(12) **PATENT**

(19) NO (11) **335748** (13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.
C07D 333/38 (2006.01)
C07D 221/04 (2006.01)
C07D 237/26 (2006.01)
C07D 239/70 (2006.01)
C07D 307/68 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
C07D 491/04 (2006.01)
C07D 495/04 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20052908	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2003.12.17 PCT/EP2003/14433
(22)	Inng.dag	2005.06.15	(85)	Videreføringsdag	2005.06.15
(24)	Løpedag	2003.12.17	(30)	Prioritet	2002.12.23, DE, 10260800
(41)	Alm.tilgj	2005.09.12			
(45)	Meddelt	2015.02.02			

(73) Innehaver 4SC AG, Am Klopferspitz 19A, DE-82152 PLANEGG-MARTINSRIED, Tyskland
(72) Oppfinner Johann Leban, Kirchenstrasse 25, DE-82110 GERMERING, Tyskland
Stefan Tasler, Rosenstrasse 4, DE-82205 GILCHING, Tyskland
(74) Fullmektig Håmsø Patentbyrå ANS, Postboks 171, 4302 SANDNES, Norge

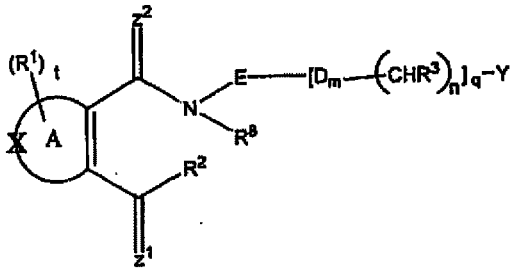
(54) Benevnelse **Aromatiske forbindelser som antiinflammatoriske, immunmodulatoriske og antiproliferatoriske midler**

(56) Anførte publikasjoner

WO 02100851 A
TRNOVEC T ET AL: "Pharmacokinetics of ethimizol in man" DIE PHARMAZIE, vol. 40, no. 6, June 1985 (1985-06), pages 410-411, XP002275746
WO 9857937 A
DE 3933573 A
EP 0418667 A
EP 0419944 A
EP 0463444 A
EP 0337263 A
EP 0503410 A
KÜSTER W ET AL: "Über die Bildung von Pyrrol-Derivaten aus Aminen von beta-Diketonsäure-estern" BERICHTE DER DEUTSCHEN CHEMISCHEN GESELLSCHAFT, vol. 57, no. 3, 12 March 1924 (1924-03-12), pages 409-413
YASUDA N: "Synthesis of novel imidazole-4,5-dicarboxylic acid derivatives" JOURNAL OF HETEROCYCLIC CHEMISTRY, vol. 22, 1985, pages 413-416
CARPENTER A J ET AL: "The scope and limitations of carboxamide-induced beta-directed metalation of 2-substituted furan, thiophene, and 1-methylpyrrole derivatives. Application of the method to syntheses of 2,3-disubstituted thiophenes and furans" JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 50, no. 22, 1 November 1985 (1985-11-01), pages 4362-4368
WO 0121160 A
NO 20040100 A
WO 03006424 A
WO 0124785 A2
WO 9945926 A

(57) Sammendrag

Den foreliggende oppfinnelse vedrører forbindelser av den generelle formel (II) og salter og fysiologisk funksjonelle derivater derav, til anvendelse som en medisin.



AROMATISKE FORBINDELSER SOM ANTI-INFLAMMATORISKE, IMMUNMODULATORISKE OG ANTI-PROLIFERATORISKE MIDLER

Den foreliggende oppfinnelse vedrører nyskapende forbindelser som kan benyttes som antiinflammatoriske, immunomodulatoriske og anti-proliferatoriske midler. Nærmere bestemt viser oppfinnelsen til nye forbindelser som inhiberer dihydroorotatdehydrogenase (DHODH), en fremgangsmåte for fremstillingen av dem, farmasøytiske preparater som inneholder dem samt deres anvendelse til behandling og forebyggelse av sykdommer, særskilt deres anvendelse overfor sykdommer hvor det er fordelaktig å inhibere dihydroorotatdehydrogenase (DHODH).

Revmatoid artritt (RA) eller leddgikt er en sykdom som er ganske vanlig, spesielt blant eldre mennesker. Dens behandling med eksempelvis ikke-steroide antiinflammatoriske midler er ikke tilfredsstillende. Tatt i betraktning befolkningens økende alder, særskilt i de utviklede vestlige landene eller i Japan, er utviklingen av nye medikamenter til behandling av RA påtrengende nødvendig.

WO 99/38846 og EP 0 646 578 beskriver forbindelser som meldes å være egnet til behandling av RA.

Et medikament mot reumatisk artritt med en ny virkningsmekanisme, leflunomid, ble nylig lansert på markedet av selskapet Aventis under varebetegnelsen ARAVA [EP 780128, WO 97/34600]. Leflunomid har immunomodulatoriske såvel som antiinflammatoriske egenskaper [EP 217206, DE 2524929]. Virkningsmekanismen er basert på inhiberingen av dihydroorotatdehydrogenase (DHODH), et enzym fra pyrimidinbiosyntesen.

I kroppen katalyserer DHODH syntesen av pyrimidiner, som er nødvendige for cellevekst. En inhibering av DHODH inhiberer veksten av (patologiske) hurtig formerende celler, mens celler som vokser med normal hastighet kan oppnå sine påkrevde pyrimidinbaser fra den normale metaboliske syklus. De viktigste celletyper for immunresponsen, lymfocyttene, benytter utelukkende syntesen av pyrimidiner til sin vekst og

reagerer spesielt følsomt overfor DHODH-inhibering. Stoffer som inhiberer fremveksten av lymfocytter, er viktige medikamenter for behandlingen av autoimmunsykdommer.

Det DHODH-inhiberende leflunomid (ARAVA) er det første medikament i denne klasse av forbindelser (leflunomider) til behandling av leddgikt. WO 99/45926 er en ytterligere referanse som beskriver forbindelser som fungerer som inhibitorer for DHODH.

