



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 602 10 981 T2** 2007.05.10

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 414 802 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **602 10 981.7**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/SE02/01413**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 749 497.0**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2003/011830**

(86) PCT-Anmeldetag: **26.07.2002**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **13.02.2003**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **06.05.2004**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **26.04.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **10.05.2007**

(51) Int Cl.⁸: **C07D 213/85** (2006.01)

C07D 409/12 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 417/12 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61K 31/4427 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

0102641 31.07.2001 SE

(73) Patentinhaber:

AstraZeneca AB, Södertälje, SE

(74) Vertreter:

derzeit kein Vertreter bestellt

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR**

(72) Erfinder:

**BIRKINSHAW, Timothy, Loughborough,
Leicestershire LE11 5RH, GB; CHESHIRE, David,
Loughborough, Leicestershire LE11 5RH, GB;
CONNOLLY, Stephen, Loughborough,
Leicestershire LE11 5RH, GB; LUKER, Timothy,
Loughborough, Leicestershire LE11 5RH, GB;
METE, Antonio, Loughborough, Leicestershire
LE11 5RH, GB**

(54) Bezeichnung: **HETEROARYLHETEROALKYLAMIN DERIVATE UND DEREN VERWENDUNG ALS INHIBITOREN
DER STICKOXIDSYNTASE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Gebiet der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft neue Heteroarylheteroalkylamin-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung, Zusammensetzungen, welche diese enthalten, und ihre Verwendung in der Therapie.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Stickoxid wird in Säugerzellen aus L-Arginin durch die Wirkung von spezifischen Stickoxid-Synthasen (NOSs) hergestellt. Diese Enzyme fallen in zwei voneinander verschiedene Klassen – konstitutive NOS (cNOS) und induzierbare NOS (iNOS). Bislang wurden zwei konstitutive NOSs und eine induzierbare NOS identifiziert. Von den konstitutiven NOSs ist ein endotheliales Enzym (eNOS) bei der Relaxation der glatten Muskulatur und der Regulation des Blutdruckes und Blutflusses involviert, wohingegen das neuronale Enzym (nNOS) bei der Regulation von verschiedenen biologischen Funktionen involviert zu sein scheint. Die induzierbare NOS war insbesondere in der Pathogenese von Entzündungserkrankungen impliziert. Die Regulation dieser Enzyme sollte somit ein beträchtliches Potential bei der Behandlung einer großen Vielzahl von Erkrankungszuständen bieten (J.E. Macdonald, Ann. Rep. Med. Chem., 1996, 31, 221–230).

[0003] Beträchtliche Anstrengungen wurden unternommen, um Verbindungen zu identifizieren, welche als spezifische Inhibitoren von einer oder mehreren Isoformen des Enzyms Stickoxid-Synthase wirken. Die Verwendung solcher Verbindungen in der Therapie wurde ebenfalls in breitem Umfang beansprucht.

[0004] Die GB 2060622 beschreibt bestimmte 3-Aryl-3-aryloxyalkylamine, die zum Beispiel als Antidepressionsmittel brauchbar sind.

[0005] Die EP 0 399 504 und die EP 0 571 685 beschreibt Aryloxyheteroarylpropylamine, welche Aktivität gegen eine Calciumüberladung in Hirnzellen besitzen.

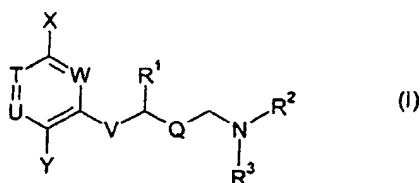
[0006] Die US 4 666 910 beschreibt (2-Phenyl-2-(pyridyl-oxy oder -thio)-ethyl)amine mit antidepressiven Eigenschaften.

[0007] Die JP 51044934 beschreibt quaternäre Ammoniumsalze, welche anticholinerge Aktivität besitzen.

[0008] Die EP 0 707 007 beschreibt (R)-(-)-2-[5-(4-Fluorphenyl)-3-pyridyl-methylaminomethyl]-chroman, welches Nützlichkeit als ein Serotoninagonist und -antagonist besitzt.

Beschreibung der Erfindung

[0009] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird eine Verbindung der Formel (I) bereitgestellt



in der

X H, C1- bis 4-Alkyl, C1- bis 4-Alkoxy, Halogen, OH, NHR⁹, CN, C=CH, NO₂, CHO, COCH₃ oder NHCHO bedeutet, wobei die Alkyl- oder Alkoxygruppe gegebenenfalls weiter durch ein oder mehrere Fluoratome oder durch eine OH-Gruppe substituiert ist;

Y C1- bis 4-Alkyl, C1- bis 4-Alkoxy, Halogen, OH, CN, C≡CH, NO₂, CHO, COCH₃ oder NHCHO bedeutet, wobei die Alkyl- oder Alkoxygruppe gegebenenfalls weiter durch ein oder mehrere Fluoratome substituiert ist; einer von T, U und W N bedeutet und die beiden anderen unabhängig CR⁴ bedeuten; und jede R⁴-Gruppe unabhängig H, F oder CH₃ bedeutet;

V O oder S(O)_n bedeutet;

n eine ganze Zahl 0, 1 oder 2 bedeutet;

Q CH₂ oder (CH₂)₂ bedeutet;

R¹ Phenyl oder einen fünf- oder sechsgliedrigen aromatischen heterocyclischen Ring bedeutet, der 1 bis 3 Heteroatome, die unabhängig aus der Reihe O, S und N gewählt werden, enthält; wobei der Phenylring oder aro-

matische heterocyclische Ring gegebenenfalls durch einen oder mehrere Substituenten, die unabhängig aus der Reihe Halogen, C1- bis 4-Alkyl, C1- bis 4-Alkoxy, OH, CN, NO₂ oder NR⁵R⁶ gewählt sind, substituiert ist; wobei die Alkyl- oder Alkoxygruppe gegebenenfalls weiter durch ein oder mehrere Fluoratome substituiert ist; R² und R³ bedeuten unabhängig H, C1- bis 4-Alkyl oder C3- bis 6-Cycloalkyl; wobei die Alkylgruppe gegebenenfalls durch C1- bis 4-Alkoxy, Halogen, Hydroxy, -Z-NR⁷R⁸, Phenyl oder einen fünf- oder sechsgliedrigen aromatischen oder gesättigten heterocyclischen Ring, der 1 bis 3 Heteroatome, die unabhängig aus der Reihe O, S und N gewählt sind, enthält, substituiert ist; wobei der Phenylring oder aromatische heterocyclische Ring gegebenenfalls weiter durch Halogen, C1- bis 4-Alkyl, C1- bis 4-Alkoxy, CF₃, OCF₃, OH, CN oder NO₂ substituiert ist;

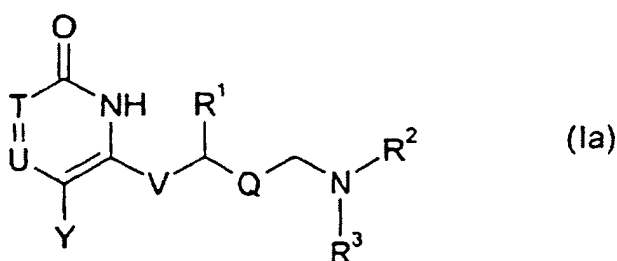
Z -CO- oder eine Bindung bedeutet;

R⁵, R⁶, R⁷ und R⁸ unabhängig H oder C1- bis 4-Alkyl bedeuten;

R⁹ H oder C1- bis 4-Alkyl bedeutet; wobei das Alkyl gegebenenfalls weiter durch ein oder mehrere Fluoratome substituiert ist;

oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze.

[0010] Es wird anerkannt werden, dass Verbindungen der Formel (I), in der W für N steht und X für OH steht, in der alternativen tautomeren Form (Ia) existieren kann:



[0011] Analoge tautomere Strukturen existieren ebenfalls für Verbindungen der Formel (I), worin T für N steht und X OH bedeutet; oder worin U N bedeutet und Y OH bedeutet. Alle möglichen Tautomeren der Verbindungen der Formel (I) und Mischungen davon sind innerhalb des Umfangs der vorliegenden Erfindung eingeschlossen.

[0012] Die Verbindungen der Formel (I) können in entiomeren Formen vorliegen. Alle Enantiomeren, Diastereomeren, Racemate und Mischungen davon sind innerhalb des Umfangs der Erfindung eingeschlossen.

[0013] In einer besonderen Ausführungsform stellt die Erfindung Verbindungen der Formel (I) bereit, worin: X H, C1- bis 4-Alkyl, C1- bis 4-Alkoxy, Halogen, OH, CN, C-CH, NO₂, CHO, COCH₃ oder NHCHO bedeutet; die Alkyl- oder Alkoxygruppe gegebenenfalls weiter substituiert sein kann durch ein oder mehrere Fluoratome oder durch eine OH-Gruppe;

Q für CH₂ steht;

R² und R³ unabhängig für H, C1- bis 4-Alkyl oder C3- bis 6-Cycloalkyl stehen; wobei die Alkylgruppe gegebenenfalls substituiert sein kann durch C1- bis 4-Alkoxy, Halogen, Hydroxy, -Z-NR⁷R⁸, Phenyl oder einen fünf- oder sechsgliedrigen aromatischen oder gesättigten heterocyclischen Ring, der 1 bis 3 Heteroatome enthält, die unabhängig aus O, S und N gewählt sind; wobei der Phenyl- oder aromatische heterocyclische Ring gegebenenfalls weiter substituiert sein kann durch Halogen, C1- bis 4-Alkyl, C1- bis 4-Alkoxy, CF₃, OCF₃, CN oder NO₂;

und R¹, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, n, T, U, Y, V und W wie oben definiert sind.

[0014] Die Verbindungen der Formel (I) und ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze weisen den Vorteil auf, dass sie Inhibitoren des Enzyms Stickoxid-Synthase (NOS) sind. Im Allgemeinen weisen die Verbindungen der Formel (I) und ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze den Vorteil auf, dass sie Inhibitoren der induzierbaren Isoform des Enzyms Stickoxid-Synthase (iNOS) sind. Bestimmte Verbindungen der Formel (I) und ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze weisen den Vorteil auf, dass sie zusätzlich oder alternativ Inhibitoren der neuronalen Isoform des Enzyms Stickoxid-Synthase (nNOS) sind. Im Allgemeinen weisen Verbindungen der Formel (I) und ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze den Vorteil auf, dass sie Selektivität in Bezug auf die Inhibition von iNOS und/oder nNOS im Vergleich zu der Inhibition der endothelialen Isoform, eNOS, besitzen.

[0015] Die Erfindung sieht ferner ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel (I) oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz, Enantiomer oder Racemat vor.

[0016] Gemäß der Erfindung wird ebenfalls eine Verbindung der Formel (I) oder eines pharmazeutisch an-

nehmbaren Salzes davon zur Verwendung als ein Medikament bereitgestellt.

[0017] Ein Aspekt der Erfindung sieht die Verwendung einer Verbindung der Formel (I) oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon bei der Herstellung eines Medikamentes zur Behandlung oder Prophylaxe von Entzündungserkrankung vor.

[0018] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können ebenfalls in vorteilhafter Weise in Kombination mit einer zweiten pharmazeutisch aktiven Substanz verwendet werden; insbesondere in Kombination mit einem Cyclooxygenase-Inhibitor; ganz besonders in Kombination mit einem selektiven Inhibitor der induzierbaren Isoform von Cyclooxygenase (COX-2). Somit wird in einem weiteren Aspekt der Erfindung die Verwendung einer Verbindung der Formel (I) oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon in Kombination mit einem COX-2-Inhibitor zur Behandlung einer Entzündung, Entzündungserkrankung und mit Entzündung in Verbindung stehenden Störungen bereitgestellt.

[0019] In einer Ausführungsform steht V für $S(O)_n$ und n steht für 0.

[0020] In einer anderen Ausführungsform steht V für O.

[0021] In einer anderen Ausführungsform bedeuten X und Y unabhängig Br, Cl, CH_3 , CH_2F , CHF_2 , CF_3 , CH_3CH_2 , NH_2 , OCH_3 , $COCH_3$ oder CN. In einer anderen Ausführungsform steht Y für CN.

[0022] In weiteren Ausführungsformen steht R^1 für Phenyl, Pyridyl, Thienyl, Isoxazolyl, Isothiazolyl, Oxazolyl oder Thiazolyl, gegebenenfalls substituiert durch einen oder mehrere Substituenten, die unabhängig gewählt sind aus Halogen, C1- bis 4 Alkyl, C1- bis 4-Alkoxy, OH, CN, NO_2 oder NR^5R^6 ; die Alkyl- oder Alkoxygruppe ist gegebenenfalls weiter durch ein oder mehrere Fluoratome substituiert.

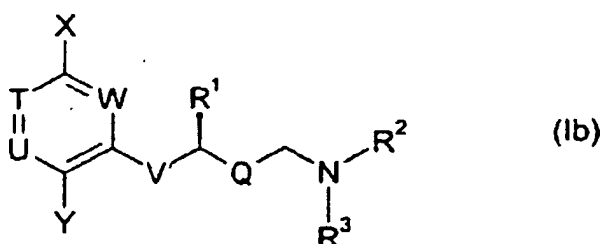
[0023] In einer Ausführungsform steht R^2 für H oder C1- bis 4-Alkyl; wobei das Alkyl gegebenenfalls durch Hydroxy substituiert ist. In einer anderen Ausführungsform steht R^2 für H oder CH_3 .

[0024] In einer Ausführungsform bedeutet R^3 H oder CH_3 .

[0025] In einer Ausführungsform steht jedes R^4 für H oder F.

[0026] In einer Ausführungsform steht eine der Gruppen T, U und W für N, und die anderen zwei Gruppen bedeuten unabhängig CH oder CF. In einer besonderen Ausführungsform steht W für N, und T und U bedeuten jeweils CH.

[0027] In einer besonderen Ausführungsform weisen die Verbindungen der Formel (I) die absolute Stereochemie auf, wie sie in der Formel (Ib) gezeigt ist:



[0028] In einem besonderen Aspekt betrifft die Erfindung Verbindungen der Formel (I), worin V für O oder S steht; X und Y unabhängig für Br, Cl, CH_3 , CH_2F , CHF_2 , CF_3 , CH_3CH_2 , NH_2 , OCH_3 , $COCH_3$ oder CN stehen; R^1 gegebenenfalls substituiertes Phenyl, Pyridyl, Thienyl, Isoxazolyl, Isothiazolyl, Oxazolyl oder Thiazolyl bedeutet; R^2 für H oder C1- bis 4-Alkyl steht; wobei das Alkyl gegebenenfalls durch Hydroxy substituiert ist; R^3 für H oder CH_3 steht; R^4 für H oder F steht; eine der Gruppen T, U und W N bedeuten und die anderen zwei Gruppen unabhängig für CH oder CF stehen; und pharmazeutisch annehmbare Salze davon.

[0029] Besondere Verbindungen der Erfindung schließen folgende ein:

- 2-[[[(1R)-3-(Methylamino)-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
- 2-[[[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
- 2-[[[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-(fluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
- 2-[[[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-(difluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;

2-[[[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-thienyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-[(3-Hydroxypropyl)amino]-1-(3-thienyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 3-[[[(3R)-3-[[3-Cyan-6-(trifluormethyl)-2-pyridinyl]oxy]-3-(3-thienyl)propyl]amino]-N-methylpropanamid;
 2-[[3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(2-thiazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 (R)-2-(3-Dimethylamino-1-isoxazol-5-yl-propoxy)-6-trifluormethyl-nicotinsäurenitril;
 6-Amino-4-[[[(1R)-3-amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-3-pyridincarbonsäurenitril;
 γ-[(5-Chlor-2-methoxy-4-pyridinyl)thio]-(γ⁵R)-5-isoxazolpropanamin,
 4-[[[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methoxy-3-pyridincarbonsäurenitril;
 4-[[[(1R)-3-[(2-Hydroxyethyl)amino]-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methoxy-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[3-Amino-1-(3-methyl-4-isoxazolyl)propoxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[3-Amino-1-(5-isothiazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[3-Amino-1-(5-isothiazolyl)propoxy]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[3-Amino-1-(3-isothiazolyl)propoxy]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(5-methyl-3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 4-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-methoxy-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[3-Amino-1-(4-methyl-3-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[3-Amino-1-(2-oxazolyl)propoxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 4-[[3-Amino-1-(4-chlor-5-thiazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[1-(4-Chlor-1,3-thiazol-5-yl)-3-(methylamino)propoxy]-6-methylnicotinsäurenitril;
 2-[[1-(3-Fluorphenyl)-3-(methylamino)propyl]oxy]pyridin-3-carbonsäurenitril;
 6-Acetyl-2-[[3-(methylamino)-1-phenylpropyl]thio]-3-pyridincarbonsäurenitril;
 5-Fluor-6-methyl-2-[[[(1R)-3-(methylamino)-1-phenylpropyl]thio]-3-pyridincarbonsäurenitril;
 6-Ethyl-5-fluor-2-[[[(1R)-3-(methylamino)-1-phenylpropyl]thio]-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-[(2-Hydroxyethyl)methylamino]-1-phenylpropyl]thio]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-[(2-Hydroxyethyl)propylamino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-[(3-Hydroxypropyl)amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-(Methylpropylamino)-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-[(2S)-2-Hydroxypropyl]amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-1-Phenyl-3-[(phenylmethyl)amino]propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-[(1,1-Dimethylethyl)amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[[(1R)-3-[[2-(4-Hydroxyphenyl)ethyl]amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butoxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 4-[[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butyl]thio]-6-methoxy-3-pyridincarbonsäurenitril;
 oder pharmazeutisch annehmbare Salze davon.

[0030] Wenn nicht anders angegeben, bezeichnet der hierin angeführte Ausdruck "C1- bis 4-Alkyl" eine gerad- oder verzweigt-kettige Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen. Beispiele für solche Gruppen schließen Methyl, Ethyl, n-Propyl, i-Propyl, n-Butyl i-Butyl und t-Butyl ein.

[0031] Wenn nicht anders angegeben, bezeichnet der hierin angeführte Ausdruck "C3- bis 6-Cycloalkyl" eine Cycloalkylgruppe mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen. Beispiele für solche Gruppen schließen Cyclopropyl, Cyclopentyl und Cyclohexyl ein.

[0032] Wenn nicht anders angegeben, bezieht sich der hierin angeführte Ausdruck "C1- bis 4-Alkoxy" auf eine gerad- oder verzweigt-kettige Alkoxygruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen. Beispiele für solche Gruppen schließen Methoxy, Ethoxy, n-Propoxy, i-Propoxy und t-Butoxy ein.

[0033] Der Ausdruck "C1- bis 4-Alkylthio" ist in analoger Weise zu interpretieren.

[0034] Wenn nicht anders angegeben, bezeichnet der hierin angeführte Ausdruck "Halogen" Fluor, Chlor, Brom und Iod.

[0035] Beispiele eines fünf- oder sechsgliedrigen aromatischen heterocyclischen Rings mit 1 bis 3 Heteroa-

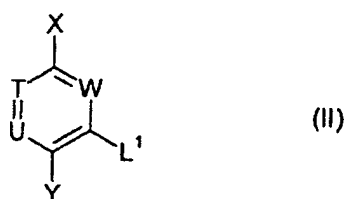
tomen, die unabhängig aus O, S und N gewählt sind, schließen Furan, Thiophen, Pyridin, Thiazol, Imidazol, Oxazol, Triazol, Oxadiazol, Thiadiazol und Pyrimidin ein.

[0036] Beispiele eines fünf- oder sechsgliedrigen gesättigten heterocyclischen Rings mit 1 bis 3 Heteroatomen, die unabhängig aus O, S und N gewählt sind, schließen Morpholin, Pyrrolidin, Tetrahydrofuran, Piperidin und Piperazin ein.

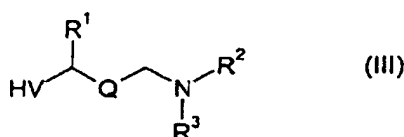
[0037] Beispiele eines "C1- bis 4-Alkyls oder C1- bis 4-Alkoxys, gegebenenfalls weiter mit ein oder mehreren Fluoratomen substituiert" schließen CH_2F , CHF_2 , CF_3 , CF_3CF_2 , CF_3CH_2 , CH_2FCH_2 , CH_3CF_2 , $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$, OCF_3 und OCH_2CF_3 ein.

[0038] Gemäß der Erfindung stellen wir ferner ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel (I) oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze, Enantiomere oder Racemate bereit, welches folgendes umfasst:

(a) Reaktion einer Verbindung der Formel (II),

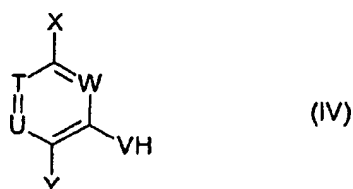


in der T, U, X, Y und W wie in Formel (I) definiert sind und L^1 eine Abgangsgruppe bedeutet, mit einer Verbindung der Formel (III),

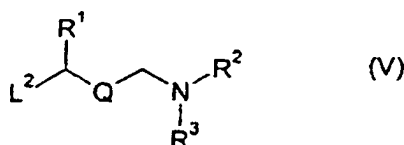


in der R^1 , R^2 , R^3 , Q und V wie in der Formel (I) definiert sind; oder

(b) Reaktion einer Verbindung der Formel (IV),

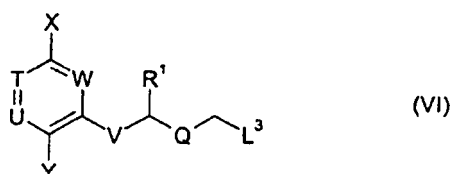


in der T, U, W, X, Y und V wie in Formel (I) definiert sind, mit einer Verbindung der Formel (V),



in der R^1 , R^2 , R^3 und Q wie in Formel (I) definiert sind und L^2 eine Abgangsgruppe bedeutet; oder

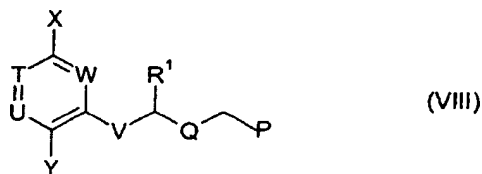
(c) Reaktion einer Verbindung der Formel (VI),



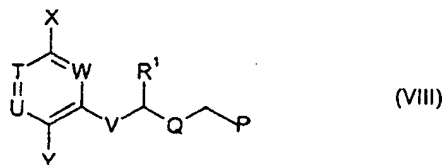
in der R^1 , Q, T, U, W, X, Y und V wie in Formel (I) definiert sind und L^3 eine Abgangsgruppe bedeutet, mit einer Verbindung der Formel (VII),



in der R^2 und R^3 , wie in Formel (I) definiert sind; oder
(d) Reduktion einer Verbindung der Formel (VIII),



in der R^1 , Q, T, U, W, X, Y und V wie in Formel (I) definiert sind und P Azid (N_3) bedeutet; oder
(e) Hydrolyse einer Verbindung der Formel (VIII),



in der R^1 , Q, T, U, W, X, Y und V wie in Formel (I) definiert sind und P eine Imidgruppe bedeutet;

und falls erwünscht oder erfordert die erhaltene Verbindung der Formel (I) oder ein anderes ihrer Salze in eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze umwandelt; oder eine Verbindung der Formel (I) in eine andere Verbindung der Formel (I) umwandelt; und, falls erwünscht, die erhaltene Verbindung der Formel (I) in eines ihrer optischen Isomere umwandelt.

