



NORGE

(12) PATENT

(19) NO

(11) 312961

(13) B1

(51) Int Cl⁷ C 07 D 261/12, 261/18, 275/03, 413/04,
C 07 D 417/04, A 61 K 31/41

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19991561	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	1997.10.03, PCT/DK97/00426
(22) Inng. dag	1999.03.30	(85) Videreføringdag	1999.03.30
(24) Løpedag	1997.10.03	(30) Prioritet	1996.10.04, DK, 1092/96
(41) Alm. tilgj.	1999.06.04		
(45) Meddelt dato	2002.07.22		

(71) Patenthaver	H Lundbeck A/S, Ottiliavej 9, DK-2500 Valby-København, DK
(72) Oppfinner	Benny Bang-Andersen, DK-2200 København N, DK Klaus Peter Bøgesø, DK-2970 Hørsholm, DK Povl Krogsgaard-Larsen, DK-3450 Allerød, DK Sibylle Moltzen Lenz, DK-2820 Gentofte, DK
(74) Fullmektig	Oslo Patentkontor AS, 0306 Oslo

(54) Benevnelse **3-alkoksyisoksazol-4-yl-substituerte 2-aminokarboksylysyreforbindelser**

(56) Anførte publikasjoner Ingen

(57) Sammendrag

(3-Alkoksyisoksazol-4-yl)-substituerte 2-amino-karboksylysyrederivater og svovelanaloger derav med generell formel (I) eller (II), hvor R_1 er hydrogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalk(en)yl, cykloalk(enyl-alk(en/yn)yl, eller valgfritt substituert fenyl-alk(en/yn)yl; A er en binding eller en hydrogen avstandsgruppe; B er en gruppe $-CR_a(NR_bR_c)-COOR_s$, hvor R_a-R_c er uavhengighydrogen eller alkyl, og R_s er definert som R_1 eller pivalouyoksymetyl, eller B er en gruppe med formel (III), hvor R_2 , R_3 og R_4 er uavhengig valgt fra hydrogen, en ikke-aromatisk hydrakarbon-gruppe, fenyl- og tienyl-alkyl, og en hetero alifatisk gruppe, eller R_3 og R_4 er knyttet sammen, og således danner en alkyl-, alkenyl- eller alkynylengruppe, eller R_4 og R_2 er knyttet sammen for å danne en alkyl-, alkenyl- eller alkynylengruppe, valgfritt substituert med hydroksy eller metyl, eller for å danne CH_2-O-CH_2 ; E er $COOR_e$, hvor R_e er definert som R_5 , eller E er en tetrazolyl eller triazolyl; X er O eller S; og Y er O eller S; er eksitatoriske aminosyrer (EAA), spesielt AMPA og/eller NMDA reseptorligander, som er nyttige i behandlingen av cerebral iskemi, Huntingtons sykdom, epileptiske forstyrrelser, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, schizofreni, smerte, depresjon og angst.

Oppfinnelsens felt

Foreliggende oppfinnelse vedrører en ny klasse av (3-alkoksyisoksazol-4-yl-substituerte 2-aminokarboksylsyrederivater eller svovelanaloger derav farmasøytiske sammensetninger
5 inneholdende disse og anvendelsen av forbindelsene. Forbindelsene er eksitatoriske aminosyre-(EAA)-reseptorligander, spesielt AMPA- og/eller NMDA-reseptorligander som er nyttige i behandlingen av cerebral iskemi, Huntingtons sykdom, epi-leptiske forstyrrelser, Parkinsons sykdom, Alzheimers
10 sykdom, schizofreni, smerter, depresjon og angst.

Bakgrunn for oppfinnelsen

Som et resultat av omfattende studier av eksitasjonsmekanismer i sentralnervesystemet i løpet av de tre siste tiår, er det nå konsensus om at (S)-glutamat (Glu) er hoved-EAA-nevrotransmitteren i CNS (Lodge, D. *Excitatory Amino Acids in Health and Disease*. J. Wiley & Sons: Chichester, 1988; Wheal, H.; Thomson, A, *Excitatory Amino Acids and Synaptic Transmission*. Academic Press, London, 1991; Meldrum, B.S., *Excitatory Amino Acid Antagonists*. Blackwell
15 Sci.Publ.: Oxford, 1991; Krogsgaard-Larsen, P.; Hanssen, J.J. *Excitatory Amino Acid Receptors: Design of Agonists and Antagonists*. E. Horwood: Chichester, 1992). Glu-operert neurotransmisjon medieres av et stort antall reseptorer, klassifisert i minst fire heterogene reseptor-familier kalt
20 NMDA, AMPA, kainsyre og metobotropiske reseptorklasser (Monaghan, D.T. et al. *Ann.Rev.Pharmacol. Toxicol.*, 1989, 29, 365-402; Watkins, J.C.; Krogsgaard-Larsen, P.; Honoré, T. *Trends Pharmacol. Sci.* 1990, 11, 25-33; Simon, R.P. *Excitatory Amino Acids*. Thieme Med. Publ.: New York, 1992).

30 Det finnes svært sterkt bevismateriale som støtter det syn at overdreven eksitasjon mediert av EAA-reseptorer ("eksitotoksitet"), er en faktor av vesentlig betydning i cerebral iskemi etter slag, hodeskader, asfyksi, subarachno-
idalblødning, hjertestans og andre situasjoner (Lodge, D.

1988 *supra*; Meldrum, B.S., 1991 *supra*. Det har blitt vist i dyremodeller at skadene forårsaket av forskjellige iskemiske tilstander kan inhiberes ved administrasjon av Glu-antagonister. Således, selv om den relative viktigheten av de forskjellige klasser av EAA-reseptorer i fenomenene som ligger bak iskemiske skader er uklar, er det generell enighet om at EAA-reseptorantagonister er potensielle terapeutiske midler ved disse tilstandene.

10 Akkumulerende bevismateriale avledet fra forskjellige grener av neurokjemisk og farmakologisk forskning antyder at avsporede EAA-reseptormekanismer, som muligens inkluderer "eksitotoksitet", spiller en rolle i Huntingtons sykdom (Young, A.B. et al., *Science* 1988, 241, 981-893), epileptiske forstyrrelser (Krogsgaard-Larsen, P.; Hanssen, J.J., 15 1992 *supra*), Parkinsons sykdom (Klockgether, T.; Turski, L. *Trends Neurosci.* 1989, 12, 285-286, og Alzheimers sykdom (Greenamyre, J.T.; Maragos, W.F. *Cerebrovasc. Brain. Metab. Rev.* 1993, 5, 61-94; Francis, P.T. et al *J. Neurochem.* 1993, 60, 1589-1604).

20 Videre kan sentrale EAA-reseptorer være involvert i de underliggende synaptiske mekanismene ved schizofreni (Reynolds, G.P. *Trends Pharmacol. Sci.* 1992, 13, 116-121, smerte og angst (Drejer, J. i: *Excitatory Amino Acid Receptors: Design of Agonists and Antagonists* (Eds. Krogsgaard-Larsen, P.; Hanssen, J.J.) E. Horwood: Chichester 1992, s. 352-375) og depresjon (Trullas, R., Skolnick, P., *Eur.J.Pharmacol.* 25 1990, 185, 1-10 og Trullas et al., *Eur.J. Pharmacol.* 1991, 203, 379-385. Således synes redusert funksjon av EAA-reseptorer (EAA-hypoaktivitet) å spille en rolle i for eksempel schizofreni (Deutsch, S.I. et al. *Clin. Neuropharmacol.* 1989, 12, 1-13) og noen av de kliniske symptomene man ser i Alzheimers sykdom (Greenamyre, J.T. et al. *Prog. Neuro-Psychopharmacol & Biol. Psychiat.* 1988, 12, 421-430). Det er mulig at "eksitotoksitet" såvel som EEA hypoaktivitet er 35 involvert i de komplekse mekanismer forbundet med Alzhei-

mers sykdom (Greenamyre, J.T.; 1988 *supra*; Greenamyre, J.T.; Maragos, W.F., 1993, *supra*).

Følgelig er EAA-reseptorligander antatt å være nyttige i behandlingen av cerebral iskemi, Huntingtons sykdom, epileptiske forstyrrelser, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, angst, schizofreni, depresjon og smerte.

De fleste EAA-reseptoragonister som er testet til nå, viser mer eller mindre uttalt neurotoksisitet i modellsystemer, og følgelig kan kliniske anvendelser av slike forbindelser begrenses (Carlsson, M.; Carlsson, A, *Trends. Neurosci.* 1990,13, 272-276) (Willetts, J.; Balster, R.L.; Leander, J.D. *Trends. Pharmacol. Sci.* 1990,11, 423-428).

Partielle EAA-agonister som utviser passende balanse mellom agonisme og antagonisme kan, på den annen side, ha vesentlig terapeutisk interesse, jfr. referansene over (Greenamyre, J.T; 1988 *supra*; Christensen, I.T. et al. *Drug Des. Del.* 1989, 5, 57-71; Francis, P.T. et al. *J.Neuro-chem.* 1993, 60, 1589-1604). Partielle agonister kan ved hjelp av sin EAA-antagonistprofil utvise nyttig neuro-proteksjon, og samtidig være tilstrekkelig agonistiske til å forhindre total blokkering av neurotransmisjonen mediert av den spesielle EAA-reseptoren.

ATPA, t-tert-butylanalogen av AMPA ((RS)-2-amino-3-(3-hydroksy-5-metylisoksazol-4-yl)propionsyre), har blitt vist å være systemisk aktiv, mens den ikke har blitt rapportert å vise neurotoksiske effekter i dyr (Ornstein, P.L., et al. *J.Med.Chem.* 1993, 36, 2046-2048; Lauridsen, J.; Honoré, T; Krogsgaard-Larsen, P., *J.Med.Chem.* 1985,28, 668-672).

Som AMPA selv, har en rekke mono-og bicykliske AMPA-analoger blitt funnet å vise selektive agonisteffekter på AMPA-reseptorer. (Hansen, J.J.; Krogsgaard-Larsen, P. *Med.Res.Rev.*, 1990,10, 55-94; Krogsgaard-Larsen, P.; Hansen, J.J., 1992 *supra*). En av disse analogene, (RS)-2-

amino-3-(3-hydroksy-5-fenylisoksazol-4-yl)propionsyre (APPA), hvor AMPAs metylgruppe har blitt erstattet med en fenylgruppe, viser en svak, men unik, partiell agonistprofil (Christensen, I.T. et al., 1989, *supra*).

