



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Int. Cl.<sup>3</sup>: C 07 D 275/06

**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



**PATENTSCHRIFT** A5

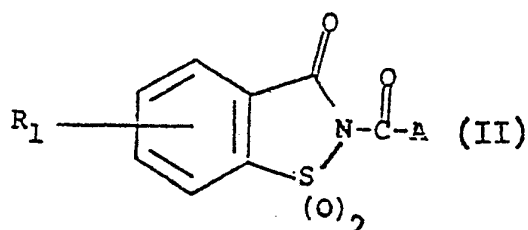
11

**627 461**

<p>②① Gesuchsnummer: 10565/76</p> <p>②② Anmeldungsdatum: 19.08.1976</p> <p>③③ Priorität(en): 20.08.1975 US 606271</p> <p>②④ Patent erteilt: 15.01.1982</p> <p>④⑤ Patentschrift veröffentlicht: 15.01.1982</p>	<p>⑦③ Inhaber: Merck &amp; Co., Inc., Rahway/NJ (US)</p> <p>⑦② Erfinder: Dennis Mulvey, Milford/NJ (US) Howard Jones, Holmdel/NJ (US) Morris Zimmerman, Watchung/NJ (US)</p> <p>⑦④ Vertreter: Bovard &amp; Cie., Bern</p>
---	---

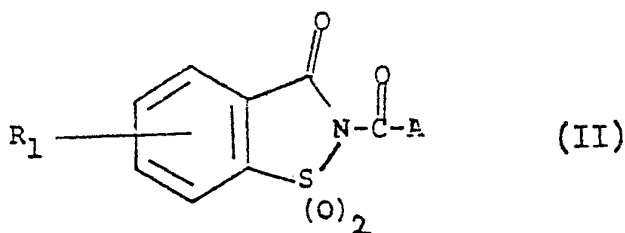
**⑤④ Verfahren zur Herstellung von Acylsaccharinen.**

⑤⑦ Die Verbindungen nebenstehender Formel II, worin die Substituenten die in Anspruch 1 genannte Bedeutung haben, werden hergestellt durch Umsetzen eines Alkalisaccharins mit einem Carbonsäurehalogenid. Die Verbindungen eignen sich zur Herstellung pharmazeutischer Gemische, und sie bewirken eine Elastaseinhibierung und sind daher für die Therapie von Emphysemen und anderen mit Elastaseinhibitoren behandelbaren Störungen geeignet.

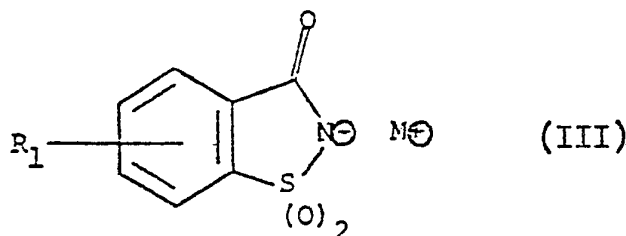


## PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung neuer Verbindungen der Formel II



in der R<sub>1</sub> ein Wasserstoff- oder Halogenatom, einen C<sub>1</sub>-5-Alkoxyrest, eine Aminogruppe, einen C<sub>1</sub>-5-Alkylamino- oder Di-C<sub>1</sub>-5-alkylaminorest, eine Nitrogruppe oder einen C<sub>1</sub>-5-Alkoxy-carbonylrest bedeutet, A einen verzweigten C<sub>3</sub>-10-Alkylrest, einen C<sub>2</sub>-5-Alkenyl-, C<sub>2</sub>-5-Alkynyl- oder Cyclo-C<sub>3</sub>-7-alkylrest, eine Fluorphenylgruppe, einen Heteroarylrest oder einen substituierten Heteroarylrest darstellt, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel III



in der M<sup>+</sup> ein Alkalimetallatom oder (NR'<sub>4</sub>)<sup>+</sup>, wobei R' ein Wasserstoffatom oder einen C<sub>1</sub>-5-Alkylrest darstellt, ist, mit einer Verbindung der Formel IV



in der X ein Chlor-, Brom- oder Jodatome bedeutet, zur Umsetzung bringt.

2. Verfahren nach Patentanspruch 1 zur Herstellung einer Verbindung, worin R<sub>1</sub> ein Wasserstoffatom oder einen C<sub>1</sub>-5-Alkoxy-carbonylrest bedeutet und A einen verzweigten C<sub>3</sub>-10-Alkyl-, C<sub>2</sub>-5-Alkenyl- oder Cyclo-C<sub>3</sub>-7-alkylrest oder eine Fluorphenyl-, Furyl-, substituierte Furyl-, Thienyl- oder substituierte Thienylgruppe bedeutet.

3. Verfahren nach Patentanspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass R<sub>1</sub> ein Wasserstoffatom ist und A eine Vinyl-, Cyclopropyl-, Furyl-, substituierte Furyl-, Thienyl- oder substituierte Thienylgruppe darstellt.

4. Verfahren nach Patentanspruch 3 zur Herstellung von 2-(2-Furoyl)-saccharin oder von 2-(2-Theonyl)-saccharin.

5. Verfahren nach Patentanspruch 2 zur Herstellung von Verbindungen, worin R<sub>1</sub> ein Wasserstoffatom ist und A einen verzweigten C<sub>3</sub>-10-Alkylrest oder eine Fluorphenylgruppe darstellt.

6. Verfahren nach Patentanspruch 5 zur Herstellung von 2-(2-Äthylbutyryl)-saccharin.

Elastase gehört zu den Serinproteasen, einer wichtigen Enzymfamilie innerhalb der Gruppe der proteolytischen Enzyme, deren Mitglieder für die verschiedensten biologischen Aktivitäten, wie die Verdauung, die Blutgerinnung und

Auflösung von Blutgerinnseln, die Immunreaktion gegenüber Fremdzellen und -organismen und die Befruchtung des Eis durch das Spermatozoon, von Bedeutung sind. Die proteolytischen oder proteinspaltenden Enzyme sind Proteine, deren Funktion darin besteht, dass sie andere Proteine durch Aufspaltung in Bruchstücke verändern oder abbauen. Elastase wirkt auf Bindungen ein, welche sich in der Mitte der Proteinkette in Nachbarschaft zu aliphatischen Aminosäuren befinden.