[0039] Im Prozess (a) wird die Reaktion durchgeführt, indem ein Nukleophil der Formel (III) mit einem Elektrophil der Formel (II) in einem inerten Lösungsmittel behandelt wird. Geeignete Abgangsgruppen L^1 schließen Sulphonate und Halogenide, insbesondere Fluorid oder Chlorid ein. Die Reaktion wird im Allgemeinen in Gegenwart einer nicht-nukleophilen Base wie Natriumhydrid oder Caesiumcarbonat durchgeführt. Geeignete organische Lösungsmittel sind jene, wie N,N-Dimethylformamid, N-Methyl-2-pyrrolidinon, Tetrahydrofuran und Dimethylsulfoxid. Die Reaktion wird im Allgemeinen bei einer Temperatur zwischen 0°C und dem Siedepunkt des Lösungsmittels durchgeführt.

[0040] Im Prozess (b) werden die Reaktanten (IV) und (V) miteinander in einem geeigneten inerten Lösungsmittel wie Tetrahydrofuran unter Verwendung von zum Beispiel Mitsunobu-Bedingungen gekoppelt. Somit werden zum Beispiel die Reaktanten mit einem Phosphinderivat und einem Azoderivat bei einer geeigneten Temperatur, im Allgemeinen zwischen 0°C und dem Siedepunkt des Lösungsmittels, behandelt. Geeignete Phosphinderivate schließen Triphenylphosphin und Tributylphosphin ein. Geeignete Azoderivate schließen Diethylazodicarboxylat, Diisopropylazodicarboxylat und 1,1'-(Azodicarbonyl)dipiperidin ein. Geeignete Abgangsgruppen L^2 schließen Hydroxy ein.

[0041] Alternativ wird im Prozess (b) die Reaktion durchgeführt, indem ein Nukleophil der Formel (IV) mit einem Elektrophil der Formel (V) in einem inerten Lösungsmittel behandelt wird. Geeignete Abgangsgruppen L^2 schließen Sulphonate und Halogenide, insbesondere Chlorid oder Bromid, ein. Die Reaktion wird im Allgemeinen in Gegenwart einer nicht-nukleophilen Base wie Natriumhydrid oder Caesiumcarbonat durchgeführt. Geeignete organische Lösungsmittel sind jene wie N,N-Dimethylformamid, N-Methyl-2-pyrrolidinon, Tetrahydrofuran und Dimethylsulfoxid. Die Reaktion wird im Allgemeinen bei einer Temperatur zwischen 0°C und dem Siedepunkt des Lösungsmittels durchgeführt.

[0042] Im Prozess (c) werden die Verbindungen der Formel (VI) und (VII) miteinander in einem geeigneten inerten Lösungsmittel wie Dimethylsulfoxid oder Tetrahydrofuran umgesetzt. Die Reaktion wird im Allgemeinen in Gegenwart einer Base durchgeführt. Die Base kann entweder eine hinzugesetzte Komponente oder ein Überschuss desamins (VII) sein. Geeignete Abgangsgruppen L^3 schließen Iodid und p-Toluolsulfonat ein.

[0043] In den Prozessen (d) und (e) werden die Reaktionen unter Verwendung von Standardbedingungen durchgeführt, welche dem Fachmann im Fachbereich allgemein bekannt sind.

[0044] Es wird dem Fachmann im Fachbereich ersichtlich sein, dass in den obigen Prozessen es wünschenswert oder notwendig sein kann, eine Amin- oder Hydroxyl- oder andere potentielle reaktive Gruppe zu schützen.

[0045] Geeignete Schutzgruppen und Details von Verfahren zum Hinzusetzen, Hinzufügen und Entfernen solcher Gruppen kann durch die Referenz auf den Standardtext "Protective Groups in Organic Synthesis", 3. Ausgabe (1999) von Greene und Wuts, gefunden werden.

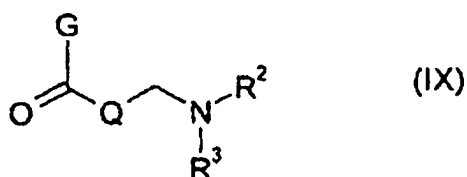
[0046] In einer bevorzugten Ausführungsform werden Amingruppen als Carbamatderivate, zum Beispiel als t-Butyloxycarbamate, geschützt.

[0047] Spezifische Beispiele für die Verwendung von Schutzgruppen sind im Abschnitt Beispiele angegeben.

[0048] Die vorliegende Erfindung schließt Verbindungen der Formel (I) in der Form von Salzen, insbesondere Säureadditionssalzen, ein. Geeignete Salze schließen jene ein, die sowohl mit organischen als auch anorganischen Säuren gebildet werden. Solche Säureadditionssalze sind normalerweise pharmazeutisch annehmbar, obgleich Salze von nicht-pharmazeutisch annehmbaren Säuren von Nützlichkeit sein können bei der Herstellung und Reinigung der in Frage stehenden Verbindung. Somit schließen bevorzugte Salze jene ein, die aus Chlorwasserstoff-, Bromwasserstoff-, Schwefel-, Phosphor-, Zitronen-, Wein-, Milch-, Brenztrauben-, Essig-, Bernstein-, Fumar-, Malein-, Methansulphon- und Benzolsulphonsäure gebildet werden.

[0049] Salze von Verbindungen der Formel (I) können gebildet werden, indem die freie Base oder ein Salz, Enantiomer oder Racemat davon mit einem oder mehreren Äquivalenten der geeigneten Säure umgesetzt wird. Die Reaktion kann in einem Lösungsmittel oder Medium durchgeführt werden, in welchem das Salz unlöslich ist, oder in einem Lösungsmittel, in welchem das Salz löslich ist, zum Beispiel Wasser, Dioxan, Ethanol, Tetrahydrofuran oder Diethylether, oder in einer Mischung von Lösungsmitteln, welche im Vakuum oder durch Gefriertrocknung entfernt werden können. Die Reaktion kann ein metathetischer Prozess sein, oder sie kann in einem Ionenaustauschharz durchgeführt werden.

[0050] Verbindungen der Formel (III) können hergestellt werden durch die Umsetzung einer Verbindung der Formel (IX)



worin R^2 , R^3 und Q wie in der Formel (I) definiert sind und G für H, Cl oder $\text{NCH}_3(\text{OCH}_3)$ steht, mit einem organometallischen Derivat, $\text{R}^1\text{-M}$, worin R^1 wie in der Formel (I) definiert ist und M für einen metallischen Rest, wie Lithium- oder Magnesiumhalogenid, steht, gefolgt, sofern erforderlich, von einer Reduktion. Die resultierende Verbindung der Formel (III), worin V für Sauerstoff steht, kann dann anschließend zu Verbindungen der Formeln (III), in denen V für Schwefel steht, umgewandelt werden.

[0051] Die Verbindungen der Formeln (II), (IV), (V), (VI), (VIII) und (IX) sind entweder bekannt oder können mittels herkömmlicher Verfahren, welche jenen im Fachbereich Erfahrenen leicht ersichtlich sind, hergestellt werden.

[0052] Intermediäre Verbindungen können als solche oder in geschützter Form verwendet werden. Schutzgruppen und Details von Prozessen zu ihrer Entfernung können durch den Bezug auf den Standardtext "Protective Groups in Organic Synthesis", 3. Ausgabe (1999) von Greene und Wuts, gefunden werden.

[0053] Die Verbindungen der Erfindung und Intermediate davon können aus ihren Reaktionsmischungen isoliert werden und dann, sofern erforderlich, weiter mittels Standardtechniken gereinigt werden.

[0054] Die Verbindungen der Formel I können in enantiomeren Formen existieren. Deshalb sind alle Enantiomeren, Diastereomeren, Racemate und Mischungen davon innerhalb des Umfangs der Erfindung eingeschlossen. Die verschiedenen optischen Isomere können isoliert werden durch Abtrennen einer racemischen Mischung der Verbindungen unter Verwendung von herkömmlichen Techniken, zum Beispiel einer fraktionellen Kristallisation oder HPLC.

[0055] Intermediäre Verbindungen können ebenfalls in enantiomeren Formen existieren und können als gereinigte Enantiomere, Diastereomere, Racemate oder Mischungen verwendet werden.

[0056] Die Verbindungen der Formel (I) und ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze sind brauchbar, da sie

pharmakologische Aktivität in Tieren besitzen. Insbesondere sind die Verbindungen aktiv als Inhibitoren des Enzyms Stickoxid-Synthase. Ganz besonders sind sie Inhibitoren der induzierbaren Isoform des Enzyms Stickoxid-Synthase, und als solche wird vorausgesagt, dass sie in der Therapie zum Beispiel als gegen Entzündung wirkende Mittel brauchbar sind.

[0057] Die Verbindungen und ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze sind zur Verwendung bei der Behandlung oder Prophylaxe von Erkrankungen oder Zuständen, in welchen die Synthese oder Übersynthese von Stickoxid-Synthase einen beitragenden Teil bildet, indiziert. In einem Aspekt sind die Verbindungen zur Verwendung bei der Behandlung von Entzündungszuständen in Säugern, einschließlich des Menschen, indiziert.

[0058] Zustände, welche speziell erwähnt werden können, sind:

Osteoarthritis, rheumatoide Arthritis, rheumatoide Spondylitis, Gichtarthritis oder andere arthritische Zustände, entzündete Gelenke;

Ekzema, Psoriasis, Dermatitis oder andere entzündliche Hautzustände wie Sonnenbrand; entzündliche Augenzustände, einschließlich Uveitis, Glaukome und Konjunktivitis;

Lungenstörungen, bei welchen eine Entzündung involviert ist, zum Beispiel Asthma, Bronchitis, chronisch-obstruktive Lungenerkrankung, Hühner-Fancier-Erkrankung, Farmerlunge, akutes respiratorisches Notsyndrom; Bakteriämie, Endotoxämie (septischer Schock), aphthöse Geschwüre, Gingivitis, Pyresis, Schmerzen, Meningitis und Pankreatitis;

Zustände des gastrointestinalen Trakts, einschließlich entzündliche Darmerkrankung, Crohn-Erkrankung, atrophische Gastritis, Gastritis variatioformis, Kolitis ulcerosa, Zölia-Erkrankung, regionale Ileitis, peptische Geschwürbildung, Reizdarmsyndrom, Rückflussoesophagitis, Schädigung des gastrointestinalen Traktes durch Infektionen, zum Beispiel durch *Helicobacter pylori* oder durch die Behandlungen mit nicht-steroidalen gegen Entzündungen wirkenden Arzneistoffen;

oder andere mit Entzündung assoziierten Zuständen.

[0059] Die Verbindungen sind ebenfalls brauchbar bei der Behandlung und Verbesserung von akuten Schmerzen oder persistierendem Entzündungsschmerz oder neurophatischem Schmerz oder Schmerz eines zentralen Ursprungs.

[0060] Die Verbindungen können ebenfalls bei der Behandlung von Krebs brauchbar sein.

[0061] Wir sind insbesondere interessiert in den Zuständen von entzündlicher Darmerkrankung, rheumatoide Arthritis, Osteoarthritis, chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung, Krebs und Schmerzen.

[0062] Die Verbindungen der Formel (I) und ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze, Enantiomere und Racemate können ebenfalls brauchbar sein bei der Behandlung oder Prophylaxe von Erkrankungen oder Zuständen, die über die oben erwähnten hinausgehen. Zum Beispiel können die Verbindungen bei der Behandlung von Atherosklerose, zystischer Fibrose, mit septischem und/oder toxischem Schock assoziierter Hypotension, bei der Behandlung einer Dysfunktion des Immunsystems als ein Adjuvans für die vorzeitige Immunsuppression bei der Organtransplantat-Therapie, bei der Kontrolle des Starts von Diabetes, bei der Aufrechterhaltung der pankreatischen Funktion bei Diabetes, bei der Behandlung von vaskulären Komplikationen, die mit Diabetes assoziiert sind, und bei der Co-Therapie mit Cytokinen, zum Beispiel TNF oder Interleukinen, brauchbar sein.

[0063] Die Verbindungen der Formel (I) können alternativ bei der Behandlung von Hypoxie, zum Beispiel in Fällen eines Herzstillstandes oder Schlaganfalls, neurodegenerativen Störungen, einschließlich einer Nervendegeneration und/oder Nervennekrose, bei Störungen, wie Ischämie, Hypoxie, Hypoglykämie, Epilepsie, und in externen Wunden (Rückenmarks- oder Kopfverletzungen) hyperbarische Sauerstoffkrämpfe und -toxizität, Demenz, zum Beispiel vorseile Demenz, Alzheimer-Erkrankung und mit AIDS in Verbindung stehender Demenz, Sydenham-Chorea; Parkinsonsche Erkrankung, Tourette-Syndrom, Huntington-Erkrankung, Amyotrophe Laterale Sklerose, Multiple Sklerose, muskuläre Dystrophie, Korsakoff-Erkrankung, mit einer zerebralen Gefäßstörung im Zusammenhang stehender Imbezillität, Schlafstörungen, Schizophrenie, Depression, Schmerzen, Autismus, saisonale emotionale Störung, Jet-Lag, Depression oder anderen Symptomen, die mit dem Prämenstrualen Syndrom (PMS) assoziiert sind, Angst und septischem Schock, brauchbar sein. Verbindungen der Formel (I) können erwartungsgemäß ebenfalls Aktivität bei der Verhinderung und Umkehrung von Arzneistoffabhängigkeit oder -toleranz, wie Toleranz gegenüber Opiaten und Diazepinen, bei der Behandlung von Arzneistoffabhängigkeit, Behandlung von Migräne und anderen vaskulären Kopfschmerzen, neurogener Entzündung, bei der Behandlung von gastrointestinalen Beweglichkeitsstörungen und bei der Geburtseinleitung Aktivität zeigen.

[0064] Man erwartet, dass eine Prophylaxe insbesondere relevant bei der Behandlung von Personen ist, die an einer vorhergehenden Episode litten, in anderer Weise als solche angesehen werden, die ein erhöhtes Risiko für eine in Frage stehende Erkrankung oder einen in Frage stehenden Zustand besitzen. Personen, die ein Risiko haben, eine bestimmte Erkrankung oder einen Zustand zu entwickeln, schließen im Allgemeinen jene ein, die eine Familiengeschichte der Erkrankung oder des Zustandes besitzen, oder jene, die durch ein genetisches Testen oder Screenen dahingehend identifiziert wurden, dass sie besonders für die Entwicklung der Erkrankung oder des Zustands empfänglich sind.

[0065] Für die oben erwähnten therapeutischen Indikationen wird die verabreichte Dosis natürlich von der angewandten Verbindung, dem Modus der Verabreichung und der gewünschten Behandlung variieren. Gleichwohl werden im Allgemeinen befriedigende Ergebnisse erhalten, wenn die Verbindungen in einer Dosierung der festen Form von 1 mg bis 2 000 mg pro Tag verabreicht werden.

[0066] Die Verbindungen der Formel (I) und pharmazeutisch annehmbare Derivate davon können ganz allein oder in Form von geeigneten pharmazeutischen Zusammensetzungen verwendet, in welchen die Verbindung oder das Derivat in Vermischung mit einem pharmazeutisch annehmbaren Adjuvans, Verdünnungsmittel oder Träger vorliegt. Ein weiterer Aspekt der Erfindung sieht eine pharmazeutische Zusammensetzung vor, die eine Verbindung der Formel (I) oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon in Vermischung mit einem pharmazeutisch annehmbaren Adjuvans, Verdünnungsmittel oder Träger umfasst. Die Verabreichung kann enteral (einschließlich oral, sublingual oder rektal), intranasal, durch Inhalation, intravenös, topisch oder über eine andere parenterale Route erfolgen, ist jedoch nicht darauf beschränkt. Herkömmliche Prozeduren zur Auswahl und Herstellung von geeigneten pharmazeutischen Formulierungen sind zum Beispiel in "Pharmaceuticals – The Science of Dosage Form Designs", M.E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988, beschrieben. Die pharmazeutische Zusammensetzung umfasst vorzugsweise weniger als 80% und stärker bevorzugt weniger als 50% einer Verbindung der Formel (I) oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon.

[0067] Es wird ebenfalls ein Verfahren zur Herstellung einer solchen pharmazeutischen Zusammensetzung bereitgestellt, welches das Mischen der Bestandteile umfasst.

[0068] Die Verbindungen der Formel (I) und pharmazeutisch annehmbare Derivate davon können in vorteilhafter Weise in Kombination mit einem COX-Inhibitor, ganz besonders in Kombination mit einem COX-2-Inhibitor, verwendet werden. Besonders bevorzugte COX-2-Inhibitoren sind Celecoxib und MK-966. Der NOS-Inhibitor und der COX-2-Inhibitor können entweder zusammen mit der gleichen pharmazeutischen Zusammensetzung zur Verabreichung in einer Einzeldosiseinheit formuliert werden, oder jede Komponente kann einzeln formuliert werden, so dass die separaten Dosierungen entweder simultan oder der Reihe nach verabreicht werden können.

[0069] Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele veranschaulicht:

[0070] Die folgenden Abkürzungen werden verwendet:

DMSO (Dimethylsulfoxid); DMF (N,N-Dimethylformamid); THF (Tetrahydrofuran); NMP (N-Methylpyrrolidinon).

Beispiel 1

2-[[[(1R)-3-(Methylamino)-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-hydrochlorid

a) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-[[3-cyano-6-(trifluormethyl)-2-pyridinyl]oxy]-3-phenylpropyl]methylcarbamate

[0071] 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-hydroxy-3-phenylpropyl]methylcarbamate (265 mg) und 2-Chlor-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril (207 mg) wurden in DMF (10 ml) gelöst. Natriumhydrid (60%ige Suspension in Öl; 80 mg) wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde 2 Tage lang gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in Wasser gegossen und mit Diethylether dreimal extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden gewaschen (Salzlösung), getrocknet (Magnesiumsulfat) und konzentriert. Die Reinigung (Silica, 20% Ethylacetat/Hexan als Eluent) ergab die Untertitelverbindung (160 mg).

MS APCI + ve^m/z 336 ($[M - 100 + H]^+$).

1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 8,00 (1H, d), 7,47 (1H, d), 7,35 (4H, m), 6,13 (1H, m), 3,20-3,40 (2H, m), 2,85 (3H, s), 2,40 (1H, m), 2,16 (1H, m), 1,37 (9H, s).

b) 2-[[[(1R)-3-(Methylamino)-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-hydrochlorid

[0072] Das Produkt vom Schritt (a) (155 mg) wurde in 4M Chlorwasserstoff in Dioxan (10 ml) 1 h lang gerührt. Das Lösungsmittel wurde abgedampft, und der Rückstand wurde aus Diethylether, der ein wenig Ethanol enthielt, umkristallisiert, wodurch man die Titelverbindung (80 mg) erhielt.

MS APCI + ve^m/z 336 ($[M + H]^+$).

1H -NMR: 300 MHz (d_6 -DMSO) 8,76 (2H, bs), 8,59 (1H, d), 7,67 (1H, d), 7,30-7,48 (5H, m), 6,20 (1H, m), 3,02 (2H, m), 2,56 (3H, s), 2,45 (1H, m), 2,30 (1H, m).

Beispiel 2

2-[[[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

a) (α^1S)- α -(2-Azidoethyl)benzylmethanol

[0073] (α^1S)- α -(2-Chlorethyl)benzylmethanol (1,68 g) und Natriumazid (960 mg) in DMSO (15 ml) und Wasser (0,5 ml) wurden gerührt und bei 50°C 17 h lang erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde mit Wasser (300 ml) verdünnt, und die Produkte wurden in Diethylether (2 × 200 ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden getrocknet (Magnesiumsulfat) und zu einem Öl konzentriert. Die Reinigung (Silica, 10% Aceton/Isohexan als Eluent) ergab die Untertitelverbindung als ein farbloses Öl (1,6 g).

1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 7,41-7,27 (5H, m), 4,88-4,82 (1H, m), 3,55-3,35 (2H, m), 2,11-1,89 (3H, m).

b) S-[[[(1R)-3-Azido-1-phenylpropyl]benzyl]carbothioat

[0074] Eine Lösung von Diisopropylazodicarboxylat (1,33 ml) in trockenem THF (25 ml) bei 0°C wurde mit Triphenylphosphin (1,48 g) behandelt, und die Mischung wurde 20 Minuten lang gerührt. Die resultierende Suspension wurde dann mit (α^1S)- α -(2-Azidoethyl)benzylmethanol (1 g), gefolgt von Benzylcarbothiosäure (0,66 ml) behandelt. Die Suspension verwandelte sich schnell in eine gelbe Lösung bei der Zugabe der Benzylcarbothiosäure, und nach 2,5 h war die Reaktion abgeschlossen. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockne konzentriert, und der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, Isohexan/Diethylether (98:2) als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung (800 mg) (als ein bernsteinfarbiges Öl) erhielt.

1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 7,94 (2H, m), 7,6-7,2 (8H, m), 4,91 (1H, dd), 3,4-3,2 (2H, m), 2,4-2,2 (2H, m).

c) 2-[[[(1R)-3-Azido-1-phenylpropyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril

[0075] Eine Mischung von 2-Chlor-6-methyl-3-pyridincarbonitril (152 mg), das Produkt vom Schritt (b) (300 mg) und Kaliumcarbonat (150 mg) in Methanol (2 ml) wurde gerührt und 1,5 h lang am Rückfluss gehalten. Die gekühlte Reaktionsmischung wurde mit Wasser (50 ml) gelöscht, und die Produkte wurden in Diethylether (2 × 100 ml) extrahiert. Die organischen Extrakte wurden getrocknet (Magnesiumsulfat) und zu einem Öl konzentriert. Das rohe Produkt wurde mittels Chromatographie (Silica, Isohexan/Diethylether 1:1 als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung (280 mg), kontaminiert mit ~30% des Ausgangschlorpyridins, erhielt.

MS-APCI + ve^m/z 282 ($[M + H - N_2]^+$).

d) 2-[[[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0076] Das rohe Produkt vom Schritt (c) (280 mg) wurde in THF (10 ml) gelöst, und die Lösung wurde mit Wasser (0,1 ml) und Triphenylphosphin (360 mg) behandelt. Die Mischung wurde unter Rückfluss 1 h lang erhitzt, dann bis zur Trockne konzentriert. Der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, 100% Ethylacetat, gefolgt von 10% 7M Ammoniak in Methanol/Dichlormethan als Elutionsmittel) gereinigt, gefolgt von der Herstellung des Salzes (170 mg) durch die Behandlung des Amins in Ethanol mit (E)-Butendisäure (1 Äquivalent).

MS-APCI + ve^m/z 284 ($[M + H]^+$).

1H -NMR: 300 MHz (d_6 -DMSO) 8,05 (1H, d), 7,49-7,15 (6H, m), 6,34 (2H, s), 5,19 (1H, dd), 2,73-2,5 (2H, m), 2,56 (3H, s), 2,3-2,15 (2H, m).

