

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 910330 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 910330

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07K 5/078
C07D417/06

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 22.01.1991

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 22.01.1991

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 24.07.1991

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 13.06.2019

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

23.01.1990 IT 19133/90

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •POLI Industria Chimica S.p.A., Piazza Agrippa 1 Milano, Italy, ITALIA, (IT)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Poli, Stefano, Italia, ITALIA, (IT)

2 •Del Corona, Lucio, Italy, ITALIA, (IT)

3 •Coppi, Germano, Italy, ITALIA, (IT)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

3-L-(5-tiokso-L-prolyyli)tiatsolidiini-4-karboksylihapo ja sen johdannaisia, menetelmiä niiden valmistamiseksi ja niitä sisältäviä farmaseuttisia koostumuksia

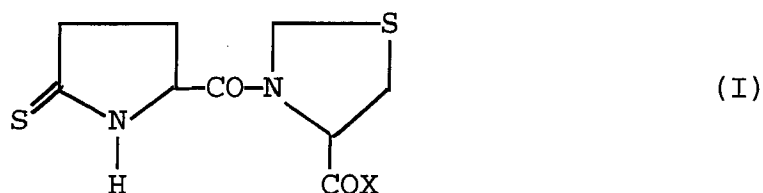
3-L-(5-tioxo-L-prolyl)tiatzolidin-4-karboxylsyra och dess derivat, processer för deras framställning och farmaceutiska sammansättningar, som innehåller dem

Menetelmä 3-L-(5-tiokso-L-prolyyli)tiatsolidiini-4-karboksyylihapon ja sen johdannaisien valmistamiseksi - Förfarande för framställning av 3-L-(5-tioxo-L-prolyl)thiazolidin-4-karboxylsyra och dess derivat

5

Tämä keksintö koskee menetelmää yleisen kaavan (I) mukaisen yhdisteen ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi

10



15

jossa kaavassa X on -OH, C₁-C₈-alkoksi, aralkoksi tai dialkyyliamino-C₁-C₁₀-alkoksi, aminoryhmä, alifaattisen primaarisen tai sekundaarisen C₁-C₈-amiinin tähde, joka sisältää valinnaisesti yhden tai useamman kaksois- ja/tai kolmoissidoksen, primaarisen aralkyyliamiinin tähde tai syklisen alifaattisen C₄-C₈-amiinin tähde, jonka välissä on valinnaisesti happiatomi.

25

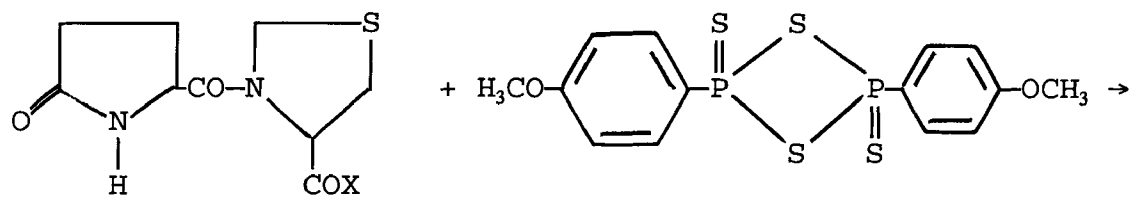
Kaavan (I) mukaisissa yhdisteissä X on edullisesti hydroksi-, metoksi-, etoksi-, fenoksi-, bentsyylioksi- tai amino-, etyyliamino-, allyyliamino-, propargyyliamino-, syklopropyyliamino-, pyrrolidino-, piperidino-, morfolino- tai dietyyliaminoryhmä.

30

Keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa jäljempänä esitettävän reaktiokaavio A:n mukaisesti antamalla 3-L-pyrroglutamyli-L-tiatsolidiini-4-karboksyylihapon (II) (X = OH) tai sen estereiden tai amidien (katso italialainen patenttihakemus 19165/A 87) reagoida tioneoivan aineen, kuten Lawessonin reagenssin kanssa, aproottisissa liuottimissa, kuten dimetoksietaani, bentseeni, tolueeni tai tetrahydrofuraani.

