



NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **309769**

(13) B1

(51) Int Cl⁷ C 07 D 417/12, A 61 K 31/41

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19972391	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	1995.11.30, PCT/US95/15564
(22) Inng. dag	1997.05.26	(85) Videreføringsdag	1997.05.26
(24) Løpedag	1995.11.30	(30) Prioritet	1994.12.02, US, 348440
(41) Alm. tilgj.	1997.05.26		
(45) Meddelt dato	2001.03.26		
(71) Patenthaver	Sanofi Pharmaceuticals Inc, 90 Park Avenue, New York, NY 10016, US		
(72) Oppfinner	Rangit Desai, Kendall Park, NJ, US Dennis John Hlasta, Doylestown, PA, US		
(74) Fullmektig	Bryns Zacco AS, 0106 Oslo		

(54) **Benevnelse** **2-substituerte 1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksider, farmasøytisk preparat inneholdende disse forbindelsene, og anvendelse derav**

(56) **Anførte publikasjoner** **Ingen**

(57) **Sammendrag** **2-substituerte 1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksider, farmasøytiske preparater inneholdende slike og metoder for behandling av degenerative sykdommer under anvendelse av forbindelsene.**

Foreliggende oppfinnelse vedrører 2-substituerte 1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksider, farmasøytiske preparater inneholdende slike og anvendelse derav i behandlingen av degenerative sykdommer.

- 5 Inhiberingen av proteolytiske enzymer med ikke-toksiske reagenser er nyttig i behandlingen av degenerative sykdommer, slik som emfysem, reumatoid artritt og pankreatitt, hvor proteolyse er et vesentlig element.

Proteaseinhibitorer er utbredt benyttet innen biomedisinsk forskning. Serinproteaser er den mest utbredte klassen av proteolytiske enzymer. Noen serinproteaser er kjennetegnet som kymotrypsinlignende eller elastaselignende basert på deres substratspesifisitet.

Kymotrypsin og kymotrypsinlignende enzymer spalter normalt peptidbindinger i proteiner ved et sete hvor aminosyreresten på karboksylsiden typisk er Trp, Tyr, Phe, Met, Leu eller en annen aminosyrerest som inneholder aromatiske eller store alkylsidekjeder.

Elastase og elastaselignende enzymer spalter normalt peptidbindinger ved et sete hvor aminosyreresten på karboksylsiden av bindingen typisk er Ala, Val, Ser, Leu eller andre lignende, mindre aminosyrer.

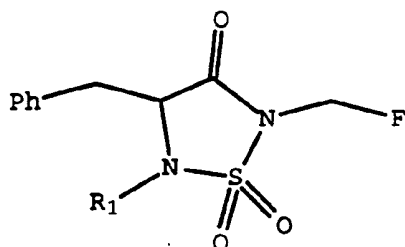
Både kymotrypsinlignende og elastaselignende enzymer finnes i leukocytter, mastceller og bukspytt i høyere organismer, og utskilles av mange typer av bakterier, gjær og parasitter.

25 Cha, *Biochem. Pharmacol.*, 1975, 24, 2177-2185, omtaler kinetiske metoder for å studere bindingen av inhibitorer til makromolekyler, slik som enzymer, og metoder for bestemmelse av slike parametere som inhiberingskonstanter, reaksjonshastigheter og konsentrasjoner av bundet og ubundet enzym.

30 Groutas et al., *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1994, 198 (1), 341-349, beskriver forbindelser av formelen:

35

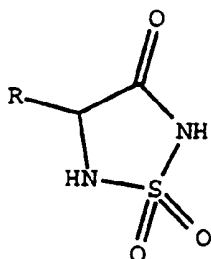
2



5 hvor R_1 er H, metyl, benzyl, $\text{CH}_2\text{COOt-Bu}$ eller CH_2COOBzl og deres in vitro-inhiberende aktivitet overfor humanleukocytelastase.

10

Muller og DuBois, J. Org. Chem. 1989, 54, 4471-4473, beskriver forbindelser av formelen:

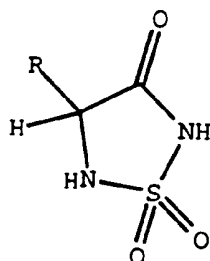


15

20 hvor R er H, CH_3 , benzyl eller $(\text{CH}_2)_2\text{SCH}_3$. Forbindelsene ble testet med henblikk på søtsemakaktivitet og ble funnet ikke å være søte eller å ha søthetsvirkningsgrader på mindre enn 10 ganger sukrose.

25

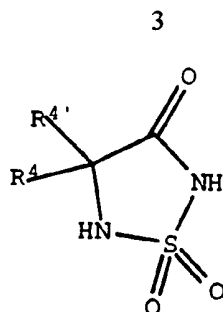
Lee et al., J. Org. Chem. 1989, 54, 3077-3083, beskriver syntesen av forbindelser av formelen:



30

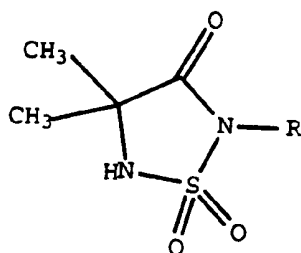
35 hvor R er fenetyl, fenyl eller 1-naftyl. Det er ikke beskrevet noen nyttevirkning for disse forbindelsene.

Lee og Kohn, Journal of Pharmaceutical Sciences 1990, 79 (8), 716-718, beskriver forbindelser av formelen:



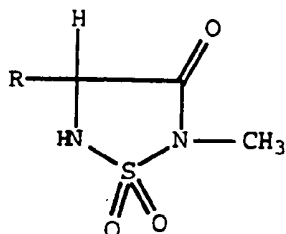
hvor R^4 er fenetyl, fenyl eller 1-naftyl og $R^{4'}$ er hydrogen, eller R^4 og $R^{4'}$ begge er fenyl. Forbindelsene ble testet for antikonvulserende aktivitet og det ble funnet at tre av de fire
10 forbindelsene manglet antikonvulserende aktivitet.

Hanewacker et al., Arch. Pharm. 1993, 326, 497-498, beskriver syntesen av forbindelser av formelen:



20 hvor R er $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, cyklopropylmetyl, CH_2Ph , $(\text{CH}_2)_2\text{Ph}$, 2-furanylmetyl, 1-naftylmetyl, eller 3-indolyletyl.

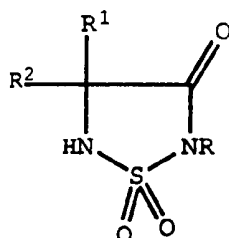
Unterhalt og Hanewacker, Arch. Pharm. 1988, 321, 375-376, beskriver syntesen av
25 forbindelser av formelen:



hvor R er hydrogen, metyl, isopropyl, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ eller benzyl uten noen indikasjon på nyttevirking.