Beispiel 3

2-[[[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-(fluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) 6-(Fluormethyl)-2-(methylthio)-3-pyridincarbonitril

[0077] Zu einer Lösung von 6-Formyl-2-(methylthio)-3-pyridincarbonitril (1 g) in Ethanol (12 ml) wurde Natriumborhydrid (212 mg) gegeben. Nach 2 h wurden die flüchtigen Stoffe entfernt, und Ethylacetat und Wasser wurden hinzugesetzt. Die organische Schicht wurde abgetrennt, und die wässrige Schicht wurde mit weiterem Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Schichten wurden getrocknet (Natriumsulfat), und das Lösungsmittel wurde entfernt, wodurch man 6-(Hydromethyl)-2-(methylthio)-3-pyridincarbonitril (1 g) als einen gelben Feststoff erhielt. Dieses Material wurde in Dichlormethan (10 ml) unter Stickstoff aufgenommen, und [Bis(methoxyethyl)amino]schwefeltrifluorid (1 ml) in Dichlormethan (3 ml) hinzugesetzt. Nach 16 h wurde die Reaktionsmischung vorsichtig in eine gesättigte wässrige Natriumbicarbonatlösung gegossen. Die organische Schicht wurde abgetrennt, getrocknet (Natriumsulfat), und das Lösungsmittel wurde entfernt. Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen und durch ein SCX-Ionenaustauschharz unter Elution mit Methanol geführt. Die Lösungsmittel wurden entfernt, wodurch man das Untertitelprodukt (0,88 g) als einen gelben Feststoff erhielt.

¹H-NMR: 400 MHz (CDCl₃) 7,85 (1H, d), 7,23 (1H, d), 5,48 (2H, d), 2,60 (3H, s).

b) 6-(Fluormethyl)-2-(methylsulfonyl)-3-pyridincarbonitril

[0078] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 4, Schritt (b), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (a) und 3-Chlorperoxybenzoesäure hergestellt. Das Produkt wurde als blassgrünes Öl erhalten, welches sich beim Stehenlassen verfestigte.

¹H-NMR: 400 MHz (CDCl₃) 8,33 (1H, d), 7,87 (1H, d), 5,60 (2H, d), 3,37 (3H, s).

c) 2-[[[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-(fluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0079] S-[(1R)-3-Azido-1-phenylpropyl]benzolcarbothioat (0,22 g) wurde in einer Lösung von Ammoniak in Methanol (10 ml, 7M) gelöst und 3 h unter einer Stickstoffatmosphäre gerührt. Die flüchtigen Stoffe wurden im Vakuum entfernt, und der Rückstand wurde in DMF (6 ml) aufgenommen. Festes Caesiumcarbonat (0,48 g) und 6-(Fluormethyl)-2-(methylsulfonyl)-3-pyridincarbonitril (0,16 g) wurden hinzugesetzt, und die Reaktion wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Ethylacetat und Wasser wurden hinzugesetzt, und die organische Schicht wurde abgetrennt. Dies wurde mit Wasser, 1M wässrigem Natriumhydroxid/Salzlösung (1:1) gewaschen, getrocknet (Natriumsulfat), abgedampft und mittels Chromatographie (Silica, 5–10% Ethylacetat in Isohexan als Elutionsmittel) gereinigt, wodurch man das gekoppelte Produkt als ein Öl erhielt. Dies wurde in THF (3 ml) aufgenommen, Triphenylphosphin (0,13 g) wurden hinzugesetzt, und die Lösung wurde 1 h lang gerührt. Wasser (1 ml) wurde hinzugesetzt, und das Rühren wurde 16 h lang fortgesetzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde durch den Durchlauf durch ein SCX-Ionenaustauschharz gereinigt. Die freie Base des Titelproduktes wurde in Diethylether aufgenommen, und Ethandisäure (1 Äquivalent) in Diethylether wurde hinzugesetzt. Die resultierenden Kristalle wurden abfiltriert und im Vakuum getrocknet, wodurch man das Titelprodukt als einen weißen Feststoff (0,11 g) erhielt.

¹H-NMR: 400 MHz (CD₃OD) 8,06 (1H, d), 7,47 (2H, d), 7,39-7,27 (4H, m), 5,64-5,42 (2H, m), 5,17 (1H, dd), 3,03 (1H, ddd), 2,87 (1H, ddd), 2,52-2,35 (2H, m).

Beispiel 4

2-[[[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-(difluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) 6-(Difluormethyl)-2-(methylthio)-3-pyridincarbonitril

[0080] Zu einer Lösung von 6-Formyl-2-(methylthio)-3-pyridincarbonitril (1 g) in Dichlormethan unter Stickstoff wurde [Bis(methoxyethyl)amino]schwefeltrifluorid (2 ml), gefolgt von Ethanol (0,05 ml), gegeben. Nach 16 h wurde die Reaktionsmischung vorsichtig in eine gesättigte wässrige Natriumbicarbonatlösung gegossen. Die organische Schicht wurde abgetrennt, und die wässrige Schicht wurde mit weiterem Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Schichten wurden getrocknet (Natriumsulfat), und das Lösungsmittel wurde entfernt. Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen und durch ein SCX-Ionenaustauschharz, welches mit Methanol eluiert wurde, gegeben. Die Lösungsmittel wurden entfernt, wodurch man das Titelprodukt (1,2 g) als einen gelben Feststoff erhielt.

¹H-NMR: 400 MHz (CDCl₃) 7,93 (1H, d), 7,38 (1H, d), 6,59 (1H, t), 2,65 (3H, s).

b) 6-(Difluormethyl)-2-(methylsulfonyl)-3-pyridincarbonitril

[0081] Zu einer Lösung des Produktes vom obigen Schritt (a) (1,2 g) in Dichlormethan (12 ml) wurden bei 0°C 3-Chlorperoxybenzoesäure (6,8 g mit einer minimalen Reinheit von 57%) gegeben. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 2 h gerührt. Die Reaktion wurde mit wässriger Natriumbicarbonatlösung gewaschen und getrocknet (Natriumsulfat). Das Lösungsmittel wurde abgedampft, und der Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen. Die organische Lösung wurde mit wässriger Natriummetabisulfitlösung, eiskalter wässriger 0,5M Natriumhydroxidlösung, Salzlösung gewaschen und dann getrocknet (Natriumsulfat). Das Lösungsmittel wurde entfernt, wodurch man die Untertitelverbindung (0,58 g) als ein blassgelbes Öl erhielt.

¹H-NMR: 400 MHz (CDCl₃) 8,44 (1H, d), 8,03 (1H, d), 6,72 (1H, t), 3,42 (3H, s).

c) 2-[[[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-(difluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0082] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 3, Schritt (c), unter Verwendung von Benzolcarbothiosäure, S-[[[(1R)-3-Azido-1-phenylpropyl]ester und 6-(Difluormethyl)-2-(methylsulfonyl)-3-pyridincarbonitril hergestellt, wodurch man nach der Ethandioatsalzbildung die Titelverbindung (0,13 g) als einen weißen Feststoff erhielt.

¹H-NMR: 400 MHz (CD₃OD) 8,18 (1H, d), 7,50 (3H, m), 7,36 (2H, m), 7,30 (1H, m), 6,81 (1H, t), 5,21 (1H, dd), 3,05 (1H, ddd), 2,88 (1H, ddd), 2,55-2,37 (2H, m).

Beispiel 5

2-[[[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) N-Methoxy-N-methyl-5-isoxazolcarboxamid

[0083] Eine Lösung von Isoxazol-5-carbonsäure (2,81 g), N-Methoxy-N-methylamin-hydrochlorid (2,49 g), EDCI (4,96 g), DMAP (3,15 g) und 4-Methylmorpholin (2,8 ml) in Dichlormethan (20 ml) wurde 18 h lang gerührt. 2M Chlorwasserstoffsäure wurden hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Dichlormethan (dreimal) extrahiert. Die organischen Schichten wurden mit wässrigem Natriumhydrogencarbonat und dann mit Salzlösung gewaschen, vereinigt, getrocknet (Magnesiumsulfat), abgedampft und mittels Chromatographie (Silica, Petrol-Ether als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung als ein farbloses Öl erhielt (2,94 g).

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,35 (1H, d), 6,89 (1H, d), 3,83 (3H, s), 3,39 (3H, s).

b) 3-Chlor-1-(3-isoxazolyl)-1-propanon

[0084] Vinylmagnesiumbromid (20 ml, 1 M in THF) wurde zu einer Lösung des Produktes von Schritt (a) (2,59 g) in THF (35 ml) bei -78°C gegeben und auf 0°C innerhalb von 2,5 h erwärmt. Nach dem Kühlen auf -50°C wurde die Mischung langsam in einen Überschuss an vereister 2M Chlorwasserstoffsäure gegossen. Die Mischung wurde mit Ether (fünfmal) extrahiert. Die organischen Extrakte wurden getrocknet (Magnesiumsulfat) und abgedampft, wodurch man ein braunes Öl erhielt. Chlorwasserstoff in Diethylether (20 ml, 1M) wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde 40 Minuten lang gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, wodurch man die Untertitelverbindung (2,0 g) erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,39 (1H, s), 6,96 (1H, s), 3,91 (2H, t), 3,49 (2H, t).

c) (α⁵-R)-α-(2-Chlorethyl)-5-isoxazolmethanol

[0085] Boran (4,2 ml, 1M in THF) wurde zu einer Lösung von (3aS)-Tetrahydro-1-methyl-3,3-diphenyl-3H-pyrrol[1,2-c][1,3,2]oxazaborol (0,06 ml, 1M in Toluol) in THF (5 ml) bei 0°C gegeben. Eine Lösung des Produktes von Schritt (b) (998 mg) in THF (5 ml) wurde langsam hinzugesetzt, und dann wurde die Mischung bei 20°C 4 h lang gerührt. Methanol wurde hinzugesetzt, und die Lösung wurde abgedampft, und der Rückstand wurde mit Methanol azeotrop behandelt. Die Reinigung mittels Chromatographie (Silica, Petrol-Ether als Eluent) ergab die Titelverbindung als ein farbloses Öl (562 mg).

MS-APCI + ve^{m/z} 162 ([M + H]⁺).

d) (α⁵-R)-α-(2-Azidoethyl)-5-isoxazolmethanol

[0086] Eine Lösung des Produktes von Schritt (c) (1,62 g) und Natriumazid (726 mg) in trockenem DMSO (11

ml) wurde bei 40°C 24 h lang und dann bei 60°C 1 h lang gerührt. Wasser wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Schichten wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat), abgedampft und mittels Chromatographie (Silica, Petrol-/Diethylether als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung als ein farbloses Öl erhielt (1,16 g).

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,22 (1H, d), 6,25 (1H, d), 5,13-5,01 (1H, m), 3,66-3,45 (2H, m), 2,54 (1H, d), 2,22-2,02 (2H, m).

e) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-hydroxy-3-(5-isoxazolyl)propyl]carbamat

[0087] Triphenylphosphin (1,80 g) und Wasser (3 ml) wurden zu einer Lösung des Produktes von Schritt (d) (1,15 g) in THF (16 ml) gegeben und 18 h gerührt. Di-tert-butylidicarbonat (1,64 g) wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde zwei Stunden lang gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde mit Dichlormethan extrahiert, und die organischen Schichten wurden abgedampft und mittels Chromatographie (Silica, Petrol-/Diethylether (1:3) als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung als ein farbloses Öl erhielt (1,43 g).

MS-APCI + ve^{m/z} 243 ([M + H]⁺).

f) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-[[3-cyano-6-(trifluormethyl)-2-pyridinyl]oxy]-3-(5-isoxazolyl)propyl]carbamat

[0088] Caesiumcarbonat (5,67 g) wurde zu einer Lösung des Produktes von Schritt (e) (1,40 g) und 2-Chlor-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril (1,47 g) in DMF (15 ml) bei 0°C gegeben, und die Mischung wurde bei 20°C 1 h lang gerührt. 2M Chlorwasserstoffsäure und wässriges Ammoniumchlorid wurden hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ether (dreimal) extrahiert. Die organischen Schichten wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet (Natriumsulfat), abgedampft und mittels Chromatographie (Silica, Petrol-/Diethylether als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung als einen weißen Feststoff erhielt (1,70 g).

[0089] Die weitere Reinigung unter Verwendung der chiralen HPLC (Chiralpak[®] AD, Isohexan/Ethanol als Eluent) ergab die Untertitelverbindung (1,10 g) als ein farbloses Öl.

MS-APCI + ve^{m/z} 413 ([M + H]⁺).

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,22 (1H, s), 8,11 (1H, d), 7,41 (1H, dd), 6,46 (1H, dt), 6,42 (1H, s), 4,76 (1H, s), 3,49-3,27 (2H, m), 2,56-2,27 (2H, m), 1,40 (9H, s).

[0090] Eine weitere Elution ergab das (3S)-Isomer als ein farbloses Öl (405 mg).

MS-APCI + ve^{m/z} 413 ([M + H]⁺).

g) 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0091] 4M Chlorwasserstoff in Dioxan (9 ml) wurden zu einer Lösung des Produktes von Schritt (f) (779 mg) in Dioxan gegeben und 1,25 h lang gerührt. Wässriges Kaliumcarbonat wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ethylacetat (dreimal) und Dichlormethan extrahiert. Die organischen Extrakte wurden getrocknet (Natriumsulfat), abgedampft und in Acetonitril (10 ml) gelöst, und das Ethandioatsalz wurde hergestellt durch Zugabe einer Lösung von Ethandisäure in Methanol, wodurch man die Titelverbindung als einen weißen Feststoff erhielt (552 mg); Schmp.: 179–180°C.

MS-APCI + ve^{m/z} 313 ([M + H]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz (d₆-DMSO) 8,65 (2H, d), 8,60 (1H, d), 7,76 (1H, d), 6,60 (1H, d), 6,43 (1H, dd), 3,01 (2H, t), 2,49–2,32 (6H, m).

Beispiel 6

2-[[[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) (α⁵-S)-α-(2-Chlorethyl)-5-isoxazolmethanol

[0092] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (c), unter Verwendung des Produktes von Beispiel 5, Schritt (b), und (3aR) Tetrahydro-1-methyl-3,3-diphenyl-3H-pyrrolo[1,2-c][1,3,2]oxazaborol als Katalysator hergestellt.

MS APCI + ve^{m/z} 162 ([M + H]⁺)

b) (α^5 -S)- α -(2-Azidoethyl)-5-isoxazolmethanol

[0093] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (d), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (a) hergestellt.

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,22 (1H, d), 6,25 (1H, d), 5,13-5,01 (1H, m), 3,66-3,45 (2H, m), 2,54 (1H, d), 2,22-2,02 (2H, m).

c) 1,1-Dimethylethyl[(3S)-3-hydroxy-3-(5-isoxazolyl)propyl]carbammat

[0094] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (e), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (b) hergestellt.

MS-APCI + ve^m/z 243 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

d) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-(benzoylthio)-3-(5-isoxazolyl)propyl]-carbammat

[0095] Diisopropylazodicarboxylat (0,52 ml) wurden tropfenweise zu Triphenylphosphin (695 mg) in trockenem THF (10 ml) bei 0°C hinzugesetzt. Nach 0,5 h wurde eine Lösung aus dem Produkt von Schritt (c) (317 mg) und Benzolcarbothiosäure (359 mg) in THF (7 ml) langsam hinzugesetzt, das Kühlbad wurde entfernt und das Rühren wurde über Nacht fortgesetzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, Petrol-/Diethylether (1:3) als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung als einen Feststoff erhielt (864 mg).

MS-APCI + ve^m/z 363 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

e) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-[(3-cyano-6-methyl-2-pyridinyl)thio]-3-(5-isoxazolyl)propyl]-carbammat

[0096] Das Produkt von Schritt (d) (431 mg) wurde in 7M Ammoniak in Methanol (5 ml) gelöst, bei Raumtemperatur unter Stickstoff 3 h lang gerührt, und das Lösungsmittel wurde dann abgedampft. Der Rückstand wurde in DMF (3 ml) gelöst, und eine Mischung von Cäsiumcarbonat (410 mg) und 2-Chlor-6-methyl-3-pyridincarbonitril (144 mg) wurde hinzugesetzt. Nach dem Rühren für 1,75 h wurden 2M Chlorwasserstoffsäure und Wasser hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ether extrahiert (dreimal). Die organischen Schichten wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat), abgedampft und mittels Chromatographie (Silica, Petrol-/Diethylether als Elutionsmittel) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung als einen weißen Feststoff erhielt (186 mg).

MS-APCI + ve^m/z 375 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

f) 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril

[0097] Die Titelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (e) unter Anwendung des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (g), hergestellt; Schmp.: 165–167°C.

MS-APCI + ve^m/z 275 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (d_6 -DMSO) 8,55 (1H, d), 8,15 (1H, d), 7,27 (1H, d), 6,57 (1H, d), 5,55 (1H, t), 3,00-2,83 (2H, m), 2,57 (3H, s), 2,47-2,32 (2H, m).

Beispiel 7

2-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-thienyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) N-Methoxy-N-methyl-3-thiophen-carboxamid

[0098] 3-Thiophencarbonsäure (10,78 g) wurde in Dichlormethan (250 ml) gelöst, und 4-Dimethylaminopyridin (10,28 g), N,O-Dimethylhydroxylaminhydrochlorid (8,21 g), N-Methylmorpholin (8,51 g) und 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimidhydrochlorid (EDCI) (16,12 g) wurden hinzugesetzt, und die resultierende Lösung wurde 24 h lang bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Dichlormethan (100 ml) verdünnt und mit wässriger 2M Chlorwasserstoffsäure (3 × 30 ml), wässriger Natriumbicarbonatlösung (2 × 30 ml) und Wasser (3 × 30 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet (Magnesiumsulfat), filtriert und abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung als ein farbloses Öl erhielt (13,35 g).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,07 (1H, dd), 7,58 (1H, dd), 7,29 (1H, dd), 3,66 (3H, s), 3,37 (3H, s).

b) 1-(3-Thienyl)-2-propen-1-on

[0099] Das Produkt von Schritt (a) (2,07 g) wurde in wässrigem THF (30 ml) gelöst, und die Lösung wurde auf -10°C gekühlt. Vinylmagnesiumbromid (1M, 14,5 ml) wurde tropfenweise hinzugesetzt, wobei die Temperatur unter 0°C erhalten wurde. Die resultierende Lösung wurde bei 0°C 2,5 h lang gerührt, dann auf Raumtemperatur erwärmen gelassen. Die Reaktionsmischung wurde langsam in wässriges 2M Chlorwasserstoffsäure (200 ml) und Eis gegossen. Die Mischung wurde mit Ethylacetat (3×70 ml) extrahiert, und die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser (2×30 ml) und Salzlösung (20 ml) gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung (1,29 g) erhielt.

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,11 (1H, dq), 7,61 (1H, td), 7,41-7,30 (1H, m), 7,06 (1H, dd), 6,46 (1H, dd), 5,89 (1H, dd).

c) 3-Chlor-1-(3-thienyl)-1-propanon

[0100] Das Produkt von Schritt (b) (1,29 g) wurde in einer Mischung von Diethylether (30 ml) und Dichlormethan (20 ml) gelöst, dann wurde 1M Chlorwasserstoff in Diethylether (25 ml) hinzugesetzt. Die Reaktionsmischung wurde 18 h lang bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, wodurch man die Untertitelverbindung erhielt (1,48 g).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,09 (1H, dd), 7,56 (1H, dd), 7,35 (1H, dd), 3,90 (2H, t), 3,37 (2H, t).

d) (R)- α -(2-Chlorethyl)-3-thiophenmethanol

[0101] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel Schritt (c), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (c) und (3aS)-Tetrahydro-1-methyl-3,3-diphenyl-3H-pyrrolo[1,2-c][1,3,2]oxazaborol als Katalysator hergestellt.

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 7,33 (1H, dd), 7,24 (1H, dt), 7,09 (1H, dd), 5,06 (1H, Quintett), 3,75 (1H, ddd), 3,62-3,54 (1H, m), 2,31-2,11 (2H, m).

e) 2-[[[(1R)-3-Chlor-1-(3-thienyl)-propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril

[0102] (R)- α -(2-Chlorethyl)-3-thiophenmethanol (1,05 g) und 2-Chlor-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril (1,23 g) wurden in DMF (20 ml) gelöst, und Natriumhydrid wurde hinzugesetzt (286 mg, 60%ige Dispersion in Öl). Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur 2 h lang gerührt, bevor mit einer Ammoniumchloridlösung gelöscht wurde und mit Ethylacetat (3×50 ml) extrahiert wurde. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Wasser (3×30 ml) gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, Hexan/Ethylacetat als Elutionsmittel) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung erhielt (1,55 g, 75%).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (CDCl_3) 8,03 (1H, d), 7,45 (1H, t), 7,35-7,28 (2H, m), 7,20 (1H, d), 6,57-6,51 (1H, m), 3,77-3,68 (1H, m), 3,62-3,54 (1H, m), 2,76-2,65 (1H, m), 2,45-2,35 (1H, m).

f) 2-[[[(1R)-3-Iod-1-(3-thienyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril

[0103] Das Produkt vom Schritt (e) (1,13 g) wurde in einer gesättigten Lösung von Natriumiodid in Aceton (100 ml) gelöst und 20 h lang am Rückfluss gehalten, dann gekühlt, und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser (50 ml) aufgenommen und mit Ethylacetat extrahiert (3×60 ml). Die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser (30 ml) gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, Hexan/Ethylacetat als Elutionsmittel) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung (1,35 g, 95%) als ein Öl erhielt, welches beim Stehenlassen kristallisierte.

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (CDCl_3) 8,03 (1H, dd), 7,45 (1H, dd), 7,34-7,29 (2H, m), 7,20 (1H, dd), 6,44 (1H, dd), 3,28 (1H, dt), 3,17 (1H, dddd), 2,78-2,68 (1H, m) 2,52-2,42 (1H, m).

g) 2-[[[(1R)-3-Azido-1-(3-thienyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril

[0104] Das Produkt von Schritt (f) (300 mg) wurde in DMSO (10 ml) gelöst, Natriumazid (71 mg) wurde hinzugesetzt, und die Reaktionsmischung wurde auf 65°C erhitzt und 24 h lang gerührt. Nach dem Kühlen wurde Wasser (30 ml) hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ethylacetat (3×50 ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser gewaschen (3×20 ml), getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung (180 mg) erhielt.

MS-APCI + ve^m/z 325 ($[\text{M} - \text{N}_2]^+$).

h) 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-thienyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0105] Das Produkt von Schritt (g) (180 mg) wurde in THF (20 ml) gelöst, die Lösung wurde mit Triphenylphosphin (213 mg) behandelt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Wasser (4 ml) wurde hinzugesetzt, und die Reaktion wurde 48 h lang gerührt. Wasser (30 ml) wurde hinzugesetzt, und die Reaktion wurde mit Ethylacetat (3 × 50 ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser gewaschen (3 × 20 ml), getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, 7M Ammoniak in Methanol/Dichlormethan als Eluent) gereinigt, wodurch man die freie Base erhielt, welche zu dem Ethandioatsalz umgewandelt wurde, um die Titelverbindung zu erhalten (120 mg, 56%).

