



(12) PATENT

(19) NO

(11) 326745

(13) B1

NORGE

(51) Int Cl.

C07D 295/033 (2006.01)

A61K 31/18 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20040725	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2002.08.21 PCT/GB02/03867
(22)	Inng.dag	2004.02.19	(85)	Videreføringsdag	2004.02.19
(24)	Løpedag	2002.08.21	(30)	Prioritet	2001.08.23, GB, 0120471
(41)	Alm.tilgj	2004.02.19			
(45)	Meddelt	2009.02.09			
(73)	Innehaver	AstraZeneca AB, 15185 SÖDERTÄLJE, SE			
(72)	Oppfinner	John Roger Butlin, c/o AstraZeneca R & D, Alderley, Alderley park, SK104TG MACCLESFIELD, CHESHIRE, GB			
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO			

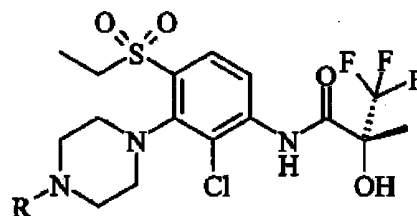
(54) Benevnelse **Substituerte N-fenyl-2-hydroksy-2-metyl-3, 3,3-trifluorpropanamid-derivater, fremgangsmåte for fremstilling av slike, farmasøytisk medikament omfattende slike samt anvendelse av slike for fremstilling av medikament for behandling av sykdom**

(56) Anførte publikasjoner WO A 0117956

(57) Sammendrag

Forbindelser med formel (I):

hvor R er metyl eller mesyl; og farmasøytisk akseptable salter og in vivo hydrolyserbare estere derav er beskrevet. Også beskrevet er fremgangsmåter for deres fremstilling, farmasøytiske preparater inneholdende dem og anvendelse av dem for å produsere en forhøyning av PDH aktivitet i et varmblodig dyr.



(I)

Foreliggende oppfinnelse angår substituerte N-fenyl-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-trifluorpropanamidderivater, fremgangsmåter for deres fremstilling, farmasøytiske preparater inneholdende dem som den aktive bestanddel, anvendelse av dem som medikamenter og anvendelse av dem ved fremstilling av medikamenter for anvendelse ved forøkning av PDH 5 aktiviteten hos varmblodige dyr så som mennesker. Spesielt angår foreliggende oppfinnelse forbindelser anvendelige for behandling av diabetes mellitus, perifer vaskulær sykdom og myokardial ischemi hos varmblodige dyr så som mennesker, mer spesielt anvendelse av disse forbindelser ved fremstilling av medikamenter for anvendelse ved behandling av diabetes mellitus hos varmblodige dyr så som mennesker.

10 I vev tilveiebringer adenosintrifosfat (ATP) energi for syntese av komplekse molekyler og, i muskel, for kontraksjon. ATP blir dannet fra nedbrytningen av energirike substrater så som glukose eller lang kjedete frie fettsyrer. I oksydative vev så som muskel blir hoveddelen av ATP dannet fra acetyl CoA som går inn i sitronsyresyklusen, således er tilførsel av acetyl CoA en kritisk determinant av ATP produksjonen i oksydative vev.

15 Acetyl CoA blir produsert enten ved β -oksidasjon av fettsyrer eller som et resultat av glukose metabolisme ved glykolytisk bane. Nøkkel regulatorisk enzym for å kontrollere raten av acetyl CoA dannelse fra glukose er PDH som katalyserer oksidering av pyruvat til acetyl CoA og karbondioksid med ledsagende reduksjon av nikotinamidadenindinukleotid (NAD) til NADH.

20 I sykdomstilstander så som både ikke-insulin avhengig (Type 2) og insulinavhengig (Type 1) diabetes mellitus, er oksidasjon av lipider forøket med en ledsagende reduksjon i anvendelse av glukose, som bidrar til hyperglykemi. Redusert glukose anvendelse i både Type 1 og Type 2 diabetes er forbundet med en reduksjon i PDH aktivitet. I tillegg, kan en ytterligere konsekvens av redusert PDH aktivitet være at en økning i pyruvat konsentrasjon 25 resulterer i øket tilgjengelighet av laktat som et substrat for hepatisk gluconeogenese. Det er rimelig å vente at økende aktiviteten av PDH kunne øke raten av glukose oksidasjon og således den totale glukose anvendelsen, i tillegg til å redusere hepatisk glukose ytelse. En annen faktor som bidrar til diabetes mellitus er svekket insulinsekresjon, som er vist å være forbundet med redusert PDH aktivitet i pankreatiske β -celler (i en gnager genetisk modell 30 av diabetes mellitus Zhou et al. (1996) Diabetes 45: 580-586).

Oksidasjon av glukose kan gi mer ATP pr. mol av oksygen enn oksidasjon av fettsyrer. I tilstander hvor energibehovet kan overstige energitilførselen, så som myokardial ischemi, intermittent claudikasjon, cerebral ischemi og reperfusjon, (Zaidan et al., 1998; J.

Neurochem. 70: 233-241), kan et skifte av balansen av substrat anvendelse i favør av glukose metabolisme ved forhøyende PDH aktivitet forventes å forbedre evnen til å opprettholde ATP nivåer og således funksjonen.

Et middel som kan forhøye PDH aktivitet kan også forventes å være fordelaktig ved
5 behandling av tilstander hvor et overskudd av sirkulerende melkesyre er manifest så som i visse tilfeller av sepsis.

Midlet dikloreddiksyre (DCA) som øker aktiviteten til PDH etter akutt administrering hos dyr, (Variere et al., 1988; Circ. Sjøkk, 24: 3-18), er vist å ha de antatte effekter ved reduksjon av glycaemi, (Stacpoole et al., 1978; N. Engl. J. Med. 298: 526-530)
10 og som en terapi for myokardial ischemi (Bersin og Stacpoole 1997; American Heart Journal, 134: 841-855) og melkesyre "acidaemia", (Stacpoole et al., 1983; N. Engl. J. Med. 309: 390-396).

PDH er et intramitokondrielt multienzym kompleks bestående av multiple kopier av mange subenheter omfattende tre enzym aktiviteter E1, E2 og E3, nødvendig for fullføring
15 av omdannelsen av pyruvat til acetyl CoA (Patel og Roche 1990; FASEB J., 4: 3224-3233). E1 katalyserer irreversible tap av CO₂ fra pyruvat; E2 danner acetyl CoA og E3 reduserer NAD til NADH. To ytterligere enzymaktiviteter er forbundet med komplekset: en spesifikk kinase som kan fosforylere E1 ved tre serinresiduer og en løst-assosiert spesifikk fosfatase som reverserer fosforyleringen. Fosforylering av en enkelt én av tre serinresiduer gjør E1
20 inaktiv. Andel av PDH i dens aktive (defosforylert) tilstand blir bestemt av en balanse mellom aktiviteten til kinase og fosfatase. Aktiviteten til kinase kan bli regulert *in vivo* av relative konsentrasjoner av metabolske substrater så som NAD/NADH, CoA/acetylCoA og adenosindifosfat (ADP)/ATP så vel som av tilgjengeligheten av pyruvat selv.

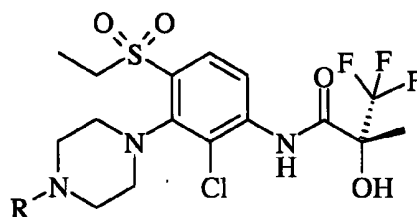
En forbindelse som forhøyer PDH aktiviteten kan potensielt ha verdi ved behandling
25 av sykdomstilstander forbundet med lidelser for glukose anvendelse så som diabetes mellitus, fedme, (Curto et al., 1997; Int. J. Obes. 21: 1137-1142) og melkesyre "acidaemia". I tillegg kan en slik forbindelse forventes å være anvendelig i sykdommer hvor tilførselen av energirike substrater til vev er begrensende så som perifer vaskulær sykdom, (omfattende intermediær claudikasjon), hjerte- svikt og visse hjerte- myopati, muskelsvakhet,
30 hyperlipidemi og aterosklerose (Stacpoole et al., 1978; N. Engl. J. Med. 298: 526-530). En forbindelse som aktiverer PDH kan også være anvendelig for behandling av Alzheimer's sykdom (AD) (J Neural Transm (1998) 105, 855-870).

Europeisk Patent Publikasjon Nr. 617010 og 524781 beskriver forbindelser som kan avslappe blære glattmuskel og som kan anvendes ved behandling av "urge" inkontinens. Internasjonale Søknader WO 9944618, WO 9947508, WO 9962506, WO 9962873, WO 01/17942, WO 01/17955 og WO 01/17956 beskriver forbindelser som hever PDH

5 aktiviteten. Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse er ikke spesifikt beskrevet i noen som helst av de ovenfor angitte søknadene og vi har overraskende funnet at disse forbindelsene har fordelaktige egenskaper med hensyn på én eller flere av deres farmakologiske aktivitet (spesielt som forbindelser som hever pyruvatdehydrogenase) og / eller farmakokinetiske, effektive, metabolske og toksikologiske profiler som gjør dem

10 spesielt egnete for *in vivo* administrering til et varmblodig dyr, så som mennesker.

Følgelig tilveiebringer foreliggende oppfinnelse en forbindelse med formel (I):



(I)

hvor R er metyl eller mesyl;

15 eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav.

I ett aspekt ved foreliggende oppfinnelse er R metyl.

I et ytterligere aspekt ved foreliggende oppfinnelse er R mesyl.

