

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) **FI 880385 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 880385

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification (IPC⁴)
C07D513/04
C07D253:00
C07D277:00

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 28.01.1988

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 28.01.1988

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 31.07.1988

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

(32) (33) (31) Etu oikeus - Prioritet - Priority

30.01.1987 DE P_3702758.1

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Hoechst Aktiengesellschaft, 65926 Frankfurt am Main, SAKSA, (DE)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Thorwart, Werner, BRD, SAKSA, (DE)

2 • Gebert, Ulrich, TOWN UNKNOWN, SAKSA, (DE)

3 • Schleyerbach, Rudolf, Hofheim, SAKSA, (DE)

4 • Bartlett, Robert R., 6100 Darmstadt, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

**Substituoituja 3-fenyyli-7H-tiatsole /3,2-b//1,2,4/-triatzin-7-oneja, menetelmiä niiden valmistamiseksi, niitä sisältäviä
lääkeaineita ja niiden käyttö, sekä muutamia mainittujen yhdisteiden valmistuksen yht eydessä muodostuneita välituotteita.**

**Substituerade 3-fenyl-7H-tiazolo /3,2-b//1,2,4/-triazin-7-oner, förfaranden för deras framställning, dessa innehållande läkemedel
och deras användning, samt några vid framställningen av nämnda föreningar bildade mellanprodukter.**

Substituoituja 3-fenyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]-
 triatsin-7-oneja, menetelmiä niiden valmistamiseksi,
 niitä sisältäviä lääkeaineita ja niiden käyttö, sekä
 muutamia mainittujen yhdisteiden valmistuksen yhtey-
 5 dessä muodostuneita välituotteita

Tämä keksintö koskee uusia monisubstituoituja
 3-fenyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oneja,
 menetelmiä niiden valmistamiseksi ja niiden käyttöä
 10 vaikutusaineina lääkeaineissa erityisesti reumaattis-
 ten sairauksien hoitamiseksi; (lisäksi keksintö koskee
 myös vielä muutamia edellä mainittujen yhdisteiden val-
 mistuksen yhteydessä muodostuneita välituotteita.)

Tähän saakka reumaterapiassa ensisijaisesti käy-
 15 tettyjen ei-steroidaalisten tulehdusenvastaisten ai-
 neiden osalta kyseessä ovat lähes poikkeuksetta suhteel-
 lisen voimakkaat syklo-oksygenaasi-inhibiittorit, jotka
 estävät arakidonihapon endogeenisen hajaantumisen tuleh-
 tumista ja tuskaa lisääviksi prostaglandiineiksi. Liian
 20 voimakkaan syklo-oksygenaasi-aktiivisuuden ehkäisyn syy-
 opillisessa yhteydessä ilmenee epäilemättä joukko hai-
 tallisia sivuvaikutuksia, kuten maha-suoli-vaivoja, munu-
 aistoimintahäiriöitä ja allergisia reaktioita (esim. iho-
 allergiaa ja astmakohtauksia), jotka erityisesti tavalli-
 25 sesti välttämättömän pitkäaikaisen hoidon yhteydessä
 pakottavat usein keskeyttämään hoidon (vrt K. Brune, Eur.
 J. Rheumatol. Inflamm. 5, 335-349, 1982).

Muuna mainittuun vaikutusmekanismiin syyopillises-
 sa yhteydessä olevien näiden klassisten ei-steroidaalis-
 30 ten tulehdusenvastaisten aineiden varjopuolena on se,
 että ne tosin mahdollistavat oireiston tuskan, tulehduk-
 sen ja turpoamisen poistamisen tai lievittämisen, vaikut-
 tamatta kuitenkaan tulehduksellisiin reumaattisiin sai-
 rauksiin syypäänä olevaan immuunipatologiseen prosessiin,

eivätkä sen vuoksi pysty pysähdyttämään jatkuvaa sairauden kulkua.

Siten esiintyy välttämätöntä tarvetta terapeuttisesti käyttökelpoisista reumalääkkeistä, jotka edullisemman vaikutusprofiilinsa perusteella eroavat edukseen tunnetuista ei-steroidaalisista tulehduksen vastaisista lääkkeistä toisaalta paremman siedettävyyden ja toisaalta kausalisemman vaikutuksen osalta reumaattiseen sairaustapautumaan. Tuloksia lupaavia kiinnekohtia tarjoavat tähän tar-

10 koitukseen sellaiset lääkeaineet, jotka vaikuttavat voimakkaammin vaihtoehtoiseen arakidonihapon hajaantumistaan, siten että ne estävät esimerkiksi 5-lipoksigenaasia ja ehkäisevät siten liiallista tulehdusta edistävien leukotrieenien muodostumista, desaktivoivat erittäin

15 reaktiokykyisiä happiradikaaleja, jotka tulehduksenvälittäjinä ylläpitävät jatkuvasti solu- ja kudoshajaantumista tulehduksellisissa reumaattisissa nivelissä, ja/tai palauttavat entiselleen raiteiltaan siirtyneen immuunijärjestelmän ja avaavat siten mahdollisuuden käsitellä syy-

20 opillisemmin reumaattisia sairauksia lääkkein.

Yllättäen keksittiin nyt, että sijoittamalla tiettyjä 3-substituoituja 5-tert.-butyyli-4-hydroksifenyyliähteitä mahdollisesti 2- ja/tai 6-asemassa substituentin omaavien 7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-

25 onien 3-asemaan, saadaan uudenlaisia yhdisteitä, jotka farmakologisten ominaisuuksiensa perusteella täyttävät edellä esitetyt vaatimukset ja soveltuvat siten erinomaisesti reumaattisten sairauksien hoitamiseen.

Myöskin mahalaukun kautta annettuina erittäin hyvin siedettävät yhdisteet estävät, toisin kuin tunnetut ei-steroidaaliset tulehduksen vastaiset aineet, arakidonihappoa hajoittavaa entsyymi-5-lipoksigenaasia, kun taas syklo-oksigenaasin vaikutusta ei ole osoitettavissa. Yh-

30 disteiden kyky desaktivoida happiradikaaleja ilmenee esimerkiksi ^(R)Adrianmycin'illä (Fa.Farmitalia) indusoi-

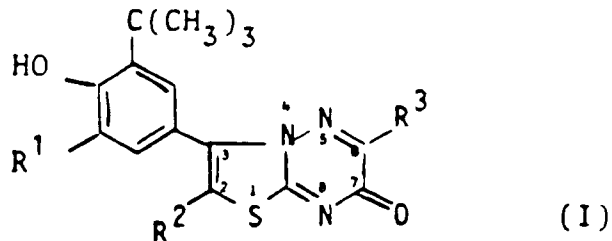
dussa tulehdus-koemallissa ja lipoidi-peroksidoitumisen estymisenä.

Sen lisäksi ne vaikuttavat edullisesti häiriöityneeseen immuunisysteemiin, kuten on osoitettavissa Arthus-reaktion vaimentumisena ja ehkäistyneen immuuniaktiviteetin normalisoitumisena Freund'in Adjuvans'in tai Typ II-Collagen'in avulla indusoidun niveltulehduksen patologisissa koemalleissa.

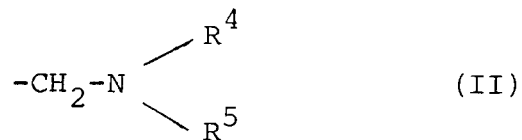
Kirjallisuuden perusteella tunnetaan jo muutamia 7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oneja. Siten F. Soliman ym valmistivat etsiessään kasvaimenvastaisesti vaikuttavia yhdisteitä 6-(3-jodistyrlyli)-3-metyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-5-onia tiedoittamatta kuitenkaan tämän farmakologisista ominaisuuksista (Pharmazie 34 (1979), s 392-394). Saman rengassysteemin, jossa on 6-asemassa oleva alkylyli- tai fenyylylitähde, kehittivät W. Klose ym:t (Liebigs Ann. Chem. 1984, s 1302-1307); näillä yhdisteillä pitäisi olla rikkaruohomyrkkövaikutusta. DE-OS 31 46 300:ssa selostetaan lopuksi kokonaisen osittain hydrattujen 7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-onien sarjan ohella 3,6-di-fenyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-onia ja mainitaan vastaava 3-metyyli-6-fenyyli-johdannainen, joiden myöskin pitäisi vaikuttaa rikkaruohomyrkköinä.

Tämä keksintö koskee sitä vastoin uusia 7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oneja, joiden 3-asemassa on 3-substituoitu 5-tert-butylyli-4-hydroksifenyylyliryhmä ja mahdollisesti 2- ja/tai 6-asemassa muita substituentteja, jolloin varmaankin fenyylylitähteen sijoittaminen kaksirenkaisen systeemin 6-asemaan johtaa täydelliseen vaikutuksen katoamiseen. Aikaisemmin mainittujen farmakologisten ominaisuuksiensa perusteella keksinnön mukaiset yhdisteet soveltuvat käytettäväksi lääkeaineissa, erityisesti sellaisissa, jotka ovat aiheellisia tulehduksellisten reumaattisten sairauksien yhteydessä.

Keksinnön kohteena ovat siten substituoidut 3-fenyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-onit, joiden yleiskaava I on



10 jossa R^1 merkitsee suora- tai sivuketjuista alkyyliryhmää, jossa on 1-4 C-atomia, hydroksimetyyliä tai aminometyyliryhmää, jonka kaava II on



R^2 merkitsee vetyatomia tai alkyylitähdettä, jossa on 1-3 hiiliatomia ja R^3 merkitsee vetyatomia, suora- tai sivuketjuista alkyyliryhmää, jossa on 1-4 C-atomia, hydroksimetyyliä tai kaavan II mukaista aminometyyliryhmää, jolloin R^4 ja R^5 ovat samoja tai erilaisia ja merkitsevät vetyatomia tai suora- tai sivuketjuista alkyylitähdettä, jossa on 1-4 C-atomia, tai molemmat tähteet yhdessä typpiätoimin kanssa, johon ne ovat sitoutuneet, muodostavat 5-7 jäsenisen tyydytetyn renkaan, jossa on 4-6 C-atomia tai 4 tai 5 C-atomia ja lisäksi muu heteroatomi, joka on O:n, S:n tai NR^6 :n muodossa ja R^6 merkitsee vetyä tai (C_1-C_4) -alkyyliä, samoin kuin yhdisteiden, joiden asemassa R^1 ja/tai R^3 on kaavan II mukainen rakenneosa, fysiologisesti hyväksyttävät happoadditiosuolat.

Kun R^4 ja R^5 yhdessä N-atomin kanssa, johon ne ovat sitoutuneet, muodostavat tyydytetyn renkaan, jossa on 4 tai 5 C-atomia ja lisäksi muu heteroatomi, hetero-

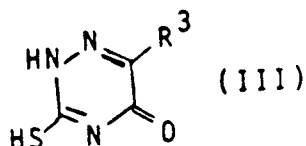
atomien on oltava ainakin yhden C-atomin toisistaan erottamina.

Ensisijaisia ovat tällöin sellaiset kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa joko R^1 merkitsee tert-butyylitähdettä tai kaavan II mukaista aminometyyliryhmää tai R^2 ja R^3 toisistaan riippumatta merkitsevät vetyä tai metyyliä. Edelleen erityisen mainittavia ovat ne kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa R^1 merkitsee tert-butyyliryhmää ja samanaikaisesti R^2 ja R^3 toisistaan riippumatta merkitsevät vetyä tai metyyliä, kuten esim. 3-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b]-[1,2,4]triatsin-7-oni.

Ryhmiä R^1 ja R^3 - R^6 alkyylitähteinä tulevat kysymykseen metyyli, etyyli, n-propyyli, isopropyyli, n-butyli, isobutyli, sek-butyli ja tert-butyli ja ryhmän R^2 alkyylitähteinä metyyli, etyyli, n-propyyli ja isopropyyli. Kaavan II mukaisen rakenneosan sopivia syklisiä aminometyyliryhmiä ovat pyrrolidino-, piperidino-, heksametyleen-imino-, morfolino-, tiomorfolino-
 20 • samoin kuin mahdollisesti toiseen typpi-atomiin alkyloitu piperatsino- ja homopiperatsino-metyyli.

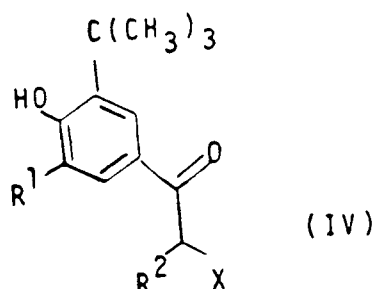
Keksinnön kohteena on edelleen menetelmä uusien 7H-tiatsolo[3,2-b]-[1,2,3]triatsin-7-onien valmistamiseksi.

25 Eräs suoritusmuoto a) perustuu esimerkiksi siihen, että kaavan III mukaisten 3-merkaptto-2H-1,2,4-triatsin-5-onien



30 jossa R^3 :lla on edellä mainittu merkitys, annetaan reagoida kaavan IV mukaisten 2-halogeeni-1-fenyylialkaanien kanssa

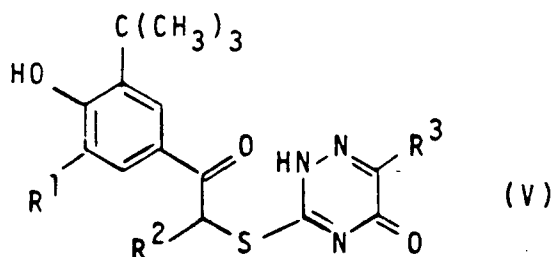
5



10 jossa R^1 merkitsee edellä määriteltä alkyyliryhmää,
 R^2 :lla on edellä ilmoitettu merkitys ja X merkitsee ha-
 logeeniatomia, ensisijaisesti klooria tai bromia, vastaa-
 viksi kaavan I mukaisiksi keksinnön mukaisiksi yhdisteiksi.

15 Eräs toinen suoritusmuoto b) perustuu siihen, että
 kaavan III mukaisten yhdisteiden annetaan reagoida kaa-
 van IV mukaisen yhdisteen (jossa $R^1 = (C_1-C_4)$ -alkyyli)
 kanssa emäksisissä olosuhteissa ensin kaavan V mukaisik-
 si S-alkyloiduiksi 2H-1,2,4-triatsin-5-oneiksi

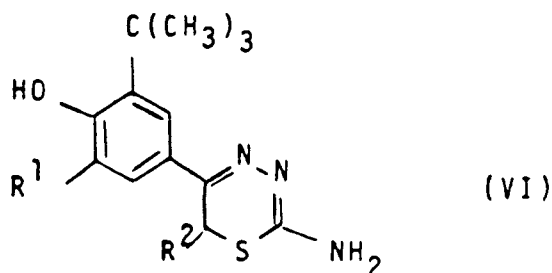
20



25 ja nämä muutetaan dehydratoimalla vastaaviksi kaavan I
 mukaisiksi keksinnön mukaisiksi yhdisteiksi; kaavan V mu-
 kaiset välituotteet ovat uusia yhdisteitä.

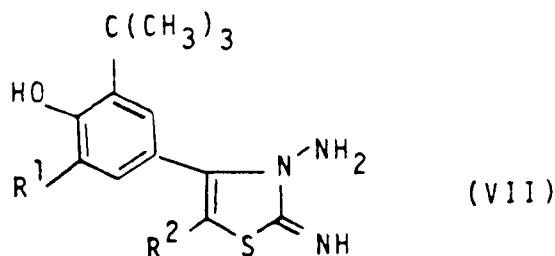
Edelleen eräs suoritusmuoto c) perustuu siihen,
 että kaavan IV (jossa $R^1 = (C_1-C_4)$ -alkyyli) mukaisten
 30 2-halogeeni-1-fenyylialkanonien annetaan reagoida ensin
 tiosemikarbatsidin kanssa vastaaviksi - niin ikään uusik-
 si - kaavan VI mukaisiksi 2-amino-6H-1,3,4-tiadiatsiineik-
 si

35



ja nämä toisiinnutetaan happamissa olosuhteissa kaavan VII mukaisiksi 3-amino-2-imino-2,3-dihydro-tiatsoleiksi

5



10 jotka sen jälkeen syklokondensoidaan α -ketokarboksyylihappojen tai niiden alkyyliesterien kanssa, joiden kaava VIII on

15



jossa R^3 merkitsee vetyatomia, suora- tai sivuketjuista alkyyliryhmää, jossa on 1-4 C-atomia tai hydroksimetyyli-ryhmää ja R^7 merkitsee vetyatomia tai alkyylitähdettä, jossa on 1-3 C-atomia, kyseisiksi kaavan I mukaisiksi keksinnön mukaisiksi yhdisteiksi.

20 Niinikään käyttökelpoinen suoritusmuoto d) perustuu siihen, että lähtemällä niistä keksinnön mukaisista kaavan I mukaisista yhdisteistä, joiden R^1 - ja/tai R^3 -asemassa on hydroksimetyylitähde, ensin niiden hydroksiryhmä(t) joko vaihdetaan halogeeniksi tai muutetaan akti-
25 voiduksi sulfoni- tai fosforihappoesteriksi ja sen jälkeen niiden annetaan reagoida amiinien kanssa, joiden kaava IX on

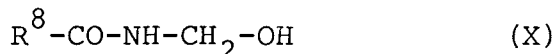
30



35 jossa R^4 :llä ja R^5 :llä on edellä mainitut merkitykset, kaavan I mukaisiksi keksinnön mukaisiksi yhdisteiksi, joiden asemassa R^1 ja/tai R^3 on kaavan II mukainen rakenneosa, jolloin nämä aminometyyliyhdisteet joko eristetään

vapaassa muodossa tai muutetaan sopivien happojen kanssa fysiologisesti hyväksyttäväksi additiosuoloiksi.

Edelleen eräs muu kaavan I mukaisten yhdisteiden, joiden R^1 :n asemassa on kaavan II mukainen rakenneosa tai hydroksimetyyilitähde, valmistamiseen soveltuva suoritustapa e) perustuu lopuksi siihen, että kaavan I mukaisten yhdisteiden, joissa R^1 merkitsee vetyä, annetaan reagoida hydroksimetyyilitähteen liittämiseksi formaldehydin kanssa, N-substituoitujen aminometyyli-ryhmien liittämiseksi, jotka ovat kaavan II mukaisia, jossa siis R^4 ja R^5 eivät samanaikaisesti merkitse vetyä, reaktion annetaan tapahtua vastaavien kaavan IX mukaisen amiinien kanssa formaldehydin läsnäollessa tai kondensoidaan substituomattoman aminometyyilitähteen ($R^4=R^5=H$) liittämiseksi ensin N-hydroksimetyyliasetamidien kanssa, joiden kaava X on



jossa R^8 merkitsee trifluorimetyyliä, trikloorimetyyliä tai kloorimetyyliä, happamissa olosuhteissa ja vettä poistamalla ja sen jälkeen eliminoidaan hydrolyyttisesti asyyli-tähde R^8-CO- , jolloin siten saadut aminometyyliyhdisteet joko eristetään vapaassa muodossa tai muutetaan sopivien happojen kanssa fysiologisesti hyväksyttäväksi additiosuoloiksi.

Näiden happoadditiosuolojen valmistuksessa tulevat kysymykseen esimerkiksi epäorgaaniset hapot, kuten rikki- tai fosforihappo tai halogeenivetyhapot, erityisesti bromivety- ja suolahappo, samoin kuin orgaaniset hapot, kuten yksi-kolme-emäksiset karboksyylihapot, esim. etikka-, maito-, maleiini-, fumaari-, oksaali-, viini-, sitruunahappo tai muut hyväksyttävät hapot, kuten sulfonihapot (bentseenisulfonihappo, 4-tolueenisulfonihappo, metaanisulfonihappo, trifluorimetyylisulfonihappo, sykloheksyyliamidisulfonihappo, ym).

Keksinnön mukaisessa menetelmässä lähtöaineina käytetyt kaavan III mukaiset 3-merkpto-2H-1,2,4-triatsin-5-onit ovat tunnettuja (H. Neunhoeffler ja P.L. Wiley, A. Weisberger ja E. C. Taylor, The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Wiley-Interscience, New York, Bd. 33 (1978) s 430-465) tai niitä voidaan valmistaa analogisella tavalla.

Niinikään lähtöaineina käytetyt kaavan IV mukaiset 2-halogeeni-1-fenyylialkanonit ovat myöskin tunnettuja kirjallisuuden perusteella tai niitä voidaan valmistaa helposti esimerkiksi 1-(3-alkyyli-5-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-alkanoneista antamalla näiden reagoida sopivan halogenointiaineen kanssa julkaisussa Houben-Weyl Bd. V/4 s. 171-189 (1960) selostettujen menetelmien mukaisesti.

Sopivina yhdisteinä IV mainittakoon esimerkiksi 2-bromi-1-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-etanoni ja 2-bromi-1-(3-metyyli-5-ter-butyyl-4-hydroksifenyyli)-etanoni, joita voidaan valmistaa halogenoimalla vastavasti substituoituja 1-fenyylialkanoneja bromi-alkuaineella tai kupari-II-bromidilla L. C. King'in ja G. K. Ostrum'in menetelmän mukaisesti, J. Org. Chem. 29 (1964) s 3459-3461.

Niiden kaavan IV mukaisten yhdisteiden saamiseksi, joissa X merkitsee klooriatomia, soveltuu erityisesti sulfuryylikloridi, jonka annetaan ensisijaisesti välillä noin 10-30°C olevissa lämpötiloissa reagoida inerttinen liuottimien kuten esim. metyleenikloridin tai kloroformin läsnäollessa, vastaavien 1-fenyylialkanonien kanssa. Eräänä muuna valmistusmenetelmänä on 2-alkyyli-6-tert-butyylifenolien Friedel-Crafts-asylointi ensisijaisesti klooriasetyylikloridin kanssa Lewis-happojen, kuten esim. aluminiumkloridin tai booritrifluoridin läsnäollessa.

3-merkpto-2H-1,2,4-triatsin-5-onien III reaktiossa 2-halogeeni-1-fenyylialkanonien IV kanssa menetelmä-

tavan a) mukaisesti työ suoritetaan tavallisesti käyttämällä ekvivalenttisin moolimäärin reaktio-osapuolia jakautus- tai liuotinaineessa. Sellaisina tulevat kysymykseen ennen kaikkea polaariset liuottimet, esimerkiksi

5 alemmat alifaattiset karboksyylihapot, kuten muurahishappo tai etikkahappo, alkoholit, kuten metanoli, etanoli, erilaiset propanolit tai butanolit. Kuitenkin voidaan käyttää myös etyleeniglykolia ja tämän eettereitä, etikkahappoestereitä, asetonia, butan-2-onia, dimetyyli-

10 formamidia tai asetonitriiliä samoin kuin mainittujen liuottimien seoksia tai niiden seoksia veden kanssa. Reaktiolämpötilat ovat yleensä noin 20°C :n ja kulloinkin käytettävän reaktioväliaineen kiehumislämpötilan välillä. Ensisijaisesti työ suoritetaan etikkahapossa välillä

15 noin $70-100^{\circ}\text{C}$:ssa, jolloin reaktioajat ovat yleensä välillä alle tunti - noin 6 tuntia.

Menetelmämuunnelmassa b) välituotteina tarvittavien kaavan V mukaisten S-alkyloitujen 2H-1,2,4-triatsin-5-onien valmistus voi tapahtua siten, että kaavan III mukaisten 3-merkaptto-2H-1,2,4-triatsin-5-onien annetaan

20 reagoida tarkoituksen mukaisesti ekvimoolimäärän kanssa kaavan IV mukaista 2-halogeeni-1-fenyylialkanonia emäksisen aineen, kuten alkali- tai maa-alkalihydroksidin, -karbonaatin, -hydridin tai -alkoholaatin, tai orgaanisen emäksen, esimerkiksi trialkyyliamiinin, kuten tri-

25 etyyli- tai tributyylamiinin läsnäollessa. Reaktio tapahtuu ensisijaisesti reaktio-osapuolten suhteen neutraalissa jakautus- tai liuotinaineessa tai niiden seoksissa. Sellaisina tulevat kysymykseen esimerkiksi vesi, alkoholi-

30 lit, kuten metanoli, etanoli, erilaiset propanolit ja butanolit, eetterit, kuten dietyylieetteri, di-isopropyylieetteri, tetrahydrofuraani ja dioksaani, nitriilit, kuten asetonitriili, ketonit, kuten asetoni ja butanoni, samoin kuin dimetyyliformamidi, dimetyyliasetamidi ja

35 dimetyylisulfoksidi. Reaktio suoritetaan yleensä noin

0°C:n ja reaktioväliaineen kiehumislämpötilan välillä, ensisijaisesti noin 30°C:n ja 90°C:n välillä, jolloin tarvittavat reaktioajat ovat keskimäärin yhden - useamman tunnin välillä.

5 Tämän jälkeinen yhdisteiden V dehydratointi renkaan sulkeutuessa kaavan I keksinnön mukaisiksi yhdisteiksi onnistuu ensisijaisesti hapon, kuten kloorivety- tai bromivety-, rikki-, p-tolueenisulfoni-, polyfosfori- tai etikkahapon läsnäollessa eetterissä, kuten di-isopropyylieetterissä, tetrahydrofuraanissa ja dioksaanissa, tai 10 alkoholissa, kuten metanolissa, etanolissa tai propanolissa, tai niiden seoksissa veden kanssa lämpötilojen ollessa välillä noin 0-80°C, erityisesti välillä noin 10-40°C, ja reaktioaikojen ollessa välillä noin tunti - useita päiviä. 15

Menetelmätapa c) tapahtuu välituotteina olevien kaavan VI mukaisten 2-amino-6H-1,3,4-tiadiatsiinien kautta, jotka ovat helposti valmistettavissa kaavan IV mukaisista 2-halogeeni-1-fenyylialkanoneista ja tiosemi- 20 karbatsidista kirjallisuuden menetelmien mukaisesti. Niiden toisiinnuttaminen vastaaviksi kaavan VII mukaisiksi 3-amino-2-imino-2,3-dihydro-tiatsoleiksi tapahtuu ensisijaisesti happamessa väliaineessa, kuten esimerkiksi kloorivety-, bromivety-, rikki- tai etikkahapossa, 25 samoin kuin niiden seoksissa tai niiden seoksissa veden kanssa.

Tämän jälkeen tapahtuva syklokondensointi kaavan I mukaisiksi yhdisteiksi suoritetaan yleensä eristämättä välillä muodostuneita kaavan VII mukaisia 3-amino-2-imino-2,3-dihydro-tiatsoleja, lisäämällä reaktioseokseen 30 α -ketokarboksyylihappoa tai sen kaavan VIII mukaista alkyyliesteriä, kuten esimerkiksi glyoksyylihappoa tai palorypähappoa tai niiden metyyli- tai etyyliesteriä, enintään keksinkertaisin ekvimoolimäärin. Lämpötilat ovat 35 tällöin ensisijaisesti välillä noin 50°C - kulloinkin

käytettävän reaktioväliaineen kiehumispiste, reaktioaikojen voidessa olla yleensä välillä noin 5 tuntia - noin 30 tuntia.

Mahdollinen kaavan I mukaisten keksinnön mukais-
 5 ten yhdisteiden, joiden R^1 :n ja/tai R^3 :n asemessa on
 hydroksimetyyli- tai -aldehydi, muuttaminen kaavan I mukaiseksi
 aminometyyliyhdisteeksi suoritetaan muodon d) mukaisesti ta-
 tapahtuu tavalliseen tapaan. Siten hydroksyyli- tai -aldehydin akti-
 vointi voidaan suorittaa esimerkiksi antamalla reaktion
 10 tapahtua halogenointiaineiden, kuten tionyylikloridin ja
 fosforitrikloridin tai -bromidin kanssa, halogeenimetyyli-
 yhdisteiksi tai esteröimällä esim. metaani- tai tolu-
 eeni-4-sulfonylikloridin kanssa. Tämän jälkeen tapah-
 tuvan kondensointireaktion yhteydessä kaavan IX mukaisten
 15 amiinien kanssa työ suoritetaan ensisijaisesti siten,
 että läsnä on vähintään kaksinkertainen moolimäärä kul-
 loinkin käytettävää amiinia johdannaiseksi muutettua
 hydroksimetyyli- tai -aldehydiä kohden; myöskin molempien reak-
 tio-osapuolten käyttäminen ekvivalenttimäärin on mah-
 20 dollista; silloin on kuitenkin suositeltavaa lisätä
 happoa sitovaa ainetta, esim. alkali- tai maa-alkali-
 hydroksidia tai -karbonaattia tai myös orgaanista emäs-
 tä, kuten trietyyliamiinia tai pyridiiniä, vähintään stö-
 kiometrisin määrin. Reaktio suoritetaan tarkoituksenmu-
 25 kaisesti reaktio-osapuolten suhteen inertissä liuotin-
 tai jakautusaineessa. Tässä tarkoituksessa tulevat kysy-
 mykseen esim. alkoholit, kuten metanoli, etanoli, iso-
 propanoli, n-propanoli, erilaiset butanolit, samoin kuin
 niiden seokset, tai myös niiden seokset eetterien, kuten
 30 tetrahydrofuraanin ja dioksaanin kanssa, tai hiilivedyt,
 kuten bentseeni, tolueni ja ksyleeni, samoin kuin aprotot-
 tiset liuottimet, kuten pyridiini, dimetyyliformamidi,
 dimetyyliasetamidi, dimetyylisulfoksidi ja heksametyyli-
 fosforihappotriamidi. Reaktio suoritetaan yleensä lämpö-
 35 tiloissa, jotka ovat välillä noin 0°C - kulloinkin käy-

tettävän liuottimen kiehumispiste, ensisijaisesti välillä noin 20-100°C, jolloin reaktioaika voi olla jopa useita tunteja.

Kaavan II mukaisten aminometyyliryhmien liittämiseksi kaavan I mukaisiin yhdisteisiin, jossa kaavassa R^1 merkitsee vetyä, menetelmätapaa e) vastaavasti käytetään, kun kyseessä ovat reaktiot primäärysten ja erityisesti sekundäärysten kaavan IX mukaisten amiinien kanssa, ensisijaisesti kirjallisuuden perusteella riittävästi tunnettua Mannich-reaktiota (esim. Houben-Weyl, Bd. XI/1 (1957), s. 755-763). Reaktioon osallistuvaa formaldehydiä voidaan käyttää sekä monomeerimuodossa että vesiliuoksena tai polymeerin muodossa kiinteänä aineena (esim. paraformaldehydinä). Yleensä työn suorittamisessa käytetään 4-10-kertaista moolimäärää formaldehydiä ja enintään 40-kertaista mooliylimäärää kulloistakin amiinia, jota voidaan lisätä reaktioon hydrohalogenidinsa muodossa. Reaktioväliaineena ovat ensisijaisesti vesi tai alkoholit, kuten metanoli, etanoli tai propanoli, tai niiden seokset. Reaktio tapahtuu ensisijaisesti lämpötilojen ollessa välillä noin 20-100°C, jolloin tarvittavat reaktioajat ovat välillä yksi tunti - useita päiviä.

Kondensaatio kaavan X mukaisten N-hydroksimetyyliasetamidien kanssa tarjoaa ensisijaisen tien typpiatomin osalta substituomattoman aminometyylitähteen liittämiseksi. Kondensaatioaineina tulevat kyseeseen hapot, kuten esimerkiksi metaanisulfonihappo tai väkevän rikkihapon ja jääetikkahapon seokset, jotka voivat samanaikaisesti toimia reaktioväliaineena, jolloin reaktio tapahtuu yleensä välillä 0°C - huoneen lämpötila ja on päättynyt 30 minuutin - 6 tunnin kuluessa. Asyylihtähteen lohkaus primäärisesti muodostuneista N-asyloiduista aminometyyliyhdisteistä tapahtuu ammattimiehen riittävän hyvin tuntemien standardimenetelmien mukaisesti happamen hydrolyysin avulla, jolloin työn suorittaminen vesipitoisessa kloorivety-, bromivety- tai rikkihapossa normaalia korkeammassa

lämpötilassa, ensisijaisesti kulloisenkin reaktiovälineen kiehumispisteessä, on erityisen taattua.

Keksinnön mukaiset kaavan I mukaiset 7H-tiatsolo-
 $\text{[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-onit}$ ja niiden vastaavat happo-
 5 additiosuolat soveltuvat arvokkaiden farmakologisten omi-
 naisuuksiensa ja samanaikaisesti erinomaisen siedettä-
 vyyden perusteella erityisen hyvin käytettäviksi vaiku-
 tusaineina lääkeaineissa, erityisesti sellaisissa, jotka
 on tarkoitettu tulehduksellisten reumasairauksien hoita-
 10 miseen. Niitä voidaan antaa joko sellaisinaan, esimerkik-
 si mikrokapselien muodossa, seoksina keskenään tai yhdis-
 telmänä sopivien apu- ja/tai kantaja-aineiden kanssa.

Keksinnön kohteena ovat siten myös lääkeaineet,
 joissa on ainakin yhtä kaavan I mukaista yhdistettä ja/tai
 15 ainakin yhtä sen vastaavista happoadditiosuoloista tai
 ainakin yhtä näistä vaikutusaineista farmaseuttisesti so-
 veltuvien ja fysiologisesti hyväksyttävien kantaja-ainei-
 den, laimennusaineiden ja/tai muiden apuaineiden ohella.

Keksinnön mukaisia lääkeaineita voidaan antaa suun
 20 kautta, paikallisesti, peräaukon kautta tai mahdollises-
 ti myös parenteraalisesti, jolloin suun kautta antaminen
 on ensisijainen tapa.

Sopivia kiinteitä tai nestemäisiä galeenisia val-
 mistemuotoja ovat esimerkiksi granulaatit, jauheet, lää-
 25 kerakeet, tabletit, (mikro)kapselit, peräpuikot, siira-
 pit, mehut, suspensiot, emulsiot, pisarat tai injektoita-
 vat liuokset samoin kuin valmisteet, joista vaikutus-
 ainetta vapautuu hidastetusti, joiden valmistuksessa käy-
 tetään tavallisesti apuaineita, kuten kantaja-aineita,
 30 hajoitusaineita, side-, pinnoite-, kvellaus-, luisto-
 tai voiteluaineita, makuaineita, makeutusaineita tai liu-
 koisuutta välittäviä aineita. Yleisesti käytettävinä
 apuaineina mainittakoon esim. magnesiumkarbonaatti, ti-
 taanidioksidi, laktoosi, manniitti ja muut sokerit, talk-
 35 ki, maitovalkuuaisaine, gelatiinit, tärkkelys, selluloosa

ja sen johdannaiset, eläin- ja kasvisöljyt, polyetyleeniglykolit ja liuottimet, kuten esimerkiksi steriili vesi ja yksi- tai moniarvoiset alkoholit, esim. glyseriini.

5 Ensisijaisesti farmaseuttisia valmisteita valmistetaan ja annetaan annostusyksikköinä, jolloin jokainen yksikkö sisältää aktiivisena aineosana määrätyn annoksen ainakin yhtä kaavan I mukaista yhdistettä ja/tai ainakin yhtä vastaavaa happoadditiosuolaa. Kiinteissä annostusmuodoissa, kuten tableteissa, kapseleissa, lääke-
10 rakeissa tai peräpuikoissa, tämä annos voi olla jopa noin 800 mg, ensisijaisesti kuitenkin noin 100-500 mg.

Tulehduksellisista reumasairauksista kärsivän, täysikasvuisen potilaan hoitamiseksi - riippuen kaavan
15 I mukaisten yhdisteiden ja/tai vastaavien happoadditiosuolojen tehokkuudesta ihmisellä - aiheellisia päiväannoksia ovat noin 100 - 2000 mg vaikutusainetta, ensisijaisesti noin 300 - 1000 mg, suun kautta annettaessa. Olosuhteista riippuen sopivia voivat kuitenkin olla
20 suuremmatkin tai pienemmät päiväannokset. Päiväannoksen anto voi tapahtua sekä kerta-annoksena yksityisen annosyksikön muodossa että myöskin useampien pienempien annostusyksiköiden muodossa, samoin kuin myös useana antona jaettuina annoksina tietyin väliajoin.

25 Lopuksi edellä mainittuja galeenisia valmistemuotoja valmistettaessa kaavan I mukaisista yhdisteistä ja vastaavista happoadditiosuoloista voidaan valmistaa seosmuotoja myös yhdessä muiden sopivien vaikutusaineiden, esimerkiksi antiurikopaattisten, verihiutaleiden
30 kasautumista ehkäisevien, analgeettisten ja muiden steroidaalisten tai ei-steroidaalisten tulehduksenvastaitten kanssa.

Kaikkien seuraavassa selostettujen yhdisteiden rakenne varmistettiin alkuaineanalyysin ja IR- samoin
35 kuin H-NMR-spektrien avulla. Seuraavien esimerkkien 1-5

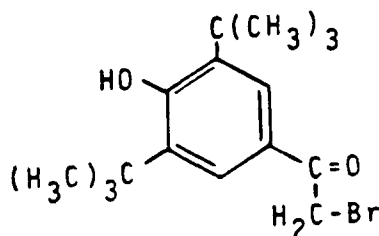
tai 12 ja 13 mukaisesti samoin kuin analogisella tavalla valmistetut kaavan I mukaiset yhdisteet on koottu taulukkoon 1.

Esimerkki 1

5 3-(3,5-di-tert-butylyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni menetelmätavan a) mukaisesti

a₁) 2-bromi-1-(3,5-di-tert-butylyli-4-hydroksifenyyli)-etanoni

10



15

20,6 g (0,83 moolia) 1-(3,5-di-tert-butylyli-4-hydroksifenyyli)-etanonia liuotettiin sekoittaen 415 ml:aan metyleenikloridia, kuumennettiin kiehuvaaksi ja 30 minuutin kuluessa lisättiin tiputtamalla 144 g (0,9 moolia) bromia. Sen jälkeen lämmitettiin edelleen 2 tuntia paluujäähdyttäjän alla kiehua, seos jäähdytettiin, lisättiin 400 ml vettä, orgaaninen faasi erotettiin ja kuivattiin natriumsulfaattilla. Liuottimen vakuuissa poistamisen jälkeen saatu kiinteä raakatuote kiteytettiin uudelleen 540 ml:sta metyyliisikloheksaania.

25

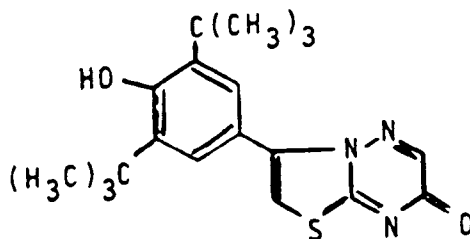
Saanto: 191 g (67 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 10-5108°C

C₁₆H₂₃BrO₂ (Mp = 327,3)

30 a₂) 3-(3,5-di-tert-butylyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni

35



197 g (0,6 moolia) vaiheessa a₁) saatua 2-bromi-
1-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-etanonia ja
80 g (0,62 moolia) 3-merkpto-2H-1,2,4-triatsin-5-onia
sekoitettiin 700 ml:ssa jääetikkaa 4 tuntia 90°C:ssa.

5 Sen jälkeen reaktioseoksen annettiin jäähtyä hitaasti ja
muodostunut kiteinen sakka suodatettiin erilleen, joka
pestiin sen jälkeen vedellä ja jota sekoitettiin sitten
perusteellisesti 1000 ml:ssa vettä 30 minuuttia maksimi-
lämpötilan ollessa 90°C. Veden vielä kostuttaman kidelie-
10 men uusintakiteytys tapahtui 7000 ml:sta etanolia.

Saanto: 171,6 g (80 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 257°C (hajoten)

C₁₉H₂₃N₃O₂S (Mp = 357,5)

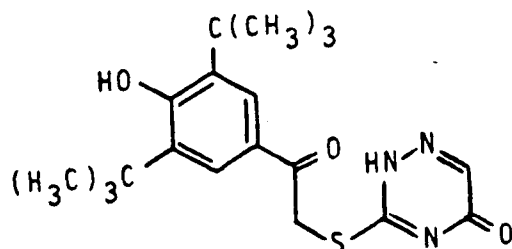
Analyysi:

15 Laskettu: C 63,84, H 6,49, N 11,75, S 8,99 %

Saatu: C 63,55, H 6,44, N 12,03, S 9,00 %

Menetelmätavan b) mukaisesti

b₁) 3-[(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenasyyli)-tio]-
2H-1,2,4-triatsin-5-oni



Suspensioon, jossa oli 12,9 g (0,1 moolia)
3-merkpto-2H-1,2,4-triatsin-5-onia 250 ml:ssa vettä,
lisättiin 5,3 g (0,05 moolia) natriumkarbonaattia ja
30 sekoitettiin 30 minuuttia, sitten lisättiin tiputtamal-
la liuos, jossa oli 32,7 g (0,1 moolia) 2-bromi-1-(3,5-
di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-etanonia 250 ml:ssa
metanolia ja reaktioseosta pidettiin tunnin ajan 75°C:
ssa. Jäähdyttämisen jälkeen laskehtinut sakka suodatet-
35 tiin erilleen ja kiteytettiin uudelleen etikkahappoetyy-
liesteristä.

Saanto: 26,6 g (71 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 209-211°C

$C_{19}H_{25}N_3O_3S$ (Mp = 375,5)

Analyysi:

5 Laskettu: C 60,78, H 6,71, N 11,19, S 8,54 %

Saatu: C 60,45, H 6,82, N 11,06, S 8,68 %

b_2) 3-(3,5-di-tert-butyyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b]/[1,2,4]triatsin-7-oni

3,7 g (0,01 moolia) vaiheessa b_1) saatua 3-(3,5-di-tert-butyyli)-4-hydroksifenasyyli)-tio[2]-2H-1,2,4-triatsin-5-onia sekoitettiin 36 tuntia huoneen lämpötilassa seoksessa, jossa oli 60 ml tetrahydrofuraania ja 50 ml 2-norm. suolahappoa. Hitaasti erottunut syklokondensaatiotuote suodatettiin ~~erilleen~~ ja kiteytettiin uudelleen
15 yksi - kolme kertaa tetrahydrofuraani/etanoli-seoksesta (3:2).

Saanto: 1,5 g (42 % teoreettisesta)

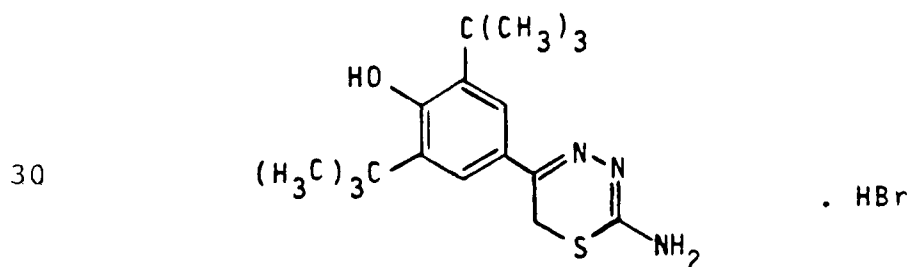
Sulamispiste: 256-257°C (hajoten)

$C_{19}H_{23}N_3O_2S$ (Mp = 357,5)

20 Analytyttiset ja spektroskopiset arvot vahvistavat saadun tuotteen identiteetin menetelmätavan a) mukaisesti valmistetun yhdisteen kanssa.

Menetelmätavan c) mukaisesti

c_1) 2-amino-5-(3,5-di-tert-butyyli-4-hydroksifenyyli)-6H-1,3,4-tiadiatsiini-hydrobromidi
25



Liuosta, jossa oli 32,7 g (0,1 moolia) 2-bromi-1-(3,5-di-tert-butyyli-4-hydroksifenyyli)-etanonia (esi-
35 merkki la_1) ja 9,1 g (0,1 moolia) tiosemikarbatsidia

250 ml:ssa jääetikkaa, sekoitettiin tunnin ajan huoneen lämpötilassa ja erottunut sakka suodatettiin erilleen ja liuotettiin 500 ml:aan kuumaa etanolia. Jäähdyttämisen jälkeen kiteet suodatettiin erilleen, pestiin useaan kertaan etikkahappoetyyliesterillä ja kuivattiin vakuumissa.

Saanto: 27,2 g (68 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 255-257°C

$C_{17}H_{26}BrN_3OS$ (Mp = 400,4)

10 Analyysi:

Laskettu: C 51,00, H 6,55, Br 19,96, N 10,49, S 8,01 %

Saatu: C 50,71, H 6,52, Br 19,92, N 10,46, S 8,17 %

c₂) 3-(3,5-di-tert-butylyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni

15 Liuokseen, jossa oli 10,0 g (0,025 moolia) vaiheessa c₁) saatua 2-amino-5-(3,5-di-tert-butylyli-4-hydroksifenyyli)-6H-1,3,4-tiadiatsiinihydrobromidia 250 ml:ssa jääetikkaa ja 25 ml 4-norm. suolahappoa, lisättiin tiputtamalla 80°C:ssa 4,8 g (0,05 moolia) glyoksylihappomonohydraattia 75 ml:ssa vettä. 20-tuntisen sekoittamisen jälkeen 80°C:ssa haihdutettiin kuiviin vakuumissa. Kiinteä jäännös voitiin puhdistaa edullisesti kromatografioimalla kolonnissa silikageelillä metyleenikloridi/metanoliseoksen (25:1) ollessa liuottimena ja kiteyttämällä sen jälkeen uudelleen etanolista ja osoit-
25 tautui analyyttisten ja spektroskooppisten tutkimusten perusteella identtiseksi menetelmätavoilla a) ja b) valmistetun tuotteen kanssa.

Saanto: 3,9 g (42 % teoreettisesta)

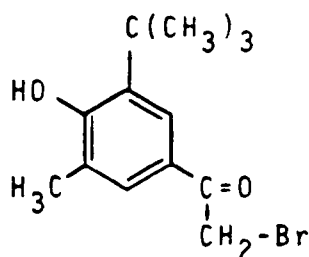
30 Sulamispiste: 255-256°C (hajoten)

$C_{19}H_{23}N_3O_2S$ (Mp = 357,5)

Esimerkki 2

3-(3-tert-butylyli-5-metyyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni

35 a₁) 2-bromi-1-(3-tert-butylyli-5-metyyli-4-hydroksifenyyli)-etanoni



5

Kiehuvaiksi lämmitettyyn suspensioon, jossa oli
 179 g (0,8 moolia) kupari(II)bromidia 360 ml:ssa etikka-
 10 happoetyyliesteriä, lisättiin sekoittaen tiputtamalla
 liuos, jossa oli 82,5 g (0,4 moolia) 1-(3-tert-butyli-
 5-metyyli-4-hydroksifenyyli)-etanonia 360 ml:ssa kloro-
 formia. Tämän jälkeen lämmitettiin bromivedyn kehittymi-
 sen päättymiseen asti 4 tunnin ajan kiehua. Huoneen
 15 lämpötilaan jäädyttämisen jälkeen kuparisuolat suodatet-
 tiin erilleen, suodatinjäännös pestiin useaan kertaan
 etikkahappoetyyliesterillä, suodos haihdutettiin kuiviin
 vakuuissa ja kiinteä jäännös kiteytettiin uudelleen syk-
 loheksaanista.

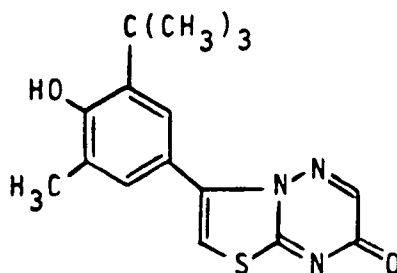
20 Saanto: 81,9 g (72 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 90-92°C

$C_{13}H_{17}BrO_2$ (Mp = 285,2)

a₂) 3-(3-tert-butyli-5-metyyli-4-hydroksifenyyli)-7H-
 tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni

25



30

liuosta, jossa oli 28,5 g (0,1 moolia) vaiheessa
 a₁) saatua 2-bromi-1-(3-tert-butyli-5-metyyli-4-hydrok-
 sifenyyli)-etanonia ja 12,9 g (0,1 moolia) 3-merkapt-
 35 2H-1,2,4-triatsin-5-onia, lämmitettiin kiehua 8 tun-

tia 250 ml:ssa etanolia. Liuottimen vakuuissa poistamisen jälkeen kiinteä jäännös liuotettiin 200 ml:aan kiehuvaan etikkahappoetyyliesteriä ja suodatettiin kuumana. Haihdutettaessa suodos kuiviin saostui erilleen värittömiä kiteitä, jotka kiteytettiin vielä kerran uudelleen isopropanolista.

Saanto: 18,9 g (61 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 225-226°C (hajoten)

$C_{16}H_{17}N_3O_2S$ (Mp = 315,4)

10 Analyysi:

Laskettu: C 59,23, H 8,08, N 12,95, S 9,88 %

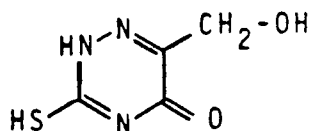
Saatu: C 59,51, H 8,17, N 12,83, S 9,82 %

Esimerkki 3

3-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-6-hydroksimetyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,3]triatsin-7-oni

a₁) 6-hydroksimetyyli-3-merkapt-2H-1,2,4-triatsin-5-oni

20



4,0 g (0,18 moolia) litiumboorihydridiä suspendoitiin 100 ml:aan vedetöntä tetrahydrofuraania ja siihen lisättiin sekoittaen ja jäissä jäähdyttäen tiputtamalla liuos, jossa oli 19,0 g (0,094 moolia) 6-etoksikarbonyyli-3-merkapt-2H-1,2,4-triatsin-5-onia 40 ml:ssa absoluuttista tetrahydrofuraania. Sen jälkeen reaktioseosta kiehutettiin paluujäähdyttäjän alla 4 tunnin ajan. Jäähdyttämisen jälkeen siihen lisättiin edelleen sekoittaen annoksittain vettä ja vedyn kehittymisen päätyttyä seoksen pH säädettiin 10-prosenttisella rikkihapolla arvoon 1. Tetrahydrofuraanin vakuuissa haihduttamisen jälkeen liuos uutettiin perforaattoria käyttäen etikkahappoetyyliesterillä. Natriumsulfaatilla kuivatun orgaanisen faa-

sin kuiviin haihduttamisen ja kiinteän jäännöksen uudelleen kiteyttämisen jälkeen vedestä saatiin tuotetta keltaisten neulasten muodossa.

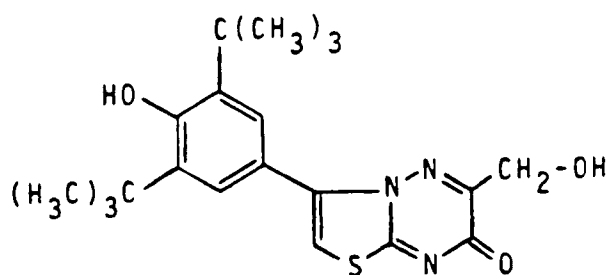
Saanto: 9,5 g (63 % teoreettisesta)

5 Sulamispiste: 233-235°C

$C_4H_5N_3O_2S$ (Mp = 159,2)

a₂) 3-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-6-hydroksimetyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni

10



15

Seosta, jossa on 14,4 g (0,044 moolia) 2-bromi-1-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-etanonia

(esimerkki la₁) ja 7,0 g (0,044 moolia) vaiheessa a₁)

saatua 6-hydroksimetyyli-3-merkapt-2H-1,2,4-triatsin-

20

5-onia, lämmitetään 4 tuntia kiehua 300 ml:ssa etanolia. Vakuumissa kuiviin haihdutettu reaktioseos liuotettiin 300 ml:aan kloroformia ja sitä käsiteltiin 100 ml:n kanssa kyllästettyä natriumvetykarbonaattiliuosta.

Lopuksi kloroformifaasi erotettiin, kuivatettiin ja haih-

25

dutettiin kuiviin. Suodattamalla raakatuote silikageelillä käyttämällä liuottimena etikkaesteri/metanoli-seosta (99:1) saatiin värittömiä neulasia.

Saanto: 11,1 g (65 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 215-217°C

30 $C_{20}H_{25}N_3O_3S$ (Mp = 387,5)

Analyysi:

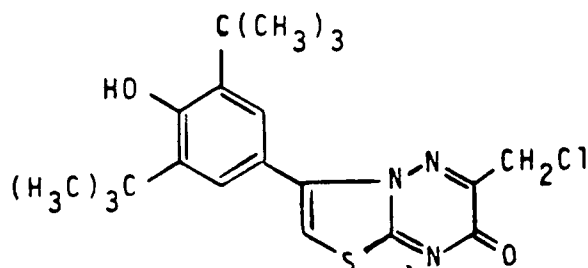
Laskettu: C 61,99, H 6,50, N 10,84, S 8,27 %

Saatu: C 61,98, H 6,65, N 10,75, S 8,25 %

Esimerkki 4

3-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-6-pyrrolidinometyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni-hydrokloridi (menetelmätavan d) mukaisesti)

d₁) 3-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-6-kloorimetyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni



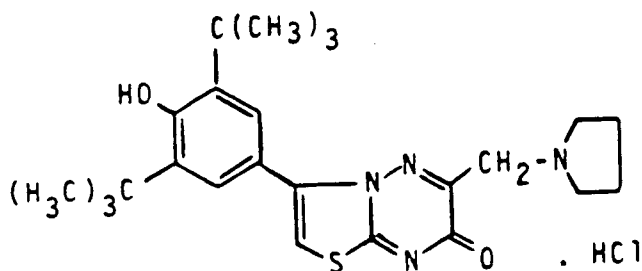
9,5 g (0,025 moolia) edellä mainitun esimerkin 3a₂ mukaista tiatsolotriatsinonia liuotettiin 230 ml: aan kuivaa metyleenikloridia, ja sen jälkeen kun oli lisätty 2,1 ml pyridiiniä, lisättiin tiputtamalla 7,0 g (0,06 moolia) tionyylikloridia. Tunnin ajan paluujäähdyttäjän alla kiehuaen lämmittämisen ja huoneen lämpötilaan jäähdyttämisen jälkeen lisättiin 200 ml dietyyli-eetteriä ja annettiin olla paikoillaan jääkaapissa yön ajan. Alas laskehtinut kiteytymä suodatettiin erilleen ja kuivatettiin vakuuissa.

Saanto: 6,7 g (66 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 238-240°C

C₂₀H₂₄ClN₃O₂S (Mp = 405,9)

d₂) 3-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-6-pyrrolidinometyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni-hydrokloridi



Liuosta, jossa oli 6,7 g (0,017 moolia) vaiheessa d₁) saatua kloorimetyyliyhdistettä 100 ml:ssa metyleenikloridia, lämmitettiin, sen jälkeen kun oli lisätty 2,5 g (0,035 moolia) pyrrolidiinia, 2,5 tuntia kiehua, sen jälkeen jäähdytettiin, pestiin kaksi kertaa vedellä, kuivatettiin natriumsulfaatilla ja hydrokloridin muodostamiseksi lisättiin ekvimoolimäärin suolahapon etanoliliuosta. Kiteisenä alas laskehtinut raakatuote suodatettiin erilleen ja kiteytettiin uudelleen isopropanoli/etikkahappo-etyyliesteriseoksesta (1:1).

Saanto: 4,2 g (52 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 222-223°C

C₂₄H₃₃ClN₄O₂S (Mp = 477,1)

Analyysi:

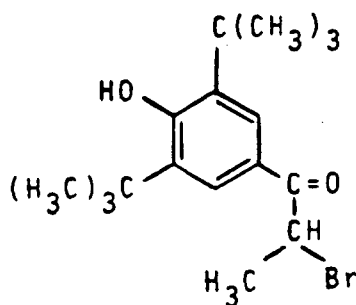
Laskettu: C 60,42, H 6,97, Cl 7,43, N 11,74, S 5,72 %

Saatu: C 60,46, H 7,25, Cl 7,24, N 11,49, S 6,45 %

Esimerkki 5

3-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-2,6-dimetyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni

a₁) 2-bromi-1-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-propanoni



Kiehuvaan suspensioon, jossa oli 139,0 g (0,62 moolia) kupari-II-bromidia 300 ml:ssa etikkahappoetyyli-esteriä, lisättiin tiputtamalla sekoittaen liuos, jossa oli 82,0 g (0,31 moolia) 1-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-propanonia 300 ml:ssa kloroformia. Tämän jälkeen lämmitettiin kiehua 3 tuntia bromivedyn kehittymisen päättymiseen asti. Huoneen lämpötilaan jäähdyttämi-

sen jälkeen kuparisuolat suodatettiin erilleen, suodatinjäännös pestiin sen jälkeen kaksi kertaa etikkahappo-
 etyyliesterillä ja suodos haihdutettiin kuiviin vakuumis-
 sa. Kiinteän jäännöksen uudelleen kiteyttäminen tapahtui

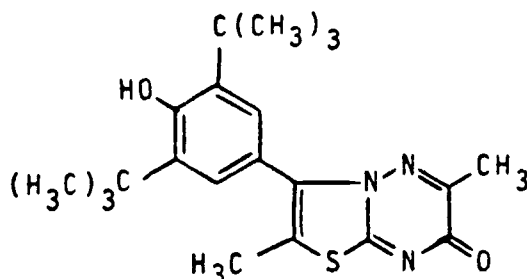
5 petrolieetteristä (40-60°C).

Saanto: 87,5 g (82 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 130-132°C

$C_{17}H_{25}BrO_2$ (Mp = 341,3)

10 a₂) 3-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyyli)-2,6-di-
 metyyli-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni



15

Seosta, jossa oli 17,1 g (0,05 moolia) vaiheessa

20 a₁) saatua 2-bromi-1-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksi-
 fenyyli)-propanonia ja 7,2 g (0,05 moolia) 3-merkapt-
 6-metyyli-2H-1,2,4-triatsin-5-onia 60 ml:ssa jääetikkaa,
 sekoitettiin 4 tuntia 90°C:ssa. Vakuumissa kuiviin haih-
 dutettu reaktioseos liuotettiin 300 ml:aan kloroformia

25 ja käsiteltiin 100 ml:n kanssa kyllästettyä natriumvety-
 karbonaatti-liuosta. Erottamisen, kuivaamisen ja klorofo-
 mifaasin kuiviin haihduttamisen jälkeen seurasi kaksi
 uusintakiteytystä isopropanolista.

Saanto: 10,8 g (56 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 256-257°C

30 $C_{21}H_{27}N_3O_2S$ (Mp = 385,5)

Analyysi:

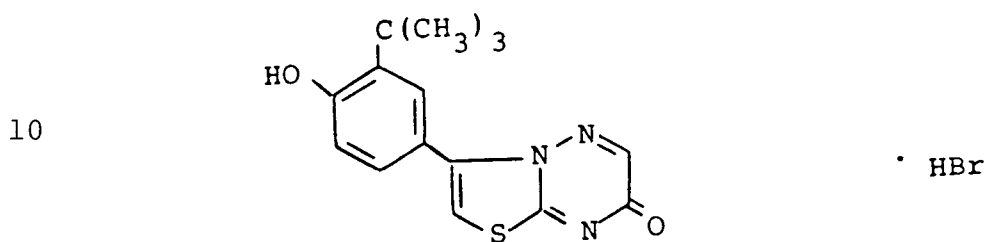
Laskettu: C 65,42, H 7,06, N 10,90, S 8,32 %

Saatu: C 65,11, H 7,15, N 10,75, S 8,16 %

Esimerkki 12

3-(3-aminometyyli-6-tert-butyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni-hydrokloridi (menetelmätavan e) mukaisesti)

- 5 e₁) 3-(3-tert-butyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo-
[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni-hydrobromidi



Menetelmätavan a₂) mukaisesti seosta, jossa oli
15 47,5 g (0,175 moolia) 2-bromi-1-(3-tert-butyli-4-hydroksifenyyli)-etanonia ja 20,6 g (0,16 moolia) 3-merkapto-2H-1,2,4-triatsin-5-onia 190 ml:ssa jääetikkaa, sekoi-
tettiin tunnin ajan 90°C:ssa. Jäähdytettäessä alas laskehtanut sakka suodatettiin erilleen ja kiteytettiin
20 uudelleen etikkahappoetyyliesteri/etanoli-seoksesta.

Saanto: 44,0 g (72 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 250-252°C (hajoten)

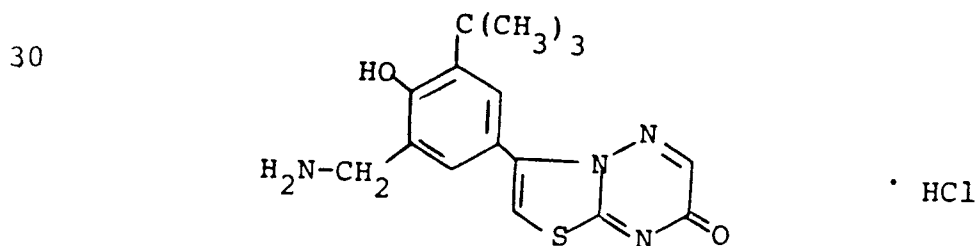
C₁₅H₁₆BrN₃O₂S (Mp = 382,3)

Analyysi:

25 Laskettu: C 47,13, H 4,22, Br 20,89, N 10,98, S 8,36 %

Saatu: C 47,22, H 4,25, Br 20,43, N 11,17, S 8,60 %

- e₂) 3-(3-aminometyyli-5-tert-butyli-4-hydroksifenyyli)-
7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni-hydrokloridi



35 5°C:seen jäähdytettyyn liuokseen, jossa oli 15,1 g
(0,05 moolia) 3-(3-tert-butyli-4-hydroksifenyyli)-7H-

tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-onia 240 ml:ssa metaani-
sulfonihappoa, lisättiin annoksittain 7,1 g (0,005 moolia) 2,2,2-trifluori-N-(hydroksimetyyli)-asetamidia ja
sen jälkeen sekoitettiin edelleen 3 tuntia huoneen lämpö-
tilassa. Sen jälkeen reaktioseos sekoitettiin litraan jää-
vettä ja kideleimi suodatettiin erilleen.

Trifluoriasetyyliryhmän lohkaisemiseksi saatua N-
asyloitua aminometyyliyhdistettä lämmitettiin kiehua
600 ml:ssa 6-norm. suolahappoa tunnin ajan. Suolahappoi-
nen liuos suodatettiin kuumana, suodos haihdutettiin kui-
viin ja jäännös kiteytettiin fraktioiden uudelleen etikka-
happo-etyyliesteri/metanoli-seoksesta.

Saanto: 8,4 g (46 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 210-212°C

$C_{16}H_{19}ClN_4O_2S$ (Mp = 366,9)

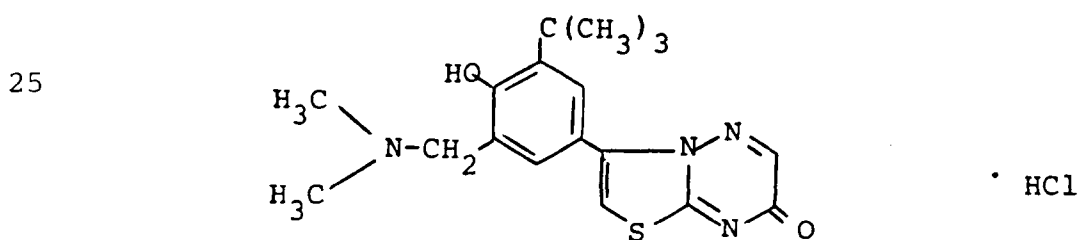
Analyysi:

Laskettu: C 52,38, H 5,22, Cl 9,66, N 15,27, S 8,74 %

Saatu: C 51,55, H 5,40, Cl 9,17, N 14,98, S 8,54 %

Esimerkki 13

3-(3-dimetyyliaminometyyli-5-tert-butyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni-hydrokloridi (menetelmätavan e) mukaisesti)



12,8 ml (0,28 moolia) 40-prosenttista dimetyyli-
amiinin vesiliuosta lisättiin tiputtamalla jäällä jääh-
dyttäen 6,4 ml:aan (0,086 moolia) 37-prosenttista form-
aldehydin vesiliuosta. Sen jälkeen kun oli lisätty 4,2 g
(0,011 moolia) esimerkissä 12, vaiheessa 1) saatua
3-(3-tert-butyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b]-

[1,2,4]triatsin-7-oni-hydrobromidia ja 70 ml etanolia, lämmitettiin kiehattaen 19 tuntia. Jäähdyttämisen jälkeen lisättiin tiputtamalla 2-norm. natronlipeää kunnes Mannich-emäs erottui. Tämä suodatettiin erilleen, hydrokloridin muodostamiseksi lisättiin ekvimoolimäärin suolahapon etanoliliuosta ja suola kiteytettiin lopuksi uudelleen vedestä.

Saanto: 3,0 g (69 % teoreettisesta)

Sulamispiste: 260-261°C

10 $C_{18}H_{23}ClN_4O_2S$ (Mp = 394,9)

Analyysi:

Laskettu: C 54,75, H 5,87, Cl 8,98, N 14,19, S 8,12 %

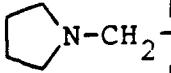
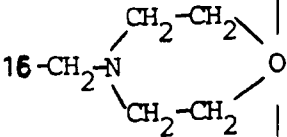
Saatu: C 54,58, H 5,89, Cl 9,22, N 13,90, S 8,11 %

Taulukko 1

15 Kaavan I mukaisia yhdisteitä (ks patenttivaatimusta 1)

Esim.	R ¹	R ²	R ³	Sp °C
20 1	(H ₃ C) ₃ C-	H	H	257 (hajoaa)
2	H ₃ C-	H	H	225-226 (haj)
25 3	(H ₃ C) ₃ C-	H	-CH ₂ -OH	215-217
4	(H ₃ C) ₃ C-	H	-CH ₂ -N 	222-223 (hydrokloridina)
5	(H ₃ C) ₃ C-	-CH ₃	-CH ₃	256-257
30 6	(H ₃ C) ₃ C-	H	-CH ₃	219-220
7	(H ₃ C) ₃ C-	-CH ₃	H	249-251
35				

Taulukko 1 - jatkoa

Esim.	R ¹	R ²	R ³	Sp °C
8	(H ₃ C) ₃ C-	H	-CH ₂ -CH ₃	240-242
9	(H ₃ C) ₃ C-	H	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	216-217
10	(H ₃ C) ₃ C-	H	-CH(CH ₃) ₂	237-238
11	H ₃ C-	H	-CH ₃	232-233
12	H ₂ N-CH ₂ -	H	H	210-212 (hydrokloridina)
13	(H ₃ C) ₃ N-CH ₂ -	H	H	260-261 (hydrokloridina)
14	(H ₅ C ₂) ₂ N-CH ₂ -	H	H	234-236 (hydrokloridina)
15	 N-CH ₂ -	H	H	238-240 (hydrokloridina)
16		H	H	177-179 (hydrokloridina)

Farmakologinen tutkimus ja tulokset

Kaavan I mukaisten keksinnön mukaisten yhdisteiden tulehduksen vastaisen vaikutuksen tutkiminen, vaikutus immuunipatologiseen tapahtumasarjaan, happiradikaaleja desaktivoivaan tehoon, haavaumia aiheuttavaan aktiivisuuteen ja akuuttiseen toksisuuteen tapahtui seuraavassa selostetuin eläinmallein, jolloin reumatapiassa ensisijaisiin standardivalmisteisiin luettavaa tulehduksen vastaista ainetta Naproxen'ia (2-(6-metoksi-2-naft-

yyli)-propionihappoa) käytettiin samanaikaisesti tutkimuksissa vertailuaineena.

1. Apuaine-niveltulehdus

Tutkimukset suoritettiin Pearson'in menetelmällä
 5 (Arthrit, Rheum. 2 (1959) s 44). Koe-eläiminä käytettiin Wistar-Lewis-kannan urosrottia, joiden kehonpaino oli välillä 130-200 g. Kokeiltavia yhdisteitä annettiin annoksin 50 mg kehon painon kiloa kohden kerran päivässä koe-
 päivinä 1-5 suun kautta (p o). Kontrolliryhmän eläimet
 10 saivat ainoastaan väliainetta. Jokainen valmiste- ja kontrolliryhmä käsitti 8 eläintä. Vaikutuskriteerinä käytettiin käpälätilavuuden lisääntymisen prosentuaalista alentumista käsittelemättömään kontrolliryhmään verrattuna.

15 2. Akuuttinen mahahaavaumien muodostuminen

Tutkiminen tapahtui käyttämällä kulloinkin kymmentä Sprague-Dawley-urosrottia, joilla oli nälkästressin avulla herkistetty mahan limakalvo. Eläinten kehon paino oli välillä 200-300 g. 48 tunnista alkaen ennen koepreparaattien antoa eläinten kuolemiseen saakka ei annettu
 20 ravintoa juomaveden saannin ollessa vapaata. Rotat tapettiin 24 tunnin kuluttua aineen suun kautta tapahtuneen annon jälkeen, mahat poistettiin, puhdistettiin juoksevalla vedellä ja tarkastettiin limakalvovauriot. Haavaumina
 25 pidettiin kaikkia makroskooppisesti näkyviä vaurioita.

Määritettiin haavaumia omaavien eläinten lukumäärä annosta kohden ja siitä laskettiin UD_{50} -arvot, siis annokset, joilla 50 %:lla eläimistä aiheutui vaurioita, Litchfield'in ja Wilcoxon'in mukaisesti (J. Pharmacol,
 30 exp. Ther. 96 (1949) s 99).

3. Akuuttinen toksisuus

LD_{50} -arvojen määrittäminen tapahtui standardinmukaisesti 7 päivän kuluessa NMRI (Naval Medical Research Institute)-hiiriä käyttäen (6 hiirtä annosta kohden) kerran
 35 vatsaontelonsisäisesti tapahtuneen annon jälkeen ilmenevän kuolleisuuden perusteella.

Näiden tutkimusten tulokset, jotka vahvistavat kaavan I mukaisten keksinnön mukaisten yhdisteiden paremmuuden yksiselitteisesti standardivalmisteeseen Naproxen'iin verrattuna, on koottu seuraavaan taulukkoon 2.

5

Taulukko 2

Tulehduksenvastainen vaikutus, haavaumia aiheuttava ja akuuttinen toksisuus

Yhdiste Apuainenivel- Akuuttinen haavaumia Akuuttinen toksi-
esimer- tulehdus (esty- aiheuttava vaikutus suus LD₅₀ (mg/kg)
kistä mis-% po-annok- UD₅₀ (mg/kg)
sen ollessa 50
mg/kg)

10

15

20

1	67	> 400 *)	> 1200
2	41	> 400 *)	> 1200
3	41	> 200 *)	> 1200
6	50	> 200 *)	> 1200
9	45	> 200 *)	> 1200
=====			
Naproxen	55	23	500

+) kulloinkin annettu suurin annos

25

30

35

Annosvaikutuskäyrästä koemallissa apuaine-nivel-tulehdus saatiin esimerkiksi esimerkin 1 yhdisteelle ED₅₀-arvo 10,9 mg/kg, joka on selvästi edullisempi kuin vastaava vertailuarvo 17,5 mg/kg standardivalmisteeseen Naproxen'in osalta. Suhteessa akuuttiseen haavauman aiheutumiseen tästä saadaan lasketuksi muodostamalla suhde UD₅₀/ED₅₀ terapeutiseksi laajavaikutteisuudeksi >36,7 esimerkin 1 yhdisteen osalta, joka vertailuvalmisteeseen Naproxen'in osalta on vain 1,3, minkä perusteella erityisen painokkaasti korostuu, mikä suuri paikallinen käyttöarvo on keksinnön mukaisten yhdisteiden erinomaisen

hyvällä siedettävyydellä mahaan annettaessa. Yhtä yksiselitteinen paremmuus vertailuyhdisteeseen nähden ilmenee terapeuttista laajavaikutteisuutta laskettaessa kun perustana käytetään ilmoitettuja LD₅₀-arvoja ja muodostetaan suhde LD₅₀/ED₅₀, joka esimerkin 1 yhdisteen osalta on yli 110 ja Naproxen'in osalta 28,6.

Myöskin muissa erikoiskokeissa keksinnön mukaiset yhdisteet osoittautuivat yksiselitteisesti standardivalmistetta Naproxen'ia ylivoimaisesti paremmiksi.

10 4. Immuunipatologisten tapahtumasarjojen estyminen

Nykyisin on yleisesti tunnettua, että tulehduksellisten reumasairauksien etenevä kulku aiheutuu pääasiallisesti raiteiltaan suistumisista immuunisysteemissä ja että syyhyn kohdistuva hoito voi onnistua ainoastaan sellaisilla lääkeaineilla, jotka pystyvät katkaisemaan tämän immuunipatologisen tapahtumasarjan.

a) Apuaine-niveltulehdus

Kohdassa 1 selostetussa Freund'in apuaineella aiheutetussa niveltulehdus-rottakoemallissa imusolujen immuuniaktiiviteetti on tavallisesti tiettyihin mitoitettiin aineisiin, kuten Concavalin-A:han, Phytohämagglutinin A:han ja dekstraanisulfaattiin verrattuna, laskenut voimakkaasti. Sen vuoksi tutkittiin stimuloivaa vaikutusta tähän voimakkaasti ehkäistyneeseen immuunivasteeseen. Tällöin esimerkiksi esimerkin 1 yhdiste aiheutti suun kautta annetun 3,15 ja 6,3 mg/kg:n annoksen jälkeen pitkälle ulottuvan immuunireaktiivisuuden normalisoitumisen, kun taas jopa 25 mg/kg:n annoksin kokeiltu Naproxen oli vaikutukseton.

b) Tyypin II Collagen'illa aiheutettu niveltulehdus

Tässä kokeessa niveltulehdus aiheutettiin urospuolisiin Wistar-rottiin tyypin II Collagen'illa, jota saatiin Miller'in ja Rhodes'in standardimenetelmien mu-

kaisesti (Meth. Enzymol. 82 (1982) s 33) vasikan sierainväliseinästä ja jota injektoitiin eläimiin ihonsisäisesti seoksena epätäydellisen Freund'in apuaineen kanssa. Tämä immunointioperaatio toistettiin 7 päivää myöhemmin. 20 päivän kuluttua ensimmäisestä immunoinnista sairastuneet rotat jaettiin 7-eläimen ryhmiin, jotka saivat sen jälkeisen 20-päiväisen käsittelyjakson aikana kerran päivässä kulloinkin kyseessä olevaa koeainetta tai puhdasta väliainetta (kontrolliryhmä) suun kautta. Koepäivänä 41, siis päivää viimeisen aineen annon jälkeen, määritettiin molempien takakäpälien tilavuuksien lisääntyminen.

Tällöin esimerkin 1 yhdisteellä osoittautui olevan annoksesta riippuva ehkäisyvaikutus käpälien tilavuuksien kasvuun, joka oli statistisesti merkittävää po-annoksista 25 mg/kg alkaen, kun taas Naproxen'in osalta samoin annoksien saatiin vain merkityksettömiä ehkäisyarvoja.

Myöskin tässä Collagen-niveltulehdus-koemallissa imusolujen immuuniustila on häiriytynyt herkästi. Sen vuoksi imusoluja otettiin koeläinten pernasta ja tutkittiin niiden immuuniaktiviteettiä mitogeenien suhteen, jolloin keksinnön mukaisten yhdisteiden osalta saatiin jälleen osoitetuksi annoksesta riippuvat parantavat vaikutukset voimakkaasti heikentyneeseen immuunisysteemiin, kun taas Naproxen'illä ei ilmennyt mitään vaikutusta. Siten esimerkiksi esimerkin 1 yhdisteen po-annoksen ollessa 12 mg/kg sekä T- että myös B-imusolujen immuunitoiminta normalisoituu täydellisesti.

c) Aktiivinen Arthus-reaktio

Koe-eläiminä olivat naaras- ja uros-Sprague-Dawley-rotat, joiden kehonpaino oli välillä 80-100 g, joihin injektoitiin ihonalaisesti hännän juureen 0,5 ml Pertussisrokotteen ja muna-albumiinin parafiini-öljy-emulsiota. Kahden viikon kuluttua rotat jaettiin 8 eläimen ryhmiin. 24 tunnin kuluttua ja tuntia ennen Arthus-reaktion aiheuttamista injektoimalla 0,1 ml 0,4-prosenttista muna-

abumiini-liuosta oikeaan takakäpälään seurasi kulloinkin kyseessä olevan koeaineen tai puhtaan väliaineen (positiivinen kontrolli) anto suun kautta. Vasempaan käpälään injektoitiin natriumkloridiliuosta. Yhtä ryhmää herkistämättömiä eläimiä (negatiivinen kontrolli) käsiteltiin samoin muna-albumiinilla, jotta voitaisiin sulkea pois epäspesifiset reaktiot proteiinin suhteen. Määritysparame-
 5 metrina valmisteen vaikutuksen toteamiseksi oli käpälätila-
 vuuksien kasvun estyminen verrattuna tosin herkistettyyn,
 10 mutta käsittelemättömään kontrolliryhmään (positiivinen
 kontrolli) 4 tuntia muna-albumiini-ärsytyksen jälkeen,
 turpoaman saavutettua maksimiarvonsa.

Ei-steroidaaliset tulehduksenvastaiset aineet
 Naproxen mukaan lukien ovat tässä koejärjestelyssä vaiku-
 15 tuksettomia. Sitä vastoin Arthus-reaktiota saatiin este-
 tyksi tehokkaasti sen jälkeen kun oli annettu suun kautta
 esim. esimerkin 1 mukaista yhdistettä, jonka ED_{50} oli
 välillä 10 ja 15 mg/kg.

5. Hapettumisen vastainen vaikutus

20 Nykyisen opetuskäsityksen mukaisesti monesta teki-
 jästä riippuvan reuma-niveltulehduksen ja muiden tuleh-
 duksellisten sairauksien etenemisen kulkuun osallistuvat
 ratkaisevasti aggressiiviset happiradilaalit, joita muo-
 dostuu kohtuuttomasti kroonisen tulehdusprosessin aikana
 25 ja jotka itse erittäin toksisina tulehduksenvälittäjinä
 ylläpitävät jatkuvasti palautumattoman solukalvojen li-
 poidiperoksidoitumisen myötä tapahtuvaa sidekudoksen ha-
 jaantumista. Niin muodoin hapettumisen vastaisesti vai-
 kuttavien lääkeaineiden pitäisi, kyetessään desaktivoi-
 30 maan näitä äärimmäisen sytotoksisia happiradikaaleja,
 mahdollistaa tavoitellun otteen saaminen krooniseen tu-
 lehdustapahtumaan. Sopiva eläinkoemalli sen kaltaiseen
 happiradikaalien välittämään kudoksen hajaantumiseen on
 rotalle Adriamycin'illä (Doxorubicin) aiheutettu tuleh-
 35 dus.

a) Adriamycin'illä aiheutettu tulehdus

Tutkimukset suoritettiin D.M. Siegel'in ym:n menetelmällä (Inflammation 4 (1980) s 233) urospuolisilla Sprague-Dawley-rotilla, joiden kehonpaino oli välillä
 5 200-230 g, käyttämällä kulloinkin 7 eläimen ryhmiä, jotka saivat ihonalaisena ruiskeena vasempaan takakäpälään 0,1 mg Adriamycin'ia, liuotettuna 0,1 ml:aan 0,9-prosenttista keittosuolaliuosta. 72 tuntia sen jälkeen määritettiin tulehdusasteen mittana käpälätilavuuksien lisääntyminen pulssitilavuusmittauksen avulla.

Koepreparaattien anto suun kautta 1-prosenttisena karboksimeetyyliselluloosa-vesisuspensionä tapahtui ker-
 ran päivässä neljänä peräkkäisenä päivänä, Adriamycin-
 ruiskeen antamispäivästä alkaen.

Kuten taulukosta 3 ilmenee, tässäkin kokeessa esi-
 merkiksi esimerkin 1 yhdisteellä osoittautui olevan voi-
 makas annoksesta riippuva suojavaikutus Adriamycin'illä
 aiheutettua kudoksen hajoamista vastaan. Sekä steroidaaliset että myöskin ei-steroidaaliset tulehdusenvas-
 20 taiset aineet, Naproxen mukaan lukien, ovat tässä koe-
 järjestelyssä tehottomia.

Taulukko 3

Adriamycin'illä aiheutetun tulehduksen estyminen

25	Eläinkollek- tiivinen	Annos mg/kg po	Käpälätila- vuuksien kas- vu, μ l	Suojavaikutus, %
	Kontrolli	-	430	-
	Esimerkin	20	220	49 ⁺
	1	40	200	54 ⁺
30	yhdiste	80	10	98 ⁺

⁺ Merkitsevä $p < 0,05$

35 b) Lipoidiperoksidoitumisen estyminen in-vitro
 Edelleen erään vakuuttavan todisteen, keksinnön

mukaisten yhdisteiden selvästä suojavaikutuksesta agres-
siivisia happiradikaaleja vastaan tuotti A. Ottolenghi'n
mukainen tiobarbituurihappo-koe (Arch. Biochem. Biophys.
79 (1959) s 355-163). Tällä in-vitro-menetelmällä kalvo-
5 sidoksisten, monityydyttämättömien rasvahappojen hapet-
tumalla tapahtuvassa pilkkoutumisessa syntyvän maloni-
dialdehydin ohella, hapettumisen vastaisesti vaikuttavien
preparaattien avulla saadaan määritetyksi sekä mikroso-
maalinen että myös mitokondriaalinen lipoidiperoksidoi-
10 tuminen.

Tällöinkin kaavan I mukaisilla yhdisteillä osoit-
tautui olevan voimakas ehkäisyvaikutus. Esimerkin 1 yh-
disteen osalta rotanmaksasta saaduilla mikrosomeilla
ja mitokondreilla esimerkiksi IC_{50} -arvoiksi saatiin
15 6×10^{-7} tai 3×10^{-6} moolia/l.

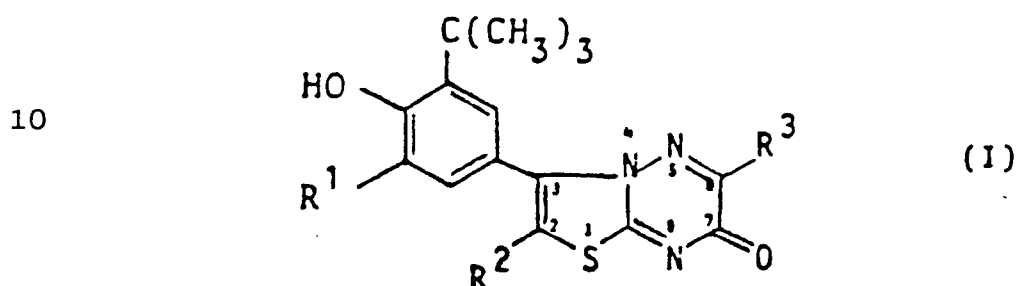
6. 5-lipoksigenaasin ehkäiseminen

Keksinnön mukaisten yhdisteiden ehkäisyvaikutus
5-lipoksigenaasin katalysoimaa arakidonihappo-hajaantu-
mista vastaan osoitettiin, kuten yleensä, in-vitro-kokein
eristetyillä liuskatumaisilla ihmisgranulosyyteillä.
20 Tätä varten Calcium-Ionophor A 23 187:llä (Calbiochem
GmbH, Frankfurt/Main, BRD, Biochemical and Immunochemi-
cal Catalog 1985, s 284) stimuloituja soluja haudottiin
 ^{14}C -merkityn arakidonihapon kanssa ja 15 minuutin kulut-
25 tua $37^{\circ}C$:ssa biotransformaation avulla muodostuneet ara-
kidonihapon radioaktiiviset päähajaantumistuotteet, 5-
hydroksieikosatetraeenihappo (5-HETE) ja erityisen voi-
makkaasti proinflammatoorisesti vaikuttava leukotrieeni
 B_4 (LTB_4) määritettiin, suurpainenestekromatograafisen
30 (HPLC) erottamisen jälkeen, kvantitatiivisesti radio-moni-
torin avulla.

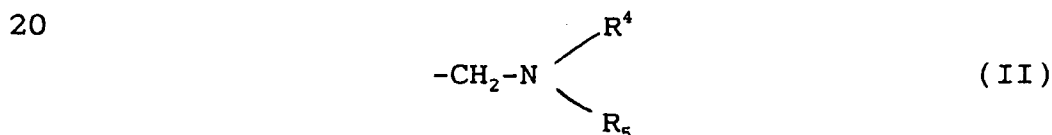
Tässä koejärjestelyssä sekä LTB_4 :n että myöskin
5-HETE:n muodostumista ja siten arakidonihapon hajaantu-
mista 5-lipoksigenaasin kautta, esi-hautomalla granulo-
35 syyttejä 15 minuuttia esim. esimerkin 1 yhdisteen kanssa
konsentraatioalueessa välillä 10^{-5} ja 10^{-6} moolia/l,
saatiin ehkäistykseksi merkittävästi.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä uusien terapeuttisesti käyttökelpois-
ten kaavan I mukaisten substituoitujen 3-fenyyli-7H-tiat-
solo[3,2-b][1,2,4]triatzin-7-onien ja niiden farmaseutti-
sesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen valmistamiseksi,

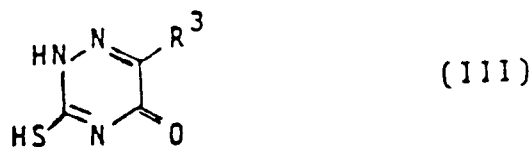


15 jossa R¹ merkitsee vetyä, suora- tai sivuketjuista alkyyliryhmää, jossa on 1 - 4 C-atomia, hydroksimetyyliä tai aminometyyliryhmää, jonka kaava II on



25 R² vetyatomia tai alkyylitähdettä, jossa on 1-3 C-atomia ja R³ vetyatomia, suora- tai sivuketjuista alkyyliryhmää, jossa on 1-4 C-atomia, hydroksimetyyliä tai pyrrolidinometyyliryhmää, jolloin R⁴ ja R⁵ ovat samoja tai erilaisia ja merkitsevät vetyatomia tai suora- tai sivuketjuista alkyylitähdettä, jossa on 1 - 4 C-atomia, tai molemmat tähteet yhdessä tyypiatomin kanssa, johon ne ovat sitoutuneet, muodostavat pyrrolidino- tai morfolinorenkaan, ja yhdisteiden, joiden asemassa R¹ ja/tai R³ on kaavan II mukainen rakenneosa, t u n n e t t u siitä, että

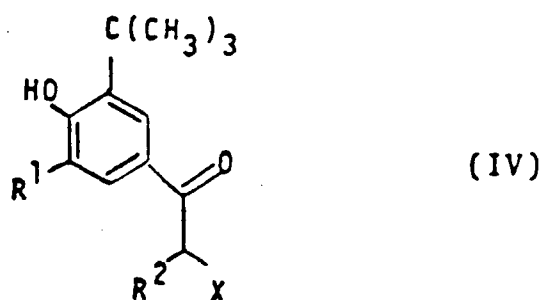
35 a) kaavan III mukaisen 3-merkpto-2H-1,2,4-triatzin-5-onin



5

annetaan reagoida kaavan IV mukaisen 2-halogeeni-1-fenyylialkanonin kanssa

10

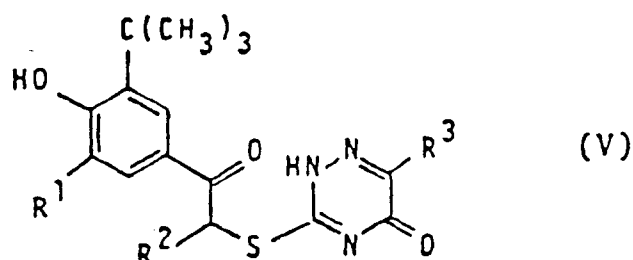


15

kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi, jolloin R¹ merkitsee vetyä tai suora- tai sivuketjuista (C₁-C₄)-alkyyliiryhmää, R² merkitsee vetyä, (C₁-C₃)-alkyyliiryhmää tai hydroksimetyyliä ja R³ merkitsee vetyä, suora- tai sivuketjuista (C₁-C₄)-alkyyliiryhmää, hydroksimetyyliä tai pyrrolidinometyyliiryhmää ja X merkitsee halogeeniatomia, tai

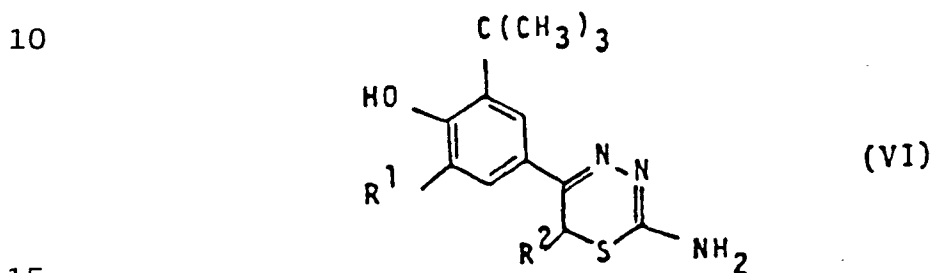
b) kaavan III mukaisen yhdisteen annetaan reagoida kaavan IV mukaisen yhdisteen kanssa emäksisissä olosuhteissa ensin kaavan V mukaiseksi S-alkyloiduksi 2H-1,2,4-triatsin-5-oniksi, jolloin R¹ merkitsee vetyä tai suora- tai sivuketjuista (C₁-C₄)-alkyyliiryhmää, R² merkitsee vetyä, (C₁-C₃)-alkyyliiryhmää tai hydroksimetyyliä ja R³ merkitsee vetyä, suora- tai sivuketjuista (C₁-C₄)-alkyyliiryhmää, hydroksimetyyliä tai pyrrolidinometyyliiryhmää ja X merkitsee halogeeniatomia,

35

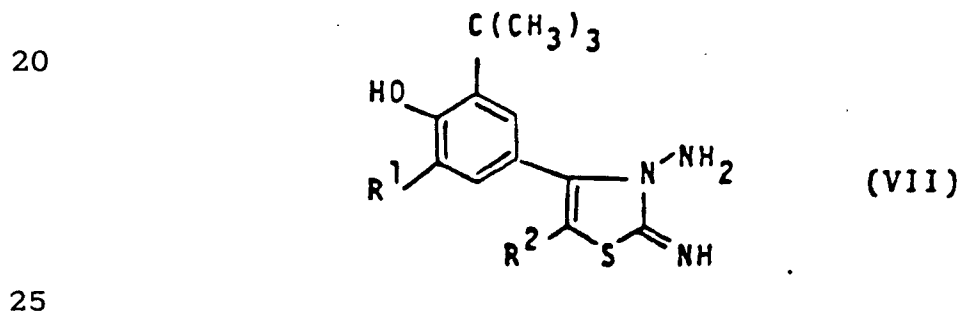


ja tämä muutetaan dehydratoimalla happamissa olosuhteissa kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi, jolloin R^1 , R^2 ja R^3 merkitsevät samaa kuin edellä, tai

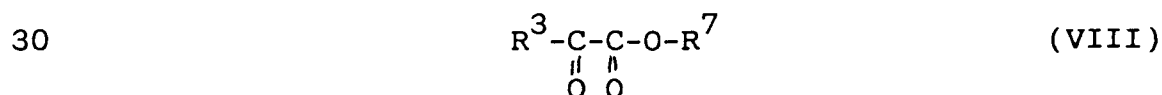
c) kaavan IV mukaisen 2-halogeeni-1-fenyylialkanolin (jossa tähteillä R^1 , R^2 ja X on siinä mainittu merkitys) annetaan reagoida ensin tiosemikarbatsidin, $NH_2-CS-NH-NH_2$, kanssa vastaavaksi kaavan VI mukaiseksi 2-amino-6H-1,3,4-tiadiatsiiniksi



ja tämä toisiinnutetaan happamissa olosuhteissa kaavan VII mukaiseksi 3-amino-2-imino-2,3-dihydro-tiatsoliksi



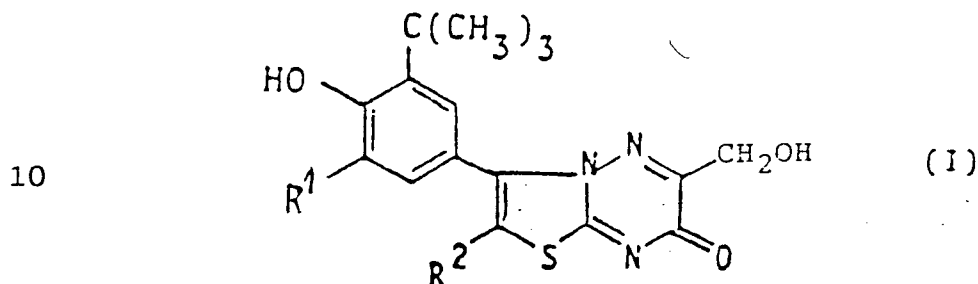
joka sen jälkeen syklokondensoidaan kaavan VIII mukaisen α -ketokarboksyylihapon tai sen alkyyliesterien kanssa



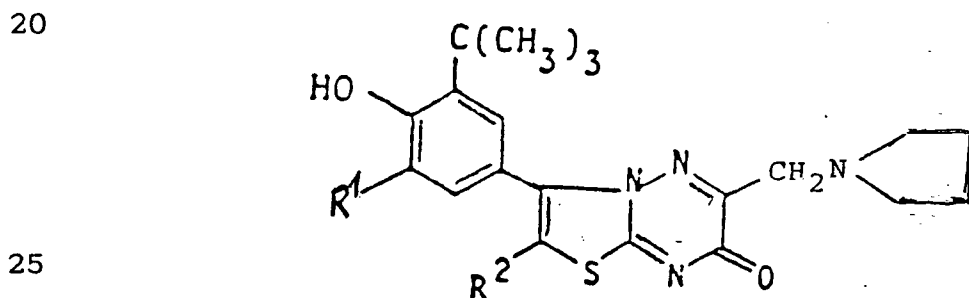
kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi, jolloin R^1 merkitsee patenttivatimuksessa 1 määriteltä (C_1-C_4) alkyyli ryhmää, R^2 :lla on kaavan I yhteydessä mainitut merkitykset, R^3 merkitsee vetyatomia, suora- tai sivuketjuista alkyyliryhmää,

jossa on 1-4 C-atomia tai hydroksyylimetyyliyryhmää ja R^7 merkitsee vetyatomia tai alkyylilähdettä, jossa on 1-3 C-atomia, ja haluttaessa

5 d) hydroksiryhmä kaavan I mukaisessa yhdisteessä, jonka asemassa R^3 on hydroksyylimetyylytähde



15 vaihdetaan ensin halogeeniksi tai muutetaan aktivoituksi sulfoni- tai fosforihappoesteriksi ja sen jälkeen sen annetaan reagoida pyrrolidiinin kanssa kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi, jolloin asemassa R^3 on pyrrolidinometyyli-ryhmä, ja R^2 ja R^1 tarkoittavat samaa kuin yllä,

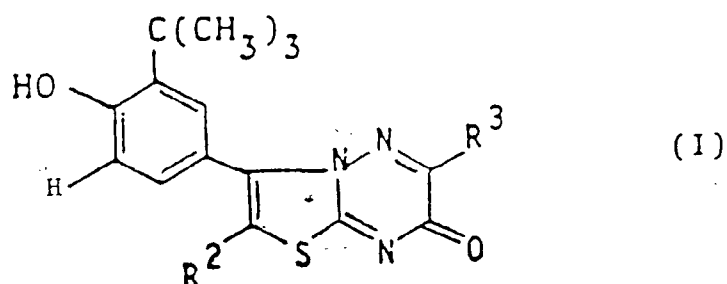


ja tämä aminometyyliyhdiste, joko eristetään vapaassa muodossa tai muutetaan sopivien happojen kanssa fysiologisesti hyväksyttäväksi additiosuoloiksi, tai

30 e) kaavan I mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa on kaavan II mukainen aminometyyli-ryhmä tai hydroksimetyyli-ryhmä R^1 :n asemassa ja R^3 tarkoittaa vetyä tai (C_1-C_4) -alkyyliä, lähdetään kaavan I mukaisesta yhdisteestä, jossa R^1 merkitsee vetyä,

35

5



10

ja tämän annetaan reagoida hydroksimetyyli-tähteen liittämiseksi formaldehydin kanssa, ja

i) kaavan II mukaisten N-substituoitujen aminometyyliryhmien liittämiseksi reaktion annetaan tapahtua vastaavien kaavan IX mukaisten amiinien kanssa formaldehydin läsnäollessa tai

15

ii) substituoimattoman aminometyylitähteen liittämiseksi kondensoidaan ensin kaavan I mukaisten N-hydroksimetyyliasetamidien kanssa

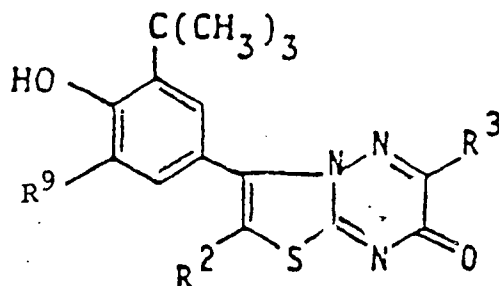
20



25

jossa kaavassa R^8 merkitsee trifluorimetyyliä, trikloorimetyyliä tai kloorimetyyliä, happamissa olosuhteissa ja sen jälkeen poistetaan hydrolyyttisesti asyyli-tähteen R^8-CO- , kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi, jossa R^2 , R^3 , R^4 ja R^5 tarkoittavat samaa kuin yllä ja R^9 on $HOCH_2-$, $R^4R^5NCH_2-$ tai H_2NCH_2-

30



35

ja siten saadut aminometyyliyhdisteet joko eristetään vapaassa muodossa tai muutetaan sopivien happojen kanssa fysiologisesti hyväksyttäväksi additiosuoloiksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että valmistetaan 3-(3,5-di-tert-
butyyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni.

5 3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että valmistetaan 3-(3-tert-butyy-
li-5-metyyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b][1,2,4]-
triatsin-7-oni.

10 4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että valmistetaan 3-(3,5-di-tert-
butyyli-4-hydroksifenyyli)-6-hydroksimetyyli-7H-tiatsolo-
[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni.

15 5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että valmistetaan 3-(3,5-di-tert-
butyyli-4-hydroksifenyyli)-6-pyrrolidinometyyli-7H-tiatso-
lo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni-hydrokloridi.

20 6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että valmistetaan 3-(3,5-di-tert-
butyyli-4-hydroksifenyyli)-2,6-dimetyyli-7H-tiatsolo-
[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni.

7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että valmistetaan 3-(3-aminometyy-
li-6-tert-butyyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatsolo[3,2-b]-
[1,2,4]triatsin-7-oni-hydrokloridi.

25 8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että valmistetaan 3-(3-dimetyyli-
aminometyyli-5-tert-butyyli-4-hydroksifenyyli)-7H-tiatso-
lo[3,2-b][1,2,4]triatsin-7-oni-hydrokloridi.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar

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

FI _____

CH _____

DE H 3, 146, 300 *luku* Co 7D 513/04
H 3, 346, 223 *luku* Co 7D 513/04

DK _____

FR _____

GB _____

NO _____

SE _____

US _____

EP

WO

JP Kokai 57-132881

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Acta Chim Sci Hung 53 (1967): 45385-96

CA 68 (1968) - 29882

Pharmazie 34 (1979): 45393-4 CA 92
(1980) - 76459

Chemische Berichte 110 (1977): 41492-6

7/1-93 P. S.

Allekirjoitus