35 Unterhalt og Hanewacker, Arch. Pharm. 1988, 321, 749-751, beskriver syntesen av forbindelser av formelen:

4



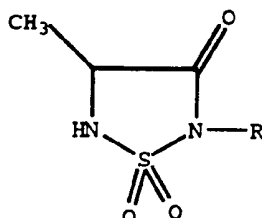
5

hvor $R=CH_3$, $R^1=H$ og $R^2=3$ -indolylmetyl; $R=CH_3$, $R^1=H$ og $R^2=fenyl$; $R=C_2H_5$,
 $R^1=H$, og $R^2=fenyl$; $R=isopropyl$, $R^1=H$, og $R^2=fenyl$; $R=metyl$, $R^1=CH_3O(O)CCH_2$,
 10 og $R^2=H$; $R=CH_3$, $R^1=HO(O)CCH_2$ og $R^2=H$; $R=CH_3$, $R^1=C_2H_5$ og $R^2=fenyl$;
 $R=R^1=R^2=CH_3$; og $R=C_2H_5$, $R^1=R^2=CH_3$.

Aouf et al., Tetrahedron Letters 1991, 32 (45), 6545-6546, beskriver syntesen av 4-
 fenylmetyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid.

15

Dewynter et al., Tetrahedron 1993, 49 (1), 65-76, beskriver syntesen av forbindelser av
 formelen:



20

hvor R er CH_2Ph eller $CH_2CH(CH_3)(C_2H_5)$.

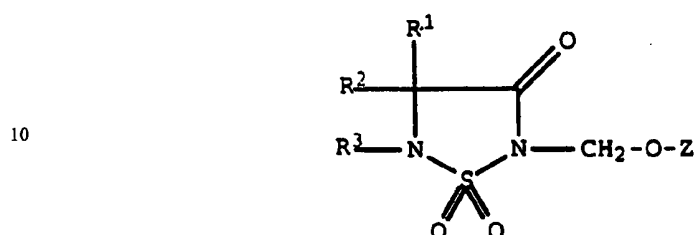
25

Dunlap et al., US-patent 5.236.917, gitt 17. august 1993, beskriver en serie 2-
 substituerte sakkariinderivater, slik som 4-(1-metyletyl)-2-[(3-okso-1,2,5-tiadiazolidin-2-
 yl)metyl]-1,2-benzisotiazol-3(2H)-on S,S,1,1-tetraoksid, 2-(1-metyl-1H-tetrazol-5-yl-
 tiometyl)sakkarin, og forskjellige substituerte 2-halogenmetylsakkarinderivater, som
 30 angis å være nyttige i behandlingen av degenerative sykdommer.

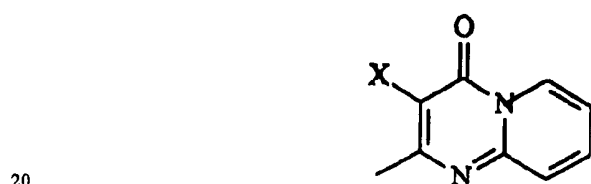
Strasser et al., DE-patentsøknad 4141218, publisert 17. juni 1993, beskriver en serie
 tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksidderivater som mellomprodukter i syntesen av forskjellige
 1,1-diokso-[1,2,6] tiadiazinkarboksamider som angis å være potensielt nyttige som
 35 analgetika, antipyretika og inflammasjonsinhibitorer.

Hlasta et al., EP-patentsøknad 547708, publisert 23. juni 1993, beskriver forskjellige 2-substituerte sakkarinderivater som angis å være nyttige i behandlingen av degenerative sykdommer.

- 5 Ifølge foreliggende oppfinnelse er det tilveiebragt nye forbindelser som er kjennetegnet ved at de har formelen:



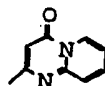
- 15 hvor R¹ er hydrogen eller C₁-C₆ alkyl; R² er hydrogen eller C₁-C₆ alkyl eller fenyllaverealkyl; R³ er C₁-C₆ alkyl; og -Z er en gruppe av formelen:



hvor X er hydrogen; eller et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt derav; eller, når det er aktuelt, en enantiomer eller en racemisk blanding derav.

- 25 Foretrukne forbindelser er slike hvor R¹ er hydrogen eller C₁-C₆ alkyl; og R² er hydrogen eller C₁-C₆ alkyl. Andre foretrukne forbindelser er slike hvor R¹ er hydrogen eller 3-metylbutyl; R² er hydrogen eller 3-metylbutyl; og R³ er metyl.

- 30 En foretrukket forbindelse av formel I ovenfor er den forbindelse hvor R¹ er hydrogen; R² er 3-metylbutyl; R³ er metyl; og Z er



eller et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt derav; eller en enantiomer eller en racemisk blanding derav.

Foreliggende forbindelser inhiberer aktiviteten til serinproteaser, spesielt human-leukocytlastase, og er derfor nyttige i behandlingen av degenerative sykdomstilstander slik som emfysem, reumatoid artritt, pankreatitt, cystisk fibrose, kronisk bronkitt, adult respiratory distress syndrome, inflammatorisk tarmsykdom, psoriasis, bulløs pemfigoid, periodontal sykdom og alfa-1-antitrypsinmangel.

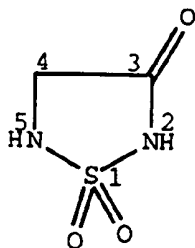
Oppfinnelsen tilveiebringer videre et farmasøytisk preparat for behandling av degenerative sykdommer, og er kjennetegnet ved at det omfatter en farmasøytisk akseptabel bærer, hjelpemiddel, fortynningsmiddel eller bærer sammen med en effektiv proteolytisk enzyminhiberende mengde av en forbindelse av formel I.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer også anvendelse av forbindelsene av formel I for fremstilling av et farmasøytisk preparat for behandling av degenerative sykdommer. Foretrukne anvendelser i denne forbindelser fremgår fra medfølgende krav 10 og 11.

Foretrukne utførelser

Med den heri benyttede betegnelse laverealkyl menes lineære eller forgrenede hydrokarbonkjeder som har fra 1 til 6 karbonatomer og således innbefatter metyl, etyl, propyl, isopropyl, n-butyl, sek-butyl, 3-metylbutyl, n-pentyl, og heksyl og lignende.