35

Kaavio A

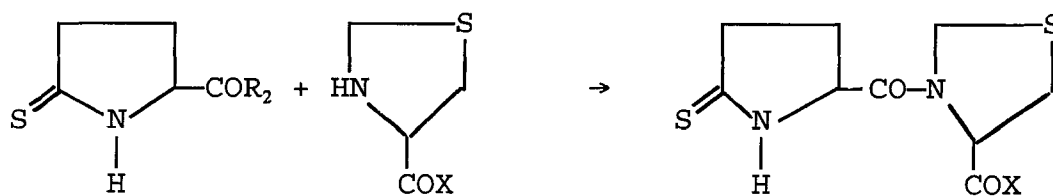


II

(I)

Edellä olevassa kaaviossa X on kuten edellä on määritelty. Yhdisteitä (II), joissa X on eri kuin hydroksi, voidaan valmistaa tavanomaisten esteröinti- tai amidointimenetelmien mukaisesti lähtien vapaasta haposta. Yhdisteitä (I) voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa jäljempänä esitettävän kaavion B mukaisesti:

Kaavio B



III

IV

I

antamalla reaktiivisen 5-tioksoproliinin (III) johdannaisen, jossa R_2 voi olla pentakloorifenoksi, trikloorifenoksi, sukkinimidoksi, ftaali-imidoksi, imidatsol-1-yyli ja muita ryhmiä, joita yleensä käytetään karboksiryhmän aktivointiin, ja R_1 :llä on edellä määritellyt merkitykset, reagoida tiatsolidiini-4-karboksyylilihapon johdannaisen (IV) kanssa, jossa X:llä on edellä määritellyt merkitykset, aproottisissa liuottimissa kuten dimetyyliformamidissa, dimetoksietaanissa, tetrahydrofuraanissa, dioksaanissa ja vastaavissa liuottimissa valinnaisesti tertiäärysten emästen kuten trietyyliamiinin tai tetrametyyliguanidiinin läsnä ollessa.

Yhdisteet (III) ja (IV) ovat tunnettuja tai niitä voidaan valmistaa tavanomaisilla menetelmillä lähtien 5-tioksoproliinista ja vastaavasti 4-tiatsolidiinikarboksyylilihaposta.

Keksinnön mukaisilla yhdisteillä on arvokkaita farmakologisia ominaisuuksia samoin kuin hyvin pieni akuutti toksisuus.

Keksinnön mukaisilla yhdisteillä on erityisemmin kiinnostavia immunostimuloivia, antitoksisia, radikaaleja vastustavia ja ikääntymistä vastustavia aktiivisuuksia.

Koska superoksidianionilla (O_2^-) on tärkeä merkitys makrofagien antimikrobiselle aktiivisuudelle (N.P. Cumming, M.J. Pabst, J. Exp. Med., 152, 1659, 1980), superoksidianionin tuotannon stimuloitukoe makrofageilla lääkkeiden avulla on hyvin tärkeää arvioitaessa immunostimuloivaa aktiivisuutta. Siitä johtuen, O_2^- -tuotanto eristetyissä peritoneaalisissa makrofageissa prednisolonilla immunodepressoiduista eläimistä, joita oli käsitelty keksinnön mukaisilla yhdisteillä, arvioitiin. Hiiriä käsiteltiin subkutaneaalisesti 11 päivän ajan prednisolonilla 0.5 mg/kg/päivä, ja testatuilla yhdisteillä annoksena 100 mg/kg intraperitoneaalisesti kahdesti päivässä, kun taas tappopäivänä ne saivat ainoastaan keksinnön mukaisia yhdisteitä. Makrofagit eristettiin sen jälkeen peritoneaalisen huuhtelun avulla ja viljeltiin RPMI-1640:ssä,

johon oli lisätty 10 % naudan sikiön seerumia, pitoisuudessa 1×10^6 solua/ml ja lämpötilassa $+37^\circ\text{C}$. 1 ml:n näytteitä solususpensiosta inkuboitiin 15 min. ajan 37°C :ssa hevosen sydämen sytokromi C:n kanssa ja stimuloitiin forbolimyristaattiasetaatilla (H. Nielsen, Eur. J. Clin. Pharmacol., 30, 99, 1986). Sen jälkeen suoritettiin pelkistyneen ferrisytokromi C:n spektrofotometrinen määrittäminen aallonpituudessa $\lambda = 550 \text{ nm}$, käyttäen ekstinktiokerrointa $E(550) = 29,5 \text{ mM}$.

