

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 833931 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **833931**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification (IPC⁴)
C07D231/14

(22) Tekemispäivä - Ingningsdag - Filing date **27.10.1983**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **27.10.1983**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **02.05.1984**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

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

01.11.1982 US 437994

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Eli Lilly and Company, 307 East McCarty Street, Indianapolis, Ind. 46206, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Beck, James Richard, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 •Gajewski, Robert Peter, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

3 •Hackler, Ronald Erwin, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Parannuksia menetelmiin 3-aryyli-5- pyratsolijohdannaisten valmistamiseksi.

Förbättringar vid förfaranden för framställning av 3-aryl-5-pyrazol-derivat.

Parannuksia menetelmiin 3-aryyli-5-pyratsoli-johdannais-~~ten~~
ten valmistamiseksi

5 Tämän keksinnön kohteena on havainto, että tietyt
pyratsoli-johdannaiset ovat tehokkaita alentamaan uraatti-
(virtsahappo) veritasoja imettäväsillä.

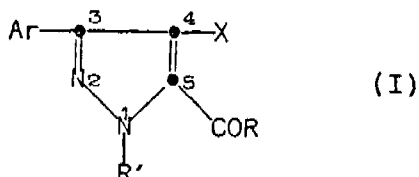
10 Kihti on uusiutuva perifeeristen nivelten akuutti
niveltulehdus, joka kohdistuu pääasiallisesti täysikäi-
siin miehiin ja joka on seuraus mononatriumuraatin kitei-
den saostumisesta niveliin ja jänteisiin sekä niiden ym-
pärille. Natriumuraatti saostuu näihin paikkoihin, koska
potilas on liikavirtsahappoverinen; ts. hänen uraatin
seerumitasonsa ovat kohonneet pisteeseen, jossa natrium-
uraatin liukoisuus ylitetään. Kohtiniveltulehduksen
15 akuutteja kohtauksia hoidetaan käyttämällä tulehduksen-
vastaista lääkeainetta. Kolkisiinin käyttö ennalta ehkäi-
sevästi estää kohdin enemmät akuutit hyökkäykset. Uriko-
suria-lääkkeitä, kuten probenesidiä ja sulfiinipyratsonia
voidaan käyttää seerumiuraatti-pitoisuuden pitämiseen
20 normaalialueella.

Eräs vaihtoehtoinen menetelmä kohdin hoitamiseksi
käsittää lääkeaineiden käytön, jotka estävät virtsahapon
tuotannon nisäkäskehossa estämällä entsyymi ksantiiniok-
sidaasia, joka entsyymi muuttaa sekä hypoksantiinin ksan-
25 tiiniksi että ksantiinin virtsahapoksi. Eräs tällainen
lääkeaine on allopurinoli (4-hydroksipyratsoli(3,4-d)-
pyrimidiini), eräs hypoksantiinin isomeeri. Ksantiiniok-
sidaasi muuttaa tämän lääkeaineen alloksantaaniksi.
Hypoksantiinin ksantiiniksi ja ksantiinin virtsahapoksi
30 kilpailevat konversiot estetään täten eikä virtsahappoa
akkumuloidu vereen. Allopurinolihoidolla on lisäetuna
virtsahapon liuottaminen kyhmyistä. Erilaisesta toiminta-
mekanismistaan johtuen allopurinoli ei häiritse urikosuria-
lääkkeiden, probenesidi ja sulfiinipyratsoni, tehokkuut-
35 ta eikä kolkisiinin käyttöä. Kaikki potilaat eivät kuiten-

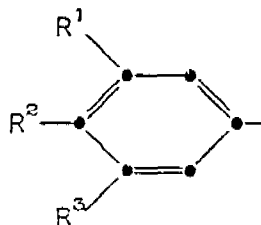
kaan siedä allopurinolia ja tämän keksinnön kohteena on aikaansaada lääkeaine, jolla on allopurinolin halutut ominaisuudet ilman joitakin sen epätoivottavia sivuvai-

5 Vaikka 3-aryyli-5-pyratsolikarboksyylihappojohdannaisista on olemassa lukuisia kirjallisuusviitteitä, ks. esimerkiksi US-patentit no. 4 134 987 ja 4 214 090, missään näistä viitteistä ei esitetä mahdollisuutta, että tällaiset yhdisteet voisivat olla tehokkaita veren
10 uraatti-tasojen alentamisessa nisäkkäillä.

Siten on nyt keksitty, että yhdisteet, joilla on kaava (I):



jossa R' on vety tai metyyli; Ar on pyridyyli, tienyyli tai



jossa R¹, R² ja R³ ovat yksittäisesti H, C₁₋₃ haloalkyyli, halogeeni, C₁₋₃ alkoksi, R¹ ja R² tai R² ja R³ otettuina yhdessä edustavat metyleenidioksia, edellyttäen, että ainakin yksi R¹:stä, R²:sta ja R³:sta on H, joku R¹:stä, R²:sta ja R³:sta on muu kuin H ja ainoastaan yksi R¹:stä, R²:sta ja R³:sta voi olla jodi;

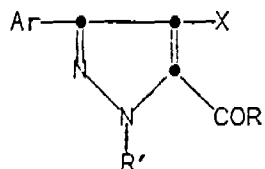
30 R on OH, OM, O-alk,

X on NH₂, OH, H, halogeeni tai C₁₋₃ alkyyli; alk on C₁₋₅ alkyyli; ja M on ei-myrkyllinen kationi, edellyttäen, että kun X on vety, bromi tai C₁₋₃ alkyyli, R¹ ei voi olla vety, ovat tehokkaita alentamaan veren uraatti-
35 tasoja nisäkkäillä.

Keksinnön mukaisesti annetaan menetelmä pyratso-
lien valmistamiseksi, joilla on kaava (I), jonka mene-
telmän mukaisesti:

(A) hydrolysoidaan esteri, jolla on kaava:

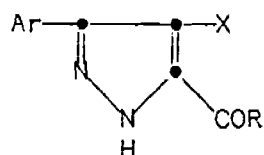
5



10 jossa Ar, X ja R' tarkoittavat samaa kuin edellä ja R
on O-alk, siten yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava
(I), jossa R on -OH tai -OM;

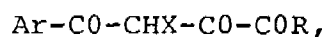
(B) metyloidaan yhdiste, jolla on kaava:

15



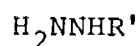
20 siten yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava (I),
jossa R' on metyyli; tai

(C) kondensoidaan aroyylipalorypähappoesteri,
jolla on kaava:



hydratsiini-johdannaisella, jolla on kaava:

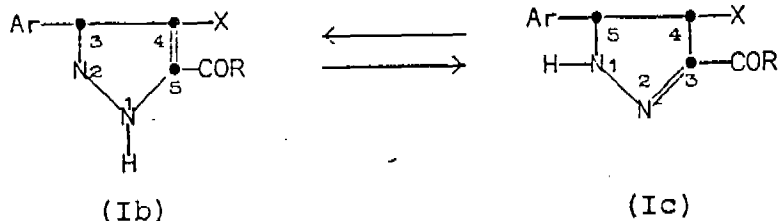
25



jossa R on O-alk, siten yhdisteen valmistamiseksi, jolla
on kaava (I), jossa R on O-alk.

Alaan perehtyneille on välittömästi selvää, että
kun R' on vety, pyratsoli esiintyy tautomeerisenä parina:

30



35

ts. 3-aryylipyratsoli-5-karboksyylihappona ja 5-aryyli-
pyratsoli-3-karboksyylihappona. Vaikka rakennekaava (I)
kuvaa H-tautomeeriä (Ib)-muodossa on selvästi ymmärret-
tävä, että I(c) tautomeeri kuuluu tämän keksinnön pii-
riin.

Kun yksi tai useampi R^1 :stä, R^2 :sta tai R^3 :sta
on C_{1-3} haloalkyyli-johdannainen, on edullista, että
tällainen ryhmä on täysin halogenoitu kuten trifluorime-
tyyli- tai pentakloorietyyli-ryhmässä. Nämä täysin halo-
genoidut alkyyliradikaalit ovat pysyvämpiä kuin osit-
tain halogenoidut haloalkyyli-radikaalit ja säilyttävät
rakenteellisen eheydensä useimpien synteettisten proses-
sien aikana.

Erään edullisen ryhmän tässä keksinnössä käyttö-
kelpoisia pyratsoleja muodostavat ne, joissa Ar on
3-trifluorimetyylifenyyli. Toisen edullisen ryhmän muo-
dostavat ne, joissa X on H, OH tai NH_2 , erityisesti ne,
joissa X on H. Kolmanneksi vapaat hapot ($R=OH$) tai niiden
farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat (M on ei-myrkyl-
linen kationi) ovat myös edullisia, neljänneksi on edul-
lista, että R' on metyyli.

Samalla kun kaikki kaavan (I) yhdisteet ovat ak-
tiivisia veren uraatti-tasojen alentamisessa, kun niitä
annetaan suun kautta, ovat ainoastaan ne lääkeaineet,
joissa R on OH tai OM, aktiivisia parenteraalisesti.

Käsite " C_{1-5} -alkyyli", kuten sitä tässä käytetään,
käsittää sellaisia radikaaleja kuin metyyli, etyyli,
n-propyyli, isopropyyli, n-butyli, isobutyli, sek-
butyyli, 1-pentyyli, 2-pentyyli, 3-pentyyli, 3-metyyli-1-
butyyli, 3-metyyli-2-butyli jne. Käsite " C_{1-3} -alkyyli",
kuten sitä tässä käytetään, muodostaa käsitteen " C_{1-5} -
alkyyli" alaryhmän ja käsittää metyylin, etyylin, n-pro-
pyylin ja isopropyylin.

Käsite " C_{1-3} -haloalkyyli" edustaa edellä lueteltu-
jen C_{1-3} -alkyyli-radikaalien halogenoituja johdoksia ja
käsittää sellaisia radikaaleja kuin trifluorimetyyli,

trikloorimetyyli, difluorimetyyli, klooridifluorimetyyli, bromimetyyli, *L,L*-difluorietyyli, pentafluorietyyli, heptafluori-*n*-propyyli, pentakloorietyyli, jodimetyyli jne.

5 Edullisia näissä uusissa menetelmissä ja yhdistelmissä käyttökelpoisia farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja ovat ne, jotka on muodostettu ei-myrkyllisen kationin, edullisesti alkalimetallikationin, kuten K tai Na, maa-alkalimetallikationin, kuten Mg tai Ca, jonkun muun ei-ei-myrkyllisen metallikationin, kuten Al tai Zn, tai ei-
10 myrkyllisen metalloidikationin kuten NH_4^+ , piperatsiini tai hydroksietyyliammonium, kanssa.

Kaavan (I) yhdisteitä voidaan antaa suun kautta
nisäkkäille, joilla on korkeat veren uraatti-pitoisuudet
ja on hoidon tarpeessa, jolloin vaikuttava aineosa sekoitetaan farmaseuttisesti hyväksyttävien kantimien laimenusaineiden tai apuaineiden kanssa, kuten on sopivaa, ja
15 annetaan yksikköannosmuodoissa, kuten tabletissa tai kapselissa. Jokaisen annosyksikön tulisi sisältää vaikuttavaa aineosaa määrässä 2-20 mg/kg nisäkkään kehon painoa.
20

Ruoansulatuskanavan ulkopuolista antamista varten lääkeaine sekoitetaan tavallisesti yksikköannosmuodossa natrium- tai kaliumkarboksylaattisuolana ($R = \text{OM}$ ja M on K tai Na) isotooniseksi liuokseksi. Tällaiset isotooniset liuokset ovat erityisen sopivia laskimonsisäistä tai vatsaontelon sisäistä injektiota varten. Ruoansulatuskanavan ulkopuolista lihaksensisäistä injektiota voidaan käyttää joko käyttäen vapaata happoa tai sen ei-myrkyllistä, ei-ärsyttävää suolaa plus yhtä tai useampaa
25 tavallisista farmaseuttisista apuaineista, joita käytetään lihaksensisäisissä injektioissa.
30

On kuitenkin edullista antaa kaavan (I) yhdisteitä suun kautta. Tällaisia tarkoituksia varten käytetään edullisesti joko kiinteätä vapaata happoa tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa. Lisäksi on havaittu, että
35

edellä esitetyn kaavan mukaisia yhdisteitä, jotka eivät ole happoja eikä suoloja; ts. amideja tai estereitä, voidaan käyttää vapaan hapon prekursoreina, koska tällaiset happojohdannaiset usein hydrolysoituvat vapaaksi hapoksi vatsan pH:ssa, tai erilaisten solunsisäisten hydrolyyttisten entsyymien vaikutuksesta. Tällaiset hydrolyyttiset prosessit eivät ilmeisesti kuitenkaan aina etene täydelliseksi ja kaavojen Ia, Ib tai Ic edustamien pyratsolikarboksyylihappojen esterit ja amidit eivät ole yhtä aktiivisia kihdinvastaisia lääkeaineita painopohjalta laskettuna kuin vapaat hapot tai niiden ei-myrkylliset kationisuolat. Suun kautta antamista varten vapaa happo tai sen kationisuola kiinteässä muodossa voidaan sekoittaa tärkkelyksen ja/tai muiden farmaseuttisten apuaineiden kanssa ja seos täyttää toisiinsa työntyviin gelatiinikapseleihin niin, että jokainen kapseli sisältää annosyksikön 100:sta 500 mg:aan edellä esitettyjen kaavojen mukaista yhdistettä. Vaihtoehtoisesti tärkkelys, sideaine, erilaiset liukuaineet jne voidaan sekoittaa keskenään ja seos puristaa tableteiksi siten, että jokainen tabletti sisältää yksikköannoksen, jossa on 100-250 tai jopa 500 mg edellä esitettyjen kaavojen mukaista yhdistettä. Tällaiset tabletit voidaan uurtaa niin, että haluttaessa voidaan antaa puoli- tai neljännesannoksia.

Yhdisteitä, jotka ovat erityisen käyttökelpoisia tämän keksinnön menetelmien mukaisesti vapaan happonsa tai sen suolamuodon muodossa ovat seuraavat:

1-metyyli-3-(2-tienyyli)-4-aminopyratsoli-5-karboksyylihappo, natriumsuola:

1-metyyli-3-(3-jodifenyyli)-pyratsoli-5-karboksyylihappo, kalsiumsuola

1-metyyli-3-(3-etyylifenyyli)-4-hydroksipyratsoli-5-karboksyylihappo, kaliumsuola

1-metyyli-3-(3-anisyyli)-4-bromipyratsoli-5-karboksyylihappo

1-metyyli-3-(3,4-dimetoksifenyyli)-4-klooripyratsoli-5-karboksyylihappo, aluminiumsuo-
la

1-metyyli-3-(3,5-dimetoksifenyyli)-4-aminopyratsoli-5-karboksyylihappo, kalsiumsuo-
la

5 1-metyyli-3-(3,4-difluorifenyyli)-4-aminopyratsoli-5-karboksyylihappo

3(5)-(3,4-metyleenidioksifenyyli)-4-hydroksipy-
ratsoli-5(3)-karboksyylihappo.

10 Kuten aikaisemmin todettiin ovat edullinen ryhmä
yhdisteitä, jotka kuuluvat edellä esitetyn kaavan piiriin
ja jotka yhdisteet eivät ole ainoastaan odottamattoman
aktiivisia ksantiinioksidaasi-inhibiittoreina, vaan
ovat myös uusia aineyhdistelmiä, ovat ne, joissa Ar on
3-trifluorimetyylifenyyli. Kuvaavia tämän ryhmän yhdis-
15 teistä ovat seuraavat:

1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-5-karboksyylihappo

1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-fluoripyratsoli-5-karboksyylihappo, natriumsuo-
la

20 3(5)-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-klooripyratsoli-5(3)-karboksyylihappo, ammoniumsuo-
la

1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-jodipyratsoli-5-karboksyylihappo, kaliumsuo-
la

25 3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-aminopyratsoli-5-karboksyylihappo, kalsiumsuo-
la

3(5)-(3-trifluorimetyyli-4-fluorifenyyli)-4-fluoripyratsoli-5(3)-karboksyylihappo

3(5)-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-hydroksipyratsoli-5(3)-karboksyylihappo, magnesiumsuo-
la

30 1-metyyli-3-(3-trifluorimetyyli-4-metoksifenyyli)-4-hydroksipyratsoli-5-karboksyylihappo, sinkkisuola; jne.

Alaan perehtyneelle on selvää, että pyratsoli-karboksyylihapon, suolan tai prekursoriesterin antamisen
jälkeen suurin prosenttiosuus pyratsolikarboksyylihaposta on vatsassa ionisoimattomassa muodossa; ts. mahan
35

vahva happo, HCl tukahduttaa pH = 2:ssa heikomman pyratsolikarboksyylihapon ionisoitumisen seuraavan kaavan mukaisesti:

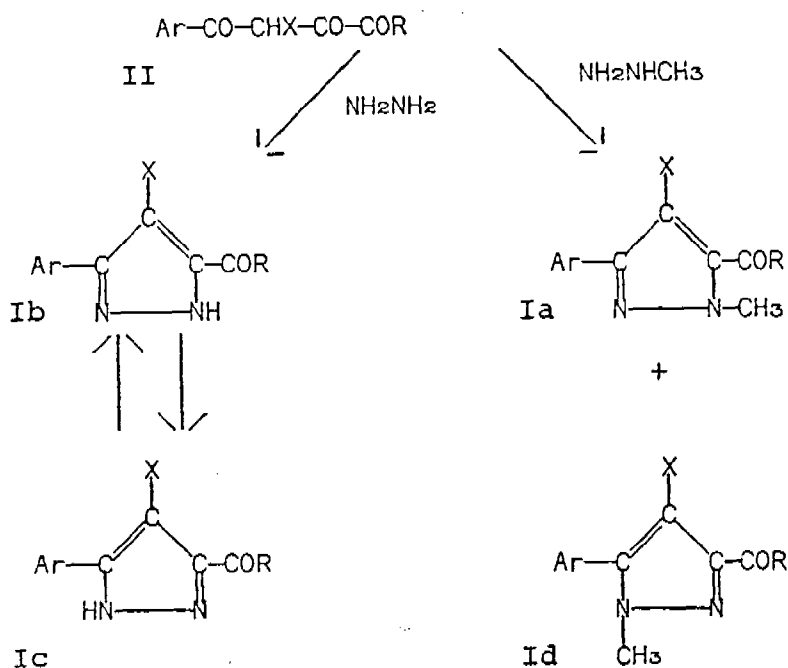
$$K_s = \frac{[H^+][\text{pyratsolikarboksyylaatti-ioni}]}{[\text{pyratsolikarboksyylihappo}]}$$

jossa K_s on näennäisdissosioitumisvakio nimenomaiselle pyratsolikarboksyylihapolle.

Tämän keksinnön yhdisteitä voidaan valmistaa yhden tai useamman seuraavista menetelmistä mukaisesti.

Yhdisteitä, joilla on kaava (I), jossa X on H tai alkyyli ja R on muu kuin OH tai OM, valmistetaan helposti kondensoimalla aroyyli-palorypähappoesteri tai -amidi (II) hydratsiinin tai metyylihydratsiinin kanssa kulkukaavion 1 mukaisesti.

Kulkukaavio 1



jossa X on H tai C_{1-3} alkyyli ja R on 0-alk. Tuotteet Ib ja Ic edustavat tautomeeristä tasapainoseosta, joka on hyödyllinen tämän keksinnön terapeuttisissa prosesseissa ja yhdistelmissä, mutta tuotteet Ia ja Id edus-

tavat isomeeristä seosta, jonka ainoastaan toinen komponentti, jota edustaa Ia, on aktiivinen kihdinvastainen lääkeaine. Isomeerinen seos voidaan helposti erottaa komponenttiosikseen kromatografisesti, jakokiteyttämällä tai jollakin muulla tunnetulla isomeeri-erotusmenetelmällä.

Kaavan (I) yhdisteitä, joissa R' on vety, voidaan valmistaa myös metyloimalla vastaava NH (R' on vety)-johdannainen sopivalla metyloimisaineella, jolla on kaava CH_3L , jossa L on poistuva ryhmä, esimerkiksi jodi, tai dimetyylisulfaattilla. Reaktio saatetaan edullisesti tapahtumaan lämpötilassa väliltä $0-110^\circ\text{C}$ emäksen läsnäollessa. NH-lähtöaineen tautomeerisestä luonteesta johdettua saadaan alkyloitujen tuotteiden seos, josta haluttu isomeeri helposti voidaan erottaa.

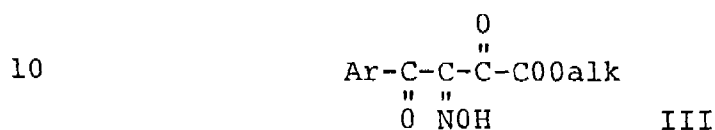
Lähtö-aroyyli-palorypähappoestereitä voidaan helposti valmistaa Claisen-kondensoimismenetelmällä, joka käsittää, esimerkiksi, valinnaisesti substituoidun asetofenonin ja oksalaattiesterin natriumetylaatin tai samankaltaisen emäksen läsnäollessa.

Käyttökelpoisia lääkeaineita tämän keksinnön tarkoituksia ja edullista suoritusmuotoa varten -- yhdisteitä, joissa R on OH --, valmistetaan sopivasti edellä esitetyistä yhdisteistä, joissa R on OC_{1-5} alkyyli emäksisellä tai happamalla hydrolyysillä, emäksisen hydrolyysin ollessa edullinen. Hydrolyysi tulisi, tietenkin, toteuttaa vesipitoisissa väliaineissa ja sopivasti lämpötiloissa väliltä $0-110^\circ\text{C}$. Hydrolyysi saatetaan edullisesti tapahtumaan käyttäen emästä, kuten ryhmän IA metallin hydroksidia, esimerkiksi natrium- tai kaliumhydroksidia, vesipitoisen C_{1-4} alkanolin läsnäollessa.

Yhdisteitä, joissa X on halogeeni ja R on OH, valmistetaan mukavasti antamalla, esim. molekyyllisen kloorin tai bromin (jolloin X:ksi tulee Br tai Cl) vaikuttaa vastaavaan esterijohdannaiseen, jossa R on 0-alk ja X on H, mitä seuraa halogenoidun esterin emäksinen hydro-

lyysi vapaaksi pyratsoli-5-karboksyylihapoksi. Pyratsoli-5-karboksyylihappoesterin jodaaminen C-4:ssä voidaan toteuttaa molekyylisellä jodilla, Icl:llä tai muulla sopivalla jodaamisaineella.

5 4-amino-johdannaiset (X on NH_2) valmistetaan nitrosoimalla aroyyli-palorypähappoesteri (II) kulkukaaviossa 1) N_2O_3 :lla. Syntynyt johdannainen, vedyn vaihdon jälkeen, on oksimino-johdannainen III:

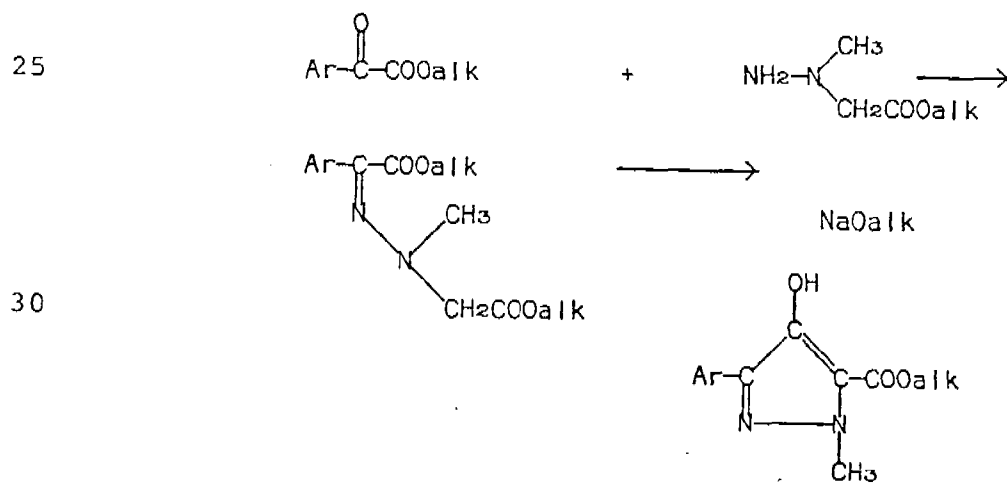


Oksimino-johdannaisten kondensoiminen hydratsiinin tai metyylihydratsiinin kanssa antaa Ia:n, Ic:n tai Id:n mukaisia yhdisteitä, joissa X on NO ja R on O-alk. Täten valmistetun 4-nitroso-yhdisteen pelkistäminen natrium-ditionaatilla tai samankaltaisella pelkistimellä antaa suoraan 4-aminopyratsoli-5-karboksylaattiesterin (Id-iso-

15 meerin poistamisen jälkeen), joka voidaan helposti hydrolysoida edulliseksi 5-karboksyylihapoksi.

20 Lopuksi 4-hydroksi-johdannaisten (X = OH) valmistus on seuraavassa kuvattu kulkukaaviossa 2.

Kulkukaavio 2

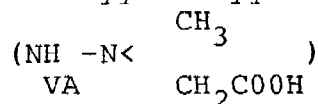


35 Ia (X on OH, R on O-alk).

Kulkukaavion 2 mukaisesti saatetaan aroyyliformiaatti (IV) reagoimaan N-metyyli-N-alkoksikarbonyylimetyylihydratsiinin (V) kanssa antamaan aroyyliformiaatin (VI) N-metyyli-N-alkoksikarbonyylimetyylihydratsoni. Tämän hydratsonin syklistointi alkoksidilla alemmassa alkanolis-

5 antaa 1-metyyli-3-(aryyli)-4-hydroksipyratsoli-5-karboksyylimahappoalkyyliesterin, joka voidaan helposti muuttaa vastaavaksi karboksyylihapoksi emäksisellä hydrolyysillä.

10 Vaihtoehtoisesti käytetty hydratsiini voi olla N-metyyli-N-karboksyylimetyylihydratsiini



mikä antaa 4-hydroksipyratsoli-5-karboksylihapon sykli-

15 soinnin jälkeen. Samalla tavalla valmistetaan Ib:n tai Ic:n mukaisia yhdisteitä käyttäen hydratsiinia, jolla on kaava $\text{NH}_2\text{-NH-CH}_2\text{-COO-alk}$ (Vb) tai kaava $\text{NH}_2\text{-NH-CH}_2\text{-COOH}$ (Vc) edellä esitettyjen N-metyylihydratsi-

nien asemesta.

20 Tätä keksintöä valaistaan lisäksi seuraavin spesifisin esimerkein.

Esimerkki 1

3(5)-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-5(3)-karboksyylihapon valmistus

25 Valmistettiin reaktioseos, jossa oli 5,8 g etyyli-3-trifluorimetyyllibentsoyylipuvaattia ja 0,64 g hydratsiinia 50 ml:ssa etanolia. Reaktioseosta kuumennettiin n. 80°C :ssa n. 30 minuuttia. Sitten lisättiin vettä ja reaktioseos jäähdytettiin. Sakka, joka oli etyyli-

30 3(5)-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-5(3)-karboksylaattia, erotettiin ja koottiin suodattamalla. Suodatus-

kakun uudelleenkiteyttäminen bentseeni/heksaani-liuotinseoksesta antoi kiteisen aineksen, joka sulii n. $84\text{--}96^\circ\text{C}$:ssa.

35 Etyyliesteri hydrolysoitiin ilman enempää puhdistamista seuraavasti. etyyli-3(5)-(3-trifluorimetyylife-

nyyli)pyratsoli-5(3)karboksylaattia (3,4 g) liuotettiin 20 ml:aan etanolia, johon lisättiin 0,5 g natriumhydroksidia liuotettuna 100 ml:aan vettä. Hydrolyysiseosta kuumennettiin n. 80°C:ssa n. 3 tuntia ja jäähdytettiin sitten. Jäähdytetty reaktioseos tehtiin happameksi lisäämällä 1N vesipitoista kloorivetyhappoa ja saostunut vapaa happo koottiin suodattamalla. Etanolista koottuun vapaan hapon uudelleenkiteyttäminen antoi 3(5)-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-5(3)-karboksyylihapon, joka sulii 251-4°C:ssa ja joka antoi seuraavan alkuaineanalyyysin:

Teoreettinen: C, 51,56; H, 2,73; N, 10,94

Löydetty: C, 51,77; H, 2,64; N, 11,21.

Esimerkki 2

15 1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-5-karboksyylihapon valmistus

Seuraten esimerkin 1 menettelyä kuumennettiin 5,8 g etyyli-3-trifluorimetyyllibentsoyylipyruvaattia ja 0,92 g metyylihydratsiinia etanoliliuoksessa n. yksi tunti n. 80°C:ssa. Reaktioseos jäähdytettiin ja lisättiin vettä. Vesipitoista seosta uutettiin kahdella 100 ml:n annoksella eetteriä, mitä seurasi yksi 100 ml:n annos kloroformia. Yhdistetyt uutteen kuivatettiin faasinerotuspaperilla. Liuottimet poistettiin suodoksesta. NMR osoitti, että jäännös käsitti isomeeri-parin etyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-5-karboksylaatti ja etyyli-1-metyyli-5-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-3-karboksylaatti n. 60-40-seoksena. Isomeerit erotettiin kromatografisesti piihappogeelillä käyttäen dikloorimetaania. Nopeammin liikkuva jae, joka käsitti halutun etyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyyllifenyyli)pyratsoli-5-karboksylaatin, kerättiin ja liuotin poistettiin siitä; paino = 2,0 g. Haluttu etyyliesteri hydrolysoitiin ilman enempää puhdistamista seuraavan menetelmän mukaisesti. Liuosta, jossa oli 2,0 g etyyli-1-

metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-5-karboksy-
sylaattia 40 ml:ssa etanolia, kuumennettiin palautus-
jäähdyttären liuoksen kanssa, jossa oli 0,3 g natrium-
hydroksidia 120 ml:ssa vettä, n. 2 tuntia. Hydrolyysi-
seos jäähdytettiin ja tehtiin sitten happameksi 1N vesi-
pitoisella kloorivetyhapolla. Vapaa happo, joka oli liu-
kenematon happameen vesipitoiseen liuokseen, saostui ja
koottiin suodattamalla. Suodatuskakun uudelleenkiteyt-
täminen antoi 1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-
pyratsoli-karboksyylihapon, joka sulii 198-9°C:ssa uudel-
leenkiteyttämisen jälkeen etanolista.

Analyysi:

Laskettu: C, 53,34; H, 3,36; N, 10,37

Löydetty: C, 53,17; H, 3,49; N, 10,45.

Pyratsoli-isomeerien vaihtoehtoiseen erottamiseen
päästään jakokiteyttämällä, joka on kuvattu seuraavassa
esimerkissä. 5,5 g metyyli-3-trifluorimetyylibentsoyyli-
pyruvaattia ja 0,92 g metyylihydratsiinia sekoitettiin
mekaanisesti 20 ml:ssa jäätikkää n. 3 tuntia lievästi
kuumentuen (ylittämättä 45°C). Reaktioseos kaadettiin
jää/vesi-seokseen ja koottiin 5,5 g valkoista sakkaa. Tä-
män sakan osoitettiin nmr:lla olevan metyyli-1-metyyli-
3-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-5-karboksylaatin
ja metyyli-1-metyyli-5-(3-trifluorimetyylifenyyli)-3-
karboksylaatin lähes 3:1-seos. Tämä seos liuotettiin 125
ml:aan kuumaa heksaania. Heksaani-liuos suodatettiin ja
jäähdytettiin sitten 40°C:seen. Sakan päällä oleva neste
dekantoitiin ruskeasta öljystä ja jäähdytettiin sit-
ten -10°C:seen. Saatiin 2,5 g valkoisia kiteitä, joiden
nmr:lla osoitettiin sisältävän 98 % haluttua 5-karboksy-
laatti-isomeeriä.

Samalla tavalla valmistettiin:

Metyyli-1-metyyli-3-(3-kloorifenyyli)pyratsoli-5-
karboksylaatti, öljy, jolla oli seuraava alkuaineanaly-
ysi.

Laskettu: C, 58,99; H, 4,95; N, 10,58

Löydetty: C, 59,25; H, 4,88; N, 10,70

- 5 1-metyyli-3-(3-kloorifenyyli)pyratsoli-5-karboksylihappo; sulamispiste $164-7^{\circ}\text{C}$ (bentseeni/heksaani); saanto n. 3 g (7,6 g:sta pyruvaattiesteri-lähtöainetta).
Laskettu: C, 55,83; H, 3,83; N, 11,84
Löydetty: C, 56,04; H, 3,73; N, 12,04.

- 10 Etyyli-1-metyyli-3-(3,4-dikloorifenyyli)pyratsoli-5-karboksylaatti; sulamispiste = $122-4^{\circ}\text{C}$ (heksaani).
Laskettu: C, 52,73; H, 3,06; N, 9,46
Löydetty: C, 52,47; H, 3,27; N, 9,30

- 1-metyyli-3-(3,4-dikloorifenyyli)pyratsoli-5-karboksyylihappo; sulamispiste = $252-6^{\circ}\text{C}$ (metanoli).
Laskettu: C, 48,73; H, 2,97; N, 10,36
15 Löydetty: C, 48,65; H, 2,94; N, 10,55.

- Metyyli-1-metyyli-3-(4-metoksifenyyli)pyratsoli-5-karboksylaatti; sulamispiste = $76,78^{\circ}\text{C}$; paino = 3,4 g (5,9 g:sta pyruvaattiesteri-lähtöainetta).
Laskettu: C, 63,40; H, 5,73; N, 11,38
20 Löydetty: C, 63,16; H, 5,55; N, 11,24.

1-metyyli-3-(4-metoksifenyyli)pyratsoli-5-karboksyylihappo; sulamispiste = $190-3^{\circ}\text{C}$ (etanoli).
Laskettu: C, 62,06; H, 5,21; N, 12,06
Löydetty: C, 62,27; H, 5,24; N, 12,01.

- 25 Metyyli-1-metyyli-3-(3-bromifenyyli)pyratsoli-5-karboksylaatti; sulamispiste = $95-7^{\circ}\text{C}$.
Laskettu: C, 48,24; H, 3,76; N, 9,49
Löydetty: C, 48,90; H, 3,58; N, 9,41.

- 30 1-metyyli-3-(3-bromifenyyli)pyratsoli-5-karboksyylihappo; sulamispiste = $166-9^{\circ}\text{C}$ (etanoli); saanto 3,6 g (11,4 g:sta palorypälehappoesteriä).
Laskettu: C, 47,00; H, 3,23; N, 9,97
Löydetty: C, 47,11; H, 3,25; N, 10,13.

- 35 Metyyli-1-metyyli-3-(3,4-dimetoksifenyyli)pyratsoli-5-karboksylaatti; sulamispiste = $133-5^{\circ}\text{C}$ (bentseeni/heksaani).

Laskettu: C, 60,86; H, 5,84; N, 10,14

Löydetty: C, 60,97; H, 5,59; N, 10,16.

5 1-metyyli-3-(3,4-dimetoksifenyyli)pyratsoli-5-karboksylihappo; sulamispiste = 189-91°C (etyyliasettaatti/bentseeni/heksaani).

Laskettu: C, 59-54; H, 5,38; N, 10,68

Löydetty: C, 59,78; H, 5,22; N, 10,65.

Metyyli-1-metyyli-3-(m-tolyyli)pyratsoli-5-karboksylaatti.

10 Laskettu: C, 67,81; H, 6,13; N, 12,17

Löydetty: C, 67,60; H, 6,26; N, 11,88.

Saanto = 9,2 g keltaista öljyä (17,0 g:sta pyruvaatti-esteriä).

15 1-metyyli-3-(m-tolyyli)pyratsoli-5-karboksylihappo; sulamispiste = 150-3°C (bentseenistä).

Laskettu: C, 66,65; H, 5,59; N, 12,96

Löydetty: C, 66,42; H, 5,38; N, 13,22.

Esimerkki 3

20 1-metyyli-3-(3-bromifenyyli)-4-klooripyratsoli-5-karboksylihapon valmistus

Valmistettiin reaktioseos, jossa oli 13,5 g metyyli-1-metyyli-3-(3-bromifenyyli)pyratsoli-5-karboksylaattia ja 6,2 g sulfuryylikloridia bentseeni-liuoksessa. Reaktioseosta kuumennettiin palautuslämpötilassa n. 36 tuntia ja jäähdytettiin sitten ja kaadettiin veteen. 25 Vesipitoista seosta uutettiin etyyliasetaatilla ja etyyliasettaatti-uute erotettiin ja kuivattiin. Etyyliasettaatin poistaminen tyhjössä antoi jäännöksen, metyyli-1-metyyli-3-(3-bromifenyyli)-4-klooripyratsoli-5-karboksylaatin, joka oli muodostunut tässä reaktiossa. Jäännöksen uudelleenkiteyttäminen heksaanista antoi kiteisen aineksen, joka sulii 91-3°C:ssa.

30 Laskettu: C, 43,73; H, 3,06; N, 8,50

Löydetty: C, 44,03; H, 3,03; N, 8,55.

35 7 ja 6 kymmenesosagrammaa edellistä metyyli-

teriä hydrolysoitiin laimeaan natriumhydroksidiin esimerkin 1 menetelmän mukaisesti ja täten syntynyt vapaa happo eristettiin saman esimerkin menetelmän mukaisesti. Etanolista tällä tavalla valmistetun 1-metyyli-3-(3-bromifenyyli)-4-klooripyratsoli-5-karboksyylihapon uudelleenkiteyttäminen antoi kiteisen aineksen, joka sulii 200-1^oC:ssa.

Laskettu: C, 41,87; H, 2,56; N, 8,88

Löydetty: C, 42,06; H, 2,38; N, 8,87.

10

Esimerkki 4

1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-klooripyratsoli-5-karboksyylihapon valmistus

15

Valmistettiin liuos liuottamalla 5,2 g metyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-5-karboksylaattia 200 ml:aan jääetikkaa. Liuosta kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilassa samalla kun seokseen johdettiin kaasumaista klooria. N. 4 tunnin kuluttua kloorin lisääminen lopetettiin ja reaktioseos kaadettiin jäihin. Tästä syntynyttä vesipitoista seosta uutettiin kahdella 150 ml:n annoksella kloroformia ja kloroformi-uutteet erotettiin, yhdistettiin ja kuivattiin. Kloroformin poistamisesta tyhjössä saatiin jäännöksenä metyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-klooripyratsoli-5-karboksylaatti, joka oli muodostunut edellä esitetys-
25 sä reaktiossa. Jäännös liuotettiin etyyliasetaattiin ja etyyliasetaatti-liuos pestiin kyllästetyllä vesipitoisella natriumbikarbonaatilla. Etyyliasetaatti-liuos kuivattiin sitten faasi-erotuspaperilla. Liuottimen poistamisen jälkeen tyhjössä saatiin jäännös, joka liuotettiin heksaaniin ja kromatografoitiin 62-asteisella piihappogeelillä. Kromatogrammi kehitettiin kloroformi/heksaani-seoksilla eluenttina. Käyttämällä 100-%:sta kloroformia eluenttina saatiin pieni määrä nopeasti
30 liikkuvaa ainesta, joka ei ollut haluttu tuote. Seuraavana eluoitui haluttu tuote, metyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-klooripyratsoli-karboksy-

35

laatti. Jakeet, jotka sisälsivät tämän aineen, yhdistettiin ja kloroformi poistettiin tyhjössä. Jäännöksen (1,5 g) uudelleenkiteyttäminen heksaanista antoi metyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyyllifenyyli)-4-klooripyratsoli-5-karboksylaatin; sulamispiste = $97-8^{\circ}\text{C}$. Yhdisteen alkuaineanalyysi oli seuraava:

Laskettu: C, 44,22; H, 2,57; N, 7,93; Cl, 20,08

Löydetty: C, 44,17; H, 2,33; N, 7,99; Cl, 20,36.

NMR ydinmagneettinen resonanssikirjo oli sopusoinnussa sen kanssa minkä odotettiin saatavan yhdisteistä, joille on annettu rakenne.

Tällä tavalla valmistettu metyyliesteri hydrolysoitiin laimealla natriumhydroksidilla esimerkin 1 menetelmän mukaisesti. Hydrolyysi-seos tehtiin happameksi ja syntynyt vapaa happo koottiin suodattamalla. Uudelleenkiteyttäminen etanoli/vesi-liuotinseoksesta antoi 1-metyyli-3-(3-trifluorimetyyllifenyyli)-4-klooripyratsoli-5-karboksyylihapon, joka sulii $180-3^{\circ}\text{C}$:ssa; saanto 700 mg. Analyysi:

Laskettu: C, 47,21; H, 2,65; N, 9,20

Löydetty: C, 47,22; H, 2,79; N, 9,11.

Seuraten edellä esitettyä menettelyä samaa metyyliesteriä bromattiin palautuksenalaisessa etikkahapossa. Näin saatu metyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyyllifenyyli)-4-bromipyratsoli-5-karboksylaatti puhdistettiin kromatografisesti piihappogeelillä käyttäen eluenttina metyleenidikloridia. Saatiin 3,0 g 1-metyyli-3-(3-trifluorimetyyllifenyyli)-4-bromipyratsoli-5-karboksyylihappoa (8,0 g:sta bromaamatonta esteri-lähtöainetta). Esteri hydrolysoitiin esimerkin 1 menetelmän mukaisesti käyttäen laimeata vesipitoista natriumhydroksidia vesipitoisessa etanolissa ja vapaa happo eristettiin hapottamalla hydrolyysi-seoksesta. Vapaan hapon uudelleenkiteyttäminen etanolista antoi 1-metyyli-3-(3-trifluorimetyyllifenyyli)-4-bromipyratsoli-5-karboksyylihapon, joka sulii $182-4^{\circ}\text{C}$:ssa.

Analyysi:

Laskettu: C, 41,29; H, 2,31; N, 8,02

Löydetty: C, 41,34; H, 2,45; N, 8,08.

Esimerkki 5

5 1,4-dimetyyli-3-fenyylipyratsoli-5-karboksyli-
hapon valmistus

Valmistettiin reaktioseos, jossa oli 8,2 g metyy-
li-3-bentsoyyli-2-oksobutanoaattia, 3 ml metyylihydra-
siinia ja 50 ml metanolia. Reaktioseosta kuumennettiin
10 palautuslämpötilassa kunnes reaktio oli pääasiallisesti
täydellinen ja jäädytettiin sitten. Liuotin poistettiin
tyhjössä haihduuttamalla. Jäännös, joka käsitti metyyli-
1,4-dimetyyli-3-fenyylipyratsoli-5-karboksylaatin ja
metyyli-1,4-dimetyyli-5-fenyylipyratsoli-3-karboksylaa-
15 tin seoksen, kromatografoitiin piihappogeelillä käyttäen
eluenttina metyleenidikloridia. Kolonnista ensimmäisenä
tuleva jae oli haluttu metyyli-1,4-dimetyyli-3-fenyylipyratsoli-5-karboksylaatti. Jakeet, jotka sisälsivät
tämän yhdisteen, yhdistettiin ja liuotin poistettiin.
20 Näin saadun jäännöksen hydrolyysi laimealla vesipitoi-
sella natriumhydroksidilla esimerkin 1 mukaisella mene-
telmällä antoi vapaan hapon. Vapaan hapon uudelleenki-
teyttämisen etanolista antoi kiteisen 1,4-dimetyyli-3-
fenyylipyratsoli-5-karboksylihapon, joka sulii 161-3⁰C:ssa.

25 Analyysi:

Laskettu: C, 66,65; H, 5,59; N, 12,96

Löydetty: C, 66,81; H, 5,39; N, 12,76.

Esimerkki 6

30 1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-amino-
pyratsoli-5-karboksylihapon valmistus

Valmistettiin liuos liuottamalla 40 g metyyli-3-
trifluorimetyylibentsoyylipyruvaattia 300 ml:aan meta-
nolia. N₂O₃-kaasua johdettiin hitaasti liuokseen neljän
tunnin ajan (kunnes kaikki esteristä oli liuennut ja
35 sen jälkeen yksi tunti). N₂O₃-kaasua kehitettiin lisää-

mällä pisaroittain 12N vesipitoista kloorivetyhappoa natriumnitriitin vesipitoiseen lietteeseen. Seuraavaksi liuotin poistettiin reaktioseoksesta ja jäännökseen lisättiin 200 ml vettä. Vesipitoista seosta uutettiin 5 kolmella 300 ml:n annoksella eetteriä. Eetteriuutteet erotettiin, yhdistettiin ja yhdistetyt uutteet kuivattiin. Eetteri poistettiin tyhjössä jättämään jäännökseksi metyyli-4(3-trifluorimetyylifenyyli)-2,4-diokso-3-oksiminobutanoaatti, joka oli muodostunut edullisessa reaktiossa. 10 sa.

Tämä yhdiste, ilman enempää puhdistamista, liuotettiin 3 ml:aan 1N vesipitoista kloorivetyhappoa. Hapan liuos jäähdytettiin n. 5°C:seen. Sitten lisättiin hitaasti liuos, jossa oli 8 ml metyylihydratsiinia 50 ml:ssa 15 vettä. Kaksi tuntia sen jälkeen kun lisäys oli loppuun suoritettu reaktioseosta uutettiin kahdella 300 ml:n annoksella kylmää etyyliasetaattia. Uutteet sisälsivät metyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-nitrosopyratsoli-5-karboksylaatin ja metyyli-1-metyyli-5-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-nitroso-3-karboksylaatin 20 seoksen, joka oli muodostunut tässä reaktiossa. Etyyliasetaatii-uutteet sekoitettiin 600 ml:n kanssa vettä. Tähän lisättiin pieninä annoksina kiinteätä natriumditionaattia ylimäärin. Alkuperäinen vihreänsininen liuos 25 muuttui ruosteenruskeaksi n. tunnin jälkeen, jona 150-200 g natriumditionaattia oli lisätty. Orgaaniset ja vesipitoiset faasit erottuivat ja vesipitoista faasia uutettiin etyyliasetaatilla. Nämä kaksi etyyliaseetaatti-faasia yhdistettiin ja kuivattiin käyttäen faasinerotuspaperaa. 30 Poistamalla liuotin tyhjössä saatiin metyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-aminopyratsoli-5-karboksylaatin ja metyyli-1-metyyli-5-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-aminopyratsoli-3-karboksylaatin seos, joka oli muodostunut kuvatussa pelkistyksessä. Estereiden seos liuotettiin 35 kloroformiin ja kromatografoitiin 62-laatusella

piidioksidilla. Eluoitava ensimmäinen pääkomponentti kromatografoitiin uudelleen piihappogeelillä käyttäen heksaania sisältäviä kasvavia määriä etyyliasetaattia eluenttina. Metyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)-4-aminopyratsoli-5-karboksylaatti eluoi-
 5 ja 4-%:sella etyyliasetaatilla heksaanissa. Saanto = 1,4 g.

Esteri (1,4 g) hydrolysoitiin esimerkin 1 menetelmän mukaisesti ja vapaa happo eristettiin hydrolyysi-seoksen happameksi tekemisen jälkeen suodattamalla.
 10 Näin valmistettu 1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-4-aminopyratsoli-5-karboksyylihappo sulii n. 172°C:ssa hajoten uudelleenkiteyttämisen jälkeen bentseeni/hek-
 saani-liuotinseoksesta; saanto = 0,7 g.

Analyysi:

15 Laskettu: C, 50,53; H, 3,53; N, 14,73;
 Löydetty: C, 50,30; H, 3,71; N, 14,47.

Esimerkki 7

1-metyyli-3-fenyyli-4-hydroksipyratsoli-5-karbok-
 syylihapon valmistus

20 Seuraten julkaisun Tetrahedron Letters, 1591 (1971) menettelyä lisättiin 0,92 g natriumia 40 ml:aan etanolia lisättiin liuos, jossa oli 0,2 M metyylibentsoyyliformi-
 aatin N-metyyli-N-karbometoksimetyylihydratsiinia 40 ml:ssa etanolia ja syntynyttä seosta kuumennettiin palautusläm-
 25 pötilassa sekoittaen n. 2 tuntia. Etanoli poistettiin sitten tyhjössä. Lisättiin vettä ja reaktioseos neutra-
 loitiin lisäämällä laimeata vesipitoista rikkihappoa. Hapanta liuosta uutettiin eetterillä ja eetteriuute kui-
 vattiin. Tässä reaktiossa syntynyt harmaa sakkajäännös,
 30 joka oli metyyli-1-metyyli-3-fenyyli-4-hydroksipyratsoli-
 5-karboksylaattia, sulii heksaanista uudelleenkiteyttä-
 misen jälkeen 88-90°C:ssa.

Analyysi:

Laskettu: C, 63,40; H, 5,73; N, 11,38
 35 Löydetty: C, 63,57; H, 5,72; N, 11,52
 nmr oli sopusoinnussa ehdotetun rakenteen kanssa.

Yhtä ja kahta kymmenesosagrammaa edellistä esteriä käsiteltiin 1 g:lla natriumhydroksidia 30 ml:ssa 50-%:sta vesipitoista etanolia. Hydrolyysi-seosta kuumennettiin n. 80°C:ssa yksi tunti ja annettiin jäähtyä. Jäähtynyt reaktioseos tehtiin sitten happameksi lisäämällä laimeata vesipitoista rikkihappoa ja syntynyt sakka, joka oli 1-metyyli-3-fenyyli-4-hydroksipyratsoli-5-karboksyylihappo, koottiin suodattamalla. Sakka sulii 180-2°C:ssa hajoten. Uudelleenkiteyttäminen bentseeni/heksaani-liuotinseoksesta antoi kiteisen aineksen, joka sulii 183-6°C:ssa.

Analyysi:

Laskettu: C, 65,34; H, 4,98; N, 13,85

Löydetty: C, 65,55; H, 5,00; N, 14,11.

Seuraten edellä esitettyä menettelyä 3-trifluorimetyyllibentsoyyliformiaatin N-metyyli-N-karbometoksimetyylihydratsoni syklisoitiin natriumetoksidin läsnäollessa antamaan metyyli-1-metyyli-3-(3-trifluorimetyyllifenyyli)-4-hydroksipyratsoli-5-karboksyylaatti, joka sulii 101-3°C:ssa. (77 %:n saanto laskettuna lähtöainesta;)

Analyysi:

Laskettu: C, 53,51; H, 4,17; N, 8,91

Löydetty: C, 53,39; H, 3,98; N, 8,83.

Seuraten edelleen edellä esitettyä menettelyä esteri hydrolysoitiin natriumhydroksidilla vesipitoisessa etanolissa antamaan 1-metyyli-3-(3-trifluorimetyyllifenyyli)-4-hydroksipyratsoli-5-karboksyylihappo, joka sulii 192-4°C:ssa. Ehdotettu rakenne vahvistettiin nmr:llä.

30

Esimerkki 8

3(5)-(3-trifluorimetyyllifenyyli)-4-hydroksipyratsoli-5(3)-karboksyylihapon valmistus

Natriumia (0,7 g) liuotettiin 50 ml:aan etanolia. Lisättiin metyyli-3-trifluorimetyyllibentsoyyliformiaatin N-karboetoksimetyylihydratsonin 0,2 M liuos 40 ml:ssa

35

etanolia. (Etanoli-liuos suodatettiin kuumana ennen li-
säämistä). Reaktioseosta sekoitettiin palautuslämpötilas-
sa n. 2 tuntia, minkä ajan jälkeen etanoli poistettiin
tyhjössä. Lisättiin vettä, mitä seurasi 5 ml 6N vesipi-
5 toista rikkihappoa reaktioseoksen täten tekemiseksi lie-
västi happameksi. Tässä reaktiossa muodostunut metyyli-
3(5)-(3-trifluorimetyyllifenyyli)-4-hydroksipyratsoli-
5(3)-karboksylaatti oli liukenematon happameen vesipi-
toiseen kerrokseen ja erotettiin. Erottunut yhdiste uutet-
10 tiin kloroformilla ja kloroformi-uute kuivattiin. Klo-
roformin poistaminen tyhjössä antoi tumman jäännöksen,
joka puhdistettiin kromatografisesti 62-asteisella pii-
dioksidilla käyttäen eluenttina metyleenidikloridin ja
etyyliasetaatin seosta. Sen jälkeen kun muutamat nopeas-
15 ti siirtyvät aineet oli eluoitu eluoitiin haluttu esteri
ja saatiin kiinteä aine, joka sulii 177-8°C:ssa eluentin
haihduttamisen jälkeen; saanto = 0,3 g.

Analyysi:

Laskettu: C, 52,01; H, 3,69; N, 9,33

20 Löydetty: C, 51,77; H, 3,74; N, 9,45.

Esteri hydrolysoitiin esimerkin 9 menetelmän mu-
kaisesti antamaan 3(5)-(3-trifluorimetyyllifenyyli)-4-
hydroksipyratsoli-5(3)-karboksyylihappo, joka sulii 215-
16°C:ssa hajoten uudelleenkiteyttämisen jälkeen vesipitoi-
25 sesta etanolista.

Analyysi:

Laskettu: C, 48,54; H, 2,59; N, 10,29

Löydetty: C, 48,44; H, 2,65; N, 10,20.

Seuraten edellä esitettyä menettelyä metyyli-
30 bentsoyyliformiaatin N-karboetoksimetyylihydratsoni
syklisoitiin natriumetoksidilla antamaan metyyli-3(5)-
fenyyli-4-hydroksipyratsoli-5(3)-karboksylaatti. Tämän
esterin hydrolyysi esimerkin 7 menetelmällä antoi vas-
taavan vapaan hapon, joka eristettiin hapottamalla hydro-
35 lyysi-seos. Happo sulii 214-44°C:ssa hajoten uudelleen-
kiteyttämisen jälkeen metanoli/vesi liuotinseoksesta.

Saanto 2,3 g 3,0 g:sta esterää. Täten valmistetun 3(5)-fenyyli-4-hydroksipyratsoli-5(3)-karboksyylihapon analyysi oli seuraava:

Analyyysi:

5 Laskettu: C, 63,83; H, 4,29; N, 14,89

Löydetty: C, 64,10; H, 4,08; N, 14,91.

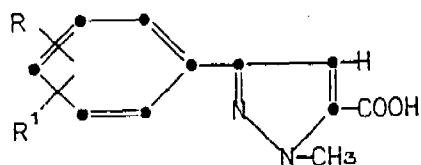
Kuten edellä todettiin, ovat kaavan (I) yhdisteet ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suola ja esterit ksantiinioksidaasi-inhibiittoreita. Koska virtsa-
10 happoa syntyy ensinnäkin hypoksantiinin hapettumisesta ksantiiniksi ja toiseksi ksantiinin hapettumisesta virtsahapoksi entsyymien, ksantiinioksidaasin kautta, vähentäisi ilmeisesti ksantiinioksidaasin inhibiittori in vivo veren virtsahappopitoisuuksia. Siten kaikki yh-
15 disteet, joilla on ksantiinioksidaasi in vitro tai in vivo, ovat tehokkaita kihdinvastaisia lääkeaineita.

Suoritettiin in vitro ksantiinioksidaasi-analyysi Kalckar, J. Biol. Chem., 167, 429 (1947):n menetelmän mukaisesti. Ksantiinioksidaasi-aktiivisuus mitattiin huoneen lämpötilassa virtsahapon muodostumisnopeudella ksantiinisubstraatista. 1 ml:n kokonaistilavuudessa inkubointi-seos sisälsi 50 mikromoolia kaliumfosfaattipuskuria pH 7,4:ssä, 0,05 mikromoolia ksantiinia ja 0,01 yksikköä entsyymi-valmistetta (kromatografisesti puhdistettua maitoksantiinioksidaasia, aste III, joka
20 oli saatu firmasta Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri). Absorbenssi-muutos 292 nm:ssa merkittiin muistiin Gilford-merkitsemispektrofotometrillä ja muodostunut virtsahappo laskettiin käyttäen ekstinktiokerrointa $12 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 292 nm:ssa. Tulokset näistä analyyseistä on esitetty taulukoissa I-III seuraavassa. Jokaisen taulukon yläpäässä on rakennekaava ja jokaisessa taulukossa vasemmanpuolinen sarake osoittaa nimenomaiset muutokset rakennekaavassa, samalla kun oikeanpuoleisessa sarakkeessa annetaan lääkeaineen väkevyys nanogram-
35

moina kautta millilitra, joka estää 50-%:sesti ksantii-
nin hapettumisen virtsahapoksi ksantiinioksidaasi-val-
mistuksen vaikutuksesta.

Taulukko I

5



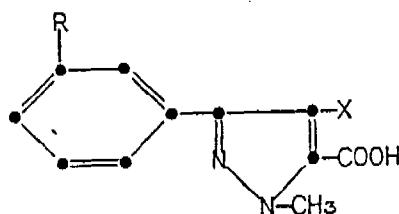
10

R	R ¹	I ₅₀ (nanogrammat/ml)
3-CF ₃	H	7
3-Cl	H	72
3-Br	H	20
3-OCH ₃	4-OCH ₃	64
3-Cl	4-Cl	48
3-CH ₃	H	300

15

Taulukko II

20

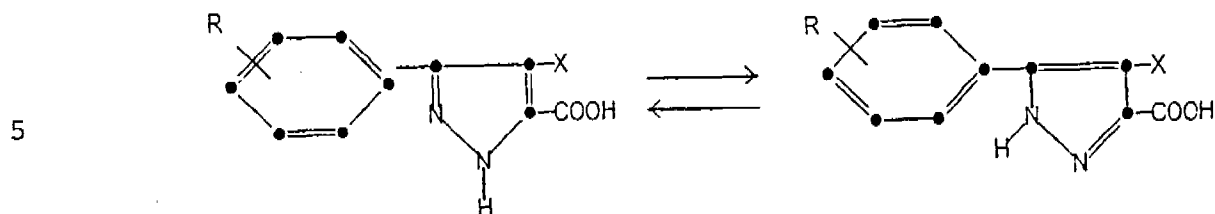


25

R	X	I ₅₀ (nanogrammat/ml)
Br	Cl	21
CF ₃	H	7
CF ₃	OH	8
CF ₃	Br	20
CF ₃	NH ₂	8,6
CF ₃	Cl	14

30

Taulukko III



	R	X	I ₅₀ (nanogrammat/ml)
10	4-OMe	OH	170
	4-F	OH	350
	3-CF ₃	H	100
	3-CF ₃	OH	12,2

15 Kaavan (I) yhdisteet ovat aktiivisia in vivo alen-
tamaan plasman virtsahappotasoja. Käytettiin kahta eri-
laista koemenetelmää in vivo-aktiivisuuden määrittämisek-
si mutta molemmat menetelmät antoivat verrattavissa ole-
vat tulokset. Ensimmäinen menetelmä, spektrofluorimetri-
nen menetelmä modifioitiin Sumi et al.:n menetelmästä,
20 Clinica. Chimica. Acta, 73, 233 (1976). Rottia taptet-
tiin kaula katkaisemalla ja niiden veri kerättiin tyh-
jöputkiin, jotka sisälsivät hepariinia, heparinoitujen
lasisuppiloiden läpi. Verta lingottiin 8 minuuttia
25 4000 r/min:ssa, minkä ajan jälkeen plasma erotettiin ja
laimennettiin 1:1 suhteeseen vedellä. Plasmaproteiini
saostettiin lisäämällä etikkahappoa 0,007 mooliseen lop-
puväkevyyteen ja keittämällä syntynyttä seosta 5 minuut-
tia Sorval-putkissa. Deproteinisoitua plasmaa saatiin
30 syntyneen plasman linkoamisen jälkeen 30 minuuttia nopeu-
della 25,000 r/min. Virtsahappo analysoitiin seuraavasti:
0,2 ml:n tasaosia kirkasta deproteinisoitua plasmaa sekoi-
tettiin 120 λ urikaasia kanssa (0,045 mu/ml) ja inkuboi-
ttiin 30 minuuttia 27°C:ssa. Lisättiin 1,0 ml p-hydroksi-
35 fenyylietikkahappopuskuria. Näytteitä, jotka oli saatu

fenyylietikkahappopuskuria. Näytteitä, jotka oli saatu syötetyistä rotta- tai koirasarja-annoksista testattavaa yhdistettä inkuboitiin edellä esitetyllä puskuriliuoksella 30 minuuttia 27°C:ssa. Liuoksen fluoresenssi mitattiin kvartsiputkissa käyttäen Aminco Bowman-spektrorfluorimeter-mittaria, jonka ärsytys oli 321 nm ja emissio 412 nm:ssa. Viisi virtsahappostandardia 6-30 mikromoolista analysoitiin jokaiselle testille ja jokainen standardi antoi suoraviivaisen käyrän.

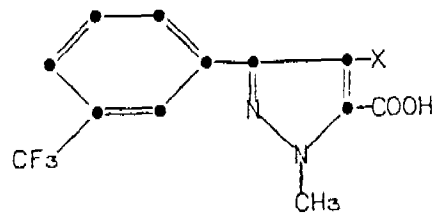
Toista menetelmää nimitetään HPLC-EC havaitsemismenetelmäksi. Tässä menetelmässä veri-plasmaa koottiin rotista kuten edellä kuvattiin sekä koirista heparinoituilla ruiskuilla päänpuoleisesta suonesta kyynärvarressa. Veriplasma lingottiin Sure-SEP:lla erilliseksi plasமாகsi. Deprotonisoitu plasma valmistettiin jokaisessa tapauksessa laimentamalla ensin yksi tilavuusosa plasmaa yhden tilavuusosan kanssa sisäistä standardiliuosta, 4 mcg/ml ja lisäämällä sitten kaksi tilavuusosaa 5-%:sta trikloorietikkahappoa. Standardeja lisättiin kontrolliplasmaan välillä 0-8 mcg/ml virtsahappoa. Näytteitä, jotka oli saatu syöttämällä mitattuja annoksia testattavaa yhdistettä koirille ja rotille, sekoitettiin 30 sekuntia ja lingottiin sitten Eppendorf-mikrosentrifugissa. Sakkojen päällä oleva neste laimennettiin 1:10:een kolonipuskurissa ja analysoitiin virtsahapon suhteen. Käytetyt sisäiset standardit olivat 3-metyyli-virtsahappo rottakokeita varten ja 3,9-dimetyylivirtsahappo koirakokeita varten. Analyysit suoritettiin seuraavasti käyttäen Bioanalytic Systems Inc.-LC-44-analysaattoria ja sähkökemiallista detektori-systeemiä, joka perustuu Altex model 110 pumppuun, joka on kytketty CP-0-hiilitahna-elektrodetektoriin. Analysoitavat näytteet pantiin DuPont 834 autosampler'iin ja injektointiin automaattisesti laboratoriossa pakattuun ruostumattomaan teräskoloniin (4,1 mm sisäläpimitta, 1/4 tuumaa ulkoläpimitta, 25 cm,1), joka sisälsi kääntöfaasipakkauksen (sperisorb.

0.D. 5 /¹¹, Regis Chemical Co). Käytetyt pylväspuskurit olivat 0,1 M dinatriumfosfaatti, 0,05 M sitruunahappo ja 10-%:nen metanoli rottakokeita varten; 0,1 M dinatriumfosfaatti, 10-%:nen metanoli ja sitruunahappo titrattuna pH 6,5:ssä koirakokeita varten. Käytettiin samoja sisäisiä standardeja kuin edellä. Viipymisajat virtsahapolle, 3-metyylivirtsahapolle ja 3,9 dimetyylivirtsahapolle asetettiin pysyviksi. Virtsahappomäärät laskettiin sitten huippualueilta tietokoneanalyysillä. Seuraavassa taulukossa IV annetaan suun kautta annetut ED₅₀-arvot rotista ryhmille edullisia tämän keksinnön yhdisteitä (niille, joissa pyratsoli-renkaan 3-asemassa on 3-fluorimetyylifenyyli-ryhmä). Taulukossa antaa sarakke 1 pyratsoli-renkaan C-4-substituentin ja sarakke 2 ED₅₀:n mg:oissa/kg (annoksen, joka alentaa virtsahappotason puolella).

Edellä esitettyjen kaavojen yhdisteet ovat myös suhteellisen myrkyttömiä. Taulukon IV sarakkeessa 3 on lueteltu oraallinen LD₅₀ hiirille mg:oissa/kg (standardipoikkeamin) jokaiselle sarakkeen 1 yhdisteelle (niille, jotka tappavat puolet eläimistä). Lopuksi annetaan sarakkeessa 4 taulukossa IV suhde LD₅₀:ED₅₀. Nähdään, että suhde LD₅₀:ED₅₀ on melko suuri antaen olennaisen turvallisuusmarginaalin kaavojen Ia, Ib ja Ic yhdisteen käyttämiseen kohdin hoitamiseen nisäkkäillä, erityisesti ihmisellä.

Myös muut kaavojen Ia, Ib ja Ic edellä esittämät yhdisteet ovat aktiivisia in vivo ksantiinioksidaasin inhibiittoreita. Seuraavassa taulukossa V annetaan tuloksia, jotka on saatu suun kautta rotille antamalla. Taulukossa esitetään sarakkeessa 1 happojohdannainen, sarakkeessa 2 annosmäärä ja sarakkeessa 3 estoprosentti.

Taulukko IV

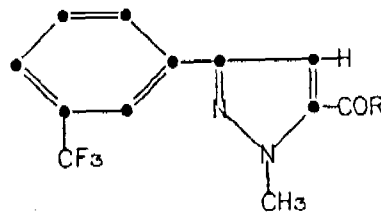


5

<u>X</u>	<u>ED₅₀ mg/kg</u>	<u>LD₅₀ mg/kg</u>	<u>Suhde</u>
NH ₂	23	--	--
Cl	8.5	322 ± 38	38
H	30	585 ± 45	19.5
Br	11	300 - 500	27-45

10

Taulukko V



15

20

<u>R</u>	<u>Annos suun kautta mg/kg</u>	<u>Esto-%</u>
OCH ₃	24	50

25

30

35

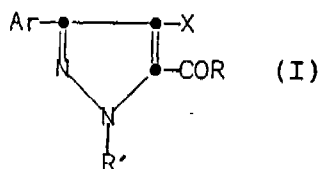
Kaavojen Ia, Ib ja Ic yhdisteet ovat kaikki aktiivisia suun kautta annettuina ja muodostetaan edullisesti kiinteään muotoon suun kautta antamista varten. Esimerkiksi tabletti, joka sisältää 100-250 mg kaavojen Ia, Ib tai Ic mukaista yhdistettä, sisältää esim. tablettia kohti myös 38 mg tärkkelystä, 25 mg laktoosia, 2 mg etyyliiselluloosaa, 7 mg algiinihappoa, 1 mg magnesiumstearaattia ja 2 mg talkkia. Valmistemuoto, kapsleina käytettäväksi sisältää esimerkiksi kapselia kohti 100 - 250 mg tai 500 mg lääkeainetta ja esimerkiksi 48 mg

laktoosia ja 2 mg magnesiumstearaattia. Kiinteät yhdistelmät kapsleihin käytettäväksi voidaan valmistaa 600 tai jopa 800 mg lääkeainetta sisältäviksi annosta kohti, jos lääkeaine ensin tiivistetään. Ruoansulatuskanavan ulkopuolista antamista varten voidaan käyttää ainoastaan happoja tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja. Jos käytetään happoa, se tulisi neutraloida, esimerkiksi 10-%:sella natriumhydroksidilla ja syntynyt seos sekoittaa isotoonisen suolaliuoksen kanssa. Edullisesti käytetään suolaa ja se lisätään yksinkertaisesti isotooniseen suolaliuokseen halutussa injektio-tilavuudessa.

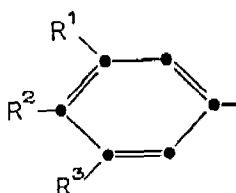
Edellä esitettyjen kaavojen Ia, Ib ja Ic yhdisteet ovat käyttökelpoisia alentamaan veren uraatti (virtsahappo)-tasoja normaalirajoihin ja ne ovat siten arvokkaita liikavirtsahappotilojen kuten kohdin ja kottiartritoksen kemoterapiassa, erityisesti, kun tämä tauti on vallitsevasti aiheutunut epäsäännöllisyyksistä puriini-metabolismissa.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä pyratsoli-johdannaisen valmistamiseksi, jolla on kaava (I):



10 jossa R' on vety tai metyyli; Ar on pyridyyli, tienyyli tai



15 jossa R¹, R² ja R³ ovat itsenäisesti H, halogeeni, C₁₋₃haloalkyyli tai C₁₋₃alkoksi; R¹ ja R² tai R² ja R³, kun ne otetaan yhdessä, ovat metyleenidioksi; edellyttäen, että ainakin yksi R¹:sta, R²:sta ja R³:sta on H,

20 yksi on muu kuin H ja ainoastaan yksi on jodi;

X on NH₂, H, OH, halogeeni tai C₁₋₃alkyyli;

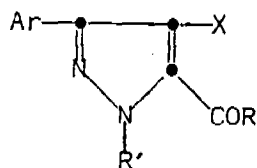
R on OH, OM, O-alk;

jossa alk on C₁₋₅alkyyli; ja M on ei-myrkyllinen kationi;

edellyttäen, että kun X on vety, bromi tai C₁₋₃alkyyli,

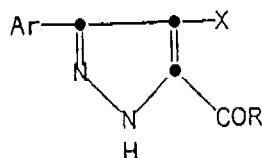
25 R¹ ei voi olla vety; t u n n e t t u siittä, että:

(A) hydrolysoidaan esteri, jolla on kaava:



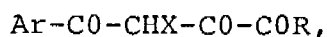
jossa Ar, X ja R' tarkoittavat samaa kuin edellä ja R on O-alk, siten yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava (I), jossa R on -OH tai -OM;

35 (B) metyloidaan yhdiste, jolla on kaava:



5 siten yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava (I),
jossa R' on metyyli; tai

(C) kondensoidaan aroyyli-palorypalehappoesteri,
jolla on kaava:



10 hydratsiini-johdannaisella, jolla on kaava:



jossa R on 0-alk, siten yhdisteen valmistamiseksi, jolla
on kaava (I), jossa R on 0-alk.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
15 t u n n e t t u siitä, että R on OH.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että R' on metyyli.

4. Jonkun edellä esitetyn patenttivaatimuksen
1-3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että
20 X on vety.

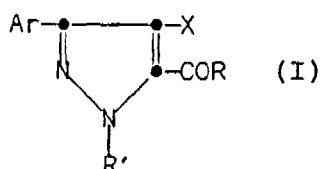
5. Jonkun edellä esitetyn patenttivaatimuksen 1-4
mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että Ar on
3-trifluorimetyylifenyyli.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä
25 1-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsoli-5-
karboksyylihapon valmistamiseksi.

Patentkrav

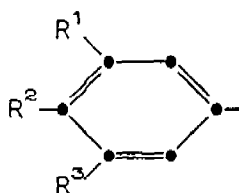
1. Förfarande för framställning av pyrazolderivat
med formeln (I):

5



10

där R' är väte eller metyl; Ar är pyridyl, tienyl,
eller



15

där R¹, R² och R³ är oberoende H, halogen, C₁₋₃haloalkyl
eller C₁₋₃alkoxi; R¹ och R² eller R² och R³ då de tags
tillsammans är metylendioxi; förutsatt, att minst en
av R¹, R² och R³ är H, en är annat än H och endast en
är jod;

20

X är NH₂, H, OH, halogen eller C₁₋₃alkyl;

R är OM, OM, O-alk;

där alk är C₁₋₅alkyl; och M är en icke-toxisk katjon;

förutsatt att då X är väte, brom eller C₁₋₃alkyl kan

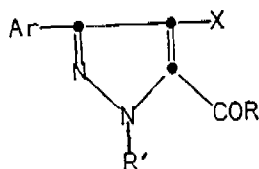
25

R¹ inte vara väte;

k ä n n e t e c k n a t därav, att

(A) en ester med formeln

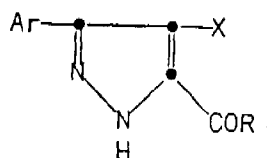
30



där Ar, X och R' är som ovan definierats och R är
O-alk, hydrolyseras för att så framställa en förening
med formeln (I), där R är -OH eller -OM;

35

(B) en förening med formeln:

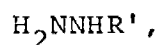


metyleras för att så framställa en förening med formeln (I), där R' är metyl; eller

(C) en aroyl-brännnsyraester som har formeln:



kondenseras med ett hydrazin-derivat med formeln:



där R är 0-alk, för att så framställa en förening med formeln (I), där R är 0-alk.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e - t e c k n a t därav, att R är OH.

3. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att R' är metyl.

4. Förfarande enligt något av patentkraven 1-3, k ä n n e t e c k n a t därav, att X är väte.

5. Förfarande enligt något av patentkraven 1-4, k ä n n e t e c k n a t därav, att Ar är 3-trifluor-metylfenyl.

6. Förfarande enligt patentkravet 1 för frams-framställning av 1-metyl-3-(3-trifluormetylfenyl)-pyrazol-5-karboxylsyra.