I EP 463444, WO 98/57937, EP 150034, Nucleosides & Nucleotides 1997, 16 (10 & 11), 2025-2033; Egyptian Jornal of Pharmaceutical Sciences 1991, 32 (1-2), 331-339, Journal für Praktische Chemie 1991, 33 (4), 619-624, Archiuves of Pharmacal Research 1990, 13 (4), 338-341, Sulfur Letters 1988, 7 (4), 127-136, Synthesis 1988, 6 449-452, Sulfur Letters 1987, 7 (19), 19-24, Archiv der Pharmazie 1987, 320 (12), 1281-1283, Natl. Def. Med. Cent. 1983, 35 (1), 57-54 og Sch. Pharm. Sci. 1977, 97 (4), 410-415 beskrives et antall femleddede aromatiske ringsystemer som sammensmeltet med substituert maleinsyreimid.

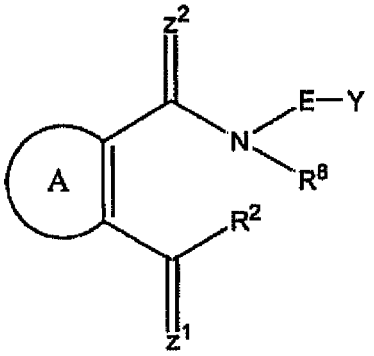
DE3933573A1 beskriver en fremgangsmåte for fremstilling av karboksylsyreamid og dens anvendelse som herbicid.

"The Scope and Limitations of Carboxamide-Induced ß-Directed Metalation of 2-Substituted Furan, Thiphene, and 1-Methylpyrrole Derivatives, Application of the Method to Syntheses of 2,3-Disubstituted Thiophenes and Furans", Andrew J. Carpenter and Derek J. Chadwick, J. Org. Chem., 1985, 50, s. 4362-4368 beskriver effekten på litifisering av *N,N*-dietyltiofen-2-karboksamid- og av *N-tert*-butyl-2-karboksamidderivater av furan, tiofen og 1-metylpyrol.

For den foreliggende oppfinnelse er det et mål å frembringe alternative virksomme midler som kan benyttes til behandling av sykdommer som krever inhibering av DHODH.

Dermed ble det funnet en nyskapende klasse forbindelser med en inhibitorisk virkning på DHODH, særskilt på human DHODH.

Den foreliggende oppfinnelsen er rettet mot en forbindelser med den generelle formel (II) og salter derav,



kjennetegnet ved at

A er tiofen eller furan;

Z^1 og Z^2 er O;

E er valgfritt med en eller flere substituenter R' substituert fenyl;

Y er valgfritt med en eller flere substituenter R' substituert fenyl, eller

R' er Br, F, CL, CF_3, OCF_3, etoksy eller metoksy;

R^2 er OH; og

R^8 er hydrogen eller C_1-C_6-alkyl.

Oppfinnelsen angår også et farmasøytisk preparat som beskrevet i krav 2.

I den grad termen "fysiologisk funksjonelt derivat" er anvendt, viser den til forbindelser som i seg selv ikke er farmasøytisk aktive i seg selv, men som blir omdannet til deres farmasøytisk aktive form in vivo, det vil si i det subjekt til hvilket forbindelsen administreres. Eksempler på fysiologisk funksjonelle derivater er prodrugs i likhet med de som er beskrevet i det følgende i den foreliggende søknad.

I et annet aspekt frembringer den foreliggende oppfinnelse også et farmasøytisk preparat kjennetegnet ved at det omfatter en forbindelse som beskrevet i krav 2 i fri form eller i form av et farmasøytisk akseptabelt salt, og et farmasøytisk akseptabelt fortynningsmiddel eller en farmasøytisk akseptabel bærer.

Oppfinnelsen er også rettet mot anvendelsen av en forbindelsen som beskrevet i krav 2 i fremstillingen av et medikament til anvendelse i behandling av en sykdom eller en terapeutisk indikasjon valgt fra gruppen som består av revmatisme, akutte immunologiske forstyrrelser, autoimmune sykdommer, sykdommer forårsaket av ondartet celleprofilerasjon, inflammatoriske sykdommer, sykdommer som er forårsaket av protozoplager hos mennesker og dyr, sykdommer som er forårsaket av virale infeksjoner og *Pneumocystis carinii*, fibrose, uveitt, rhinitt, astma og atropati.

Dessuten frembringer den foreliggende oppfinnelse fremgangsmåter til fremstilling av forbindelsene i krav 1, hvor 5-leddet heteroaromatisk 2,3-dikarboksylsyre-monoamidderivater kan oppnås ved reaksjon av et 2-fenylderivat og et heteroaromatisk 2'-karbonylklorid i nærvær av trietylamin under en inert atmosfære ved svakt forhøyede temperaturer, etterfulgt av behandling av det resulterende amidet med butyllitium ved -78 °C og etterfølgende tilsetting av fast karbondioksid etterfulgt av oppvarming til romtemperatur, eller 5-leddet heteroaromatisk 3,4-dikarboksylsyre-monoamidderivater kan oppnås ved reaksjon av en tiofen-3,4-dikarboksylsyre eller furan-3,4-dikarboskylsyre med flytende eddiksyreanhydrid ved forhøyet temperatur, isolering av det ønskede anhydridet, og etterfølgende tilførsel av bifenylaminderivat og reaksjon ved lett forhøyede temperaturer.

Forbindelsene av formel (II) kan oppnås via ulike fremgangsmåter. I foretrukne utførelsesformer av oppfinnelsen blir den følgende fremgangsmåte benyttet til syntesen av derivater av formel (II).

Fremgangsmåte 1:

Syntesen av dikarboksylsyredimetylester er beskrevet i WO 02/07655.