Ytterligere aspekter ved foreliggende oppfinnelse er de som angår en forbindelse eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

20 Det skal også forstås at en forbindelse med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav og *in vivo* hydrolyserbare estere derav kan eksistere i solvatiserte så vel som usolvatiserte former så som for eksempel hydratiserte former. Det skal forstås at oppfinnelsen omfatter alle slike solvatiserte former som hever PDH aktiviteten.

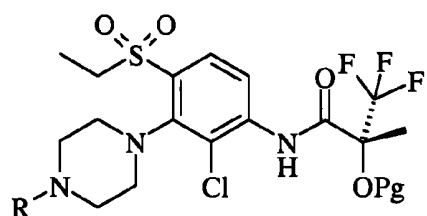
En forbindelse med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter derav og *in vivo*

25 hydrolyserbare estere derav kan fremstilles ved hvilken som helst prosess kjent å være anvendbar for fremstilling av kjemiske beslektete forbindelser. Slike prosesser omfatter, for eksempel de illustrert i Europeisk Patentsøknader, Publikasjon Nr. 0524781, 0617010, 0625516 og i GB 2278054 og i Internasjonale Søknader WO 9323358, WO 9738124, WO

9944618, WO 9947508, WO 9962506, WO 9962873, WO01/17942, WO 01/17955 og WO01/17956.

Et annet aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en fremgangsmåte for fremstilling av forbindelser med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav, idet prosessen (hvor variable grupper er som definert for formel (I) hvis ikke annet er angitt) omfatter:

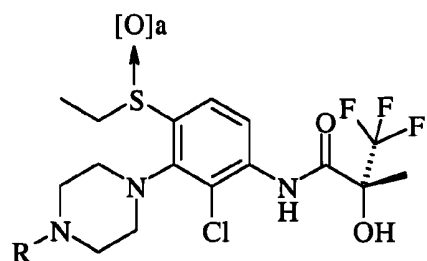
(a) avbeskyttelse av en beskyttet forbindelse med formel (II):



(II)

10 hvor Pg er en alkohol beskyttelsesgruppe;

(b) oksidering av en forbindelse med formel (III):

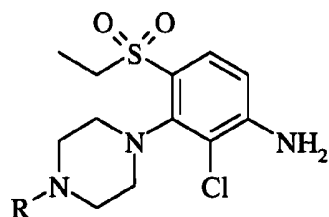


(III)

hvor en er 0 eller 1;

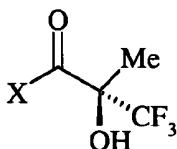
15 (c) kobling av en forbindelse med formel (IV):

5



(IV)

med syren med formel (V):



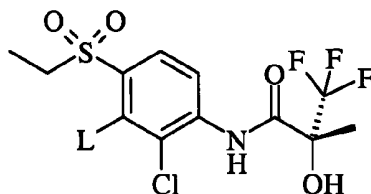
(V)

5

hvor X er OH;

(d) kobling av et anilin med formel (IV) med et aktivert syrederivat med formel (V);

(e) omsetning av en forbindelse med formel (VI):

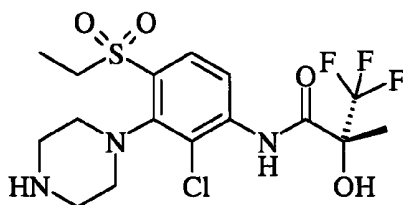


(VI)

10

hvor L er en utskiftbar-gruppe; med 4-mesylpiperazin eller 4-metylpiperazin;

(f) for forbindelser med formel (I) hvor R er metyl; metylering av forbindelsen med formel (VII):



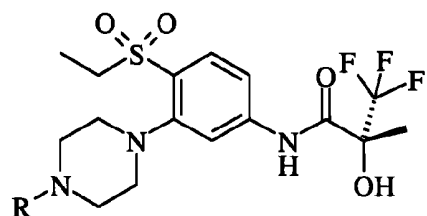
(VII)

15

(g) for forbindelser med formel (I) hvor R er mesyl; mesylering av forbindelsen med formel (VII);

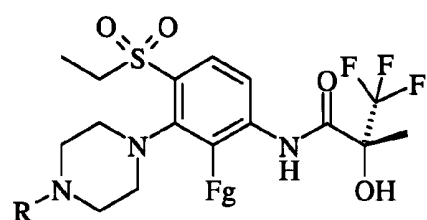
(h) klorering av en forbindelse med formel (VIII):

6



(VIII)

(i) funksjonell gruppe omdannelse til klor av en forbindelse med formel (IX):

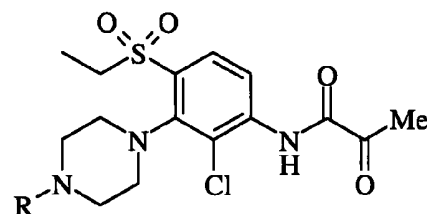


(IX)

5

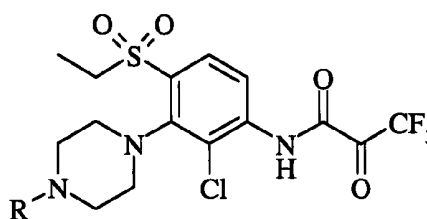
hvor Fg er en funksjonell gruppe;

(j) tilsetning av et organometallisk reagens til en forbindelse med formel (X):



(X)

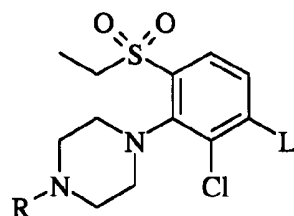
10 (k) tilsetning av et organometallisk reagens til en forbindelse med formel (XI):



(XI)

(l) tilsetning av en forbindelse med formel (V) hvor X er NH₂ til en forbindelse med formel (XII):

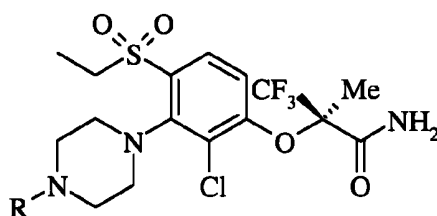
7



(XII)

hvor L er en utskiftbar gruppe;

(m) Smiles omleiring av en forbindelse med formel (XIII):



(XIII)

eller

(n) separering av en blanding av (R) og (S) enantiomerer av forbindelser med formel (I),
hvilket gir (R)-enantiomer;

10 og deretter hvis nødvendig dannelse av et farmasøytisk akseptabelt salt eller *in vivo*
hydrolyserbar ester.

Egnete verdier for Pg er en benzylgruppe, en silylgruppe (for eksempel en
trialkylsilylgruppe eller en alkyldifenylsilylgruppe) eller en acetyl beskyttelsesgruppe.

Hvor formel (V) er et aktivert syrederivat, egnete verdier for X omfatter halogen
15 (for eksempel klor eller brom), anhydrider, aryloksyer (for eksempel 4-nitrofenoksy eller
pentafluorfenoksy) eller imidazol-1-yl.

L er en utskiftbar gruppe. Egnete verdier for L omfatter fluor, klor, brom, nitro,
metansulfonat og trifluormetansulfonat.

Fg er en funksjonell gruppe. En egnet funksjonell gruppe er amino som kan bli
20 interomdannet ved diazotisering og omsetning av diazoniumsaltet med klorid under
kobberkatalyse.

Spesifikke betingelser for reaksjonen ovenfor er som følger:

Prosess (a)

Eksempler på egnede reagenser for avbeskyttelse av en alkohol med formel (II) er:

25 1) når Pg er benzyl:

(i) hydrogen i nærvær av palladium/karbon katalysator, dvs. hydrogenolyse; eller

(ii) hydrogenbromid eller hydrogenjodid;

2) når Pg er en silyl beskyttelsesgruppe:

(i) tetrabutylammoniumfluorid; eller

5 (ii) fluorhydrogensyre eller saltsyre;

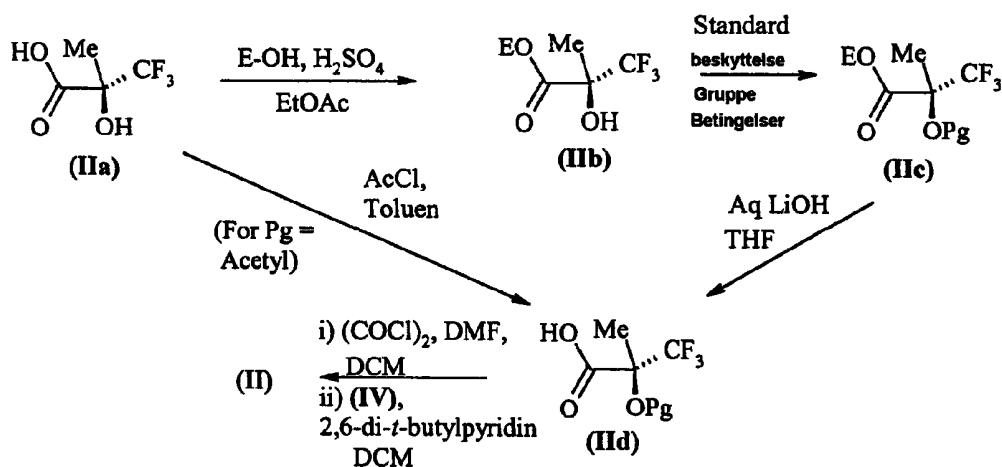
3) når Pg er acetyl:

i) mild vandig base for eksempel litiumhydroksyd; eller

ii) ammoniakk eller et amin så som dimetylamin.