Kuten taulukossa I on esitetty, käsittely prednisolonin kanssa indusoi immunodepression, joka ilmenee superoksidianionin pienempänä tuotantona; samanaikainen käsittely keksinnön mukaisilla yhdisteillä stimuloi makrofageja tuottamaan O_2^- :a määrinä, jotka ovat lähellä immunodepressoimattomien eläinten tuottamia määriä. Yhdisteillä Ia ja Ib erityisesti esiintyy korkeampia aktiivisuuksia kuin PGT:llä (3-L-pyroglutamyyli-L-tiatsolidiini-4-karboksyylihappo, katso italialainen patentti n:o 1 202 426), keksinnön mukaisilla muilla yhdisteillä ollessa vertailukelpoinen aktiivisuus samalla painoannostuksella.

Taulukko 1

Aktiivisuus superoksidianionin tuotantoon prednisonilla immunodepressoitujen hiirten peritoneaalisilla makrofageilla

5

Käsittely

Pelkistynyt sytokromi C
Kokeiden nmoolia/1x10⁶ makrofagia
lukumäärä (keskiarvo ± keskilvirhe)

10	0,9 % NaCl	i.p.	5	10,80 ± 0,66
	0,9 % NaCl	i.p. + prednisoni 0,5 mg/kg/päivä/s.c.	5	1,58 ± 0,58
	PGT 200 mg/kg/päivä i.p.	"	4	8,33 ± 0,77**
	Ia	i.p.	4	9,15 ± 0,68**
	Ib	i.p.	4	9,17 ± 0,68**
15				

** p<0,01 Dunnett'in "t"-testi vastaan immunodepressoitu kontrolliryhmä

000010

001000

Antitoksinen aktiivisuus testattiin määrittämällä keksinnön mukaisten yhdisteiden kyky suojata rottia formaldehydin ja aetaldehydin toksisuuksia vastaan (Sprince et al., Agents and Actions, 9, 407, 1979). COBS CD(SD) -rotille (C. River), jotka painoivat 180-200 g, jotka olivat paastonneet edellisestä illasta, annettiin oraalisesti koeyhdisteitä puoli tuntia ennen ja 5 tuntia jälkeen toksisen aineen oraalista antoa. Formaldehydiä annettiin annoksena 900 mg/kg suun kautta ja aetaldehydiä annoksena 2150 mg/kg suun kautta; kuolleisuus kontrolloitiin 72 tuntiin saakka myöhemmin. Ainoastaan toksisilla aineilla käsiteltyjen ryhmien kuolleisuus oli 90-100 %; yhdisteet Ia ja Ib antoivat tehokkaan suojan annoksella 0,5 mM/kg (2 antoa), suojan ollessa 60 ja 70 % formaldehydiä vastaan ja 70 ja 60 % aetaldehydiä vastaan. Keksinnön mukaisten yhdisteiden aktiivisuus on samanlainen kuin askorbiinihapon ja L-kysteiinin aktiivisuus. Koska aetaldehydi ja formaldehydi käsittävät tärkeän osan tupakan savun sisältämistä toksisista aineista, nämä uudet yhdisteet ovat hyvin tärkeitä kaikkien keuhkopatologioiden hoitamisessa, jotka liittyvät tupakan väärinkäyttöön tai ilman saastumiseen. Radikaaleja vastustava aktiivisuus testattiin doksorubisiinikuolleisuutta vastaan hiiressä (R.D. Olson et al., Life Sci., 29, 1393, 1981). Ryhmiä, jotka käsittivät 10 CD-1 uroshiirtä (C. River), jotka painoivat 18-20 g, käsiteltiin oraalisesti testatuilla yhdisteillä; tuntia myöhemmin annettiin doksorubisiiniä annoksena 22 mg/kg i.p. (10 ml/kg). Käsittely toistettiin testatuilla yhdisteillä 6 tuntia doksorubisiinin antamisen jälkeen samoinkuin päivän kuluttua samalla antotiheydellä (kahdesti päivässä pitäen 7 tunnin väli käsittelyn ja sitä seuraavan käsittelyn välillä). Eläinten kuolleisuus tarkistettiin 14 päivän ajan. Doksorubisiinilla käsitellyn ryhmän kuolleisuus oli 80-90 %; yhdisteet Ia ja Ib, annoksena 0,5 mM/kg suun kautta 4 kertaa kahtena päivänä, antavat 40 ja 50-%:isen suojan kuolleisuutta vastaan, samalla tavalla kuin on saatu vastaavilla L-kysteiinin ja N-asetyylikysteiinin annoksilla.

Keksinnön mukaiset yhdisteet ovat aktiivisia myös parasetamolimyrkytystä vastaan rotalla annoksilla, jotka vastaavat PGT:n annoksia. Niillä on lisäksi radiosuojaavaa aktiivisuutta ionisoivaa säteilyä vastaan samalla tavalla kuin PGT:llä.

5

Keksinnön mukaiset yhdisteet parantavat myös neuroserebraalisia suorituskykyjä ja seksuaalista käyttäytymistä vanhanpuoleisessa rotassa, mihin liittyy latenttisuuden alenemista ja pariutumistiheyden lisääntymistä.

10

Lopuksi, yhdisteitä (I) voidaan käyttää vastustamaan liiallisia hapetusprosesseja kuten sellaisia, jotka johtuvat kroonisista tulehdusprosesseista tai altistumisesta ionisoiville säteilyille.

15

Yhdisteiden (I) akuutit toksisuudet hiirissä ja rotissa, annettuna oraalista ja intraperitoneaalista reittiä, ovat korkeampia kuin 3000 mg/kg, mikä on hyvin alhainen analogisesti PGT:n suhteen.

20

Edellä olevat tulokset osoittavat, että yhdisteitä (I) voidaan käyttää terapiassa joidenkin patologisten tilojen hoitamisessa kuten immuunikadoissa, autoimmuunitaudeissa, bronkopulmonaarisissa patologioissa, radikaalien poistajina, ja ikääntymistapahtumissa.

25

Tämä keksintö koskee myös farmaseuttisia koostumuksia, jotka on sopivasti formuloitu oraalista antoa varten, muodoissa, jotka käsittävät pehmeät ja kovat gelatiinikapselit, pastillit, tabletit, tärkkelyskapselit, tipat, siirapit, pitkäaikaisesti vapautuvat muodot; ja parenteraalista antoa varten muodoissa, jotka käsittävät lyofilisoidut ampullit ja pikkupullot, jotka sisältävät aktiivisia aineosia sisältäviä liuoksia.

30

35

Tämän keksinnön mukaisia farmaseuttisia koostumuksia valmistetaan tavanomaisten tekniikoiden mukaisesti, käyttäen yhteen sopivia farmaseuttisesti hyväksyttäviä kantajia ja täyteai-

neita, ja ne voivat sisältää myös yhdistelmänä muita aktiivisia aineosia, joilla on täydentävä tai joka tapauksessa käyttökelpoinen aktiivisuus.

- 5 Seuraavat rajoittamattomat esimerkit valaisevat edelleen keksintöä.

Esimerkki 1

10 Etyyli-3-L-(L-5-tioksopropyli)tiatsolidiini-4-karboksylaatti
(I, $R_1 = H$, $X = OC_2H_5$) (Ia).

15 Liuokseen, joka sisältää 13,6 g (0,05 moolia) etyyli-3-L-pyroglutamyyli-L-tiatsolidiini-4-karboksylaattia 50 ml:ssa dimetoksietaania, lisätään 10,1 g:aa (0,025 moolia) Lawesson'in reagenssia ja seosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa 45 min. ajan. Reaktioseos suodatetaan ja siihen lisätään yhtä suuri tilavuus etyylietteriä. Seosta sekoitetaan jonkin aikaa, minkä jälkeen tuote kiteytyy, joka kiteytynyt tuote suodatetaan ja pestään dimetoksietaani-etterillä ja kuivataan. 11,3 g (57,6 %) tuotetta saadaan, sul.p. 111-113°C.

20 $C_{11}H_{16}N_2O_3S_2$:n osalta
Lask. C-% = 45,83 H-% = 5,59 N-% = 9,73 S-% = 22,20
Todettu C-% = 45,68 H-% = 5,51 N-% = 9,58 S-% = 22,14
[α]_D²⁰ = -152,63° (C = 1 CHCl₃)

25 ¹H NMR (DMSO/TMS) δ = 1,1 (t, 3H, CH₃); 1,7-2,6 (m, 4H, CH₂-CH₂); 3-3,5 (s, sH, SCH₂-C); 4-4,3 (m, 2H, CH₂CH₃); 4,35 (d, 1H, CHCON); 4,8-5 (m, 3H, N-CH₂-S ja CHCOO), 10,3 (s, 1H, NH).

