

PIRUVÁT-DEHIDROGENÁZ AKTIVITÁST NÖVELŐ SZUBSZTITUÁLT N-FENIL-

-2-HIDROXI-2-METIL-3,3,3-TRIFLUOR-PROPÁNAMID-SZÁRMAZÉKOK;
ELJÁRA'S AZ ELŐÁLLÍTÁSUKRA ÉS EZEKET TARTALMAZÓ
GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK

ASTRAZENECA AB, S-151 85 Södertälje, Svédország KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

A bejelentés napja: 2002. 08. 21.

Elsőbbsége: 2001. 08. 23. (GB, 0120471.8)

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/GB02/03867

A nemzetközi közzététel száma: WO 03/017995 A1

K i v o n a t

A találmány (I) általános képletű vegyületekre - a képletben R metil- vagy metilcsoportot jelent - továbbá azok gyógyászatilag alkalmazható sóira és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereire vonatkozik. A vegyületek előállítása, valamint a vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítmények is a találmány tárgyát képezik. A vegyületek melegvérűeken a PDH-aktivitás növelésére alkalmasak.

PR

Jelölés : (I) által. képlet

P 0 4 0 1 1 4 9



A2

Képviselő: Dr.Jalovszky Györgyné ügyvéd

Társképviselő: Dr.Miskolczi Mária ügyvéd

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

158/1281

PIRUVÁT-DEHIDROGENÁZ AKTIVITÁST NÖVELŐ SZUBSZTITUÁLT N-FENIL-

-2-HIDROXI-2-METIL-3,3,3-TRIFLUOR-PROPÁNAMID-SZÁRMAZÉKOK, ELJÁRÁS
A2 ELŐÁLLÍTÁSUKRA ÉS EZEKET TARTALMAZÓ
GYÓGYSZER KÉSZÍTMÉNYEK

ASTRAZENECA AB, S-151 85 Södertälje, Svédország

Feltaláló:

BUTLIN Roger John,

Alderley Park, Macclesfield, Cheshire SK10 4TG, Nagy-Britannia

A bejelentés napja: 2002. 08. 21.

Elsőbbsége: 2001. 08. 23. (GB, 0120471.8)

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/GB02/03867

A nemzetközi közzététel száma: WO 03/017995 A1

A találmány a piruvát-dehidrogenáz (PDH) aktivitását fokozó hatású vegyületekre, azok előállítási eljárásaira, az azokat hatóanyagként tartalmazó gyógyászati készítményekre, továbbá azok melegvérűeken (köztük embereken) PDH-aktivitást fokozó hatást kiváltó gyógyszerkészítmények előállításában való felhasználására vonatkozik. A találmány elsősorban olyan vegyületekre vonatkozik, amelyek melegvérűeken (köztük embereken) cukorbetegség, perifériás érrendszeri betegségek és szívizom-iszkémia kezelésére használhatók fel. A találmány tárgyát képezi különösen a vegyületek felhasználása olyan gyógyszerkészítmények gyártásához, amelyek melegvérűeken (köztük embereken) a cukorbetegség kezelésére alkalmasak.

A komplex molekulák szöveteken belüli szintéziséhez szükséges energiát és az izmokösszehúzódasához szükséges energiát az adenosin-trifoszfát (ATP) szolgáltatja. Az ATP energiadús szubsztrátumok, például glükóz vagy hosszúláncú szabad zsírsavak lebomlása révén képződik. Az oxidatív szövetekben (így az izmokban) az ATP a citromsav-ciklust megindító acetyl-CoA-ból alakul ki, így az oxidatív szöveteken belüli ATP-képződés szempontjából a szövetek acetyl-CoA-val való ellátottsága döntő jelentőségű. Az acetyl-CoA vagy zsírsavakból alakul ki β -oxidációval, vagy a glükolitikus úton lezajló glükóz-metabolizmus eredményeként képződik. A PDH a glükózból való acetyl-CoA képződés sebességét szabályozó kulcsfontosságú enzim, ami a piruvátok (piroszőlősav-észterek) acetyl-CoA és szén-dioxid képződéséhez vezető oxidációját katalizálja. Ezt a folyamatot a nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD) NADH-vá való redukálódása kíséri.

Egyes betegségekben vagy rendellenes állapotokban [ilyen például az inzulinfüggő (1-es típusú) és inzulin-független (2-es típusú) cukorbetegség] fokozódik a lipidek oxidációja, és ezzel együtt csökken a glükózhasznosulás mértéke, ami hozzájárul a túlzott vércukorszint kialakulásához. Az 1-es és 2-es típusú cukorbetegségben a csökkent glükózhasznosulás a PDH aktivitásának csökkenésével jár együtt. A PDH aktivitásának csökkenése azzal is járhat, hogy a megnövekedett piruvát-koncentráció

következtében a hepatikus glükóz-újratermelődéshez nagyobb mennyiségű laktát áll rendelkezésre. Indokolt tehát az a feltételezés, hogy a PDH aktivitásának növelésével fokozódik a glükóz oxidációjának sebessége, ami a teljes glükózhasznosulás fokozódását eredményezi, és emellett a hepatikus glükóztermelés is csökken. A cukorbetegség kialakulásában közreható további tényező a csökkent inzulin-kiválasztás, ami - miként Zhou és munkatársai egy rágcsálókon végzett genetikai modellen kimutatták [Diabetes 45, 580-586 (1996)] - a hasnyálmirigy β -sejtjeiben a PDH-aktivitás csökkenésével jár együtt.

A glükóz oxidációja révén 1 mól oxigén hatására több ATP molekula képződik, mint a zsírsavak oxidációjakor. Olyan esetekben [például szívizom-iszkémia, időszakos sántítás (claudicatio intermittans), agyi iszkémia és reperfúzió esetén; v.ö. Zaidan és mtsai: J. Neurochem. 70, 233-241 (1998)], amikor a szervezet energiaigénye meghaladhatja a bevitt energiaforrást, a szubsztrátum-hasznosítás egyensúlyának a glükóz-metabolizmus felé való eltolása a PDH-aktivitás fokozása révén javíthatja a szervezetnek a szükséges ATP-szint kialakítására való képességét, és ezáltal a gyógyulás esélyét.

Várható, hogy a PDH-aktivitást fokozó hatású anyagok a megnövekedett tejsav-cirkulációval járó állapotok (például egyes szepszis-formák) kezelésében is hasznosíthatók.

A diklór-ecetsavról (DCA), ami állatoknak beadva akutan fokozza a PDH-aktivitást, kimutatták, hogy a várakozásnak megfelelően vércukorszint-csökkentő hatást fejt ki, és eredményesen alkalmazható szívizom-infarktus és túlzott tejsav-cirkuláció kezelésére [Vary és mtsai: Circ. Shock 24, 3-18 (1988); Stacpoole és mtsai: N. Engl. J. Med. 298, 526-530 (1978); Bersin és Stacpoole: American Heart Journal 134, 841-855 (1997); Stacpoole és mtsai: N. Engl. J. Med. 309, 390-396 (1983)].

A PDH intramitokondriális multienzim komplex, amely több alegység többszörös másolataiból áll, és a piroszőlősav-észterek acetil-CoA-vá alakulásának teljessé

tételéhez szükséges három enzimaktivitást (E1, E2 és E3) tartalmaz [Patel és Roche: FASEB J. 4, 3224-3233 (1990)]. Ezek közül az E1 a piroszőlősav-észterekből való nemreverzibilis CO_2 -lehasítást katalizálja; az E2 acetil-CoA-t alakít ki; az E3 pedig a NAD-ot NADH-vá redukálja. A komplexhez két további enzimaktivitás is társul: egy specifikus kináz, ami az E1-et három szerin-maradékon képes foszforilezni, és egy lazán társult specifikus foszfatáz, ami megfordítja a foszforilezést. Ha a három szerin-maradék közül csak egy foszforileződik, az E1 inaktívvá válik. Az aktív állapotú (defoszforilezett) PDH részarányát a kináz és a foszfatáz enzim aktivitásának egymáshoz való viszonya szabja meg. A kináz aktivitása in vivo körülmények között a metabolikus szubsztrátumok egymáshoz viszonyított koncentráció-arányának [például a NAD/NADH, CoA/acetil-CoA és adenin-difoszfát (ADP)/ATP aránynak] a megváltoztatásával szabályozható.

A PDH-aktivitást fokozó vegyületek várhatóan a glükózhasznosítás rendelkezéseihez járó betegségek, így cukorbetegség, kóros elhízás [Curto és mtsai: Int. J. Obes. 21, 1137-1142 (1997)] és túlzott tejsav-cirkuláció kezelésére is alkalmasak. Ezen túlmenően a vegyületek várhatóan olyan betegségek [például perifériás érrendszeri betegségek (köztük claudication intermittans), szívkihagyások, egyes szívizom-fájdalmak, izomgyengeség, hiperlipidémia és ateroszklerózis; ld. Stacpoole és mtsai: N. Engl. J. Med. 298, 526-530 (1978)] is hasznosíthatók, amelyek közös jellemzője, hogy az energiadús szubsztrátumok csak korlátozott mennyiségben állnak a szövetek rendelkezésére. A PDH aktivitását fokozó vegyületek az Alzheimer-kór kezelésében is jó hatást fejthetnek ki [J. Neural Transm. 105, 855-870 (1998)].

A 617 010 és 524 781 sz. európai közzétételi irat a hólyag síma izomzatának ernyesztésére alkalmas, a készleteléses inkontinencia kezelésére használható vegyületeket ismerteti. A WO 99/44618, WO 99/47508, WO 99/62505, WO 99/62873, WO 01/17942, WO 01/17955 és WO 01/17956 sz. nemzetközi közzétételi irat PDH-aktivitást fokozó vegyületeket ismerteti. A találmány szerinti vegyületek az idézett közlemé-

nyek egyikében sem kerültek ismertetésre. Meglepő módon azt tapasztaltuk, hogy a találmány szerinti vegyületek egy vagy több farmakológiai aktivitásuk (elsősorban piruvát-dehidrogenáz-fokozó hatásuk) és/vagy farmakokinetikai, hatékonysági, metabolikus és toxikológiai profiljuk következtében igen előnyösen használhatók fel melegvérűek, köztük emberek in vivo kezelésére.