Reaksjonen kan utføres i et egnet løsningsmiddel så som etanol, metanol, acetonitril
10 eller dimetylsulfoksyd og kan hensiktsmessig utføres ved en temperatur i området -40 til 100°C.

Forbindelser med formel (II) kan fremstilles i henhold til det følgende skjema:



Skjema 1

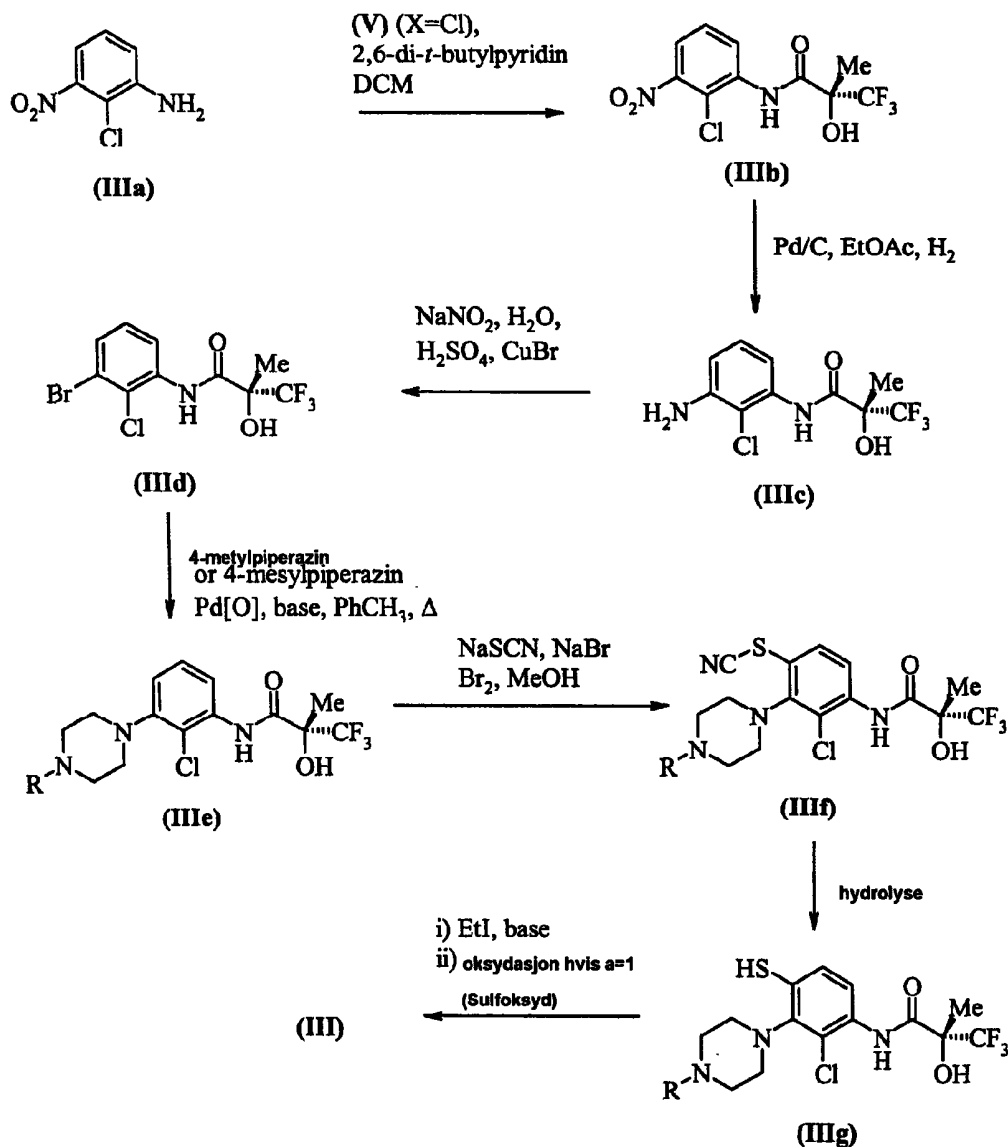
15 E er en karboksy beskyttelsesgruppe. Egnet verdier for E omfatter C₁₋₆alkyl, så som metyl og etyl.

Forbindelsen med formel (IIa) er en kommersielt tilgjengelig forbindelse.

Prosess (b)

Egnete oksyderingsmidler omfatter kaliumpermanganat, OKSONE™,
20 natriumperiodat, persyrer (så som for eksempel 3-klorperoksybenzoesyre eller pereddiksyre), hydrogenperoksyd, TPAP (tetrapropylammoniumperruthenat) eller oksygen. Reaksjonen kan utføres i et egnet løsningsmiddel så som dietyleter, DCM, metanol, etanol, vann, eddiksyre eller blandinger av to eller flere av disse løsningsmidler. Reaksjonen kan hensiktsmessig utføres ved en temperatur i området -40 til 100°C.

Forbindelser med formel (III) kan fremstilles i henhold til det følgende skjema:



Skjema 2

Forbindelsen med formel (IIIa) er en kommersielt tilgjengelig forbindelse.

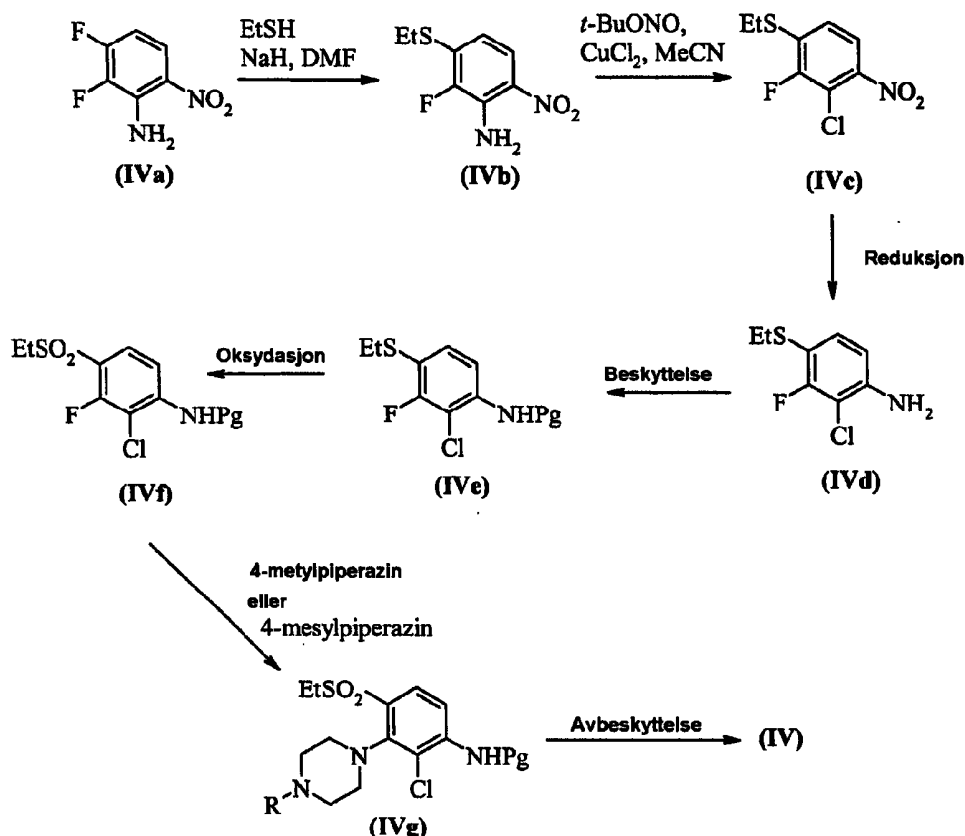
5 Prosess (c)

Reaksjonen kan utføres i nærvær av et egnet koblingsreagens. Standard amid koblingsreagenser kjent på området kan anvendes som egnet koblingsreagenser, for eksempel betingelser så som de beskrevet ovenfor for koblingen av (IIIa) og (V) eller (IV) og (II d) eller for eksempel dicykloheksyl-karbodiimid, eventuelt i nærvær av en

10 katalysator så som dimetylaminopyridin eller 4-pyrrolidinopyridin, eventuelt i nærvær av en base for eksempel trietylamin, pyridin eller 2,6-di-*alkyl*-pyridiner (så som 2,6-lutidin

eller 2,6-di-*tert*-butylpyridin) eller 2,6-difenylpyridin. Egnede løsningsmidler omfatter dimetylacetamid, DCM, benzen, THF og DMF. Koblingsreaksjonen kan hensiktsmessig utføres ved en temperatur i området -40 til 40°C.

Forbindelser med formel (IV) kan fremstilles i henhold til det følgende skjema:



5

Skjema 3

Pg er en amin beskyttelsesgruppe så som den beskrevet nedenfor.

Forbindelsene med formel (IVa) og (V) er kommersielt tilgjengelige forbindelser og de er kjent i litteraturen.

- 10 For eksempel kan oppløst syre med formel (V) fremstilles ved hvilken som helst av de kjente metoder for fremstilling av optisk-aktive former (for eksempel ved omkrystallisering av chiralt salt {for eksempel WO 9738124}, ved enzymatisk spaltning eller ved kromatografisk separering ved anvendelse av en chiral stasjonær fase). For eksempel kan (R)-(+)-oppløst syre fremstilles ved metoden ifølge Skjema 2 i PCT
- 15 patentsøknad publikasjon nr. WO 9738124 for fremstilling av (S)-(-) syre, dvs. ved anvendelse av klassisk spaltningsmetode beskrevet i europeisk patentsøknad publikasjon nr. EP 0524781 også for fremstilling av (S)-(-) syre, bortsett fra at (1S,2R)-norephedrin blir

anvendt istedenfor (S)-(-)-1-fenyletylamin. Den chirale syre kan også fremstilles ved anvendelse av den enzymatiske spaltningsmetoden som beskrevet i Tetrahedron Asymmetry, 1999, 10, 679.