Proteasen können durch Inhibitoren inaktiviert werden, welche die aktive Stelle des Enzyms blockiert, indem sie eng an diese Stelle gebunden werden. Die natürlich vorkommenden Proteaseinhibitoren bilden einen Teil der für das Wohlbefinden des Organismus unerlässlichen Kontroll- oder Abwehrmechanismen, da die Proteaseenzyme jegliches Protein innerhalb ihrer Reichweite (einschliesslich sich selbst) zerstören würden. Die natürlich vorkommenden Enzyminhibitoren nehmen im Bindungsbereich eine dem gebundenen Substrat stark ähnliche Konfiguration an, was teilweise die Ursache für ihre enge Bindung an das Enzym ist; vgl. Stround, «A Family of Protein-Cutting Proteins», Sci. Am. (Juli 1974), Seiten 74 bis 88.

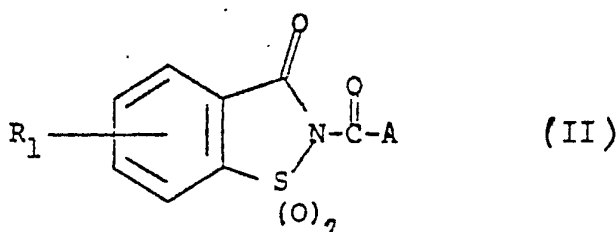
α<sub>1</sub>-Antitrypsin, ein im menschlichen Serum enthaltenes Glycoprotein, besitzt eine breite Inhibierungswirkung, welche sich auf Trypsin, Chymotrypsin, Plasmin, Kallikrein, Elastase, Thrombin und eine Protease von *Aspergillus oryzae* erstreckt. Die ausgeprägte Herabsetzung des Serum-α<sub>1</sub>-antitrypsinspiegels führt zu Lungenemphysemen; vgl. S. Erickson, «Pulmonary emphysema and alpha<sub>1</sub>-antitrypsin deficiency», Acta. Med. Scand. (1964), Seiten 175, 197. Aufgrund späterer Untersuchungen wurde diese Feststellung bestätigt und erweitert; vgl. Morse et al., «A Community Study of the Relation of Alpha<sub>1</sub>-Antitrypsin Levels to Obstructive Lung Diseases», The New England Journal of Medicine, Band 292, Nr. 6, Seite 278 (6. Februar 1975).

Emphyseme wurden experimentell an Versuchstieren durch Einsprühen (Aerosolisierung) des proteolytischen Enzyms Papain in den Tracheobronchialbaum und - in jüngerer Zeit - durch angereicherte Homogenate von polymorphkernigen Hunde-Leukozyten erregt; vgl. Mass et al., «Induction of Experimental Emphysema», American Review of Respiratory Disease, Band 106 (1972), Seite 384. Die resultierenden pathologischen Veränderungen sind den beim Menschen auftretenden Lungenemphysemen sehr ähnlich. In die Luftröhre eingeträufelte Elastase führt ferner zu ausgeprägten Veränderungen des Lungenelastins unter Erweiterung der Alveolargänge Alveolen; vgl. Johanson et al., «Comparison of elastase, collagenase and papain on lung structure and function», Amer. Rev. Resp. Dis. (1971), Seiten 103, 908. Durch Papain erregte Emphyseme wurden beim Hamster durch menschliches α<sub>1</sub>-Antitrypsin (HAAT) inhibiert. Da Papain eine der wenigen Proteinasen ist, welche durch HAAT nicht inhibiert wird, hemmt HAAT die elastaseartigen Enzyme, welche durch die nach der Einwirkung in die Hamsterlungen eindringenden polymorphkernigen Leukozyten und alveolaren Makrophagen freigesetzt werden; vgl. Martorana et al., «Inhibition of Papain-Induced Emphysema in the Hamster by Human Alpha<sub>1</sub>-antitrypsin», Can. J. Physiol. Pharmacol., Band 52, Nr. 3 (1974), Seiten 758 bis 759 und Kaplan et al., «The induction of emphysema with elastase», Journal of Laboratory and Clinical Medicine, Band 82, Nr. 3 (September 1973), Seiten 349 bis 356. Elastaseinhibitoren können zur Kontrolle der bei Emphysemen durch polymorphkernige Leukozyten und alveolare Makrophagen freigesetzten elastaseartigen Enzyme verwendet werden.

Bei rheumatoider Arthritis wurden Antigen/Antikörper-Komplexe in der Gelenkschmiere und als zellplasmatische Einschlüsse in Leukozyten, welche chemotaktisch von den

entzündeten Stellen angezogen werden, festgestellt; vgl. Oronsky et al., «Release of Cartilage Mucopolysaccharide Degrading Neutral Protease from Human Leukocytes», Journal of Experimental Medicine, Band 138 (1973), Seiten 461 bis 472. Polymorphkernige Leukozyten (PMN) dringen in akute Entzündungsexsudate ein und «fressen» die Immunreagentien oder Mikroorganismen. Während der Phagozytose werden die PMN-Enzyme zuweilen aus den Zellen freigesetzt. Wenn die extrazelluläre Freisetzung in einem zur Überwältigung der Wirtinhibitoren ausreichenden Grad erfolgt, kann die durch die PMN-Substanzen verursachte Gewebeschädigung deren günstige Wirkungen stark vermindern. Die neutrale proteolytische Aktivität ist beim Menschen in der Regel hauptsächlich den elastinartigen Enzymen zuzuschreiben; vgl. Janoff, «Alanine p-nitrophenyl esterase activity of human leukocyte granules», Biochemical Journal, 114 (1969), Seiten 157 bis 159. Elastaseinhibitoren können zur Kontrolle der durch PMN bedingten Gewebeschädigung bei durch Elastase verursachten akuten entzündlichen Erkrankungen immunologischen Ursprungs, wie rheumatoider Arthritis, eingesetzt werden.