A találmány tehát (I) általános képletű vegyületekre - a képletben R metilcsoportot vagy mezilcsoportot jelent - és ezek gyógyászatilag alkalmazható sóira és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereire vonatkozik.

Az egyik szempont szerint a fenti képletben R metilcsoportot jelent.

Egy másik szempont szerint a fenti képletben R mezilcsoportot jelent.

Egy további szempont szerint a találmány az (I) általános képletű vegyületekre és azok gyógyászatilag alkalmazható sóira vonatkozik.

Szakember számára belátható, hogy az (I) általános képletű vegyületek, gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereik szolvatátlan és szolvatált (például hidratált) formában egyaránt létezhetnek. A találmány mindazon szolvatált formát magában foglalja, amelyek növelik a PDH-aktivitást.

Az (I) általános képletű vegyületeket, azok gyógyászatilag alkalmazható sóit és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereit a rokonszerkezetű vegyületek előállítására alkalmas ismert módszerek bármelyikével előállíthatjuk. Ilyen módszereket ismertet többek között az 524 781, 617 010 és 625 516 sz. európai közzétételi irat, a 2 278 054 sz. nagy-britanniai szabadalmi leírás, valamint a WO 93/23358, WO 97/38124, WO 99/44618, WO 99/47508, WO 99/62506, WO 99/62873, WO 01/17942, WO 01/17955 és WO 01/17956 sz. nemzetközi közzétételi irat.

A találmány tárgya továbbá eljárás az (I) általános képletű vegyületek, gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereik előállítására oly módon, hogy



- (a) egy (II) általános képletű vegyület - a képletben R jelentése a fenti, és Pg alkohol-védőcsoportot jelent - védőcsoportját lehasítjuk; vagy
- (b) egy (III) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti, és a értéke 0 vagy 1 - oxidálunk; vagy
- (c) egy (IV) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti - egy (V) általános képletű savval - a képletben X hidroxilcsoportot jelent - kapcsolunk; vagy
- (d) egy (VI) általános képletű anilin-származékot egy (V) általános képletű reakcióképes savszármazékkal kapcsolunk; vagy
- (e) egy (VI) általános képletű vegyületet - a képletben L kilépő csoportot jelent - 4-metil-piperazinnal vagy 4-metil-piperazinnal reagáltatunk; vagy
- (f) R helyén metilcsoportot hordozó (I) általános képletű vegyület előállítására a (VII) képletű vegyületet metilezzük; vagy
- (g) R helyén metilcsoportot hordozó (I) általános képletű vegyület előállítására a (VII) képletű vegyületet mezilezzük; vagy
- (h) egy (VIII) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti - klórozunk; vagy
- (i) egy (IX) általános képletű vegyület - a képletben R jelentése a fenti, Fg pedig funkciós csoportot jelent - Fg funkciós csoportját klóratommá alakítjuk/cseréljük; vagy
- (j) egy (X) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti - egy alkalmas szerves fémvegyülettel addicionáltatunk; vagy
- (k) egy (XI) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti - egy alkalmas szerves fémvegyülettel addicionáltatunk; vagy
- (l) egy (XII) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti, és L kilépő csoportot jelent - egy (V) általános képletű vegyülettel - a képletben X NH₂ csoportot jelent - addicionáltatunk; vagy



(m) egy (XIV) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti - Smiles átrendeződésnek vetünk alá; vagy

(n) az (I) általános képletű vegyületek (R)/(S)-enantiomerjeinek elegyéből elkülönítjük az (R) enantiomert;

majd kívánt esetben gyógyászatilag alkalmazható sőt vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észtert képezünk.

A (II) általános képletű vegyületekben a Pg csoport például benzilcsoport, szililcsoport (így trialkil-szilil- vagy alkil-difenil-szilil-csoport) vagy acetil-védőcsoport lehet.

Ha az (V) általános képletű vegyület reakcióképes savszármazékot jelent, ebben X például halogénatomot (így klór- vagy brómatomot), savanhidrid-képző csoportot, aril-oxi-csoportot (így 4-nitro-fenoxi- vagy pentafluor-fenoxi-csoportot) vagy imidazol-1-il-csoportot képviselhet.

Az L helyén álló kilépő atom vagy csoport például fluor-, klór- vagy brómatom vagy nitro-, metánszulfonát- vagy trifluor-metánszulfonát-csoport lehet.

A (IX) általános képletű vegyületekben Fg helyén álló funkciós csoport előnyösen aminocsoport lehet, amit diazotálással, majd a kapott diazóniumsót réz katalizátor jelenlétében egy kloriddal reagáltatva cserélhetünk klóratomra.

A fent felsorolt reakciók körülményeit a következőkben ismertetjük.

(a) eljárás:

A (II) általános képletű alkohol Pg védőcsoportját például a következő reagensekkel hasíthatjuk le:

(1) Ha Pg benzilcsoportot jelent, ennek lehasítására palládium/csontszén katalizátor jelenlétében hidrogént (hidrogenolízis), vagy hidrogén-bromidot vagy hidrogén-jodidot használhatunk.

(2) Ha Pg szilil-védőcsoportot jelent, ennek lehasítására tetrabutyl-ammonium-fluoridot vagy hidrogén-fluoridot vagy sósavat használhatunk.

(3) Ha Pg acetilcsoportot jelent, ezt enyhe vizes bázissal, például lítium-hidroxiddal vagy ammóniával vagy egy aminnal (így dimetil-aminnal) távolíthatjuk el.

A reakciót alkalmas oldószerben, például etanolban, metanolban, acetonitrilben vagy dimetil-szulfoxidban hajthatjuk végre. A reakció hőmérséklete rendszerint -40°C és 100°C közötti érték lehet.

A (II) általános képletű vegyületeket az 1. reakcióvázlaton bemutatott művelet-sorral állíthatjuk elő. Az ott feltüntetett képletekben E karboxil-védőcsoportot, például 1-6 szénatomos alkilcsoportot, így metil- vagy etilcsoportot jelent. A kiindulási anyagként felhasznált (IIa) képletű vegyület kereskedelmi forgalomban beszerezhető anyag.

(b) eljárás:

Oxidálószerként például a következőket használhatjuk: kálium-permanganát, Oxone^(R), nátrium-perjodát, persavak (így 3-klór-peroxi-benzoesav és perecetsav), hidrogén-peroxid, TPAP (tetrapropil-ammónium-perrutenát) és oxigén. A reakciót alkalmas oldószerben, például dietil-éterben, diklór-metánban, metanolban, etanolban, vízben, ecetsavban vagy két vagy több itt felsorolt oldószer elegyében hajthatjuk végre. A reakciót rendszerint -40°C és 100°C közötti hőmérsékleten végezzük.

A (III) általános képletű vegyületeket a 2. reakcióvázlaton bemutatott szintézissel állíthatjuk elő. A kiindulási anyagként felhasznált (IIIa) képletű vegyület kereskedelmi forgalomban beszerezhető anyag.

(c) eljárás:

A reakciót alkalmas kapcsolószer jelenlétében hajthatjuk végre. Erre a célra szokásos amid-kapcsoló reagenseket használhatunk. A reakciót például az 1. és 2. reakcióvázlaton a (IIId) és (IV), illetve (IIIa) és (V) képletű vegyület kapcsolásánál feltüntetett körülmények között végezhetjük. Kapcsolószerként például diciklohexil-karbodiimidet is használhatunk adott esetben katalizátor, így dimetil-amino-piridin vagy 4-pirrolidino-piridin és adott esetben bázis, például trietil-amin, piridin, 2,6-dialkil-

-piridinek (így 2,6-lutidin vagy 2,6-di-terc-butyl-piridin) vagy 2,6-difenil-piridin jelenlétében. Oldószerként például dimetil-acetamidot, diklór-metánt, benzolt, tetrahydrofuránt vagy dimetil-formamidot használhatunk. A kapcsolási reakciót rendszerint -40°C és 40°C közötti hőmérsékleten végezzük.

A (IV) általános képletű vegyületeket a 3. reakcióvázlaton bemutatott szintézissel állíthatjuk elő. Az ott feltüntetett képletekben Pg amino-védőcsoportot, például a következőkben felsorolandó csoportokat jelenti.

A (IVa) és (V) képletű vegyületek kereskedelmi forgalomban beszerezhető vagy a szakirodalomban ismertett anyagok.

Az (V) képletű rezolvált karbonsavat például az optikailag aktív formák kialakításának szokásos módszereivel [így a királis só átkristályosításával (lásd például a WO 97/38124 sz. nemzetközi közzétételi iratot), enzimikus rezolválással vagy királis álló fázison végzett kromatográfiával] állíthatjuk elő. Az (R)-(+)-karbonsavat például a WO 97/38124 sz. nemzetközi közzétételi iratban közölt 2. reakcióvázlaton az (S)-(-)-karbonsav kialakítására bemutatott módszerrel [azaz az EP 0524781 sz. európai közzétételi iratban szintén az (S)-(-)-karbonsav kialakítására ismertett klasszikus rezolválási eljárással] állíthatjuk elő, azzal a különbséggel, hogy (S)-(-)-1-fenil-etil-amin helyett (1S,2R)-norefedrint használunk. A királis karbonsavat a Tetrahedron Asymmetry 10, 679 (1999) közleményben ismertett enzimikus rezolválási módszerrel is előállíthatjuk.

(d) eljárás:

A kapcsolást adott esetben bázis, például trietil-amin, piridin, 2,6-dialkil-piridinek (így 2,6-lutidin vagy 2,6-di-terc-butyl-piridin) vagy 2,6-difenil-piridin jelenlétében végezzük. Oldószerként például dimetil-acetamidot, diklór-metánt, benzolt, tetrahydrofuránt és dimetil-formamidot használhatunk. A kapcsolási reakciót rendszerint -40°C és 40°C közötti hőmérsékleten hajtjuk végre.

(e) eljárás:

A (VI) általános képletű vegyületeket oldószerben, például N-metil-2-pirrolidi-

nonban vagy dimetil-acetamidban, vagy oldószermentes közegben, 40-160°C-on reagáltathatjuk 1-20 mólekvalens, előnyösen 2-10 mólekvalens 1-metil-piperazinnal (6 140 351 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás) vagy 1-metil-piperazinnal.