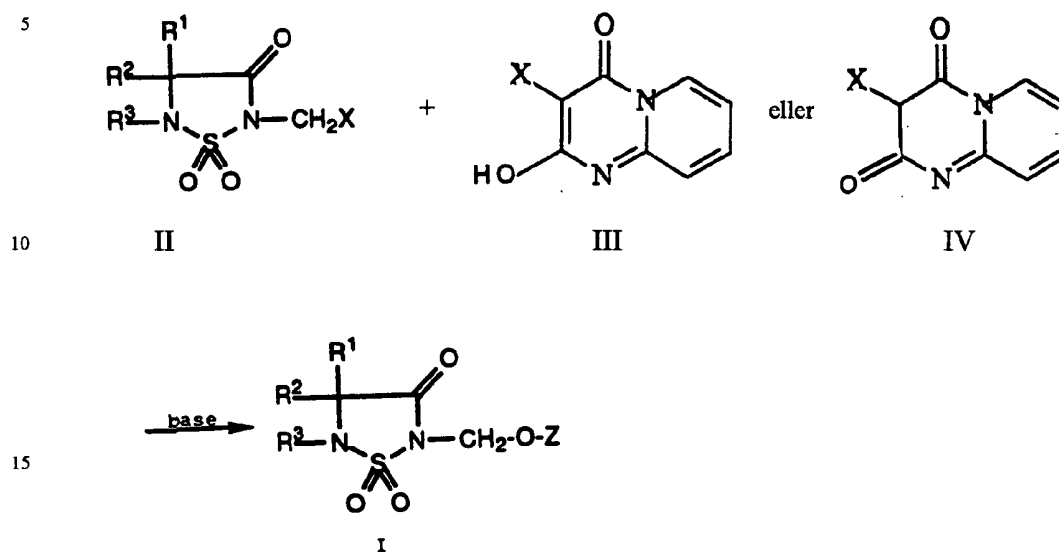
Nummereringssystemet som er benyttet i foreliggende sammenheng er vist i det ringsystemet som er illustrert nedenfor. Dette ring-



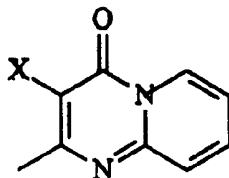
systemet er navngitt i den kjemiske litteraturen som et 1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid.

Syntesen av forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan angis som vist i reaksjonsskjema A:

Reaksjonsskjema A



Et egnet substituert 2-halogenmetyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1,-dioksidderivat av
 20 formel II, hvor X' er et halogen, fortrinnsvis klor, i et egnet organisk oppløsningsmiddel,
 slik som dimetylformamid, behandles med et overskudd av en alkohol av formel III eller
 et dion av formel IV, i nærvær av et overskudd av en base, slik som kalium-karbonat,
 ved en temperatur i området fra omkring romtemperatur til kokepunktet for det
 benyttede oppløsningsmidlet, fortrinnsvis ved en temperatur omkring romtemperatur, for
 25 oppnåelse av forbindelsene av formel I, hvor Z er



Det vil forstås at forbindelsene av formel I er i besittelse av et asymmetrisk karbon ved
 stilling C-4 i 1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksidringen og således kan eksistere som
 enantiomerer. Med mindre annet er spesifisert heri, er det ment at oppfinnelsen skal
 omfatte hver av de enantiomere formene inkludert racematene. I noen tilfeller kan det
 35 være fordeler, dvs. høyere virkningsgrad, med å benytte en spesiell enantiomer
 sammenlignet med den andre enantiomeren eller racematet i behandlingen av
 degenerative sykdommer, og slike fordeler kan lett bestemmes av fagfolk på området. De

separate enantiomerene kan syntetiseres fra chirale utgangsmaterialer eller racematene kan spaltes ved hjelp av konvensjonelle prosedyrer som er velkjente innen den kjemisk teknikk slik som chiral kromatografi, fraksjonert krystallisering av diastereomere salter og lignende.

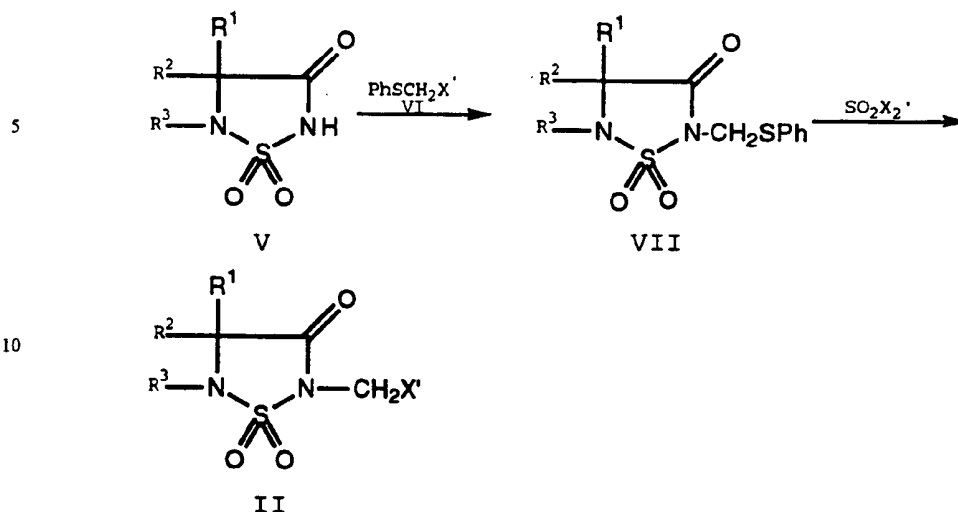
5

Forbindelsene av formel I er nyttige både i den frie baseformen og i form av syreaddisjonssalter, og begge former omfattes av oppfinnelsen. Syreaddisjonssaltene er ofte en mer hensiktsmessig bruksform; og i praksis betyr bruken av saltformen i og for seg bruken av baseformen. Syrene som kan benyttes for fremstilling av syreaddisjonssaltene innbefatter fortrinnsvis de som i kombinasjon med den frie basen gir farmasøytisk akseptable salter, dvs. salter hvis anioner er relativt uskadelige for dyreorganismen i farmasøytiske doser av saltene, slik at de nyttige egenskapene som naturlig er forbundet med den frie basen ikke forringes av bivirkninger som kan tilskrives anionene. Ved utførelse av foreliggende oppfinnelse er det hensiktsmessig å benytte den frie baseformen eller hydroklorid-, fumarat-, toluensulfonat-, metansulfonat- eller maleatsaltene. Andre passende farmasøytisk akseptable salter som omfattes av oppfinnelsen er imidlertid de som er avledet fra andre mineralsyrer og organiske syrer. Syreaddisjonssaltene av de basiske forbindelsene fremstilles ved hjelp av standard prosedyrer som er velkjent innen teknikken, som inkluderer, men ikke er begrenset til, oppløsning av den frie basen i en vandig alkoholoppløsning inneholdende den passende syren og isolering av saltet ved inndampning av oppløsningen, eller ved å reagere den frie basen og en syre i et organisk oppløsningsmiddel, i hvilket tilfelle saltet utskilles direkte, eller utfelles med et annet organisk oppløsningsmiddel, eller kan oppnås ved konsentrering av oppløsningen. Selv om medisinsk akseptable salter av de basiske forbindelsene foretrekkes, så omfattes alle syreaddisjonssalter av foreliggende oppfinnelses omfang. Alle syreaddisjonssalter er nyttige som kilder for den frie baseformen selv om det spesielle saltet per se er ønsket kun som et mellomprodukt, som for eksempel når saltet dannes for rense- eller identifikasjonsformål, eller når det anvendes som et mellomprodukt ved fremstilling av et medisinsk akseptabelt salt ved for eksempel ionevekslingsprosedyrer.

