

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
3. Januar 2003 (03.01.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/000269 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 31/53**,
A61P 25/16

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/06309

(22) Internationales Anmeldedatum:
10. Juni 2002 (10.06.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 30 151.0 22. Juni 2001 (22.06.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **BAYER AKTIENGESELLSCHAFT** [DE/DE];
51368 Leverkusen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **NIWÖHNER, Ul-
rich** [DE/DE]; Gartenstr. 3, 42929 Wermelskirchen (DE).
ERGÜDEN, Jens-Kerim [DE/DE]; Bertolt-Brecht-Str.
2, 42489 Wülfrath (DE). **BAUSER, Marcus** [DE/DE];
Claudiusweg 3, 42115 Wuppertal (DE). **BURKHARDT,
Nils** [DE/DE]; Hügelstr. 53, 40589 Düsseldorf (DE).
FLUBACHER, Dietmar [DE/DE]; Schongauer Weg
57, 79110 Freiburg (DE). **FRIEDL, Arno** [DE/DE]; Im
Hilgersfeld 53, 51427 Bergisch Gladbach (DE). **GER-
LACH, Irene** [DE/DE]; Kronenburger Str. 15, 50935
Köln (DE). **HINZ, Volker** [DE/DE]; Oldenburger Str. 76,
50737 Köln (DE). **JORK, Reinhard** [DE/DE]; Spulerweg
43, 42781 Haan (DE). **NAAB, Paul** [DE/DE]; Amalienstr.
29, 42287 Wuppertal (DE). **REPP, Thorsten-Oliver**
[DE/DE]; In der Flecht 10, 50389 Wesseling (DE).
SCHLEMMER, Karl-Heinz [DE/DE]; Wildsteig 22a,
42113 Wuppertal (DE). **STOLTEFUß, Jürgen** [DE/DE];
Parkstr. 20, 42781 Haan (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: **BAYER AKTIENGE-
SELLSCHAFT**; 51368 Leverkusen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,
SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA,
ZM, ZW, ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD,
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY,
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE,
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu
beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für die
folgenden Bestimmungsstaaten AE, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,
SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA,
ZM, ZW, ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD,
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY,
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE,
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: NOVEL USE FOR PDE 10A INHIBITORS

(54) Bezeichnung: NEUE VERWENDUNG FÜR PDE 10A-INHIBITOREN

(57) Abstract: The invention relates to the use of PDE 10A inhibitors for producing a medicament for the treatment and/or prophylaxis of neurodegenerative diseases, especially Parkinson's disease.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung von PDE 10A-Inhibitoren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von neurodegenerativen Erkrankungen, insbesondere des Parkinson-Syndroms.



WO 03/000269 A2

Neue Verwendung für PDE 10A-Inhibitoren

Die Erfindung betrifft die Verwendung von PDE 10A-Inhibitoren zur Herstellung
5 eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von neurodegenerativen
Erkrankungen, insbesondere des Parkinson-Syndroms.

Die cyclischen Nucleotide cGMP und cAMP gehören zu den wichtigsten intrazellu-
lären Botenstoffen. Bei der Regulation der Konzentrationen von cGMP und cAMP
10 spielen Phosphodiesterasen (PDEs) eine wesentliche Rolle. Bisher sind 11 Phospho-
diesterase-Isoenzymgruppen bekannt (PDE 1 – 7: Beavo et al. *Mol. Pharmacol.*
1994, 399-405; PDE 8- 10: Soderling und Beavo *Curr. Opin. Cell Biol.* **2000**, 12,
174-179; PDE 11: Fawcett et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2000**, 97, 3702-
3707).

15 Die PDE 10A hydrolysiert sowohl cAMP als auch cGMP. Transkribierte PDE 10A
wurde vor allem in den Putamen- und Caudate Nucleus-Regionen des Gehirns sowie
in Schilddrüsen- und Hodengewebe identifiziert. Im Vergleich zu normalem Gewebe
wird die PDE 10A-mRNA außerdem verstärkt in bestimmten Tumorgeweben, wie
20 beispielsweise in Geweben von Brust-, Leber-, Colon- und Lungentumoren expri-
miert.

Das Parkinson-Syndrom ist eine chronische, progressive Erkrankung des zentralen
Nervensystems. Sie wird verursacht durch die Degeneration dopaminergener Neurone
25 in der Substantia nigra, welche den Neurotransmitter Dopamin produzieren und
freisetzen. Die daraus resultierende Verringerung der dopaminergen Neurotrans-
mission führt zu massiven Dysfunktionen des extrapyramidalen Systems der
Bewegungskontrolle. Diese Störungen betreffen nicht nur die Basalganglien sondern
auch andere eng verknüpfte Gehirnareale.

Mehrere Formen des Parkinson-Syndroms werden unterschieden: das idiopathische oder primäre Parkinson-Syndrom, das symptomatische oder sekundäre Parkinson-Syndrom sowie Sonderformen des Parkinson-Syndroms wie beispielsweise der Parkinson-Demenz-ALS-Komplex oder das Parkinson-plus-Syndrom (Pschyrembel
5 Klinisches Wörterbuch, 257.Aufl., de Gruyter; Berlin, 1994; S.1153, Stichwort ‚Parkinson-Syndrom‘).

Die Ätiologie des idiopathischen Parkinson-Syndroms ist immer noch weitgehend unbekannt. Zunehmende Evidenzen deuten jedoch darauf hin, dass der Zelltod
10 dopaminerger Neurone der Substantia nigra durch Apoptose in Folge mitochondrialer Fehlfunktionen zustande kommt. Neben genetischen Störungen, werden auch erhöhte Glutamatspiegel und/oder eine defiziente Versorgung mit neurotrophen Faktoren als Ursache für die mitochondrialen Fehlfunktionen diskutiert.

15 Die derzeit klinisch verwendeten Therapeutika für das Parkinson-Syndrom verfolgen in der Mehrzahl einen rein symptomatischen Ansatz. Ziel dieser Therapien ist entweder die direkte Substitution des fehlenden Dopamins durch ein Dopaminvorläufermolekül (L-DOPA), das im Körper zu Dopamin metabolisiert wird, oder aber die Stimulation defizitärer dopaminerger Neurotransmissionsprozesse mittels Ago-
20 nisten an Dopaminrezeptoren oder durch Verminderung des Dopaminabbaus (MAO-Inhibitoren, COMT-Inhibitoren). Alle derzeitigen Therapien sind jedoch durch starke Nebenwirkungen (z.B. Dyskinesien, Psychosen, Schlafstörungen) oder langfristigen Wirkungsverlust gekennzeichnet.

25 Über einen nicht näher spezifizierten Zusammenhang zwischen PDE 10A und juvenilem Parkinsonismus hat bereits Fujishige (*J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 18438-18445) spekuliert.

Aus der WO 01/29199 ist eine als 22045 bezeichnete, zu PDE 10A homologe,
30 cyclische Nucleotid-Phosphodiesterase bekannt. Gemäß der WO 01/29199 können mit Modulatoren der Konzentration oder Aktivität dieser PDE bestimmte

Erkrankungen untersucht werden. Unter einer Vielzahl von Krankheiten sind Gehirnerkrankungen, u.a. auch Parkinsonismus, aufgelistet (S.19, Z.32).

5 Die WO 01/24781 (S.33) schlägt die Behandlung von neuronalen Dysfunktionen, wie beispielsweise der Huntingtonschen Krankheit, durch Hochregulierung der PDE 10A-Aktivität vor. Als weitere behandelbare, neuronale Erkrankung wird u.a. die Parkinsonsche Krankheit genannt. Pharmakologisch entspricht jedoch die Hochregulierung der PDE 10A-Aktivität dem Gegenteil einer PDE 10A-Inhibition.

10 Unerwarteterweise wirken aber gerade selektive PDE 10A-Inhibitoren in Tiermodellen für neurodegenerative Erkrankungen, insbesondere das Parkinson-Syndrom.

15 Außerdem wird zum ersten Mal gezeigt, dass selektive PDE 10A-Inhibitoren in Tiermodellen für das Parkinson-Syndrom wirken.

Die vorliegende Erfindung betrifft daher die Verwendung von PDE 10A-Inhibitoren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder von neurodegenerativen Erkrankungen, insbesondere des Parkinson-Syndroms, insbesondere des
20 idiopathischen Parkinson-Syndroms.

Dabei werden solche PDE 10A-Inhibitoren bevorzugt, welche im unten angegebenen Test PDE 10A mit einem IC_{50} von weniger als 1 μM , bevorzugt weniger als 0,1 μM inhibieren.

25 Vorzugsweise sind die erfindungsgemäßen PDE 10A-Inhibitoren auch selektiv gegenüber anderen PDEs, besonders bevorzugt gegenüber PDE 1C, 2A, 3B, 4B, 5A und 7B. Ganz besonders bevorzugt hemmen die erfindungsgemäßen Verbindungen PDE 10A mindestens um den Faktor 10 stärker als die anderen PDEs, d.h. der IC_{50} -Wert liegt für PDE 10A um mindestens den Faktor 10 niedriger als der für die
30 anderen PDEs gemessene IC_{50} -Wert.

Die Messungen der IC₅₀-Werte für die PDEs erfolgt nach den unten angegebenen Bedingungen. PDE 10A-Inhibitoren mit dem oben beschriebenen Eigenschaftsprofil können mit diesen Assays identifiziert werden.

5

Inhibition der PDE 10A

PDE 10A (WO 01/29199, Fig.1A) wird in Sf9 Insektenzellen (Invitrogen, Carlsbad, CA) mit Hilfe des Bac-to-BacTM Baculovirus Expressionssystems von Life Technologies (Gaithersburg, MD) rekombinant in voller Länge exprimiert. 48 h nach der Infektion werden die Zellen geerntet und in 20 mL (pro 1L Kultur) Lysispuffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 50 mM NaCl, 1 mM MgCl₂, 1.5 mM EDTA, 10 % Glycerin plus 20 µL Protease Inhibitor Cocktail Set III [CalBiochem, La Jolla, CA USA]) suspendiert. Die Zellen werden bei 4°C für 1 Minute mit Ultraschall behandelt und anschließend für 30 Minuten bei 4°C mit 10000 Upm zentrifugiert. Der Überstand (PDE 10A-Präparat) wird gesammelt und bei -20°C aufbewahrt.

Die Testsubstanzen werden zur Bestimmung ihrer *in vitro* Wirkung an PDE 10A in 100 % DMSO aufgelöst und seriell verdünnt. Typischerweise werden Verdünnungsreihen von 200 µM bis 1.6 µM hergestellt (resultierende Endkonzentrationen im Test: 4 µM bis 0.032 µM). Jeweils 2 µL der verdünnten Substanzlösungen werden in die Vertiefungen von Mikrotiterplatten (Isoplate; Wallac Inc., Atlanta, GA) vorgelegt. Anschließend werden 50 µL einer Verdünnung des oben beschriebenen PDE10A Präparates hinzugefügt. Die Verdünnung des PDE 10A-Präparates wird so gewählt, dass während der späteren Inkubation weniger als 70 % des Substrates umgesetzt wird (typische Verdünnung: 1: 10000; Verdünnungspuffer: 50 mM Tris/HCl pH 7.5, 8.3 mM MgCl₂, 1.7 mM EDTA, 0.2 % BSA). Das Substrat, [5',8-³H]-cAMP (1 µCi/µL; Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ) wird 1:2000 mit Assaypuffer (50 mM Tris/HCl pH 7.5, 8.3 mM MgCl₂, 1.7 mM EDTA) auf eine Konzentration von 0.0005 µCi/µL verdünnt. Durch Zugabe von 50 µL (0.025 µCi) des verdünnten Substrates wird die Enzymreaktion schließlich gestartet.

Die Testansätze werden für 60 min bei Raumtemperatur inkubiert und die Reaktion durch Zugabe von 25 µL einer Suspension mit 18 mg/mL Yttrium Scintillation Proximity Beads (Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ.) gestoppt. Die Mikrotiterplatten werden mit einer Folie versiegelt und für 60 min bei Raumtemperatur stengelassen. Anschließend werden die Platten für 30 s pro Vertiefung in einem Microbeta Szintillationzähler (Wallac Inc., Atlanta, GA) vermessen. IC₅₀-Werte werden anhand der graphischen Auftragung der Substanzkonzentration gegen die prozentuale Inhibition bestimmt.

Beispiel 1 inhibiert unter diesen Bedingungen PDE 10A mit einem IC₅₀-Wert von 35nM.

Inhibition der PDEs 1 – 5 und 7

Rekombinante PDE 1C (GenBank/EMBL Accession Number: NM_005020), PDE 2A (Rosman et al. *Gene* **1997** *191*, 89-95), PDE 3B (Miki et al. *Genomics* **1996** *36*, 476-485), PDE 4B (Bolger et al. *Mol. Cell. Biol.* **1993** *13*, 6558-6571), PDE 5A (GenBank/EMBL Accession Number: AJ004865) und PDE 7B (Hetman et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000** *97*, 472-476) werden mit Hilfe des pFASTBAC Baculovirus Expressionssystems (GibcoBRL) in Sf9 Zellen exprimiert.

Die *in vitro* Wirkung von Testsubstanzen an rekombinanter PDE 3B, PDE 4B, und PDE 7B wird nach dem oben für PDE 10A beschriebenen Testprotokoll bestimmt. Für die Bestimmung einer entsprechenden Wirkung an rekombinanter PDE1C, PDE2A und PDE5A wird das Protokoll wie folgt angepasst: Bei PDE 1C werden zusätzlich Calmodulin 10⁻⁷ M und CaCl₂ 3mM zum Reaktionsansatz gegeben. PDE 2A wird im Test durch Zugabe von cGMP 1 µM stimuliert und mit einer BSA Konzentration von 0,01 % getestet. Für PDE 5A wird als Substrat [8-³H]-cGMP (Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ) eingesetzt.

Beispiel 1 inhibiert die PDE 1C, 2A, 3B, 4B, 5A und 7B mit IC₅₀-Werten von 2µM, >10µM, >4µM, 2,5µM, 10µM bzw. 3,8µM.

Die Eignung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung des Parkinson-Syndroms kann in folgenden Tiermodellen gezeigt werden:

6-Hydroxydopamine (6-OH-DA)-Läsion an der Ratte

Das Krankheitsbild des Parkinson-Syndroms kann zu großen Teilen simuliert werden, indem Ratten das Neurotoxin 6-OH-DA intracerebral injiziert wird. 30 Minuten vor der Läsion wird den Tieren Pargyline (50 mg/kg i.p.) und Desmethyylimipramine HCl (25 mg/kg i.p.) verabreicht, um den Metabolismus von 6-Hydroxydopamin zu unterbinden, bzw. um die Aufnahme von 6-Hydroxydopamin in noradrenerge Strukturen zu verhindern. Unter Narkose erfolgt dann die Läsion der nigrostriatalen Neurotransmission indem die Versuchstieren eine einmalige stereotaktische Injektion von 8 µg 6-OH-DA erhalten. Die Koordinaten der Injektion lauten nach König und Klippel: 2.4 mm anterior, 1.49 mm lateral, -2.7 mm ventral. In der Verum-Gruppe wurden die Tiere einen Tag nach der Operation bis zum Versuchsende 28 Tage nach der Operation mit Testsubstanz behandelt.

20

Die motorischen Ausfälle der läsionierten Ratten wurden mit den folgenden Tests wie in der jeweiligen Literatur beschrieben quantifiziert:

a) Staircase Test (Motorik-Test der Vorderextremität): Barnéoud et al: Effects of complete and partial lesions of the dopaminergic mesotelencephalic system on skilled forelimb use in the rat. *Neuroscience* 1995, 67, 837 – 848.

25

b) Accelerating Rotarod Test (Balancier-Test): Spooren et al.: Effects of the prototypical mGlu₅ receptor antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine on rotarod, locomotor activity and rotational responses in unilateral 6-OHDA-lesioned rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2000, 406, 403 – 410.

30

- c) Zugkraftmessung der Vorderextremitäten: Dunnet et al.: A laterised grip strength test to evaluate unilateral nigrostriatal lesions in rats. *Neurosci. Lett.* 1998, 246, 1 - 4.

5

Beispiel 1 verbesserte die Motorik der Vorderextremitäten im Staircase-Test in einem Dosisbereich von 0,3 bis 3,0 mg/kg bid p.o. In einem vergleichbaren Dosisbereich wurden auch die anderen Versuchparameter, nämlich Balanciertest und Zugkraftmessung, positiv beeinflusst.

10

MPTP-Maus - Modell

Die neuroprotektive in vivo- Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen wurde in einem Mausmodell für das Parkinson-Syndrom, dem sogenannten MPTP-Modell gezeigt. MPTP (=1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin) ist ein Neurotoxin, das bei Menschen und Tieren die für das Parkinson-Syndrom charakteristische Degeneration dopaminerger Neurone in der Substantia nigra und die Parkinsonismus-

typischen Motorsymptome verursacht.

Den Mäusen wurde an 3 aufeinanderfolgenden Tagen, je 4mg/kg MPTP i.p. appliziert (Methode modifiziert nach Bezard E. et al., Kinetics of nigral degeneration in a chronic model of MPTP-treated mice, *Neurosci. Lett.* 1997, 234, 47-50). Die Versuchstiere zeigen danach eine verringerte Anzahl dopaminerger Neurone in der Substantia nigra pars compacta.

25

Durch eine histologische Untersuchung am zehnten Tag nach MPTP-Injektion wird das Ausmaß der Zellschädigung quantifiziert. Dopaminerge Neurone werden dazu immunhistochemisch sichtbar gemacht als Zellen, die das im Dopamin-Stoffwechsel essentielle Enzym Tyrosinhydroxylase enthalten und schliesslich mit Hilfe eines Computerprogrammes quantitativ erfasst (Nelson E.L. et al., Midbrain dopaminergic

30

neurons in the mouse: computer assisted mapping, *J. Comp. Neurol.* 1996, 369, 361-371).

5 Mäuse, die ab dem ersten Tag der MPTP-Intoxikation über 10 Tage hinweg Beispiel 1 in einer Dosis von 3 mg/kg bid p.o. erhielten, besaßen signifikant mehr dopaminerge Neurone in der Substantia nigra pars compacta als Kontrolltiere, die nur MPTP erhalten hatten.

10 Die Wirkstoffe können in bekannter Weise in die üblichen Formulierungen überführt werden, wie Tabletten, Dragees, Pillen, Granulate, Aerosole, Sirupe, Emulsionen, Suspensionen und Lösungen, unter Verwendung inerter, nicht toxischer, pharmazeutisch geeigneter Trägerstoffe oder Lösungsmittel. Hierbei soll die therapeutisch wirksame Verbindung jeweils in einer Konzentration von etwa 0,5 bis 90 Gew.-% der Gesamt-
15 Dosierungsspielraum zu erreichen.

Die Formulierungen werden beispielsweise hergestellt durch Verstrecken der Wirkstoffe mit Lösungsmitteln und/oder Trägerstoffen, gegebenenfalls unter Verwendung von Emulgiermitteln und/oder Dispergiermitteln, wobei z.B. im Fall der Benutzung
20 von Wasser als Verdünnungsmittel gegebenenfalls organische Lösungsmittel als Hilfs-
lösungsmittel verwendet werden können.

Die Applikation erfolgt in üblicher Weise, vorzugsweise oral, transdermal oder parenteral, insbesondere perlingual oder intravenös. Sie kann aber auch durch Inhalation über
25 Mund oder Nase, beispielsweise mit Hilfe eines Sprays erfolgen, oder topisch über die Haut.

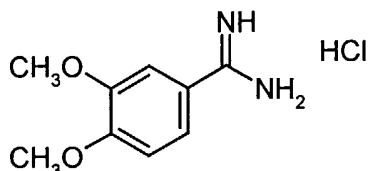
Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, Mengen von etwa 0,001 bis 10 mg/kg, bei oraler Anwendung vorzugsweise etwa 0,005 bis 3 mg/kg Körpergewicht
30 zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen.

- Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit vom Körpergewicht bzw. der Art des Applikationsweges, vom individuellen Verhalten gegenüber dem Medikament, der Art von dessen Formulierung und dem Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchen die Verabreichung erfolgt.
- 5 So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5,7-dimethyl-4-(3,4,5-trimethoxyphenoxy)imidazo[5,1-f]-[1,2,4]triazin (Beispiel 1) wurde wie folgt hergestellt:

a) *3,4-Dimethoxybenzylcarboximidamid-Hydrochlorid*

5



21,4 g (400 mmol) Ammoniumchlorid werden in einem Dreihalskolben mit Thermo-
meter, Kühler, Tropftrichter und mechanischen Rührer unter Argonatmosphäre in
200 ml wasserfreiem Toluol suspendiert und auf 0°C gekühlt. 400 mmol Trimethyl-
aluminium (200 ml 2 M Lösung in Hexan) werden zugetropft, und der Ansatz wird
bei Raumtemperatur gerührt, bis keine Gasentwicklung mehr beobachtet wird (ca.
1,5 h). Eine Lösung von 33,6 g (200 mmol) 3,4-Dimethoxybenzonitril in 100 ml
trockenem Toluol wird zugetropft und die Reaktionsmischung 18 h bei 80°C gerührt.

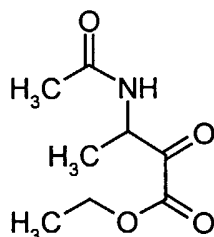
15

Nach dem Abkühlen wird die Mischung bei -10°C tropfenweise mit 60 ml Methanol
versetzt und im Anschluss 90 min bei RT kräftig gerührt. Der Ansatz wird abgesaugt
und der Rückstand mit Methanol (5 x 200 ml) gewaschen. Das Filtrat wird eingengt,
der Rückstand mit Methanol/Diethylethergemisch und Diethylether gewaschen und
der erhaltene Feststoff (Ausbeute: 28,2 g) getrocknet. Die Waschphasen werden ein-
geengt, in Ethanol aufgenommen und mit Aktiv-Kohle entfärbt. Die Aktiv-Kohle
wird abfiltriert und das Filtrat eingengt. Der erhaltene Rückstand wird mit Diethyl-
ether versetzt und abgesaugt. Man erhält weitere 11,2 g Produkt.

20

25 Gesamtausbeute 92 % d. Th.

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ = 3.85 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 7.17 (d, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.47-7.53 (m, 1H).

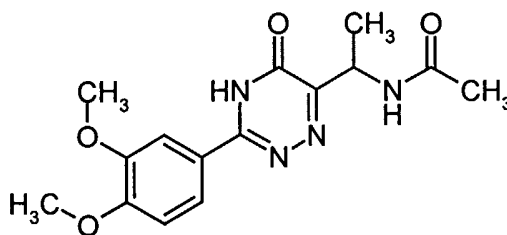
b) *Ethyl 3-(acetylamino)-2-oxobutanoat*

5

N-Acetyl-Alanin (4,92 g, 37, 5 mmol), 9,10 ml Pyridin und 150 mg DMAP werden in 200 ml THF gelöst und die Lösung zum Sieden gebracht. In der Siedehitze werden 8,6 ml (10,5 g, 75 mmol) Ethyloxalylchlorid zugetropft, nach beendeter Zugabe wird für weitere 3 h in der Siedehitze gerührt. Nach dem Abkühlen wird die Reaktions-

10 Mischung auf 600 ml Eiswasser gegeben, mit Essigsäureethylester (4 x 150 ml) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit 200 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene Material wird ohne Verzögerung in Ethanol gelöst weiter umgesetzt.

15 c) *N-{1-[3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-yl]ethyl}-acetamid*



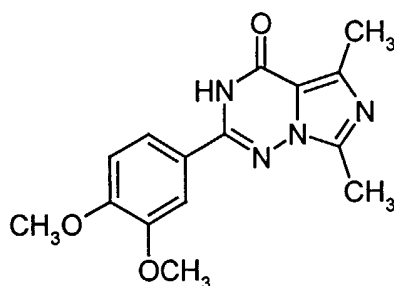
3,4-Dimethoxybenzocarboximidamid-Hydrochlorid (5,42 g, 25 mmol) wird in 100 ml Ethanol vorgelegt. 1,34 ml Hydrazinhydrat (1,34 g, 27,5 mmol) werden zugegeben und der Ansatz 3 h bei 45°C gerührt. Nach dieser Zeit wird Ethyl 3-(acetylamino)-2-oxobutanoat in 50 ml Ethanol zugegeben und die Reaktionsmischung 6 h bei 80°C Badtemperatur, anschließend 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird eingeeengt und der Rückstand flash-chromatographisch (Laufmittelgradient Dichlormethan/Methanol 40:1 bis 20:1) gereinigt.

Ausbeute: 2,85 g (35 % d. Th.), amorpher Feststoff.

Fp.: 218°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 1.35 (d, 3H), 1.84 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 5.00 (quint, 1H), 7.16 (d, 1H), 7.59-7.77 (m, 2H), 8.24 (d, 1H), 13.93 (s, 1H).

d) 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5,7-dimethylimidazo[5,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-on

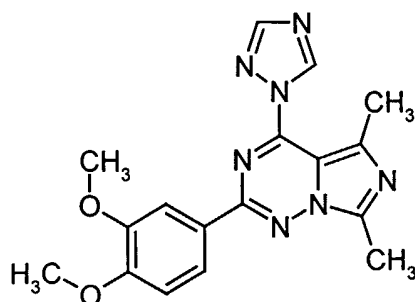


N-{1-[3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-yl]ethyl}acetamid (2,60 g, 8,13 mmol) wird in 100 ml 1,2-Dichlorethan vorgelegt und die Lösung mit 0,19 ml (2,04 mmol) Phosphorylchlorid versetzt. Der Ansatz wird 24 h in der Siedehitze gerührt. Nach dem Abkühlen wird der Niederschlag abgesaugt der Rückstand mit Wasser (2 x 50 ml) und Diethylether (50 ml) gewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 1,90 g (77 % d. Th.)

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 2.55 (s, 3H), 2.64 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 7.13 (d, 1H), 7.58-7.62 (m, 1H), 7.64-7.71 (m, 1H).

e) 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5,7-dimethyl-4-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)imidazo[5,1-
f][1,2,4]triazin



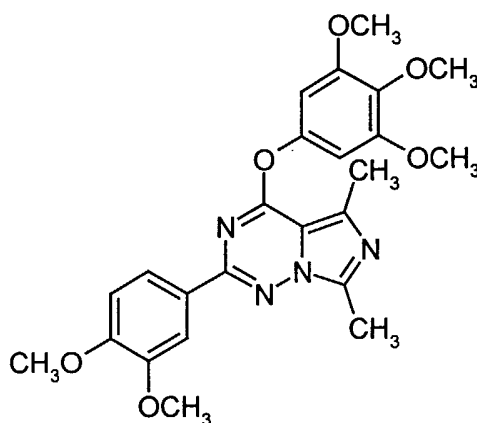
0,53 ml (879 mg, 5,67 mmol) Phosphorylchlorid werden unter Argon zu einer
Lösung von 568 mg (1,89 mmol) N-{1-[3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-oxo-4,5-di-
hydro-1,2,4-triazin-6-yl]ethyl}acetamid in 80 ml trockenem Pyridin bei 0°C zuge-
tropft und der Ansatz für 20 min gerührt. Anschließend wird bei 0°C eine Lösung
von 3,33 g (47 mmol) 1,2,4-Triazol in 80 ml trockenem Pyridin zugegeben und der
Ansatz nach beendeter Zugabe bei RT für 16 h gerührt. Die dunkelrote Reaktions-
mischung wird eingeeengt, der Rückstand mit 150 ml Eiswasser versetzt, und die
Mischung mit Dichlormethan extrahiert (3 x 100 ml). Die vereinigten organischen
Phasen werden getrocknet (Natriumsulfat) und das Lösungsmittel im Vakuum ent-
fernt. Der Rückstand wird flash-chromatographisch gereinigt (Laufmittel Dichlor-
methan/Methanol 40:1). Man erhält 238 mg (36 % d. Th.) an Produkt.

MS (ESI): 352 [M+H]⁺

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 2.81 (s, 3H), 2.87 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 6.99 (d, 1H), 7.88 (d, 1H), 8.00 (q, 1H), 8.26 (s, 1H), 9.36 (s, 1H).

Fp.: 220°C

f) 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5,7-dimethyl-4-(3,4,5-trimethoxyphenoxy)imidazo[5,1-f][1,2,4]triazin



5

Eine Lösung von 208 mg (1,85 mmol) Kalium tert.-Butylat, 682 mg (3,70 mmol) 3,4,5-Trimethoxyphenol und 650 mg (1,85 mmol) 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5,7-dimethyl-4-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)imidazo[5,1-f][1,2,4]triazin in 120 ml Pyridin werden für 16 h in der Siedehitze gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 200 ml Dichlormethan aufgenommen. Man wäscht mit 2 N Salzsäure (3 x 50 ml) und ges. Natriumchlorid-Lsg. (50 ml), trocknet über Natriumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man reinigt zunächst flash-chromatographisch (Laufmittelgradient Dichlormethan-Dichlormethan / Methanol 20:1), anschließend durch HPLC, und trocknet in Hochvakuum.

15

Ausbeute: 525 mg (61 % d. Th.)

Fp.: 184°C;

20

MS (DCI): 467 [M+H]⁺;

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ = 2.61 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.78 (s, 9H), 6.84 (s, 2H), 7.06 (d, 1H), 7.59-7.68 (m, 2H).

Patentansprüche

1. Verwendung von PDE 10A-Inhibitoren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von neurodegenerativen Erkrankungen.
5
2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die neurodegenerative Erkrankung das Parkinson-Syndrom ist.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei der PDE 10A-Inhibitor einen
10 IC₅₀-Wert von weniger als 1 µM hat.
4. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei der PDE 10A-Inhibitor einen IC₅₀-Wert von weniger als 100nM hat.
- 15 5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei der PDE 10A-Inhibitor selektiv gegenüber anderen Phosphodiesterasen ist.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei der PDE 10A-Inhibitor selektiv gegenüber PDE 1C, 2A, 3B, 4B, 5A und 7B ist.
20
7. Verwendung nach Anspruch 5 oder 6, wobei der PDE 10A-Inhibitor um mindestens den Faktor 10 potenter die PDE 10A als die anderen Phosphodiesterasen inhibiert.
- 25 8. Verwendung von PDE 10A-Inhibitoren nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe des idiopathischen Parkinson-Syndroms.