Az L helyén fluoratomot tartalmazó (VI) képletű vegyületet a 4. reakcióvázlaton feltüntetett szintézissel állíthatjuk elő.

(f) eljárás:

A (VII) képletű vegyület metilezéséhez például formaldehidet és redukálószer, így nátrium-bórhidridet vagy nátrium-triacetoxi-bórhidridet használhatunk. A reakciót alkalmas oldószerben, így 1,2-diklór-etánban, diklór-metánban vagy tetrahidrofuránban végezhetjük 0°C és a reakcióelegy visszafolyási pontja közötti, előnyösen szobahőmérséklet körüli hőmérsékleten. Más megoldás szerint a (VII) képletű vegyületet metilezőszerrel, így metil-jodiddal vagy dimetil-szulfáttal reagáltatjuk oldószer (így acetone vagy dimetil-formamid) és bázis (így nátrium-hidrogén-karbonát, nátrium-karbonát vagy nátrium-hidroxid) jelenlétében. Adott esetben a reakció végrehajtása előtt a (VII) képletű vegyület hidroxilcsoportjára védőcsoportot viszünk fel. A (VII) képletű vegyület egy lehetséges előállításmódját az A. példában ismertetjük.

(g) eljárás:

A (VII) képletű vegyületet alkalmas mezilezőszerekkel, például metánszulfonil-kloriddal mezilezhetjük. A reakciót bázis (például trietil-amin) és oldószer (például diklór-metán, tetrahidrofurán, piridin vagy etil-acetát) jelenlétében, -40°C és a reakcióelegy visszafolyási pontja közötti, előnyösen szobahőmérséklet körüli hőmérsékleten végezhetjük.

(h) eljárás:

Klórozószerként például N-klór-szukcinimidet használhatunk; a reakciót oldószer (így diklór-metán, acetonitril, izopropanol vagy dimetil-formamid) jelenlétében, 0°C és a reakcióelegy visszafolyási pontja közötti hőmérsékleten végezhetjük. Más

megoldás szerint klórozószerként klórt használhatunk katalizátor, így vas-triklorid jelenlétében. Az utóbbi reakciót oldószerben, így ecetsavban, dimetil-formamidban vagy acetonitrilben, -20° és 40°C közötti hőmérsékleten, előnyösen szobahőmérsékleten vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten végezzük. Ha a reakció során nemkívánt szennyezéseként izomerek is képződnek, ezeket utólag eltávolítjuk a kívánt termékéből.

A (VIII) általános képletű vegyületeket az 5. reakcióvázlaton bemutatott szintézissel állíthatjuk elő. A kiindulási anyagként felhasznált (VIIIa) képletű vegyület kereskedelmi forgalomban beszerezhető anyag.

(i) eljárás:

A funkciós csoportok kívánt átalakítását szakember számára jól ismert reagensekkel, ismert körülmények között végezzük.

Az Fg helyén aminocsoportot tartalmazó (IX) általános képletű vegyületeket például úgy alakíthatjuk át (I) általános képletű vegyületekké, hogy első lépésben a (IX) általános képletű vegyületet diazotáljuk. Reagensként például terc-butil-nitritet használhatunk; a reakciót katalizátor, így réz(II)-klorid és oldószer, így acetonitril jelenlétében végezhetjük 0°C és a reakcióelegy visszafolyási pontja közötti, előnyösen szobahőmérséklet körüli hőmérsékleten. Más megoldás szerint a diazotálást nitritsóval végezzük sav, így sósav vagy kénsav és oldószer, így víz ecetsav vagy elegyeik jelenlétében, -20°C és 40°C közötti hőmérsékleten. Ezután a képződött diazóniumsót ugyanabban az oldószerben, 0°C és a reakcióelegy visszafolyási pontja közötti hőmérsékleten réz(I)-kloriddal reagáltatjuk.

A (IX) általános képletű vegyületeket a 6. reakcióvázlaton bemutatott szintézissel állíthatjuk elő.

(i) eljárás:

Eljárhatunk például úgy, hogy a (X) általános képletű vegyületet CF_3SiMe_3 -nal [Ruppert reagens, lásd Tetrahedron 56(39), 7613 (2000)] adicionáltatjuk. Alkalmas

katalizátor, például királis cinchonínium-fluorid katalizátor felhasználásával az addíció aszimmetrikusan hajtható végre. Ezután a reakcióelegy savas-vizes feldolgozásával hidrolitikusan lehasítjuk a képződött tercier alkohol-szilil-éterről az éterképző csoportot. A reakciót alkalmas oldószerben, például toluolban végezzük. A reakció hőmérséklete -100°C és az elegy visszafolyási pontja közötti, előnyösen -78°C és szobahőmérséklet közötti érték lehet.

A (X) általános képletű vegyületeket a fent ismertetett (c) eljárással állíthatjuk elő úgy, hogy a (IV) általános képletű vegyületeket (V) képletű karbonsav helyett piro-szölősavval reagáltatjuk.

(k) eljárás:

Az addíciós reakcióhoz szerves fémvegyületként például CH_3MgBr -t vagy CH_3CeCl_2 -t használhatunk. A reakciót oldószer, például éter vagy tetrahidrofurán és egy királis katalizátor jelenlétében hajthatjuk végre, -120°C és 40°C közötti hőmérsékleten. Királis katalizátorként például tetraaril-dimetil-dioxolán-dimetanolokat (TADDOL) használhatunk, ahol az arilcsoport például fenil- vagy 2-naftil-csoport lehet [Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 31, 84-86 (1992)].

A (XI) általános képletű vegyületeket a fent ismertetett (c) eljárással állíthatjuk elő úgy, hogy a (IV) általános képletű vegyületeket (V) képletű karbonsav helyett trifluor-piroszölősavval reagáltatjuk. [Tetrahedron Lett. 30(39), 5243 (1989)].

(l) eljárás:

Eljárhatunk például úgy, hogy a (XII) általános képletű vegyületeket az X helyén NH_2 csoportot tartalmazó (V) képletű vegyületből két mólekvalens bázissal (így nátrium-hidriddel) kialakított dianionnal reagáltatjuk. A reakciót alkalmas oldószerben, így tetrahidrofuránban vagy N-metil-2-pirrolidinonban, $20-160^{\circ}\text{C}$ -on végezhetjük.

Az L helyén klóratomot tartalmazó (XII) általános képletű vegyületeket például a (IV) általános képletű vegyületekből állíthatjuk elő az (i) eljárásnál ismertetett diazotálással és azt követő klórozással.

(m) eljárás:

A Smiles átrendeződést úgy hajthatjuk végre, hogy a (XIV) általános képletű vegyületeket oldószerben, így dimetil-formamidban bázissal, így nátrium-hidriddel kezeljük.

A (XIV) általános képletű vegyületeket úgy állíthatjuk elő, hogy az L helyén klóratomot tartalmazó (XII) általános képletű vegyületeket 1 mólekvalens bázis (például nátrium-hidrid) és oldószer (például tetrahidrofurán vagy N-metil-2-pirrolidinon) jelenlétében X helyén NH_2 csoportot tartalmazó (V) képletű vegyülettel reagáltatjuk. A reakciót 20-160°C-on végezhetjük.

(n) eljárás:

A kívánt optikailag aktív (I) általános képletű vegyületeket szokásos rezolválási módszerekkel, például kristályosítással, enzimes rezolválással vagy az enantiomerek kromatográfiás szétválasztásával különíthetjük el az (I) általános képletű vegyület és a megfelelő (S)-enantiomert tartalmazó keverékekből.

Azokat a kiindulási anyagokat és reagenseket, amelyek kereskedelmi forgalomban nem szerezhetők be, szokásos szerves kémiai módszerekkel, a rokonszerkezetű ismert vegyületek szintézisével analóg módszerekkel, vagy a fentiekben ismertetett vagy a példákban közlendő eljárásokkal analóg módon állíthatjuk elő.

A fent ismertetett szintézisekhez szükséges kiindulási anyagok számos képviselője kereskedelmi forgalomban beszerezhető és/vagy a tudományos irodalomban részletesen ismertetett vegyület; az így hozzá nem férhető vegyületek a szakirodalomban részletesen ismertetett módszerek adaptálásával állíthatók elő kereskedelmi forgalomban beszerezhető anyagokból. A reagensekről és a reakciókörülményekről például Jerry March "Advanced Organic Chemistry" c. szakkönyvében (4. kiadás, kiadó: John Wiley & Sons, 1992) található általános útmutatás.

Szakember számára nyilvánvaló, hogy esetenként a korábbiakban ismertetett reakciók végrehajtása előtt a vegyületek érzékeny csoportjait alkalmas védőcsoport-

tokkal kell vagy célszerű védeni. Szakember általános ismereteibe tartozik annak eldöntése, hogy melyik csoportot, mikor és hogyan kell vagy célszerű védeni. Erre a célra szokásos védőcsoportok és szokásos védőcsoport-felviteli módszerek alkalmazsak [lásd például T. W. Greene: Protective Groups in Organic Synthesis (John Wiley & Sons, 1991)].

A hidroxilcsoportok védelmére például acilcsoportokat, így alkanoilcsoportokat (például acetilcsoportot), aroilcsoportokat (így benzoilcsoportot) vagy aril-metil-csoportokat (így benzilcsoportot) használhatunk. A védőcsoportok lehasításának módszere az adott védőcsoport jellegétől függően változik. Az acilcsoportokat, így az alkanoilcsoportokat vagy az aroilcsoportokat például lúgos hidrolízissel hasíthatjuk le; bázisként például alkálifém-hidroxidokat (így lítium- vagy nátrium-hidroxidot) használhatunk. A szililcsoportokat, így a trimetil-szilil-csoportot például fluoridokkal vagy vizes savval végzett kezeléssel távolíthatjuk el. Az aril-metil-csoportokat, például a benzilcsoportot katalizátor (így csontszénre felvitt palládium) jelenlétében végzett hidrogénezéssel is eltávolíthatjuk.