25
30

De hensiktsmessig 2-halogenmetyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksidene av formel II, som er nødvendig for syntesen av forbindelsene av formel I, kan fremstilles som vist i reaksjonsskjema B:

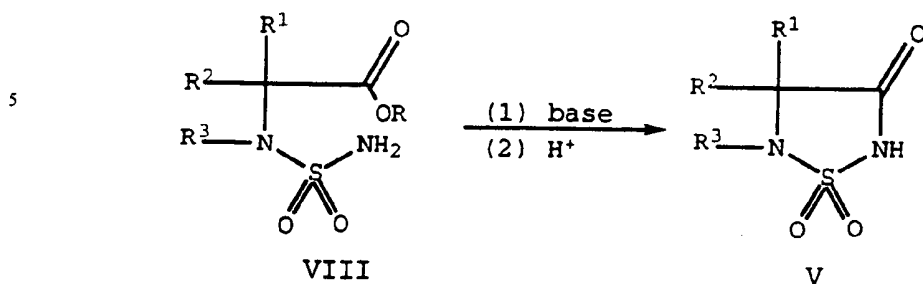
Reaksjonsskjema B



- 15 Cesiumsaltet av et hensiktsmessig substituert 1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid av formel V (fremstilt ved behandling av en forbindelse av formel V i et laverealkanol-oppløsningsmiddel, dvs. metanol, med cesiumkarbonat ved en temperatur på ca. romtemperatur), i et egnet organisk oppløsningsmiddel slik som dimetylformamid, behandles med et overskudd av et halogenmetylfenylsulfid, hvor X' er et halogen,
- 20 fortrinnsvis klor, ved en temperatur i området fra omkring romtemperatur opp til kokepunktet for det benyttede oppløsningsmidlet, fortrinnsvis ved kokepunktet for det benyttede oppløsningsmidlet, for oppnåelse av forbindelsene av formel VII. Forbindelsen av formel VII kan deretter behandles med et overskudd av et sulfuryl-halogenid av formel SO_2X_2' , hvor X' er et halogen, fortrinnsvis klor, i et egnet organisk
- 25 oppløsningsmiddel, slik som metylenklorid, ved en temperatur omkring romtemperatur, til oppnåelse av forbindelsene av formel II.

De hensiktsmessig substituerte 1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksidene av formel V kan fremstilles som vist i reaksjonsskjema C:

Reaksjonsskjema C



10

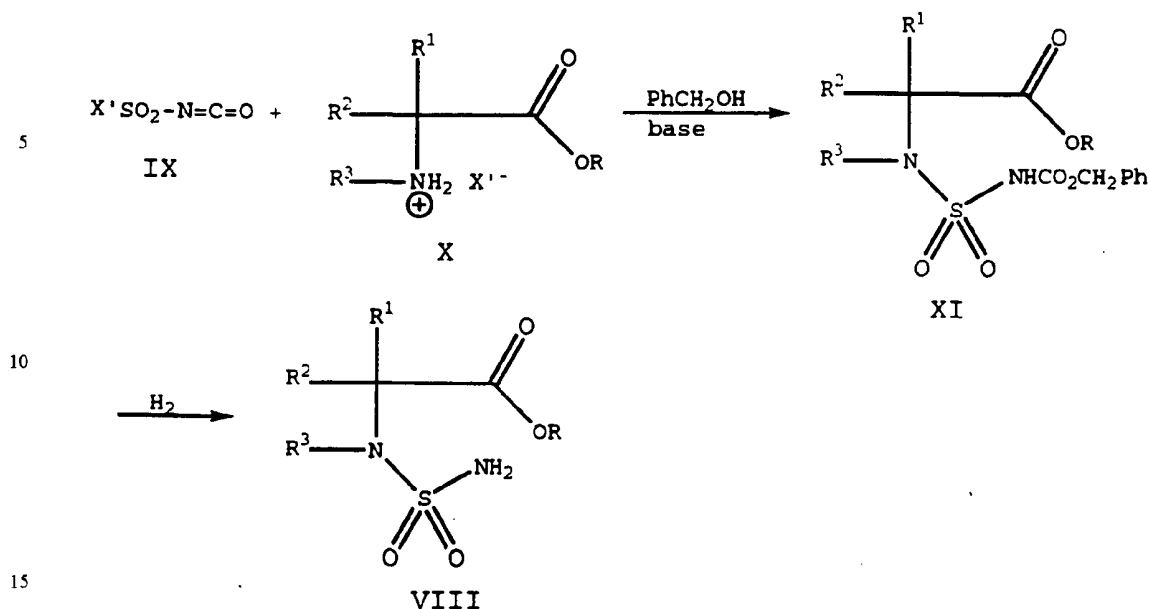
En hensiktsmessig substituert forbindelse av formel VIII hvor R er laverealkyl, i et passende laverealkanol-oppløsningsmiddel, slik som metanol, behandles med et overskudd av et alkalimetall-laverealkoksid, dvs. natriummetoksid, ved en temperatur i området fra omkring romtemperatur opp til kokepunktet for det benyttede

15 oppløsningsmidlet, fortrinnsvis ved en temperatur omkring romtemperatur, fulgt av behandling med en protonkilde, slik som BIO-RAD[®] 50W-X8 H⁺ ionevexslingsharpiks, til oppnåelse av forbindelsene av formel V.

Forbindelsene av formel VIII, som er nødvendig for syntesen av forbindelsene av formel

20 V, kan fremstilles som illustrert i reaksjonsskjema D:

Reaksjonsskjema D



Et halogensulfonylisocyanat av formel IX, hvor X' er et halogen, fortrinnsvis klor, behandles med et overskudd av en α -aminosyreester av formel X, hvor R er laverealkyl og X⁻ er et halogen, fortrinnsvis klor, og et overskudd av benzylalkohol, i nærvær av et overskudd av en base, slik som trietylamin, i et passende organisk oppløsningsmiddel, slik som metylenklorid, ved en temperatur i området fra -10°C opp til romtemperatur, for oppnåelse av en forbindelse av formel XI (merk, α -aminosyreesteren kan om ønsket anvendes som den begrensende reagens istedenfor halogensulfonyl-isocyanatet).