Eine Elastaseinhibierung kann durch Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge einer Verbindung der allgemeinen Formel II erzielt werden:



in der  $R_1$  ein Wasserstoff- oder Halogenatom, einen  $C_{1-5}$ -Alkoxyrest, eine Aminogruppe, einen  $C_{1-5}$ -Alkylamino- oder Di- $C_{1-5}$ -Alkylaminorest, eine Nitrogruppe oder einen  $C_{1-5}$ -Alkoxy-carbonylrest bedeutet und A einen verzweigten  $C_{3-10}$ -Alkylrest, einen  $X_{2-5}$ -Alkenyl-,  $C_{2-5}$ -Alkynyl- oder Cyclo- $C_{3-7}$ -Alkylrest, eine Fluorphenylgruppe, einen Heteroarylrest oder einen substituierten Heteroarylrest darstellt.

Vorzugsweise ist  $R_1$  ein Wasserstoffatom, A bedeutet einen verzweigten  $C_{3-10}$ -Alkyl-, einen  $C_{2-5}$ -Alkenyl- oder Cyclo- $C_{3-7}$ -alkylrest oder eine Fluorphenyl-, Furyl-, substituierte Furyl-, Thienyl- oder substituierte Thienylgruppe.

Typische Verbindungen, welche Elastase inhibieren und sich daher für die Therapie von Emphysemen und anderen mit Elastaseinhibitoren behandelbaren Störungen bzw. Erkrankungen (wie theumatoider Arthritis) eignen, sind die folgenden neuen Verbindungen:

2-(2-Furoyl)-saccharin,  
2-(2-Thenoyl)-saccharin,  
2-(2-Äthylbutyryl)-saccharin,  
2-(Cyclopropyanoil)-saccharin,  
2-(Acryloyl)-saccharin,  
2-(2-Fluorbenzoyl)-saccharin,  
sowie die folgenden bekannten Verbindungen  
2-(Benzoyl)-saccharin und  
2-(3-Methoxybenzoyl)-saccharin.

Arzneimittel, welche mindestens eine Verbindung der allgemeinen Formel II sowie einen nicht-toxischen, pharmakologisch verträglichen Träger enthalten, können hergestellt werden.

Besonders geeignete Arzneimittel enthalten mindestens eine Verbindung der allgemeinen Formel II sowie einen

nicht-toxischen, pharmakologisch verträglichen Träger.

Die Elastaseinhibierung und Emphysemenbehandlung mit Hilfe der genannten Arzneimittel erfolgt dadurch, dass man dem Patienten eine Verbindung der allgemeinen Formel II (oder durch Gemisch solcher Verbindungen) in einem nicht-toxischen, pharmakologisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel oral, rektal, parenteral oder (insbesondere) topisch (lokal) verabfolgt.

Die verwendeten nicht-toxischen, pharmakologisch verträglichen Träger können z.B. Feststoffe oder Flüssigkeiten darstellen. Spezielle Beispiele für feste Träger sind Milchsucker, Maisstärke, Gelatine, Talk, Sterotix, Stearinsäure, Magnesiumstearat, Terra alba, Rohrzucker, Agar, Pektin und Gummiarabikum. Spezielle Beispiele für flüssige Träger (Verdünnungsmittel) sind Erdnussöl, Olivenöl, Sesamöl und Wasser. Der Träger oder das Verdünnungsmittel kann auch ein Verzögerungsmittel, wie Glycerinmonostearat oder Glycerindistearat, allein oder mit einem Wachs, enthalten.

Die Arzneimittel können verschiedene pharmazeutisch geeignete Formen aufweisen. Bei Verwendung eines festen Trägers können die Präparate beispielsweise die Form von Tabletten, Kapseln, Pulvern, Trochisci oder Pastillen, welche nach den herkömmlichen pharmazeutischen Methoden hergestellt werden, aufweisen. Bei Verwendung eines flüssigen Trägers können die Präparate in Form von weichen Gelatinekapseln, Sirups, Lösungen, Emulsionen oder Suspensionen vorliegen; bevorzugt werden Flüssigkeiten, welche als Aerosol oder Nebel versprüht wird. Suppositorien können in üblicher Weise durch Vermischen der wirksamen Verbindungen mit einem geeigneten, nicht-reizenden, bei Raumtemperatur festen Bindemittel (Excipients) hergestellt werden. Spezielle Beispiele für geeignete Bindemittel sind Kakao-butter und Polyäthylenglykol. Auch Gele, Lotionen und Aerosolsprays für lokale Zwecke können in üblicher Weise erzeugt werden.

Die aktiven Verbindungen werden in einer therapeutisch wirksamen, zur Inhibierung der Elastase ausreichenden Menge verabreicht. Durch die Elastaseinhibierung behandelbar sind beispielsweise Emphyseme; demgemäß entspricht die zur Elastaseinhibierung erforderliche Wirkstoffmenge der für die Emphysementherapie benötigte Menge. Die aktiven Verbindungen werden zweckmässig (allein oder in Form eines pharmazeutischen Präparats) in einer Dosis von etwa 1 bis 100 mg/kg Körpergewicht/Tag (50 mg bis 5 g pro Patient und Tag), vorzugsweise von etwa 1,5 bis 15 mg/kg Körpergewicht/Tag, verabreicht. Die Tagesdosis kann entweder in Form einzelner oder mehrfacher Dosen verabfolgt werden.

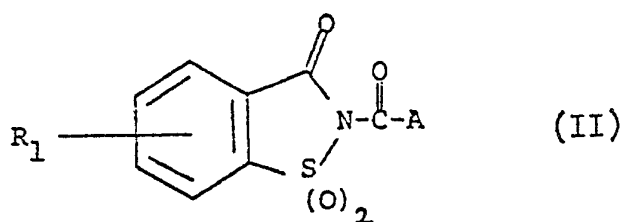
Die wirksamen Verbindungen werden somit im Gemisch mit nicht-toxischen, pharmakologisch verträglichen Trägern (wie sie vorstehend beispielhaft angeführt wurden) dem Patienten oder zu behandelnden Tier verabreicht. Obwohl bevorzugte Dosisbereiche angegeben wurden, hängt die geeignete Dosis für jeden bestimmten Patienten von der Wirksamkeit der jeweils angewendeten Verbindung ab. Der mit dem therapeutischen Einsatz von Arzneistoffen (insbesondere der vorgenannten) vertraute Arzt hat ferner zahlreiche weitere, die Wirkung der Stoffe beeinflussende Faktoren zu berücksichtigen, beispielsweise das Körpergewicht, das Geschlecht, die Diät, den Verabfolgungszeitpunkt und -weg, die Ausscheidungsgeschwindigkeit, die jeweilige Wirkstoffkombination, die empfindlichen Reaktionen und die Schwere der jeweiligen Erkrankung.