Dikarboksylsyredimetylester kan være substituert på ringsystemet som beskrevet av T. Harrison et.al., Tetrahedron Vol. 45, Nr. 16, 1989, s. 5247-5262. Denne dikarboksylsyredimetylester kan deretter konverteres til det tilsvarende syreanhydrid.

Disse anhydrider kan deretter omsettes med de tilsvarende aminer til de ønskede amider av formel (II). Disse reaksjonstrinn er analoge til de reaksjonstrinn som er beskrevet WO 02/07655.

Forbindelsene av formel (II) kan i hvert tilfelle [r=0] syntetiseres analogt til de fire fremgangsmåter som er beskrevet i WO 02/07655.

Dessuten frembringer den foreliggende oppfinnelse fremgangsmåter til fremstilling av de ønskede hydroksaminsyrer av formel (II).

En fremgangsmåte til syntese av forbindelser av formel (II) omfatter omdannelse av en syre til det tilsvarende syreklorid og omsetning av syrekloridet med hydroksylamin (Watanabe et al., 1989, J. Org. Chem., 54, 17, s. 4088-4097; Shishido et al., 1992, J. Org. Chem., 57, 10, 2876-2883).

Andre fremgangsmåter for fremstillingen av formel (II) er beskrevet av Woo et al., 2002, J. Med. Chem. 45, s. 2877-2885; Knorr et al., 1989, Tetrahedron Lett., 30, s.

1927-1930, Carpino, 1993, J. Am. Chem. Soc., 115, s. 4397-4398 og Alberico et al., 1998, J. Org. Chem., 63, s. 9678-9683.

En annen fremgangsmåte til fremstilling av forbindelser av formel (II) er omsetning av den tilsvarende ester med hydroksylamin som beskrevet av Stowell et al., 1995, J. Med. Chem., 38, 8, s. 1411-1413.

Syntesen av amider av formel (II) er beskrevet av J. Zabicky i "The Chemistry of Amides", i serien av S. Patai (ed.), "the Chemistry of Functional Groups", John Wiley & Sons, 1975, s. 74-131. Metoder til fremstilling av tioamider er beskrevet i Houben-Weyl, J. Falbe (ed.), G. Thieme Verlag,, vol. E5, s. 1219-59. Fremgangsmåter til fremstilling av sulfamider er beskrevet Caldwell et al., J. Am. Chem. Soc. 1944, 66, s. 1479-82 eller av Flynn et al., Med Chem. Res., 1998, 8, s. 219-43 og Dziadulewicz et. Al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001, 11, 5, s. 705-710.

Dessuten frembringer den foreliggende oppfinnelse fremgangsmåter til fremstilling av forbindelser av formel (II) hvori A er et heterosyklisk ringsystem. Eksempelvis ble 3,4-dikarboksylsyrer av tiofen eller furan omdannet til de tilsvarende anhydrider og omsatt med aminer analogt til DE 3933573 og D.P. Arnold, Aust. J. Chem. 44, 1991, s. 323-330.

3-karboksamid-2-karboksylsyrer eller 2-karboksamid-3-karboksylsyrer av tiofen eller furan ble syntetisert fra henholdsvis 3-karboksylsyrer eller 2-karboksylsyrer, ved amidering av syregruppen og påfølgende rettet orto-metallering i henholdsvis 2- eller 3-posisjon, fulgt av tilsats av karbondioksid som elektrofil ifølge DE 3933573.

Ulike 4,5-substituerte 2,3-pyrroldikarboksylsyreestere og -syrer ble fremstilt ifølge litteraturprosedyrer:

a) 1-hydroksy-4,5-dimetyl, fra dialkylacetylendikarboksylater og butan-2,3-dion-monooksimer, I. Yavari et al., Synth. Commun. 26, 1996, s. 4495-4499,

b) 3-hydroksy-4-alkyl eller –aryl: fra dialkylacetylendikarboksylater og aminosyreestere, P. Kolar et al., Synth. Commun. 24, 1994, s. 1887-1893,

c) blandet 4,5-alkyl/aryl: fra dialkylacetylendikarboksylater og aryl- eller benzylhydrasoner, J. Barluenga et al., Synthesis, 1975, s. 642-643,

d) 4-metyl: fra N-acetonylftalimid og dietyloksalacetat, R. E. Lancaster et al., J. Org. Chem. 23, 1958, s. 1208-1209.

Pyrroldiesteren kan omdannes til de tilsvarende syrer og anhydrider for videre amideringsreaksjoner eller omdannes direkte til de tilsvarende monohydrasinkarbonyler

(M.T. Garcia-Lopez et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans., 1978, s. 483-487). Dietyl 2-alkyl-, aryl- eller aminotiazol-4,5-karboksylater ble syntetisert fra dietyl-α-halo-β-oksosukkinat og de respektive tioamider eller tiourea analogt med W. K. Anderson et al., Med. Chem. 27, s. 1559-1565, E. H. Huntress et al., J. Am. Chem. Soc. 65, 1943, s. 2167-2169, L. H. Conover et al., J. Am. Chem Soc. 72, 1950, s. 5221-5225, M. Robba et al., Bull, Soc. Chim., Fr., 1969, s. 1762-1768.

Alle diestere ble omdannet til monoamider som beskrevet i det foregående. Blandinger av regioisomerer som resulterte fra amideringsreaksjonen, måtte separeres.

Aromatiske systemer som inneholder et svovelatom innen den aromatiske ramme kan omdannes til de tilsvarende S-monooksider eller –dioksider ved oksidering av de førnevnte heterosykler med metaklorbenzosyre, enten med eller uten tilsetning av trifluorborateterat (N. Furukawa et al., Heterocycles 44, 1997, s. 61-66).

Det beskrives også fremgangsmåter til fremstilling av forbindelser av formel (II) hvori R^2 sammen med det nitrogenatom som er festet til R^8, danner et seksleddet heterosyklisk ringsystem.