25 Forbindelsen av formel XI kan hydrogeneres ved et hydrogentrykk på ca. 345 kPa, i et laverealkanol-oppløsningsmiddel, slik som metanol, i nærvær av en katalysator, fortrinnsvis palladium på karbon, for fremstilling av forbindelsene av formel VIII.

Forbindelsene av formler III og IV er enten kommersielt tilgjengelige, eller de kan fremstilles ved prosedyrer som er kjent innen teknikken (se for eksempel US-patent 5.378.720). Halogenmetylphenylsulfidene av formel VI, halogensulfonylisocyanatene av formel IX og α -aminosyreestrene av formel X er enten kommersielt tilgjengelige eller de kan fremstilles ved prosedyrer som er kjent innen teknikken, eller ved de prosedyrer som er beskrevet i nedenstående eksempler.

35

Strukturene til forbindelsen ifølge oppfinnelsen ble fastslått ved syntesemetoden, og ved en eller flere av elementanalyse og infrarød, kjernemagnetisk resonans og

massespektroskopi. Forløpet for reaksjonene og identiteten og homogeniteten til produktene ble bestemt ved hjelp av en eller flere av tynnsjikt-kromatografi (TLC), høytrykks-væskekromatografi (HPLC) eller gass-væskekromatografi (GLC).

- 5 Følgende eksempler vil ytterligere illustrere foreliggende oppfinnelse. Alle smeltepunkter (smp.) er gitt i grader Celcius (°C) og er ukorrigerede.

Eksempel 1

(a)

- 10 Til en oppløsning av N-t-butoksykarbonyl-sarcosin (50 g; 0,264 mol) i 700 ml benzen ble det tilsatt 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-en (DBU; 40,19 g, 0,264 mol) i en porsjon. Til den oppnådde klare oppløsningen ble det tilsatt 74,94 g (0,528 mol) metyliodid i en porsjon og den resulterende klare oppløsningen fikk tilbakeløpskoke i 7 timer. Etter tilsetning av ytterligere metyliodid (16 ml), ble reaksjonsblandingen tilbakeløpskokt
15 under omrøring og deretter avkjølt til romtemperatur og omrørt natten over. Reaksjonsblandingen ble filtrert, resten vasket med eter og det kombinerte filtratet ble vasket med vann, en mettet natriumbikarbonatoppløsning, og deretter saltoppløsning. Det resulterende organiske laget ble tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert i vakuum, og dette ga 46,38 g (86,4%) N-t-butoksykarbonylsarcosin-metylester som en
20 gul olje.

(b)

- En 2 M oppløsning av LDA (70,32 ml, 0,14 mol) ble tilsatt (via sprøyte) til en oppløsning av N-t-butoksykarbonylsarcosinmetylester (26 g, 0,1279 mol) i 40 ml tørr
25 THF ved -78°C under nitrogen og blandingen ble omrørt ved denne temperaturen i 30 minutter. Til den ovenfor oppnådde blanding ble det tilsatt 4-brom-2-metyl-2-buten (20 g, 0,134 mol) under omrøring som fortsatte ved -78°C, og den resulterende blanding fikk oppvarmes til romtemperatur. Reaksjonen ble stoppet ved tilsetning av 6 ml mettet ammoniumkloridoppløsning ved -78°C, 20 ml vann ble tilsatt og den resulterende
30 reaksjonsblanding ble ekstrahert med etylacetat. Det organiske laget ble vasket med vann og saltoppløsning, tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum, og dette ga en gul olje som ble rensed ved silisiumdioksidgel-kolonnekromatografi (20% etylacetat i heksan) og dette ga 22,1 g (63,7%) N-t-butoksykarbonyl-2-(3-metyl-2-butenyl)-sarcosinmetylester som en olje.

(c)

En oppløsning av N-t-butoksykarbonyl-2-(3-metyl-2-butenyl)-sarcosinmetylester (22,1 g, 81,44 mmol) i 400 ml metanol under nitrogen ble avkjølt til 0°C og 1,5 g av 10% Pd/C ble tilsatt. Blandingen ble anbragt i et Parr-apparat og hydrogenert ved 345 kPa i 6 timer. 5 Katalysatoren ble fjernet på en pute av CELITE® og filtratet ble konsentrert i vakuum og dette ga 22,04 g (99%) N-t-butoksykarbonyl-2-(3-metylbutyl)-sarcosinmetylester som en olje.

(d)

10 En blanding av N-t-butoksykarbonyl-2-(3-metylbutyl)-sarcosinmetylester (22,04 g, 80,62 mmol) i 360 ml eterisk HCl ble omrørt ved romtemperatur i 3 dager. Den resulterende blanding ble avkjølt i et isbad og oppløsningsmidlet ble konsentrert i vakuum hvilket etter tørking ga 13,17 g (78%) 2-(3-metylbutyl)-sarcosinmetylester-hydroklorid (formel X: R=CH₃; R²=(CH₂)₂CH(CH₃)₂; R³=CH₃; X⁻=Cl⁻) som ble omkrystallisert fra 15 metanol/eter, smp. 110-111°C.

(e)

Til en omrørt oppløsning av 5,77 ml (66,78 mmol) klorsulfonylisocyanat i metylenklorid ble det under nitrogen tilsatt benzylalkohol (6,89 ml, 66,57 mmol) ved 0-5°C. Etter 20 omrøring av den oppnådde oppløsning i 1 time, ble det tilsatt en oppløsning av 13,166 g (62,78 mmol) 2-(3-metylbutyl)-sarcosinmetylesterhydroklorid i metylenklorid inneholdende trietylamin (27,33 ml, 194,62 mmol) ved 0-5°C, og den resulterende blanding ble omrørt natten over hvorved blandingen fikk oppvarmes til romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble helt i 600 ml av en 10% vandig HCl-oppløsning, mettet med 25 natriumklorid, og det organiske laget ble separert. Det vandige laget ble ekstrahert med metylenklorid og det kombinerte organiske laget ble vasket med saltoppløsning, tørket over magnesiumsulfat og konsentrert i vakuum, og dette ga 21,22 g (87,2%) N-(karbobenzyloksyaminosulfonyl)-2-(3-metylbutyl)-sarcosinmetylester (formel XI: R=CH₃; R¹=H; R²=(CH₂)₂CH(CH₃)₂; R³=CH₃) som ble renset ved silisiumdioksid- 30 kolonnekromatografi (20% etylacetat i heksan) hvilket ga en olje.