Der nachstehend erläuterte in-vitro-Test veranschaulicht die Fähigkeit der Verbindungen der allgemeinen Formel II zur Inhibierung von Elastase. Die Fähigkeit dieser elastaseinhibierenden Verbindungen zur Hemmung von Emphysemen beruht auf der Befähigung von 2-(2-Furoyl)-saccharin (einer

typischen erfindungsgemässen Verbindung) zur Inhibierung von Emphysemen. Getestet werden die Inhibierung von durch Papain erregten Emphysemen nach der im folgenden beschriebenen Prüfmethode (vgl. auch die vorgenannte Literaturstelle Martorana et al., «Inhibition of Papai-Induced Emphysema in the Hamster by Human Alpha<sub>1</sub>-antitrypsin») sowie die Inhibierung von durch Elastase erregten Emphysemen nach der im folgenden beschriebenen Prüfmethode. Aufgrund der nachstehend angeführten Testergebnisse stellen die Verbindungen der allgemeinen Formel II Elastaseinhibitoren dar und können zur Behandlung vom Emphysemen und anderen mit Elastaseinhibitoren behandelbaren Erkrankungen, wie rheumatoider Arthritis, verwendet werden. Die nachstehend beschriebene Testmethode für durch Papain erregte Emphyseme beim Hamster ist ein typisches Beispiel für die anerkannten Verfahren zur experimentellen Emphyseminduzierung mit Papain beim Hamster, wie jenes von Goldring et al., «Sequential Anatomic Changes in Lungs Exposed to Papain and other Proteolytic Enzymes», Seiten 389 bis 410 in «Pulmonary Emphysema and Proteolysis» (1972), Verlag C. Mittman, Academic Press, Inc., New York und London.

Die nachstehend beschriebene Testmethode für durch Elastase induzierte Emphyseme beim Hamster ist ein typisches Beispiel für die anerkannten Verfahren zur experimentellen Emphysemerregung durch Elastase beim Hamster, wie jenes von Kaplan et al., J. Lab. Clin. Med. 82 (1973), Seiten 349 bis 356.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung der neuen Verbindungen der allgemeinen Formel II



in der R<sub>1</sub> ein Halogenatom, wie ein Fluor-, Chlor- oder Bromatom, einen C<sub>1-5</sub>-Alkoxyrest, wie eine Methoxy-, Äthoxy- oder Propoxygruppe, einen C<sub>1-5</sub>-Alkylaminorest, wie eine N-Methylamino- oder N-Äthylaminogruppe, einen Di-C<sub>1-5</sub>-alkylaminorest, wie eine N,N-Dimethylamino- oder N,N-Diäthylaminogruppe, einen C<sub>1-5</sub>-Alkoxy-carbonylrest, wie eine Methoxycarbonyl- oder Äthoxycarbonylgruppe, eine Amino- oder Nitrogruppe oder (insbesondere) ein Wasserstoffatom bedeutet, und

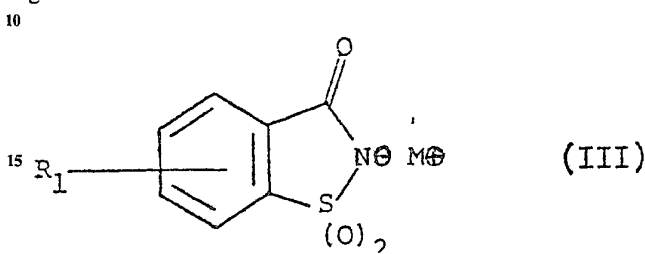
A einen verzweigten C<sub>3-10</sub>-Alkylrest, wie eine Isopropyl-, Isobutyl-, Isopentyl-, Isohexyl-, tert.-Butyl-, 2-Äthylbutyl-, 2-Äthylpentyl- oder (insbesondere) 2-Äthylpropylgruppe, einen C<sub>2-5</sub>-Alkenylrest, wie eine Allyl-, Propenyl- oder (insbesondere) Vinylgruppe, einen C<sub>2-5</sub>-Alkynylrest, wie eine Äthynyl-, 1-Propinyl- oder 2-Propinylgruppe, einen Cyclo-C<sub>3-7</sub>-alkylrest, wie eine Cyclobutyl-, Cyclopentyl-, Cyclohexyl-, Cycloheptyl- oder (insbesondere) Cyclopropylgruppe, eine Fluorphenylgruppe, wie eine 3-Fluorphenyl-, 4-Fluorphenyl-, 2,4-Difluorphenyl- oder (insbesondere) 2-Fluorphenylgruppe, einen Heteroarylrest, wie eine Pyrrolyl-, Pyridyl-, Pyranlyl- oder (insbesondere) Furyl- oder Thienylgruppe, oder einen substituierten Heteroarylrest, wie eine Sulfofuryl- oder N,N-Diäthylaminomethylfurylgruppe, darstellt.

Vorzugsweise ist R<sub>1</sub> ein Wasserstoffatom oder ein C<sub>1-5</sub>-Alkoxy-carbonylrest und A bedeutet einen verzweigten C<sub>3-10</sub>-Alkylrest, einen C<sub>2-5</sub>-Alkenyl- oder Cyclo-C<sub>3-7</sub>-Alkylrest,

eine Fluorphenyl-, Furyl-, substituierte Furyl-, Thienyl- oder substituierte Thienylgruppe.