Az aminocsoportok védelmére például acilcsoportokat, így alkanoilcsoportokat (például acetilcsoportot), alkoxi-karbonil-csoportokat (így metoxi-karbonil-, etoxi-karbonil- vagy terc-butoxi-karbonil-csoportot), aril-metoxi-karbonil-csoportokat (így benzil-oxi-karbonil-csoportot) vagy aroilcsoportokat (így benzoilcsoportot) használhatunk. A védőcsoportok lehasításának módszere a felvitt védőcsoport jellegétől függően változik. Az acilcsoportokat, így az alkanoil- vagy alkoxi-karbonil-csoportokat vagy az aroilcsoportokat például lúgos hidrolízissel hasíthatjuk le; bázisként például alkálifém-hidroxidokat, így lítium- vagy nátrium-hidroxidot használhatunk. Az acilcsoportokat, így a terc-butoxi-karbonil-csoportot savas hidrolízissel is lehasíthatjuk; savként például sósavat, kénsavat, foszforsavat vagy trifluor-ecetsavat használhatunk. Az aril-metoxi-karbonil-csoportokat, így a benzil-oxi-karbonil-csoportot hidrogenolízissel (például csontszénre felvitt palládium katalizátor jelenlétében végzett hidrogénezéssel) vagy

Lewis savval, így bór-trisz(trifluor-acetáttal) végzett kezeléssel is eltávolíthatjuk. A primer aminocsoportok védelmére más csoportokat, így ftaloilcsoportot is felhasználhatunk; az utóbbi védőcsoportot például alkil-aminnal (így dimetil-amino-propil-aminnal) vagy hidrazinnal való kezeléssel távolíthatjuk el.

A védőcsoportokat a szintézis bármely alkalmas lépésében eltávolíthatjuk ismert kémiai módszerekkel. Más megoldás szerint a védőcsoportokat egy későbbi reakciólépés során vagy a reakcióelegy feldolgozása során távolíthatjuk el.

Az (I) általános képletű vegyületek savakkal vagy bázisokkal stabil sókat képezhetnek. Esetenként célszerű lehet a vegyületeket ilyen stabil sók formájában beadni. A vegyületek gyógyászatilag alkalmazható sóit szokásos módszerekkel, például a következőkben ismertetendő módon állíthatjuk elő. A gyógyászatilag alkalmazható sók például élettanilag elfogadható aniont szolgáltató szerves vagy szervetlen savakkal képezett sók, így tozilátok, metánszulfonátok, α -glicerofoszfátok, szulfátok, nitrátok és kloridok lehetnek.

A gyógyászatilag alkalmazható sókat szakember számára jól ismert módszerekkel állíthatjuk elő, például úgy, hogy az (I) általános képletű vegyületeket (esetenként a megfelelő észtereket) élettanilag elfogadható aniont szolgáltató savakkal reagáltatjuk. Alkálifémsókat (így nátrium-, kálium- és lítiumsókat) és alkáliföldfém-sókat (így kalciumsókat) is kialakíthatunk például úgy, hogy az (I) általános képletű vegyületeket (esetenként a megfelelő észtereket) vizes közegben 1 ekvivalens alkálifém-hidroxiddal vagy -alkoxiddal vagy fél ekvivalens alkáliföldfém-hidroxiddal vagy -alkoxiddal (például a megfelelő etoxiddal vagy metoxiddal) reagáltatjuk, majd a kapott terméket szokásos módon tisztítjuk.

Az (I) általános képletű vegyületek in vivo körülmények között hidrolizálható észterei például olyan gyógyászatilag alkalmazható észterek lehetnek, amelyekből az emberi vagy állati szervezetben lezajló hidrolízis révén az alapvegyület (sav vagy alkohol) szabadul fel.

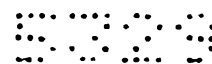
z (I) általános képletű vegyületek hidroxilcsoporton képezett, in vivo körülmények között hidrolizálható észterei például szervesetlen észterek (így foszfátészterek) és α -acil-oxi-alkil-éterek (köztük acetoxi-metoxi- és 2,2-dimetil-propionil-oxi-metoxi-éterek) lehetnek. A hidroxilcsoporttal in vivo körülmények között hidrolizálható észtert képező egyéb csoportok közül példaként a következőket soroljuk fel: alkanoil-, benzoil-, fenil-acetil-, szubsztituált benzoil-, szubsztituált fenil-acetil- és alkoxi-karbonil-csoportok (karbonsavészterek képzésére); dialkil-akrbamoil- és N-(dialkil-amino-etil)-N-alkil-karbamoil-csoportok (karbamátok képzésére); dialkil-amino-acetil- és karboxi-acetil-csoportok. A benzoilcsoporthoz adott esetben kapcsolódó szubsztituensek közül példaként a morfolino- és piperazincsoportot említjük meg, amelyek gyűrűtag-nitrogénatomjuknál metilén-csoport közbeiktatásával kapcsolódhatnak a benzoilcsoport 3-as vagy 4-es helyzetéhez.

A találmány szerinti vegyületek PDH-aktivitást fokozó hatását a szakirodalomban ismertetett módszerekkel vizsgálhatjuk. Ilyenek például a WO 99/62506 sz. nemzetközi közzétételi iratban leírt vizsgálati módszerek, amelyek (a) a PDH-aktivitás in vitro körülmények közötti fokozódásának, (b) a PDH-aktivitás izolált primer sejtekben, in vitro körülmények közötti fokozódásának, és (c) a PDH-aktivitás in vivo körülmények közötti fokozódásának meghatározására alkalmasak. A találmány szerinti vegyületek aktivitását a következő módszerrel is vizsgálhatjuk:

PDH-aktivitás fokozódásának vizsgálata in vitro körülmények között:

Ezzel a vizsgálattal azt határoztuk meg, hogy képes-e a vizsgált vegyület fokozni a PDH aktivitását. A PDH-kináz kódoló cDNS-t polimeráz láncreakcióval (PCR) és azt követő klónozással állíthatjuk elő. Ezt egy alkalmas kifejező rendszerben kifejezve PDH-kináz aktivitással rendelkező fehérjét alakíthatunk ki. A rekombináns fehérje *Escherichia coli*-ban való kifejezésével kapott humán PDHkináz2 (rPDHK2) például PDH-kináz aktivitást fejt ki.

Humán rPDHK2-t (génbanki letéti száma: L42451.1) Baker és mtsai módszerével [J. Biol. Chem. 275, 15773-15781 (2000)] klónoztunk és expresszáltunk. Az expresszált fehérjébe az idézett közleményben leírtak szerint proteáz hasítóhelyet építettünk be. Az aktivitásvizsgálatokhoz használható más ismert PDH-kinázok hasonlóan klónoozhatók és expresszálhatók. Az rPDHK2 aktivitás expressziójára BL21 E. coli törzsből (DE3) származó sejteket az rPDHK2 cDNS-t tartalmazó pET28A vektorral transzformáltunk. Ez a vektor a fehérje N-terminuszánál 6-His-toldalékot hordoz. Az E. coli sejteket fermentorban 12-es optikai sűrűség (550 nm) eléréséig 37°C-on tenyésztettük, majd a tenyésztést 15-ös optikai sűrűség eléréséig 22°C-on folytattuk, ezután 0,5 mmól izopropil-tio- β -galaktozidáz hozzáadásával megindítottuk a fehérje expresszióját. A sejteket 3 órán át 22°C-on tenyésztettük, majd centrifugálással összegyűjtöttük. Az újraszuszpendált sejtépeet nagynyomású homogenizálással lizáltuk, és az oldhatatlan anyagot 26 000 g gyorsuláson 30 percig végzett centrifugálással eltávolítottuk. A 6-His toldalékkal ellátott fehérjét kobaltos kelátképző gyantamatrixsal (TALON; gyártja: Clontech) elkülönítettük a felülúszóból, a gyantát 20 mmól N-(2-hidroxi-etil)-piperazin-N'-2-etánszulfonsavat (HEPES), 500 mmól nátrium-kloridot, 1 térfogat % etilén-glikolt és 0,1 tömeg/térfogat % Pluronic F-68-at tartalmazó pufferoldattal (pH 8,0) mostuk, majd egyébként azonos összetételű, de 100 mmól imidazolt is tartalmazó pufferoldattal (pH 8,0) lépésenként leoldottuk a gyantához kötött fehérjét. A 6-His toldalékot hordozó fehérjét tartalmazó eluátumfrakciókat egyesítettük, 1 mmól végkoncentráció eléréséig etilén-diamin-tetraecetsavat (EDTA) és ditioneitreit (DTT) adtunk hozzá, és a toldalékot PreScission Proteáz (gyártja: Amersham Pharmacia Biotech) hozzáadásával lehasítottuk. Ezt a fehérjét glutation-Sepharose gyantával (gyártja: Amersham Pharmacia Biotech) távolítottuk el. A toldaléktól megfosztott fehérjét tároló pufferoldatba [összetétele: 20 mmól HEPES-Na, 150 mmól nátrium-klorid, 0,5 mmól EDTA, 1 tömeg/térfogat % Pluronic F68, 1 térfogat % etilén-glikol (pH 8,0)] dializáltuk, és alikvot részletekben -80°C-on tároltuk.



A PDHK enzim-törzsoldat minden egyes új részletét a vizsgálat megkezdése előtt titráltuk annak a koncentrációnak a meghatározására, amely a vizsgálat körülményei között körülbelül 75 %-os PDH-gátlást szolgáltat. Az enzim-törzsoldatot (jellemző koncentráció: 20 $\mu\text{g/ml}$) pufferoldatban [összetétele: 50 mmól 3-(N-morfolino)-propánszulfonsav (MOPS), 20 mmól dikálium-ortofoszfát, 60 mmól kálium-klorid, 20 mmól magnézium-klorid, 0,4 mmól etilén-diami-tetraecetsav (EDTA), 0,2 % Pluronic F68, 1 mmól ditio-treit (DTT) (pH 7,3)] 4°C-on 24 órán át 0,05 egység/ml PDH-val (sertésszív PDH; a Sigma cég P7032 katalógusszámu gyártmánya) asszociálódni hagytuk.

Az új vegyületek aktivitásának vizsgálata során a vizsgálandó vegyületet 5 %-os dimetil-szulfoxiddal hígítottuk, és 384 mélyedékes vizsgáló lemez mélyedéseibe 5-5 μl így kapott elegyet töltöttünk. A kontrollként szolgáló mélyedésekbe 5-5 μl 5 %-os dimetil-szulfoxidot töltöttünk. A PDH reakció maximális sebességének meghatározása céljából egy másik kontrollként szolgáló mélyedéssorozatba mélyedésenként 5-5 μl ismert inhibítort töltöttünk a kináz-reakció szempontjából 10 μmol végső koncentrációban.

Ezután a mélyedésekbe 40-40 μl előasszociáltatott enzimoldatot mértünk be, és 5 μl 10 μmol ATP oldat (oldószer: a fenti összetételű puffer) hozzáadásával megindítottuk a foszforilezési reakciót. A lemezt 45 percig szobahőmérsékleten tartottuk, majd a maradék PDH aktivitás meghatározása céljából a mélyedésekhez 40 μl összetérfogatban szubsztrátumokat, azaz 2,5 mmól koenzim A-t, 2,5 mmól tiamin-pirofoszfátot (kokarboxiláz), 2,5 mmól nátrium-piruvátot és 6 mmól NAD-ot adtunk, és a lemezt 90 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk. A képződött redukált NAD (azaz NADH) mennyiségét optikai sűrűségméréssel határoztuk meg 340 nm hullámhosszon, lemezleolvasó spektrofotométer segítségével. Az adott vegyület ED_{50} értékét 12 különböző koncentrációra kapott eredmények figyelembevételével számítottuk ki.

Egy további szempont szerint a találmány gyógyászati készítményekre vonatkozik, amelyek hatóanyagként egy, a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületet vagy gyógyászatilag alkalmazható sóját vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észterét tartalmazzák, gyógyászatilag elfogadható hígító-, hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokkal együtt.

A gyógyászati készítmények orálisan adagolható gyógyszerformák (így tabletták vagy kapszulák), parenterálisan (így intravénásan, szubkután, intramuszkulárisan, intravaszkulárisan vagy infúzió formájában) adagolható gyógyszerformák (így steril oldatok, szuszpenziók vagy emulziók), helyileg felhasználható gyógyszerformák (így kenőcsök vagy krémek) vagy rektálisan felhasználható gyógyszerformák (így kúpok) lehetnek. A felsorolt készítményeket rendszerint szokásos módszerekkel állítjuk elő, ismert excipiensek felhasználásával.

A találmány szerinti gyógyászati készítményeket előnyösen dózisegységek formájában alakítjuk ki. A hatóanyagot melegvérűeknek rendszerint $5\text{-}5000\text{ mg/m}^2$ testfelület, azaz kb. $0,1\text{-}100\text{ mg/testtömeg kg-os}$ dózisegységekben adhatjuk be. A dózisegységek mérete például $1\text{-}100\text{ mg/kg}$, előnyösen $1\text{-}50\text{ mg/kg}$ lehet, ami általában megfelel a terápiásan hatásos dózisnak. A dózisegységek formájában kialakított gyógyászati készítmények (például tabletták vagy kapszulák) hatóanyagtartalma darabonként például $1\text{-}250\text{ mg}$ lehet.

A találmány tárgyát képezik továbbá a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületek, gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereik humán- vagy állatgyógyászati terápia célú kezelésben való felhasználásra.

Ezek a vegyületek fokozzák a PDH-aktivitást, ennek megfelelően terápiásan hasznosítható vércukorszint-csökkentő hatással rendelkeznek.

A találmány tárgyát képezik továbbá a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületek, gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között

hidrolizálható észterek gyógyszerként - rendszerint melegvérűeken, köztük embereken PDH aktivitásnövekedést előidéző gyógyszerként - való felhasználásra.

A találmány tárgyát képezik különösen a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületek, gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észterek melegvérűeken (köztük embereken) diabetes mellitus kezelésére alkalmas gyógyszerként való felhasználásra.

Egy további szempont szerint a találmány tárgyát képezik az (I) általános képletű vegyületek, gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észterek melegvérűeken (köztük embereken) diabetes mellitus, perifériás érbetegségek és szívizom-iszkémia kezelésére alkalmas gyógyszerként való felhasználásra.

Egy újabb szempont szerint a találmány tárgyát képezi a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületek, gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észterek felhasználása melegvérűeken (köztük embereken) PDH aktivitásnövekedést előidéző gyógyszerkészítmények gyártásában.

Egy további szempont szerint a találmány tárgyát képezi a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületek, gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észterek felhasználása melegvérűeken (köztük embereken) diabetes mellitus kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmények gyártásában.

Egy másik szempont szerint a találmány tárgyát képezi a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületek, gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észterek felhasználása melegvérűeken (köztük embereken) diabetes mellitus, perifériás érbetegség és szívizom-iszkémia kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmények gyártásában.

Egy újabb szempont szerint a találmány tárgyát képezik a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületeket, gyógyászatilag alkalmazható sóikat és in

vivo körülmények között hidrolizálható észtereiket gyógyászatilag alkalmazható hordozóanyagokkal, hígítószerekkel és/vagy egyéb segédanyagokkal egyesítve tartalmazó gyógyászati készítmények melegvérűeken (köztük embereken) PDH aktivitás-növeléshez való felhasználásra.

Egy további szempont szerint a találmány tárgyát képezik a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületeket, gyógyászatilag alkalmazható sóikat és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereiket gyógyászatilag alkalmazható hordozóanyagokkal, hígítószerekkel és/vagy egyéb segédanyagokkal egyesítve tartalmazó gyógyászati készítmények melegvérűeken (köztük embereken) diabetes mellitus kezeléséhez való felhasználásra.

Egy másik szempont szerint a találmány tárgyát képezik a fentiekben meghatározott (I) általános képletű vegyületeket, gyógyászatilag alkalmazható sóikat és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereiket gyógyászatilag alkalmazható hordozóanyagokkal, hígítószerekkel és/vagy egyéb segédanyagokkal egyesítve tartalmazó gyógyászati készítmények melegvérűeken (köztük embereken) diabetes mellitus, perifériás érbetegség és szívizom-iszkémia kezeléséhez való felhasználásra.

Egy újabb szempont szerint a találmány tárgya eljárás PDH aktivitás fokozására ilyen kezelést igénylő melegvérűeken (köztük embereken) oly módon, hogy a kezelendő melegvérűnek egy (I) általános képletű vegyületet, gyógyászatilag alkalmazható sóját vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észterét adjuk be hatásos mennyiségben.

Egy újabb szempont szerint a találmány tárgya eljárás diabetes mellitus kezelésére ilyen kezelést igénylő melegvérűeken (köztük embereken) oly módon, hogy a kezelendő melegvérűnek egy (I) általános képletű vegyületet, gyógyászatilag alkalmazható sóját vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észterét adjuk be hatásos mennyiségben.

Egy további szempont szerint a találmány tárgya eljárás diabetes mellitus, perifériás érbetegség és szívizom-iszkémia kezelésére ilyen kezelést igénylő melegvérűeken (köztük embereken) oly módon, hogy a kezelendő melegvérűnek egy (I) általános képletű vegyületet, gyógyászatilag alkalmazható sóját vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észterét adjuk be hatásos mennyiségben.

Miként már közöltük, az adott betegség vagy rendellenes állapot terápiás vagy profilaktikus kezeléséhez szükséges dózis mennyisége a kezelendő szervezettől, az adagolás módjától és a kezelendő betegség vagy rendellenesség súlyosságától függően változik. A hatóanyagokat előnyösen 1-50 mg/kg-os napi dózisban adhatjuk be. Figyelembe véve azonban, hogy a napi dózis mennyisége a kezelendő szervezettől, az adagolás módjától és a kezelendő betegség vagy rendellenesség súlyosságától függően változik, az optimális dózist a beteg kezelőorvosa határozza meg.

Miként már közöltük, a találmány szerinti vegyületek PDH aktivitást fokozó hatásuk révén hasznosíthatók. A találmány szerinti vegyületek például a következő betegségek vagy rendellenességek kezelésében alkalmazhatók: cukorbetegség, perifériás érrendszeri betegségek (köztük időszakos sántaság), szívkihagyások és egyes szívizom-bántalmak, szívizom-iszkémia, agyi iszkémia és reperfúzió, izomgyengeség, magas vérlipidszint, Alzheimer-kór és/vagy érelmeszesedés. Más megoldás szerint ezek a vegyületek például perifériás érrendszeri betegségek (köztük időszakos sántaság), szívkihagyások és egyes szívizom-bántalmak, szívizom-iszkémia, agyi iszkémia és reperfúzió, izomgyengeség, magas vérlipidszint, Alzheimer-kór és/vagy érelmeszesedés (elsősorban perifériás érrendszeri betegségek és szívizom-iszkémia) kezelésében hasznosíthatók.

Az (I) általános képletű vegyületek és gyógyászatilag alkalmazható sóik terápiás felhasználásukon kívül farmakológiai szerekként is alkalmazhatók a PDH aktivitást növelő hatás vizsgálatára alkalmas, in vitro körülmények között vagy laboratóriumi ál-

latokon (így macskákon, kutyákon, nyulakon, majmokon, egereken és patkányokon) végzendő vizsgálatok kifejlesztéséhez és standardizálásához.

A találmány további részleteit az oltalmi kör korlátozása nélkül a következő példákkal szemléltetjük. Ha a példákban mást nem közlünk,

(i) a műveleteket szobahőmérsékleten, azaz 18-25°C-on végeztük inert gáz (például argon) atmoszférában;

(ii) a szerves oldószereket vízmentes magnézium-szulfát fölött szárítottuk; az oldószerek lepárlását forgó bepárló készülékben, csökkentett nyomáson (600-4000 Pa; 4,5-30 Hgfm) végeztük 60°C-ot meg nem haladó fürdőhőmérsékleten;

(iii) a "kromatografálás" megjelölésen szilikagélén való gyorskromatografálást értünk; a vékonyrétegekromatografálást (TLC) szilikagél lemezeken végeztük; a kromatografálással kapcsolatban használt "Biotage patron" megjelölésen 60 Angströmös KP-SIL^(R) szilikagéllal (részeckeméret: 32-63 mm) töltött patronat értünk [gyártja: Biotage (a Dyax Corp. tagja), 1500 Avon Street Extended, Charlottesville, VA 22902, USA];

(iv) a reakciók lezajlását rendszerint vékonyrétegekromatografálással követtük, így a közölt reakcióidők csak tájékoztató jellegűek;

(v) a közölt hozam-adatok csak tájékoztató jellegűek, és nem jelentik szükségszerűen az elérhető maximumot; ahol több anyagra volt szükség, a példában leírt eljárást megismételtük;

(vi) az ¹H-NMR spektrumok esetén a kémiai eltolódásokat δ skálán adtuk meg, tetrametil-szilán (TMS) belső standardra vonatkoztatott ppm egységekben; a spektrumokat 300 MHz frekvencián vettük fel hexadeutero-dimetil-szulfoxidban (DMSO-d₆) (az ettől eltérő körülményeket külön feltüntettük);

(vii) a közölt oldószer-arányok térfogatarányok, illetve térfogat %-ok;

(viii) a tömegspektrumokat (MS) kémiai ionizációval (CI), 70 eV elektron-energiával vettük fel ionizációnak közvetlenül kitett mintán; ahol feltüntettük, az ionizációt

elektron-ütközéssel (EI), gyors atom-bombázással (FAB) vagy elektropermetezéssel (ESP) hoztuk létre; az m/z értékeknél rendszerint csak az alaptömegre jellemző ionok adatait adtuk meg; a közölt értékek a negatív ion $[(M-H)^-]$ tömegére vonatkoznak;

(ix) ahol a vegyület neve előtt a sztereokémiára utaló R- vagy S-jelölést tüntettünk fel, és egyebet nem közöltünk, a megadott jelölés az (I) általános képletben szereplő $.NH-C(O)-C^*(Me)(CF_3)(OH)$ aszimmetriacentrum konfigurációját jelöli.

A kiindulási anyag előállítása

A. példa

(R)-N-[2-Klór-4-(etilszulfonil)-3-(piperazin-1-il)-fenil]-2-hidroxi-2-metil-3,3,3-trifluor-propánamid előállítása

4,14 g, a WO 01/17956 sz. nemzetközi közzétételi irat 15. példájában ismertetett (R)-N-(4-etilszulfonil-3-fluor-2-klór-fenil)-2-hidroxi-2-metil-3,3,3-trifluor-propánamid 15 ml N-metil-2-pirrolidinonnal készített oldatához keverés közben 6,12 g 1-piperazin-karbonsav-terc-butil-észtert adtunk. A reakcióelegyet 24 órán át 150°C -on tartottuk, majd lehűlni hagytuk, és 300 ml telített vizes ammónium-klorid oldatot adtunk hozzá. Az elegyet háromszor 300 ml dietil-éterrel extraháltuk. A szerves extraktumokat egyesítettük, szárítottuk, és az illékony anyagokat lepároltuk. A maradékot 90 g szilikagéllel töltött Biotage patronon kromatografálva tisztítottuk, eluálószerként 70 % etil-acetátot tartalmazó izohexánt használtunk. A kapott terméket 12 ml trifluor-ecetsavban oldottuk, és az oldatot 30 percig szobahőmérsékleten kevertük. Az elegyet 200 ml etil-acetáttal hígítottuk, majd 300 ml 1 mólos vizes nátrium-hidroxid oldattal mostuk, szárítottuk, és az illékony anyagokat lepároltuk. Szilárd anyag formájában 3,52 g cím szerinti vegyületet kaptunk; $m/z = 442$.

NMR spektrum adatai: 1,12 (3H, t), 1,60 (3H, s), 2,74-2,86 (6H, m), 3,48-3,59 (4H, m), 7,89 (1H, d), 8,22 (1H, d).

1. példa

(R)-N-[2-Klór-4-etilszulfonil-3-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-2-hidroxi-2-metil-3,3,3-trifluor-propánamid előállítás

0,467 g, az A. példa szerint előállított (R)-N-[2-klór-4-etilszulfonil-3-(piperazin-1-il)-fenil]-2-hidroxi-2-metil-3,3,3-trifluor-propánamid 9 ml 1,2-diklór-etánnal készített oldatához keverés közben 0,77 g formaldehidet és 1,00 g nátrium-triacetoxi-bórhidridet adtunk. A reakcióelegyet 16 órán át szobahőmérsékleten kevertük, majd 20 ml 1 mólos vizes nátrium-hidroxid oldatot adtunk hozzá. A kapott elegyet háromszor 30 ml diklór-metánnal extraháltuk. A szerves extraktumokat egyesítettük, szárítottuk, és az illékony anyagokat lepároltuk. A maradékot etil-acetát és izohexán elegyből átkristályosítottuk. Szilárd anyag formájában 0,315 g cím szerinti vegyületet kaptunk. $m/z = 456$.

NMR spektrum adatai: 1,11 (3H, t), 1,60 (3H, s), 2,10-2,18 (2H, m), 2,21 (3H, s), 2,70-2,82 (4H, m), 3,53 (2H, q), 3,55-3,62 (2H, m), 7,91 (1H, d), 8,07 (1H, szs), 8,23 (1H, d), 9,94 (1H, szs).

2. példa

(R)-N-[2-Klór-4-etilszulfonil-3-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-2-hidroxi-2-metil-3,3,3-trifluor-propánamid előállítása más módszerrel

0,096 g, a WO 01/17956 sz. nemzetközi közzétételi irat 15. példájában ismertetett (R)-N-(4-etilszulfonil-3-fluor-2-klór-fenil)-2-hidroxi-2-metil-3,3,3-trifluor-propánamid 1 ml N-metil-2-pirrolidinonnal készített oldatához keverés közben 0,102 g 1-metil-piperazint adtunk. A reakcióelegyet 24 órán át 130°C-on tartottuk. Az elegyet lehűlni hagytuk, majd 100 ml telített vizes ammónium-klorid oldatot adtunk hozzá. A kapott elegyet háromszor 100 ml dietil-éterrel extraháltuk. A szerves extraktumokat egyesítettük, szárítottuk, és az illékony anyagokat lepároltuk. A maradékot 8 g szilikagéllal töltött Biotage patronon kromatografáltuk, eluálószerként 5 % metanolt tartalmazó di-

klór-metánt használtunk. Fehér szilárd anyag formájában 0,086 g cím szerinti vegyületet kaptunk; $m/z = 456$.

NMR spektrum adatai: 1,11 (3H, t), 1,60 (3H, s), 2,10-2,18 (2H, m), 2,21 (3H, s), 2,70-2,82 (4H, m), 3,53 (2H, q), 3,55-3,62 (2H, m), 7,91 (1H, d), 8,07 (1H, szs), 8,23 (1H, d), 9,94 (1H, szs).

3. példa

(R)-N-[2-Klór-4-etilszulfonil-3-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-2-hidroxi-2-metil-3,3,3-trifluor-propánamid előállítása

0,401 g, az A. példa szerint előállított (R)-N-[2-klór-4-etilszulfonil]-3-(piperazin-1-il)-fenil]-2-hidroxi-2-metil-3,3,3-trifluor-propánamid 10 ml diklór-metánnal készített szuszpenziójához keverés közben 0,091 g trietil-amint és 0,124 g metánszulfonil-kloridot adtunk. A reakcióelegyet 2 órán át szobahőmérsékleten kevertük, majd 20 ml tetilitett vizes ammónium-klorid oldatot adtunk hozzá. A kapott elegyet háromszor 30 ml diklór-metánnal extraháltuk. A szerves extraktumokat egyesítettük, szárítottuk, és az illékony anyagokat lepároltuk. A maradékot 8 g szilikagéllel töltött Biotage patronon kromatografálva tisztítottuk, eluálószerként 50-70 % etil-acetátot tartalmazó izohexánt használtunk. Szilárd anyag formájában 0,215 g cím szerinti vegyületet kaptunk; $m/z = 520$.

NMR spektrum adatai ($CDCl_3$): 1,26 (3H, t), 1,78 (3H, s), 2,86 (3H, s), 3,01-3,18 (4H, m), 3,39 (2H, q), 3,68 (1H, s), 3,75-3,87 (4H, m), 8,01 (1H, d), 8,57 (1H, d), 9,62 (1H, szs).

4. példa

(R)-N-[2-Klór-4-etilszulfonil-3-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-2-hidroxi-2-metil-3,3,3-trifluor-propánamid előállítása más módszerrel

0,213 g, a WO 01/17956 sz. nemzetközi közzétételi irat 15. példájában ismertett (R)-N-(4-etilszulfonil-3-fluor-2-klór-fenil)-2-hidroxi-2-metil-3,3,3-trifluor-propánamid 2 ml N-metil-2-pirrolidinonnal készített oldatához keverés közben 0,370 g 1-me-

tánszulfonil-piperazint adtunk. A reakcióelegyet 48 órán át 150°C-on tartottuk. Az elegyet lehűlni hagytuk, majd 100 ml telített vizes ammónium-klorid oldatot adtunk hozzá. A kapott elegyet háromszor 100 ml dietil-éterrel extraháltuk. A szerves extraktumokat egyesítettük, szárítottuk, és az illékony anyagokat lepároltuk. A maradékot 8 g szilikagéllel töltött Biotage patronon kromatografáltuk, eluálószerként 50-70 % etil-acetátot tartalmazó izohexánt használtunk. Fehér szilárd anyag formájában 0,67 g cím szerinti vegyületet kaptunk; $m/z = 520$.

NMR spektrum adatai (CDCl_3) 1,26 (3H, t), 1,78 (3H, s), 2,86 (3H, s), 3,01-3,18 (4H, m), 3,39 (2H, q), 3,68 (1H, s), 3,75-3,87 (4H, m), 8,01 (1H, d), 8,57 (1H, d), 9,62 (1H, szs).

Szabadalmi igénypontok

1. (I) általános képletű vegyületek - a képletben R metil- vagy mezilcsoportot jelent -, gyógyászatiilag alkalmazható sóik, és in vivo körülmények között hidrolizálható észterei.

2. Az 1. igénypont szerinti, R helyén metilcsoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyület, továbbá gyógyászatiilag alkalmazható sói és in vivo körülmények között hidrolizálható észterei.

3. Az 1. igénypont szerinti, R helyén mezilcsoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyület, továbbá gyógyászatiilag alkalmazható sói és in vivo körülmények között hidrolizálható észterei.

4. Eljárás az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek - a képletben R jelentése az 1-3. igénypontok szerinti -, továbbá gyógyászatiilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észterei előállítására, azzal *jellemezve*, hogy

(a) egy (II) általános képletű vegyület - a képletben R jelentése a fenti, és Pg alkohol-védőcsoportot jelent - védőcsoportját lehasítjuk; vagy

(b) egy (III) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti, és a értéke 0 vagy 1 - oxidálunk; vagy

(c) egy (IV) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti - egy (V) általános képletű savval - a képletben X hidroxilcsoportot jelent - kapcsolunk; vagy

(d) egy (VI) általános képletű anilin-származékot egy (V) általános képletű reakcióképes savszármazékkal kapcsolunk; vagy

(e) egy (VI) általános képletű vegyületet - a képletben L kilépő csoportot jelent - 4-metil-piperazinnal vagy 4-metil-piperazinnal reagáltatunk; vagy

(f) R helyén metilcsoportot hordozó (I) általános képletű vegyület előállítására a (VII) képletű vegyületet metilezzük; vagy

(g) R helyén mezilcsoportot hordozó (I) általános képletű vegyület előállítására a (VII) képletű vegyületet mezilezzük; vagy

(h) egy (VIII) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti - klórozunk; vagy

(i) egy (IX) általános képletű vegyület - a képletben R jelentése a fenti, Fg pedig funkciós csoportot jelent - Fg funkciós csoportját klóratommá alakítjuk/cseréljük; vagy

(j) egy (X) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti - egy alkalmas szerves fémvegyülettel adicionáltatunk; vagy

(k) egy (XI) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti - egy alkalmas szerves fémvegyülettel adicionáltatunk; vagy

(l) egy (XII) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti, és L kilépő csoportot jelent - egy (V) általános képletű vegyülettel - a képletben X NH₂ csoportot jelent - adicionáltatunk; vagy

(m) egy (XIV) általános képletű vegyületet - a képletben R jelentése a fenti - Smiles átrendeződésnek vetünk alá; vagy

(n) az (I) általános képletű vegyületek (R)/(S)-enantiomerjeinek elegyéből elkülönítjük az (R) enantiomert;

majd kívánt esetben gyógyászatilag alkalmazható sót vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észtert képezünk.

5. Gyógyászati készítmény, azzal *jellemezve*, hogy az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületet, gyógyászatilag alkalmazható sóját vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észterét tartalmazza, gyógyászatilag alkalmazható hordozóanyagokkal, hígítószerekkel és/vagy egyéb segédanyagokkal együtt.

6. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, továbbá gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereiik gyógyszerként való felhasználásra.

7. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, továbbá gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereiik felhasználásra melegvérűeken, köztük embereken PDH-aktivitást növelő hatást kifejtő gyógyszerkészítmények gyártásához.

8. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületek, továbbá gyógyászatilag alkalmazható sóik és in vivo körülmények között hidrolizálható észtereiik felhasználásra melegvérűeken, köztük embereken diabetes mellitus kezelésére használható gyógyszerkészítmények gyártásához.

9. Eljárás PDH-aktivitás növelésére ilyen kezelést igénylő melegvérűeken, azzal *jellemezve*, hogy a kezelendő melegvérűnek az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületet vagy azok gyógyászatilag alkalmazható sóit vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észtereit adjuk be hatásos mennyiségben.

10. Eljárás diabetes mellitus kezelésére ilyen kezelést igénylő melegvérűeken, köztük embereken, azzal *jellemezve*, hogy a kezelendő melegvérűnek az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületet vagy azok gyógyászatilag alkalmazható sóit vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észtereit adjuk be hatásos mennyiségben.

11. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületet, gyógyászatilag alkalmazható sóját vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észterét gyógyászatilag alkalmazható hígítószerrel, hordozóanyaggal és/vagy egyéb segédanyagokkal egyesítve tartalmazó gyógyászati készítmény melegvérűeken, köztük embereken PDH-aktivitást növelésére való felhasználásra.

12. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti (I) általános képletű vegyületet, gyógyászatilag alkalmazható sóját vagy in vivo körülmények között hidrolizálható észterét gyógyászatilag alkalmazható hígítószerrel, hordozóanyaggal és/vagy egyéb segédanyagokkal egyesítve tartalmazó gyógyászati készítmény melegvérűeken, köztük embereken diabetes mellitus kezelésére való felhasználásra.

A bejelentő helyett

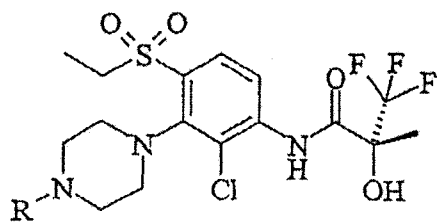
a meghatalmazott:

Dr. Jeleczné György
Ügyvéd
1093 Budapest, Kőraktár u. 24.
Tel.: 218-4148 Fax: 218-4506

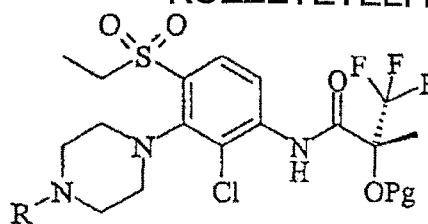
5 oldal rajzzal

2004. 09. 27.

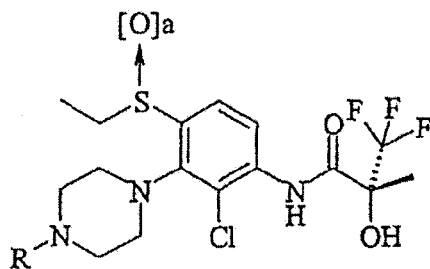
PK



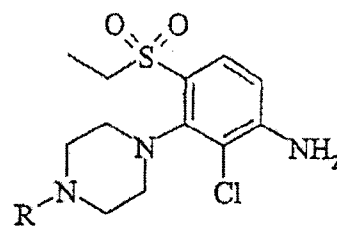
I.



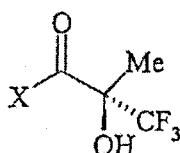
II.



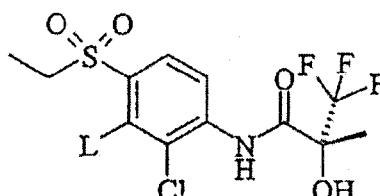
III.



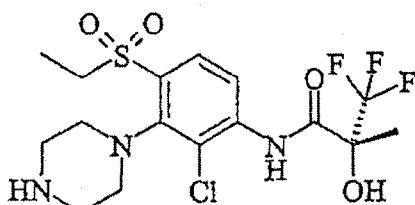
IV.



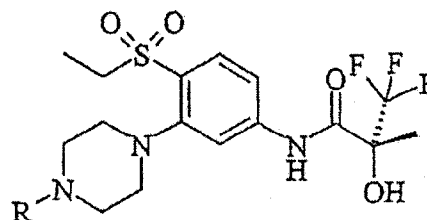
V.



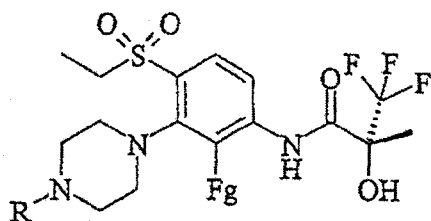
VI.



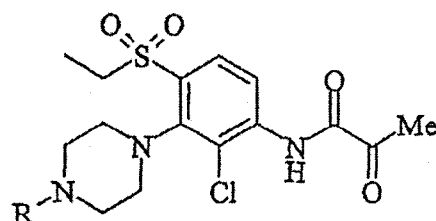
VII.



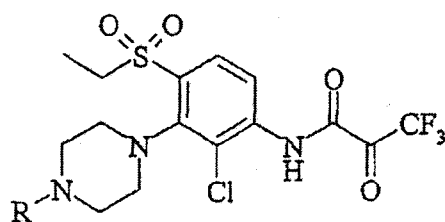
VIII.



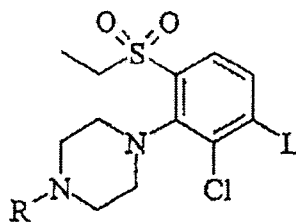
IX.



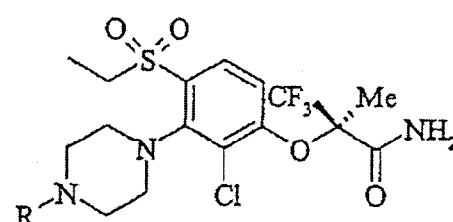
X.



XI.



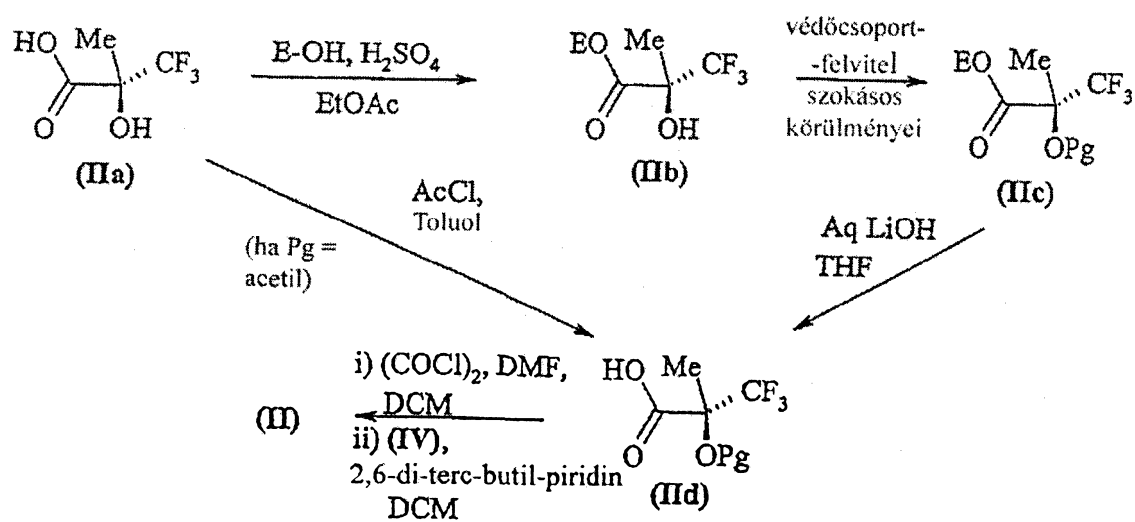
XII.



XIV.

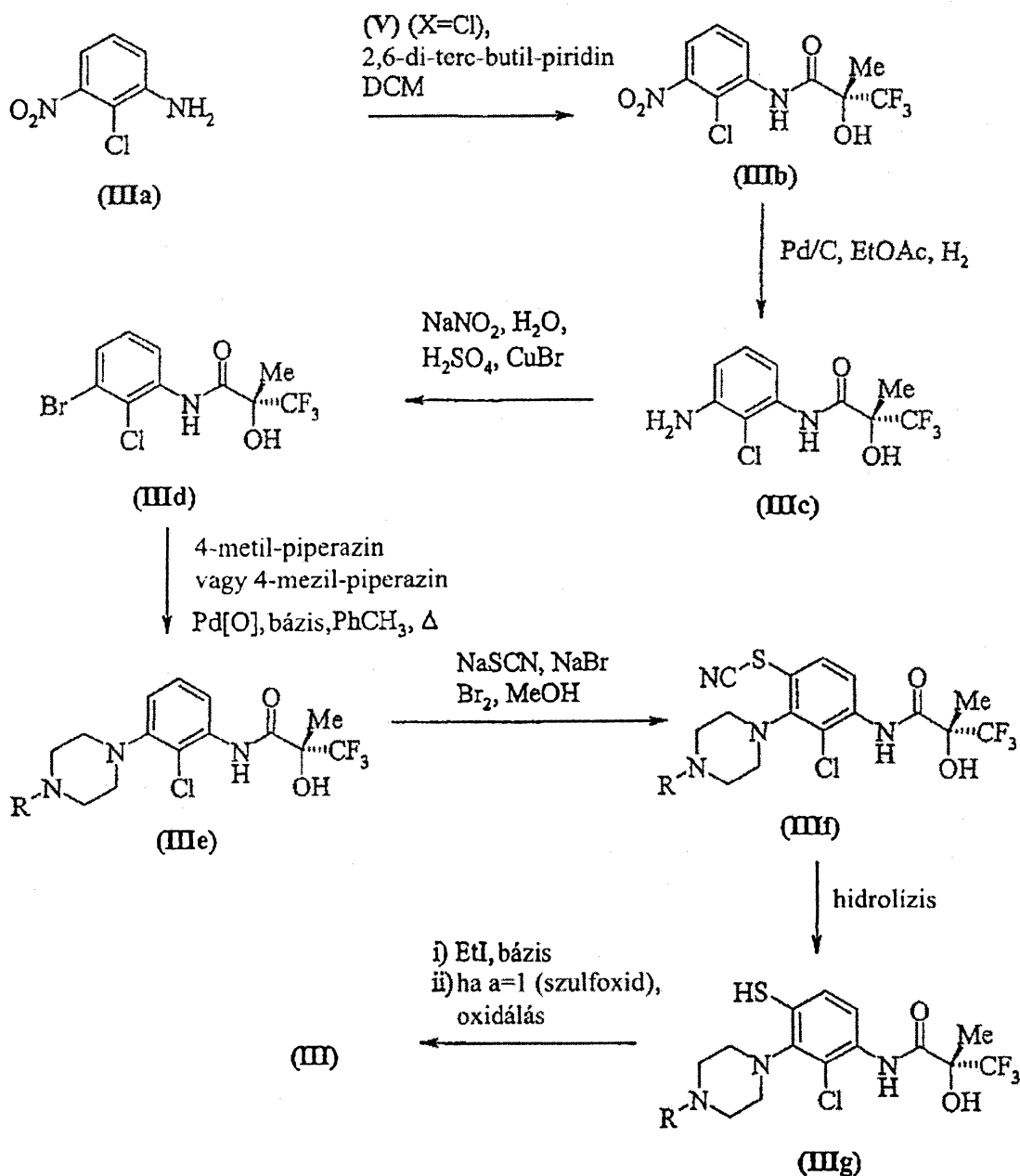
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

1. reakcióvázlat



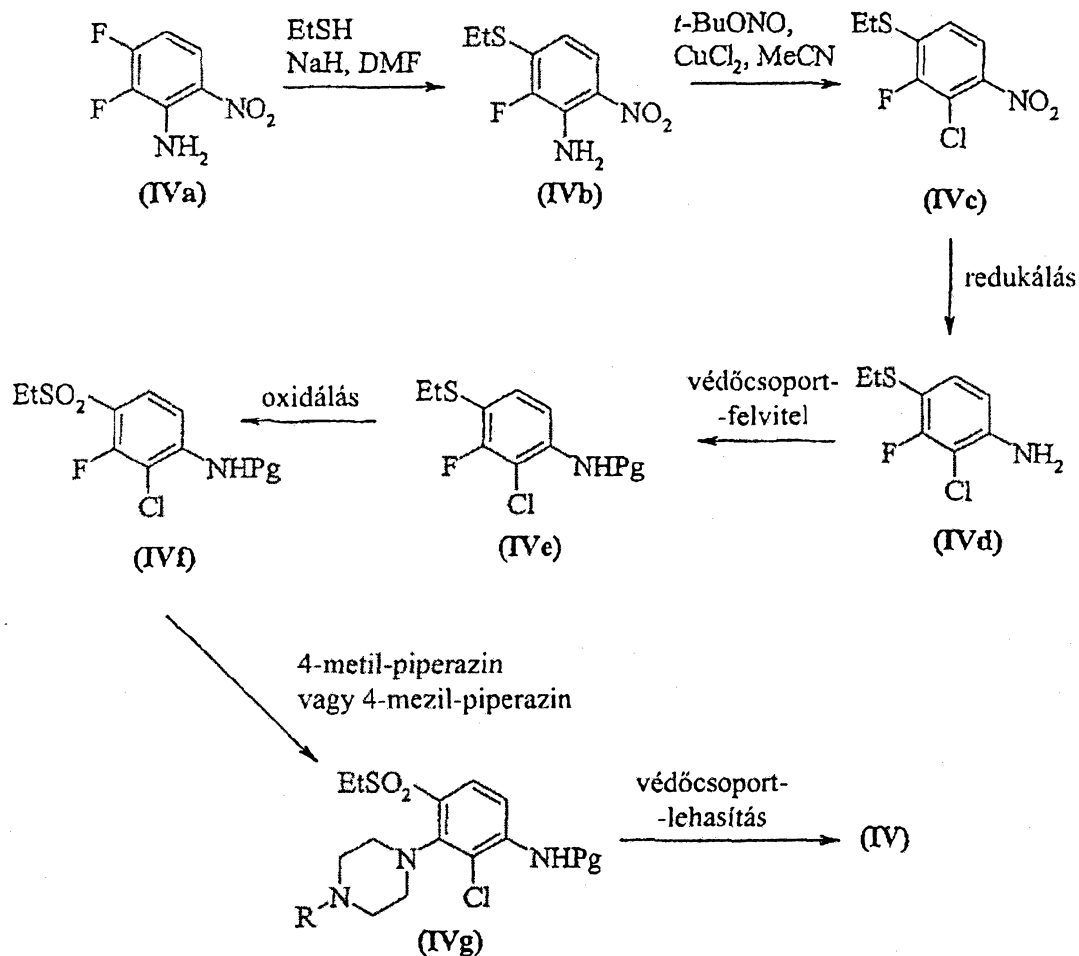
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

2. reakcióvázlat

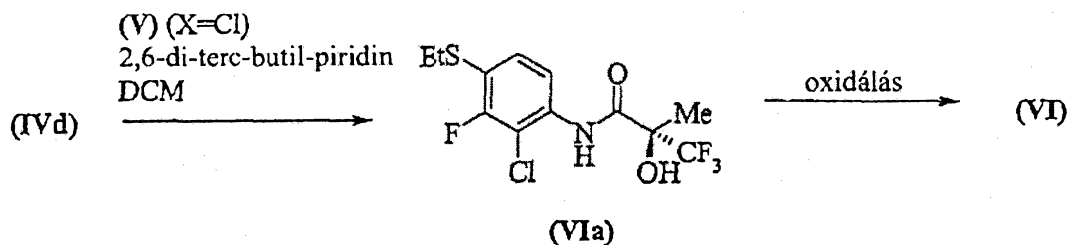


KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

3. reakcióvázlat

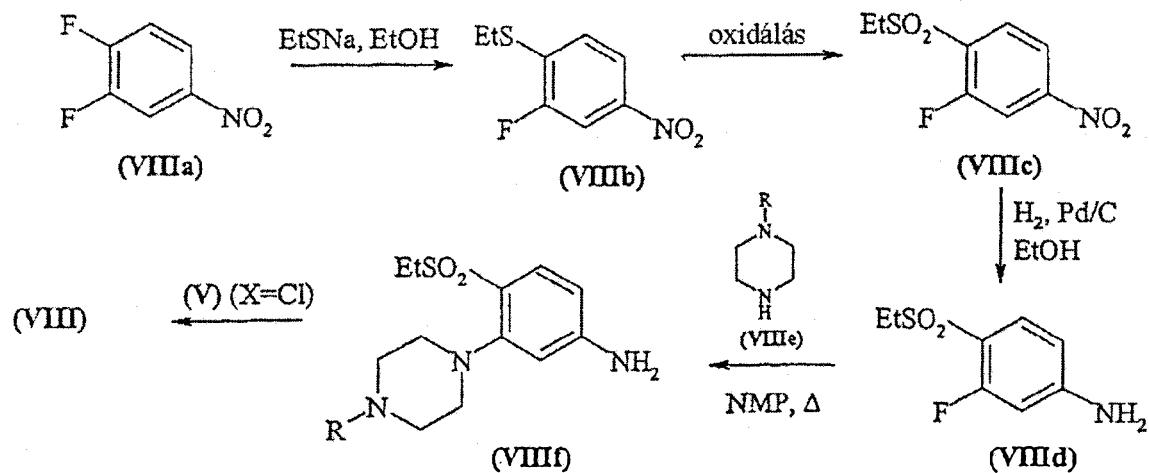


4. reakcióvázlat



KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

5. reakcióvázlat



6. reakcióvázlat