(f)

En oppløsning av N-(karbobenzyloksyaminosulfonyl)-2-(3-metylbutyl)-sarcosinmetylester (20,6 g, 53,17 mmol) i 200 ml metanol under nitrogen ble avkjølt til 0°C og 35 1,5 g 10% Pd/C ble tilsatt. Blandingen ble anbragt i et Parr-apparat og hydrogenert i 3,5 timer ved 345 kPa. Katalysatoren ble fjernet på en pute av CELITE® og filtratet konsentrert i vakuum og dette ga 13,24 g (98,6%) av N-(aminosulfonyl)-2-(3-

metylbutyl)-sarcosinmetylester (formel VIII: $R=CH_3$; $R^1=H$; $R^2=(CH_2)_2CH(CH_3)_2$; $R^3=CH_3$) som en olje.

(g)

- 5 En oppløsning av N-(aminosulfonyl)-2-(3-metylbutyl)-sarcosinmetylester (12,28 g, 48,67 mmol) i metanol (150 ml) ble tilsatt under nitrogen til en oppløsning av natriummetoksid ($Na=2,1$ g, 95,71 mmol) i 150 ml iskald metanol. Den resulterende reaksjonsblanding ble omrørt ved romtemperatur under nitrogen i 1,5 timer, og blandingen ble behandlet med 25 g ionevekslerharpiks (BIO RAD[®] 50W x 8H⁺; 200-400 mesh) i 40 minutter og
- 10 filtrert. Filtratet ble konsentrert i vakuum og dette ga 10,7 g (99,8%) av 4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid (formel V: $R^1=H$; $R^2=(CH_2)_2CH(CH_3)_2$; $R^3=CH_3$) som et fast stoff, smp. 212-214°C.

(h)

- 15 En blanding av 4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid- cesiumsalt (fremstilt ved omsetning av 7,7 g (34,95 mmol) av 4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid i metanol med 5,13 g Cs_2CO_3 fulgt av fjerning av oppløsningsmidlet og tørking under høyvakuum) og fenyliometylklorid (6,65 g, 41,94 mmol) suspendert i DMF ble oppvarmet ved 85°C i 17 timer. Blandingens ble avkjølt og
- 20 helt i 300 ml is/vann. Reaksjonsblandingens ble ekstrahert med etylacetat (3x) og det organiske laget ble vasket med vann og saltoppløsning, og tørket over natriumsulfat. Det organiske laget ble konsentrert i vakuum og resten ble rensset ved silisiumdioksid-kolonnekromatografi (10% etylacetat i heksan) og dette ga 8,15 g (70,6%) av 2-fenyliometyl-4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid (formel
- 25 VII: $R^1=H$; $R^2=(CH_2)_2CH(CH_3)_2$; $R^3=CH_3$) som en olje.

(i)

- Til en oppløsning av 2-fenyliometyl-4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid (8,15 g, 24,66 mmol) i 200 ml metylenklorid ble det i en porsjon under
- 30 nitrogen tilsatt sulfurylklorid (2,36 ml, 29,6 mmol) og blandingens ble omrørt i 3,5 timer ved romtemperatur. Blandingens ble konsentrert i vakuum og resten ble tritureert i heksan og dette ga 4,64 g (70%) 2-klormetyl-4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid (formel II: $R^1=H$; $R^2=(CH_2)_2CH(CH_3)_2$; $R^3=CH_3$; $X'=Cl$) som et fast stoff, smp. 59-60°C.

(j)

En blanding av 2-klormetyl-4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on, 1,1-dioksid (1 g; 3,72 mmol), 2,4-diokso-4-H-

5

pyrido[1,2-a]pyrimidin (formel IV: X=H; Y=) (0,72 g; 4,44 mmol), og kaliumkarbonat (0,67 g; 4,84 mmol) i 35 ml DMF ble omrørt ved romtemperatur i 24 timer. Blandingen ble helt i is/vann, ekstrahert med etylacetat, og det organiske laget ble vasket med vann, saltoppløsning og tørket. Oppløsningsmidlet ble konsentrert i vakuum og resten renses ved silisiumdioksidgel-flashkromatografi (70% heksan/etylacetat, 5% metanol/etylacetat) og dette ga 0,29 g 2-(4-okso-4-H-pyrido[1,2-a]pyrimidin-2-yl-oksymetyl)-4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid (formel I: R¹=H;

10

15

R²=(CH₂)₂CH(CH₃); R³=CH₃; Z= Eksempel 1J) som et fast stoff, smp. 106,5-107,5°C, og 0,34 g 2-(4-okso-4-H-2-hydroksy-pyrido[1,2-a]pyrimidin-3-yl-metyl)-4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid som et fast stoff, smp. 165-170°C.

20

Eksempel 2

(a)

Ved å følge en fremgangsmåte lik den beskrevet i Eksempel 1(b), men ved å benytte 2,1 ekvivalenter metyliodid istedenfor 4-brom-2-metyl-2-buten og ved anvendelse av 2,2 ekvivalenter litiumdiisopropylamid (LDA) kan det fremstilles en forbindelse med formelen: (CH₃)₂C(CO₂CH₃)N(CH₃)(CO₂tBu).

25

(b)

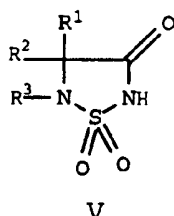
Ved å følge en fremgangsmåte lik den beskrevet i Eksempel 1(d), men ved å benytte forbindelsen i Eksempel 2(a) istedenfor forbindelsen i Eksempel 1(c), så kan det fremstilles en forbindelse av formel (CH₃)₂C(CO₂CH₃)NH(CH₃) · HCl.

30

Ved å følge fremgangsmåter lik de beskrevet i eksemplene 1(e)-(g), men ved å benytte en passende α-aminosyreester av formel X istedenfor forbindelsen i Eksempel 1(d), så kan følgende forbindelser av formel V som illustrert i Tabell I fremstilles.