Eksempelvis ble dietyl-3-acetyl-2-metylfuran-4,5-dikarboksylat fremstilt fra acetylerte sulfonmetylider og dietyl-acetylendikarboksylat ifølge Tetrahedron 26, 1970, s. 4353-4360. Diesteren ble omdannet til det tilsvarende anhydrid, hvilket deretter ble omsatt med et amin som beskrevet i det foregående, for å gi en blanding av regioisomerer til monoamideringsproduktet. Ved forestring av karboksylsyren ved anvendelse av disykloheksylkarboimid, 4-dimetylaminopyrredin og etanol i metylenklorid, ble de to regioisomerer separert, og α-brominering av acetylfunksjonaliteten i etyl-3-acetyl-2-metyl-4-karboksamid-furan-5-karboksylatet ble oppnådd enten med brom i metylenklorid eller kopperdibromid i etylacetat analogt med litteraturprosedyrer: S. Laufer et al., Arch. Pharm. 330, 1997, s. 307-312; S.K.C. Devi et al., Synth. Commun. 32, 2002, s. 1523-1528.

Endelig ringlukning ble oppnådd ved anvendelse av natriumhydrid i tetrahydrofuran, og esterne ble saponifisert under nøytrale betingelser ved anvendelse av fenyltiolkaliumfluorid i 1-metyl-2-pyrrolidinon (M.K. Navak et al., Chem. Lett., 1998, s. 297-298).

Forbindelser med formel (II) som skal benyttes ifølge oppfinnelsen, kan danne salter med uorganiske eller organiske syrer eller baser. Eksempler på slike salter er, eksempelvis, alkalimetallsalter, nærmere bestemt natrium- og kaliumsalter, eller ammoniumsalter.

Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelse kan benyttes til et utvalg av menneskers og dyrs sykdommer, fortrinnsvis menneskers sykdommer, hvor inhibering av pyrimidinmetabolismen er fordelaktig. Slike sykdommer er:

- fibrose, uveitt, rhinitt, astma eller atrofi, nærmere bestemt artrose.
- alle former for revmatisme,
- akutte immunologiske hemmelser og forstyrrelser, slik som sepsis, septisk sjokk,
- endotoksiske sjokk, gram-negativ sepsis, toksisk sjokksyndrom, akutt respiratorisk stressyndrom, slag, reperfusjonsskade, CNS-skade, alvorlige former for allergi, transplantat versus vert- og vert versus transplantatreaksjoner, Alzheimers eller pyrese, restenose,
- kronisk pulmonær inflammatorisk sykdom, silikose, pulmonær sarkose,
- benresorpsjonssykdom. Disse immunologiske hendelser inkluderer også en ønsket modulering og undertrykkelse av immunsystemet;
- alle typer autoimmunsykdommer, nærmere bestemt revmatoid artritt, revmatoid spondylitt, osteoartritt, gikt, multippel sklerose, insulinavhengig diabetes mellitus og insulinuavhengig diabetes, og lupus erytemaoiditt, ulcerøs kolitt, Morbus Crohn, inflammatorisk innvollssykdom, så vel som andre kroniske inflammasjoner, kronisk diaré;
- dermatologiske forstyrrelser slik som psoriasis
- progressiv retinal atrofi
- alle typer infeksjoner inklusive opportunistiske infeksjoner.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen og medisiner som fremstilles derved, er generelt nyttige til behandling av celleproliferasjonsforstyrrelser, til behandling eller profylakse, immunologiske sykdommer og tilstander (som eksempelvis inflammatoriske sykdommer, nevroimmunologiske sykdommer, autoimmune sykdommer eller andre).

Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelse er også nyttige til utviklingen av immunmodulatoriske og antiinflammatoriske medisiner eller, mer generelt, til behandling av sykdommer hvor inhibering av pyrimidinbiosyntesen er fordelaktig.

Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelser er også nyttige til behandling av sykdommer som forårsakes av ondartet celleproliferasjon, slik som alle former for hematologisk og fast kreft. Derfor er forbindelsene ifølge oppfinnelsen og medikamenter som fremstilles derved generelt nyttige for å regulere celleaktivering, celleproliferasjon, celleoverlevelse, celledifferensiering, cellesyklus, cellemodning og celledød eller for å indusere systemiske endringer i metabolisme slik som endringer i sukker-.

lipid- eller proteinmetabolisme. De kan også benyttes for å støtte cellegenerasjonspoiese, inklusive blodcellevekst og -generering (prohematopoetisk virkning) etter utmatting eller ødeleggelse av celler, som forårsaket av, eksempelvis toksiske midler, stråling, immunterapi, vekstdefekter, feilernæring, feilabsorpsjon, immundysregulering, anemi og lignende eller for å frembringe en terapeutisk styring av vevsgenerering og -degradering, og terapeutisk modifikasjon av celle- og vevs-vedlikehold og blodcellehomeostase.

Disse sykdommer og tilstander inkluderer, men er ikke begrenset til kreft som hematologiske (eksempelvis leukemi, lymfom, myelom) eller faste svulster (eksempelvis bryst-, prostata-, lever-, blære-, lunge-, spiserørs-, magekreft, kolorektal, genitourinær og gastrointestinal kreft, hudkreft, pankreatisk kreft, hjerne-, livmor-, tykktarm-, hode-, nakke- og eggstokkreft, melanom og astrocytom kreft, småcellet lungekreft, gliom-, basal- og skvamøs cellekarcinomkreft, sarkomaer som Kaposi's sarkom og osteosarkom), behandling av forstyrrelser som involverer T-celler, slik som aplastisk anemi og DiGeorge syndrom, Graves sykdom.

Leflunomid ble tidligere funnet å inhibere HCMF-replikasjon i cellekultur. Okulær herpes er den mest vanlige årsak til infeksiøs blindhet i den utviklede verden. Det er ca. 50 000 tilfeller pr. år i USA alene, hvorav 90% er nyforekomster av innledningsvise infeksjoner. Nye forekomster blir behandlet med antiviraler og kortikosteroider. Cytomegalovirus, nok et herpesvirus, er en vanlig årsak til retinal skade og blindhet i pasienter med aids. Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelse kan benyttes alene eller i kombinasjon med andre antivirale forbindelser slik som Ganciklovid og Foscarnet for å behandle slike sykdommer.

Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelse kan videre benyttes overfor sykdommer som forårsakes av protozo-infestasjoner i mennesker og dyr. Slike veterinære og humane patogene protozoer er fortrinnsvis intracellulære aktive parasitter av rekken Apicomplexa eller Sarcomastigophora, særskilt Trypanosoma, Plasmodia, Leishmania, Babesia og Theileria, Cryptosporidia, Sacrocystida, Amoebia, Coccidia og Trichomonadia. Disse aktive substanser eller tilsvarende virkestoffer er særskilt egnet til behandling av Malaria tropica, som forårsaket av *Plasmodium Falciparum*, malaria tertiana, som forårsaket av *Plasmodium vivax* eller *Plasmodium ovale*, og til behandling av malaria quartana, som forårsaket av *Plasmodium malariae*. De er også egnet til behandling av Toksoplasmose, forårsaket av *Toxoplasma gondii*, Coccidiose, forårsaket av eksempelvis *Isospora belli*, intestinal Sarcosporidiose, forårsaket av *Sarcocystis suihominis*, dysenteri forårsaket av *Entamoeba histolytica*, Kryptosporidiose, forårsa-

ket av *Cryptosporidium parvum*, Charga's sykdom, forårsaket av *Tryptanosoma cruzi*, sovesyke, forårsaket av *Tryptanosoma brucet rhodesiense* eller *gambiense*, den kutane og viskerale så vel som andre former av Leishmaniose. De er også egnet til behandling av dyr som er infisert med veterinære, patogene protozoer, i likhet med *Theileria parva*, det patogen som forårsaker storfes Østkystfeber, *Trypanosoma congolense congolence* eller *Trypanosoma vivax vivax, Trypanosoma brucei brucei* som forårsaker Nagana kvegsykdom i Afrika, *Trypanosoma brucei evansi* som forårsaker Surra, *Babesia bigemina*, det patogen som forårsaker Texas-feber i kveg og bøfler, *Babesia bovis*, det patogen som forårsaker europeisk storfes Babesiose så vel som Babesiose i hunder, katter og får, *Sarcocystis ovicanis*- og *ovifelis*-patogener som forårsaker Sarkosystiose i får, kveg og svin, Kryptosporidia, patogener som forårsaker Kryptosporidiose i kveg og fugler, Eimeria- og Isospora-arter, patogener som forårsaker koksidiose i kaniner, storfe, sau, geiter, svin og fugler, særskilt i kyllinger og kalkuner. Anvendelsen av forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelse foretrekkes særskilt til behandling av koksidiose- eller malariainfeksjoner, eller til fremstilling av et medikament eller fôrstoff til behandling av disse sykdommer.

Denne behandling kan være profylaktisk eller kurativ. I behandlingen av malaria, kan forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelse kombineres med andre antimalariamidler.

Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelse kan dessuten benyttes mot virusinfeksjoner eller andre infeksjoner som forårsaket av eksempelvis *Pneumocystis carinii.*

Forbindelsene av formel (II) og deres farmakologisk akseptable salter kan administreres til dyr, fortrinnsvis til pattedyr og særskilt til mennesker, hunder og kyllinger som terapeutika i seg selv, som blandinger med hverandre eller i form av farmasøytiske prepareringer som tillater enteral eller parenteral anvendelse og hvilken som aktiv bestanddel inneholder en virksom dose av i det minste én forbindelse av formel (II), eller et salt derav, i tillegg til vanlige farmasøytiske ufarlige eksipienter og additiver. Forbindelsene av formel (II) kan også administreres i form av deres salter, som kan oppnås ved å omsette de respektive forbindelser med fysiologisk akseptable syrer og baser.

Terapeutikaene kan administreres oralt, eksempelvis i form av piller, tabletter, belagte tabletter, sukkerbelagte tabletter, harde og myke gelatinkapsler, løsninger, siruper, emulsjoner eller suspensjoner eller som aerosolblandinger. Administrering kan imidlertid også utføres rektalt, eksempelvis i form av suppositorier, eller parenteralt, eksem-

pelvis i form av injeksjoner eller infusjoner, eller perkutant, eksempelvis i form av salver, kremer eller tinkturer.

I tillegg til de aktive forbindelser av formel (II), kan det farmasøytiske preparat inneholde ytterligere sedvanlige, vanligvis inerte bærermaterialer eller eksipienter. Således kan de farmasøytiske prepareringer også inneholde additiver, slik som eksempelvis fyllstoffer, ekstendere, disintegranter, bindemidler, glidemidler, fuktemidler, stabilisatorer, emulgatorer, konserveringsmidler, søtningsmidler, fargestoffer, smaksstoffer eller aromastoffer, buffersubstanser, og videre løsningsmidler eller solubiliseringsmidler eller midler til oppnåelse av en depoteffekt, så vel som salter for å endre det osmotiske trykk, belegningsmidler eller antioksidanter. De kan også inneholde to eller flere forbindelser av formel (II) eller deres farmakologisk akseptable salter og dessuten andre terapeutisk aktive substanser.

Således kan forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse benyttes i form av én substans alene eller i kombinasjon med andre aktive forbindelser – eksempelvis sammen med medisiner som allerede er kjent for behandling av de førnevnte sykdommer, hvorved det i sistnevnte tilfelle bemerkes en gunstig additiv, forsterkende virkning. Egnede mengder som skal administreres til mennesker spenner fra 5 til 500 mg.