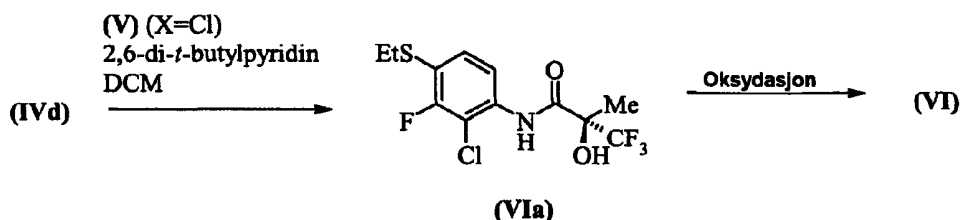
Prosess (d)

Denne kobling kan oppnås eventuelt i nærvær av en base for eksempel trietylamin, pyridin, 2,6-di-*alkyl*-pyridiner (så som 2,6-lutidin eller 2,6-di-*tert*-butylpyridin) eller 2,6-difenylpyridin. Egnede løsningsmidler omfatter dimetylacetamid, DCM, benzen, THF og DMF. Koblingsreaksjonen kan hensiktsmessig utføres ved en temperatur i området -40 til 40°C.

10 Prosess (e)

Denne reaksjonen kan oppnås ved omsetning av 1-mesylpiperazin (US 6140351) eller 1-metylpiperazin (1-20 molekvivalenter, fortrinnsvis 2-10 ekvivalenter) med (VI) i et løsningsmiddel så som *N*-metyl-2-pyrrolidinon eller dimetylacetamid eller alene, med oppvarmning ved en temperatur på fra 40 til 160°C.

15 Forbindelser med formel (VI) hvor L er fluor kan fremstilles ved det følgende skjema.



Skjema 4

Prosess (f)

20 Forbindelse (VII) kan bli metylert ved anvendelse av formaldehyd og et reduksjonsmiddel så som natrium-borhydrid eller natriumtriacetoksyborhydrid i et egnet løsningsmiddel så som 1,2-dikloretan, DCM eller THF, ved en temperatur i området 0°C til tilbakeløp, fortrinnsvis ved eller nær romtemperatur. Alternativt kan forbindelse (VII) bli metylert ved anvendelse av et metyleringsmiddel så som metyljodid eller dimetylsulfat i et

25 løsningsmiddel så som aceton eller DMF i nærvær av en base så som natriumbikarbonat, natriumkarbonat eller natriumhydroksyd, eventuelt med beskyttelse av hydroksygruppen. En fremstilling av Forbindelse (VII) er beskrevet under Metode 1 nedenfor.

Prosess (g)

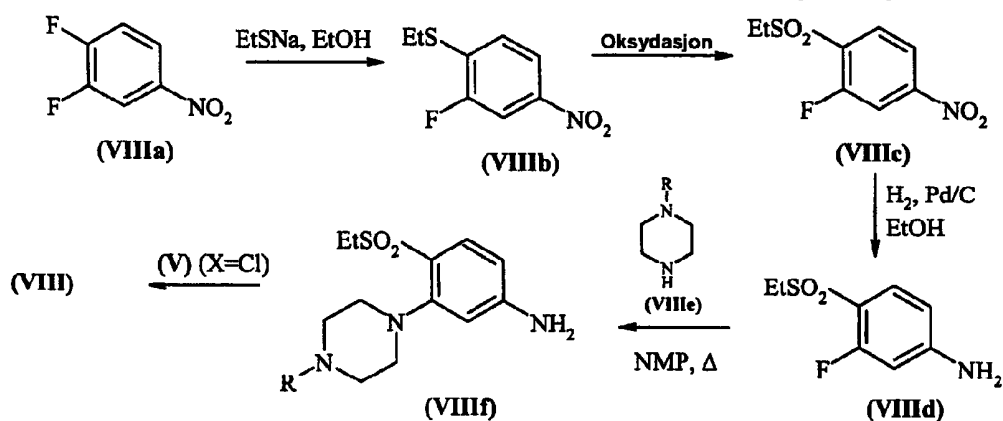
Forbindelse (VII) kan bli mesylert ved anvendelse av et egnet middel så som

metansulfonylchlorid, i nærvær av en base, så som trietylamin, i et egnet løsningsmiddel så som DCM, THF, pyridin eller etylacetat, ved en temperatur i området -40°C til tilbakelep, fortrinnsvis ved eller nær romtemperatur.

Prosess (h)

- 5 Kloreringen kan utføres for eksempel ved anvendelse av N-klorosuccinimid i et løsningsmiddel så som DCM, acetonitril, isopropanol eller DMF ved en temperatur i området 0°C til tilbakelep eller ved anvendelse av klor i nærvær av en katalysator så som jerntriklorid i et egnet løsningsmiddel så som eddiksyre, DMF eller acetonitril, ved en temperatur i området -20°C til 40°C , fortrinnsvis ved eller under romtemperatur, fulgt av
10 separering av nødvendig produkt fra uønskete isomeriske urenheter, hvis dannet.

Forbindelser med formel (VIII) kan fremstilles i henhold til det følgende skjema:



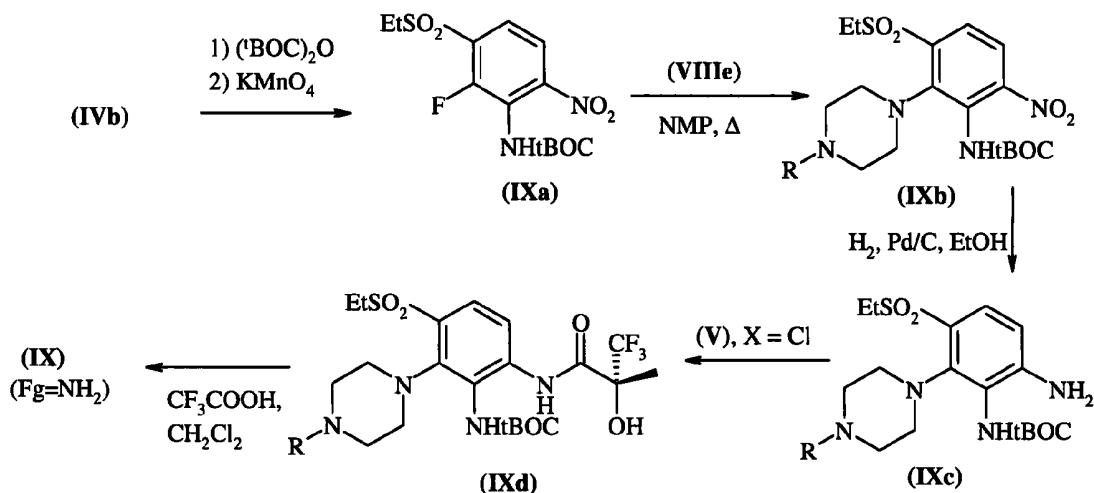
Forbindelse **(VIIa)** er kommersielt tilgjengelig.

Prosess (i)

- 15 Disse funksjonelle gruppe-interomdannelser anvender reagenser og reaksjonsbetingelser velkjent i det kjemiske området.

For eksempel kan funksjonell gruppe interomdannelse av **(IX)** hvor Fg er NH_2 til en forbindelse med formel **(I)** utføres ved diazotisering for eksempel med t-butylnitrit etc i nærvær av en katalysator så som kobber(II) klorid i et løsningsmiddel så som acetonitril,
20 ved en temperatur i området 0°C til tilbakelep, fortrinnsvis ved eller nær romtemperatur. Alternativt kan omdannelsen utføres ved diazotisering med et nitrittsalt i nærvær av en syre så som HCl eller svovelsyre i et løsningsmiddel så som vann, eddiksyre eller blandinger av to, ved en temperatur på fra -20 til 40°C , fulgt av omsetning av således dannet diazoniumsalt med kobber(I) klorid i samme løsningsmiddel ved en temperatur på fra 0°C
25 til tilbakelep.

Forbindelser med formel (IX) kan fremstilles i henhold til det følgende skjema:



Prosess (j)

- 5 Reaksjonen kan utføres ved tilsetning av et egnet reagens så som CF_3SiMe_3 (Ruppert's reagens, Tetrahedron, 2000, 56(39), 7613), som kan oppnås asymmetrisk ved anvendelse av en egnet katalysator så som en chiral cinchoniniumfluorid katalysator, (Tetrahedron Lett., 1994, 35, 3137) og påfølgende sur vandig opparbeidning for å bevirke hydrolyse av tertiær alkoholsilyleter dannet i reaksjonen. Denne reaksjonen kan utføres i et
- 10 egnet løsningsmiddel så som toluen, ved en temperatur i området -100°C til romtemperatur til tilbakeløp, fortrinnsvis ved -78°C til romtemperatur.

Forbindelser med formel (X) kan fremstilles ved metoden ifølge prosess (c), dvs. ved kobling av en forbindelse (IV) med pyrodruesyre istedenfor en syre med formel (V).

Prosess (k)

- 15 Reaksjonen kan utføres ved tilsetning av et egnet organometallisk reagens så som CH_3MgBr eller CH_3CeCl_2 i et løsningsmiddel så som eter eller THF ved en temperatur på -120 til 40°C i nærvær av en chiral katalysator så som en TADDOL (Tetraaryldimetyldioksolan-dimetanol, for eksempel hvor aryl er fenyl eller 2-naftyl; Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1992, 31, 84-6).

