päivää. Seos laimennetaan sitten vedellä ja uutetaan etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset uutteen pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan piihappogeelikromatografialla (etyylasetaatti), jolloin saadaan t-butyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](4-pikolyyli)amino]-2-sykloheksyyliasetatti.
 20

t-Butyyli-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](4-pikolyyli)amino]-2-sykloheksyyliasetatti (2,0 g, 4,2 mmol) liuotetaan metyleenikloridiin (80 ml) ja jäädytetään -10 °C:seen. Kloorivetykaasua kuplitetaan liuokseen 10 minuuttia. Sitten reaktioastia suljetaan, lämmitetään huoneenlämpöön ja sekoitetaan yli yön. Sitten haihdutetaan liuotin, jolloin saadaan 2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](4-pikolyyli)amino]-2-sykloheksyylietikkahappohydrokloridi.
 25

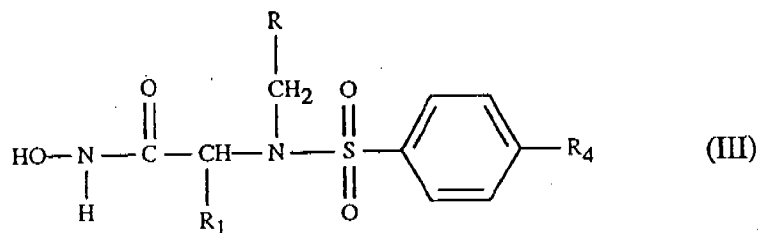
2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](4-pikolyyli)amino]-2-sykloheksyylietikkahappohydrokloridia (1,8 g, 4,2 mmol), 1-hydroksibentsotriatsolia (0,65 g, 4,81 mmol), 4-metyylimorfoliinia (2,4 ml, 24,04 mmol), ja O-t-butyylhydroksyyliamiinihydrokloridia (1,81 g, 14,4 mmol) liuotetaan metyleenikloridiin (100 ml).
 30

Lisätään N-[dimetyyliaminopropyli]-N'-etyylikarbodi-imidihydrokloridia (1,2 g, 6,25 mmol), ja reaktiota sekoitetaan yli yön. Reaktio laimennetaan sitten vedellä ja uutetaan metyleenikloridilla. Yhdistetyt orgaaniset uutteen pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan (Na_2SO_4), ja liuotin haihdutetaan. Raakatuote puhdistetaan pihappogeelikromatografialla (5 % metanoli/metyleenikloridi), jolloin saadaan N-(t-butylioksi)-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](4-pikolyli)amino]-2-sykloheksyyliasetamidi.

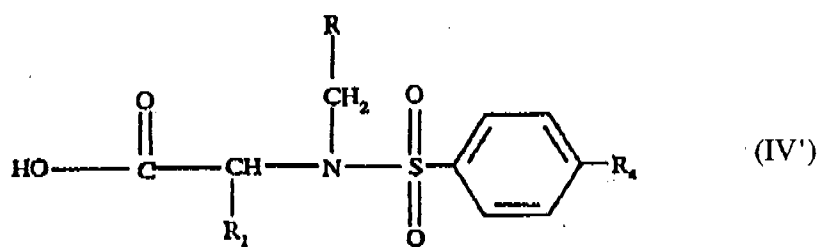
(b) Samalla tavalla valmistetaan N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](2-metyylipyrid-5-yyli)amino]-2-sykloheksyyliasetamidi, sul.p. 156,5-157,0 °C, käyttämällä Mitsunobu-vaiheessa 6-metyyli-3-pyridiinimetanolia (valmistettu J. Org. Chem. 53, 3513 (1988) mukaisesti), ja suorittamalla seuraavat vaiheet yllä kuvatulla tavalla.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä kaavan III mukaisen terapeuttisesti käyttökelpoisen aryylisul-
foniamidosubstituoidun hydroksaamihapon valmistamiseksi



jossa kaavassa R tarkoittaa heterosyklistä monosyklistä aryyliä, joka on tiatsolyyli
tai pyridyyli, joista kumpikin on substituimaton tai substituoitu alempialkyyllillä,
tai R tarkoittaa fenyylä tai fenyylä, joka on substituoitu alempialkoksilla, mety-
leenidioksilla tai halogeenilla, R_1 tarkoittaa alempialkyyliä, sykloheksyyliä tai R_3 -
CONH-alempialkyyliä, jossa R_3 tarkoittaa (di-alempialkyyliamino)-alempialkyyliä,
ja R_4 tarkoittaa alempialkoksia, tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän happoaddi-
tiosuolan valmistamiseksi, **tunnettu** siitä, että kondensoidaan kaavan IV' mukainen
karboksyylihappo



tai sen reaktiivinen funktionaalinen johdannainen, jossa kaavassa R, R_1 ja R_4 tar-
koittavat samaa kuin edellä, kaavan V mukaisen hydroksyyliamiinin kanssa



joka on mahdollisesti suojatussa muodossa, tai sen suolan kanssa, ja tarvittaessa poistetaan mahdollinen suojaryhmä ja/tai saatu yhdiste muutetaan vastaavaksi happoadditiosuolaksi.