For å fremstille de farmasøytiske prepareringer, kan farmasøytisk inerte uorganiske eller organiske eksipienter benyttes. For å fremstille piller, tabletter, belagte tabletter og harde gelatinkapsler, kan eksempelvis laktose, maisstivelse eller derivater derav, stearinsyre eller dennes salter etc., benyttes. Eksipienter for myke gelatinkapsler og suppositorier er, eksempelvis, fettstoffer, vokser, halvfaste og flytende polyoler, naturlige eller herdede oljer etc. Egnede eksipienter for fremstilling av løsninger og siruper er, eksempelvis, vann, sukrose, invertsukker, glukose, polyoler etc. Egnede eksipienter til produksjon av injeksjonsløsninger er, eksempelvis, vann, alkoholer, glyserol, polyoler eller vegetabilske oljer.

Dosen kan variere innenfor vide grenser og bør også tilpasses til de individuelle tilstander i hvert individuelt tilfelle. Til de ovennevnte anvendelser vil den egnede dosering variere avhengig av administreringsmodus, den særskilte tilstand som skal behandles og den ønskede virkning. Generelt oppnås imidlertid tilfredsstillende resultater ved doseområder på ca. 1 til 100 mg/kg dyrs kroppsvekt, fortrinnsvis 1 til 50 mg/kg. Egnede doseringsforhold for større pattedyr, eksempelvis mennesker, er av størrelsesorden fra ca. 10 mg til 3g/dag, bekvemt administrert en gang i oppdelte doser 2 til 4 ganger om dagen, eller i form for vedholdende frigjøring.

Generelt er en daglig dose på ca. 10 mg til 5 000 mg, fortrinnsvis 50 til 500 mg, pr. menneskelig individ egnet i tilfellet av den orale administrering som er den foretrukne administreringsform ifølge oppfinnelsen. Også i tilfellet med andre administreringsformer er den daglige dose innen lignende spennvidder.

Forbindelsene ifølge formel (II) kan også benyttes i form av en forløper (provirkestoff) eller en egnet modifisert form som frigjør den aktive forbindelse *in vivo*. Slike forløpere slik som de foretrukne utførelsesformer av R^6 eller R^1, kan tilveiebringes eksempelvis ved å maskere den frie syregruppe med en estergruppe, som deretter i sin tur omdannes til en fri syregruppe *in vivo*. [F. W. Sum et al., Bioorg. & Med. Chem. Lett. 9 (1999), s. 1921-1926; Ada Rephaeli et. al., Drug Development Research 50 (2000) s. 379-391; H. Ishikawa, Current Med. Chem. 6 (1999), s. 575-597).

Eksempler

Fremgangsmåte A: Generell fremgangsmåte for syntese av 5-leddet heteroaromatisk 2,3-dikarboksylsyremonoamid-derivat.

Bifenylderivatet ble oppløst under inert atmosfære i tørr diklormetan. Trietylamin (1,2 ekvivalenter) ble tilsatt i en porsjon. Nypreparert tiofen-3-karbonylklorid (1.2 ekvivalenter) eller furan-d-karbonylklorid (1.2 ekvivalenter) eller det respektive heteroaromatiske 2`-karbonylklorid som oppløst i diklormetan ble tilsatt dråpevis. Etter tilsetning ble blandingen oppvarmet ved 45°C i fire timer. Løsningsmiddelet ble fjernet ved vakuum. Amidet ble oppløst i tetrahydrofuran og avkjølt til –78°C. Butyllitium (2 ekvivalenter) ble tilsatt i løpet av 15 minutter og blandingen ble omrørt ved -78 °C i 30 minutter. Fast karbondioksid ble tilsatt i en porsjon og blandingen ble tillatt å varmes opp til romtemperatur innen 4 timer. Reaksjonen ble kvalt med 2 n HCl, ekstrahert 3 ganger med etylacetat, de kombinerte organiske lag ble vasket med natriumbikarbonat og saltvann, tørket over $MgSO_4$ og filtrert. Løsningsmiddelet ble fjernet ved vakuum. Materialet ble renset ved HPLC (ved anvendelse av en gradient vann/acetonitril) for å gi det rene produkt.

Fremgangsmåte C: Generell fremgangsmåte for de 5-leddete heteroaromatiske 3,4-karboksylsyremonoamid-derivater

Tiofen-3,4-dikarboksylsyre eller furan-3,4-dikarboksylsyre ble suspendert i eddiksyreanhydrid og oppvarmet ved 100 °C. Reaksjonsløsningen ble avkjølt til romtemperatur. Løsningsmiddelet ble fjernet ved vakuum. Det ble tørket i 6 timer for å gi anhydridet i kvantitativt utbytte. Det resulterende anhydrid ble oppløst i diklormetan (0.36 mmol/ml). Til denne løsning av bifenylamin (1 ekvivalent) ble derivat tilsatt og reaksjons-

blandingen ble oppvarmet ved 45 °C i 12 timer. Løsningsmiddelet ble fjernet ved vakuum. Produktet ble renset ved HPLC. Utbyttene er mellom 30 og 70%.

Eksempel 1:

3-(bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, ^{1}H-NMR: δ=1.25(m_c, 9H, CH_3), 3.17 (m_c, 6H, CH_2), 7.12- 7.83 (m, 9H, CH_{Ar}) 7.26 (m_c, 1H, CH), 7.62 (m_c, 1H, CH), 14.88 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 324 $[M+H]^+$

Eksempel 2:

3-(2`-Etoksy-3,5-difluor-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, ^{1}H-NMR: δ=1.22 (m_c, 12H, CH_3) 3.12 (m_c, 6H, CH_2), 3.99 (m_c, 2H CH_2), 6.87-7.30 (m. 6 H, CH_{Ar}), 7.27 (m_c, 1H, CH), 14.47 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 404 $[M+H]^+$

Eksempel 3:

3-(3`-Etoksy-3,5-difluor-bifenyl-4-ulkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, ^{1}H-NMR: δ=1.21 (m_c, 9 H, CH_3) 1.27 (m_c, 3 H, CH_3) 3.11 (m_c, 6 H, CH_2), 4,03 (m_c, 2 H, CH_2), 6.81- 7.25 (m, 6H, CH_{Ar}), 7.26 (m_c, 1 H, CH), 7.57 (m_c, 1 H, CH), 14.44 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 404 $[M+H]^+$

Eksempel 4:

3-(3,5-Difluor-2`,4`-dimetoksy-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, ^{1}H-NMR: δ=1.21 (m_c, 9 H, CH_3), 3.09 (m_c, 6 H, CH_2), 3.73 (s,3 H, CH_3), 6.48- 7.24 (m, 5 H, CH_{Ar}), 7.26 (m_c, 1 H, CH), 7.57 (m_c, 1 H, CH), 14.44 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 420 $[M+H]^+$

Eksempel 5:

3-(2,3,5,6-Tetrafluor-2`-metoksy-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, ^{1}H-NMR: δ=1.23 (m_c, 9 H, CH_3), 3.14 (m_c, 6H, CH_2), 3.72 (s, 3 H CH_3), 6.94- 7.42 (m, H, CH_{Ar}), 7.31 (m_c, 1 H, CH), 7.59 (m_c, 1 H, CH), 14.67 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 426 $[M+H]^+$

Eksempel 6:

3-(2`-klor-3,5-difluor-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, ^{1}H-NMR: δ=1.21 (m_c, 9 H, CH_3), 3.08 (m_c, 6H, CH_2), 6.99- 7.54 (m, 6 H, CH_{Ar}), 7.28 (m_c, 1 H, CH), 7.59 (m_c, 1 H, CH), 14.67 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 394 $[M+H]^+$

Eksempel 7:

3-(3,5,2`-trifluor-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, ^{1}H-NMR: δ=1.22 (m_c, 9 H, CH_3), 3.11 (m_c, 6H, CH_2), 7.01- 7.54 (m, 6 H, CH_{Ar}), 7.27 (m_c, 1 H, CH), 7.58 (m_c, 1 H, CH), 14.74 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 378 $[M+H]^+$

Eksempel 8:

3-(2-klor-2`-metoksy-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, ^{1}H-NMR: δ=1.26 (m_c, 9 H, CH_3), 3.17 (m_c, 6H, CH_2), 6.82- 8.01 (m, 7 H, CH_{Ar}), 7.26 (m_c, 1 H, CH), 7.61 (m_c, 1 H, CH), 15.1 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 388 $[M+H]^+$

Eksempel 9:

3-(2,3,5,6-tetrafluor-3`-trifluormetoksy-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, LC/(+)-ESI-MS: m/z = 480 $[M+H]^+$

Eksempel 10:

3-(3-fluor-3`metoksy-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, ^{1}H-NMR: δ=3.75 (s,3 H, CH_3), 6.79- 7.47 ((m, 6 H, CH_{Ar}), 7.77 (m_c, 2 H, CH), 8.20 (m_c, 1 H, CH_{Ar}), 11.10 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 372 $[M+H]^+$

Eksempel 11:

3-(3-difluor-3`-trifluormetoksy-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, ^{1}H-NMR: δ=1.22 (m_c, 9 H, CH_3), 3.13 (m_c, 6H, CH_2), 7.22-7.68 (m, 6 H, CH_{Ar}), 7.27 (m_c, 1 H, CH), 7.57 ((m_c, 1 H, CH), 14.67 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 444 $[M+H]^+$

Eksempel 12:

3-(bifenyl-4-ylkarbamoyl)-furan-2-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, LC/(+)-ESI-MS: m/z = 308 $[M+H]^+$

Eksempel 13:

4-(bifenyl-4-ylkarbamoyl)tiofen-3-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte C, ^{1}H-NMR: δ=7.24- 8.0 (m, 9 H, CH_{Ar}), 8.47 (m_c, 2 H, CH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 324 $[M+H]^+$

Eksempel 14:

4-(2-klor-2`-metoksy-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-3-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte C , ^{1}H-NMR: δ=3.76 (s, 3 H, CH_3), 6.97- 8.14 (m, 7H, CH_{Ar}), 8.40-8.55 (m, 2 H, CH), 11.92 (s, 1 H, NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 388 $[M+H]^+$

Eksempel 15:

4-(3,5,2`-trifluor-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-3-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte C, ^{1}H-NMR: δ=7.23- 7.69 (m, 6 H, CH_{Ar}), 8.56 (m_c, 2 H, CH), 11.54 (s, 1 H, 1 NH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 378 $[M+H]^+$

Eksempel 16:

4-(3`-etoksy-3,5-difluor-bifenyl-4-ylkarbamoyl)tiofen-3-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte C, , ^{1}H-NMR: δ=1.40 (m_c, 3 H, CH_3), 4.17 (m_c, 2H, CH_2), 6.94- 7.50 (m, 6 H, CH_{Ar}), 8.58 (m_c, 2 H, CH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 404 $[M+H]^+$

Eksempel 17:

4-(2`-etoksy-3,5-difluor-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-3-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte C, ^{1}H-NMR: δ=1.37 (m_c, 3 H, CH_3), 4.14 (m_c, 2H, CH_2), 7.01- 7.47 (m, 6 H, CH_{Ar}), 8.58 (m_c, 2 H, CH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 404 $[M+H]^+$

Eksempel 18:

4-(3,5-difluor-3`-trifluormetoksy-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-3-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte C, ^{1}H-NMR: δ=7.37- 8.4 (m, 6 H, CH_{Ar}), 8.58 (m_c, 2H, CH). LC/(+)-ESI-MS: m/z = 444 $[M+H]^+$

Eksempel 19:

4-(3-fluor-3`-metoksy-bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-3-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte C, LC/(+)-ESI-MS: m/z = 372 $[M+H]^+$

Eksempel 20:

4-(bifenyl-4-ylkarbamoyl)-furan-3-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte C, LC/(+)-ESI-MS: m/z = 308 $[M+H]^+$

Eksempel 21:

2-(bifenyl-4-ylkarbamoyl)-tiofen-3-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, LC/(+)-ESI-MS: m/z = 324 $[M+H]^+$

Eksempel 22:

2-(bifenyl-4-ylkarbamoyl)-furan-3-karboksylsyre syntetisert ved fremgangsmåte A, LC/(+)-ESI-MS: m/z = 308 $[M+H]^+$

3. Inhiberingsanalyse av DHODH-aktivitet

Den normerte analyseblanding inneholdt 50 μM desyklo-ubikinon, 100 μM dihydroorotat, 60 μM 2,6-diklorindofenol, så vel som 20 mU DHODH, Volumaktiviteten av det anvendte rekombinante enzym var 30 U/ml. Målingene ble utført i 50 mM TrisHCl (150 Mm KCl, 0,1% triton X-100, pH 8,0) ved 30 °C i et sluttvolum på 1 ml. Komponentene ble blandet sammen, og reaksjonen ble startet ved å tilsette dihydroorotat. Reaksjonsforløpet ble fulgt ved spektrofotometrisk måling av minskingen i absorpsjon ved 600 nm i 2 minutter.

Inhibitoriske studier ble gjennomført i en normert analyse med ytterligere variable mengder av inhibitor. For bestemmelsen av IC_{50}-verdiene (konsentrasjon av inhibitor som påkrevd for 50% inhibering) ble minst fem ulike inhibitorkonsentrasjoner benyttet.

Disse undersøkelser ble utført med rekombinant humant så vel som rekombinant murint DHODH som frembrakt av professor M. Löffler, Marburg, Tyskland [M. Löffler, Chem. Biol. Interact. 124, (2000), s. 61-76].

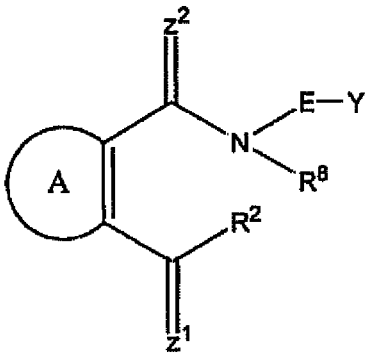
Som en referanse ble den aktive metabolitt av leflunomid A77-1726 benyttet [J. Jöckel et. al., BiochemicalPharmacology 56 (1998), s. 1053-1060].

Eksemplene 1,2,3,4,5,6,7,8, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 13, 12, 22, 20 viste en inhibering av det humane DHODH <1μl.

Eksemplene 9, 21 viste en inhibering av det humane DHODH på mellom 1 og 5 μl

P A T E N T K R A V

1. Forbindelser med den generelle formel (II) og salter derav,



k a r a k t e r i s e r t v e d at

A er tiofen eller furan;

Z^1 og Z^2 er O;

E er valgfritt med en eller flere substituenter R' substituert fenyl;

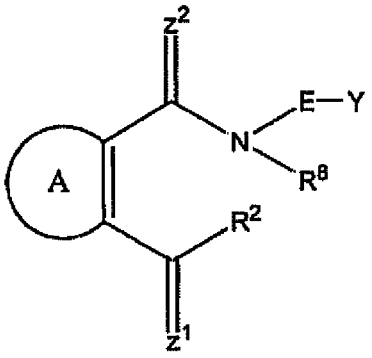
Y er valgfritt med en eller flere substituenter R' substituert fenyl, eller

R' er Br, F, Cl, CF_3, OCF_3, etoksy eller metoksy;

R^2 er OH; og

R^8 er hydrogen eller C_1-C_6-alkyl.

2. Forbindelser med den generelle formel (II) og salter derav til anvendelse som et medikament,



k a r a k t e r i s e r t v e d at

A er tiofen eller furan;

Z^1 og Z^2 er O;

E er valgfritt med en eller flere substituenter R' substituert fenyl;

Y er valgfritt med en eller flere substituenter R' substituert fenyl, eller

R' er Br, F, Cl, CF_3, OCF_3, etoksy eller metoksy;

R^2 er OH; og

R^8 er hydrogen eller C_1-C_6-alkyl.

3. Farmasøytisk preparat, k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter en forbindelse som definert i krav 2 i fri form eller i form av et farmasøytisk akseptabelt salt, og et farmasøytisk akseptabelt fortynningsmiddel eller en farmasøytisk akseptabel bærer.

4. Anvendelsen av forbindelsen som definert i krav 2 i fremstillingen av et medikament til anvendelse i behandling av en sykdom eller en terapeutisk indikasjon valgt fra gruppen som består av revmatisme, akutte immunologiske forstyrrelser, autoimmune sykdommer, sykdommer forårsaket av ondartet celleprofilerasjon, inflammatoriske sykdommer, sykdommer som er forårsaket av protozoplager hos mennesker og dyr, sykdommer som er forårsaket av virale infeksjoner og *Pneumocystis carinii*, fibrose, uveitt, rhinitt, astma og atropati.

5. Fremgangsmåte til fremstilling av en forbindelse som definert i krav 1, hvor 5-leddet heteroaromatisk 2,3-dikarboksylsyre-monoamidderivater kan oppnås ved reaksjon av et 2-fenylderivat og et heteroaromatisk 2'-karbonylklorid i nærvær av trietylamin under en inert atmosfære ved svakt forhøyede temperaturer, etterfulgt av behandling av det resulterende amidet med butyllitium ved -78 °C og etterfølgende tilsetting av fast karbondioksid etterfulgt av oppvarming til romtemperatur, eller
5-leddet heteroaromatisk 3,4-dikarboksylsyre-monoamidderivater kan oppnås ved reaksjon av en tiofen-3,4-dikarboksylsyre eller furan-3,4-dikarboskylsyre med flytende eddiksyreanhydrid ved forhøyet temperatur, isolering av det ønskede anhydridet, og etterfølgende tilførsel av bifenylaminderivat og reaksjon ved lett forhøyede temperaturer.