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 8,59 (1H, d), 7,69 (1H, d), 7,60-7,54 (2H, m), 7,20 (1H, dd), 6,36-6,29 (1H, m), 2,91 (2H, t), 2,42 (1H, Quintett), 2,35-2,22 (1H, m).

Beispiel 8

2-[[[(1R)-3-[(3-Hydroxypropyl)amino]-1-(3-thienyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0106] Das Produkt vom Beispiel 7, Schritt (f) (250 mg) und 3-Amino-1-propanol (257 mg) wurden in THF (25 ml) gelöst und bei Raumtemperatur 48 h lang gerührt. Wasser (30 ml) wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ethylacetat (3 × 50 ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser gewaschen (4 × 20 ml), getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, 7M Ammoniak in Methanol/Dichlormethan als Eluent) gereinigt, wodurch man die freie Base erhielt, welche zu dem Ethandioatsalz umgewandelt wurde, um die Titelverbindung zu erhalten (101 mg, 37%).

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 8,59 (1H, d), 7,69 (1H, d), 7,61-7,55 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 6,33 (1H, dd), 3,46 (2H, t), 3,07-2,92 (4H, m), 2,40-2,26 (2H, m), 1,77-1,65 (2H, m).

Beispiel 9

3-[[[(3R)-3-[[3-Cyano-6-(trifluormethyl)-2-pyridinyl]oxy]-3-(3-thienyl)propyl]amino]-N-methylpropanamidethandioat

[0107] Das Produkt von Beispiel 7, Schritt (f), (250 mg), 3-Amino-N-methyl-propanamid-hydrochlorid (475 mg) und Triethylamin (0,15 ml) wurden in THF (25 ml) gelöst und bei Raumtemperatur 48 h lang gerührt. Wasser (30 ml) wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ethylacetat (3 × 50 ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser (4 × 20 ml) gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde mittels Chromatographie gereinigt (Silica, 7M Ammoniak in Methanol/Dichlormethan als Eluent), wodurch man die freie Base erhielt, welche zu dem Ethandioatsalz umgewandelt wurde, wodurch man die Titelverbindung erhielt (49 mg, 17%).

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 8,60 (1H, d), 8,04 (1H, d), 7,69 (1H, d), 7,60-7,55 (2H, m), 7,21 (1H, dd), 6,33 (1H, dd), 3,18-2,97 (4H, m), 2,58 (3H, d), 2,49-2,42 (3H, m), 2,40-2,30 (2H, m).

Beispiel 10

2-[[3-Amino-1-(5-isothiazolyl)propyl]thio]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) 1,1-Dimethylethyl[3-(5-isothiazolyl)-3-oxopropyl]-carbamate

[0108] Butyllithium (3,3 ml, 2,5M in Hexanen) wurde zu einer Lösung von Isothiazol (860 mg) in THF (15 ml) bei -78°C gegeben, und die dunkelrote Lösung wurde 1,5 h lang bei -78°C gerührt. Eine Lösung von 1,1-Dimethylethyl[3-(methoxymethylamino)-3-oxopropyl]carbamate (1,09 g) in THF (5 ml) wurde langsam hinzugesetzt. Nach Zugabe von Dreiviertel des Amids wurde weiteres Butyllithium (0,7 ml) hinzugesetzt, und die Mischung wurde 10 Minuten lang gerührt, bevor die Amidzugabe abgeschlossen wurde. Die Mischung wurde sich auf 20°C während 20 h erwärmen gelassen, dann mit wässrigem Ammoniumchlorid gelöscht. Die Mischung wurde mit Diethylether extrahiert, und die organischen Schichten wurden getrocknet (Magnesiumsulfat), abgedampft und mittels Chromatographie gereinigt (Silica, Petrol-/Diethylether als Eluent), wodurch man die Unter-titelverbindung als ein farbloses Öl erhielt (725 mg).

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,58 (1H, d), 7,68 (1H, d), 5,07 (1H, s), 3,61-3,48 (2H, m), 3,24-3,13 (2H, m), 1,48 (7H, s).

b) 1,1-Dimethylethyl[3-hydroxy-3-(5-isothiazolyl)propyl]-carbamat

[0109] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (c), unter Verwendung des obigen Schritts (a) hergestellt.
MS-APCI + ve^m/z 259 ($[M + H]^+$).

c) 1,1-Dimethylethyl[3-[[3-cyano-6-(trifluormethyl)-2-pyridinyl]oxy]-3-(5-isothiazolyl)propyl]-carbamat

[0110] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 1, Schritt (a), unter Verwendung des obigen Schritts (b), jedoch mit einer Reaktionszeit von 1 h, hergestellt.
MS-APCI + ve^m/z 429 ($[M + H]^+$).

d) 2-[[3-Amino-1-(5-isothiazolyl)propyl]thio]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0111] Die Titelverbindung wurde aus dem Produkt vom obigen Schritt (c) unter Verwendung des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (g), hergestellt, unter Reinigung des rohen Amins mittels Chromatographie (Silica, Dichlormethan/7M Ammoniak in Methanol als Eluent), gefolgt von der Herstellung des Salzes in Isopropanol und Methanol; Schmp.: 223–225°C.
MS-APCI + ve^m/z 329 ($[M + H]^+$).
 1H -NMR: 300 MHz (d_6 -DMSO) 8,64 (1H, d), 8,53 (1H, d), 7,75 (1H, d), 7,51 (1H, d), 6,66 (1H, dd), 3,96 (3H, s), 2,86 (2H, t), 2,45-2,21 (2H, m).

Beispiel 11

2-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

a) N-Methoxy-N-methyl-3-isoxazolcarboxamid

[0112] Eine Mischung von 3-Isoxazolcarbonsäure (9,6 g) (Micetich R.G., Can. J. Chem., 1970, 48, 467–476), 4-Dimethylaminopyridin (11,7 g), N,O-Dimethylhydroxylaminohydrochlorid (9,1 g), N-Methylmorpholin (9,6 g) und 1-(3-Diethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimidhydrochlorid (17,1 g) in Dichlormethan (350 ml) wurde bei 20°C über Nacht gerührt. Die Reaktionsmischung wurde dann mit 2M Chlorwasserstoffsäure (200 ml), gesättigtem Natriumbicarbonat (200 ml), Salzlösung, gewaschen, getrocknet (Magnesiumsulfat) und abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung (8,5 g) als ein dunkelorange-farbiges Öl erhielt.
 1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 8,03 (1H, t), 7,42 (1H, t), 6,87 (1H, dd), 3,72 (3H, s), 3,34 (3H, s).

b) 3-Chlor-(3-isoxazolyl)-1-propanon

[0113] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens vom Beispiel 5, Schritt (b), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (a) hergestellt.
 1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 8,51 (1H, d), 6,79 (1H, d), 3,92 (2H, t), 3,57 (2H, t).

c) (α^3 -R)- α -(2-Chlorethyl)-3-isoxazolmethanol

[0114] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens vom Beispiel 5, Schritt (c), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (b) hergestellt.
 1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 8,39 (1H, s), 6,41 (1H, s), 5,21-5,16 (1H, m), 3,84-3,78 (1H, m), 3,72-3,66 (1H, m), 2,31-2,25 (2H, m).

d) (α^3 -R)-(2-Azidoethyl)-3-isoxazolmethanol

[0115] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens vom Beispiel 5, Schritt (d), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (c) hergestellt.
 1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 8,39 (1H, s), 6,41 (1H, s), 5,07 (1H, bd. s), 3,62-3,48 (2H, m), 2,12-2,07 (2H, m).

e) 1,1-Dimethylethyl[(3S)-3-hydroxy-3-(3-isoxazo-lyl)propyl]carbammat und 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-hydroxy-3-(3-isoxazolyl)propyl]carbammat

[0116] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens vom Beispiel 5, Schritt (e), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (d) hergestellt. Die Reinigung unter Verwendung chiraler HPLC (Chiralpak®

AD, Isohexan/Ethanol als Eluent) ergab die (3S)-Untertitelverbindung (175 mg) als ein farbloses Öl.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,35 (1H, s), 6,46 (1H, s), 4,99-4,91 (1H, m), 4,88 (1H, bd. s), 4,20 (1H, s), 3,68-3,56 (1H, m), 3,23-3,16 (1H, m), 2,00-1,90 (2H, m), 1,45 (9H, s).

[0117] Eine weitere Elution ergab die (3R)-Untertitelverbindung als farbloses Öl (1,25 g).

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,35 (1H, s), 6,46 (1H, s), 4,99-4,91 (1H, m), 4,88 (1H, bd. s), 4,20 (1H, s), 3,68-3,56 (1H, m), 3,23-3,16 (1H, m), 2,00-1,90 (2H, m), 1,45 (9H, s).

f) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-[[3-cyano-6-(trifluormethyl-2-pyridinyl)oxy]-3-(3-isoxazolyl)propyl]-carbammat

[0118] Die Untertitelverbindung wurde hergestellt unter Verwendung des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (f), unter Verwendung des (3R)-Produktes vom obigen Schritt (e).

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,40 (1H, s), 8,11 (1H, d), 7,40 (1H, d), 6,51-6,47 (2H, m), 4,86 (1H, bd. s), 3,39-3,31 (2H, m), 2,48-2,26 (2H, m), 1,40 (9H, s).

MS-APCI + ve^{m/z} 313 ([M + H] [-Boc]⁺).

g) 2-[(1R)-3-Amino-1-(3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0119] 4M Wasserstoffchlorid in Dioxan (9 ml) wurde zu einer Lösung des Produktes vom Schritt (f) (1,0 g) in Dioxan gegeben und 6 h lang gerührt. Wässriges Kaliumcarbonat wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ethylacetat (dreimal) und Dichlormethan extrahiert. Die organischen Extrakte wurden getrocknet (Natriumsulfat) und dann abgedampft. Der Rückstand wurde in Acetonitril (10 ml) gelöst, und das (E)-Butendioatsalz wurde durch Zugabe einer Lösung von (E)-Butendisäure in Methanol hergestellt, wodurch man die Titelverbindung als einen weißen Feststoff erhielt (850 mg).

Schmp.: 160–161°C.

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 8,93 (1H, d), 8,63 (1H, d), 7,72 (1H, d), 6,66 (1H, d), 6,40 (2H, s), 6,39-6,34 (1H, m), 3,07-2,92 (2H, m), 2,46-2,32 (2H, m).

MS-APCI + ve^{m/z} 313 ([M + H]⁺).

Beispiel 12

2-[(1R)-3-Amino-1-(2-thiazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-hydrochlorid

a) 1,1-Dimethylethyl[3-oxo-3-(2-thiazolyl)propyl]-carbammat

[0120] Die Untertitelverbindung wurde gemäß des Verfahrens von Beispiel 10, Schritt (a), unter Verwendung von 2-Bromthiazol anstelle von Isothiazol hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,01 (1H, m), 7,69 (1H, m), 5,05 (1H, br. s), 3,57 (2H, q), 3,39 (2H, t), 1,46 (9H, s).

b) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-hydroxy-3-(2-thiazolyl)propyl]-carbammat

[0121] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (c), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (a) hergestellt.

MS-APCI + ve^{m/z} 259 ([M + H]⁺).

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 7,72 (1H, d), 7,29 (1H, d), 5,06-5,02 (1H, m), 4,92 (1H, bd. s), 4,71 (1H, s), 3,70-3,58 (1H, m), 3,25-3,16 (1H, m), 2,24-2,216 (1H, m), 1,93-1,87 (1H, m), 1,44 (9H, s).

c) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-[[3-cyano-6-(trifluormethyl)-2-pyridinyl]oxy]-3-(2-thiazolyl)propyl]-carbammat

[0122] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens vom Beispiel 1, Schritt (a), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (b) hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,11 (1H, d), 7,79 (1H, d), 7,41 (1H, d), 7,34 (1H, d), 6,62 (1H, dd), 4,86 (1H, bd. s), 3,43-3,25 (2H, m), 2,55-2,35 (2H, m), 1,39 (9H, s).

MS-APCI + ve^{m/z} 429 ([M + H]⁺).

d) 2-[(1R)-3-Amino-1-(2-thiazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-hydrochlorid

[0123] 4M Wasserstoffchlorid in Dioxan (1 ml) wurde zu einer Lösung des Produktes von Schritt (c) (135 mg) in Dioxan hinzugesetzt, und die Mischung wurde 18 h lang gerührt. Das weiße Präzipitat wurde gesammelt, mit Ethylacetat gewaschen und Vakuum-getrocknet, wodurch man die Titelverbindung als einen weißen hygro-

skopischen Feststoff (105 mg) erhielt. Schmp.: 151–153°C.

MS-APCI + ve^m/z 329 ($[M + H]^+$).

1H -NMR: 300 MHz (d_6 -DMSO) 8,67 (1H, d), 8,16 (3H, bd. s), 7,85 (1H, d), 7,80 (1H, d), 7,77 (1H, d), 6,56-6,51 (1H, m), 3,11-3,00 (2H, m), 2,63-2,43 (2H, m).

Beispiel 13

(R)-2-(3-Dimethylamino-1-isoxazol-5-yl-propoxy)-6-trifluormethyl-nicotinonitril-ethandioat

[0124] Eine Lösung des Produktes von Beispiel 5, Schritt (f), (50 mg) in 10%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan (10 ml) wurde 20 Minuten lang gerührt und dann konzentriert, und der Rückstand wurde mit einer verdünnten wässrigen Natriumhydrogencarbonatlösung (8 ml) behandelt. Die Extraktion in Ethylacetat (3×10 ml) und trockenem (Na_2SO_4) ergab ein blassgelbes Öl nach der Konzentrierung. Dieses Material wurde in Acetonitril (2 ml) aufgenommen, und hierzu wurde ein Überschuss an 37%igem w/w wässrigem Formaldehyd (150 μ l) gegeben, mit schnellem Rühren bei Umgebungstemperatur. Nach 5 Minuten wurde Natriumcyanoborhydrid (16 mg) hinzugesetzt, und nach dem Rühren für weitere 20 Minuten wurde die Mischung auf einen pH-Wert von –5 durch die tropfenweise Zugabe von Essigsäure angesäuert. Nach dem Rühren für 16 h wurde die Lösung im Vakuum konzentriert und anschließend mit 0,5M Natriumhydroxidlösung behandelt und in Dichlormethan (3×10 ml), dann Ethylacetat (1×10 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit gesättigter Salzlösung (1×15 ml) gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4) und konzentriert. Der farblose Rückstand wurde in Dichlormethan (3 ml) aufgenommen und mit an makroporösem Polystyrolharz gebundener Toluolsulfonsäure (ca. 360 mg, 1,4 mMol/g Beladung) mit kräftiger Stickstoffgasbewegung bei Umgebungstemperatur 2 h lang behandelt. Das Waschen mit Methanol (2×3 ml) und die Freisetzung mit 7M Ammoniak in Methanol (3×2 ml, 5 Minuten Bewegung), gefolgt von einer Konzentrierung, ergab die freie Base der Titelverbindung (31 mg).

MS-APCI + ve^m/z 341 ($[M + H]^+$).

1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 8,21 (1H, d), 8,09 (1H, d), 7,39 (1H, d), 6,50 (1H, t), 6,37 (1H, d), 2,49-2,21 (4H, m), 2,21 (6H, s).

[0125] Die freie Base (31 mg) in Acetonitril (1 ml) wurde zu einer Lösung von Ethandisäure (8,1 mg) in Methanol (0,5 ml) gegeben. Die Konzentrierung und Trocknung im Vakuum über Nacht ergab das Ethandioatsalz (38 mg) als einen weißen Gummi.

MS-APCI + ve^m/z 341 ($[M + 1]^+$).

1H -NMR: 300 MHz ($MeOH-d_4$) 8,40 (2H, m), 7,61 (1H, d), 6,56 (2H, s), 3,31-3,42 (3H, m), 2,96 (6H, s), 2,68-2,96 (3H, m).

Beispiel 14

6-Amino-4-[[[(1R)-3-amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thiol-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

a) 2-Chlor-5-(4,5-dihydro-4,4-dimethyl-2-oxazolyl)-pyridin

[0126] Eine Suspension von 2-Chlorpyridin-5-carbonsäure (100 g) in Thionylchlorid (370 ml) wurde bei 80°C 4 h lang erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde im Vakuum abgedampft, der Rückstand wurde mit Toluol azeotrop entfernt und dann in Dichlormethan (300 ml) aufgenommen. Die Lösung wurde tropfenweise über 1 h bei 0°C zu einer Lösung aus 2-Amino-2-methylpropanol (118,8 g) in Dichlormethan (300 ml) gegeben und dann bei 20°C 16 h lang gerührt. Wasser (500 ml) wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Dichlormethan (5×500 ml) extrahiert. Eine feste Suspension, welche sich während der Extraktion bildete, ist das erforderliche intermediäre Amid und bedarf einer extensiven Extraktion. Die organische Schicht wurde getrocknet ($MgSO_4$) und abgedampft, wodurch das intermediäre Amid zurückblieb (125,5 g). Dieses Material wurde in Dichlormethan (200 ml) bei 0°C suspendiert, und Thionylchlorid (100 ml) wurde tropfenweise hinzugesetzt und 1 h lang gerührt. Es bildete sich ein dickes Präzipitat, und mehr Dichlormethan (300 ml) wird hinzugesetzt, und die Reaktion wird eine weitere Stunde lang gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt, wodurch man das Produkt als Hydrochloridsalz (120 g) erhält. 1H -NMR: 300 MHz (CD_3OD) 9,03 (1H, t), 8,42 (1H, dd), 7,80 (1H, dd), 4,96 (2H, s), 1,68 (6H, s).

[0127] Der Feststoff wurde in Wasser (800 ml) suspendiert und portionsweise mit festem Natriumhydrogencarbonat (ca. 70 g) behandelt, bis die Gasentwicklung aufhörte. Die Mischung wurde mit Dichlormethan (2×500 ml) extrahiert, getrocknet ($MgSO_4$) und abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung (99,5 g) erhielt.

1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 8,90 (1H, dd), 8,17 (1H, dd), 7,37 (1H, dd), 4,14 (2H, s), 1,39 (6H, s).

b) 5-(4,5-Dihydro-4,4-dimethyl-2-oxazolyl)-2-methoxypyridin

[0128] Das Produkt von Schritt (a) (99,5 g) in Methanol (500 ml) wurde mit Natriummethoxid (0,61 Mol einer 25 Gew.-%igen Lösung in Methanol) behandelt und am Rückfluss 12 h lang erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt, und der Rückstand wurde in Wasser (200 ml) aufgenommen und mit Dichlormethan (2 × 300 ml) extrahiert. Der Extrakt wurde getrocknet (MgSO_4) und bis zur Trockne abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung als ein orangefarbiges Öl erhielt (85 g).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,68 (1H, dd), 8,10 (1H, dd), 6,75 (1H, dd), 4,09 (2H, s), 3,98 (3H, s), 1,37 (6H, s).

c) 5-(4,5-Dihydro-4,4-dimethyl-2-oxazolyl)-2-methoxy-4-(methylthio)-pyridin

[0129] Zu 2,2,6,6-Tetramethylpiperidin (51,22 g) in THF wurde unter Stickstoff bei 0°C nBuLi (227 ml einer 1,6 M-Lösung in Hexanen) tropfenweise hinzugesetzt, und es wurde 15 Minuten lang gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf -78°C gekühlt, und das Produkt vom obigen Schritt (b) (43,97 g) in THF (50 ml) wurde tropfenweise hinzugesetzt. Das Kühlbad wurde entfernt, und die Reaktionstemperatur ließ man sich auf -20°C erwärmen, und sie wurde bei dieser Temperatur 30 Minuten gehalten. Dann wurde auf -78°C gekühlt, und Dimethyldisulfid (80 ml) wurde eingetropft. Die Temperatur der Reaktionsmischung stieg auf -30°C während dieser Zugabe. Das Kühlbad wurde dann entfernt, und die Reaktion wurde bei Raumtemperatur 12 h lang gerührt. Die resultierende rote Lösung wurde mit Wasser gelöscht und auf ca. 600 ml an einem Rotationsverdampfer konzentriert. Wasser wurde hinzugesetzt (500 ml), und die Mischung wurde mit Ethylacetat (2 × 600 ml) extrahiert.

[0130] Die vereinigten organischen Stoffe wurden mit Zitronensäure (500 ml einer wässrigen 1M-Lösung) gewaschen, getrocknet (MgSO_4) und abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung als einen blassgelben Feststoff erhielt (58,5 g).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,50 (1H, s), 6,52 (1H, s), 4,04 (2H, s), 3,97 (3H, s), 2,40 (3H, s), 1,40 (6H, s).

d) 6-Methoxy-4-(methylthio)-3-pyridincarbonitril

[0131] Eine gerührte Lösung des Oxazolins vom obigen Schritt (c) (45 g) in Pyridin (350 ml) wurde mit Phosphoroxchlorid (68 ml) behandelt, und die Mischung wurde unter Rückfluss 4,5 h lang gerührt. Die dunkelbraune Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt und dann vorsichtig auf Eis (1 kg) gegossen. Die resultierende Suspension wurde filtriert, und der Feststoff wurde mit Wasser (300 ml), 2M HCl (100 ml) und erneut mit Wasser (300 ml) gewaschen. Das feuchte Produkt wurde in Dichlormethan (600 ml) gelöst, und die Lösung wurde getrocknet (MgSO_4). Aktivierter Aktivkohle wurde hinzugesetzt (15 g), und die Suspension wurde filtriert. Die Konzentrierung des Filtrats und die Triturierung des Feststoffes mit 40–60 Petrolether ergab die Untertitelverbindung als einen sehr blassrosafarbenen Feststoff (26 g). $^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,31 (1H, s), 6,51 (1H, s), 3,98 (3H, s), 2,52 (3H, s).

e) 6-Methoxy-4-(methylsulfonyl)-3-pyridincarbonitril

[0132] Eine Lösung des Produktes vom obigen Schritt (d) (13 g) in Dichlormethan (150 ml) wurde auf 0°C gekühlt und portionsweise mit MCPBA (21,74 g von ~57% Reinheit) über 10 Minuten behandelt. Die Mischung ließ man sich auf 20°C langsam erwärmen. Nach 8 h gab die LC/MS eine Mischung aus Sulfoxid/Sulfon-Produkten (72:28) an. Zusätzliches MCPBA wurde hinzugesetzt (7,2 g), und nach weiteren 4 h zeigte die LC/MS eine 50:50-Mischung von Produkten an. Mehr MCPBA wurde hinzugesetzt (12 g) und kontinuierlich weitere 2 h lang gerührt, bevor die Reaktion abgeschlossen war. Die Reaktion wurde auf 0°C gekühlt und mit einem Überschuss an wässriger Natriummetabisulfidlösung behandelt. Die organische Schicht wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (3 × 200 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO_4) und abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung als einen weißen Feststoff (11,2 g) erhielt.

f) 1,6-Dihydro-4-(methylsulfonyl)-6-oxo-3-pyridincarbonitril

[0133] 6-Methoxy-4-(methylsulfonyl)-3-pyridincarbonitril von Schritt (e) (5,1 g) wurde in Acetonitril (200 ml) gelöst, und Natriumiodid (7,28 g) und Trimethylsilylchlorid (5,28 g) wurden hinzugesetzt. Die Reaktion wurde unter Rückfluss 48 h lang erhitzt und dann gekühlt, und das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde zwischen Wasser (120 ml) und Ethylacetat (120 ml) aufgeteilt. Nach dem Schütteln wurden die Schichten filtriert, und der Feststoff wurde gesammelt und in einem Vakuumofen bei 60°C getrocknet, wobei man die Untertitelverbindung als einen gebrochen weißen Feststoff (3,6 g) erhielt. $^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (d_6 -DMSO) 13,15 (1H, bs), 8,58 (1H, s), 6,89 (1H, s), 3,39 (3H, s).

g) 5-Cyano-4-(methylsulfonyl)-2-pyridinyltrifluormethansulfonat

[0134] Triflinsäureanhydrid (3,1 ml) wurde zu einer Lösung des Produktes von Schritt (f) (1,83 g) und Triethylamin (2,7 ml) in Acetonitril (50 ml) bei -20°C gegeben und bei 0°C 3 h lang gerührt. Wasser wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Extrakte wurden getrocknet (Na_2SO_4), abgedampft, und mittels Chromatographie (Silica, Isohexan-Dichlormethan als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung (2,60 g) erhielt.