- 20 Forbindelser med formel (XI) kan fremstilles ved metoden ifølge prosess (c), dvs. ved kobling av en forbindelse (IV) med trifluorpyrodruesyre (Tetrahedron Lett., 1989, 30(39), 5243) istedenfor en syre med formel (V).

Prosess (l)

Reaksjonen kan utføres ved omsetning av en forbindelse med formel (XII) med

dianion dannet ved behandling av forbindelsen med formel (V) hvor X er NH_2 med to molekvivalenter av base så som natriumhydrid i et egnet løsningsmiddel så som THF eller NMP, ved en temperatur på fra 20-160°C.

En forbindelse med formel (XII) hvor L er Cl kan fremstilles for eksempel ved
5 diazotisering av en forbindelse med formel (IV) ved anvendelse av fremgangsmåten som beskrevet i Prosess (i).

Prosess (m)

Smiles omleiring kan utføres ved behandling av en forbindelse med formel (XIV) med en base så som natriumhydrid i et løsningsmiddel så som DMF.

10 En forbindelse med formel (XIV) kan fremstilles fra en forbindelse med formel (XII) hvor L er Cl med en forbindelse med formel (V) hvor X er NH_2 med én molekvivalent av base så som natriumhydrid i et løsningsmiddel så som THF eller NMP, ved en temperatur på fra 20-160°C.

Prosess (n)

15 Nødvendig optisk aktiv form av en forbindelse med formel (I) kan oppnås ved spaltning av en blanding av en forbindelse med formel (I) og dens tilsvarende (S) enantiomer ved anvendelse av standardprosedyrer velkjent for fagfolk på området, for eksempel krystallisasjon, enzymatisk spaltning eller kromatografisk separering av enantiomerer.

20 Hvis ikke kommersielt tilgjengelig, kan nødvendige utgangsmaterialer for metodene så som de beskrevet ovenfor fremstilles ved prosedyrer som er valgt fra standard organiske kjemiske teknikker, teknikker som er analoge med syntesen av kjente, strukturelt lignende forbindelser eller teknikker som er analoge med ovenfor beskrevet prosedyre eller metodene beskrevet i eksemplene.

25 Det er registrert at mange av utgangsmaterialene for syntesemetoder som beskrevet ovenfor er kommersielt tilgjengelig og/eller omfattende angitt i vitenskapelig litteratur eller kan bli fremstilt fra kommersielt tilgjengelige forbindelser ved anvendelse av tilpasninger av prosessene angitt i vitenskapelig litteratur. Leseren henvises videre til Advanced organic chemistry, 4th Edition, av Jerry March, publisert av John Wiley & Sons 1992, for
30 generell rettledning angående reaksjonsbetingelser og reagenser.

Det vil også forstås at i noen av reaksjonene nevnt her kan det være nødvendig/ønskelig å beskytte hvilken som helst sensitive grupper i forbindelser. Tilfellene hvor beskyttelse er nødvendig eller ønskelig er kjent for fagfolk på området, og også

metoder egnede for slik beskyttelse. Konvensjonelle beskyttelsesgrupper kan anvendes i henhold til standard praksis (for illustrasjon se T.W. Greene, *Protective groups in organic synthesis*, John Wiley and Sons, 1991).

Eksempler på en egnet beskyttelsesgruppe for en hydroksygruppe er for eksempel
 5 en acylgruppe, for eksempel en alkanoylgruppe så som acetyl, en aroylgruppe, for eksempel benzoyl, en silylgruppe så som trimetylsilyl eller en arylmetylgruppe, for eksempel benzyl. Avbeskyttelsesbetingelser for ovenfor beskyttelsesgrupper vil nødvendigvis variere med valget av beskyttelsesgruppe. Således, kan for eksempel en acylgruppe så som en alkanoyl eller en aroylgruppe fjernes, for eksempel ved hydrolyse med en egnet base så som et
 10 alkalimetallhydroksyd, for eksempel litium eller natriumhydroksyd. Alternativt kan en silylgruppe så som trimetylsilyl fjernes, for eksempel av fluorid eller av vandig syre; eller en arylmetylgruppe så som en benzylgruppe kan fjernes, for eksempel ved hydrogenering i nærvær av en katalysator så som palladium-på-karbon.

En egnet beskyttelsesgruppe for en aminogruppe er for eksempel en acylgruppe, for
 15 eksempel en alkanoylgruppe så som acetyl, en alkoksykarbonylgruppe, for eksempel en metoksykarbonyl, etoksykarbonyl eller *t*-butoksykarbonylgruppe, en arylmetoksykarbonylgruppe, for eksempel benzyloksykarbonyl eller en aroylgruppe, for eksempel benzoyl. Avbeskyttelsesbetingelser for ovenfor beskyttelsesgrupper varierer nødvendigvis med valget av beskyttelsesgruppe. Således, kan for eksempel en acylgruppe
 20 så som en alkanoyl eller alkoksykarbonylgruppe eller en aroylgruppe fjernes for eksempel ved hydrolyse med en egnet base så som et alkalimetallhydroksyd, for eksempel litium eller natriumhydroksyd. Alternativt kan en acylgruppe så som en *t*-butoksykarbonylgruppe fjernes, for eksempel ved behandling med en egnet syre som saltsyre, svovelsyre eller fosforsyre eller trifluoreddiksyre og en arylmetoksykarbonylgruppe så som en
 25 benzyloksykarbonylgruppe kan fjernes, for eksempel ved hydrogenering over en katalysator så som palladium-på -karbon eller ved behandling med en Lewis-syre for eksempel bortris(trifluoracetat). En egnet alternativ beskyttelsesgruppe for en primær aminogruppe er for eksempel en ftaloylgruppe som kan fjernes ved behandling med en alkylamin, for eksempel dimetylaminopropylamin eller 2-hydroksyetylamin eller med
 30 hydrazin.

Beskyttelsesgruppene kan fjernes ved et hvilket som helst hensiktsmessig trinn i syntesen ved anvendelse av konvensjonelle teknikker velkjent i det kjemiske området eller de kan fjernes i løpet av et senere reaksjonstrinn eller opparbeidelse.

En forbindelse med formel (I) kan danne stabile syre eller basiske salter og i slike tilfeller kan administrering av en forbindelse som et salt være passende og farmasøytisk akseptable salter kan fremstilles ved konvensjonelle metoder så som de beskrevet nedenfor. Eksempler på egnede farmasøytisk akseptable salter er organiske syreaddisjonssalter
 5 dannet med syrer som danner et fysiologisk akseptabelt anion, for eksempel tosylat, metansulfonat og α -glycerofosfat. Egnete uorganiske salter kan også dannes så som sulfat, nitrat og klorid.

Farmasøytisk akseptable salter kan oppnås ved anvendelse av standard prosedyrer velkjent på området, for eksempel ved omsetning av en forbindelse med formel (I) (og i
 10 noen tilfeller esteren) med en egnet syre hvilket gir et fysiologisk akseptabelt anion. Det er også mulig å danne et tilsvarende alkalimetall (f.eks. natrium, kalium eller litium) eller jordalkalimetall (f.eks. kalsium) salt ved behandling av en forbindelse med formel (I) (og i noen tilfeller esteren) med én ekvivalent av et alkalimetallhydroksyd eller alkoksyd eller en halv ekvivalent av jordalkalimetallhydroksyd eller alkoksyd (f.eks. etoksyd eller metoksyd)
 15 i vandig medium fulgt av konvensjonelle rensningsteknikker.

En *in vivo* hydrolyserbar ester av en forbindelse med formel (I) er for eksempel en farmasøytisk akseptabel ester som blir hydrolysert i menneske- eller dyrekroppen for å produsere opphavssyren eller alkoholen.

Egnete *in vivo* hydrolyserbare estere av en forbindelse med formel (I) dannet med
 20 hydroksygruppen omfatter uorganiske estere så som fosfatestere og α -acyloksyalkyletere. Eksempler på α -acyloksyalkyletere omfatter acetoksymetoksy og 2,2-dimetylpropionyloksi-metoksy. Andre *in vivo* hydrolyserbare esterdannende grupper for hydroksy omfatter alkanoyl, benzoyl, fenylacetyl og substituert benzoyl og fenylacetyl, alkoksykarbonyl (hvilket gir alkylkarbonatere), dialkylkarbamoyl og
 25 *N*-(dialkylaminoetyl)-*N*-alkylkarbamoyl (hvilket gir karbamater), dialkylaminoacetyl og karboksyacetyl. Eksempler på substituenten for benzoyl omfatter morfolino og piperazino bundet fra et ring-nitrogenatom via en metylengruppe til 3- eller 4- stillingen av benzoylringen.

Identifikasjon av forbindelser som øker PDH aktiviteten er gjenstand ifølge
 30 foreliggende oppfinnelse. Disse egenskaper kan bli bedømt, for eksempel ved anvendelse av én eller flere av testprosedyrene kjent i litteraturen, for eksempel de angitt i WO 9962506; det vil si test (a) - *in vitro* forhøyning av PDH aktiviteten, test (b) - *in vitro* forhøyning av PDH aktiviteten i isolerte primære celler og test (c) *in vivo* forhøyning av

PDH aktiviteten og disse tester er inntatt her ved referanse. Alternativt kan disse egenskaper bli bedømt i den følgende testen:

In vitro forhøyning av PDH aktivitet

Dette forsøket bestemmer evnen som en testforbindelse har til å heve PDH aktiviteten. cDNA som koder for PDH kinase kan oppnås ved Polymerasekjedereaksjon (PCR) og påfølgende kloning. Dette kan uttrykkes i et egnet ekspresjonssystem for å oppnå polypeptid med PDH kinase aktivitet. For eksempel ble human PDHkinase2 (rPDHK2) oppnådd ved ekspresjon av rekombinant protein i *Escherichia coli* (E. Coli), funnet å utvise PDH kinase aktivitet.

Human rPDHK2 (Genbank aksjesjonsnummer L42451,1) ble klonet og uttrykt ved metoden beskrevet i Baker et. al. (2000) J. Biol. Chem. 275, 15773-15781. Et protease spaltningssete ble innført i uttrykt protein som beskrevet i denne referansen. Andre kjente PDH kinaser for anvendelse i forsøket, kan klones og uttrykkes på lignende måte. For ekspresjon av rPDHK2 aktivitet, ble E. coli stamme BL21 (DE3) celler transformert med pET28A vektor inneholdende rPDHK2 cDNA. Denne vektoren inkorporerer et 6-His feste "tag" på proteinet ved dens N-terminus. E. coli ble dyrket i en fermentor til en optisk densitet på 12 (550 nm) ved 37°C, reduksjon til 22°C inntil en optisk densitet på 15 ble oppnådd og protein ekspresjon ble fremkalt ved tilsetning av 0,5mM isopropyltio-β-galaktosidase. Celler ble dyrket i 3 timer ved 22°C og høstet ved sentrifugering. Resuspendert cellepasta ble "lysed" ved høy trykk homogenisering og uoppløselig materiale fjernet ved sentrifugering ved 26000xg i 30 minutter. 6-His "tagged" protein ble fjernet fra supernatanten ved anvendelse av en kobolt chelaterende harpiks (TALON: Clontech) matriks som ble vasket i 20mM N-[2-hydroksyetyl]piperazin-N'-[2-etansulfonsyre (HEPES), 500mM NaCl, 1%(volum/volum) etylenglykol, 0,1%(vekt/volum) Pluronic F-68 pH8,0, før en progressiv trinn eluering av bundet protein ved anvendelse av en lignende buffer med tilsetning av 100mM imidazol pH8,0. Eluerte fraksjoner inneholdende 6-His "tagged" protein ble samlet, etylendiaminetetrediksyre (EDTA) og dithiothreitol (DTT) ble satt til en endelig konsentrasjon på 1mM og "tag" spaltet ved tilsetning av PreScission Protease (Amersham Pharmacia Biotech). Denne proteasen ble fjernet ved anvendelse av Glutathion Sepharose (Amersham Pharmacia Biotech). "Untagged" protein ble dialysert inn i en lagringsbuffer av 20mM HEPES-Na, 150mM natriumklorid, 0,5mM EDTA, 1%(vekt/volum) Pluronic F68, 1%(volum/volum) etylenglykol pH8,0 og lagret i alikvoter ved -80°C.

Hver nye porsjon av PDHK enzym på lager ble titrert i forsøket for å bestemme en konsentrasjon hvilket gir omtrent 75% hemning av PDH ved betingelser i forsøket. Lager enzym (typisk 20µg/ml) fikk assosiere i 24 timer ved 4°C med PDH (svine hjerte PDH Sigma P7032) (0,05U/ml) i en buffer inneholdende 50mM 3-[N-Morfolino]propansulfonsyre (MOPS), 20mM dikaliumortofosfat, 60mM kaliumklorid, 2mM magnesiumklorid, 0,4mM etylendiaminetetrediksyre (EDTA), 0,2% Pluronic F68, 1mM dithiothreitol (DTT), pH7,3.

For analysering av aktiviteten til de nye forbindelser, ble forbindelsene fortynnet i 5% DMSO og 5µl overført til individuelle brønner av 384-brønn forsøksplater. Kontroll brønner inneholdt 5µl 5% DMSO istedenfor forbindelse. For å bestemme maksimum rate av PDH reaksjon ble en andre serie av kontroll brønner omfattet inneholdende 5µl av en kjent inhibitor i en endelig konsentrasjon i kinasereaksjonen på 10µM.

40µl pre-assosiert enzymløsning ble tilsatt og fosforyleringsreaksjonen ble initiert ved tilsetning av 5µl 10µM ATP i ovenfor buffer. Etter 45 minutter ved romtemperatur, ble den gjenværende aktivitet til PDH bestemt ved tilsetning av substrater (2,5mM coenzym A, 2,5mM tiamin pyrofosfat (ko-karboksylase), 2,5mM natriumpyruvat, 6mM NAD) i et volum på 40µl og platene ble inkubert i 90 minutter ved omgivelsestemperatur. Fremstilling av redusert NAD (NADH) ble etablert ved målt optisk densitet ved 340nm ved anvendelse av et plate avlesningsspektrofotometer. EC₅₀ for en testforbindelse ble bestemt på vanlig måte ved anvendelse av resultater fra 12 konsentrasjoner av forbindelsen.

I henhold til et ytterligere aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringes et farmasøytisk preparat som omfatter en forbindelse med formel (I) som definert ovenfor eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav, sammen med et farmasøytisk akseptabelt tilsetningsmiddel eller bærer.

Preparatet kan være i en form egnet for oral administrering, for eksempel som en tablett eller kapsel, for parenteral injeksjon (omfattende intravenøs, subkutan, intramuskulær, intravaskulær eller infusjon) for eksempel som en steril løsning, suspensjon eller emulsjon, for topisk administrering for eksempel som en salve eller krem eller for rektal administrering for eksempel som et suppositorium. Generelt kan preparatene ovenfor fremstilles på konvensjonell måte ved anvendelse av konvensjonelle tilsetningsmidler.

Preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse blir fordelaktig presentert i enhetsdoseform. En forbindelse vil normalt administreres til et varmblodig dyr i en

enhetsdose innen området 5-5000 mg pr. kvadrat meter kroppsareal av dyret, dvs. omtrent 0,1-1 00 mg/kg. En enhetsdose i området, for eksempel 1-100 mg/kg, fortrinnsvis 1-50 mg/kg kommer i betraktning og dette tilveiebringer normalt en terapeutisk-effektiv dose. En enhetsdoseform så som en tablett eller kapsel vil vanligvis inneholde, for eksempel
 5 1-250 mg aktiv bestanddel.

I henhold til et ytterligere aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringes en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav som definert ovenfor for anvendelse av slike for fremstilling av et medikament for behandling av menneske- eller dyrekroppen ved terapi.

10 Vi har funnet at forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse øker PDH aktiviteten og er derfor av interesse for deres blod glukose-nedsettende effekter.

Et ytterligere trekk ifølge foreliggende oppfinnelse er en forbindelse med formel (I) og farmasøytisk akseptable salter eller *in vivo* hydrolyserbare estere derav for anvendelse som et medikament.

15 Hensiktsmessig er dette en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav, for anvendelse som et medikament for å produsere en forhøyning av PDH aktivitet i varmblodige dyr så som et menneske.

Spesielt er dette en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt
 20 eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav, for anvendelse som et medikament for behandling av diabetes mellitus i et varmblodig dyr så som et menneske.

Spesielt er dette en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav, for anvendelse som et medikament for behandling av diabetes mellitus, perifer vaskulær sykdom og myokardial ischemi i et
 25 varmblodig dyr så som et menneske.

Således i henhold til et ytterligere aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringes anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav ved fremstilling av et medikament for anvendelse ved fremstilling av en forhøyning av PDH aktivitet i et varmblodig dyr så som et menneske.

30 Således i henhold til et ytterligere aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringes anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav ved fremstilling av et medikament for anvendelse ved behandling av diabetes mellitus i et varmblodig dyr så som et menneske.

Således i henhold til et ytterligere aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringes anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav ved fremstilling av et medikament for anvendelse ved behandling av diabetes mellitus, perifer vaskulær sykdom og myokardial ischemi i et varmlodig dyr så som et menneske.

I henhold til et ytterligere aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringes et farmasøytisk preparat som omfatter en forbindelse med formel (I) som definert ovenfor eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav, sammen med et farmasøytisk akseptabelt tilsetningsmiddel eller bærer for anvendelse ved produksjon av en forhøyning av PDH aktivitet i et varmlodig dyr, så som et menneske.

I henhold til et ytterligere aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringes et farmasøytisk preparat som omfatter en forbindelse med formel (I) som definert ovenfor eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav, sammen med et farmasøytisk akseptabelt tilsetningsmiddel eller bærer for anvendelse ved behandling av diabetes mellitus i et varmlodig dyr, så som et menneske.

I henhold til et ytterligere aspekt ved foreliggende oppfinnelse tilveiebringes et farmasøytisk preparat som omfatter en forbindelse med formel (I) som definert ovenfor eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav, sammen med et farmasøytisk akseptabelt tilsetningsmiddel eller bærer for anvendelse ved behandling av diabetes mellitus, perifer vaskulær sykdom og myokardial ischemi i et varmlodig dyr, så som et menneske.

Som angitt ovenfor vil størrelsen av dosen nødvendig for terapeutisk eller profylaktisk behandling av en spesiell sykdomstilstand nødvendigvis variere avhengig av verten som blir behandlet, administreringsveien og alvorlighetsgraden av sykdommen som behandles. Fortrinnsvis blir en daglig dose i området 1-50 mg/kg anvendt. Imidlertid vil den daglige dosen nødvendigvis variere avhengig av verten som blir behandlet, den spesielle administreringsvei og alvorlighetsgraden av sykdommen som behandles. Følgelig kan den optimale dose bestemmes av legen som behandler en hvilken som helst spesiell pasient.