35

Tabell I

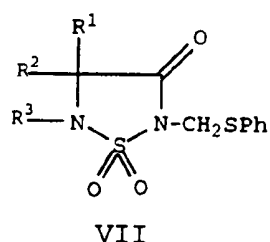


10

Eksempel nr.	R ¹	R ²	R ³	Benyttet ester
3	CH ₃	CH ₃	CH ₃	(CH ₃) ₂ C(NHCH ₃)CO ₂ CH ₃ · HCl
4	CH ₂ Ph	H	H	C ₆ H ₅ CH ₂ CH(NH ₂)CO ₂ CH ₃ · HCl

Ved å følge en fremgangsmåte lik den beskrevet i Eksempel 1(h), men ved å benytte en passende forbindelse av formel V istedenfor 4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid, så kan følgende forbindelser fra formel VII som illustrert i Tabell II fremstilles:

Tabell II

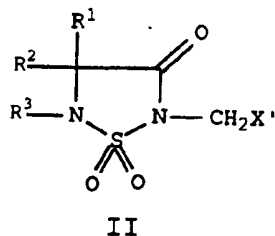


25

Eksempel nr.	R ¹	R ²	R ³
5	CH ₃	CH ₃	CH ₃
6	CH ₂ Ph	H	H

Ved å følge en fremgangsmåte lik den beskrevet i Eksempel 1(i), men ved å benytte en passende forbindelse av formel VII istedenfor 2-fenyliometyl-4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid, så kan følgende forbindelser av formel II som illustrert i Tabell III fremstilles:

Tabell III



Eksempel nr.	R ¹	R ²	R ³	X'
7	CH ₃	CH ₃	CH ₃	Cl
8	CH ₂ Ph	H	H	Cl

10

Ved å følge en fremgangsmåte lik den beskrevet i Eksempel 1(j), men ved å benytte en passende forbindelse av formel III eller IV og, dersom det er aktuelt, benytte en passende forbindelse av formel II istedenfor 2-klormetyl-4-(3-metylbutyl)-5-metyl-1,2,5-tiadiazolidin-3-on 1,1-dioksid, så kan følgende forbindelser av formel I illustrert i Tabell

15 IV fremstilles:

Biologiske testresultater

Det har blitt funnet at representative eksempler på foreliggende forbindelser er i besittelse av verdifulle farmakologiske egenskaper. Spesielt har det blitt funnet at de
5 inhiberer aktiviteten til serinproteaser, spesielt humanleukocytlastase, og er således nyttige i behandlingen av degenerative sykdomstilstander slik som emfysem, reumatoid artritt, pankreatitt, cystisk fibrose, kronisk bronkitt, adult respiratory distress syndrome, inflammatorisk tarmsykdom, psoriasis, bulløs pemfigoid, periodontal sykdom og alfa-1-antitrypsinmangel.

10 De farmakologiske egenskapene til representative eksempler på foreliggende forbindelser ble demonstrert ved følgende konvensjonelle biologiske in vitro testprosedyre.

Testforbindelsen (inhibitor) oppløses i DMSO i en liten medisinflaske for tilveiebringelse
15 av en inhibitor-forrådsoppløsning som har en konsentrasjon i området 200-1000 μM .

Inhibitor-forrådsoppløsningen fortynnes (1:4, 1:16 og 1:64) i analyseflasker (henholdsvis flasker 1, 2 og 3) inneholdende 2,4 ml bufferoppløsning (50 mM N-[2-hydroksyetyl] piperazin-N'-[2-etansulfonsyre]/NaOH, 500 mM NaCl, pH 7,8 ved 25°C) og DMSO tilsettes slik at totalvolumet i hver flaske er 3,2 ml. 70 μl , 50 μl , 35 μl og 25 μl inhibitor
20 fra analyseflaske 1 plasseres i de første fire brønnene i en 96-brønners mikrotiterplate og hver brønn bringes opp til 90 μl totalvolum med tilsetning av en 25%

DMSO/bufferoppløsning. Inhibitoren fra analyseflasker 2 og 3 behandles på lignende måte og plasseres i henholdsvis brønner 5-12 slik at det oppnås et totale av 12
forskjellige inhibitor-konsentrasjoner. Fire brønner (brønner 13-16) inneholdende 90 μl av
25 25% DMSO/bufferoppløsningen, men ingen inhibitor, benyttes også samtidig med de inhiberte brønnene som en kontroll. 150 μl substratoppløsning (fremstilt ved tilsetning av 500 μl av nevnte humanleukocytlastase (HLE) -substrat MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-pNA (18,7 mM i DMSO) til 19,5 ml bufferoppløsning) tilsettes deretter samtidig i hver av de 16 brønnene, og oppløsningen i hver brønn blandes grundig.

30 Nevnte 96-brønners mikrotiterplate anbringes i et Microplate Reader nr. 89815A spektrofotometer og 110 μl av enzymoppløsningen (fremstilt som følger: en blanding av 20 ml bufferoppløsning og 20 mg bovins serumalbumen virvles forsiktig i en scintillasjonsflaske og 5 μl HLE-forrådsoppløsning (1 mg/ml oppløst i deionisert vann)
35 tilsettes) tilsettes samtidig til hver av de 16 brønnene. Hver av oppløsningene i brønnene blandes grundig og deretter samles de tidsavhengige absorptansdataene ved en absorptans på 410 nm inntil analysen er fullstendig. Det skal nevnes at selv om denne

analysemetoden kan foretas manuelt, så er det foretrukket å utføre analysen ved bruk av robot ved anvendelse av en Hewlett Packard MicroAssay System Robot.

Et plott av absorptansen mot tidsdata som således oppnås gir forløpskurver hvis slutthelling er lik de sluttelige stabiltilstand-hastighetene (V_F). Ved bruk av programmet ENZFITTER (Elsevier-programvare) tilpasses forløpskurvene for de fire kontroll-analysene ($[I]=0$) ved lineær regresjon til oppnåelse av enzymreaksjonshastighetsverdiene i fravær av inhibitor (V_O) for hvilke gjennomsnittsverdier utregnes til oppnåelse av en enkelt fastsatt verdi. Inhiberingskonstanten K_i (nM) oppnås deretter fra et plott av:

10

$$\frac{[I]}{1-V_F/V_O} \quad \text{mot} \quad V_O/V_F$$

hvilket gir en lineær kurve hvor:

15

$$\text{helling} = K_i \left(1 + \frac{[S]}{K_m} \right)$$

og $[S]$ er konsentrasjonen av substratet og K_m er Michaelis-konstanten.

En representativ forbindelse ifølge oppfinnelsen, Eksempel 1(j), ble testet med henblikk på humanleukocytlastase-inhiberende aktivitet ifølge den ovenfor beskrevne prosedyren og hadde en K_i -verdi på 0,79 nM.

25

Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan fremstilles for farmasøytisk bruk ved konvensjonelle farmasøytiske prosedyrer som er velkjent innen teknikken, dvs. ved formulering av et farmasøytisk preparat som omfatter forbindelsene ifølge oppfinnelsen og deres farmasøytisk akseptable salter sammen med en eller flere fysiologisk akseptable bærere, hjelpemidler eller fortynningsmidler, for oral administrasjon i fast eller flytende form, parenteral administrasjon, topisk administrasjon eller aerosol-inhaleringsadministrasjon, og lignende.

Faste preparater for oral administrasjon inkluderer komprimerte tablett, piller, pulvere og granuler. I slike faste preparater er den aktive forbindelsen blandet sammen med i det minste et inert fortynningsmiddel slik som stivelse, kalsiumkarbonat, sukrose eller laktose. Disse preparatene kan også inneholde ytterligere stoffer andre enn inerte fortynningsmidler, f. eks. smøremidler, slik som magnesiumstearat, talk og lignende.