- 5 ACPA ((*RS*)-2-amino-3-(3-karboksyoksi-5-metylisoksazol-4-yl)propionsyre) har blitt beskrevet som en potent AMPA-reseptoragonist (Madsen, U. og Wong, E., *J.Med.Chem.*, 1992, 35, 107-111).

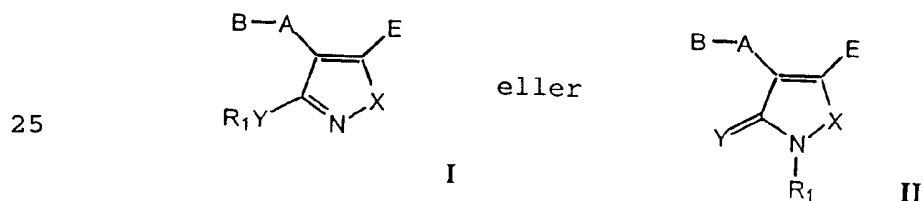
10 Videre beskriver WO-A1 95012587 en klasse av (5-aryl-isoksazol-4-yl)- eller (5-arylisotiazol-4-yl)-substitu-erte 2-aminokarboksylysyreforbindelser som EAA-reseptor-ligander.

Som det kan ses av det ovenstående, er ikke-neurotoksiske, CNS-aktive EEA-reseptorligander med god penetrering inn i CNS svært ønskelige for å behandle de forskjellige nevnte sykdommene, og følgelig er det et mål med foreliggende oppfinnelse å fremskaffe slike nye legemidler.

Oppsummering av oppfinnelsen

20 Det er nå blitt funnet at en ny klasse 3-alkoksy-isoksazol-4-yl)-substituerte 2-amino karboksylysyredrivater og svovelanaloger derav er AEE-reseptorligander, spesielt AMPA- og/eller NMDA-reseptorligander.

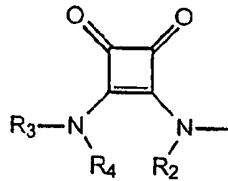
Følgelig vedrører foreliggende oppfinnelse en ny klasse forbindelser som har generell formel I eller II



hvor R_1 er hydrogen, C_{1-6} -alkyl, C_{2-6} -alkenyl, eller fenyl- C_{1-6} -alkyl;

A er en binding eller en avstandsgruppe C_{1-6} -alkylen;

B er en gruppe $-CR_a(NR_bR_c)-COOR_5$ hvor R_a-R_c er hydrogen, eller B er en gruppe med formel III



hvor R_2 , R_3 og R_4 er hydrogen;

E er $COOR_6$, hvor R_6 er H, C_1-C_6 -alkyl eller fenyl- C_1-C_6 -alkyl;

10 X er O; Y er O; og

farmasøytisk akseptable salter derav.

I et annet aspekt vedrører oppfinnelsen en farmasøytisk sammensetning omfattende en ny forbindelse med formel I eller II sammen med et egnet farmasøytisk akseptabelt bærerstoff eller fortynningsmiddel.

15

I enda et aspekt vedrører oppfinnelsen anvendelse av en forbindelse med formel I eller II for å fremstille en farmasøytisk sammensetning for behandling av cerebral iskemi, Huntingtons sykdom, epileptiske forstyrrelser, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, schizofreni, smerte, depresjon eller angst.

20

Det er blitt funnet at noen forbindelser ifølge oppfinnelsen er AMPA-reseptorligander med affiniteter i mikromolare konsentrasjoner, og noen forbindelser er blitt funnet å binde til NMDA-reseptorer. Videre ble noen av forbindelsene ifølge oppfinnelsen funnet å være agonister, mens andre ble funnet å være antagonist. Forbindelsene ifølge oppfinnel-

25

sen er således nyttige i behandlingen av cerebral iskemi, Huntingtons sykdom, epileptiske forstyrrelser, Parkinsons sykdom, Alzheimers sykdom, schizofreni, smerte, depresjon og angst. Forbindelsene hvor R_6 ikke er hydrogen er prodro-
5 ger for de tilsvarende forbindelsene hvor R_6 er hydrogen.

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

Noen av forbindelsene med generell formel I eller II kan eksistere som optiske isomere derav, og slike optiske isomere er også omfattet av oppfinnelsen.

- 10 I de generelle formler I og II betyr uttrykket C_{1-6} -alkyl en rettkjedet eller forgrenet alkylgruppe som har fra 1 til 6 C-atomer, inklusive slike som metyl, etyl, 1-propyl, 2-propyl, 1-butyl, 2-butyl, 2-metyl-2-propyl osv. Tilsvarende
15 betegner C_{2-6} -alkenyl slike rettkjedede eller forgrenede grupper som har 2 til 6 C-atomer og C_{1-6} -alkylen betegner slike forgrenede eller rettkjedede divalente grupper.

Uttrykket binding (definert for A) betyr at B kan være bundet direkte til 4-stillingen på isoksazolringen.

Halogen betyr fluor, klor, brom eller jod.

- 20 Noen av forbindelsene med generell formel I eller II kan være i form av farmasøytisk akseptable salter derav som også er omfattet av oppfinnelsen.

- Saltene av forbindelsene med generell formel I eller II er salter dannet med ikke-toksiske organiske syrer, f.eks. maleinsyre, fumarsyre, benzosyre, askorbinsyre, oksalsyre,
25 vinsyre, melkesyre og eplesyre, eller uorganiske syrer, f.eks. saltsyre, hydrobromsyre, svovelsyre, fosforsyre og salpetersyre, eller de kan være salter av uorganiske baser, slik som alkalimetallsalter, f.eks. natriumsalter, kaliumsalter eller litiumsalter, alkalijordmetallsalter, f.eks.
30

kalsium- eller magnesiumsalter, eller ammoniumsalter eller salter av organiske baser.

I formel I og II er A fortrinnsvis en binding eller C₁-C₃-alkylen, mest foretrukket metylen.

- 5 Mest foretrukket er B -CH(NH₂)-COOH eller en gruppe med formel III hvor hver av R₂, R₃ og R₄ er hydrogen.

Fortrinnsvis er E COOH. En annen undergruppe omfatter forbindelsene hvor E er COOR₆, hvor R₆ ikke er H.

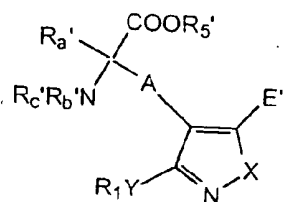
- 10 R₁ er fortrinnsvis C₁₋₆-alkyl eller C₂₋₆-alkenyl. Spesielt egnede R₁-grupper er metyl, etyl, propyl og butyl.

- I en foretrukket utførelsesform av oppfinnelsen er forbindelsen en forbindelse med formel I hvor A er en binding eller C₁₋₃-alkylen, B er -CH(NH₂)-COOH eller en gruppe med formel III hvor hver av R₃, R₄ og R₂ er hydrogen, X og Y er 15 begge oksygen, og R₁ er C₁₋₆-alkyl eller C₂₋₆-alkenyl. Spesielt egnede R₁-grupper er metyl, etyl, propyl og butyl.

- Forbindelsene med formel I eller II fremstilles ved de følgende fremgangsmåtene. For enkelthets skyld er reaksjonene a) -e) og g) -h) vist bare for formel I. De samme fremgangsmåter kan anvendes når det gjelder formel II. 20

a) for å erholde en forbindelse med formel I hvor B er en -CR_a(NR_bR_c)-COOR₅ hvor R_a - R_c og R₅ er som tidligere definert, avbeskyttes en forbindelse med den generelle formel IV

25



IV

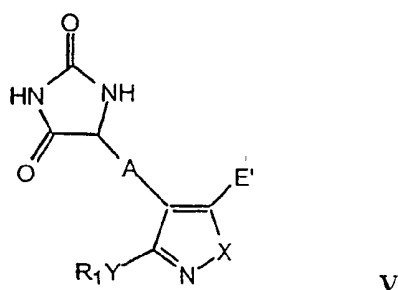
30

hvor R_1 , A, X og Y er som tidligere definert, R_a' - R_c' , E' og R_5' er som definert for henholdsvis R_a - R_c og E og R_5 ,

eller de er beskyttelsesgrupper, forutsatt at minst en av E' , R_5' og R_c' er en beskyttelssgruppe;

- 5 b) for å erholde en forbindelse med formel I hvor B er en - $CR_a(NR_bR_c)-COOR_5$ -gruppe hvor R_b , R_c og R_5 alle er hydrogen, avbeskyttelse av en forbindelse med generell formel V

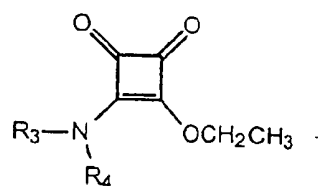
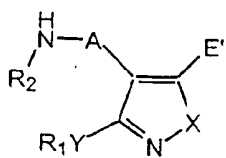
10



15 hvor R_1 , A, Y, X og E' er som tidligere definert;

c) for å erholde er forbindelse med formel I hvor B er en gruppe med formel III, addisjons-eliminerasjonsreaksjon av en forbindelse med generell formel VI med en forbindelse med generell formel VII:

20

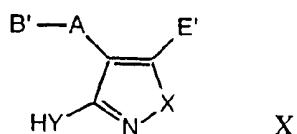


25

hvor formlene R_1 - R_4 , A, X, Y og E' er som tidligere definert;

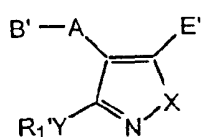
- 30 f) for å erholde en forbindelse med formel I eller II, alkylere en forbindelse som generell forbindelse X

9

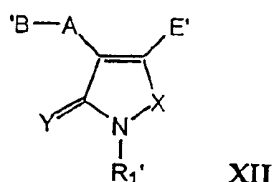


5

hvor A, X, Y og E' er som tidligere definert og B' er som B, unntatt at i definisjonene av R_b, R_c og R₅ erstattes hydrogen av en beskyttelsesgruppe, med et alkyleringsmiddel R₁'Z, hvor R₁' er som R₁, bortsett fra at den ikke kan være hydrogen, for derved å oppnå en blanding av forbindelsene XI og XII:



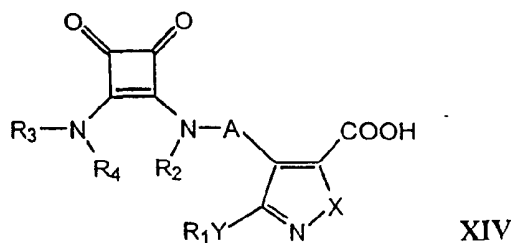
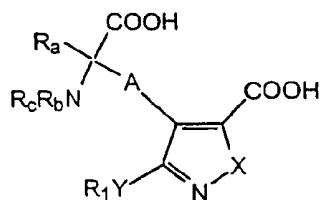
eller



15 hvor A, X, Y, E' og B' er som definert over, og deretter å separere og avbeskytte forbindelsene;

g) for å erholde en forbindelse med formel I hvor R₆ er forskjellig fra hydrogen, esterifisering av en forbindelse med formel XIII eller XIV:

20



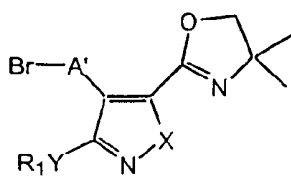
25

hvor R₁, R₂, R₃, R₄, A, X, Y og R_a-R_c er som tidligere definert;

30 h) for å erholde en forbindelse med formel I hvor B er en -CR_a(NR_bR_c)-COOR₅-gruppe hvor R_a, R_b, R_c og R₅ alle er hydro-

gen og E er COOH, spesielt en enantiomerisk ren forbindelse, ved å underkaste en forbindelse med formel XV

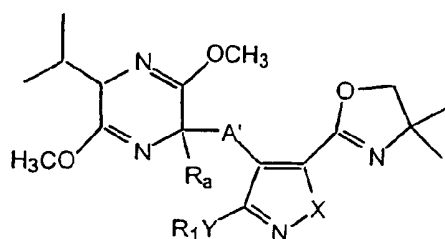
5



XV

en Schöllkopf bis-lactim aminosyresyntese og deretter avbeskytte den oppnådde bislactim-eteren som har formel XVI

10



15

XVI

hvori formlene X, Y, R₂ og R₁ er som tidligere definert og A' er som definert for A, bortsett fra at den ikke kan være en binding.

20

I fremgangsmåten er foretrukkede beskyttelsesgrupper som følger:

25

For E=COOH: 4,5-dihydro-4,4-dimetyloksazol-2-yl, C₁₋₆-alkyl eller en benzylgruppe; for R₅=hydrogen: C₁₋₆-alkyl og R_b=hydrogen: C₁₋₆alkylkarbonyl.

30

Ett-trinns-avbeskyttelsen i henhold til fremgangsmåte a) utføres ved å behandle forbindelsen med formel IV med en egnet vandig syre, passende en 0,5-12 N vandig løsning av HCl, en vandig løsning av 48% HBr, eller en mettet løsning av HBr i eddiksyre. Avbeskyttelsen kan også utføres i suksessive trinn, ved å bruke vandige syrer og vandige baser, passende suksessivt i en vandig syre såsom 0,5-12 N HCl, en vandig base såsom 1-8 N NaOH og en vandig syre såsom 0,5-12

N HCl, eller suksessivt i en vandig base såsom 1-8 N NaOH og en vandig syre såsom 0,5-12 N HCl.

Utgangsmaterialer til formel IV fremstilles passende fra 3-alkoksy-4-metylisoksazol-5-karboksylsyre (WO95/12587, A1) ved fullstendig avbeskyttelse i en vandig syre i henhold til de ovenfor beskrevne avbeskyttelsesbetingelsene, eventuelt esterifisering av 3-hydroksy-4-metylisoksazol-5-karboksylsyren og påfølgende alkylering med et passende halid eller simpelthen ved alkylering. Dette følges av brominering av 4-metylisoksazolgruppen og påfølgende alkylering med en aminosyreprekursor, f.eks. dietylacetamidomalonat. Andre 4-alkylisoksazoler kan fremstilles ved kjedeforlengelse, f.eks. alkylering med cyanid eller dietylmalonat og etterfølgende transformasjon til det primære alkylhalidet eller aldehydet. Halidet kan behandles som skissert over. Aldehydet kan anvendes som utgangsmateriale for fremstilling av forbindelser med generell formel V.

I b) utføres ett-trinns-avbeskyttelsen ved behandling av en forbindelse med formel V med en egnet vandig syre eller vandig base, passende i 0,5-8 N vandig saltsyre. Avbeskyttelsen kan også utføres i suksessive trinn ved å anvende vandige syrer og vandige baser som nevnt over for fremgangsmåte a). Hydantoin-ringen kan også spaltes ved anvendelse av en vandig løsning av $Ba(OH)_2$, vandig 10-70% svovelsyre eller ved anvendelse av enzymer såsom hydantoinaser. Spaltingen av hydantoinringen kan utføres enten før eller etter avbeskyttelse av E-gruppen. Det kan bli nødvendig å gjenintrodusere R_1 -gruppen ved alkylering etter fullstendig avbeskyttelse av hydantoinintermediatet.

Hydantoinringene i forbindelsene med generell formel V dannes passende i henhold til fremgangsmåtene beskrevet av Ware, E., *Chem.Rev.* **1950**, *46*, 403-470. Spaltingen av hydantoinringen utføres passende analogt med fremgangsmåtene beskrevet av Curry, K et al., *J.Med.Chem.* **1980**, *23*, 754-758, Hiroi, K. et al., *Chem.Pharm.Bull.* **1968**, *16*, 444-447, eller

eller Stark, G.R. et al., *J.Biol.Chem.* **1963**, *238*, 214-226. Utgangsmaterialet for fremstilling av forbindelser med formel V kan erholdes som skissert over for utgangsmaterialer til fremgangsmåte a). Hvis A er en binding, kan aldehydet fremstilles fra brom-metylforbindelsen ved brominering og etterfølgende transformasjon til aldehydet.

Addisjons-eliminerings-reaksjonen i henhold til fremgangsmåte c) utføres passende i et protisk organisk løsemiddel såsom en alkohol, fortrinnsvis i nærvær av en egnet uorganisk base såsom vandig NaOH ved romtemperatur. Intermediatene med formel VII kan fremstilles ved fremgangsmåtene beskrevet av Cohen, S. et al., *J.Amer.Chem.Soc.* **1966**, *88*, 1533-1536, EP-A2-0496561 eller Kinney, W.A. et al., *J. Amer. Chem.* **1992**, *35*, 4720-4726.

Intermediatet med generell formel VI oppnås enkelt ved en Gabriel-syntese av primære aminer som beskrevet av Sheehan, J.C. et al., *J.Am.Chem.Soc.*, **1950**, *72*, 2786-88. Alkylhalid-utgangsmaterialene for denne syntesen erholdes passende som beskrevet med hensyn til utgangsmaterialene anvendt i fremgangsmåte a), se over.

Avbeskyttelsen utføres passende ved anvendelse av en vandig syre eller vandig base, fortrinnsvis 0,5-8 N HCl eller vandig 0,5-8N NaOH, enten ved romtemperatur eller ved forhøede temperaturer.

I fremgangsmåte f) oppnås avbeskyttelse av forbindelser med generell formel XI og XII som beskrevet i fremgangsmåtene a) eller ved å bruke en løsning av saltsyre i dietyleter eller en annen ikke-vandig avbeskyttelsesfremgangsmåte. Utgangsmateriale X oppnås som beskrevet med hensyn til utgangsmaterialetene i fremgangsmåte a) over.

I fremgangsmåte g) kan forestringen utføres i henhold til fremgangsmåter som er velkjente i faget, f.eks. behandling med en sur løsning av en alkohol. Utgangsmaterialene frem-

stilles i overensstemmelse med fremgangsmåtene a)-c) eller h).

Oppløsning av forbindelsene med generell formel I utføres passende ved diastereomer saltdannelse under anvendelse av optisk aktive syrer eller baser, f.eks. 1-fenyletylamin. I noen tilfeller utføres oppløsningen passende ved dannelse av diastereomere forbindelser og påfølgende separasjon av diastereomerene ved flash-kromatografi eller krystallisering. Visse diastereomere kan beleilig fremstilles ved asymmetrisk syntese ved å anvende Schöllkopfs bis-lactim aminosyresyntese, jfr. fremgangsmåte h). I denne syntesen er startmaterialene alkylhalogenider erholdt som beskrevet over for startmaterialer for fremgangsmåte a). Beskyttelsesgruppen for 5-karboksyisoksazolgruppe er fortrinnsvis en 2-oksazolringgruppe fremstilt fra det tilsvarende 5-cyanoisoksazol (W095/12587,A1) ved konsensasjon med en aminoalkohol.

Salter av forbindelsene ifølge oppfinnelsen fremstilles lett ved fremgangsmåter velkjent i faget, dvs. ved å reagere forbindelsen med enten den ekvivalente mengde av syre eller base i et vandig blandbart løsemiddel, såsom acetone eller etanol, med isolering av saltet ved konsentrering og avkjøling, eller ved å reagere med et overskudd av syren eller basen i et løsemiddel som ikke er blandbart med vann, slik som etyleter eller kloroform, hvor det ønskede saltet separerer direkte. Disse saltene kan også fremstilles ved klassiske fremgangsmåter for dobbel oppløsning av passende salter.

Forbindelsene med generell formel I og de farmasøytisk akseptable syreaddisjonssaltene derav kan administreres på en hvilken som helst egnet måte, f.eks. oralt eller parenteralt, og forbindelsene kan være tilstede i enhver egnet form for slik administrasjon, f.eks. i form av tabletter, kapsler, pulvere, siruper eller løsninger eller dispersjoner for injeksjon.

En effektiv daglig dose av en forbindelse med generell formel I eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav er fra 10 µg/kg kroppsvekt til 50 mg/kg kroppsvekt.

Eksempler

5 I det følgende illustreres oppfinnelsen ytterligere ved eksempler.

Smeltepunktene ble bestemt på et Büchi SMP-20-apparat og er ukorrigerte. ¹H NMR- og ¹³C NMR-spektra ble tatt opp på et Brucker 250 MHz spektrometer (250,13 MHz for ¹H NMR og
10 62,90 MHz for ¹³C NMR) under anvendelse av TMS som internstandard hvis ikke annet er nevnt.

Massespektra ble erholdt på et Quattro MS-MS-system fra VG Biotech, Fisons Instruments forbundet med et HP 1050 modulært HPLC-system. 20-50 µl prøve (10 µg/ml) oppløst en matris
15 triks av 1% eddiksyre i acetonitril/vann = 1:1 eller i en blanding av acetonitril/vann/vandig ammoniakk (25%) = 25:25:1 (zwitterioner) ble introdusert via den automatiske prøvetageren med en strømning på 30 µl/min inn i elektro-spray-kilden. Spektra ble tatt opp ved standardbetingelser
20 for å oppnå molekylvektinformasjon ((M + H)⁺) eller ((M - H)). Bakgrunnen ble trukket fra.