Besonders bevorzugt ist R<sub>1</sub> ein Wasserstoffatom und A bedeutet einen verzweigten C<sub>3-10</sub>-Alkylrest oder eine Fluorphenylgruppe.

Das erfindungsgemässe Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass – vorzugsweise durch Kochen unter Rückfluss in einem geeigneten Lösungsmittel – eine Verbindung der allgemeinen Formel III



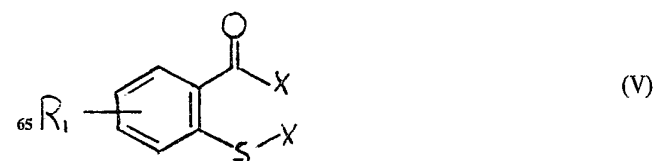
in der M<sup>+</sup> ein Alkalimetallatom oder (NR'<sub>4</sub>)<sup>+</sup>, wobei R' ein Wasserstoffatom oder ein C<sub>1-5</sub>-Alkylrest ist, bedeutet, mit einer Verbindung der allgemeinen Formel IV



in der X ein Chlor-, Brom- oder Jodatome darstellt, umgesetzt wird.

Das inerte Lösungsmittel soll wasserfrei sein und kann einen Kohlenwasserstoff, wie Hexan, Benzol, Toluol oder Xylol, einen C<sub>1-5</sub>-Alkyläther, wie Diäthyläther, einen heterocyclischen Äther, wie Dioxan oder (insbesondere) Tetrahydrofuran (THF), ein tertiäres Amid, wie Dimethylformamid, Dimethylacetamid oder Hexamethylphosphoramid, ein Keton, wie Aceton oder Methyläthylketon, oder Mischungen davon darstellen. Die Umsetzung kann bei Temperaturen von etwa 0 bis 250°C durchgeführt werden; man arbeitet vorzugsweise bei der Rückflusstemperatur des Lösungsmittels. Die Reaktionsdauer ist nicht ausschlaggebend; man führt die Umsetzung vorzugsweise bis zum praktisch vollständigen Ablauf durch. Der Druck ist ebenfalls nicht kritisch; im allgemeinen wird die Umsetzung bei Atmosphärendruck im offenen System vorgenommen. Das Reaktionsprodukt kann in üblicher Weise isoliert werden, beispielsweise durch Abfiltrieren des gebildeten Salzes und anschliessende Lösungsmittelabtrennung.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel III können durch Umsetzung von 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-1,1-dioxid (unter der Bezeichnung «Saccharin» bekannt) mit einem feinteiligen Alkalimetall (wie Natrium oder Kalium) hergestellt werden. Man kann die Verbindungen der allgemeinen Formel III auch durch Umsetzung des 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-1,1-dioxids mit einem Alkali-hydrid (wie Natrium- oder Kaliumhydrid) erzeugen. Das 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-1,1-dioxid kann durch Umsetzung einer Verbindung der allgemeinen Formel V mit Ammoniak und anschliessende Oxidation hergestellt werden.



X bedeutet Chlor, Brom oder Jod.

Die verschiedenen Reste  $R_1$  können nach herkömmlichen Methoden (wie nachstehend erläutert) in den Benzolkern eingeführt werden.

Die verwendeten Ausgangsverbindungen sind in der Literatur beschrieben und stellen häufig Handelsprodukte dar (mit Ausnahme der nachstehend angeführten Fälle). Die Einführung der verschiedenen Reste  $R_1$  in den Benzolring erfolgt nach herkömmlichen Methoden, beispielsweise durch Nitrierung (im Falle der Nitrogruppe), Reduktion der Nitrogruppe mit Wasserstoff und einem Katalysator, wie Raney-Nickel, feinteiligem Platin oder Palladium, oder mit feinteiligem Zinn und Salzsäure, reduzierende Alkylierung mit einem  $C_{1-5}$ -Alkylaldehyd (zur Einführung eines  $C_{1-5}$ -Alkylamino- oder Di- $C_{1-5}$ -alkylaminorests), wobei die Hydrierung in Gegenwart eines  $C_{1-5}$ -Alkylaldehyds erfolgt, oder Diazotierung der Aminogruppe und anschließende Umsetzung mit:

(a) Wasser und Schwefelsäure unter Erwärmen auf  $95^\circ\text{C}$  (zur Einführung der Hydroxylgruppe),

(b) Kaliumjodid unter Erwärmen auf  $95^\circ\text{C}$  (zur Einführung des Jodatoms),

(c) Kupfer(I)-chlorid (zur Einführung des Chloratoms),

(d) Kupfer(I)-cyanid und Kaliumcyanid (zur Einführung der Cyangruppe),

(e) Bromwasserstoffsäure und Kupfermetallpulver (zur Einführung des Bromatoms),

(f) Kupferpulver oder Zink und Benzol (zur Einführung der Phenylgruppe),

(g) Natriumarsenit (zur Einführung der Arsonatgruppe),

(h) Kaliummercaptid (zur Einführung der Mercapto-  
gruppe),

(i) Thioglykolsäure (zur Einführung der Carboxymethyl-  
thiogruppe) oder

(j) Natriumazid (zur Einführung der Azidgruppe).

Die 3-Oxo-1,2-benzisothiazoline können durch Oxidation mit einem geeigneten Oxidationsmittel, wie Wasserstoffperoxid oder Kaliumpermanganat, in die entsprechenden 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-1,1-dioxide (auch unter der Bezeichnung «Saccharine» bekannt) umgewandelt werden.

Die nachstehenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern, ohne sie jedoch zu beschränken. Sämtliche vorkommenden Teilangaben beziehen sich auf das Gewicht, sofern es nicht anders angegeben ist.

#### Beispiel 1

##### 4-Sulfo-2-furoylchlorid

0,1 Mol 4-Sulfo-2-furansäure wird 40 Min. bei  $60^\circ\text{C}$  mit 30 ml Thionylchlorid gerührt. Beim Eindampfen des Reaktionsgemisches zur Trockene erhält man 4-Sulfo-2-furoylchlorid.