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,94 (1H, s), 7,91 (1H, s), 3,37 (3H, s).

h) 6-Amino-4-(methylsulfonyl)-3-pyridincarbonitril

[0135] 0,5M Ammoniak in Dioxan (2 ml) wurde zu einer Lösung des Produktes vom obigen Schritt (g) (164 mg) in THF (2 ml) gegeben, und die Mischung wurde 16 h lang gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, Isohexan/Ethylacetat als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung (33 mg) erhielt.

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (d_6 -DMSO) 8,57 (1H, s), 7,78 (2H, s), 7,05 (1H, s), 3,35 (3H, s).

i) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-[(2-amino-5-cyano-2-pyridinyl)thio]-3-(5-isoxazolyl)propyl]-carbamate

[0136] Das Produkt von Beispiel 6, Schritt (d) (286 mg) wurde in 7M Ammoniak in Methanol (2 ml) gelöst, bei Raumtemperatur unter Stickstoff 4 h lang gerührt, und dann wurde das Lösungsmittel abgedampft. Der Rückstand wurde in Acetonitril (3 ml) gelöst, und eine Mischung von Caesiumcarbonat (410 mg) und von dem Produkt vom obigen Schritt (h) (178 mg) wurde bei 0°C hinzugesetzt. Nach dem Rühren bei 0°C für 1 h und anschließend bei 20°C für 1 h wurden wässriges Ammoniumchlorid und Wasser hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ethylacetat (dreimal) extrahiert. Die organischen Schichten wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet (MgSO_4), abgedampft und mittels Chromatographie gereinigt (Silica, Diethylether als Eluent), wodurch man die Untertitelverbindung als einen weißen Feststoff (132 mg) erhielt.

MS APCI + ve^m/z 376 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

j) 6-Amino-4-[[[(1R)-3-amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0137] Das Produkt vom obigen Schritt (i) (132 mg) in Methanol (0,5 ml) und 4M HCl in Dioxan (1 ml) wurde 2 h lang gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde durch Umkehrphasen-HPLC und dem (E)-Butendioatsalz, hergestellt in Methanol-Ethylacetat, gereinigt, wodurch man die Titelverbindung (75 mg) erhielt. Schmp.: 160 – 163°C .

MS APCI + ve^m/z 276 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz ($\text{DMSO}-d_6$) 8,57 (1H, d), 8,23 (1H, s), 7,23 (2H, s), 6,62 (2H, s), 6,45 (2H, s), 5,19 (1H, d), 2,87 (2H, t), 2,43–2,25 (2H, m).

Beispiel 15

 γ -[(5-Chlor-2-methoxy-4-pyridinyl)thio]-(γ^5 -R)-5-isoxazolpropanamin-(E)-butendioat

a) 2,5-Dichlor-4-(methylthio)-pyridin

[0138] Zu DMF (3,1 ml) in THF (20 ml) wurde unter Stickstoff bei 0°C nBuLi (8,9 ml einer 2,5M Lösung in Hexanen) tropfenweise hinzugesetzt, und die Reaktionsmischung wurde 15 Minuten lang gerührt. Die Reaktionsmischung wurde tropfenweise zu einer Lösung von 2,5-Dichlorpyridin (3 g) in THF (20 ml) bei -78°C gegeben. Nach 2 h wurde Dimethyldisulfid (2,4 ml) hinzugesetzt, und die Reaktionstemperatur ließ man auf 0°C steigen. Wasser wurde hinzugegeben, und die Mischung wurde mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Stoffe wurden getrocknet (Na_2SO_4) und abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung als einen gelben Feststoff (3 g) erhielt.

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (CDCl_3) 8,18 (1H, s), 7,02 (1H, s), 2,50 (3H, s).

b) 5-Chlor-2-methoxy-4-(methylthio)-pyridin

[0139] Das Produkt von Schritt (a) (1,4 g) in Methanol (20 ml) wurde mit Natriummethoxid (8,2 ml einer 25 Gew.-%igen Lösung in Methanol) behandelt und am Rückfluss 48 h lang erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt, und der Rückstand wurde zwischen Wasser (50 ml) und Dichlormethan (50 ml) aufgeteilt. Die organische Phase wurde getrocknet (MgSO_4) und bis zur Trockne abgedampft. Die Reinigung

mittels Chromatographie (Silica, Dichlormethan als Eluent) ergab die Untertitelverbindung (345 mg) als einen weißen Feststoff.

MS APCI + ve^{m/z} 189 ([M + H]⁺).

c) 5-Chlor-2-methoxy-4-(methylsulfonyl)pyridin

[0140] Die Untertitelverbindung wurde gemäß des Verfahrens von Beispiel 4, Schritt (b), unter Verwendung des Produktes von Schritt (b) hergestellt.

MS APCI + ve^{m/z} 222/224 ([M + H]⁺).

d) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-[(5-chlor-2-methoxy-4-pyridinyl)thio]-3-(5-isoxazolyl)propyl]-carbamate

[0141] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (c) und dem Produkt von Beispiel 6, Schritt (d), unter Verwendung des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (e), hergestellt.

MS APCI + ve^{m/z} 400/2 ([M + H]⁺).

e) γ-[(5-Chlor-2-methoxy-4-pyridinyl)thio]-γ⁵-R-5-isoxazolpropanamin-(E)-butendioat

[0142] Die Titelverbindung wurde hergestellt mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (g), unter Anwendung des Produktes vom obigen Schritt (d) und unter Herstellung des (E)-Butendioatsalzes in Methanol/Acetonitril. Schmp.: 142–143°C.

MS APCI + ve^{m/z} 300/2 ([M + H]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz (DMSO-d₆) 8,56 (1H, d), 8,16 (1H, s), 6,92 (1H, s), 6,60 (1H, d), 6,45 (2H, s), 5,33 (1H, t), 3,87 (3H, s), 2,89-2,76 (2H, m), 2,35-2,21 (2H, m).

Beispiel 16

4-[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio-6-methoxy-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

a) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-[(5-cyano-2-methoxy-4-pyridinyl)thio]-3-(5-isoxazolyl)propyl]carbamate

[0143] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Beispiel 14, Schritt (e), und dem Produkt von Beispiel 6, Schritt (d), unter Anwendung des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (e), hergestellt.

MS APCI + ve^{m/z} 391 ([M + H]⁺).

b) 4-[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio-6-methoxy-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0144] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (g), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (a) und unter Herstellung des (E)-Butendioatsalzes in Methanol/Acetonitril hergestellt. Schmp.: 152–153°C.

MS APCI + ve^{m/z} 291 ([M + H]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz (DMSO-d₆) 8,61 (1H, s), 8,57 (1H, d), 7,07 (1H, s), 6,62 (1H, d), 6,44 (2H, s), 5,49 (1H, t), 3,93 (3H, s), 2,90-2,81 (2H, m), 2,43-2,26 (2H, m).

Beispiel 17

4-[(1R)-3-[(2-Hydroxyethyl)amino]-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio-6-methoxy-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0145] Eine Lösung der freien Base des Produktes von Beispiel 16 (53 mg), Triethylamin (20 µl) und Iodethanol (25 µl) in THF (2 ml) wurde 8 h lang am Rückfluss gehalten. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, Dichlormethan/7M Ammoniak in Methanol (14:1) als Eluent) gereinigt und das (E)-Butendioatsalz hergestellt, wodurch man die Titelverbindung als einen weißen Feststoff (11 mg) erhielt.

MS APCI + ve^{m/z} 335 ([M + H]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz (DMSO-d₆) 8,60 (1H, d), 8,56 (1H, d), 7,05 (1H, d), 6,61 (1H, d), 6,50 (2H, s), 5,42 (1H, t), 3,95 (3H, s), 3,53 (2H, t), 2,86-2,75 (4H, m), 2,39-2,24 (2H, m).

Beispiel 18

2-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

a) N-Methoxy-N-methyl-3-chlor-5-isoxazolcarboxamid

[0146] Die Untertitelverbindung wurde aus 3-Chlor-5-isoxazolcarbonsäure mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (a), hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 6,86 (1H, d), 3,82 (3H, s), 3,38 (3H, s).

b) 3-Chlor-1-(3-chlor-5-isoxazolyl)-1-propanon

[0147] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (a) mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (b), hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 6,98 (1H, d), 3,87 (2H, t), 3,33 (2H, t).

c) (α⁵-R)-α-(2-Chlorethyl)-3-chlor-5-isoxazolmethanol

[0148] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (b) mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (c), hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 6,30 (1H, d), 5,14 (2H, t), 3,84-3,76 (1H, m), 3,72-3,63 (1H, m), 2,78 (2H, dq).

d) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-hydroxy-3-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]carbammat

[0149] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (c) mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritte (d) und (e), ohne intermediäre Reinigung hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 6,30 (1H, s), 4,89-4,78 (2H, m), 4,69-4,64 (1H, m), 3,63-3,48 (1H, m), 3,28-3,15 (1H, m), 2,08-1,82 (2H, m), 1,45 (9H, s).

e) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-[[3-cyano-6-(trifluormethyl)-2-pyridinyl]oxy]-3-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]carbammat

[0150] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (d) mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (f), hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,13 (1H, d), 7,43 (1H, d), 6,42 (1H, s), 6,36 (1H, dd), 4,72 (1H, s), 3,41-3,27 (2H, m), 2,48-2,27 (2H, m), 1,39 (9H, s).

f) 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0151] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (g) unter Verwendung des Produktes von Schritt (e) mit der Herstellung des (E)-Butendioatsalzes in Methanol/Acetonitril hergestellt. Schmp.: 151–152°C.

MS APCI + ve^{m/z} 347/9 ([M + H]⁺).

¹H-NMR: 300 MHz (DMSO-d₆) 8,65 (1H, d), 7,75 (1H, d), 6,97 (1H, s), 6,42 (2H, s), 6,38-6,32 (1H, m), 3,00 (2H, t), 2,47-2,29 (2H, m).

Beispiel 19

2-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

a) (α⁵-S)-α-(2-Chlorethyl)-3-chlor-5-isoxazolmethanol

[0152] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Beispiel 18, Schritt (b), mittels des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (a), hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 6,30 (1H, d), 5,14 (2H, t), 3,84-3,76 (1H, m), 3,72-3,63 (1H, m), 2,78 (2H, dq).

b) 1,1-Dimethylethyl[(3S)-3-hydroxy-3-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]carbammat

[0153] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (a) mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritte (d) und (e), ohne intermediäre Reinigung hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 6,30 (1H, s), 4,89-4,78 (2H, m), 4,69-4,64 (1H, m), 3,63-3,48 (1H, m), 3,28-3,15 (1H, m), 2,08-1,82 (2H, m), 1,45 (9H, s).

c) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-(benzoylthio)-3-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]carbamate

[0154] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (b) mittels des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (d) hergestellt.

MS APCI + ve^{m/z} 397/9 ([M + H]⁺).

d) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-[(3-cyano-6-methyl-2-pyridinyl)thio]-3-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]carbamate

[0155] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (c) und 2-Chlor-6-methyl-3-pyridincarbonitril mittels des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (e), hergestellt.

MS APCI + ve^{m/z} 408/10 ([M + H]⁺).

e) 2-[[[1R)-3-Amino-1-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril(E)-butendioat

[0156] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (g), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (d) und der Herstellung des (E)-Butendioatsalzes in Methanol/Acetonitril hergestellt. Schmp.: 186–187°C.

MS APCI + ve^{m/z} 309/11 ([M + H]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz (DMSO-d₆) 8,14 (1H, d), 7,25 (1H, d), 6,91 (1H, s), 6,39 (2H, s), 5,51 (1H, t), 2,90-2,81 (2H, m), 2,55 (3H, s), 2,42-2,25 (2H, m).

Beispiel 20

2-[3-Amino-1-(3-methyl-4-isoxazolyl)propoxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

a) N-Methoxy-N,3-dimethyl-4-isoxazolcarboxamid

[0157] Die Untertitelverbindung wurde aus 3-Methyl-4-isoxazolcarbonsäure mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (a), hergestellt.

MS APCI + ve^{m/z} 171 ([M + H]⁺).

b) α-(2-Chlorethyl)-3-methyl-4-isoxazolmethanol

[0158] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (a) mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritte (b) und (c), hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,28 (1H, d), 4,95 (1H, dt), 3,79 (1H, ddd), 3,71-3,57 (1H, m), 2,39 (3H, s), 2,33-2,05 (2H, m), 2,02 (1H, d).

c) 2-[[3-Chlor-1-(3-methyl-4-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril

[0159] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (b) und 2-Chlor-6-(trifluormethyl)-3-pyridin-carbonitril mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (f), hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,45 (1H, s), 8,08 (1H, d), 7,39 (1H, d), 6,39 (1H, dd), 3,80-3,71 (1H, m), 3,60 (1H, ddd), 2,78-2,65 (1H, m), 2,46 (1H, s), 2,42-2,29 (3H, m).

d) 2-[[3-Iod-1-(3-methyl-4-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril

[0160] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (c) mittels des Verfahrens von Beispiel 7, Schritt (f), hergestellt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,45 (1H, s), 8,08 (1H, d), 7,39 (1H, d), 6,39 (1H, dd), 3,35-3,17 (2H, m), 2,71 (1H, Quintett), 2,46 (1H, s), 2,48-2,37 (3H, m).

e) 2-[3-Amino-1-(3-methyl-4-isoxazolyl)propoxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0161] Eine Lösung des Produktes von Schritt (d) (178 mg) und Natriumazid (42 mg) in DMSO (2 ml) wurde bei 20°C 2 Tage lang gerührt. Triphenylphosphin (393 mg), Wasser (1 ml) und THF (1 ml) wurden hinzugesetzt und 2 Tage lang gerührt. Wasser wurde hinzugegeben, und die Mischung wurde mit Ethylacetat (dreimal) ex-

trahiert. Die organischen Schichten wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet (MgSO_4), abgedampft und durch die Hindurchleitung durch ein SCX-Ionenaustauscherharz gereinigt. Die freie Base des Titelproduktes wurde in Acetonitril/Methanol aufgenommen, (E)-Butendisäure (1 Äquivalent) wurde hinzugesetzt, das Produkt wurde gesammelt und getrocknet, wodurch man das Titelprodukt als einen weißen Feststoff erhielt (36 mg). MS APCI + ve^m/z 327 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (DMSO-d_6) 8,98 (1H, s), 8,59 (1H, d), 7,68 (1H, d), 6,36 (2H, s), 6,13 (1H, dd), 2,94-2,83 (2H, m), 2,45-2,17 (5H, m).

Beispiel 21

2-[[3-Amino-1-(5-isothiazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) S-[3-[[[(1,1-Dimethylethoxy)carbonyl]amino]-1-(5-isothiazolyl)propyl]benzolcarbothioat

[0162] Die Untertitelverbindung wurde gemäß des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (d), unter Verwendung des Produktes von Beispiel 10, Schritt (b), hergestellt.

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,38 (1H, d), 7,95 (1H, d), 7,93 (1H, d), 7,61 (1H, t), 7,47 (2H, t), 7,23 (1H, d), 5,25 (1H, d), 4,92-4,85 (1H, m), 3,45-3,32 (1H, m), 3,25-3,12 (1H, m), 2,46-2,18 (2H, m), 1,47 (9H, s).

b) 1,1-Dimethylethyl[3-[(3-cyano-6-methyl-2-pyridinyl)thio]-3-(5-isothiazolyl)propyl]-carbamate

[0163] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (a) und 2-Chlor-6-methyl-3-pyridincarbonitril unter Verwendung des Verfahrens von Beispiels 6, Schritt (e), hergestellt.

MS APCI + ve^m/z 391 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

c) 2-[[3-Amino-1-(5-isothiazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0164] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (g), unter Verwendung des Produktes von Schritt (b) und der Herstellung des Salzes in Methanol/Acetonitril hergestellt. Schmp.: 103–104°C.

MS APCI + ve^m/z 291 ($[\text{M} + \text{H}]^+$)

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (DMSO-d_6) 8,48 (1H, d), 8,14 (1H, d), 7,49 (1H, d), 7,26 (1H, d), 5,63 (1H, t), 3,03-2,84 (2H, m), 2,62 (3H, s), 2,54-2,40 (2H, m).

Beispiel 22

2-[3-Amino-1-(5-isothiazolyl)propoxy]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) 1,1-Dimethylethyl[3-[(3-cyano-6-methyl-2-pyridinyl)oxy]-3-(5-isothiazolyl)propyl]-carbamate

[0165] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 1, Schritt (a), unter Verwendung des Produktes von Beispiel 10, Schritt (b), und 2-Chlor-6-methyl-3-pyridincarbonitril hergestellt.

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,40 (1H, d), 7,79 (1H, d), 7,27 (1H, d), 6,88 (1H, d), 6,65 (1H, dd), 5,01 (1H, s), 3,46-3,21 (2H, m), 2,43-2,25 (2H, m), 2,54 (3H, s), 1,43 (9H, s).

b) 2-[3-Amino-1-(5-isothiazolyl)propoxy]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0166] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (g), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (a) unter Herstellung des Salzes in Methanol/Acetonitril hergestellt. Schmp.: 175–177°C. MS APCI + ve^m/z 275 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (DMSO-d_6) 8,52 (1H, d), 8,19 (1H, d), 7,49 (1H, t), 7,12 (1H, d), 6,67 (1H, dd), 2,89 (2H, t), 2,46-2,24 (2H, m), 2,50 (3H, s).

Beispiel 23

2-[3-Amino-1-(3-isothiazolyl)propoxy]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) N-Methoxy-N-methyl-3-isothiazolcarboxamid

[0167] 3-Isouthiazolcarbonsäure (1,21 g) wurde in Dichlormethan (150 ml) suspendiert, und 4-Dimethylamino-

pyridin (1,14 g), N,O-Dimethylhydroxylaminhydrochlorid (912 mg), N-Methylmorpholin (946 mg) und 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-hydrochlorid (1,79 g) wurden hinzugesetzt, und die resultierende Lösung wurde 3 Tage lang bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit Dichlormethan (100 ml) verdünnt und mit wässriger 2M Chlorwasserstoffsäure (3 × 40 ml), gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (3 × 40 ml) und Wasser (20 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung (1,406 g) als ein farbloses Öl erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,68 (1H, d), 7,69 (1H, d), 3,81 (3H, s), 3,47 (3H, s).

b) 1-(3-Isothiazolyl)-2-propen-1-on

[0168] Das Produkt vom Schritt (a) (1,4 g) wurde in wasserfreiem THF (50 ml) gelöst, und die Lösung wurde auf 0°C gekühlt. Vinylmagnesiumchlorid (1,6M in THF) (7,6 ml) wurde tropfenweise hinzugesetzt, und die Reaktion wurde über Nacht gerührt, während langsam Raumtemperatur erreicht wurde. Die Reaktionsmischung wurde tropfenweise zu wässriger 2M Chlorwasserstoffsäure (50 ml) getropft und dann mit Ethylacetat (3 × 60 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Wasser (3 × 20 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung (950 mg) als ein strohfarbiges Öl erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,68 (1H, d), 7,91 (1H, d), 7,63 (1H, q), 6,64 (1H, dd), 5,97 (1H, dd).

c) a-(2-Chlorethyl)-3-isothiazolmethanol

[0169] Das Produkt von Schritt (b) (945 mg) wurde in Dichlormethan (80 ml) gelöst, und 1M Chlorwasserstoffsäure in Diethylether (20 ml) wurde hinzugesetzt. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur 2 h lang gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und der Rückstand wurde in Ethanol (50 ml) gelöst. Natriumborhydrid (257 mg) wurde in einem Schuss hinzugesetzt, und die Reaktion wurde bei Raumtemperatur 1 h lang gerührt. Wasser (50 ml) wurde hinzugesetzt, und das Volumen wurde auf einem Rotationsverdampfer eingengt. Das verbleibende Wässrige wurde mit Ethylacetat (3 × 100 ml) extrahiert, und die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser (50 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, Hexan/Ethylacetat (1:1) als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung (355 mg) als ein blassfarbiges Öl erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,68 (1H, d), 7,23 (1H, d), 5,17-5,10 (1H, m), 3,86-3,77 (1H, m), 3,70-3,62 (1H, m), 3,03 (1H, d), 2,38-2,19 (2H, m).

d) a-(2-Azidoethyl)-3-isothiazolmethanol

[0170] Das Produkt von Schritt (c) (350 mg) wurde in DMSO (10 ml) gelöst, und Natriumazid (192 mg) wurde hinzugesetzt. Die Reaktion wurde auf 65°C erhitzt und 18 h lang gerührt. Es wurde dann gekühlt, und Wasser (50 ml) wurde hinzugesetzt. Die Mischung wurde mit Ethylacetat extrahiert (4 × 60 ml), und die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser (3 × 30 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum abgedampft, wodurch man die Untertitelverbindung (325 mg) als ein Öl erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,68 (1H, d), 7,23 (1H, d), 5,07-5,01 (1H, m), 3,62-3,43 (2H, m), 3,07 (1H, d), 2,22-1,98 (2H, m).

e) 2-[3-Azido-1-(3-isothiazolyl)propoxy]-6-methyl-3-pyridincarbonitril

[0171] Das Produkt vom Schritt (d) (158 mg) und 2-Chlor-6-methyl-3-pyridincarbonitril (131 mg) wurde in DMF (5 ml) gelöst. Caesiumcarbonat (841 mg) wurde hinzugesetzt, und die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Wasser (60 ml) wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ethylacetat (3 × 60 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Wasser (3 × 25 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, Hexan/Ethylacetat (4:1) als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung (174 mg) als ein blassgelbes Öl erhielt. MS APCI + ve^{m/z} 301 ([M + H]⁺).

f) 2-[3-Amino-1-(3-isothiazolyl)propoxy]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-oxalat

[0172] Das Produkt von Schritt (e) (172 mg) wurde in THF (20 ml) gelöst, und Triphenylphosphin (240 mg) wurde hinzugesetzt. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur 15 Minuten lang gerührt, und dann wurde Wasser (5 ml) hinzugesetzt, und das Rühren wurde 24 h lang fortgesetzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und der Rückstand wurde mittels Chromatographie (Silica, 5% 7N Ammoniak in Methanol in Dichlormethan als Eluent) gereinigt. Das Produkt wurde in Ethylacetat gelöst und mit einem Äquivalent an Ethandi-

säure behandelt. Das präzipitierte Ethandioatsalz wurde abfiltriert und unter hohem Vakuum getrocknet, wodurch man die Titelverbindung (111 mg, 52%) als einen weißen Feststoff erhielt.