Analytisk HPLC ble utført på en 150 x 4,6 mm Lichrocart 250-4 (Merck)-kolonne eluert ved 35°C med 1 ml/min metanol/0,01 M ammoniumacetat, pH 8=3:2. Den anvendte instrumentering besto av en L6200 HPLC-pumpe, en L5025 kolonne-
25 termostat og en L400A UV-VIS detektor (satt til 230 nm). Diastereomere renheter uttrykt som diastereomert overskudd (de) ble beregnet fra topparealene.

Chirale HPLC-analyser ble utført på en 150 x 4,6 mm Xumi-
30 chiral OA-5000-kolonne eluert ved omgivelsestemperatur med 1 ml/min av 5 mM CuSO₄ (aq). Den anvendte instrumentering besto av en AS 2000 automatisk prøvetaker, en L6200 HPLC-

pumpe, en T6300 kolonnetermostat, en L4250 UV-VIS-detektor (satt til 240 nm), og et D6000 datamaskin-grensesnitt, alt fra Merck-Hitachi. Enantiomere renheter uttrykt som enantiomert overskudd (ee) ble beregnet fra topparealene.

5 Eksempel 1

(RS)-2-Amino-4-(5-karboksy)-3-metoksyisoksazol-4-yl)-propionsyrehydrat (forb. 1)

1) 3-Hydroksy-4-metylisoksazol-5-karboksylysyre

3-Etoksy-4-metylisoksazol-5-karboksylysyre (15 g, 88 mmol) og 47% HBr (aq) (150 ml) ble kokt under tilbakeløp i 6 t. Blandingen ble avkjølt og den krystallinske tittelforbindelse ble samlet ved filtrering (8,7 g, 69%): smp. 257-259°C. Det sure filtratet ble tilsatt vann (100 ml) og ekstrahert med dietyleter (6 x 400 ml). De organiske ekstrakter ble vasket med saltløsning (100 ml), tørket (MgSO₄) og konsentrert in vacuo for å gi ubehandlet tittelforbindelse (3,0 g, 24%). Totalt utbytte 93%. En blanding av de to delene ble anvendt i det neste trinn.

2) Etyl-3-hydroksy-4-metylisoksazol-5-karboksylat

3-Hydroksy-4-metylisoksylat-5-karboksylysyre (6,0 g, 42 mmol) og en mettet løsning av HCl i EtOH (110 ml) ble kokt under tilbakeløp i 4 t. Løsningen ble konsentrert in vacuo og residuet løst i EtOAc, tørket (MgSO₄) og inndampet in vacuo for å gi ubehandlet tittelforbindelse (7,2 g, 100%).

En liten prøve ble rekrystallisert (EtOAc/heptan) og ga fargeløse krystaller: smp 133-134°C. Råproduktet ble anvendt i neste trinn uten ytterligere rensing.

3) Etyl-3-metoksy-4-metylisoksazol-5-karboksylat

En blanding av etyl-3-hydroksy-4-metoksyisoksazol-5-karboksylat (1,0 g, 5,8 mmol), metyljodid (0,4 ml, 5,8 mmol) og K₂CO₃ (1,6 g, 11,7 mmol) i DMF (40 ml) ble oppvarmet ved 40 °C i 1 t. Blandingen ble helt i en is/vann-blanding (100

ml) og ekstrahert med dietyleter (3 x 100 ml). De organiske ekstraktene ble vasket med vann (2 x 50 ml), saltløsning (50 ml), tørket (MgSO₄) og konsentrert in vacuo (0,8 g, 74%). Fremgangsmåten ble gjentatt for å erholde råprodukt
5 ekvivalent med 17,5 mmol utgangsmateriale, som ble underkastet flash-kromatografi (kiselgel, eluent: diklormetan/dietyleter = 9:1) og ga ubehandlet tittelforbindelse som en gul olje (1,4 g, 43%) som ble anvendt i det neste trinn uten ytterligere rensing.

10 4) *Etyl-4-(brommetyl)-3-metoksyisoksazol-5-karboksylat*
Etyl-3-metoksy-4-metylisoksazol-5-karboksylat (1,3 g, 7,0 mmol), NBS (1,4 g, 7,9 mmol), dibenzoylperoksid (katalytisk mengde) og tetraklormetan (40 ml) ble kokt under tilbakeløp
15 i 10 t. Blandingen ble avkjølt, filtrert og konsentrert in vacuo for å gi ubehandlet tittelforbindelse som en gul olje (1,8 g, 97%). Råproduktet ble anvendt i det neste trinnet uten ytterligere rensing.

5) *Etyl-2-acetamido-2-(etoksykarbonyl)-3-[5-(etoksykarbonyl)-3-metoksyisoksazol-4-yl]propionat*

20 En blanding av dietyl-acetamidomalonat (1,6 g, 7,4 mmol) og kalium-tert-butoksid (0,9 g, 8,0 mmol) i *N*-metylpyrrolidon (30 ml) ble omrørt ved romtemperatur i 30 min. Etyl-4-(brommetyl)-3-metoksyisoksazol-5-karboksylat (1,8 g, 6,8
25 mmol) i *N*-metylpyrrolidon (10 ml) ble tilsatt (temp 22-28°C), og den resulterende blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 1,5 t. Reaksjonsblandingen ble helt i en is/vann-blanding (100 ml) og den vandige fasen ble ekstrahert med EtOAc (3 x 150 ml). De organiske ekstrakter ble vasket med en vandig løsning av kalium-tert-butoksid, vann
30 (100 ml) og saltløsning (100 ml), tørket (MgSO₄) og konsentrert in vacuo. Flashkromatografi (kiselgel, eluent: EtOAc/heptan = 1:1) ga ubehandlet tittelforbindelse (1,8 g, 66%). En liten prøve ble omkrystallisert (EtOAc/heptan) for å gi fargeløse krystaller: smp 78-80°C. Råproduktet ble anvendt i det neste trinn uten ytterligere rensing.
35

6) (RS)-2-Amino-3-(5-karboksy-3-metoksyisoksazol-4-yl)-propionsyrehydrat (forb. 1)

En suspensjon av etyl-2-acetamido-2-(etoksykarbonyl)-4-[5-etoksykarbonyl]-3-metoksyisoksazol-4-yl]propionat (1,2 g, 3,0 mmol) i 0,5 M HCl (100 ml) ble kokt under tilbakeløp i 48 t. Blandingen ble avkjølt, vasket med diklormetan (100 ml) og dietyleter (2 x 100 ml), filtrert og konsentrert in vacuo. Vann ble tilsatt (5 ml) og pH ble justert til ca. 3 ved tilsetning av NaOH (0,1 M og 1 M). Den vandige fasen ble redusert in vacuo (2 ml) og et presipitat samlet ved filtrering. Presipitatet ble omrørt i vann (2 ml) ved romtemperatur i 24 t for å gi forbindelse 1 etter filtrering (70 mg, 10%): smp 222-225°C (dek). ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,88 (dd, 1 H), 3,01 (dd, 1H), 3,85-3,96 (m, 1 H), 3,90 (s, 3H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 22, 70, 52,38,57,32, 103,25, 159,43, 165,85, 170,66 (2C); MS ((M + H)⁺ m/z 231. Anal. (C₈H₁₀N₂O₆ · 0,25 H₂O) beregnet C 40,94, H 4,51, N 11,94; funnet C 41,01, H 4,37, N 11,91.

De følgende forbindelser ble fremstilt på lignende måte:

(RS)-2-Amino-3-(5-karboksy-3-etoksyisoksazol-4-yl)-propionsyre (forb. 2). Smp 238-240°C (dek); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,34 (t, 3H), 2,90 (dd, 1H), 3,03 (dd, 1H), 3,96 (dd, 1H), 4,23 (q, 2H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 14,46, 22,41, 51,89, 65,63, 103,34, 159,22, 164,97, 169,75, 170,40; MS ((M + H)⁺ m/z 245. Anal. (C₉H₁₂N₂O₆) beregnet C 44,27, H 4,95, N 11,47, funnet C 44,10, H 4,92, N 11,34.

(RS)-2-Amino-3-(5-karboksy-3-isopropoksyisoksazol-4-yl)-propionsyre (forb. 3). Smp 242-243°C (dek); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,32 (dd, 6H), 2,88 (dd, 1H), 3,01 (dd, 1H), 3,96 (66, 1H), 4,79 (h, 1H), 4,79 (h, 1H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 21,57, 21,77, 22,35, 51,83, 73,13, 103,56, 159,22, 164,91, 169,08, 170,36; MS ((M + H)⁺ m/z 259. Anal. (C₁₀H₁₄N₂O₆) beregnet C 46,51, H 5,46, N 10,85; funnet C 46,37, H 5,46, N 10,83.

(*RS*)-2-Amino-3-(5-karboksy-3-hydroksyisoksazol-4-yl)-propionsyrehydrat (forb. 4). Smp 175-177°C: ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 3,00 (d, 2H), 3,88 (t, 1H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ 23,07, 52,07, 105,84, 159,41, 162,11, 169,89, 170,78; MS ((M + H)⁺) *m/z* 217. Anal. (C₇H₈N₂O₆ · 0,25 H₂O) beregnet, C 38,10, H 3,88, N 12,70; funnet C 37,72, H 3,98, N 12,52.

Eksempel 2

(*RS*)-2-amino-3-(5-karboksy-2,3-dihydro-2-metyl-3-oksoksoisoksazol-4-yl)propionsyrehydrat (forb. 5)

10 *Etyl-2,3-dihydro-2,4-dimetyl-3-oksoksazol-5-karboksyilat*

En blanding av etyl-3-hydroksy-4-metylisoksazol-5-karboksyilat (2,0 g, 11,7 mmol) og K₂CO₃ (4,0 g, 29 mmol) i etanol (50 ml) ble oppvarmet ved 40°C i totalt 26 t. Metyljodid (0,8 ml, 13 mmol) ble tilsatt etter 1 t og ytterligere tre
 15 ganger i løpet av de neste 25 t. Løsningen ble filtrert og redusert in vacuo (i henhold til ¹H NMR ble en 1:1-blanding av tittelforbindelsen og etyl-3-metoksy-4-metylisoksazol-5-karboksyilat oppnådd). Flashkromatografi (kiselgel, eluent: diklormetan/dietyleter = 9:1, så 1:1) ga etyl-3-metoksy-4-
 20 metylisoksazol-5-karboksyilat som en gul olje (0,40, 18%) og tittelforbindelsen (0,45 g, 21%). En liten prøve av sistnevnte ble omkrystallisert (EtOAc/-heptan) for å gi fargeløse krystaller: smp 64,65°C. Ubehandlet tittelforbindelse ble anvendt i et neste trinn uten ytterligere rensing.