Esimerkki 2

3-L-(5-tioksopropyli)tiatsolidiini-4-karboksylihappo
(I, $R_1 = H$, $X = OH$) (Ib)

30 Suspensioon, joka sisältää 4,32 g (0,015 moolia) esimerkin 1 mukaista yhdistettä 10 ml:ssa vettä, lisätään pisaroittain 18 ml 1 N NaOH:a. Reaktioseosta sekoitetaan 30 min. ajan huoneen lämpötilassa ja 1,5 tunnin ajan 35-40°C:ssa; seos jäädytetään sen jälkeen 5-10°C:seen, neutraloidaan

1,5 ml:lla 37-%:ista HCl:a. ja erottunut öljy hierretään kiinteäksi. Tuotetta saadaan suodatuksen ja vedestä uudelleenkiteytyksen yhteydessä saannolla 73,2 %; sul.p. 192-193°C.

5 $C_{12}H_{12}N_2O_3S_2$:n osalta

Lask. C-% = 41,52 H-% = 4,68 N-% = 10,76 S-% = 24,68

Todettu C-% = 41,10 H-% = 4,64 N-% = 10,65 S-% = 24,47

$[\alpha]_D^{20} = -130,65^\circ$ (C = 1 MeOH:ssa)

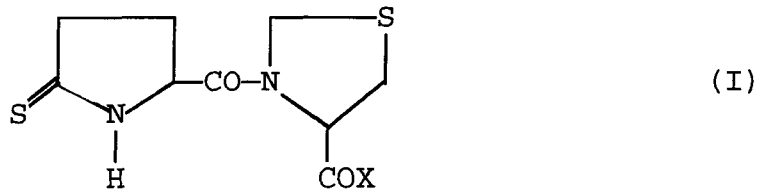
10 ^1H NMR (DMSO/TMS) $\delta = 1,8-2,6$ (m, 4H, $\underline{CH_2CH_2}$); 3,1-3,4 (m, 2H, $\underline{SCH_2C}$); 4,15-4,7 (s, 2H, N- $\underline{CH_2S}$); 4,8-5,1 (m, 2H, $\underline{CHCO}$); 10,2 (s, 1H, $\underline{COOH}$).

Esimerkki 3

15 Sekoitettuun liuokseen, joka sisältää 14,5 g (0,1 moolia) 5-tiokso-L-proliinia (T.P. Andersen et al., Liebigs Ann. Chem., 1986, 269-279) ja 16,1 g (0,1 moolia) etyyli-L-tiatsolidiini-4-karboksylaattia 400 ml:ssa tetrahydrofuraania, jäähdytettyinä 0°C:seen, lisätään pieninä annoksina 20,6 g disykloheksyylikarbodi-imidiä. Reaktioseosta sekoitetaan yhden tunnin ajan 0°C:ssa ja 12 tunnin ajan huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen se suodatetaan, liuotin väkevöidään alipaineessa ja jäännös hierretään kuivaksi etyyliëetterin kanssa, jolloin saadaan 21 g (72,9 %) tuotetta, jolla on samat ominaisuudet kuin mitä saatiin esimerkissä 1.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä yleisen kaavan (I) mukaisten farmaseuttisten 3-L-(5-tiokso-L-prolyyli)tiatsolidiini-4-karboksyylihapon ja sen johdannaisten ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi



jossa kaavassa X on -OH, C₁-C₈-alkoksi, aralkoksi tai dialkyyliamino-C₁-C₁₀-alkoksi, aminoryhmä, alifaattisen primaarisen tai sekundaarisen C₁-C₈-amiinin tähde, joka sisältää valinnaisesti yhden tai useamman kaksois- ja/tai kolmoissidoksen, primaarisen aralkyyliamiinin tähde tai syklisen alifaattisen C₄-C₈-amiinin tähde, jonka välissä on valinnaisesti happiatomi, **tunnettu** siitä, että menetelmä käsittää

(a) 3-L-pyroglutamyli-L-tiatsolidiini-4-karboksyylihapon tai sen johdannaisen reaktion tionoivan aineen kanssa ap-roottisissa liuottimissa, tai

(b) reaktiivisten 5-tioksoproliinijohdannaisten reaktion L-tiatsolidiini-4-karboksyylihapon johdannaisten kanssa ap-roottisissa liuottimissa, valinnaisesti tertiääristen emästen kanssa.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että X on hydroksi-, metoksi-, etoksi, fenoksi, bentsyylioksi-, amino-, etyyliamino-, allyyliamino-, propargyyliamino-, syklopropyyliamino-, pyrrolidino-, piperidino-, morfolino- tai dietyyliaminoryhmä.