Som angitt ovenfor er forbindelser definert i foreliggende oppfinnelse av interesse for deres evne til å øke aktiviteten til PDH. En forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse kan derfor være anvendelig i et område av sykdomstilstander omfattende diabetes mellitus, perifer vaskulær sykdom, (omfattende "intermittent claudication"), hjerte- svikt og visse hjerte- myopater, myokardial ischemi, cerebral ischemi og reperfusjon, muskel svakhet,

hyperlipidemier, Alzheimer's sykdom og/eller aterosklerose. Alternativt kan slike forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse være anvendelige i et område av sykdomstilstander omfattende perifer vaskulær sykdom, (omfattende "intermittent claudication"), hjerte- svikt og visse hjerte- myopater, myokardial ischemi, cerebral ischemi og reperfusjon, muskel svakhet, hyperlipidemier, Alzheimer's sykdom og/eller aterosklerose spesielt perifer vaskulær sykdom og myokardial ischemi.

I tillegg til dens anvendelse i terapeutisk medisin, er forbindelser med formel (I) og deres farmasøytisk akseptable salter og *in vivo* hydrolyserbare estere også anvendelige som farmakologisk verktøy for utviklingen og standardiseringen av *in vitro* og *in vivo* test systemer for evaluering av virkningene av forhøyningsmidler av PDH aktivitet i laboratoriedyr så som katter, hunder, kaniner, aper, rotter og mus, som del av søket etter nye terapeutiske midler.

Oppfinnelsen vil nå bli illustrert ved det følgende eksempel hvor, hvis ikke angitt på annen måte:

- (i) temperaturer er gitt i grader Celsius ($^{\circ}\text{C}$); operasjoner ble utført ved rom eller omgivelsestemperatur, dvs. ved en temperatur i området $18-25^{\circ}\text{C}$ og under en atmosfære av en inert gass så som argon;
- (ii) organiske løsninger ble tørket over vannfritt magnesiumsulfat; inndampning av løsningsmiddel ble utført ved anvendelse av en rotasjonsinndamper under redusert trykk ($600-4000$ Pascal; $4,5-30$ mmHg) med en bad temperatur på opptil 60°C ;
- (iii) kromatografi betyr flash kromatografi på silikagel; hvor en Biotage patron er referert til betyr dette en patron inneholdende KP-SILTM silika, $60\text{\AA}$, partikkelstørrelse $32-63\text{mM}$, levert av Biotage, en division av Dyax Corp., 1500 Avon Street Forlenget, Charlottesville, VA 22902, USA;
- (iv) generelt, ble reaksjonsforløpet fulgt av TLC og reaksjonstider er gitt kun for illustrasjon;
- (v) utbytter er gitt kun for illustrasjon og er ikke nødvendigvis de som kan oppnås ved grundig prosess utvikling; fremstillinger ble gjentatt hvis mere materiale var nødvendig;
- (vi) hvor gitt, er NMR data i form av delta verdier for hoveddiagnostiske protoner, gitt i deler pr. million (ppm) i forhold til tetrametylsilan (TMS) som en indre standard, bestemt ved 300 MHz (hvis ikke annet er angitt) ved anvendelse av perdeuteriodimetylsulfoksyd ($\text{DMSO}-d_6$) som løsningsmiddel; og toppmultiplisiteter er vist som følger: s, singlett; d, dublett; dd, dobbel dublett; t, triplett; tt, trippel triplett; q, kvartett; tq, trippel kvartett; m,

multippelt; br, bred;

(vii) kjemisk symboler har deres vanlige betydninger; SI enheter og symboler blir anvendt;

(viii) løsningsmiddelforhold er gitt i volum: volum (volum/volum) betegnelser;

(ix) massespektra (MS) ble kjørt med en elektron energi på 70 elektron volt ved kjemisk
 5 ionisasjons (CI) måte ved anvendelse av en direkte eksponeringsprobe; hvor angitt
 ionisasjon ble utført ved elektron innvirkning (EI), hurtig atombombardement (FAB) eller
 elektrospy (ESP); verdier for m/z er gitt; generelt, er bare ioner som indikerer
 opphavsmasse angitt og hvis ikke annet er angitt er verdien sitert $(M-H)^+$;

(x) De følgende forkortelser blir anvendt:

10	NMP	1-metyl-2-pyrrolidinon;
	DMF	<i>N,N</i> -dimetylformamid;
	THF	tetrahydrofuran
	DCM	diklormetan; og
	EtOAc	etylacetat;

15 (xi) hvor (R) eller (S) stereokjemi er angitt ved begynnelsen av et navn refererer angitte
 stereokjemi til $-NH-C(O)-C^*(Me)(CF_3)(OH)$ senteret som vist i formel (I).

Eksempel 1

(R)-N-[2-klor-4-etylsulfonyl-3-(4-metyl)piperazin-1-yl]fenyl]-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-trifluorpropanamid

20 Formaldehyd (0,77 g) og natriumtriacetoksyborhydrid (1,00 g) ble satt til en omrørt
 løsning av (R)-N-(2-klor-4-etylsulfonyl-3-piperazin-1-yl)fenyl]-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-
 trifluorpropanamid (0,467 g; Metode 1) i 1,2-dikloreten (9 ml). Reaksjonsblandingen ble
 omrørt ved en omgivelsestemperatur i 16 timer, deretter ble 1M NaOH-løsning (20 ml)
 tilsatt og produktet ble ekstrahert med DCM (3 x 30 ml). Kombinerte organiske ekstrakter
 25 ble tørket og flyktig materiale ble fjernet ved inndampning. Residuet ble omkrystallisert fra
 EtOAc / isoheksan, hvilket gir tittelforbindelsen (0,315 g) som et fast stoff. NMR: 1,11
 (3H, t), 1,60 (3H, s), 2,10-2,18 (2H, m), 2,21 (3H, s), 2,70-2,82 (4H, m), 3,53 (2H, q),
 3,55-3,62 (2H, m), 7,91 (1H, d), 8,07 (1H, brs), 8,23 (1H, d), 9,94 (1H, brs); m/z : 456.

Eksempel 2

(R)-N-[2-klor-4-etylsulfonyl-3-(4-metylpiperazin-1-yl)fenyl]-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-trifluorpropanamid (alternativ preparering)

1-metylpiperazin (0,102 g) ble satt til en omrørt løsning av (R)-N-(4-etylsulfonyl-3-fluor-2-klorfenyl)-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-trifluorpropanamid (Eksempel 15 i WO 01/17956; 0,096 g) i NMP (1 ml). Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved 130°C i 24 timer. Reaksjonsblandingen fikk avkjøles, deretter ble en mettet løsning av ammoniumklorid (100 ml) tilsatt. Produktet ble ekstrahert med dietyleter (3 x 100 ml). De organiske ekstrakter ble tørket og flyktig materiale ble fjernet ved inndampning. Residuet ble renset ved kromatografi på en Biotage patron (8 g silika) under eluering med 5% metanol / DCM, hvilket gir tittelforbindelsen (0,086 g) som et fast stoff. NMR: 1,11 (3H, t), 1,60 (3H, s), 2,10-2,18 (2H, m), 2,21 (3H, s), 2,70-2,82 (4H, m), 3,53 (2H, q), 3,55-3,62 (2H, m), 7,91 (1H, d), 8,07 (1H, brs), 8,23 (1H, d), 9,94 (1H, brs); m/z: 456.

Eksempel 3

(R)-N-[2-klor-4-etylsulfonyl-3-(4-mesylpiperazin-1-yl)fenyl]-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-trifluorpropanamid

Trietylamin (0,091 g) og metansulfonylklorid (0,124 g) ble satt til en omrørt suspensjon av (R)-N-(2-klor-4-etylsulfonyl-3-piperazin-1-ylfenyl)-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-trifluorpropanamid (0,401 g; Metode 1) i DCM (10 ml). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved omgivelsestemperatur i 2 timer, deretter ble en mettet løsning av ammoniumklorid (20 ml) tilsatt og produktet ble ekstrahert med DCM (3 x 30 ml). De organiske ekstrakter ble tørket og flyktig materiale ble fjernet ved inndampning. Residuet ble renset ved kromatografi på en Biotage patron (8 g silika) under eluering med 50-70% EtOAc / isoheksan, hvilket gir tittelforbindelsen (0,215 g) som et fast stoff. NMR (CDCl₃): 1,26 (3H, t), 1,78 (3H, s), 2,86 (3H, s), 3,01-3,18 (4H, m), 3,39 (2H, q), 3,68 (1H, s), 3,75-3,87 (4H, m), 8,01 (1H, d), 8,57 (1H, d), 9,62 (1H, brs); m/z: 520.

Eksempel 4

(R)-N-[2-klor-4-etylsulfonyl-3-(4-mesylpiperazin-1-yl)fenyl]-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-trifluorpropanamid (alternativ preparering)

1-metansulfonylpiperazin (0,370 g) ble satt til en omrørt løsning av (R)-N-(4-etylsulfonyl-3-fluor-2-klorfenyl)-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-trifluorpropanamid (Eksempel

15 av WO 01/17956; 0,213 g) i NMP (2 ml). Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved 150°C i 48 timer, fikk avkjøles, deretter ble en mettet løsning av ammoniumklorid (100 ml) tilsatt. Produktet ble ekstrahert med dietyleter (3 x 100 ml). De organiske ekstrakter ble tørket og flyktig materiale ble fjernet ved inndampning. Residuet ble renset ved

- 5 kromatografi på en Biotage patron (8 g silika) under eluering med 50-70% EtOAc / isoheksan. Produktet ble deretter omkrystallisert fra EtOAc / isoheksan, hvilket gir tittelforbindelsen (0,167 g) som et fast stoff. NMR (CDCl₃): 1,26 (3H, t), 1,78 (3H, s), 2,86 (3H, s), 3,01-3,18 (4H, m), 3,39 (2H, q), 3,68 (1H, s), 3,75-3,87 (4H, m), 8,01 (1H, d), 8,57 (1H, d), 9,62 (1H, brs); m/z: 520.

10

Utgangsmateriale

Metode 1

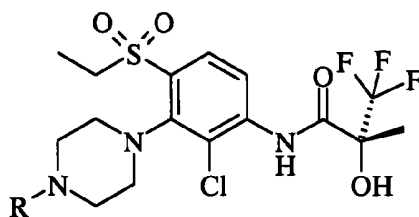
(R)-N-(2-klor-4-etylsulfonyl-3-piperazin-1-ylfenyl)-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-

- 15 trifluorpropanamid

- t*-butyl 1-piperazinekarboksylat (6,12 g) ble satt til en omrørt løsning av (R)-N-(4-etylsulfonyl-3-fluor-2-klorfenyl)-2-hydroksy-2-metyl-3,3,3-trifluorpropanamid (Eksempel 15 av WO 01/17956; 4,14 g) i NMP (15 ml). Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved 150°C i 24 timer, fikk avkjøles, deretter ble en mettet løsning av ammoniumklorid (300
- 20 ml) tilsatt. Produktet ble ekstrahert med dietyleter (3 x 300 ml). De organiske ekstrakter ble tørket og flyktig materiale ble fjernet ved inndampning. Residuet ble renset ved kromatografi på en Biotage patron (90 g silika) under eluering med 70% EtOAc / isoheksan. Produktet ble oppløst i trifluoreddiksyre (12 ml), deretter omrørt ved omgivelsestemperatur i 30 minutter. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med EtOAc (200
- 25 ml), deretter vasket med 1M NaOH-løsning (300 ml). De organiske ekstrakter ble tørket og flyktig materiale ble fjernet ved inndampning, hvilket gir tittelforbindelsen (3,52 g) som et fast stoff. NMR: 1,12 (3H, t), 1,60 (3H, s), 2,74-2,86 (6H, m), 3,48-3,59 (4H, m), 7,89 (1H, d), 8,22 (1H, d); m/z: 442.

PATENTKRAV

1. Forbindelse, karakterisert ved at den har formel (I):



(I)

hvor R er metyl eller mesyl;

eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav.

2. Forbindelse med formel (I) ifølge krav 1, karakterisert ved at R er

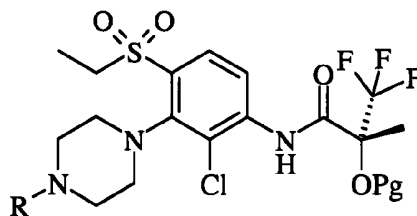
10 metyl eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav.

3. Forbindelse med formel (I) ifølge krav 1, karakterisert ved at R er

mesyl eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav.

- 15 4. Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, karakterisert ved at fremgangsmåten (hvor R er som definert for formel (I) hvis ikke annet er angitt) omfatter:

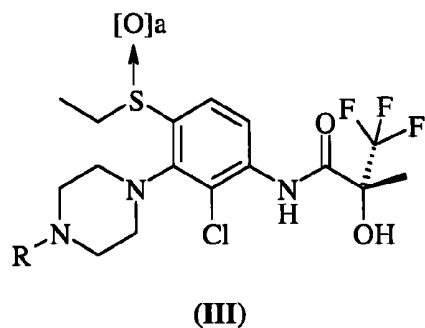
(a) avbeskyttelse av en beskyttet forbindelse med formel (II):



(II)

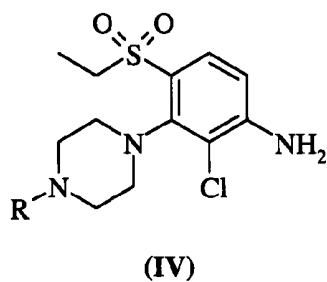
hvor Pg er en alkohol beskyttelsesgruppe;

(b) oksidering av en forbindelse med formel (III):

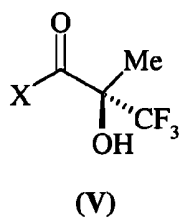


hvor a er 0 eller 1;

(c) kobling av en forbindelse med formel (IV):



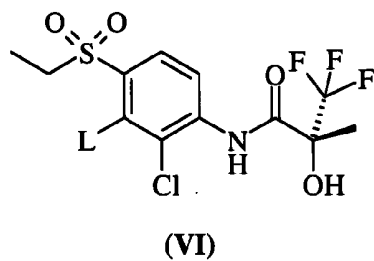
med syren med formel (V):



10 hvor X er OH;

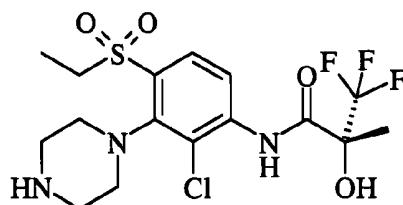
(d) kobling av et anilin med formel (IV) med et aktivert syrederivat med formel (V);

(e) omsetning av en forbindelse med formel (VI):



15 hvor L er en utskiftbar gruppe; med 4-mesylpiperazin eller 4-metylpiperazin;

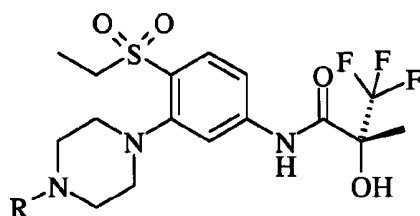
(f) for forbindelser med formel (I) hvor R er metyl; metylering av forbindelsen med formel (VII):



(VII)

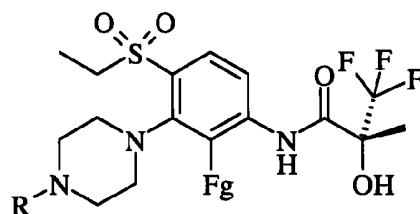
(g) for forbindelser med formel (I) hvor R er mesyl; mesylering av forbindelsen med formel (VII);

5 (h) klorering av en forbindelse med formel (VIII):



(VIII)

(i) funksjonell gruppe omdannelse til klor av en forbindelse med formel (IX):

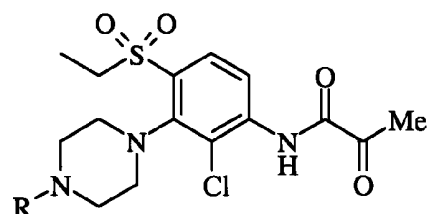


(IX)

10

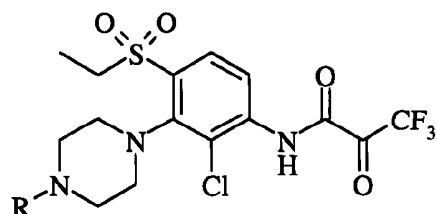
hvor Fg er en funksjonell gruppe;

(j) tilsetning av et organometallisk reagens til en forbindelse med formel (X):



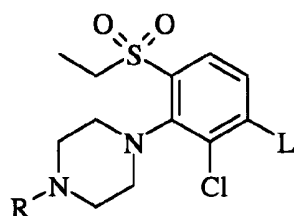
(X)

15 (k) tilsetning av et organometallisk reagens til en forbindelse med formel (XI):



(XI)

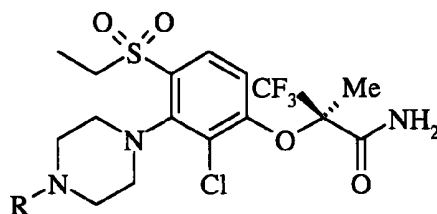
(l) tilsetning av en forbindelse med formel (V) hvor X er NH₂ til en forbindelse med formel (XII):



(XII)

hvor L er en utskiftbar gruppe;

(m) Smiles omleiring av en forbindelse med formel (XIII):



(XIII)

eller

(n) separering av en blanding av (R) og (S) enantiomerer av forbindelser med formel (I),

hvilket gir (R)-enantiomer;

og deretter hvis nødvendig dannelsen av et farmasøytisk akseptabelt salt eller *in vivo*

hydrolyserbar ester.

5. Farmasøytisk preparat, karakterisert ved at det omfatter en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, sammen med et farmasøytisk akseptabelt

tilsetningsmiddel eller bærer.

6. Forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, for anvendelse som et medikament.
- 5 7. Anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, ved fremstilling av et medikament for anvendelse ved fremstilling av en forhøyning av PDH aktiviteten i et varmblodig dyr så som et menneske.
- 10 8. Anvendelse av en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, ved fremstilling av et medikament for anvendelse ved behandling av diabetes mellitus i et varmblodig dyr så som et menneske.
- 15 9. Farmasøytisk preparat, k a r a k t e r i s e r t v e d a t det omfatter en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, sammen med et farmasøytisk akseptabelt tilsetningsmiddel eller bærer for anvendelse ved produsering av en forhøyning av PDH aktiviteten i et varmblodig dyr, så som et menneske.
- 20
10. Farmasøytisk preparat, k a r a k t e r i s e r t v e d a t det omfatter en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller en *in vivo* hydrolyserbar ester derav ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, sammen med et farmasøytisk akseptabelt tilsetningsmiddel eller bærer for anvendelse ved behandling av diabetes mellitus i et
- 25 varmblodig dyr, så som et menneske.