#### Beispiel 2

##### 5-(N,N-Diäthylaminomethyl)-2-furoylchlorid

A) Äthyl-5-(N,N-diäthylaminomethyl)-2-furoat  
0,1 Mol Äthyl-5-(chloromethyl)-2-furoat wird mit 0,25 Mol Diäthylamin 1 Std. in 40 ml Benzol unter Rückfluss gekocht. Anschliessend filtriert man die Benzollösung und wäscht mit

Wasser. Die organische Schicht wird abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Man filtriert das Magnesiumsulfat ab und dampft das Filtrat zur Trockene ein. Bei der Destillation des Rückstands erhält man eine reine Fraktion von Äthyl-5-(N,N-diäthylaminomethyl)-2-furoat vom Kp.  $97$  bis  $106^\circ\text{C}/0,1$  mm Hg.

B) 5-(N,N-Diäthylaminomethyl)-2-furoylchlorid  
0,1 Mol des Äthyl-5-(N,N-diäthylaminomethyl)-2-furoats von 2A) in 10%iger wässrig-äthanolischer (50:50) Natronlauge wird 20 Min. unter Rückfluss gekocht und anschliessend abgekühlt. Man dampft das Äthanol ab, extrahiert die wässrige Schicht mit Äthylacetat und stellt sie mit 0,1n Schwefelsäure auf einen pH-Wert von 7 ein. Dann dampft man die wässrige Lösung zur Trockene ein und kocht den pulverigen Rückstand 4 Std. in 60 ml Thionylchlorid. Anschliessend dampft man das Reaktionsgemisch zur Trockene ein und extrahiert das Säurechlorid-hydrochlorid mit einem Gemisch aus gleichen Teilen Äthylacetat und Isopropanol. Beim Eindampfen der Äthylacetatlösung erhält man 5-(N,N-Diäthylaminomethyl)-2-furoylchlorid-hydrochlorid.

#### Beispiel 3

##### 2-(2-Furoyl)-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäure-methylester-1,1-dioxid

A) 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester  
Eine Lösung von 19,5 g (0,1 Mol) 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäure in 40 ml Isopropanol wird bei  $0^\circ\text{C}$  unter Rühren innerhalb von 10 Min. mit einem Überschuss einer Ätherlösung von Diazomethan versetzt. Beim Eindampfen des Reaktionsgemisches zur Trockene erhält man den 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester in Form eines Öls.

##### B) 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid

Man löst den 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester von Beispiel 3A) in Äthylacetat und versetzt die Lösung mit zwei Äquivalenten 3 vol.-%igem wässrigem Wasserstoffperoxid. Die organische Schicht wird abgetrennt und getrocknet. Das 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid wird durch Abdampfen des Lösungsmittels isoliert.

##### C) 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid-natriumsalz

0,1 Mol des 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxids von Beispiel 3B) werden in 40 ml Benzol gelöst. Die Lösung wird innerhalb von 1 Std. unter Kühlung mit 3,5 g (0,15 Mol) Natriummetall versetzt. Das 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid-natriumsalz wird abfiltriert und getrocknet.

##### D) 2-(2-Furoyl)-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid

Ein Gemisch von 0,1 Mol 2-Furoylchlorid und des 3-Oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid-natriumsalzes von Beispiel 3C) wird 3 Std. in 100 ml Tetrahydrofuran unter Rückfluss gekocht. Anschliessend wird das Reaktionsgemisch heiss filtriert. Beim Eindampfen des Filtrats erhält man das Produkt, welches mit Äther angerieben und an der Luft getrocknet wird. Man erhält 2-(2-Furoyl)-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid.

Wenn man im vorstehenden Beispiel anstelle von 2-Furoylchlorid jeweils die äquivalente Menge 2-Thenoylchlorid, 3-Methoxybenzoylchlorid, Benzoylchlorid, Piva-

loylchlorid, 2-Äthylbutyrylchlorid, Acryloylchlorid, Cyclopropylcarbonylchlorid, 2-Fluorbenzoylchlorid, 4-Sulfo-2-furoylchlorid bzw. 5-(N,N-Diäthylaminomethyl)-2-furoylchlorid einsetzt, erhält man in analoger Weise 2-(2-Thenoyl)-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid, 2-(3-Methoxybenzoyl)-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid, 2-Benzoyl-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid, 2-Pivaloyl-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid, 2-(2-Äthylbutyryl)-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid, 2-Acryloyl-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid, 2-Cyclopropylcarbonyl-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid, 2-(2-Fluorbenzoyl)-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid, 2-(4-Sulfo-2-furoyl)-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid bzw. 2-[5-N,N-Diäthylaminomethyl]-2-furoyl]-3-oxo-1,2-benzisothiazolin-6-carbonsäuremethylester-1,1-dioxid.

#### Beispiel 4

##### 2-Fluorbenzoyl-saccharin

##### A) 2-Fluorbenzoylchlorid

Ein Gemisch von 14 g (0,1 Mol) 2-Fluorbenzoesäure und 30 ml Thionylchlorid wird in 70 ml Benzol 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Anschliessend wird das Gemisch abgekühlt und im Vakuum eingedampft. Man erhält das 2-Fluorbenzoylchlorid in Form einer Flüssigkeit.

Wenn man anstelle von 2-Fluorbenzoesäure jeweils die äquivalente Menge 2-Carboxythiophen, 3-Methoxybenzoesäure bzw. Benzoesäure einsetzt, erhält man in analoger Weise 2-Chlorcarbonylthiophen (2-Thenoylchlorid), 3-Methoxybenzoylchlorid bzw. Benzoylchlorid.

##### B) 2-(2-Fluorbenzoyl)-saccharin

Ein Gemisch des 2-Fluorbenzoylchlorids von Beispiel 4A) und 18,5 g (0,09 Mol) Natriumsaccharin wird in 100 ml Tetrahydrofuran über Nacht unter Rückfluss gekocht. Das Reaktionsgemisch wird anschliessend heiss filtriert und das Filtrat zu einem teilweise festen und teilweise öligen Produkt eingedampft. Dieses wird mit Äther angerieben und luftgetrocknet. Man erhält 10,3 g 2-(2-Fluorbenzoyl)-saccharin vom Fp. 148 bis 151°C.