Flytende preparater for oral administrasjon innbefatter farmasøytisk akseptable emulsjoner, oppløsninger, suspensjoner, siruper og eliksirer inneholdende inerte fortynningsmidler som er vanlig benyttet innen teknikken, slik som vann og flytende parafin. Foruten inerte fortynningsmidler kan slike preparater også inneholde
5 hjelpemidler, slik som fukte- og suspenderingsmidler, søtningsstoffer, smaksstoffer, parfumerings- og preserveringsmidler. Ifølge oppfinnelsen innbefatter forbindelsene for oral administrasjon også kapsler av absorberbart materiale, slik som gelatin, inneholdende nevnte aktive komponent med eller uten tilsetning av fortynningsmidler eller eksipienser.

10

Foreliggende preparater for parenteral administrasjon inkluderer sterile vandige, vandig-organiske, og organiske oppløsninger, suspensjoner og emulsjoner. Eksempler på organiske oppløsningsmidler eller suspenderingsmedia er propylenglykol, polyetylenglykol, vegetabiliske oljer slik som olivenolje og injiserbare organiske estere
15 slik som etyloleat. Disse preparatene kan også inneholde hjelpemidler slik som stabiliserings-, preserverings-, fukte-, emulgerings- og dispergeringsmidler.

Preparater ifølge oppfinnelsen for topisk administrasjon eller aerosol-inhaleringsadministrasjon oppnås ved oppløsning eller suspensjon av en forbindelse ifølge oppfinnelsen i en farmasøytisk akseptabel bærer slik som vann, vandig alkohol,
20 glykol, oljeoppløsning eller olje-vann-emulsjon, og lignende.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan, om ønsket, ytterligere inkorporeres i systemer som gir langsom frigjøringsvirkning eller målrettet avlevering slik som polymer-matriser,
25 liposomer og mikrosfærer.

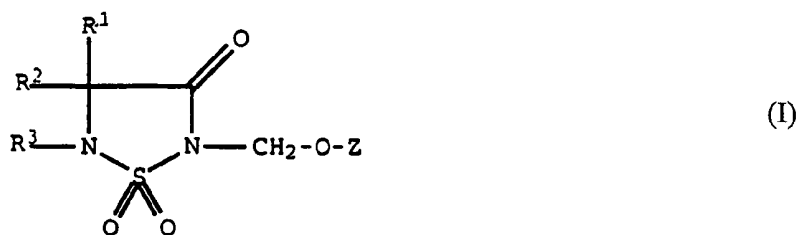
Prosentandelen av aktiv komponent i slike preparater kan varieres slik at det oppnås en egnet dosering. Dosen som administreres til en spesiell pasient varierer avhengig av legens bedømmelse ved anvendelse som kriterier av: Administrasjonsveien,
30 behandlingens varighet, pasientens størrelse og fysiske tilstand, virkningsgraden til den aktive komponenten og pasientens respons på denne. En effektiv doseringsmengde av den aktive komponenten kan således lett bestemmes av legen etter en vurdering av alle kriteriene og ved anvendelse av sitt beste skjønn på pasientens vegne.

P a t e n t k r a v

1.

Forbindelse, karakterisert ved at den har formelen:

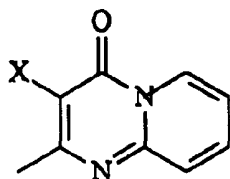
5



10

hvor R^1 er hydrogen eller C_1 - C_6 alkyl; R^2 er hydrogen eller C_1 - C_6 alkyl eller fenyllaverealkyl; R^3 er C_1 - C_6 alkyl; og -Z er en gruppe av formelen:

15



20

hvor X er hydrogen; eller et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt derav; eller, når det er aktuelt, en enantiomer eller en racemisk blanding derav.

2.

Forbindelse ifølge krav 1, karakterisert ved at R^1 er hydrogen eller C_1 - C_6 alkyl; og R^2 er hydrogen eller C_1 - C_6 alkyl.

25

3.

Forbindelse ifølge krav 2, karakterisert ved at R^1 er hydrogen eller 3-metylbutyl; R^2 er hydrogen eller 3-metylbutyl; og R^3 er metyl.

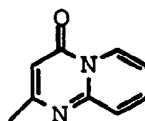
30

4.

Forbindelse ifølge krav 3, karakterisert ved at R^1 er

35

hydrogen; R^2 er 3-metylbutyl; R^3 er metyl; og -Z er



5.

Farmasøytisk preparat for behandling av degenerative sykdommer, k a r a k -
t e r i s e r t v e d at det omfatter en farmasøytisk akseptabel bærer,
hjelpemiddel eller fortynningsmiddel sammen med en effektiv proteolytisk
5 enzyminhiberende mengde av en forbindelse ifølge krav 1.

6.

Farmasøytisk preparat for behandling av degenerative sykdommer, k a r a k -
t e r i s e r t v e d at det omfatter en farmasøytisk akseptabel bærer,
10 hjelpemiddel eller fortynningsmiddel sammen med en effektiv proteolytisk
enzyminhiberende mengde av en forbindelse ifølge krav 2.

7.

Farmasøytisk preparat for behandling av degenerative sykdommer, k a r a k -
15 t e r i s e r t v e d at det omfatter en farmasøytisk akseptabel bærer,
hjelpemiddel eller fortynningsmiddel sammen med en effektiv proteolytisk
enzyminhiberende mengde av en forbindelse ifølge krav 3.

8.

20 Farmasøytisk preparat for behandling av degenerative sykdommer, k a r a k -
t e r i s e r t v e d at det omfatter en farmasøytisk akseptabel bærer,
hjelpemiddel eller fortynningsmiddel sammen med en effektiv proteolytisk
enzyminhiberende mengde av en forbindelse ifølge krav 4.

25 9.

Anvendelse av en forbindelse som definert i hvilket som helst av kravene 1-4 for
fremstilling av et farmasøytisk preparat for behandling av degenerative sykdommer.

10.

30 Anvendelse ifølge krav 9 hvor de degenerative sykdommene er valgt fra emfysem,
reumatoid artritt, pankreatitt, cystisk fibrose, kronisk bronkitt, adult respiratory distress
syndrome, inflammatorisk tarmsykdom, psoriasis, bulløs pemfigoid, periodontal sykdom
og alfa-1-antitrypsinmangel.

35 11.

Anvendelse ifølge krav 10 hvor degenerative sykdommene er valgt fra emfysem, cystisk
fibrose, kronisk bronkitt og adult respiratory distress syndrome.