25 (*RS*)-2-Amino-3-(5-karboksy-2,3-dihydroksy-2-metyl-3-oksoisoksazol-4-yl)propionsyrehydrat (Forb.5)

Tittelforbindelsen ble erholdt ved fremgangsmåter analoge med dem i trinnene 2) - 6) i eksempel 1 ved å bruke produktet fra 1) ovenfor (70 mg, fargeløse krystaller, 72%). Smp
 30 211-212°C (dek); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 23,10, 32,32, 51,79, 106,51, 158,59, 162,37, 166,64, 170,35; MS ((M + H)⁺) *m/s* 231. Anal. (C₈H₁₀N₂O₆ · 0,25 H₂O) beregnet C 40,94, H 4,51, N 11,94; funnet C 40,93, H 4,55, N 11,71.

De følgende forbindelser ble fremstilt på tilsvarende måte:

(*RS*)-2-amino-3-(5-karboksy-2-etyl-2,3-dihydro-3-okso-isoksazol-4-yl)propionsyre-monohydrat (forb. 6).

¹H NMR (D₂O, 1,4-dioksan d 3,70) δ 1,28 (t, 3H), 3,19 (d, 2H), 4,01 (q, 2H), 4,18 (t, 1H); ¹³C NMR (D₂O, 1,4-dioksan δ 67,40) δ 12,87, 23,31, 53,27, 110,57, 159,88, 162,65, 166,67, 172,55; MS ((M + H)⁺) m/z 245. Anal. (C₉H₁₂N₂O₆ · H₂O) beregnet C 41,22, H 5,38, N 10,68; funnet C 41,28, H 4,74, N 10,27.

10 Eksempel 3

(*S*)-2-Amino-3-(5-karboksy-3-etoksyisoksazol-4-yl)-propionsyre (forb. (*S*)-2)

(*R*)-2-Amino-3-(5-karboksy-3-etoksyisoksazol-4-yl)-propionsyre (forb. (*R*)-2)

15 1) 5-(4,5-Dihydro-4,4-dimetyl-1,3-oksazol-2-yl)-3-etoksy-4-metylisoksazol

3-Etoksy-4-metylisoksazol-5-karbonitril (2,6 g, 17,1 mmol), 5,4 M NaOMe i MeOH (0,6 ml, 3,4 mmol) og EtOH (80 ml) ble omrørt ved romtemperatur i 30 min. Eddiksyre (2,2 ml, 39,3 mmol) og 2-amino-2-metylpropan-1-ol (1,8 ml, 18,8 mmol) ble tilsatt, og den resulterende blandingen ble kokt under tilbakeløp i 20 t. Reaksjonsblandingen ble avkjølt, tilsatt vann (100 ml) og ekstrahert med EtOAc (3 x 100 ml). De organiske ekstrakter ble vasket med 1 M NaOH (50 ml), saltløsning, tørket (MgSO₄) og inndampet in vacuo. Residuet ble løst i EtOH (60 ml), en løsning av KOH (1,8 g, 32 mmol) i vann (12 ml) ble tilsatt, og blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 20 t. EtOH ble fjernet in vacuo, vann ble tilsatt (80 ml) og den vandige fasen ble ekstrahert med EtOAc (3 x 100 ml). De organiske ekstrakter ble vasket med saltløsning, tørket (MgSO₄) og inndampet in vacuo. Flashkromatografi (kiselgel, eluent: EtOAc/-trietyl-amin = 75:25:1) ga ubehandlet tittelforbindelse som en gul olje (2,0 g, 52%).

2) 4-(Brommetyl)-5-(4,5-dihydro-4,4-dimetyl-1,3-oksazol-2-yl)-3-etoksyisoksazol

5- (4,5-Dihydro-4,4-dimetyl-1,3-oksazol-2-yl)-3-etoksy-4-metylisoksazol (2,0 g, 8,9 mmol), NBS (1,75 g, 9,8 mmol) og tetraklormetan (150 ml) ble kokt under tilbakesløp i 5 t. Blandingen ble avkjølt, filtrert og konsentrert in vacuo. Flash-kromatografi (kiselgel, eluent: toluen/EtOAc/trietylamin = 100:10:1) ga tittelforbindelsen som en gul olje (2,0 g, 74%).

10 3) (2S,5R)-2,5-Dihydro-2-{[5-(4,5-dihydro-4,4-dimetyl-1,3-oksazol-2-yl)-3-etoksyisoksazol-4-yl]metyl}-5-isopropyl-3,6-dimetoksy-pyrazin og (2R,2R)-2,5-Dihydro-2-{[5-(4,5-dihydro-4,4-dimetyl-1,3-oksazol-2-yl)-3-etoksyisoksazol-4-yl]metyl}-5-isopropyl-3,6-dimetoksy-pyrazin

15 En 1,6 M løsning av butyllitium i heksan (1,9 ml, 3,0 mmol) ble tilsatt til en forhåndsavkjølt (-78°C) løsning av (2R)-(-)-2,5-dihydro-2-isopropyl-3,6-dimetoksy-pyrazin (0,5 ml, 2,8 mmol) i vannfri tetrahydrofuran (8 ml). Omrøringen ble fortsatt ved -78°C i 10 min, 4-(brommetyl)-5-(4,5-dihydro-20 4,4-dimetyl-1,3-oksazol-2-yl)-3-etoksyisoksazol (0,85 g, 2,8 mmol) oppløst i tetrahydrofuran (5 ml) ble tilsatt, og den resulterende blanding ble omrørt ved -78°C i 4,5 t. Reaksjonsblandingen fikk varme seg opp til romtemperatur og ble konsentrert in vacuo. Residuet ble oppløst i etyleter 25 (40 ml) og helt i en is/vann-blanding (40 ml). Fasene ble separert og den vandige fasen ekstrahert med dietyleter (2 x 40 ml). De organiske ekstraktene ble vasket med saltløsning, tørket (MgSO₄) og konsentrert in vacuo. Flashkromatografi (kiselgel, eluent: heptan/EtOAc = 3:1) ga (2S,5R)- 30 tittelforbindelsen som en gul olje (0,65 g, 57%): de = 99,2% (retensjonstid ca. 38 min). Ytterligere eluering ga ubehandlet (2R,5R)-tittelforbindelse som en gul olje (38 mg, 3%).

35 4) (2R,5S)-2,5-Dihydro-2-{[5-dihydro-4,4-dimetyl-1,3-oksazol-2-yl)-3-etoksyisoksazol-4-yl]metyl}-5-isopropyl-3,6-dimetyl-1,3-oksazol-2-yl)-3-etoksyisoksazol-4-

yl]metyl}-5-isopropyl-3,6-dimetoksyprazin

Tittelforbindelsene ble oppnådd ved en fremgangsmåte som den beskrevet i trinn 3) og ved å bruke (2*S*)-(+) -2,5-dihydro-2-isopropyl-3,6-dimetoksyprazin som utgangsmateriale. Flash-kromatografi (kiselgel, eluent: heptan/EtOAc = 3:1) ga (2*R*,5*S*)-tittelforbindelsen som en gul olje (0,8 g, 54%): de >99,2% (retensjonstid ca. 38 min). Ytterligere eluering ga ubehandlet (2*S*,5*S*)-tittelforbindelsen som en gul olje (60 mg, 4%).

10 5) (*S*)-2-Amino-3-(5-karboksy-3-etoksyisoksazol-4-yl)propionsyre (forb. (*S*)-2)

En suspensjon av (2*S*,5*R*)-2,5-dihydro-2-{[5-(4,5-dihydro-4,4-dimetyl-1,3-oksazol-2-yl)-3-etoksyisoksazol-4-yl]metyl}-5-isopropyl-3,6-dimetoksyprazin (0,6 g, 1,5 mmol) i 15 1 M trifluoreddiksyre (200 ml) ble kokt under tilbakeløp i 5 t. Reaksjonsblandingen ble konsentrert in vacuo (2 ml), residuet ble oppløst i vann (50 ml) og vasket med EtOAc (3x 50 ml). Den vandige fasen ble filtrert, dampet inn in vacuo til tørrhet, og residuet ble behandlet med vann (10 ml). 20 Fellingen som ble dannet, ble omrørt ved romtemperatur i 24 t, samlet ved filtrering og omkrystallisert (vann) for å gi forbindelse (*S*)-2 som farveløse krystaller (0,12 g, 33%): smp 259-261°C (dek); ee>99% (retensjonstid ca. 30 min); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1,34 (t, 3H), 2,90 (dd, 1H), 3,03 (dd, 1H), 25 3,96 (dd, 1H), 4,23 (q, 2H); MS ((M+H)⁺)*m/z* 245. Anal. (C₉H₁₂N₂O₆), beregnet C 44,27, H 4,95, N 11,47; funnet C 44,45, H 4,96, N 11,46.

6) (*R*)-2-Amino-3-(5-karboksy)-3-etoksyisoksazol-4-yl)-propionsyre (forb. (*R*)-2)

30 En omrørt løsning av (2*R*,5*S*)-2,5-dihydro-2-{[5-(4,5-dihydro-4,4-dimetyl-1,3-oksazol-2-yl)-3-etoksyisoksazol-4-yl]metyl}-5-isopropyl-3,6-dimetoksyprazin (0,6 g, 1,5 mmol) og MeOH (7 ml) ble tilsatt 0,25 M HCl (74 ml, 7,4 mmol), og den resulterende blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 35 2 t. pH ble justert til ca. 7 ved tilsetning av vandig ammoniakk (0,5 M), og MeOH ble fjernet in vacuo. pH ble jus-

tert til 8-9 ved tilsetning av vandig ammoniakk (0,5 M), og den vandige fasen ble ekstrahert med EtOAc (4 x 50 ml). De organiske ekstrakter ble vasket med saltløsning, tørket (MgSO₄) og konsentrert in vacuo. Residuet ble slemmet i 1
5 M HCl og blandingen kokt under tilbakeløp i 4,5 t. Reaksjonsblandingen ble konsentrert in vacuo (2 ml), residuet ble løst i vann (50 ml) og vasket med EtOAc (3 x 50 ml). Den vandige fasen ble filtrert, dampet inn in vacuo til tørrhet, og residuet ble behandlet med vann (10 ml). Utfel-
10 lingen som ble dannet, ble omrørt ved romtemperatur i 2 t, samlet ved filtrering og omkrystallisert (vann), hvilket gav forbindelse (R)-2 som fargeløse krystaller (0,13 g, 36%): smp 258-260°C (dek); ee>99% (retensjonstid ca.50 min); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1,34 (t, 3H), 2,90 (dd, 1H), 3,03
15 (dd, 1H), 3,96 (dd, 1H), 4,23 (q, 2H); MS ((M+H)⁺) *m/z* 245. Anal. (C₉H₁₂N₂O₆), beregnet C 44,27, H 4,95, N 11,47; funnet C 44,56, H 4,95, N 11,53.

Eksempel 4

(*RS*)-2-Amino-3-[3-etoksy-5-(1*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-isok-
20 sazol-4-yl]propionsyrehydrat (forb. 7)

N-[(Dimetylamino)metyliden]-3-etoksy-4-metylisoksazol-5-karboksamid

En løsning av 3-etoksy-4-metylisoksazol-5-karboksamid (3,5 g, 21 mmol) i *N,N*-dimetylformamid-dimetylacetat (15 ml) ble
25 omrørt ved 120°C i 15 min. Etter å ha blitt avkjølt, ble tittelforbindelsen samlet som fargeløse krystaller (4,2 g, 91%).

3-(3-Etoksy-4-metylisoksazol-5-yl)-1*H*-1,2,4-triazol

Til en løsning av hydrazinhydrat (0,6 ml, 12,4 mmol) i eddiksyre (15 ml) ble det tilsatt *N*-(dimetylamino)metyliden-3-etoksy-4-metylisoksazol-5-karboksamid (1,8g, 8,0 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 90°C i 15 min og fikk deretter stå ved romtemperatur for å krystallisere, hvilket gav ren tittelforbindelse (1,2 g, 77%): smp 194-196°C. Vann

ble tilsatt (40 ml) og den vandige fasen ble ekstrahert med EtOAc (3 x 30 ml). De organiske ekstrakter ble vasket med saltløsning, tørket (MgSO₄) og konsentrert in vacuo for å gi ubehandlet tittelforbindelse (0,3 g, 20%). De to delene
5 ble kombinert.

3-(3-Etoksy-4-metylisoksazol-5-yl)-1-trityl-1H-1,2,4-triazol

3-(3-Etoksy-4-metylisoksazol-5-yl)-1H-1,2,4-triazol (1,1 g, 5,7 mmol), trietylamin (2,5 ml, 18 mmol) og DMF (20 ml) ble
10 tilsatt tritylklorid (1,6 g, 5,7 mmol) i DMF (5 ml). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 5 t og helt i en is/vann-blanding (200 ml). Den vandige fasen ble ekstrahert med dietyleter (3x 200 ml) og de organiske ekstrakter ble vasket med en vandig løsning av Na₂CO₃ (10%) (200 ml) og
15 saltløsning (200 ml). Løsningen ble tørket (Na₂SO₄) og konsentrert in vacuo for å gi ubehandlet tittelforbindelse (2,5 g). En liten prøve ble krystallisert (EtOAc) for å gi en enkelt isomer som fargeløse krystaller: smp 181-183°C. Råproduktet ble anvendt i det neste trinn uten ytterligere
20 rensing.

3-(4-(Brommetyl)-3-etoksyisoksazol-5-yl)-1-trityl-1H-1,2,4-triazol

En blanding av 3-(3-etoksy-4-metylisoksazol-5-yl)-1-trityl-1H-1,2,4-triazol (2,4 g, 5,5 mmol) og NBS (1,1 g, 6,2 mmol)
25 i tetraklormetan (150 ml) ble kokt under tilbakeløp i 3 t. Reaksjonsblandingen ble avkjølt, filtrert og konsentrert in vacuo for å gi ubehandlet tittelforbindelse (2,8 g). Råproduktet ble anvendt i neste trinn uten ytterligere rensing.

Etyl-2-Acetamido-3-[3-etoksy-5-(1-trityl-1H-1,2,4-triazol-3-yl)isoksazol-4-yl]-2-(etoksykarbonyl)propionat

En blanding av dietyl-acetamidomalonat (1,3 g, 6,0 mmol) og kalium-tert-butoksid (0,73 g, 6,5 mmol) i N-metylpyrrolidon (30 ml) ble omrørt ved romtemperatur i 30 min. 3-[4-(brommetyl)-3-etoksyisoksazol-5-yl]-1-trityl-1H-1,2,4-triazol
35 (2,8 g, 5,4 mmol) i N-metylpyrrolidon (20 ml) ble tilsatt

(temp. 22-28°C), og den resulterende blanding ble omrørt ved romtemperatur i 2 t. Reaksjonsblandingen ble helt i en is/vann-blanding (250 ml) og den vandige fasen ble ekstrahert med EtOAc (3x 250 ml). De organiske ekstrakter ble vasket med en vandig løsning av kalium-tert-butoksid og saltløsning, tørket (Na₂SO₄) og konsentrert in vacuo. Flash-kromatografi (kiselgel, eluent: EtOAc/heptan/trietylamin = 50:50:2) ga tittelforbindelsen (2,2 g, 62%), smp 145-149°C.

10 **(RS)-2-Amino-3-[3-etoksy-5-(1H-1,2,4-triazol-3-yl)-isoksazol-4-yl]propionsyrehydrat (forb. 7)**

En suspensjon av etyl-2-acetamido-3-[3-etoksy-5-(1-trityl-1,2,4-triazol)-3-yl]isoksazol-4-yl]-2-(etoksykarbonyl)propionat (1,5 g, 2,3 mmol) i 1 M HCl (150 ml) ble kokt under tilbakeløp i 24 t. Løsningen ble avkjølt, vasket med dietyleter (2 x 150 ml) og diklormetan (150 ml), filtrert og konsentrert in vacuo. Vann ble tilsatt (5 ml) og pH ble justert til ca. 3,5 ved tilsetning av NaOH (0,1 M og 1 M), hvilket gav forbindelse 7 ved filtrering (0,35 g, 56%); smp 225-227°C (dek); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 14,52, 23,60, 53,30, 65,93, 104,25, 146,18, 150,87, 158,44, 169,47, 170,51; MS ((M + H)⁺) m/z 268. Anal. (C₁₀H₁₃N₅ O₄·0,25 H₂O) beregnet C 44,20, H 5,01, N 25,77; funnet C 44,42, H 5,29, N 25,52.

Eksempel 5

25 **(RS)-2-amino-3-[3-etoksy-5-(5-tetrazolyl)isoksazol-4-yl]propionsyre (forb. 8)**

Fremstilt ved en fremgangsmåte analog med fremgangsmåten i eksempel 4 fra etyl-2-acetamido-3-[3-etoksy-5-(tetrazol-5-yl)isoksazol-4-yl]-2-(etyoksykarbonyl)propionat.

30 **Eksempel 6**

(RS)-2-Amino-3-(3-benzyloksy-5-karboksyisoksazol-4-yl)-propionsyre (forb.9)

(RS)-2-amino-3-(5-karboksy-3-hydroksyisoksazol-4-yl)-

propionsyre (3,5 g, 11,8 mmol) og en løsning av HCl i etanol (50 ml) ble kokt under tilbakeløp i 2,5 t og dampet inn til tørrhet in vacuo, for å gi etyl (RS)-2-amino-3-(5-etoksykarbonyl-3-hydroksyisoksazol-4-yl)propionat (4,15 g, 100%).

En blanding av di-tert-butyl-dikarbonat (3,1 g, 14 mmol), trietylamin (3,8 g, 37 mmol) og 1,4-dioksan (15 ml) ble satt til en løsning av etyl (RS)-1-amino-3-(5-etoksykarbonyl-3-hydroksyisoksazol-4-yl)propionat (4,15 g, 11,7 mmol) i vann (1,4-dioksan (1:1) (50 ml), og den resulterende blanding ble omrørt ved romtemperatur i 16 t. 1,4-Dioksanen ble inndampet in vacuo, og den vandige fasen ble surgjort med fortennet vandig HCl. Den vandige fasen ble ekstrahert med etylacetat og de organiske fasene vasket med vann, saltløsning, tørket (MgSO₄) og konsentrert in vacuo. Flash-kromatografi (SiO₂, eluent: hetan/etylacetat/eddiksyre (1:1, 4%) ga etyl (RS)-2-tert-butoksykarbonyl-amino-3-(5-etoksykarbonyl-3-hydroksyisoksazol-4-yl)-propionat som en olje (4,1 g, 92%).

En blanding av etyl (RS)-tert-butoksykarbonylamino-3-(5-etoksykarbonyl-3-hydroksyisoksazol-4-yl)propionat (3,2 g, 8,6 mmol), K₂CO₃ (2,4 g, 17,2 mmol) i aceton (40 ml) ble oppvarmet til tilbakeløpstemperatur. Benzylbromid (2,2 g, 12,9 mmol) ble tilsatt, og blandingen ble kokt ved tilbakeløp i 1,5 t, konsentrert in vacuo og underkastet flash-kromatografi (SiO₂ eluent: heptan/etylacetat (2:1)) for å gi etyl (RS)-2-tert-butoksykarbonyl-amino-3-benzyloksi-5-(etoksykarbonyl)isoksazol-4-yl]propionat (1,64 g, 41%) og etyl (RS)-2-[(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-(2-benzyl-5-etoksykarbonyl-2,3-dihydro-3-oksoisoksazol-4-yl)propionat (0,7 g, 18%).

En blanding av etyl (RS)-2-[(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-[3-benzyloksi-5-(etoksykarbonyl)isoksazol-4-yl]propionat (0,65 mg, 1,4 mmol) og 1 M NaOH (50 ml) ble kokt under tilbakeløp i 16 t. Blandingens ble avkjølt (5°C), surgjort med

fortynnet vandig HCl og konsentrert in vacuo. Residuet ble rekrystallisert fra vann for å gi (RS)-2-amino-3-(3-benz-yloksy-5-karboksyisoksazol-4-yl)propionsyre (0,1 g, 23%), smp 209-211°C (dek); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,95 (dd, 1H), 3,05 (dd, 1 H), 3,99 (t, 1H), 5,26 (s, 2H), 7,31-7,52 (m, 5H); MS ((M+H)⁺) m/z 307. Anal. beregnet C 54,89, H 4,62, N 9,15; funnet C 54,31, H 4,56, N 8,97.

De følgende forbindelser ble fremstilt på tilsvarende måte

(RS)-2-Amino-3-(3-propoksy-5-karboksyisoksazol-4-yl)-propionsyre (forb. 10)

Smp. 250-251°C (dek) ¹H NMR (D₂O, dioksan, 1M NaOD) δ 0,95 (t, 3H), 1,76 (se, 2H), 2,78 (dd, 1H), 2,90 (dd, 1H), 3,42 (dd, 1H), 4,17 (t, 2H). ¹³C NMR δ 12,3, 24,4, 29,8, 58,3, 74,9, 111,5, 164,3, 166,6, 173,9, 184,8. MS ((M+H)⁺) m/z 259. Anal. beregnet C 46,51, H 5,46, N 10,85; funnet C 46,43, H 5,41, N 10,54.

(RS)-2-Amino-3-(3-butoksy-5-karboksyisoksazol-4-yl)-propionsyre (forb. 11)

Smp 238-240°C (dek). ¹H NMR (D₂O, dioksan, 1 M NaOD) δ 0,95 (t, 3H), 1,43 (se, 2H), 1,76 (qui), 2H), 2,8 (dd, 1H), 2,91 (dd, 1H), 3,44 (dd, 1H), 4,24 (t, 2H). ¹³C NMR (D₂O, dioksan, 1M NaOD) δ 13,79, 19,30, 27,90, 31,03, 56,39, 71,27, 109,65, 162,39, 164,72, 172,02, 182,92. MS ((M+H)⁺)m/z 273. Anal. beregn. C 48,53, H 5,92, N 10,29; funnet C 48,80, H 5,99, N 10,34.

(RS)-2-Amino-3-(3-allyloksy-5-karboksyisoksazol-4-yl)-propionsyre (forb. 12)

Smp 239-240°C (dek). ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,93 (dd, 1H), 3,99 (dd, 1H), 4,73 (d, 2H), 5,29 (dd, 1H), 6,05 (dq, 1H).

Videre fremstilles de følgende forbindelsene på tilsvarende måte:

(*RS*)-2-Amino-3-[3-trans-2-but-en-oksy)-5-karboksyisoksa-
zol-4-yl)-propionsyre

(*RS*)-2-Amino-3-[3(3-metyl-2-but-en-oksy)-5-karboksyisoksa-
zol-4-yl)-propionsyre

5 Eksempel 7

**(*RS*)-2-Amino-3-(2-benzyl-5-karboksy-2,3-dihydro-3-okso-
isoksazol-4-yl)propionsyre-hydroklorid-monohydrat (forb.
13)**

En blanding av etyl (*RS*)-2-[(*tert*-butoksykarbonyl)amino]-3-
10 (2-benzyl-5-etoksykarbonyl-2,3-dihydro-3-oksoisoksazol-4-
yl)propionat (0,9 g, 1,9 mmol) og 1 M HCl ble kokt under
tilbakelep i 5 t. Blandingen ble dampet inn in vacuo til
tørrhet (0,56 g, 80%) smp 146-148°C (dek); ¹H NMR (DMSO-*d*₆)
15 δ 3,08 (dd, 1H), 3,19 (dd, 1H), 4,17 (br s, 1H), 5,16 (2,
2H), 7,24-7,45 (m, 5H); MS ((M + H)⁺) *m/z* 307. Anal. be-
regn. C 46,60, H 4,76, N 7,77; funnet C 46,88, H 4,81, N
7,96.

Eksempel 8

**Benzyl (*RS*)-2-Amino-3-(5-benzyloksykarbonyl-3-etoksy-
20 isoksazol-4-yl)propionat-hydroklorid (forb. 14)**

En blanding av di-*tert*-butyl-dikarbonat (1,1 g, 4,9 mmol),
NaCO₃ (1,1 g, 13 mmol) og 1,4-dioksan (3 ml) ble tilsatt
til en løsning av (*RS*)-2-amino-3-(5-karboksy-3-etoksy-
isoksazol-4-yl)propionsyre (1,0 g, 4,1 mmol) i vann/1,4-
25 dioksan (1:1) (10 ml), og den resulterende blanding ble om-
rørt ved romtemperatur i 16 t. 1,4-dioksanet ble dampet inn
in vacuo, og den vandige fasen ble surgjort med fortynnet
vandig HCl. Den vandige fasen ble ekstrahert med etylace-
tat, og de organiske ekstraktene ble vasket med vann og
30 saltløsning, tørket (MgSO₄), konsentrert in vacuo og under-
kastet flash-kromatografi (SiO₂, eluent: etylacetat/eta-
nol/eddiksyre (3:1, 4%)) for å gi (*RS*)-2-[(*tert*-butoksykar-
bonyl)amino]-3-(5-karboksy-3-etoksyisoksazol-4-yl)propion-
syre (1,4 g, 100%).

En blanding av (*RS*)-2-[(*tert*-butoksykarbonyl)amino]-3-(5-karboksy-3-etoksyisoksazol-4-yl)propionsyre (1,4 g, 4,1 mmol), benzylbromid (1,4 g, 8,2 mmol) i benzen/tetrahydrofuran (4:1) ble tilsatt 1,8-diazabicyklo-[5.4.0]-undek-7-en (1,3 g, 8,6 mmol) og den resulterende blanding ble kokt under tilbakesløp i 3 t. Blandingen ble filtrert og dampet inn in vacuo. Flash-kromatografi (SiO₂, eluent: etylacetat/heptan (1:3)) ga benzyl (*RS*)-2-[(*tert*-butoksykarbonyl)amino]-3-(5-benzylloksykarbonyl-3-etoksyisoksazol-4-yl)propionat som en olje (1,9 g, 86%).

En blanding av benzyl (*RS*)-2-[(*tert*-butoksykarbonyl)amino]-3-(5-benzylloksykarbonyl-3-etoksyisoksazol-4-yl)propionat (1,9 g, 3,6 mmol) og en mettett løsning av HCl i dietyleter (40 ml) ble kokt under tilbakesløp i 2 t. De dannede krystaller ble samlet ved filtrering, omrørt med etylacetat og samlet ved filtrering (0,53g, 32%); smp 142-144°C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1,32 (t, 3H), 3,17 (dd, 1H), 3,25 (dd, 1H), 4,17-4,32 (m, 3H), 5,09 (dd, 2H), 5,39 (s, 2H), 7,24-7,53 (m, 10H); MS ((M+H)⁺) *m/z* 425. Anal. beregn., C 59,93, H 5,48, N 6,08; funnet: C 59,70, H 5,49, N 6,26.

Eksempel 9

Etyl (*RS*)-2-Amino-3-(3-etoksy-5-etoksykarbonylisoksazol-4-yl)propionat-oksalat (forb. 15)

En blanding av (*RS*)-2-amino-3-(5-karboksy-3-etoksyisoksazol-4-yl)propionsyre (2,0 g, 8,2 mmol) og en løsning av HCl i etanol (35 ml) ble kokt under tilbakesløp i 3 t for å gi etyl-(*RS*)-2-amino-3-(5-karboksy-3-etoksyisoksazol-4-yl)propionat. Etyl-(*RS*)-2-amino-3-(5-karboksy-3-etoksyisoksazol-4-yl)propionat (0,6 g) ble tilsatt en fortynnet løsning av NaOH, og vannfasen ble ekstrahert med etylacetat. De organiske fasene ble vasket med saltløsning, tørket (MgSO₄), filtrert og inndampet til tørrhet in vacuo. Residuet ble løst i aceton (6 ml) og tilsatt en løsning av oksalsyre (0,14 g, 1,6 mmol) i aceton (6 ml), og den dannede utfelling ble samlet ved filtrering (110 mg, 10%); smp 159-

161°C; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,11 (t, 3H), 1,32 (t, 3H), 1,36 (t, 3H), 3,02 (dd, 1H), 3,11 (dd, 1H), 3,98-4,16 (m, 3H), 4,32 (q, 2H), 4,37 (q, 2H); MS ((M+H)⁺) m/z 301. Anal. beregnet C 46,15, H 5,69, N 7,18; funnet C 46,38, H 5,69, N 7,36

Eksempel 10

Butyl (RS)-2-amino-3-(5-butoksykarbonyl-3-etoksyisoksazol-4-yl)propionat-oksalat (forb. 16)

Forbindelsen ble erholdt på en måte som tilsvarer den i eksempel 9 ved å bruke en løsning av HCl i butanol, smp. 120-121°C; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 0,84 (t, 3H), 0,92 (t, 3H), 1,14-1,31 (m, 2H), 1,31-1,51 (m, 4H), 1,37 (t, 3H), 1,62-1,75 (m, 2H), 3,01 (dd, 1H), 3,13 (dd, 1H), 3,98-4,09 (m, 3H), 4,16-4,36 (m, 4H); MS ((M+H)⁺) m/z 357. Anal. beregn. C 51,11, H 6,79, N 6,26; funnet C 51,06, H 6,82, N 6,35.

Eksempel 11

[4-(2-Amino-3,4-dioksocyklobut-1-en-yl)aminometyl]-3-etoksyisoksazol-5-karboksylysyre (forb. 17)

Etyl-3-etoksy-4-metylisoksazol-5-karboksylylat

Acetylklorid (25 ml, 0,35 mol) ble tilsatt til EtOH (250 ml) ved 0°C og løsningen ble omrørt ved 0°C i 20 min. En løsning av 3-etoksy-4-metylisoksazol-5-karboksylysyre (WO95/12587,A1) (18 g, 0,10 mol) i EtOH (20 ml) ble tilsatt og den resulterende blandingen ble kokt under tilbakeløp i 4 t. Blandingen ble avkjølt, tilsatt NaHCO₃ (200 ml) og ekstrahert med dietyleter (3 x 300 ml). De organiske ekstraktene ble tørket (MgSO₄) og konsentrert in vacuo for å gi ubehandlet tittelforbindelse (18 g, 86%).

Etyl-4-brommetyl-3-etoksyisoksazol-5-karboksylylat

Etyl-3-etoksy-4-metylisoksazol-5-karboksylylat (18 g, 91 mmol), NBS (17,5 g, 100 mmol), dibenzoylperoksid (1 g, 4,1

mmol) i tetraklormetan (500 ml) ble kokt under tilbakeløp i 16 t. Blandingen ble avkjølt, filtrert og konsentrert in vacuo for å gi den rå tittelforbindelsen (24,5 g, 97%).

Etyl-3-etoksy-4-ftalimidometylisoksazol-5-karboksylat

- 5 En løsning av etyl-4-brommetyl-3-etoksyisoksazol-5-karboksylat (5 g, 17,9 mmol) i DMF (85 ml) ble tilsatt til en suspensjon av kalium-ftalimid (3,6 g, 19,7 mmol) i DMF (125 ml) ved 90°C. Den resulterende blandingen ble omrørt ved 90°C i 40 min, deretter avkjølt og konsentrert in vacuo.
- 10 Vann (250 ml) ble tilsatt, og den vandige fasen ble ekstrahert med dietyleter (2 x 200 ml). De organiske ekstrakter ble tørket (MgSO₄) og konsentrert in vacuo for å gi et råprodukt som ble omkrystallisert (EtOH) for å gi tittelforbindelsen (3,70 g, 60%); smp. 93-94°C.

- 15 *4-aminometyl-3-etoksyisoksazol-5-karboksylsyre-hydroklorid*
En løsning av etyl-3-etoksy-4-ftalimidometylisoksazol-5-karboksylat i 1 M NaOH ble kokt under tilbakeløp i 45 min. Blandingen ble avkjølt, tilsatt konsentrert HCl og ekstrahert med dietyleter (3 x 400 ml). De organiske ekstrakter
- 20 ble konsentrert in vacuo, tilsatt 1 M HCl (600 ml) og kokt under tilbakeløp i 1 t. Etter avkjøling ble blandingen vasket med dietyleter (3 x 600 ml) og konsentrert in vacuo, hvilket gav et råprodukt som ble omkrystallisert (eddiksyre) for å gi tittelforbindelsen (1,5 g, 82%): smp 215-216°C
- 25 (dek).

(4-(2-Amino-3,4-dioksocyklobut-1-en-1-yl)aminometyl]-3-etoksyisoksazol-5-karboksylsyre

- Til en løsning av 4-aminometyl-3-etoksyisoksazol-5-karboksylsyre-hydroklorid (1,2 g, 5,4 mmol) og 3-amino-4-
- 30 etoksy-cyklobut-3-en-1,2-dion (0,60 g, 5,9 mmol) i EtOH (300 ml) ble det tilsatt 1 M NaOH (12 ml). Den resulterende suspensjon ble omrørt ved romtemperatur i 16 t, deretter konsentrert in vacuo, tilsatt vann (100 ml) og vasket med EtOAc (2 x 100 ml). pH ble justert til ca. 3 ved tilsetning
- 35 av en M HCl. Fellingen ble filtrert fra og rekrystallisert

(vann) for å gi tittelforbindelsen som et gult pulver (0,71 g, 47%): smp 236-238°C (dek). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1,30 (t, 3H), 4,22 (q, 2H), 4,68 (bs, 2H). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ 14,41, 35,27, 65,54, 107,16, 159,14, 163,54, 168,71, 169,15, 5 169,73, 183,20, 183,34. MS ((M+H)⁺) *m/z* 282. Anal. (C₁₁H₁₁N₂O₆, 2,25 H₂O) beregn. C 41,06, H 4,86, N 13,06; funnet C 41,16, H 4,46, N 12,96.

Farmakologi

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen ble testet i overensstem-
10 melse med de følgende vel anerkjente og pålitelige tester.

[³H]AMPA-binding

I denne testen bestemmes affiniteten av et legemiddel for AMPA-reseptorer ved å måle evnen til å erstatte [³H]AMPA fra AMPA-reseptorer.

15 Testen ble utført i overensstemmelse med en modifisert versjon av fremgangsmåten til Honoré, T. og Nielsen, M., *Neurosci.Lett.* **1985**, 54, 27-32. Testen ble utført i nærvær av KSCN. Dette betyr at bare [³H]AMPA-affinitets-bindingstedene ble merket.

20 Membranpreparasjonene anvendt ble oppnådd i henhold til fremgangsmåten til Ransom, R.W. og Stec, *J. Neurochem.* **1988**, 51, 830-836.

Kortikal stykke-modell

Kortikal stykke-modell er en test hvor skiver av rottehjerne
25 ne undersøkes *in vitro* for å kvantifisere effekten av ligander på de forskjellige Glu-reseptorer og evaluere ligan-
denes farmakologiske profil (dvs. agonist/antagonist-egenskaper). Testen ble utført som beskrevet av Harrison, N.L. og Simmonds, M.A.
30 *Br.J.Pharmacol.* **1985**, 84, 381-391 som modifisert ifølge Wheatley, P.L., *Br.J.Pharmacol.*, **1986**, 87, 159P.

Tabell 1. Kortikalt stykke

Forbindelse	Profil	EC ₅₀ (μM)	pK _i	Reseptor undertype
1	Agonist	1,2		AMPA
2	Agonist	4,8		AMPA
(S) -2	Agonist	4,4		AMPA
(R) -2	Antagonist		3,28	AMPA
3	Agonist	40,0		AMPA
8	Agonist	2000		AMPA
10	Agonist	80		AMPA
11	Delv. agonist	325		AMPA
12	Agonist	40		AMPA
13	Antagonist		3,5	NMDA
17	Antagonist		3,3	NMDA

Resultater

Forbindelsene ble funnet å være eksitatoriske aminosyre (EAA) reseptorligander. Noen av forbindelsene ble funnet å være agonister ved AMPA-reseptorene, og andre forbindelser ble funnet å være selektive AMPA- eller NMDA-reseptor-antagonister. Forbindelsene viste aktivitet i μM-området.

Formuleringseksempler

10 De farmasøytiske formuleringene ifølge oppfinnelsen kan fremstilles ved konvensjonelle fremgangsmåter i faget.

For eksempel: Tabletter kan fremstilles ved å blande den aktive bestanddel med vanlige hjelpestoffer og/eller fortynningsmidler og deretter presse blandingen i en konvensjonell tabletteringsmaskin. Eksempler på hjelpestoffer og fortynningsmidler omfatter: Maisstivelse, laktose, talkum, magnesiumstearat, gelatin, gummier og lignende. Hvilke som helst andre hjelpestoffer eller tilsetningsstoffer, som fargestoffer, aroma, konserveringsmidler osv. kan anvendes, forutsatt at de er kompatible med de aktive ingrediensene.

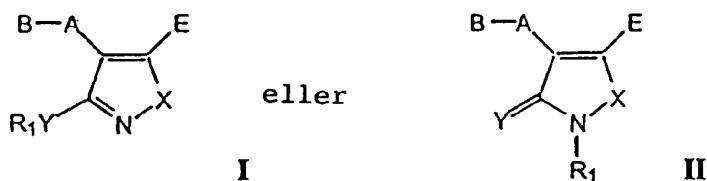
Løsningen for injeksjon kan fremstilles ved å løse den aktive ingrediens og eventuelle tilsetningsstoffer i en del

av vesikkelet, fortrinnsvis sterilt vann, ved å justere
løsningen til det ønskede volum, sterilisere løsningen og
fylle den i egnede ampuller eller småflasker. Ethvert egnet
tilsetningsstoff som konvensjonelt anvendes i faget, kan
5 tilsettes, såsom toniseringsmidler, konserveringsmidler,
antioksidanter osv.

P a t e n t k r a v

1. Et (3-alkoksyisoksazol-4-yl)-substitueret 2-amino-karboksylsyrederivat eller en svovelanalog derav med den generelle formel I eller II

5



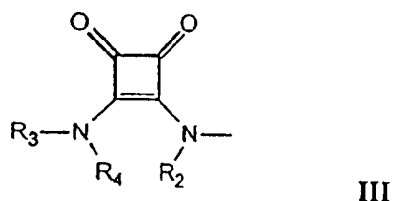
10

hvor R_1 er hydrogen, C_{1-6} -alkyl, C_{2-6} -alkenyl, eller fenyl- C_{1-6} -alkyl,

A er en binding eller en afstandsgruppe C_{1-6} -alkylen,

15 B er en gruppe $-CR_a(NR_bR_c)-COOR_5$ hvor R_a-R_c er hydrogen, og R_5 er hydrogen, eller B er en gruppe med formel III

20



hvor R_2 , R_3 og R_4 er hydrogen,

25 E er $COOR_6$, hvor R_6 er H, C_1-C_6 -alkyl eller fenyl- C_1-C_6 -alkyl;

X er O; Y er O; og

farmasøytisk akseptable salter derav.

2. Forbindelse ifølge krav 1,

k a r a k t e r i s e r t v e d a t den har formel I.

3. Forbindelse ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den har formel II.
4. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-3,
k a r a k t e r i s e r t v e d at E er en gruppe COOR₆,
5 hvor R₆ er C₁₋₆-alkyl eller fenyl-C₁₋₆-alkyl.
5. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-3,
k a r a k t e r i s e r t v e d at E er COOH.
6. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-5,
k a r a k t e r i s e r t v e d at B er en gruppe med
10 formelen CR_a(NR_bR_c)-COOR₅.
7. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-5,
k a r a k t e r i s e r t v e d at B er en gruppe med
formel III.
8. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-7,
15 k a r a k t e r i s e r t v e d at R₁ er C₁₋₆-alkyl eller
C₂₋₆-alkenyl, fortrinnsvis metyl, etyl eller propyl.
9. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-8,
k a r a k t e r i s e r t v e d at A er en binding eller
C₁₋₃-alkylen, fortrinnsvis metylen.
- 20 10. Forbindelse ifølge krav 2,
k a r a k t e r i s e r t v e d at A er en binding eller
C₁₋₃-alkylen, B er -CH(NH₂)-COOH eller en gruppe med formel
III hvor hver av R₃, R₄ og R₂ er hydrogen, X og Y er begge
oksygen, og R₁ er C₁₋₆-alkyl eller C₂₋₆-alkenyl, fortrinnsvis
25 metyl, etyl eller propyl.
11. Farmasøytisk sammensetning,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter en for-
bindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-10, sammen
med et farmasøytisk akseptabelt bærerstoff eller fortyn-
30 ningsmiddel.

12. Anvendelse av en forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-10 for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for behandling av cerebral iskemi, Huntingtons sykdom, epileptiske forstyrrelser, Parkinsons sykdom,
5 Alzheimers sykdom, schizofreni, smerte, depresjon eller angst.