Wenn man anstelle von 2-Fluorbenzoylchlorid jeweils die äquivalente Menge 2-Thenoylchlorid, 3-Methoxybenzoylchlorid, Benzoylchlorid, Pivaloylchlorid, 2-Äthylbutyrylchlorid, Acryloylchlorid, Cyclopropylcarbonylchlorid, 2-Furoylchlorid, 4-Sulfo-2-furoylchlorid bzw. 5-(N,N-Diäthylaminomethyl)-2-furoylchlorid einsetzt, erhält man in analoger Weise 2-(2-Thenoyl)-saccharin (Fp. 127 bis 131°C), 2-(3-Methoxybenzoyl)-saccharin (Fp. 129 bis 131°C), 2-(Benzoyl)-saccharin (Fp. 156 bis 159°C), 2-(Pivaloyl)-saccharin (Fp. 209 bis 210°C), 2-(2-Äthylbutyryl)-saccharin (Fp. 82 bis 83°C), 2-(Acryloyl)-saccharin (Fp. 177 bis 180°C), 2-(Cyclopropylcarbonyl)-saccharin (Fp. 203 bis 205°C), 2-(Furoyl)-saccharin (Fp. 133 bis 135°C), 2-(4-Sulfo-2-furoyl)-saccharin (Fp. 220 bis 223°C) bzw. 2-[5-(N,N-Diäthylamino-methyl)-2-furoyl]-saccharin.

Durch Papain erregte Emphyseme beim Hamster

Für den Test werden männliche syrische Hamster mit einem Gewicht von jeweils 70 bis 90 g verwendet. Die Tiere haben ausser in der Testkammer beliebigen Zugang zur Nah-

runge und Wasser. Man anästhesiert die Tiere durch intraperitoneale Verabreichung von Pentobarbital (60 mg/kg). Dann werden Kochsalzlösung (Vergleichstest) oder 2-(2-Foroyl)-saccharin (suspendiert in destilliertem Wasser) in Dosen von 0,3, 1 bzw. 3 mg durch ein leicht gekrümmtes Kapillarrohr (Kimax-51 Nr. 34500) in die Luftröhre (intratracheal) eingegeben. Ein 5-cm-Stück eines am distalen Ende des Kapillarrohres befestigten Polyäthylenschlauchs (Intramedic PE 205) wird in eine Ampulle eingetaucht, welche 0,2 ml der jeweiligen Suspension enthält. Aufgrund der Atmung der Versuchstiere werden die Flüssigkeiten innerhalb einiger Sekunden inhaliert. Nach etwa 40 Min. werden die Versuchstiere 3 Std. einem Aerosol von destilliertem Wasser oder 3% Papain (Matheson, Coleman and Bell) ausgesetzt. Das Aerosol wird durch zwei Vernebler (DeVilbiss 40) erzeugt, welche an die Seiten einer 28-Liter -Kammer angeschlossen sind und bei einem Druck von 0,7 kp/cm<sup>2</sup> (10 psi) betrieben werden. Während dieser Periode verwendet man 80 bis 100 ml Lösung.

Sieben Tage nach der Aerosolbehandlung werden die Versuchstiere mit einer Überdosis von Pentobarbital getötet und durch Inzision der Nierenarterien ausbluten gelassen. Die Lungen werden exzidiert, gewogen und in einen zylindrischen 0,45-Liter-Blutfarbemesser eingegeben, wobei die Luftröhre mit einem Leitungsrohr verbunden wird. Dieses wird an eine Respirationspumpe (E & M Inst. Co., Houston, Texas) angeschlossen, welche so modifiziert ist, dass sie eine statische Aufblasung und Entspannung der Lungen gestattet. Der transpulmonäre Druck wird auf der Abszisse eines Honeywell 530 x-y-Registriergeräts durch einen volumetrischen Grass-Druckumwandler (PT 5A) aufgezeichnet. Die Änderungen des Lungenvolumens werden auf der Ordinate eines Spirometers (Kapazität 10 ml), welches an einen Harvard-Linearbewegungsumwandler angeschlossen ist, aufgezeichnet.

Die spezifische statische Nachgiebigkeit (specific static compliance; SSC) der Lungen wird wie folgt bestimmt. Die Lungen werden bis zu einem Druck von 20 cm H<sub>2</sub>O aufgeblasen und anschliessend in Abständen von 30 Sek. in Stufen von jeweils 5 cm H<sub>2</sub>O Druck entspannt. Der Prozess wird wiederholt: die zweite Druck-Volumenentspannungs-Kurve wird für die Analyse herangezogen. Der Wert für SSC wird sodann nach der Formel  $\Delta V / \Delta P \times W$  berechnet, wobei  $\Delta V$  die Änderung des Lungenvolumens (in ml) nach der Druckänderung ( $\Delta P$ ) von 5 auf 0 cm H<sub>2</sub>O und W das Nassgewicht der Lunge (in g) bedeuten.

Anschliessend werden die Lungen entgast, intratracheal mindestens 48 Std. bei einem konstanten Druck von 15 cm H<sub>2</sub>O mit Formalin fixiert und anschliessend bei demselben Druck entwässert. Sämtliche Lungen werden in Toluol gereinigt und im Vakuum in Paraffin eingebettet. Jedes Lungenpaar wird zusammengefügt. Von jeder Lunge werden zwei laterosagittale Schnitte (6  $\mu$ ) hergestellt und mit Hämatoxylin und Eosin eingefärbt. Das Ausmass der emphysematischen Läsionen wird quantitativ durch Messung der durchschnittlichen intra-alveolaren Distanz (mittlerer linearer Abschnitt von Lm) bestimmt. Man untersucht insgesamt 20 regellos ausgewählte histologische Bereiche sowohl vertikal als auch horizontal und korrigiert die Werte anschliessend hinsichtlich der Verformung und Schrumpfung. Die am Lungenvolumen (V) nach der Fixierung gemessene und auf ein willkürlich gewähltes Gesamtlungenvolumen von 3 ml (ISA<sub>3</sub>) korrigierte innere Oberfläche der Lungen wird nach der Formel  $4V/Lm$  berechnet. Bei allen Untersuchungen besteht die statistische Auswertung in einer Unstimmigkeitsanalyse, wobei die Signifikanz bei  $p \leq 0,05$  angenommen wird.