MS APCI + ve^m/z 275 ($[M + H]^+$).

1H -NMR: 300 MHz (DMSO- d_6) 9,07 (1H, d), 8,16 (1H, d), 7,38 (1H, d), 7,07 (1H, d), 6,42 (1H, t), 3,04-2,89 (2H, m), 2,40 (3H, s), 2,40-2,31 (2H, m).

Beispiel 24

2-[[[(1R)-3-Amino-1-(5-methyl-3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) N-Methoxy-N,5-dimethyl-3-isoxazolcarboxamid

[0173] 5-Methyl-3-isoxazolcarbonsäure (4,3 g) wurde der Prozedur, die im Beispiel 5, Schritt (a), beschrieben ist, unterzogen, wodurch man die Untertitelverbindung als ein Öl erhielt (4,8 g).

1H -NMR: 300 MHz (CDCl₃) δ 6,33 (1H, s), 3,79 (3H, s), 3,40 (3H, bs), 2,48 (3H, s).

b) 3-Chlor-1-(5-methyl-3-isoxazolyl)-1-propanon

[0174] Das Produkt von Schritt (a) (4,25 g) wurde der Prozedur, die in Beispiel 5, Schritt (b), beschrieben ist, unterzogen, wodurch man das Untertitelprodukt als ein Öl (3,3 g) erhielt.

1H -NMR: 300 MHz (CDCl₃) 6,40 (1H, s), 3,90 (2H, t), 3,52 (2H, t), 2,50 (3H, s).

c) (α^3 -R)-(2-Chlorethyl)-5-methyl-3-isoxazolmethanol

[0175] Das Produkt von Schritt (b) (3,3 g) wurde der Prozedur, die in Beispiel 5, Schritt (c), beschrieben ist, unterzogen, wodurch man das Untertitelprodukt als ein Öl (1,7 g) erhielt.

1H -NMR: 300 MHz (CDCl₃) 6,01 (1H, s), 5,06 (1H, m), 3,84-3,64 (2H, m), 2,43 (3H, s), 2,3-2,2 (2H, m).

d) (α^3 -R)- α -(2-Azidoethyl)-5-methyl-3-isoxazolmethanol

[0176] Das Produkt von Schritt (c) (1,05 g) wurde der Prozedur, die in Beispiel 5, Schritt (d), beschrieben ist, unterzogen, wodurch man das Untertitelprodukt als ein Öl (1,0 g) erhielt.

1H -NMR: 300 MHz (CDCl₃) 6,01 (1H, s), 5,0-4,94 (1H, m), 3,62-3,45 (2H, m), 2,52 (1H, d), 2,43 (3H, s), 2,09-2,02 (2H, m).

e) 2-[[[(1R)-3-Azido-1-(5-methyl-3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril

[0177] Das Produkt von Schritt (d) (0,19 g) und 2-Chlor-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril (0,25 g) wurden in DMF (5 ml) gelöst und Natriumhydrid (0,05 g, 60%ige Dispersion in Öl) behandelt und unter einer Stickstoffatmosphäre bei Umgebungstemperatur 1 h lang gerührt. Die Reaktion wurde mit gesättigter Ammoniumchloridlösung (25 ml) gelöscht und mit Ethylacetat (3 \times 25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Wasser, Salzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und bis zur Trockne abgedampft, wodurch man das Untertitelprodukt (0,4 g) erhielt.

MS APCI + ve^m/z 324 ($[M - 28]^+$).

f) 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(5-methyl-3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0178] Das Produkt von Schritt (e) (400 mg) wurde der in Beispiel 2, Schritt (d), beschriebenen Prozedur unterzogen, wodurch man das Untertitelprodukt als einen weißen Feststoff (19 mg) erhielt. Schmp.: 163–165°

MS APCI + ve^m/z 327 ($[M + H]^+$).

1H -NMR: 400 MHz (d_6 -DMSO) 8,64 (1H, d), 7,73 (1H, d), 6,38 (1H, s), 6,33-6,31 (1H, dd), 6,3 (2H, s), 2,97 (2H, m), 2,38 (3H, s), 2,35-2,27 (2H, m).

Beispiel 25

4-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-methoxy-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) 4-[[[(1R)-3-Azido-1-(3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-methoxy-3-pyridincarbonitril

[0179] Das Produkt von Beispiel 11, Schritt (d), (0,34 g) und das Produkt von Beispiel 14, Schritt (e), (0,64 g)

wurden in DMF (5 ml) gelöst und mit Caesiumcarbonat (1,0 g) behandelt und unter einer Stickstoffatmosphäre bei Umgebungstemperatur 18 h lang gerührt. Die Reaktion wurde mit 2M Chlorwasserstoffsäure (50 ml) gelöscht und mit Ethylacetat (3 × 25 ml) extrahiert.

[0180] Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Wasser, Salzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO_4) und bis zur Trockne abgedampft, wodurch man das Untertitelprodukt als ein Öl (0,9 g) erhielt.
MS APCI + ve^m/z 300 ($[\text{M}]^+$).

b) 4-[[[(1R)-3-Amino-1-(3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-methoxy-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0181] Das Produkt von Schritt (a) (0,9 g) wurde der Prozedur, die in Beispiel 2, Schritt (d), beschrieben ist, unterzogen, wodurch man das Titelprodukt als einen weißen Feststoff (0,41 g) erhielt. Schmp.: 173–174°C.
MS APCI + ve^m/z 275 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).
 $^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (d_6 -DMSO) 9,0 (1H, d), 8,55 (1H, s), 6,73 (1H, d), 6,58 (1H, s), 6,4 (2H, s), 6,11-6,08 (1H, dd), 3,88 (3H, s), 2,92 (2H, t), 2,41-2,22 (2H, m).

Beispiel 26

2-[[[3-Amino-1-(4-methyl-3-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) N-Methoxy-N,4-dimethyl-3-isoxazolcarboxamid

[0182] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens vom Beispiel 11, Schritt (a), unter Verwendung von 4-Methyl-3-isoxazolcarbonsäure hergestellt.
MS APCI + ve^m/z 336 ($[\text{M} - 100 + \text{H}]^+$).
 $^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (CDCl_3) 8,22 (1H, s), 3,77 (3H, s), 3,39 (3H, s), 2,12 (3H, s).

b) 3-Chlor-1-(4-methyl-3-isoxazolyl)-1-propanon

[0183] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (b), hergestellt unter Verwendung des Produktes von Schritt (a).
 $^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (CDCl_3) 8,27 (1H, s), 3,91 (2H, t), 3,55 (2H, t), 2,25 (3H, s).

c) α -(2-Chlorethyl)-4-methyl-3-isoxazolmethanol

[0184] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (c), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (b) und (3aR)-Tetrahydro-1-methyl-3,3-diphenyl-3H-pyrrolo[1,2-c][1,3,2]oxazaborol als Katalysator hergestellt.
 $^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (CDCl_3) 8,14 (1H, s), 5,11 (1H, ddd), 3,83 (1H, ddd), 3,70 (1H, Quintett), 2,42 (1H, d), 2,30 (2H, m), 2,10 (3H, s).

d) α -(2-Azidoethyl)-4-methyl-3-isoxazolmethanol

[0185] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 2, Schritt (a), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (c) hergestellt.
 $^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (CDCl_3) 8,14 (1H, d), 5,00 (1H, dt), 3,61 (1H, dt), 3,52 (1H, dt), 2,39 (1H, d), 2,12 (1H, m), 2,10 (3H, d).

e) 2-[[[3-Amino-1-(4-methyl-3-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0186] Die Titelverbindung wurde mittels der Verfahren von Beispiel 2, Schritt (b), Beispiel 6 (e) und Beispiel 2, Schritt (d), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (d) hergestellt. Das Produkt wurde mittels Umkehrphasen-HPLC gereinigt und das Ethandioatsalz hergestellt, wodurch man die Titelverbindung (10 mg) erhielt. Schmp.: 132–134°C.
MS APCI + ve^m/z 289 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).
 $^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (CD_3OD) 8,43 (1H, s), 7,95 (1H, d), 7,20 (1H, d), 5,54 (1H, t), 3,23-3,12 (2H, m), 2,62 (4H, m), 2,51 (1H, m), 2,05 (3H, s).

Beispiel 27

2-[3-Amino-1-(2-oxazolyl)propoxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

a) 3-Chlor-1-(2-oxazolyl)-1-propanon

[0187] Zu einer Lösung von Oxazol (2,93 g) in THF (150 ml) bei -70°C unter einer Stickstoffatmosphäre wurde n-Butyllithium (17 ml) einer 2,5M-Lösung in Hexanen) tropfenweise hinzugesetzt, und die Lösung wurde 20 Minuten lang gerührt. Zinkchlorid (84,9 ml einer 1M-Lösung in Diethylether) wurde hinzugesetzt, und die Lösung wurde auf 0°C während 45 Minuten lang erwärmt. Festes Kupferiodid (8,09 g) wurde hinzugesetzt, und nach 10 Minuten wurde 3-Chlorpropionylchlorid (8,38 ml) hinzugesetzt. Nach 1 h wurden Ethylacetat und wässrige Ammoniumchloridlösung hinzugesetzt. Die organische Schicht wurde abgetrennt und der Reihe nach mit wässriger Ammoniumchloridlösung, Wasser und Salzlösung gewaschen. Die Lösung wurde getrocknet (Na_2SO_4) und abgedampft, wodurch man 15,5 g des rohen Produktes als ein rotes Öl erhielt. Die Mischung wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 7,86 (1H, s), 7,36 (1H, s), 3,93 (2H, t), 3,57 (2H, m).

b) R- α -(2-Azidoethyl)-2-oxazolmethanol

[0188] (S)-2-Methyl-CBS-oxazaborolidin (0,72 ml einer 1M-Lösung in Toluol) wurde zu THF (5 ml) unter einer Stickstoffatmosphäre gegeben, und die Lösung wurde auf -5°C gekühlt. Boran-THF-Komplex (7,2 ml einer 1M-Lösung in THF) wurde tropfenweise hinzugesetzt, und die Lösung wurde 10 Minuten lang gerührt. Eine Lösung des rohen Produktes von Schritt (a) (ca. 7,24 mmol) in THF (7 ml) wurde tropfenweise hinzugesetzt, und die Reaktion wurde langsam auf 0°C während 16 h erwärmt. Methanol (20 ml) wurde vorsichtig hinzugesetzt, und die flüchtigen Stoffe wurden im Vakuum entfernt. Zwei weitere Methanolzugabe/Lösungsmittelabdampfung-Zyklen wurden durchgeführt. Der Rückstand wurde mittels Flash-Chromatographie unter Verwendung von 10–40% Ethylacetat/Isohexan als Eluent gereinigt, wodurch man ein farbloses Öl (724 mg) erhielt. Dies wurde in DMSO (5 ml) aufgenommen, festes Natriumazid (450 mg) wurde hinzugesetzt, und die Reaktion wurde bei 65°C 16 h lang erhitzt. Nach dem Kühlen auf Raumtemperatur wurde Wasser hinzugesetzt, und die Lösung wurde dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden getrocknet (Na_2SO_4), und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, wodurch man die Untertitelverbindung (490 mg) als ein orange-farbiges Öl erhielt, welches ohne weitere Reinigung verwendet wurde.

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 7,65 (1H, s), 7,10 (1H, s), 4,97 (1H, dt), 3,63–3,47 (2H, m), 3,05 (1H, bs), 2,28–2,07 (2H, m).

c) 2-[[[(1R)-3-Amino-1-(2-oxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-ethandioat

[0189] Zu einer Lösung des Produktes von Schritt (b) (160 mg) in DMF (2 ml) wurde Natriumhydrid (76 mg einer 60%igen Dispersion in Mineralöl) gegeben, und die Reaktion wurde 1 h lang gerührt. Festes 2-Chlor-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril (393 mg) wurde hinzugesetzt, und die Reaktion wurde 2 h lang gerührt. Wasser wurde hinzugesetzt, und die Lösung wurde mit Diethylether extrahiert. Der organische Extrakt wurde abgetrennt, getrocknet (Na_2SO_4), und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in THF (4 ml) aufgenommen, und Triphenylphosphin (283 mg) wurde hinzugesetzt. Nach 5 Minuten wurde Wasser (1 ml) hinzugegeben, und die Reaktion wurde 16 h lang gerührt. Weiteres Wasser (2 ml) wurde hinzugesetzt, und die Reaktion wurde bei 55°C 3 h lang und dann 48 h lang bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde in Ethylacetat/wässrige 1M Natriumhydroxid gegossen. Der organische Extrakt wurde abgetrennt, getrocknet (Na_2SO_4), und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung mittels Umkehrphasen-HPLC und die Ethandioatsalzbildung in Diethylether/Dichlormethan (1:1) ergaben das Titelprodukt als einen hygroskopischen weißen Feststoff.

MS APCI + ve^m/z 313 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz (d_4 -MeOH) 8,42 (1H, d), 7,94 (1H, s), 7,60 (1H, d), 7,19 (1H, s), 6,37 (1H, t), 3,26 (2H, t), 2,56 (2H, m).

Beispiel 28

4-[[[3-Amino-1-(4-chlor-5-thiazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

a) 1,1-Dimethylethyl[3-(2,4-dichlor-5-thiazolyl)-3-hydroxypropyl]carbammat

[0190] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 10, Schritt (a), unter Verwendung

von 1,1-Dimethylethyl-3-(oxopropyl)carbammat und 2,4-Dichlor-5-thiazolylithium anstelle von Isothiazollithium hergestellt. Die Reinigung mittels Chromatographie (Silica, 20% Ethylacetat/Isohexan als Eluent) ergab die Untertitelverbindung (2,05 g) als ein orange-farbiges Öl.

MS (APCI + ve) m/z 227/229/231 $[M + H(-Boc)]^+$.

1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 4,97 (1H, d), 4,88 (1H, bd. s), 4,69 (1H, bd. s) 3,64-3,56 (1H, m), 3,17-3,10 (1H, m), 2,02-1,93 (1H, m), 1,76-1,70 (1H, m) und 1,46 (9H, s).

b) 1,1-Dimethylethyl[3-(4-chlor-5-thiazolyl)-3-hydroxypropyl]carbammat

[0191] Zu einer gerührten Suspension von Palladium auf Aktivkohle (75 mg) und Natriumacetat trihydrat (380 mg, 1,5 Äq.) in Methanol (10 ml) wurde eine Lösung von [3-(2,4-Dichlor-5-thiazolyl)-3-hydroxypropyl]carbaminsäure-1,1-dimethylester in Methanol (15 ml) gegeben. Die Mischung wurde einer Wasserstoffatmosphäre (5 bar) 72 h lang unterzogen. Die Mischung wurde filtriert und bis zur Trockne abgedampft. Der Rückstand wurde in Dichlormethan (25 ml) gelöst, getrocknet (Na_2SO_4), filtriert und im Vakuum konzentriert. Die Reinigung mittels Chromatographie (Silica, 20% Ethylacetat in Isohexan als Eluent) ergab die Untertitelverbindung (1,15 g) als einen farblosen Gummi.

MS (APCI + ve) m/z 293/295 $[M + H]^+$.

1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 8,64 (1H, s), 5,08 (1H, d), 4,94 (1H, bd. s), 4,58 (1H, bd. s), 3,70-3,56 (1H, m), 3,22-3,10 (1H, m) 2,04-1,96 (1H, m), 1,86-1,74 (1H, m) und 1,46 (9H, s).

c) S-[1-(4-Chlor-5-thiazolyl)-3-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]amino]propyl]ethanthioat

[0192] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (d), unter Verwendung von 1,1-Dimethylethyl[3-(4-chlor-5-thiazolyl)-3-hydroxypropyl]carbammat und Thioessigsäure anstelle von Thiobenzoesäure hergestellt. Die Reinigung mittels Chromatographie (Silica, 5%–10% Ethylacetat in Isohexan als Eluent) ergab die Untertitelverbindung (460 mg) als ein farbloses Öl.

MS (APCI + ve) m/z 351/353 $[M + H]^+$.

1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 8,63 (1H, s), 4,88-4,80 (1H, m), 3,30-3,05 (2H, m), 2,36 (3H, s), 2,26-2,06 (2H, m) und 1,44 (9H, s).

d) 1,1-Dimethylethyl[3-(4-chlor-5-thiazolyl)-3-[(5-cyano-2-methyl-4-pyridinyl)thio]propyl]-carbammat

[0193] Zu einer Lösung von 4-Chlor-6-methyl-3-pyridincarbonitril (75 mg) und S-[1-(4-Chlor-5-thiazolyl)-3-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]amino]propyl]esterethanthiosäure (154 mg) in Methanol (3 ml) wurde 7M Ammoniak in Methanol (3 ml) gegeben. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur 18 h lang gerührt, im Vakuum konzentriert, in Dichlormethan gelöst und auf Silica vorabsorbiert. Die Reinigung mittels Chromatographie (Silica, 30% Ethylacetat in Isohexan) ergab die Untertitelverbindung (145 mg) als ein klares Gummi.

MS (APCI + ve) m/z 425/427 $[M + H]^+$.

1H -NMR: 300 MHz ($CDCl_3$) 8,61 (1H, s), 7,69 (1H, d), 6,96 (1H, d) 5,59 (1H, t), 5,04 (1H, bd. s), 3,38-3,18 (2H, m), 2,26 (2H, q) und 1,45 (9H, s).

e) 4-[[3-Amino-1-(4-Chlor-5-thiazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0194] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5 (g) hergestellt, wodurch man die Titelverbindung (120 mg, 62%) als einen blassgelben Feststoff erhielt. Schmp.: 180–181°C.

MS (APCI + ve) m/z 325/327 $[M + H]^+$.

1H -NMR: 300 MHz ($DMSO-d_6$) 9,12 (1H, s), 8,77 (1H, s), 7,48 (1H, m), 6,45 (2H, s), 5,41 (1H, t), 2,88-2,72 (2H, m), 2,50 (3H, s) und 2,34-2,18 (2H, m).

Beispiel 29

2-[1-(4-Chlor-1,3-thiazol-5-yl)-3-(methylamino)propoxy]-6-methylnikotinnitril-ethandioat

a) N^3 -(tert-Butoxycarbonyl)- N^1 -methoxy- N^1 - N^3 -dimethyl- β -alaninamid

[0195] N-[(1,1-Dimethylethyl)oxy]carbonyl- β -alanin (63 g), EDCI (59,4 g), DMAP (37,89 g), NMM (34,1 g) und N,O-Dimethylhydroxylaminhydrochlorid (31 g) wurden in Dichlormethan (600 ml) 72 h lang gerührt, bevor sie mit 2M Chlorwasserstoffsäure (250 ml) gewaschen wurden. Das Wässrige wurde zweimal mit Dichlormethan (500 ml) gewaschen. Die vereinigten organischen Stoffe wurden mit gesättigtem wässrigem Natriumhydrogencarbonat, dann Salzlösung gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$), filtriert und im Vakuum konzentriert und mit-

tels Chromatographie (Silica, 33% Ethylacetat/Isohexane als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung (56 g) erhielt.

¹H-NMR: 400 MHz (d₆-DMSO) 3,66 (3H, s), 3,37 (2H, t), 3,09 (3H, s), 2,87 (3H, s), 2,58 (2H, t), 1,39 (9H, s).

b) 1,1-Dimethylethyl-3-(2,4-dichlor-1,3-thiazol-5-yl)-3-oxopropyl(methyl)carbamat

[0196] 2,4-Dichlor-thiazol (4 g) wurde in THF (80 ml) bei –78°C unter einer Stickstoffatmosphäre gelöst, bevor eine frisch hergestellte 1M-Lösung von LDA in THF (26 ml) hinzugesetzt wurde. Die Mischung wurde 20 Minuten stehen gelassen, bevor das Produkt vom obigen Schritt (a) (6 g) hinzugesetzt wurde. Die Mischung wurde weitere 20 Minuten lang stehen gelassen, bevor Wasser (50 ml) hinzugesetzt wurde, und die Reaktion ließ man sich auf Raumtemperatur erwärmen. Das THF wurde durch Konzentrierung im Vakuum entfernt, bevor der Rückstand in Ethylacetat extrahiert wurde. Das Wässrige wurde dann mit konzentrierter Chlorwasserstoffsäure neutralisiert und mit Ethylacetat erneut extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden im Vakuum konzentriert und gereinigt (Silica, 20% Diethylether/Isohexan als Eluent), wodurch man die Untertitelverbindung (4,65 g) erhielt.

c) 1,1-Dimethylethyl-3-(4-chlor-1,3-thiazol-5-yl)-3-hydroxypropyl(methyl)carbamat

[0197] Zu einer Suspension von Pd/C (1,6 g) in Methanol (300 ml) wurde das Produkt von Schritt (b) (5,96 g) und Natriumacetat (2,55 g) gegeben. Die Mischung wurde mit Wasserstoff bei 4 bar 84 h lang behandelt. Die Mischung wurde dann durch Celite filtriert, mit Ethanol gewaschen. Das Filtrat wurde dann im Vakuum konzentriert und erneut in Ethanol (200 ml) gelöst, bevor es mit Natriumborhydrid (2,35 g) behandelt wurde und 16 h lang gerührt wurde. Die Mischung wurde dann im Vakuum konzentriert und zwischen Ethylacetat und Wasser aufgeteilt. Die organischen Stoffe wurden gesammelt, getrocknet (MgSO₄), filtriert und im Vakuum konzentriert. Die Reinigung (Silica, 25% bis 50% Ethylacetat/Isohexan als Eluent) ergab die Untertitelverbindung (1,82 g).

d) 1-(4-Chlor-1,3-thiazol-5-yl)-3-(methylamino)propan-1-ol

[0198] Das Produkt von Schritt (c) wurde in TFA (10 ml) und Dichlormethan (100 ml) gelöst und 21 h gerührt, bevor es im Vakuum konzentriert und erneut in Methanol gelöst wurde. Die methanolische Lösung wurde dann mittels SCX-Harz gereinigt, wobei man die Untertitelverbindung (2,15 g) erhielt.