5 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-3-metyylibutanamidi tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä happoadditiosuola.

10 3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan N-hydroksi-2(R)-[[4-metoksibentseenisulfonyyli](3-pikolyyli)amino]-2-sykloheksyyliasetamidi tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä happoadditiosuola.

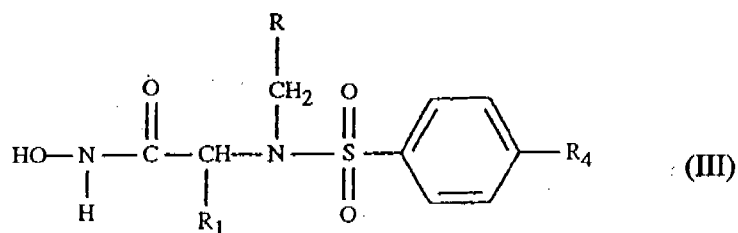
Patentkrav

22

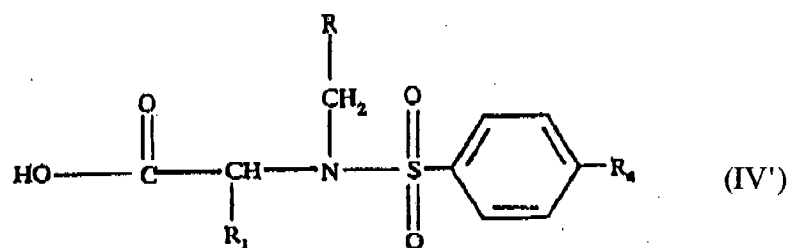
15

1. Förfarande för framställning av en terapeutiskt användbar arylsulfonamido-substituerad hydroxamsyra med formeln III

20

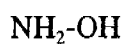


25 i vilken formel R betecknar en heterocyklisk monocyklisk aryl, som är tiazolyl eller pyridyl, av vilka båda är osubstituerade eller substituerade med en lågalkyl, eller R betecknar fenyl eller fenyl, som är substituerad med en lågalkoxi, metylen-dioxi eller halogen, R₁ betecknar en lågalkyl, cyklohexyl eller en R₃-CONH-lågalkyl, vari R₃ betecknar (dilågalkylamino)lågalkyl, och R₄ betecknar en lågalkoxi,
30 eller för framställning av ett farmaceutiskt godtagbart syraadditionssalt därav, **kännetecknat** därav, att man kondenserar en karboxylsyra med formeln IV'



eller ett reaktivt funktionellt derivat därav, i vilken formel R, R₁ och R₄ betecknar detsamma som ovan, med en hydroxylamin med formeln V

10



(V)

som eventuellt är i skyddad form, eller med dess salt, och, vid behov avlägsnas en eventuell skyddsgrupp och/eller omvandlas den erhållna föreningen till ett motsvarande syraadditionssalt.

15

2. Förfarande enligt patentkrav 1, **kännetecknat** därav, att man framställer N-hydroxi-2(R)-[[4-metoxibensensulfonyl](3-pikoly)amino]-3-metylbutanamid eller ett farmaceutiskt godtagbart syraadditionssalt därav.

20

3. Förfarande enligt patentkrav 1, **kännetecknat** därav, att man framställer N-hydroxi-2(R)-[[4-metoxibensensulfonyl](3-pikoly)amino]-2-cyklohexylacetamid eller ett farmaceutiskt godtagbart syraadditionssalt därav.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer,
utläggnings- och patentskrifter:

FI - B-100470, COTC 323/62

CH

DE

DK

FR

GB

NO

SE

US - 4496540, COTC 103/52, 4599361 ja
4743587, COTC 83/10, 4885027, A01N 41/4

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron
eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

EP - A-236872, COTK 5/10, 423943, A61K 31/415

WO - 91/02716 ja 92/13831, COTC 259/06

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

J. of Med. Chem 32(1989) s. 145-51

Chemical Abstracts Vol 59(1963), 3824b

18/10-00

L. Helle

Allekirjoitus