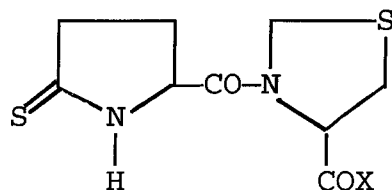
3. Patenttivaatimuksen 1(a) mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan 3-L-(5-tioksoprolyyli)tiatsolidiini-4-karboksylaatti tionoimalla 3-L-pyroglutamyli-L-tiatsolidiini-4-karboksylaatti Lawessonin reagenssilla.

4. Patenttivaatimuksen 1(b) mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan 3-L-(5-tioksoprolyyli)tiatsolidiini-4-karboksylaatti lähtien 5-tiokso-L-proliinista ja L-tiatsolidiini-4-karboksylaattista disykloheksyylikarbodi-imidin läsnäollessa.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan 3-L-(5-tioksoprolyyli)tiatsolidiini-4-karboksyylihappo hydrolysoimalla patenttivaatimuksessa 3 tai 4 saatu yhdiste NaOH:lla.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av farmaceutiska 3-L-(5-tioxo-L-prolyl)tiazolidin-4-karboxylsyra och derivat därav enligt den allmänna formeln (I) och farmaceutiskt acceptabla salter därav



(I)

i vilken formel X är -OH, C₁-C₈-alkoxi, aralkoxi eller dialkylamino-C₁-C₁₀-alkoxi, aminogrupp, en rest av en alifatisk primär eller sekundär C₁-C₈-amin valbart innehållande en eller flera dubbel- och/eller trippelbindningar, en rest av en primär aralkylamin eller en rest av en cyklisk alifatisk C₄-C₈-amin som valbart har en syreatom emellan, **kännetecknat** av att förfarandet omfattar

(a) omsättning av 3-L-pyroglutamyl-L-tiazolidin-4-karboxylsyra eller ett derivat därav med ett tionerande ämne i aprotiska lösningsmedel; eller

(b) omsättning av reaktiva 5-tioxoprolinderivat med derivat av L-tiazolidin-4-karboxylsyra i aprotiska lösningsmedel, valbart med tertiära baser.

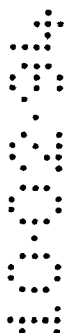
2. Förfarande enligt patentkrav 1, **kännetecknat** av att X är en hydroxi-, metoxi-, etoxi-, fenoxi-, bensyloxi-, ami-

no-, etylamino-, allylamino-, propargylamino-, cyklopropylamino-, pyrrolidino-, piperidino-, morfolino- eller dietylaminogrupp.

5 3. Förfarande enligt patentkrav 1(a), **kännetecknat** av att man framställer ett 3-L-(5-tioxopropyl)thiazolidin-4-karboxylat genom tionering av 3-L-pyroglutamyl-L-thiazolidin-4-karboxylatet med Lawessons reagens.

10 4. Förfarande enligt patentkrav 1(b), **kännetecknat** av att man framställer ett 3-L-(5-tioxopropyl)thiazolidin-4-karboxylat från 5-tioxo-L-prolin och L-thiazolidin-4-karboxylat i närvaro av dicyklohexylkarbodiimid.

15 5. Förfarande enligt patentkrav 1, **kännetecknat** av att man framställer 3-L-(5-tioxopropyl)thiazolidin-4-karboxylsyra genom hydrolysering av föreningen erhållen i patentkrav 3 eller 4 med NaOH.



Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar

880324
900665

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer, utläggnings- och patentskrifter:

FI _____

CH _____

DE A - 3701494 (COTD 207/28)

DK _____

FR A - 2816944 (A61K 32/40)

GB _____

NO _____

SE _____

US _____

EP -A - 322068 (COTD 277/06)

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

9/8 - 95



Allekirjoitus