¹H-NMR: 400 MHz (d₆-DMSO) 9,03 (1H, s), 4,97 (2H, m), 2,58 (2H, m), 2,26 (3H, s), 1,75 (2H, m).

e) 2-[1-(4-Chlor-1,3-thiazol-5-yl)-3-(methylamino)propoxy]-6-methylnicotinnitril-ethandioat

[0199] Das Produkt von Schritt (d) (200 mg) wurde in DMF (3 ml) gelöst und mit Natriumhydrid (60%ige Dispersion in Öl, 77,5 mg) portionsweise behandelt. Die Mischung wurde 20 Minuten lang gerührt, bevor 2-Chlor-6-methylpyridin-3-carbonitril (200 mg) als ein Feststoff hinzugesetzt wurde. Die Mischung wurde 20 Minuten lang gerührt, bevor Wasser (500 µl) hinzugegeben wurde und die Reaktionsmischung direkt auf SCX-Harz geladen wurde. Das Harz wurde mit Methanol gewaschen, dann wurde das Produkt von dem Harz durch Waschen mit 10%igem 0,88 Ammoniak in Methanol eluiert. Das methanolische Ammoniak wurde im Vakuum konzentriert, und der Rückstand wurde mittels RPHPLC gereinigt, bevor er in Diethylether gelöst wurde und mit Ethandisäure (50%ig gesättigt in Diethylether, 2 ml) behandelt wurde. Die Suspension wurde 2 h lang mit Ultraschall beschallt, bevor die reine Titelverbindung mittels Filtration gesammelt wurde (11 mg).

MS APCI + ve^{m/z} 323/325 ([M + H]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz (d₆-DMSO) 9,13 (1H, s), 8,12 (1H, d), 7,12 (1H, d), 6,49 (1H, m), 3,18-3,02 (2H, m), 2,37-2,33 (2H, m), 2,62 (3H, s), 2,46 (3H, s).

Beispiel 30

2-[[1-(3-Fluorphenyl)-3-(methylamino)propyl]oxy]-pyridin-3-carbonitril-ethandioat

a) 1,1-Dimethylethyl-3-(3-fluorphenyl)-3-oxopropyl(methyl)carbamat

[0200] 1-Brom-3-fluorbenzol (2,3 ml) wurde in THF (30 ml) bei –78°C gelöst, bevor mit BuLi (2,5M, 8,2 ml) behandelt wurde. Die Lösung wurde 10 Minuten lang stehen gelassen, bevor N³-(tert-Butoxycarbonyl)-N¹-methoxy-N¹,N³-dimethyl-β-alaninamid (5 g) hinzugesetzt wurde. Nach 10 Minuten wurde Wasser hinzugesetzt, und die resultierende Eisaufschlammung wurde sich auf Raumtemperatur erwärmen gelassen. Das THF wurde im Vakuum entfernt, und das Wässrige wurde zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Stoffe wurden vereinigt, getrocknet (MgSO₄), filtriert und im Vakuum konzentriert, wodurch man die Untertitelverbindung

dung (5,49 g) erhielt.

b) 1,1-Dimethyl-3-(3-fluorphenyl)-3-hydroxypropyl(methyl)carbammat

[0201] Das Produkt von Schritt (a) wurde in Ethanol (30 ml) gelöst und mit Natriumborhydrid (1,52 g) behandelt. Die Mischung wurde 1 h lang gerührt, bevor sie mit Wasser gelöscht wurde. Das Ethanol wurde im Vakuum entfernt, und das restliche Wässrige wurde mit Ethylacetat extrahiert. Die Mischung wurde im Vakuum konzentriert und gereinigt (Silica, Ethylacetat als Eluent), wodurch man die Untertitelverbindung (2,59 g) erhielt.

c) 1-(3-Fluorphenyl)-3-(methylamino)propan-1-ol

[0202] Das Produkt von Schritt (c) wurde in Dichlormethan (10 ml) gelöst und mit TFA behandelt (2 ml). Die Reaktion wurde 16 h lang gerührt, bevor sie im Vakuum und dann unter hohem Vakuum konzentriert wurde. Der Rückstand wurde erneut in Dichlormethan (10 ml) gelöst und mit Triethylamin (3 ml) behandelt. Die Lösung wurde dann im Vakuum konzentriert, wodurch man die Untertitelverbindung als ein gelbes Öl erhielt (1,7 g).

d) 2-[[1-(3-Fluorphenyl)-3-(methylamino)propyl]oxy]pyridin-3-carbonitril-ethandioat

[0203] Das Produkt vom Schritt (c) (425 mg) wurde in DMF (4 ml) gelöst und mit Natriumhydrid (60% in Mineralöl, 115 mg) behandelt. Nach 10 Minuten wurde die Lösung mit 2-Chlorpyridin-3-carbonitril (319 mg) behandelt, und die Reaktion wurde 1 h lang gerührt, bevor sie mit Wasser (1 ml) behandelt wurde. Die Mischung wurde 16 h lang gerührt, bevor sie mit SCX-Harz behandelt wurde. Verunreinigungen wurden durch Waschen des Harzes mit Methanol entfernt, bevor das Produkt durch die Behandlung des Harzes mit 10%igem 0,88 Ammoniak in Methanol behandelt wurde. Das Material, welches aus dem Harz gesammelt wurde, wurde dann mittels RPHPLC (NH₃-Puffer) gereinigt, wodurch man das reine Produkt als freie Base erhielt. Dieses wurde dann in Ether gelöst, bevor es mit Ethandisäurelösung in Ether (50% gesättigt) behandelt wurde. Der resultierende Feststoff wurde mit Ether gewaschen, wodurch man die Titelverbindung (114 mg) erhielt.

MS APCI + ve^{m/z} 286 ([M + H]⁺).

¹H-NMR: 400 MHz (d₆-DMSO) 8,38 (1H, m), 8,31 (1H, d), 7,46 (1H, m), 7,25 (2H, m), 7,17 (2H, m), 6,28 (1H, m), 3,00 (2H, m), 2,57 (3H, s), 2,38-2,21 (2H, m).

Beispiel 31

6-Acetyl-2-[[3-(methylamino)-1-phenylpropyl]thio]-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0204] Eine Mischung von 6-Acetyl-2-mercapto-3-pyridincarbonitril (242 mg), Diisopropylethylamin (2 ml) und γ-Chlor-N-methylbenzolpropanamin-hydrochlorid (300 mg) in Methanol (20 ml) wurde auf 50°C 20 h lang erhitzt. Die Mischung wurde dann bis zur Trockne konzentriert, und der Rückstand wurde in Methanol (50 ml) gelöst. Die Lösung wurde 5 Minuten lang mit SCX-Harz (5 g) gerührt, und die Suspension wurde filtriert. Das Harz wurde mit Methanol gut gewaschen, und das Filtrat wurde verworfen. Das Harz wurde dann mit 7M Ammoniak in Methanol (50 ml) gestrippt, und die Ammoniaklösung wurde bis zur Trockne konzentriert. Das rohe Produkt wurde mittels Umkehrphasen-HPLC gereinigt und das (E)-Butendioatsalz wurde in Methanol-Ethylacetat hergestellt, wodurch man die Titelverbindung (25 mg) erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (DMSO-d₆) 8,40 (1H, d), 7,74 (1H, d), 7,55-7,28 (5H, m), 6,42 (2H, s), 5,28 (1H, t), 2,91-2,65 (5H, m), 2,5-2,3 (5H, m).

MS APCI + ve^{m/z} 326 ([M + H]⁺).

Beispiel 32

5-Fluor-6-methyl-2-[[[(1R)-3-(methylamino)-1-phenylpropyl]thio]-3-pyridincarbonitril-hydrochlorid

a) S-[(1R)-3-[[[(1,1-Dimethylethoxy)carbonyl]methylamino]-1-phenylpropyl]ethanthioat

[0205] Die Untertitelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (d), unter Verwendung von Thioessigsäure und 1,1-Dimethylethyl[(3S)-3-hydroxy-3-phenylpropyl]methylcarbammat.

b) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-mercapto-3-phenylpropyl]methylcarbammat

[0206] Eine Lösung des Produktes von Schritt (a) (520 mg) und 1M Natriumhydroxidlösung (25 ml) in entgasstem Ethanol (50 ml) wurde unter Stickstoff 1 h lang gerührt und dann mit Eisessig angesäuert. Das Ethanol

wurde im Vakuum entfernt, und die wässrige Suspension wurde mit Dichlormethan (2 × 50 ml) extrahiert. Die organischen Schichten wurden abgetrennt, getrocknet (CaCl_2), konzentriert und unter hohem Vakuum getrocknet, wodurch man die Untertitelverbindung als ein farbloses Öl (455 mg) erhielt.

MS APCI + ve^m/z 282 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (C_6D_6) 65°C 7,25-7,09 (5H, m), 3,90-3,83 (1H, m), 3,27-3,17 (2H, m), 2,68 (3H, s), 2,17-2,03 (2H, m), 1,96 (1H, d), 1,54 (9H, s).

c) 1,1-Dimethylethyl[(3R)-3-[(3-cyano-5-fluor-6-methyl-2-pyridinyl)thio]-3-phenylpropyl]methylcarbamate

[0207] Eine Lösung des Produktes von Schritt (b) (451 mg) in trockenem THF (10 ml) wurde tropfenweise zu einer Suspension von Natriumhydrid (70 mg, 60%ige Dispersion in Öl) bei Raumtemperatur hinzugesetzt. Nachdem die Wasserstoffentwicklung aufgehört hatte, wurde die Lösung zu 2-Chlor-5-fluor-6-methyl-3-pyridin-carbonitril (273 mg) gegeben, und die Mischung wurde dann bei 50°C 1 h lang erhitzt. Die Reaktion wurde mit Eisessig (100 μl) gelöscht, abgedampft und mittels Chromatographie (Silica, 3% Diethylether in Dichlormethan als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung als ein farbloses Öl (220 mg) erhielt.

MS APCI + ve^m/z 316 ($[\text{M} - \text{BOC} + 2\text{H}]^+$).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (d_6 -DMSO) 65°C 8,10 (1H, d), 7,44-7,23 (5H, m), 4,98 (1H, dd), 3,20 (2H, dd), 2,52 (3H, s), 2,24 (2H, ddd), 1,33 (9H, s).

d) 5-Fluor-6-methyl-2-[[[(1R)-3-(methylamino)-1-phenylpropyl]thio]-3-pyridin-carbonitril-hydrochlorid

[0208] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 1, Schritt (b), hergestellt, mit Dichlormethan trituriert.

MS APCI + ve^m/z 316 ($[\text{M} + \text{H}]^+$).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (d_6 -DMSO) 8,98 (2H, br. s), 8,26 (1H, d), 7,51-7,27 (5H, m), 5,11 (1H, dd), 3,05-2,62 (2H, br. m), 2,57 (3H, br. s), 2,51-2,37 (2H, br. m).

Beispiel 33

6-Ethyl-5-fluor-2-[[[(1R)-3-(methylamino)-1-phenylpropyl]thio]-3-pyridin-carbonitril-dihydrochlorid

[0209] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (f), und Beispiel 1, Schritt (b), unter Verwendung des Produktes von Beispiel 32, Schritt (a), und 2-Chlor-5-fluor-6-ethyl-3-pyridin-carbonitril hergestellt.

MS (APCI $^+$) m/z 330 ($\text{M} + \text{H}^+$).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (D_2O) 7,83 (1H, d), 7,47 (5H, m), 5,03 (1H, t), 3,27 (1H, m), 3,08 (1H, m), 2,95 (2H, m), 2,76 (3H, s), 2,54 (2H, m), 1,32 (3H, t).

Beispiel 34

2-[[[(1R)-3-[(2-Hydroxyethyl)methylamino]-1-phenylpropyl]thio]-6-(trifluormethyl)-3-pyridin-carbonitril-(E)-butan-dioat

a) 2-[[[(1R)-3-Chlor-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridin-carbonitril

[0210] 2-Chlor-6-(trifluormethyl)-3-pyridin-carbonitril (12,1 g) und Caesiumcarbonat (52,1 g, 0,176 Mol) wurden zu einer Lösung von (R)-3-Chlor-1-phenylpropan-1-ol (10,0 g) in DMF (600 ml) unter einer Stickstoffatmosphäre gegeben, und die Mischung wurde bei Raumtemperatur 20 h lang gerührt. Die Mischung wurde in Wasser (300 ml) gegossen und mit Diethylether (3 × 500 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Salzlösung (300 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO_4) und abgedampft. Die Reinigung mittels Chromatographie (Silica, Isohexan:Ethylacetat 20:1 bis 10:1 als Fluente) ergab die Untertitelverbindung als ein braunes Öl (17,2 g).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz (CDCl_3) 8,00 (d, 1H), 7,47 (d, 2H), 7,25-7,38 (m, 4H), 6,39 (dd, 1H), 3,68-3,76 (m, 1H), 3,52-3,60 (m, 1H), 2,62-2,73 (m, 1H), 2,30-2,41 (m, 1H).

b) 2-[[[(1R)-3-Iod-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridin-carbonitril

[0211] Eine Lösung des Produktes von Schritt (a) (17,2 g) in Aceton (1 600 ml), gesättigt mit Natriumiodid, wurde unter Rückfluss 48 h lang erhitzt. Nach dem Kühlen wurde die Mischung in Wasser (500 ml) gegossen und mit Diethylether (3 × 500 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Salzlösung (500

ml) gewaschen, über (MgSO₄) getrocknet und konzentriert. Die Reinigung mittels Chromatographie (Silica, Isohexan:Ethylacetat 20:1 bis 10:1 als Eluent) ergab die Untertitelverbindung als ein braunes Öl (17,1 g).

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,00 (d, 1H), 7,47 (d, 2H), 7,26-7,37 (m, 4H), 6,29 (dd, 1H), 3,13-3,34 (m, 2H), 2,65-2,76 (m, 1H), 2,35-2,50 (m, 1H).

c) 2-[[[(1R)-3-[(2-Hydroxyethyl)methylamino]-1-phenylpropyl]thio]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butandioat

[0212] 2-Methylaminoethanol (54,3 µl) wurde zu einer Lösung des Produktes von Schritt (b) (150 mg) in THF (2 ml) gegeben. Die Reaktion wurde einer Mikrowellenbestrahlung für sechs Minuten bei 140°C unterzogen und dann konzentriert. Nach der Reinigung mittels Chromatographie (Silica, Dichlormethan/7M Ammoniak in Methanol (10:1) als Eluent) wurde das (E)-Butendioatsalz hergestellt, wodurch man die Titelverbindung als einen weißen Feststoff (49,0 mg) erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 8,55 (d, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,46 (d, 2H), 7,28-7,40 (m, 3H), 6,59 (s, 2H), 6,19 (t, 1H), 3,45 (t, 2H), 2,53-2,59 (m, 4H), 2,32 (m, 4H), 2,06-2,15 (m, 1H).

Beispiel 35

2-[[[(1R)-3-[(2-Hydroxyethyl)propylamino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butandioat

[0213] Die Titelverbindung wurde gemäß dem Verfahren von Beispiel 34, Schritt (c), unter Verwendung von 2-Propylaminoethanol (119 µl) hergestellt, wodurch man einen weißen Feststoff (56,0 mg) erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 8,55 (d, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,45 (d, 2H), 7,27-7,40 (m, 3H), 6,60 (s, 2H), 6,23 (dd, 1H), 3,40 (t, 2H), 2,45-2,74 (m, 6H), 2,24-2,30 (m, 1H), 2,03-2,10 (m, 1H), 1,32-1,39 (m, 2H), 0,78 (t, 3H).

Beispiel 36

2-[[[(1R)-3-[(3-Hydroxypropyl)amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril

[0214] 3-Aminopropan-1-ol (53,6 µl) wurde zu einer Lösung des Produktes von Beispiel 34, Schritt (b), (150 mg) in THF (2 ml) gegeben. Die Reaktion wurde einer Mikrowellenbestrahlung sechs Minuten bei 140°C unterzogen und wurde dann konzentriert. Die Reinigung mittels Chromatographie (Silica, Dichlormethan/7M Ammoniak in Methanol (10:1) ergab die Titelverbindung als einen weißen Feststoff (21 mg).

¹H-NMR: 300 MHz (CDCl₃) 8,00 (d, 1H), 7,46 (d, 2H), 7,24-7,37 (m, 4H), 6,25 (dd, 1H), 3,78 (t, 2H), 2,84 (m, 2H), 2,74 (t, 2H), 2,30-2,42 (m, 1H), 2,08-2,20 (m, 1H), 1,67 (m, 2H).

Beispiel 37

2-[[[(1R)-3-(Methylpropylamino)-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butandioat

[0215] Die Titelverbindung wurde gemäß dem Verfahren von Beispiel 34, Schritt (c), unter Verwendung von Methylpropylamin 1 (720 µl) hergestellt, wodurch man einen weißen Feststoff (20,0 mg) erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 8,4 (d, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,42 (d, 2H), 7,27-7,37 (m, 3H), 6,62 (s, 2H), 6,25 (t, 1H), 2,27 (t, 4H), 2,18 (s, 3H), 2,04-2,14 (m, 2H), 1,35 (q, 2H), 0,79 (t, 3H).

Beispiel 38

2-[[[(1R)-3-[[[(2S)-2-Hydroxypropyl]amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butandioat

[0216] Die Titelverbindung wurde gemäß dem Verfahren von Beispiel 34, Schritt (c), unter Verwendung von (S)-1-Aminopropan-2-ol (82,2 µl) hergestellt, wodurch man einen weißen Feststoff (63,1 mg) erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 8,56 (d, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,30-7,46 (m, 5H), 6,48 (s, 2H), 6,22 (dd, 1H), 3,81 (m, 1H), 2,88 (t, 2H), 2,75-2,80 (m, 1H), 2,57-2,64 (m, 1H), 2,40-2,50 (m, 1H), 2,18-2,24 (m, 1H), 1,06 (d, 3H).

Beispiel 39

2-[[[(1R)-1-Phenyl-3-[(phenylmethyl)amino]propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butandioat

[0217] Die Titelverbindung wurde gemäß dem Verfahren von Beispiel 34, Schritt (c), unter Verwendung von Benzylamin (114 µl) als das Amin hergestellt, wodurch man einen weißen Feststoff (55,3 mg) erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 8,54 (d, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,22-7,44 (m, 10H), 6,53 (s, 2H), 6,27 (dd, 1H), 3,84 (s, 2H), 2,76 (t, 2H), 2,31-2,40 (m, 1H), 2,09-2,21 (m, 1H).

Beispiel 40

2-[[[(1R)-3-[(1,1-Dimethylethyl)amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril

[0218] Die Titelverbindung wurde gemäß dem Verfahren von Beispiel 36 unter Verwendung von tert-Butylamin (110 µl) als Amin hergestellt, wodurch man einen weißen Feststoff (22,1 mg) erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 8,59 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,30-7,48 (m, 5H), 6,19 (dd, 1H), 3,07 (m, 2H), 2,35-2,45 (m, 1H), 2,19-2,26 (m, 1H), 1,26 (s, 9H).

Beispiel 41

2-[[[(1R)-3-[[2-(4-Hydroxyphenyl)ethyl]amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril

[0219] Die Titelverbindung wurde gemäß dem Verfahren von Beispiel 36 unter Verwendung von 4-(2-Aminoethyl)phenol (143 mg) als das Amin hergestellt, wodurch man einen weißen Feststoff (35,6 mg) erhielt.

¹H-NMR: 300 MHz (d₆-DMSO) 9,18 (s, 1H), 8,57 (d, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,30-7,45 (m, 5H), 7,00 (d, 2H), 6,67 (d, 2H), 6,20 (dd, 1H), 2,92 (m, 4H), 2,68 (m, 2H), 2,36 (m, 1H), 2,19 (m, 1H).

Beispiel 42

2-[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butoxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butandioat

a) 1-(5-Isioxazolyl)-1,4-butandiol

[0220] Isopropyl-Magnesiumchlorid (25,3 ml, 1,7M in THF) wurde langsam zu einer Lösung von Chlorpropa-nol (3,6 ml) in THF (20 ml) bei 0°C gegeben. Magnesium (1,48 g) und 1,2-Dibromethan (0,1 ml) wurden hin-zugesetzt, und die Mischung wurde unter Rückfluss 3 h lang erhitzt. Diese Lösung wurde zu einer Lösung von Isoxazol-5-carboxaldehyd (2,66 g) in THF (920 ml) bei 0°C gegeben und 1 h lang gerührt. 2M Chlorwasser-stoffsäure (30 ml) wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Ethylacetat (6 mal) extrahiert. Die organi-schen Extrakte wurden getrocknet (Na₂SO₄), abgedampft und mittels Chromatographie (Silica, Benzin/Aceton (3:2) als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung als ein farbloses Öl erhielt (1,40 g). MS APCI + ve^{m/z} 158 ([M + H]⁺).

b) 1-(5-Isioxazolyl)-1,4-butandiol-4-(4-methylbenzolsulfonat)

[0221] Tosylchlorid (1,95 g) wurde zu einer Lösung des Produktes von Schritt (a) (1,39 g) in Pyridin (6 ml) und Dichlormethan (5 ml) gegeben und 16 h lang gerührt. 2M Chlorwasserstoffsäure (20 ml) wurde hinzugesetzt, und die Mischung wurde mit Dichlormethan (dreimal) extrahiert. Die organischen Extrakte wurden getrocknet (MgSO₄), abgedampft und mittels Chromatographie (Silica, Isohexan/Ether (3:2) als Eluent) gereinigt, wodurch man die Untertitelverbindung als ein orange-farbiges Gummi erhielt (667 mg). MS APCI + ve^{m/z} 312 ([M + H]⁺).

c) 1,1-Dimethylethyl[4-hydroxy-4-(5-isioxazolyl)butyl]-carbammat

[0222] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (b) mittels der Verfahren von Beispiel 5, Schritte (d) und (e), ohne intermediäre Reinigung hergestellt. MS APCI + ve^{m/z} 257 ([M + H]⁺).

d) 1,1-Dimethylethyl-[4-[[3-cyano-6-(trifluormethyl)-2-pyridinyl]oxy]-4-(5-isioxazolyl)butyl]-carbammat

[0223] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (c) mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (f), hergestellt. MS APCI + ve^{m/z} 427 ([M + H]⁺).

e) 2-[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butoxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0224] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (g), unter Verwendung vom obigen Schritt (d) unter Herstellung des (E)-Butendioatsalzes in Methanol/Acetonitril hergestellt. Schmp.: 155–157°C.

MS APCI + ve^m/z 327 ($[M + H]^+$).

1H -NMR: 300 MHz (DMSO- d_6) 8,65 (1H, d), 8,59 (1H, d), 7,76 (1H, d), 6,60 (1H, dd), 6,42-6,35 (3H, m), 2,84 (2H, t), 2,29-2,15 (2H, m), 1,76-1,58 (2H, m).

Beispiel 43

2-[[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-(E)-benzolcarbothioat

a) 5-[4-[(1,1-Dimethylethoxy)carbonyl]amino]-1-(5-isoxazolyl)butyl]benzolcarbothioat

[0225] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Beispiel 42, Schritt (c), mittels des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (d), hergestellt.

MS APCI + ve^m/z 377 ($[M + H]^+$).

b) 1,1-Dimethylethyl-[4-[(3-cyano-6-methyl-2-pyridinyl)thio]-4-(5-isoxazolyl)butyl]carbammat

[0226] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Beispiel 14, Schritt (e), und dem Produkt vom obigen Schritt (a) unter Verwendung des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (e), hergestellt.

MS APCI + ve^m/z 405 ($[M + H]^+$).

c) 2-[[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonitril-(E)-butendioat

[0227] Die Titelverbindung wurde mittels des Verfahrens von Beispiel 5, Schritt (g), unter Verwendung des Produktes vom obigen Schritt (b) unter Herstellung des (E)-Butendioatsalzes in Methanol/Acetonitril hergestellt. Schmp.: 155–157°C.