Die Resultate der physiologischen und histologischen Tests für alle Versuchstiergruppen sind aus Tabelle I ersichtlich. Sowohl die physiologischen als auch histologi-

schen Methoden zeigen, dass 2-(2-Furoyl)-saccharin die Entwicklung der emphysematischen Läsionen verhindert. Die Inhibierung ist dosisabhängig, tritt jedoch nur bei intratrachealen Dosen von 1 und 3 mg 2-(2-Furoyl)-saccharin deutlich in Erscheinung. Die maximale Wirkung wird im Falle der letzteren Dosis beobachtet (74, 84 bzw. 65% Inhibierung der Änderungen von SSC, Lm bzw. ISA<sub>3</sub>).

Durch Elastase erregte Emphyseme beim Hamster

Man verwendet männliche syrische Hamster mit einem Gewicht von jeweils 70 bis 90 g. Zur Induzierung der Emphyseme wird Schweinepankreas-Elastase (Worthington Biochemical Corp., N.J.) eingesetzt. Den mit Pentobarbitalnatrium (60 mg/kg; i.p.) anästhesierten Versuchstieren wird eine Dosis von 0,1 ml (suspendiert in 0,2 ml destilliertem Wasser) intratracheal verabreicht. Etwa 5 bis 10 Min. vor der intratrachealen Verabfolgung wird 2-(2-Furoyl)-saccharin der Elastasesuspension einverleibt. Die nur eine Elastasesuspension

erhaltenden Hamster dienen als emphysematische Vergleichstiere, während eine andere Gruppe, welcher 0,2 ml Kochsalzlösung verabfolgt wird, als unbehandelte Vergleichstiere herangezogen werden. Nach 7 Tagen werden die Tiere getötet.

Das Ausmass der emphysematischen Läsionen in den Lungen wird quantitativ durch Messung von Lm nach der vorstehend beschriebenen Methode bestimmt.

Bei allen Untersuchungen besteht die statistische Auswertung in einer Unstimmigkeitsanalyse, wobei die Signifikanz bei  $P \leq 0,05$  angenommen wird (Unstimmigkeit = Varianz).

Tabelle II zeigt die resultierenden histologischen Veränderungen für alle Versuchstiergruppen. Man erkennt, dass bei einem Zusatz von 0,03 bis 0,3 mg 2-(2-Furoyl)-saccharin zur Elastase vor der intratrachealen Verabreichung ein teilweiser, jedoch statistisch signifikanter Schutzeffekt erzielt wird, während 1 mg 2-(2-Furoyl)-saccharin die Entwicklung von emphysematischen Lungenläsionen vollständig verhindert.

Tabelle I

#### Physiologische Tests

Gruppe	Anzahl der Versuchstiere	S.S.C. $\Delta V / \Delta P \times W$ Mittelwert $\pm$ Standardabweichung	% Inhibierung
(A) Kochsalzlösung (i.tr.) + Wasseraerosol	5	0,252 $\pm$ 0,020*	–
(B) Kochsalzlösung (i.tr.) + Papainaaerosol	12	0,672 $\pm$ 0,042	–
(C) 0,3 mg 2-(2-Furoyl)-saccharin (i.tr.) + Papainaaerosol	10	0,529 $\pm$ 0,041	34
(D) 1 g 2-(2-Furoyl)-saccharin (i.tr.) + Papainaaerosol	10	0,471 $\pm$ 0,039*	48
(E) 3 mg 2-(2-Furoyl)-saccharin (i.tr.) + Papainaaerosol	7	0,360 $\pm$ 0,017*	74

\*  $p < 0,05$  gegenüber der Gruppe mit Kochsalzlösung (i.tr.) + Papainaaerosol.

i.tr. = intratracheal (in die Luftröhre).

#### Histologische Tests

Gruppe	Lm, $\mu$ Mittelwert $\pm$ Standardabweichung	% Inhibierung	I.S.A. <sub>3</sub> , cm <sup>2</sup> Mittelwert $\pm$ Standardabweichung	% Inhibierung
A	80,32 $\pm$ 2,63*	–	1600 $\pm$ 58*	–
B	106,39 $\pm$ 3,60	–	1155 $\pm$ 29	–
C	88,44 $\pm$ 2,54*	69	1400 $\pm$ 38*	58
D	90,87 $\pm$ 2,40*	59	1344 $\pm$ 34*	42
E	84,39 $\pm$ 2,58*	84	1445 $\pm$ 54*	65

\*  $p < 0,05$  gegenüber der Gruppe mit Kochsalzlösung (i.tr.) + Papainaaerosol.

i.tr. = intratracheal (in die Luftröhre).

Tabelle II

Gruppe	Anzahl der Versuchs- tiere	Lm ( $\mu$ ) Mittelwert $\pm$ Standardabwe- chung	$\Delta$ Lm ( $\mu$ )	% Inhibie- rung von $\Delta$ Lm
Kochsalzlösung (i.tr.)	6	79,72 $\pm$ 2,43*	-	-
0,1 mg Elastase (i.tr.)	6	113,02 $\pm$ 6,74*	+33	-
0,1 mg Elastase + 0,03 mg 2-(2-Furoyl)-saccharin (i.tr.)	4	96,61 $\pm$ 3,22*	+17	48
0,1 mg Elastase + 0,1 mg 2-(2-Furoyl)-saccharin (i.tr.)	5	94,34 $\pm$ 4,31*	+15	54
0,1 mg Elastase + 0,3 mg 2-(2-Furoyl)-saccharin (i.tr.)	5	96,27 $\pm$ 2,36*	+16	51
0,1 mg Elastase + 1 mg 2-(2-Furoyl)-saccharin (i.tr.)	5	77,68 $\pm$ 2,54*	- 2	100

\*  $p < 0,05$  gegenüber der Gruppe mit 0,1 mg Elastase (i.tr.).

i.tr. = intratracheal (in die Luftröhre).