MS APCI + ve^m/z 305 ($[M + H]^+$).

1H -NMR: 300 MHz (DMSO- d_6) 8,60 (1H, d), 8,54 (1H, d), 7,06 (1H, s), 6,58 (1H, d), 6,41 (2H, s), 5,37 (1H, t), 3,92 (3H, s), 2,83 (2H, t), 2,18-2,06 (2H, m), 1,76-1,51 (2H, m).

Beispiel 44

4-[[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butyl]thio]-6-methoxy-3-pyridincarbonitril-hydrochlorid

a) 1,1-Dimethylethyl[4-[(5-cyano-2-methoxy-4-pyridinyl)thio]-4-(5-isoxazolyl)butyl]carbammat

[0228] Die Untertitelverbindung wurde aus dem Produkt von Beispiel 43, Schritt (a), und 2-Chlor-6-methyl-3-pyridincarbonitril mittels des Verfahrens von Beispiel 6, Schritt (e), hergestellt.

MS APCI + ve^m/z 389 ($[M + H]^+$).

b) 4-[[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butyl]thio]-6-methoxy-3-pyridincarbonitril-hydrochlorid

[0229] Die Titelverbindung wurde aus dem Produkt von Schritt (a) mittels des Verfahrens von Beispiel 12, Schritt (d), hergestellt, wodurch man einen weißen Feststoff erhielt. Schmp.: 136–137°C.

MS APCI + ve^m/z 289 ($[M + H]^+$).

1H -NMR: 300 MHz (DMSO- d_6) 8,58 (1H, s), 8,15 (1H, d), 8,09 (2H, s), 7,46 (1H, s), 7,26 (1H, d), 6,57 (1H, d), 5,47 (1H, t), 2,91-2,77 (2H, m), 2,58 (3H, s), 2,29-2,07 (2H, m), 1,83-1,58 (2H, m).

Sichtungsanalysen

[0230] Die pharmakologische Aktivität von Verbindungen gemäß der Erfindung wurden in den folgenden Sichtungsanalysen getestet.

Sichtungsanalyse 1

[0231] Die Aktivität von Verbindungen der Formel (I), oder einem pharmazeutisch annehmbaren Salz davon,

kann bezüglich der Stickoxid-Synthase-Inhibierungsaktivität mittels einer Prozedur gescreent werden, die auf der von Förstermann et al., Eur. J. Pharm., 1992, 225, 161–165, basiert. Stickoxid-Synthase wandelt ^3H -L-Arginin zu ^3H -L-Citrullin um, welches mittels Kationenaustauschchromatographie abgetrennt und mittels Flüssigkeitsszintillationszählung quantifiziert werden kann.

[0232] Enzym wird nach der Induktion aus der kultivierten Maus-makrophagen Zelllinie J774A-1 (erhalten von den Laboratorien des "Imperial Cancer Research Fund") hergestellt. Die J774A-1-Zellen werden in Dulbeccos Modified Eagles-Medium (DMEM), ergänzt mit 10% fötalem Rinderserum, 4 mM L-Glutamin und Antibiotika (100 Einheiten/ml Penicillin G, 100 mg/ml Streptomycin und 0,25 mg/ml Amphotericin B) kultiviert. Zellen werden routinemäßig in 225 cm³ großen Kolben, die 35 ml Medium enthielten und bei 37°C und in einer angefeuchteten Atmosphäre, die 5% CO₂ enthielt, wachsen gelassen.

[0233] Stickoxid-Synthase wird durch die Zellen als Reaktion auf Interferon-g (IFNg) und Lipopolysaccharid (LPS) hergestellt. Das Medium aus konfluenten Kulturkolben wird entfernt und durch 25 ml (pro Kolben) frischem Medium, das 1 mg/ml LPS und 10 Einheiten/ml IFNg enthielt, ersetzt. Nach einer Zeitdauer von 17–20 Stunden in der Kultur wird das Ernten der Zellen bewerkstelligt, indem die Zellschicht von der Kolbenoberfläche in das Kulturmedium abgekratzt wird. Zellen werden mittels Zentrifugation (1 000 g für 10 Minuten) gesammelt, und ein Lysat wird hergestellt, indem zu dem Zellpellet eine Lösung, die 50 mM Tris-HCl (pH 7,5 bei 20°C), 10% (v/v) Glycerol, 0,1% (v/v) Triton-X-100, 0,1 mM Dithiothreitol und einen Cocktail aus Proteaseinhibitoren, umfassend Leupeptin (2 mg/ml), Sojabohnen-Trypsin-Inhibitor (10 mg/ml), Aprotinin (5 mg/ml) und Phenylmethylsulphonylfluorid (50 mg/ml), enthält, hinzugesetzt wurde.

[0234] Für das Assay werden 25 µl Substratcocktail (50 mM Tris-HCl (pH 7,5 bei 20°C), 400 µM NADPH, 20 µM Flavinadenindinukleotid, 20 µM Flavinmononukleotid, 4 µM Tetrahydrobiopterin, 12 µM L-Arginin und 0,025 mCi L-[^3H]-Arginin) in Vertiefungen einer Filterplatte mit 96 Vertiefungen (0,45 µm Porengröße), enthaltend 25 µl einer Lösung der Testverbindung in 50 mM Tris-HCl, hinzugesetzt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 50 µl Zelllysate (hergestellt wie oben) gestartet, und nach der Inkubation während 1 Stunde bei Raumtemperatur wird durch Zugabe von 50 µl einer wässrigen Lösung von 3 mM Nitroarginin und 21 mM EDTA abgebrochen.

[0235] Markiertes L-Citrullin wird vom markierten L-Arginin unter Verwendung von Dowex AG-50W abgetrennt. 150 µl einer 25%igen wässrigen Aufschlämmung von Dowex 50W (Na⁺-Form) wird dem Assay hinzugesetzt, wonach das Ganze in 96 Vertiefungs-Platten gefiltert wird. 75 µl Filtrat wird als Probe genommen und in Vertiefungen von 96-Vertiefungs-Platten, welche festes Szintillationsmittel enthielten, zugegeben. Nachdem man die Proben trocknen gelassen hatte, wurde das L-Citrullin mittels Szintillationszählung quantifiziert.

[0236] In einem typischen Experiment ist die Basalaktivität 300 dpm pro 75 µl Probe, welche auf 1 900 dpm in Reagenzienkontrollen zunahm. Die Verbindungsaktivität wird als IC₅₀ (der Konzentration von Arzneistoffsubstanz, welche zu 50% Enzyminhibition im Assay führte) ausgedrückt, und Aminoguanidin, welches zu einem IC₅₀ (50% inhibitorische Konzentration) von 10 µM führt, wird als ein Standard getestet, um die Prozedur zu verifizieren. Verbindungen werden in einem Bereich von Konzentrationen getestet, und aus den Inhibitionen erhaltene IC₅₀-Werte werden berechnet. Verbindungen, welche das Enzym um mindestens 25% bei 100 µM inhibieren, werden als aktiv klassifiziert und werden mindestens einem erneuten Test unterzogen.

[0237] In der obigen Sichtungsanalyse wurden die Verbindungen der Beispiele 1 bis 44 getestet und ergaben IC₅₀-Werte von weniger als 10 µM, so dass man erwartet, dass sie brauchbare therapeutische Aktivität zeigen.

Sichtungsanalyse 2

[0238] Rekombinante humane NO-Synthasen (iNOS, eNOS & nNOS) wurden in E. coli exprimiert, und Lysate wurden in Hepes-Puffer (pH 7,4), enthaltend Cofaktoren (FAD, FMN, H₄B), Proteaseinhibitoren, Lysozym und das Detergens CHAPS hergestellt. Diese Präparationen wurden bei geeigneter Verdünnung verwendet, um eine Inhibition der verschiedenen Isoformen zu bestimmen. Die Inhibition von NOS wurde bestimmt, indem die Bildung von L-[^3H] Citrullin aus L-[^3H] Arginin unter Verwendung einer Anpassung des Verfahrens von Förstermann et al.⁹ gemessen wurde. Enzymassays wurden in Gegenwart von 3 µM [^3H] Arginin, 1 mM NADPH und anderen Cofaktoren, die zur Unterstützung der NOS-Aktivität erforderlich sind (FAD, FMN, H₄B, Calmodulin, Ca²⁺), durchgeführt. Da verschiedene NOS-Inhibitoren berichtetermaßen nur niedrige Bindungskinetiken zeigen, oder da sie das Enzym in einer zeitabhängigen Weise inaktivieren, wurden Enzym und Inhibitor 60 Minuten lang in Gegenwart von NADPH vorinkubiert, bevor Arginin zur Initiierung der Reaktion hinzugesetzt wurde. Inkubationen wurden weitere 60 Minuten lang fortgesetzt, bevor die Assays gelöscht wurden, und [^3H]Citrullin wurde von nicht umgesetztem Substrat mittels Chromatographie auf Dowex-50W-Harz in einem 96-Vertie-

fungs-Format abgetrennt.

[0239] In der obigen Sichtungsanalyse wurden die Verbindungen der Beispiele 1 bis 44 getestet und ergaben IC_{50} -Werte von weniger als 10 μM gegenüber dem iNOS-Enzym, was anzeigt, dass sie erwartungsgemäß brauchbare therapeutische Aktivität zeigen.

Sichtungsanalyse 3

[0240] Verbindungen zeigen ebenfalls Aktivität gegen die humane Form von induzierter Stickoxid-Synthase, wie es in dem folgenden Assay gezeigt werden konnte.

[0241] Die humane kolorektale Karzinomzelllinie DLD-1 (erhalten von der "European Collection of Animal Cell Culture" – Zelllinien-Nummer 90102540) wurde routinemäßig in RPMI 1640, ergänzt mit 10% (v/v) fötalem Rinderserum und 2 mM L-Glutamin, bei 37°C in 5% CO_2 wachsen gelassen.

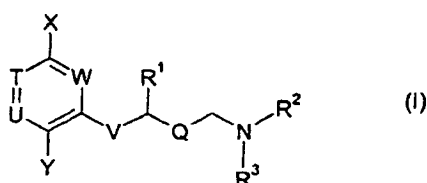
[0242] Stickoxid-Synthase wurde in Zellen durch Zugabe von Medium, welches humanes rekombinantes Gamma-IFN (1 000 Einheiten/ml), TNF-Alpha (200 U/ml), IL-6 (200 U/ml) und IL-1-Beta (250 U/ml) enthielt, induziert. Nach der Inkubation für 18 Stunden bei 37°C wurde das Medium entfernt, und die Zellen wurden mit warmer Phosphat-gepufferter Salzlösung gewaschen. Zellen wurden weitere 5 Stunden bei 37°C/5% CO_2 in RPMI 1640, enthaltend 100 μM L-Arginin und 100 μM Verapamil-HCl, in Gegenwart und Abwesenheit von Testverbindungen inkubiert.

[0243] Die Nitritakkumulation wurde bestimmt, indem ein gleiches Volumen von Kulturmedien mit Griess-Reagens (10 mg/ml Sulphanilamid, 1 mg N-(1-Naphthyl)-ethylendiamin in 1 ml 2,5% (v/v) Phosphorsäure) gemischt wurde. Die Inhibition in Gegenwart von Verbindungen wurde im Vergleich zu den Nitritspiegeln, welche durch unbehandelte Zellen hervorgerufen wurden, berechnet. IC_{50} -Werte wurden aus einem Semi-Log-Plot der prozentualen Inhibition versus der Verbindungskonzentration abgeschätzt.

[0244] In dieser Sicherheitsanalyse ergaben die Verbindungen der Beispiele 1 bis 44 IC_{50} -Werte von weniger als 100 μM , was anzeigt, dass sich voraussagen lässt, dass sie brauchbare therapeutische Aktivität zeigen werden.

Patentansprüche

1. Verbindungen der Formel (I),



in der

X H, C1- bis C4-Alkyl, C1- bis C4-Alkoxy, Halogen, OH, NHR^9 , CN, C = CH, NO_2 , CHO, $COCH_3$ oder $NHCHO$ bedeutet, wobei die Alkyl- oder Alkoxygruppe gegebenenfalls weiter durch ein oder mehrere Fluoratome oder durch eine OH-Gruppe substituiert ist;

Y C1- bis C4-Alkyl, C1- bis C4-Alkoxy, Halogen, OH, CN, $C\equiv CH$, NO_2 , CHO, $COCH_3$ oder $NHCHO$ bedeutet, wobei die Alkyl- oder Alkoxygruppe gegebenenfalls weiter durch ein oder mehrere Fluoratome substituiert ist; einer der Substituenten T, U und W N bedeutet und die beiden anderen unabhängig CR^4 bedeuten; und jede R^4 -Gruppe unabhängig H, F oder CH_3 bedeutet;

V O oder $S(O)_n$ bedeutet;

n eine ganze Zahl 0, 1 oder 2 bedeutet;

Q CH_2 oder $(CH_2)_2$ bedeutet;

R^1 einen fünf- oder sechsgliedrigen aromatischen heterocyclischen Ring bedeutet, der 1 bis 3 Heteroatome, die unabhängig aus der Reihe O, S und N gewählt werden, enthält; wobei der Phenylring oder aromatische heterocyclische Ring gegebenenfalls durch einen oder mehrere Substituenten, die unabhängig aus der Reihe Halogen, C1- bis C4-Alkyl, C1- bis C4-Alkoxy, OH, CN, NO_2 oder NR^5R^6 gewählt sind, substituiert ist; wobei die Alkyl- oder Alkoxygruppe gegebenenfalls weiter durch ein oder mehrere Fluoratome substituiert ist;

R^2 und R^3 bedeuten unabhängig H, C1- bis C4-Alkyl oder C3- bis C6-Cycloalkyl; wobei die Alkylgruppe gegebenenfalls durch C1- bis C4-Alkoxy, Halogen, Hydroxy, $-Z-NR^7R^8$, Phenyl oder einen fünf- oder sechsgliedrigen

aromatischen oder gesättigten heterocyclischen Ring, der 1 bis 3 Heteroatome, die unabhängig aus der Reihe O, S und N gewählt sind, enthält, substituiert ist; wobei der Phenylring oder aromatische heterocyclische Ring gegebenenfalls weiter durch Halogen, C1- bis C4-Alkyl, C1- bis C4-Alkoxy, CF₃, OCF₃, OH, CN oder NO₂ substituiert ist;

Z -CO- oder eine Bindung bedeutet;

R⁵ R⁶, R⁷ und R⁸ unabhängig H oder C1- bis C4-Alkyl bedeuten;

R⁹ H oder C1- bis C4-Alkyl bedeutet; wobei das Alkyl gegebenenfalls weiter durch ein oder mehrere Fluoratom substituiert ist;

oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze.

2. Verbindungen der Formel (I) nach Anspruch 1, in der V O bedeutet.

3. Verbindungen der Formel (I) nach Anspruch 1, in der V S(O)_n bedeutet und n 0 bedeutet.

4. Verbindung der Formel (I) nach einem der Ansprüche 1 bis 3, in der X und Y unabhängig Br, Cl, CH₃, CH₂F, CHF₂, CF₃, CH₃CH₂, NH₂, OCH₃, COCH₃ oder CN bedeuten.

5. Verbindung nach Anspruch 4, in der Y CN bedeutet.

6. Verbindung der Formel (I) nach Anspruch 1, bei der es sich um

2-[(1R)-3-(Methylamino)-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-(fluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-phenylpropyl]thio]-6-(difluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-(3-thienyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-[(3-Hydroxypropyl)amino]-1-(3-thienyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 3-[(3R)-3-[[3-Cyan-6-(trifluormethyl)-2-pyridinyl]oxy]-3-(3-thienyl)propyl]amino]-N-methylpropanamid;
 2-[[3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-(3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-(2-thiazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 (R)-2-(3-Dimethylamino-1-isoxazol-5-yl-propoxy)-6-trifluormethyl-3-nicotinsäurenitril;
 6-Amino-4-[[[(1R)-3-amino-1-(5-isoxazolyl)propyl] thio]-3-pyridincarbonsäurenitril;
 γ-[(5-Chlor-2-methoxy-4-pyridinyl)thio]-(γ⁶R)-5-isoxazolpropanamin,
 4-[(1R)-3-Amino-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methoxy-3-pyridincarbonsäurenitril;
 4-[(1R)-3-[(2-Hydroxyethyl)amino]-1-(5-isoxazolyl)propyl]thio]-6-methoxy-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-(3-chlor-5-isoxazolyl)propyl] thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[3-Amino-1-(3-methyl-4-isoxazolyl)propyl]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[3-Amino-1-(5-isothiazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[3-Amino-1-(5-isothiazolyl)propoxy]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[3-Amino-1-(3-isothiazolyl)propoxy]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-Amino-1-(5-methyl-3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 4-[(1R)-3-Amino-1-(3-isoxazolyl)propyl]oxy]-6-methoxy-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[[3-Amino-1-(4-methyl-3-isoxazolyl)propyl] thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[3-Amino-1-(2-oxazolyl)propoxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 4-[[3-Amino-1-(4-chlor-5-thiazolyl)propyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[1-(4-Chlor-1,3-thiazol-5-yl)-3-(methylamino) propoxy]-6-methylnicotinsäurenitril;
 2-[1-(3-Fluorphenyl)-3-(methylamino)propyl]oxy] pyridin-3-carbonsäurenitril;
 6-Acetyl-2-[[3-(methylamino)-1-phenylpropyl]thio]-3-pyridincarbonsäurenitril;
 5-Fluor-6-methyl-2-[[[(1R)-3-(methylamino)-1-phenylpropyl]thio]-3-pyridincarbonsäurenitril;
 6-Ethyl-5-fluor-2-[[[(1R)-3-(methylamino)-1-phenylpropyl]thio]-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-[(2-Hydroxyethyl)methylamino]-1-phenylpropyl]thio]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-[(2-Hydroxyethyl)propylamino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-[(3-Hydroxypropyl)amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-(Methylpropylamino)-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-[(25)-2-Hydroxypropyl]amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-1-Phenyl-3-[(phenylmethyl)amino]propyl] oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[(1R)-3-[(1,1-Dimethyl)amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;

2-[[[(1R)-3-[[2-(4-Hydroxyphenyl)ethyl]amino]-1-phenylpropyl]oxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butoxy]-6-(trifluormethyl)-3-pyridincarbonsäurenitril;
 2-[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butyl]thio]-6-methyl-3-pyridincarbonsäurenitril;
 4-[4-Amino-1-(5-isoxazolyl)butyl]thio]-6-methoxy-3-pyridincarbonsäurenitril;
 oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze, Enantiomere oder Racemate handelt.

7. Verbindung der Formel (I) nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze zur Verwendung als Arzneimittel.

8. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine Verbindung der Formel (I) nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze in Abmischung mit einem pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoff, Verdünnungsmittel oder Träger.

9. Verwendung einer Verbindung der Formel (I) nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze bei der Herstellung eines Arzneimittels für die Behandlung oder Prophylaxe von entzündlichen Erkrankungen.

10. Verwendung nach Anspruch 9, wobei es sich bei der Krankheit um Reizdarm handelt.

11. Verwendung nach Anspruch 9, wobei es sich bei der Krankheit um rheumatoide Arthritis handelt.

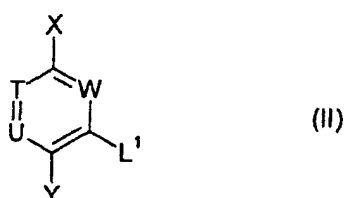
12. Verwendung nach Anspruch 9, wobei es sich bei der Krankheit um Osteoarthritis handelt.

13. Verwendung einer Verbindung der Formel (I) nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze bei der Herstellung eines Arzneimittels für die Behandlung oder Prophylaxe von Schmerzen.

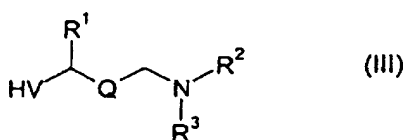
14. Verwendung einer Verbindung der Formel (I) nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze in Kombination mit einem COX-2-Hemmer bei der Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung oder Prophylaxe von entzündlichen Erkrankungen.

15. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel (I) nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze, Enantiomere oder Racemate, oder eines ihrer Tautomere, dadurch gekennzeichnet, daß man

(a) eine Verbindung der Formel (II),

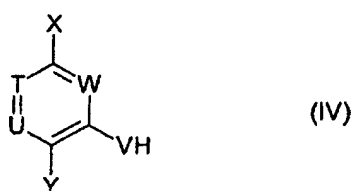


in der T, U, X, Y und W wie in Anspruch 1 definiert sind und L¹ eine Abgangsgruppe bedeutet, mit einer Verbindung der Formel (III),



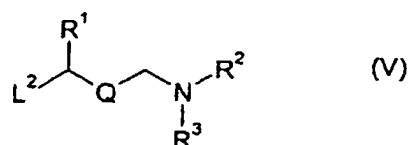
in der R¹, R², R³, Q und V wie in Anspruch 1 definiert sind, umgesetzt; oder

(b) eine Verbindung der Formel (IV),

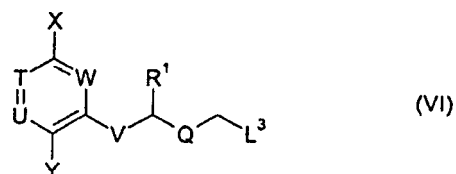


in der T, U, W, X, Y und V wie in Anspruch 1 definiert sind,

mit einer Verbindung der Formel (V),



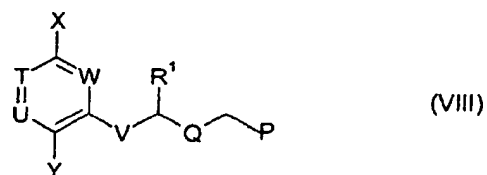
in der R¹, R², R³ und Q wie in Anspruch 1 definiert sind und L² eine Abgangsgruppe bedeutet, umgesetzt; oder
(c) eine Verbindung der Formel (VI),



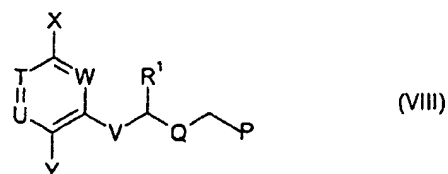
in der R¹, Q, T, U, W, X, Y und V wie in Anspruch 1 definiert sind und L³ eine Abgangsgruppe bedeutet, mit
einer Verbindung der Formel (VII),



in der R² und R³, wie in Anspruch 1 definiert sind, umgesetzt; oder
(d) eine Verbindung der Formel (VIII),



in der R¹, Q, T, U, W, X, Y und V wie in Anspruch 1 definiert sind und P Azid (N₃) bedeutet, reduziert;
oder
(e) eine Verbindung der Formel (VIII),



in der R¹, Q, T, U, W, X, Y und V wie in Anspruch 1 definiert sind und P eine Imidgruppe bedeutet, hydrolysiert;
und erforderlichenfalls die erhaltene Verbindung der Formel (I) oder ein anderes ihrer Salze in eines ihrer pharmazeutisch annehmbaren Salze umwandelt; oder eine Verbindung der Formel (I) in eine andere Verbindung der Formel (I) umwandelt; und, falls erwünscht, die erhaltene Verbindung der Formel (I) in eines ihrer optischen Isomere umwandelt.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen