

CZ 294747 B6

294 747

(51) Int. Cl. : ⁷

A 61 P 5/24

\\C 07 D 495/04, C 07 D 333:20, C 07 D 239:10)

(21) Číslo přihlášky: **2001-3419**

(22) Přihlášeno: **23.03.2000**

(30) Právo přednosti: **24.03.1999 JP 1999/79371**
25.01.2000 JP 2000/018019

(40) Zveřejněno: **13.02.2002**
(Věstník č. 02/2002)

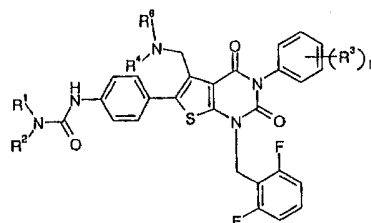
(47) Uděleno: **11.01.05**

(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **16.03.2005**
(Věstník č. 3/2005)

(86) PCT číslo: **PCT/JP2000/001777**

(87) PCT číslo zveřejněn: **WO 2000/056739**

Thienopyrimidiny obecného vzorce I, v němž R^1 i R^2 znamená atom vodíku, hydroxylovou skupinu, alkoxykarbonylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxykarbonylovou skupinu, v níž alkoxy skupina má 1 až 4 atomy uhlíku, nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována, R^3 znamená atom vodíku, atom halogenu, hydroxylovou skupinu nebo alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována, nebo dvě přilehlé skupiny R^3 mohou tvořit alkylendioxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, R^4 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, R^6 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována nebo skupinu obecného vzorce A, v němž R^5 znamená atom vodíku nebo R^4 a R^5 mohou společně tvořit heterocyklický kruh a n znamená číslo 0 až 5, nebo její sůl má vynikající GnRH-antagonizující aktivitu a je užitečná pro předcházení nebo léčení onemocnění závislých na pohlavních hormonech.



(1)



(A)

Thienopyrimidiny, způsob výroby a použití

Oblast techniky

5

Předložený vynález se týká thieno[2,3-d]pyrimidinových sloučenin, které vykazují aktivitu antagonistovat hormon uvolňující gonadotropin (GnRH), jejich výroby a použití.

10 Dosavadní stav techniky

15 Sekrece hormonu předního podvěsku mozkového podléhá zpětné kontrole periferními hormony sekretovanými z cílových orgánů příslušných hormonů a hormony z hypotalamu [což je horní centrální orgán předního laloku podvěsku mozkového (zde dále jsou tyto hormony souhrnně nazývány „hormony hypotalamu“) regulujícími sekreci. V předloženém stupni, pokud jde o hormony hypotalamu, byla potvrzena existence devíti druhů hormonů, mezi které patří například hormon uvolňující tyreotropin (TRH) a hormon uvolňující gonadotropin [GnRH, někdy nazývaný také LH–RH (hormon uvolňující luteinizační hormon)]. O těchto hormonech se předpokládá, že svůj účinek vykazují prostřednictvím receptorů, o nichž se předpokládá, že existují v předním laloku podvěsku mozkového. V současné době je vyvíjeno úsilí nelézt gen pro expresi receptoru specifického pro tyto hormony, včetně případů u člověka. Antagonisté nebo agonisté specificky a selektivně působící na tyto receptory by tedy měly regulovat účinek hormonu hypotalamu a sekreci hormonu předního podvěsku mozkového. Jako výsledek se očekává, že takoví antagonisté nebo agonisté budou předcházet nebo léčit onemocnění hormonu předního podvěsku mozkového.

Mezi známé sloučeniny, které mají aktivitu antagonistovat GnRH, patří lineární peptidy odvozené od GnRH (patent US 5 140 009 a patent US 5 171 835), cyklický hexapeptidový derivát (japonský patentový spis A–61–191698), bicyklický peptidový derivát [*Journal of Medicinal Chemistry* 1993, 36, 3265 až 3273.] a tak dále. Mezi nepeptidové sloučeniny, které mají aktivitu antagonistovat GnRH, patří sloučeniny popsané ve spisu WO 95/28405 (japonský patentový spis A–8–295693), spisu WO 97/14697 (japonský patentový spis A–9–169767), ve spisu WO 97/14682 (japonský patentový spis A–9–169735) a ve spisu WO 96/24597 (japonský patentový spis A–9–169768) atd.

35

U peptidových sloučenin existuje velký počet problémů, který by měl být řešen, pokud jde o orální absorbovatelnost, formu dávkování, objem dávky, stabilitu léčiva, přetrvávající účinek, metabolickou stabilitu atd. Existuje silný požadavek na orálního GnRH antagonistu, zvláště takového, který je založen na nepeptidové sloučenině, který má vynikající terapeutický účinek na rakovinu závislé na hormonech, např. rakovinu prostaty, endometriózu, předčasnou pubertu atd., který nevykazuje přechodný hypofyziální–gonadotropní účinek (akutní účinek) a který má vynikající biologickou dostupnost.

40

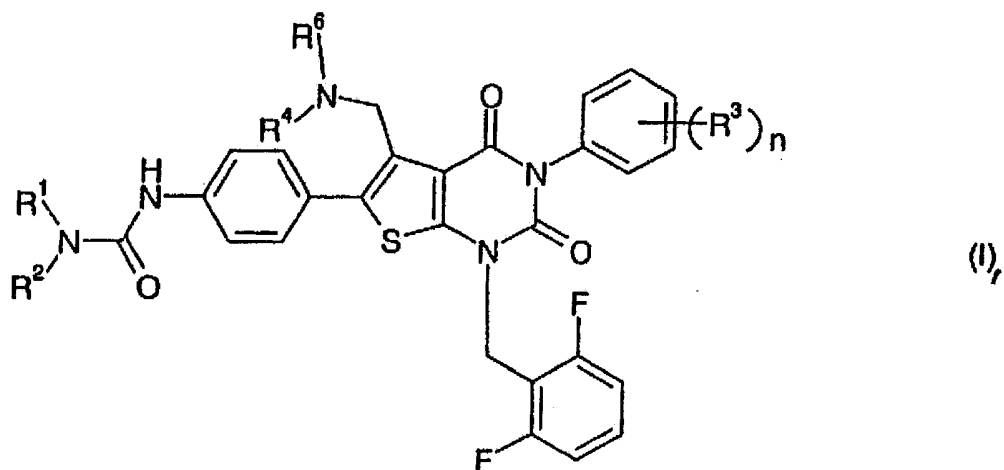
45 Přehled obrázku na výkrese

Obrázek 1 ukazuje LH koncentrace v testované plazmě opic. Na obrázku –▲– znamená kontrolní skupinu–1, –◆– znamená kontrolní skupinu–2, –△– znamená skupinu sloučeniny–1, –□– znamená skupinu sloučeniny–2 a –○– znamená skupinu sloučeniny–3.

50

Podstata vynálezu

Autoři předloženého vynálezu studovali různé sloučeniny. Jako výsledek poprvé zjistili, že následující nová sloučenina, která má substituent, skupinu obecného vzorce $\text{--NH--CO--NR}^1\text{R}^2$, v němž každý symbol znamená jak níže uvedeno, v para-poloze fenylové skupiny thieno[2,3-d]-pyrimidinového skeletu nebo její sůl (zde dále někdy stručně označované jako sloučenina obecného vzorce I). Zjistili také, že sloučenina obecného vzorce I má nečekanou vynikající aktivitu antagonizovat GnRH, danou na základě shora uvedeného specifického substituentu, a nízkou toxicitu a je tedy uspokojivá jako léčivo, které má aktivitu antagonizovat GnRH. Na základě tohoto zjištění byla vyvinuta sloučenina obecného vzorce I



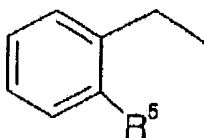
kde R^1 i R^2 znamená atom vodíku, hydroxylovou skupinu, alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxy(s 1 až 4 atomy uhlíku)karbonylovou skupinu nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována,

R^3 znamená atom vodíku, atom halogenu, hydroxylovou skupinu nebo alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována, nebo

dvě přilehlé skupiny R^3 mohou společně tvořit alkylendioxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

R^4 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

R^6 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována, nebo skupinu obecného vzorce



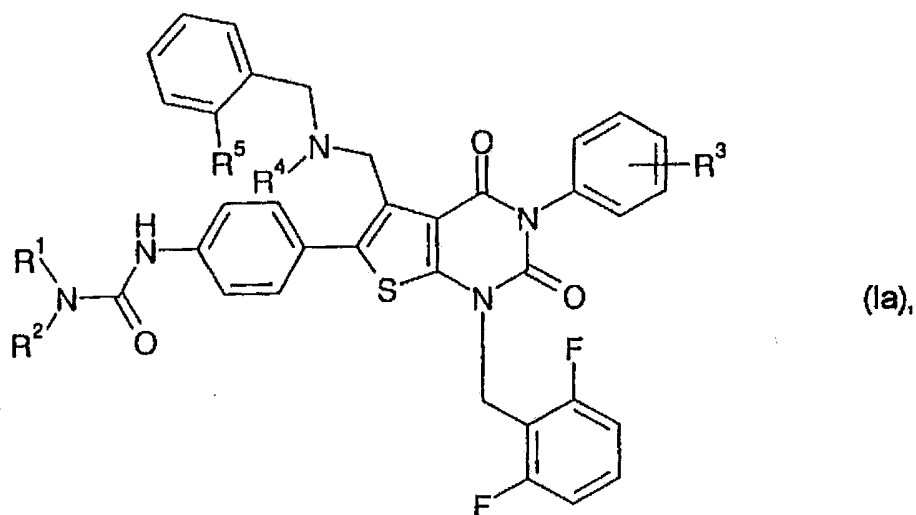
25

v němž R^5 znamená atom vodíku nebo R^4 a R^5 mohou společně tvořit heterocyklický kruh a

n znamená číslo 0 až 5.

Předložený vynález se tedy týká:

- 1) sloučeniny obecného vzorce I,
- 2) sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 1) nebo její soli, kterou je sloučenina obecného vzorce Ia



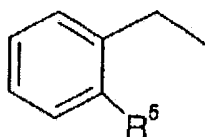
- v němž R^1 i R^2 znamená atom vodíku, hydroxylovou skupinu, alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována, R^3 znamená atom vodíku, atom halogenu nebo alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, R^4 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku a R^5 znamená jak uvedeno shora,

- 3) sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 1), nebo její soli, v němž R^1 znamená alkoxy skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku,

- 4) sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 3) nebo její soli, v němž R^2 znamená atom vodíku,

- 5) sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 1) nebo její soli, v němž R^3 znamená atom vodíku,

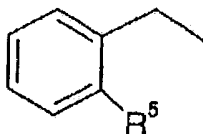
- 6) sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 1) nebo její soli, v němž R^6 znamená skupinu obecného vzorce



- v němž R^5 znamená jak shora uvedeno,

- 7) sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 2) nebo její soli, v němž R^4 znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a R^5 znamená atom vodíku,
- 8) sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 1) nebo její soli, v němž n znamená číslo 1 nebo 2,

- 9) sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 1) nebo její soli, v němž R^1 znamená i) hydroxylovou skupinu, ii) alkoxykupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo iii) alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována hydroxylovou skupinou nebo alkykarbonyloxyskupinu s alkylovou skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, R^2 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkoxykarbonylovou skupinu s alkoxykupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, R^3 znamená atom vodíku, atom halogenu, hydroxylovou skupinu nebo alkoxyalkoxykupinu, kde alkoxykupina má 1 až 4 atomy uhlíky, nebo dvě přilehlé skupiny R^3 společně tvoří alkylendioxykupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, R^4 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, R^6 znamená alkoxyalkylovou skupinu, kde alkylová i alkoxykupina mají 1 až 4 atomy uhlíku, nebo skupinu obecného vzorce

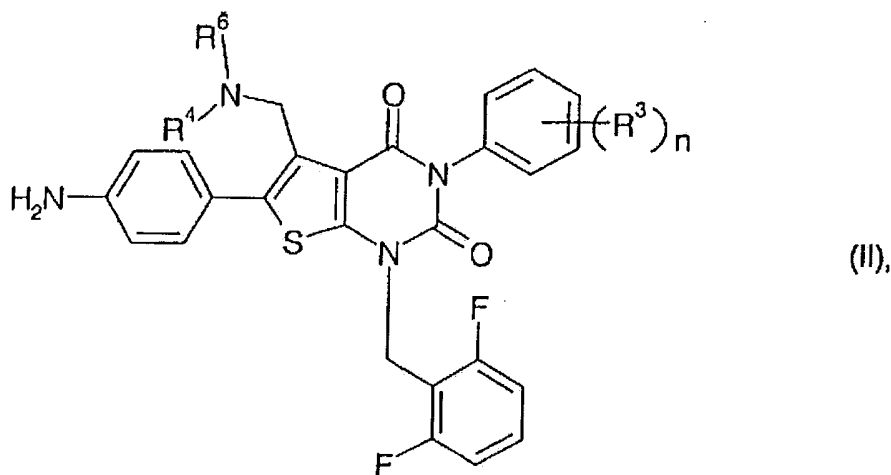


v němž R^5 znamená atom vodíku nebo R^4 a R^5 společně tvoří 5- nebo 6-členný heterocyklický kruh a n znamená číslo 1 nebo 2,

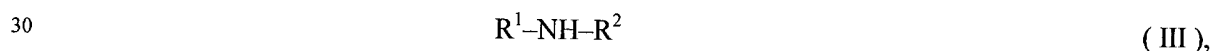
- 10) sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 1) nebo její soli, v němž R^1 znamená hydroxylovou skupinu, methoxykupinu nebo alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, R^2 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, R^4 znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, R^6 znamená benzylovou skupinu a n znamená číslo 0,

- 11) 5-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-methoxyureido)-fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dionu nebo jeho soli,

12) způsobu výroby sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 1) nebo její soli, vyznačujícího se tím, že se sloučenina obecného vzorce II



v němž každý symbol znamená jak je shora definováno, nebo její sůl (zde dále někdy označované stručně jako sloučenina obecného vzorce II) nechá zreagovat s karbonyldiimidazolem nebo fosgenem, načež následuje reakce se sloučeninou obecného vzorce III



v němž každý symbol znamená jak je shora uvedeno, nebo její soli (zde dále někdy označované stručně jako sloučenina obecného vzorce III),

- 13) farmaceutického prostředku, který obsahuje sloučeninu podle shora uvedeného bodu ad 1) nebo její sůl,
- 14) farmaceutického prostředku podle shora uvedeného bodu ad 13), který je pro antagonizování hormonu uvolňujícího gonadotropin,
- 15) farmaceutického prostředku podle shora uvedeného bodu ad 14), který je pro předcházení nebo léčení onemocnění závislého na pohlavních hormonech,
- 16) způsobu antagonizování hormonu uvolňujícího gonadotropin u savce, který to potřebuje, podle kterého se uvedenému savci podává efektivní množství sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 1) nebo její soli s farmaceuticky přijatelným excipients, nosičem nebo ředidlem,
- 17) použití sloučeniny podle shora uvedeného bodu ad 1) nebo její soli pro výrobu farmaceutického prostředku pro antagonizování hormonu uvolňujícího gonadotropin a tak dále.

Každý symbol ve shora uvedených obecných vzorcích je zde dále popsán podrobněji.

„Alkoxyskupina s 1 až 4 atomy uhlíku“ pro symboly R^1 a R^2 zahrnuje například methoxyskupinu, ethoxyskupinu, propoxyskupinu, butoxyskupinu, izopropoxyskupinu, terc.butoxyskupinu atd. Z nich je výhodná alkoxyskupina s 1 až 3 atomy uhlíku, výhodnější je methoxyskupina.

„Alkoxy(s 1 až 4 atomy uhlíku)karbonylová skupina“ pro symboly R^1 a R^2 zahrnuje například methoxykarbonylovou, ethoxykarbonylovou, propoxykarbonylovou, izopropoxykarbonylovou, butoxykarbonylovou a terc.butoxykarbonylovou skupinu atd. Výhodná je z nich alkoxy(s 1 až 3 atomy uhlíku)karbonylová skupina. Výhodnější je methoxykarbonylová skupina.

„Alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku“ v „alkylové skupině s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována“ pro symbol R^1 nebo R^2 zahrnuje například alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku s přímým řetězcem (např. methylovou, ethylovou, propylovou, butylovou skupinu atd.), větvenou alkylovou skupinu se 3 až 4 atomy uhlíku (např. izopropylovou, izobutylovou, sek.butylovou, terc.butylovou skupinu atd.) a tak dále. Z nich je výhodná alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku. Výhodnější je ethylová skupina.

Mezi „substituenty“ „alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována“ pro symbol R^1 nebo R^2 patří například i) hydroxyskupina, ii) acyloxyskupina s 1 až 7 atomy uhlíku [např. alkyl(s 1 až 6 atomy uhlíku)karbonyloxyskupina, jako je acetoxyskupina, propionyloxy-skupina atd.], iii) benzyloxyskupina, iv) aminová skupina, která může být substituována 1 nebo 2 substituenty, vybranými ze skupiny sestávající z alkoxy(s 1 až 6 atomy uhlíku)karbonylové skupiny (např. methoxykarbonylové, ethoxykarbonylové, terc.butoxykarbonylové skupiny atd.), benzyloxykarbonylové skupiny, acylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku [např. alkyl(s 1 až 3 atomy uhlíku)karbonylové skupiny, jako je acetylová, propionylová skupina atd.], alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku (např. methylové, ethylové, propylové, butylové skupiny atd.) a alkylsulfonylové skupiny s 1 až 3 atomy uhlíku (např. methansulfonylové skupiny atd.), atd. [např. aminové, dimethylaminové, methoxykarbonylaminové, ethoxykarbonylaminové, terc.-butoxykarbonylaminové, benzyloxykarbonylaminové, acetylaminové, methansulfonylaminové skupiny atd.], v) alkoxyskupiny s 1 až 10 atomy uhlíku (např. methoxyskupiny, ethoxyskupiny, propoxyskupiny, terc.butoxyskupiny atd.), vi) cykloalkyloxykarbonyl(se 3 až 7 atomy uhlíku)-alkoxy(s 1 až 3 atomy uhlíku)skupiny (např. cyklohexyloxykarbonyloxy-1-ethoxyskupiny atd.), vii) alkoxy(s 1 až 3 atomy uhlíku)alkoxy(s 1 až 3 atomy uhlíku)skupiny (např. methoxymethoxy-skupiny, methoxyethoxyskupiny atd.) a tak dále. Výhodnou je z nich methoxyethoxyskupina.

„Alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku“ v „alkylové skupině s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována“ pro symbol R^1 nebo R^2 může mít 1 až 5, s výhodou 1 až 3 substituenty, jak

bylo shora uvedeno, v možných polohách a jestliže počet substituentů je dva nebo více, tyto substituenty mohou být stejné nebo se mohou navzájem lišit.

- 5 Jeden ze symbolů R^1 a R^2 s výhodou znamená atom vodíku a druhý znamená alkoxykupinu s 1 až 3 atomy uhlíku.

Mezi „atom halogenu“ symbolu R^3 patří například atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu atd. Z nich je výhodný atom chloru.

- 10 Mezi „alkoxykupinu s 1 až 4 atomy uhlíku“ v „alkoxykupině s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována“ pro symbol R^3 patří například methoxykupina, ethoxykupina, propoxykupina, izopropoxykupina, butoxykupina, terc.butoxykupina atd. Z nich je výhodná methoxykupina.

- 15 „Substituenty“ „alkoxykupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována“ u symbolu R^3 jsou stejné jako shora uvedené „substituenty“ „alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována“ pro symbol R^1 nebo R^2 . Z nich je výhodná alkoxykupina s 1 až 4 atomy uhlíku.

- 20 „Alkoxykupina s 1 až 4 atomy uhlíku“ může mít 1 až 5, s výhodou 1 až 3 shora uvedené substituenty v možných polohách. Jestliže počet substituentů je dva nebo více, tyto substituenty mohou být stejné nebo se mohou navzájem lišit.

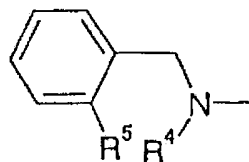
- 25 Mezi „alkylendioxykupinu s 1 až 4 atomy uhlíku“ tvořenou dvěma přilehlými skupinami R^3 patří například methylendioxykupina, ethylendioxykupina atd.

R^3 s výhodou znamená atom vodíku.

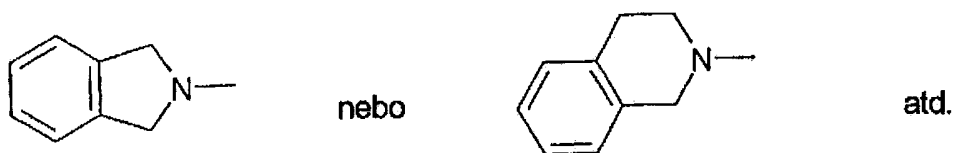
- 30 „Alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku“ pro symbol R^4 zahrnuje například alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku s přímým řetězcem (např. methylovou, ethylovou, propylovou, butylovou skupinu atd.), větvenou alkylovou skupinu se 3 až 4 atomy uhlíku (např. izopropylovou, izobutylovou, sek.butylovou, terc.butylovou skupinu atd.) a tak dále. Z nich je výhodná alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku. Výhodnější je methylová skupina.

- 35 „Alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována“ pro symbol R^6 znamená stejně jako je shora uvedeno u symbolu R^1 nebo R^2 pro „alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována“.

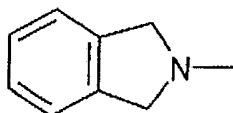
- 40 Mezi „heterocyklický kruh“ tvořený R^4 a R^5 patří například 5- nebo 6-členný atom dusíku obsahující heterocyklický kruh atd. Jestliže R^4 a R^5 vzaty společně tvoří příklady skupiny obecného vzorce



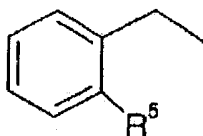
zahrnují skupinu vzorce



Z nich je výhodná skupina vzorce



R^6 s výhodou znamená skupinu obecného vzorce



5

v němž R^5 znamená jak shora uvedeno.

R^4 s výhodou znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a R^5 znamená atom vodíku.

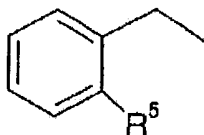
10 Symbol n s výhodou znamená číslo 1 nebo 2.

Mezi výhodné příklady sloučeniny obecného vzorce I patří sloučenina obecného vzorce Ia.

15 Výhodněji znamená sloučeninu nebo její sůl, v níž R^1 znamená hydroxylovou skupinu, methoxy-
skupinu nebo alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, R^2 znamená atom vodíku nebo alkylovou
skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, R^4 znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, R^6 znamená
benzylovou skupinu a n znamená číslo 0.

20 Výhodněji znamená sloučeninu nebo její sůl, v níž R_1 znamená alkoxykupinu s 1 až 3 atomy
uhlíku, R^2 i R^5 znamená atom vodíku, R^4 znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku,
 R^6 znamená benzylovou skupinu a n znamená číslo 0.

25 Výhodnější příklady sloučeniny obecného vzorce I zahrnují sloučeninu nebo její sůl, v níž
 R^1 znamená i) hydroxylovou skupinu, ii) alkoxykupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo iii) alkylovou
skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována hydroxylovou skupinu nebo alkyl-
karbonyloxyskupinu s alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, R^2 znamená atom vodíku,
alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkylkarbonyloxyskupinu s alkylovou skupinou
s 1 až 4 atomy uhlíku, R^3 znamená atom vodíku, atom halogenu, hydroxylovou skupinu nebo
alkoxyalkoxykupinu, kde alkoxykupina má vždy 1 až 4 atomy uhlíku, nebo dvě přilehlé
30 skupiny R^3 mohou společně tvořit alkylendioxykupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, R^4 znamená atom
vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, R^6 znamená alkoxyalkylovou skupinu, kde
alkylová i alkoxykupina mají 1 až 4 atomy uhlíku, nebo skupinu obecného vzorce



v němž R^5 znamená atom vodíku nebo R^4 a R^5 mohou společně tvořit 5- nebo 6-členný heterocyklický kruh, a n znamená číslo 0 nebo 1,

5 Jako sloučenina obecného vzorce I je zde konkrétně uveden 5-(N-benzyl-N-methylamino-methyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-methoxyureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion nebo jeho sůl,

10 5-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-hydroxyureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion nebo jeho sůl,

5-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-methylureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion nebo jeho sůl,

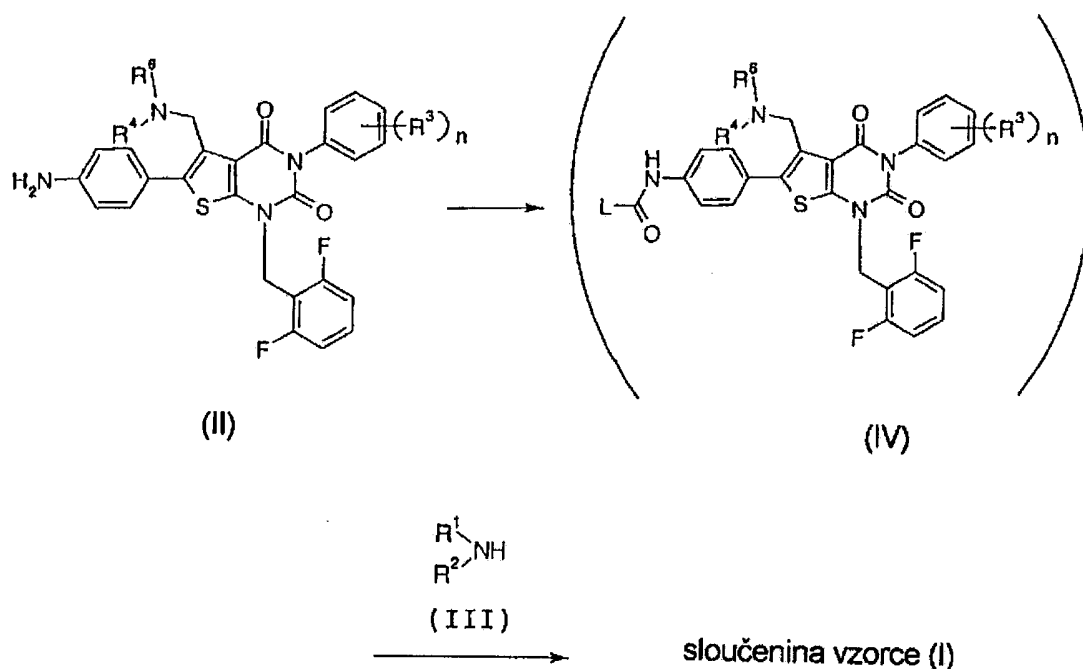
15 5-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-ethylureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion nebo jeho sůl a tak dále.

Z nich je výhodným 5-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-methoxyureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion nebo jeho sůl.

20 Soli sloučeniny obecného vzorce I s výhodou znamenají fyziologicky přijatelné adiční soli s kyselinami. Mezi tyto soli patří například soli s anorganickými kyselinami (např. kyselinou chlorovodíkovou, kyselinou bromovodíkovou, kyselinou dusičnou, kyselinou sírovou a kyselinou fosforečnou), soli s organickými kyselinami (např. s kyselinou mravenčí, kyselinou octovou, kyselinou trifluoroctovou, kyselinou fumarovou, kyselinou šťavelovou, kyselinou vinnou, kyseli-
25 nou maleinovou, kyselinou citrónovou, kyselinou jantarovou, kyselinou jablečnou, kyselinou methansulfonovou, kyselinou benzensulfonovou, kyselinou p-toluensulfonovou atd.) a tak dále. Jestliže sloučenina obecného vzorce I má kyselou skupinu, může tvořit fyziologicky přijatelnou sůl s anorganickou bází (např. alkalickými kovy a kovy alkalických zemin, jako je sodík, draslík, vápník a hořčík, a amoniakem) nebo organickou bází (např. trimethylaminem, triethylaminem,
30 pyridinem, pikolinem, ethanolaminem, diethanolaminem, triethanolaminem, docyklohexylaminem, N,N'-dibenzylethylendiaminem atd.).

35 Sloučenina obecného vzorce I se může vyrábět jakýmkoliv známým způsobem, například podle způsobu popsaného v japonském patentovém spisu A-9-169768, spisu WO 96/24597 nebo způsoby jim podobnými. Konkrétně jsou zde uvedeny následující způsob výroby 1 a způsob výroby 2. Mezi sloučeniny obecného vzorce II až VII popsaných v následujícím způsobu patří jejich soli. Pro jejich soli lze odkázat například na totéž, co bylo uvedeno o solích sloučeniny obecného vzorce I.

Způsob výroby 1



Ve shora uvedených vzorcích L znamená odcházející skupinu a další symboly znamenají jak shora uvedeno.

Mezi „odcházející skupinu“ pro symbol L patří například 1-imidazolylová skupina, atom halogenu, alkoxy skupina, která může být substituována, atd. „Mezi „alkoxy skupinu, která může být substituována“ patří například alkoxy skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována 1 až 3 atomy halogenu, jako je atom chloru, atom bromu atd. (např. 2,2,2-trichlorethoxy skupina atd.).

Sloučenina obecného vzorce II se může vyrábět způsoby popsány v japonském patentovém spisu A-9-169768 nebo analogickými způsoby.

Sloučenina obecného vzorce I se může vyrobit zreagováním sloučeniny obecného vzorce II s karbonyldiimidazolem (N,N'-karbonyldiimidazol, CDI) nebo fosgenem (monomerem, dimerem nebo trimerem). Získá se sloučenina obecného vzorce IV, která se pak nechá zreagovat se sloučeninou obecného vzorce III. Reakce se může provádět bez izolace sloučeniny obecného vzorce IV nebo se sloučenina obecného vzorce IV může pro další reakci použít ve vyčištěném stavu.

Sloučenina obecného vzorce IV se může vyrobit zreagováním sloučeniny obecného vzorce II například se sloučeninou esteru chlormravenčí kyseliny (např. 2,2,2-trichlorethylesterem kyseliny chlormravenčí, 1-chlorethylesterem kyseliny chlormravenčí atd.).

Při reakci sloučeniny obecného vzorce II s karbonyldiimidazolem nebo fosgenem atd. se karbonyldiimidazol nebo fosgen atd. používá v množství asi 1 až 3 moly vzhledem k jednomu molu sloučeniny obecného vzorce II.

Tato reakce se s výhodou provádí v rozpouštědle, který je inertní vůči reakci.

Mezi příklady rozpouštědel patří ethery (např. ethylether, dioxan, dimethoxyethan, tetrahydrofuran atd.), aromatické uhlovodíky (např. benzen, toluen atd.), amidy (např. dimethylformamid,

dimethylacetamid atd.), halogenované uhlovodíky (např. chloroform, dichlormethan atd.) a tak dále.

- 5 Reakční teplota je obvykle asi 0 až 150 °C, s výhodou teplota místnosti (asi 15 až 25 °C).
Reakční doba je obvykle asi 1 až 36 hodin.

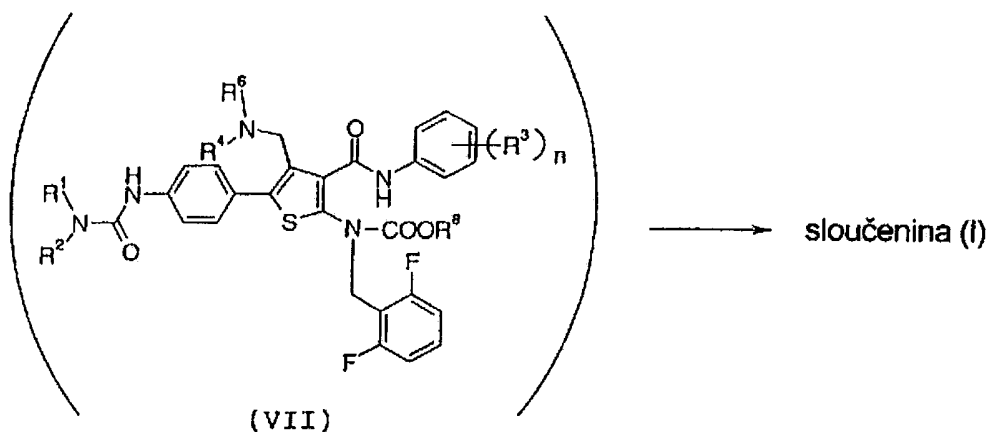
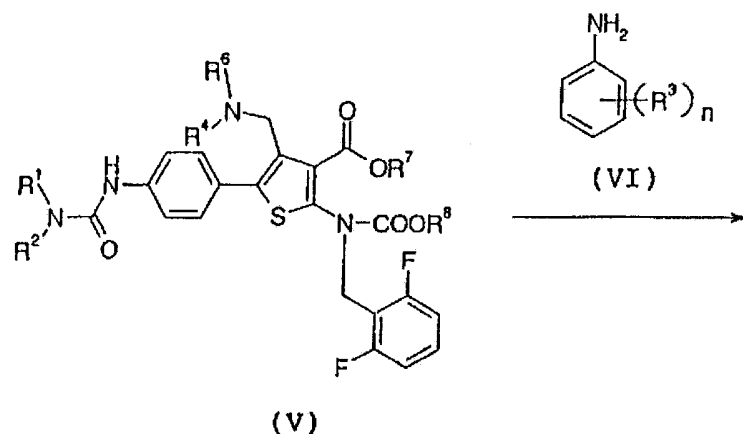
- 10 Tato reakce se provádí také v přítomnosti báze. Jako příklad „báze“ lze uvést anorganické báze, jako je uhličitán sodný, hydrogenuhličitán sodný, uhličitán draselný, hydrogenuhličitán draselný, hydroxid sodný, hydroxid draselný a hydroxid thalný, a organické báze, jako je triethylamin a pyridin atd.

Množství této „báze“ je asi 2 až 20 mol, s výhodou asi 5 až 12 mol, vzhledem k jednomu mol sloučeniny obecného vzorce II.

- 15 Následující reakce se sloučeninou obecného vzorce III se může provádět za stejných podmínek jako shora uvedená reakce sloučeniny obecného vzorce II s karbonyldiimidazolem nebo fosgenem. Množství sloučeniny obecného vzorce III je asi 2 až 20 mol, s výhodou asi 5 až 10 mol, vzhledem k jednomu mol sloučeniny obecného vzorce II nebo sloučeniny obecného vzorce IV.
20 Reakční teplota je obvykle asi 0 až 150 °C, s výhodou teplota místnosti (asi 15 až 25 °C).
Reakční doba je obvykle asi 1 až 6 hodin.

Sloučenina obecného vzorce III a karbonyldiimidazol nebo fosgen se mohou nechat zreagovat se sloučeninou obecného vzorce II ve stejné době.

Způsob výroby 2



Ve shora uvedených vzorcích R^7 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu, R^8 znamená alkylovou skupinu a další symboly znamenají jak shora uvedeno.

5

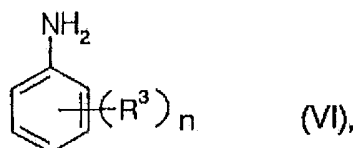
Mezi „alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku“ pro symboly R^7 nebo R^8 patří například „alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku“ z „alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována“ pro symboly R^1 nebo R^2 .

10

Sloučenina obecného vzorce V se může vyrábět jakýmkoliv známým způsobem, například se p-nitrofenylaceton nechá zreagovat s esterovou sloučeninou kyseliny kyanooctové a sírou (např. *Chem. Ber.* 1966, 99, 94 až 100.) a takto získaný 2-amino-4-methyl-5-(4-nitrofenyl)thiofen se podrobí způsobům popsaným v japonském patentovém spisu A-9-169768, ve spisu WO 96/24597 nebo jím podobným způsobům.

15

1) Jestliže R^7 znamená atom vodíku, sloučenina obecného vzorce I se může vyrobit zreagováním sloučeniny obecného vzorce V se sloučeninou obecného vzorce VI.



v němž každý symbol znamená jak shora uvedeno, nebo s její soli (zde dále někdy stručně označované jako sloučenina obecného vzorce VI), v přítomnosti kondenzačního činidla. Získá se sloučenina obecného vzorce VII, která se dále podrobí cyklizaci.

- 5 Mezi „kondenzační činidla“ patří například benzotriazol-1-yloxytripyrrolidino-fosfonium-hexa-fluorofosfát (PyBOP) atd.

Množství „kondenzačního činidla“ je asi 1 až 3 mol vzhledem k jednomu mol sloučeniny obecného vzorce V.

10

Tato reakce se s výhodou provádí v rozpouštědle, které je inertní vůči reakci.

- Mezi příklady rozpouštědel patří alkoholy (např. ethanol, methanol atd.), aromatické uhlovodíky (např. benzen, toluen atd.), amidy (např. dimethylformamid, dimethylacetamid atd.), halogenované uhlovodíky (např. chloroform, dichlormethan atd.) a tak dále.

15

Reakční teplota je obvykle asi 0 až 150 °C, s výhodou teplota místnosti (asi 15 až 25 °C). Reakční doba je obvykle asi 1 až 36 hodin.

- 20 Produkt vyrobený shora uvedeným způsobem se může použít v následující reakci jako surový v reakční směsi nebo se může obvyklým způsobem zreakční směsi izolovat.

Sloučenina obecného vzorce VII se podrobí cyklizaci v přítomnosti báze.

- 25 Jako příklady „báze“ lze uvést anorganické báze, jako je methoxid sodný, uhličitán sodný, hydrogenuhličitán sodný, uhličitán draselný, hydrogenuhličitán draselný, hydroxid sodný, hydroxid draselný a hydroxid thalný, a organická báze, jako je triethylamin a pyridin atd.

- Množství této „báze“ je asi 2 až 20 mol, s výhodou asi 5 až 12 mol, vzhledem k jednomu molu sloučeniny obecného vzorce VII.

30

Tato reakce se s výhodou provádí v rozpouštědle, které je inertní vůči reakci.

- Mezi příklady rozpouštědel patří alkoholy (např. ethanol, methanol atd.), aromatické uhlovodíky (např. benzen, toluen atd.), amidy (např. dimethylformamid, dimethylacetamid atd.), halogenované uhlovodíky (např. chloroform, dichlormethan atd.) a tak dále.

35

Reakční teplota je obvykle asi 0 až 150 °C, s výhodou teplota místnosti (asi 15 až 25 °C). Reakční doba je obvykle asi 1 až 36 hodin.

40

2) Jestliže R^7 znamená alkylovou skupinu, sloučenina obecného vzorce I se může vyrobit zreagováním sloučeniny obecného vzorce V s aktivovanou sloučeninou obecného vzorce VI.

- Aktivovaná sloučenina obecného vzorce VI se může vyrobit známým způsobem, například zreagováním organohlinitého reakčního činidla se sloučeninou obecného vzorce VI v rozpouštědle, které je vůči reakci inertní.

45

Mezi „organohlinité reakční činidlo“ patří například trimethylaluminium, dimethylaluminium-chlorid atd., roztoky, které je obsahují, atd.

50

Množství „organohlinitého reakčního činidla“ je asi 1 až 5 molů, s výhodou asi jeden mol, vzhledem k jednomu molu sloučeniny obecného vzorce VI.

- Mezi příklady rozpouštědel patří halogenované uhlovodíky (např. chloroform, dichlormethan atd.) a tak dále.

55

Reakční teplota je obvykle asi 0 až 150 °C, s výhodou teplota místnosti (asi 15 až 25 °C). Reakční doba je obvykle asi 1 až 6 hodin.

- 5 Cyklizace se může provádět zreagováním sloučeniny obecného vzorce V s aktivovanou sloučeninou obecného vzorce VI za vzniku sloučeniny obecného vzorce I.

Množství „sloučeniny obecného vzorce V“ je asi 1/5 objemu směsi sloučeniny obecného vzorce VI a organohlinitého reakčního činidla.

10

Tato reakce se s výhodou provádí v rozpouštědle, které je inertní vůči reakci.

Tato rozpouštědla jsou stejná jako ta, která se používají v reakci při získání aktivované sloučeniny obecného vzorce VI.

15

Reakční teplota je obvykle asi 0 až 150 °C, s výhodou teplota místnosti (asi 15 až 25 °C). Reakční doba je obvykle asi 1 až 48 hodin.

20

Sloučenina obecného vzorce I se může izolovat a vyčistit obvyklými prostředky dělení, jako je rekrystalizace, destilace a chromatografie atd.

25

Jestliže se sloučenina obecného vzorce I získává ve volné formě, může se převést na sůl známými způsoby nebo analogickými způsoby. Jestliže se sloučenina obecného vzorce I získává ve formě soli, může se převést na svoji volnou formu nebo na jinou sůl způsoby známými nebo způsoby jim podobnými.

Sloučenina obecného vzorce I může být hydrát nebo není hydrátem. Příklady hydrátu jsou monohydrát, seskvihydrát a dihydrát.

30

Jestliže se sloučenina obecného vzorce I získává jako směs opticky aktivních konfigurací, může se rozštěpit na (R)- a (S)-formy konvenčními způsoby optického rozštěpení.

Sloučenina obecného vzorce I může být označena izotopem (např. ^3H , ^{14}C , ^{35}S atd.).

35

Sloučenina obecného vzorce I podle předloženého vynálezu (zde dále také označovaná jako „sloučenina podle předloženého vynálezu“) má vynikající aktivitu antagonistizovat GnRH a nízkou toxicitu. Navíc má vynikající orální absorbovatelnost, trvanlivost působení, stabilitu a farmakokinetické vlastnosti. Dále se může snadno vyrábět. Sloučenina podle předloženého vynálezu se tedy může bezpečně používat u savců (např. člověka, opice, dobytka, koní, psů, koček, králíků, krys, myši atd.) pro předcházení a/nebo léčení onemocnění závislých na samčích nebo samičích hormonech, onemocnění díky nadbytku těchto hormonů atd., potlačení sekrece gonadotropinu jejím účinkem antagonistizovat receptor GnRH při regulování koncentrace pohlavních hormonů v plazmě.

40

45

Například sloučenina podle předloženého vynálezu je užitečná pro léčení a/nebo předcházení onemocnění závislých na pohlavních hormonech (např. rakoviny prostaty, rakoviny dělohy, rakoviny prsu, nádoru podvěsku mozkového atd.), hypertrofie prostaty, hysteromyomu, endometriózy, předčasné puberty, amenorey, premenstruačního syndromu, syndromu mnohomístného vaječníku, uhrů atd. Sloučenina podle předloženého vynálezu je užitečná také pro regulaci reprodukce u samců a samic (např. regulátory těhotenství, regulátory menstruačního cyklu atd.). Sloučenina podle předloženého vynálezu se může používat také jako antikoncepční činidlo u samců i samic nebo jako induktor ovulace u samic. Na základě jejího zpětnovazebního účinku po ukončeném podávání se sloučenina podle předloženého vynálezu může použít pro léčení neplodnosti.

55

Navíc sloučenina podle předloženého vynálezu je užitečná pro regulaci zvířecí říje, zlepšení kvality masa a pro podporu zvířecího růstu v oblasti hospodářských zvířat. Sloučenina podle předloženého vynálezu je užitečná také jako promotor tření ryb.

- 5 Sloučenina podle předloženého vynálezu se může používat také pro potlačování přechodného zvýšení koncentrace testosteronu v plazmě (jev červenání) pozorovanému při podávání super-agonisty GnRH, jako je leuprorelinacetát. Sloučenina podle předloženého vynálezu se může používat v kombinaci s GnRH superagonistou, jako je leuprorelinacetát, gonadrelin, buserelin, triptorelin, goserelin, nafarelin, histrelin, deslorelin, meterelin, lecorelin a tak dále.
10 Z nich je výhodný leuprorelinacetát.

- Je také příznivé, jestliže se sloučenina podle předloženého vynálezu používá společně (v kombinaci nebo postupně po sobě) s alespoň jedním členem vybraným ze steroidního nebo nesteroidního androgenového antagonisty nebo antiestrogenu, chemoterapeutického činidla, GnRH antagonistického peptidu, inhibitoru α -reduktázy, inhibitoru α -receptoru, inhibitoru aromatázy, inhibitoru 17 β -hydroxysteroidní dehydrogenázy, inhibitoru produkce adrenálního androgenů, inhibitoru proteinkinázy, léčiva pro hormonální terapii a léčiva antagonizujícího růstový faktor nebo jeho receptor, mimo jiné.

- 20 Mezi shora uvedené „chemoterapeutické činidlo“ patří ifosfamid, UTF, adriamycin, peplomycin, cisplatina, cyklofosfamid, 5-FU, UFT, methotrexát, mitomycin C, mitoxatron atd.

- Mezi shora uvedený „GnRH antagonistický peptid“ patří neorální GnRH antagonistické peptidy, jako je cetorelix, ganirelix, abarelix atd.

- 25 Mezi shora uvedený „inhibitor produkce adrenálního androgenů“ patří inhibitory lyasy (C_{17,20}-lyasy) atd.

- Mezi shora uvedený „inhibitor proteinkinázy“ patří inhibitor tyrosinkinázy atd.

- 30 Mezi „léčiva pro hormonální terapii“ patří, mimo jiné, antiestrogeny, progesterony (např. MPA atd.), androgeny, estrogeny a antagonisté androgenů.

- „Růstový faktor“ může znamenat jakoukoliv látku, která podporuje proliferaci buněk a obecně zahrnuje peptidy s molekulovými hmotnostmi ne nad 20 000, které vykazují účinek pro nízkých koncentracích navázáním na receptory. Specificky lze, mimo jiné, uvést 1) EGF (epidermální růstový faktor) nebo látky, které mají v podstatě stejnou aktivitu (např. EGF, heregulin (HER2 ligand) atd.), 2) inzulin nebo látky, které mají v podstatě stejnou aktivitu (např. inzulin, IGF (růstový faktor podobný inzulinu)-1, IGF-2 atd.), 3) FGF (fibroblastový růstový faktor) nebo
40 látky, které mají v podstatě stejnou aktivitu (aFGF, bFGF, KGF (keratinocytový růstový faktor), HGF (hepatocytový růstový faktor (FGF-10 atd.), a 4) další růstové faktory (např. CSF (faktor stimulující kolonie), EPO (erythropoietin), IL-2 (interleukin-2), NGF (nervový růstový faktor), PDGF (růstový faktor pocházející z destiček) a TGF β (transformující růstový faktor β) atd.).

- 45 Shora uvedený „receptor růstového faktoru“ může znamenat jakýkoliv receptor schopný navázat uvedený růstový faktor, zahrnující EGF receptor, heregulinový receptor (HER2), inzulinový receptor-1, inzulinový receptor-2, UGF receptor, FGF receptor-1, FGF receptor-2 atd.

- Mezi léčivo antagonizující uvedený růstový faktor, mimo jiné, patří herceptin (anti-HER2
50 receptorová protilátka).

Lze zde uvést, že mezi léčivo antagonizující uvedený růstový faktor nebo receptor růstového faktoru patří herbimycin, PD153035 (např. *Science* 1995, 265 (5175), 1093.) atd.

Mezi další skupinu léčiv antagonistických uvedený růstový faktor nebo receptor růstového faktoru patří HER2 antagonisté. HER2 antagonistista může znamenat jakoukoliv látku, která inhibuje aktivitu HER2 (např. fosforylační aktivitu), zahrnující tedy protilátku, nízkomolekulární sloučeninu (syntetickou nebo přírodní produkt), antimedátor, HER2 ligand, heregulin a jakoukoliv z nich s částečně modifikovanou nebo mutovanou strukturou. Navíc může znamenat látku, která inhibuje HER2 aktivitu antagonizováním HER2 receptoru (např. HER2 receptorovou protilátku). Mezi nízkomolekulární sloučeninu, která má aktivitu antagonizující HE2, patří například sloučeniny popsané ve spisu WO 98/03505, konkrétně 1-[3-[4-[2-((E)-2-fenylethenyl)-4-oxazolylmethoxy]fenyl]propyl]-1,2,4-triazol a tak dále.

U hypertrofie prostaty mezi příklady takové kombinace patří sloučenina podle předloženého vynálezu v kombinaci s GnRH super-agonistou, androgenovým antagonistou, antiestrogenem, GnRH antagonistickým peptidem, inhibitorem α -reduktázy, inhibitorem α -receptoru, inhibitorem aromatázy, inhibitorem 17 β -hydroxysteroidní dehydrogenázy, inhibitorem produkce adrenálního androgenu, inhibitorem fosforylázy a tak dále.

U rakoviny prostaty mezi příklady takové kombinace patří sloučenina podle předloženého vynálezu v kombinaci s GnRH super-agonistou, androgenovým antagonistou, antiestrogenem, chemoterapeutickým činidlem (např. ifosfamidem, UTF, adriamycinem, peplomycinem, cisplatinou atd.), GnRH antagonistickým peptidem, inhibitorem aromatázy, inhibitorem 17 β -hydroxysteroidní dehydrogenázy, inhibitorem produkce adrenálního androgenu, inhibitorem fosforylázy, léčivem pro hormonální terapii, jako jsou estrogény (např. DSB, EMP atd.), antagonistou androgenu (např. CMA atd.), léčivem antagonizujícím růstový faktor nebo jeho receptor a tak dále.

U rakoviny prsu mezi příklady takové kombinace patří sloučenina podle předloženého vynálezu v kombinaci s GnRH super-agonistou, chemoterapeutickým činidlem (např. cyklofosfamidem, 5-FU, UTF, methotrexátem, adriamycinem, mitomycinem, mitoxantronem atd.), GnRH antagonistickým peptidem, inhibitorem aromatázy, inhibitorem produkce adrenálního androgenu, inhibitorem fosforylázy, léčivem pro hormonální terapii, jako je antiestrogen (např. tamoxifen atd.), progesterony (např. MPA atd.), androgeny, estrogény atd., léčivem antagonizujícím růstový faktor nebo jeho receptor a tak dále.

Jestliže se sloučenina podle předloženého vynálezu používá jako profylaktické a/nebo terapeutické činidlo pro shora uvedená onemocnění nebo jestliže se používá v oblasti živočišného hospodářství nebo rybářství, může se podávat orálně nebo neorálně, jak je sestavena s farmaceuticky přijatelným nosičem, normálně ve formě pevných přípravků, jako jsou tablety, tobolky, granule a prášky pro orální podávání, nebo ve formě intravenózních, subkutánních, intramuskulárních nebo dalších injekcí, čípků nebo sublinguálních tablet pro neorální podávání. Může se podávat také sublinguálně, subkutánně, intramuskulárně nebo jinak ve formě přípravků sublinguálních tablet s trvalým uvolňováním, mikrotobolek atd. V závislosti na intenzitě příznaků, věku subjektu, pohlaví, hmotnosti a citlivost, podle trvání a intervalů podávání, podle vlastností, dodávání a druhu farmaceutického přípravku, podle druhu účinné složky atd. není denní dávka vystavena nějakým omezením. Při použití pro léčení shora uvedených rakovin závislých na pohlavních hormonech (např. rakoviny prostaty, rakoviny dělohy, rakoviny prsu, nádoru podvěsku mozkového atd.), hypertrofie prostaty, hysteromyomu, endometriózy, předčasné puberty atd. je denní dávka normálně asi 0,01 až 30 mg, s výhodou asi 0,02 až 10 mg, výhodněji 0,1 až 10 mg, zvláště výhodně 0,1 až 5 mg na kg hmotnosti savce, normálně v 1 až 4 rozdělených dávkách.

Shora uvedené dávky jsou aplikovatelné na použití sloučeniny podle předloženého vynálezu v oblasti živočišného hospodářství nebo v oblasti rybářství. Denní dávka je asi 0,01 až 30 mg, s výhodou 0,1 až 10 mg na kg hmotnosti daného organismu, normálně v 1 až 3 rozdělených dávkách.

Ve farmaceutickém prostředku podle předloženého vynálezu je množství sloučeniny obecného vzorce I 0,01 až 100 % hmotn. nebo podobně z celkové hmotnosti prostředku.

Shora uvedené farmaceuticky přijatelné nosiče znamenají různé organické nebo anorganické nosné látky, které se obvykle používají jako farmaceutické materiály, zahrnující excipients, mazadla, pojiva a dezintegrační činidla u pevných přípravků a rozpouštědla, pomocná činidla napomáhající rozpouštění, suspenzační činidla, izotonizující činidla, pufrý a uklidňující činidla u kapalných přípravků. Jestliže je to nutné, mohou se používat další farmaceutické přísady, jako jsou ochranná činidla, antioxidační činidla, barvicí činidla a sladící činidla.

Mezi výhodná excipients patří například laktóza, sacharóza, D-mannitol, škrob, krystalická celulóza a lehký oxid křemičitý. Mezi výhodná mazadla patří například stearat hořečnatý, stearat vápenatý, talek a koloidní oxid křemičitý. Mezi výhodná pojiva patří například krystalická celulóza, sacharóza, D-mannitol, dextrin, hydroxypropylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza a polyvinylpyrrolidon. Mezi výhodná dezintegrační činidla patří například škrob, karboxymethylcelulóza, vápenatá sůl karboxymethylcelulózy, sodná sůl zesíťované karmelózy a sodná sůl karboxymethylškrobu. Mezi výhodná rozpouštědla patří například voda pro injekci, alkohol, propylenglykol, makrogol, sezamový olej a kukuřičný olej. Mezi výhodná činidla napomáhající rozpouštění patří například polyethylenglykol, propylenglykol, D-mannitol, benzylbenzoát, ethanol, trisaminomethan, cholesterol, triethanolamin, uhličitán sodný a citrát sodný. Mezi výhodná suspenzační činidla patří například povrchově aktivní činidla, jako je stearyltriethanolamin, laurylsulfát sodný, laurylaminopropionová kyselina, lecithin, benzalkoniumchlorid, benzenoniumchlorid a monostearyl-glycerol, a hydrofilní polymery, jako je polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon, sodná sůl karboxymethylcelulózy, methylcelulóza, hydroxymethylcelulóza, hydroxyethylcelulóza a hydropropylcelulóza. Mezi výhodná izotonizující činidla patří například chlorid sodný, glycerol a D-mannitol. Mezi výhodné pufrý patří například pufrovací roztoků fosforečnanů, octanů, uhličitánů, citrátů atd. Mezi výhodná uklidňující činidla patří například benzylalkohol. Mezi výhodná ochranná činidla patří například estery paraoxybenzoové kyseliny, chlorbutanol, benzylalkohol, fenethylalkohol, dehydrooctová kyselina a kyselina sorbová. Mezi výhodná antioxidační činidla patří například siřičitany a kyselina askorbová.

Přidáním suspenzačních činidel, činidel napomáhajících rozpouštění, stabilizátorů, izotonizujících činidel, ochranných činidel a tak dále, se může sloučenina podle předloženého vynálezu připravovat jako intravenózní, subkutánní nebo intramuskulární injekce obvykle známým způsobem. V takových případech se sloučenina podle předloženého vynálezu může vysušit vymražením, podle nutnosti, obvykle známým způsobem. Při podávání lidem se sloučenina podle předloženého vynálezu může například bezpečně podávat orálně nebo neorálně jako taková nebo jako farmaceutický prostředek vyrobený jejím smícháním s farmakologicky přijatelným nosičem, excipients a ředidlem, vybranými podle vhodnosti.

Mezi takové farmaceutické prostředky patří orální přípravky (např. prášky, granule, tobolky, tablety), injekce, kapací infuze, vnější přípravky (např. nosní přípravky a transdermální přípravky) a čípky (např. rektální čípky a vaginální čípky).

Tyto přípravky se mohou vyrábět obvykle známými způsoby v obvyklém použití při způsobech výroby farmaceutických prostředků.

Injekce se může vyrobit například připravením sloučeniny podle předloženého vynálezu jako vodná injekce spolu s dispergačním činidlem (např. Tweenem 80, vyráběným Atlas Powder Company, USA, HCO 60, vyráběným Nikko Chemicals Co., Ltd., polyethylenglykolem, karboxymethylcelulózą a alginátem sodným), ochranným činidlem (např. methylparabenem, propylparabenem a benzylparabenem), izotonizujícím činidlem (např. chloridem sodným, mannitolem, sorbitolem a glukózou) a dalšími přísadami, nebo jako olejová injekce v roztoku, suspenze nebo emulze v rostlinném oleji, jako je olivový olej, sezamový olej, bavlníkový olej nebo kukuřičný olej, propylenglykol nebo podobně.

Orální přípravek se může vyrábět sestavováním sloučeniny podle předloženého vynálezu obvykle známým způsobem po přidání excipients (např. laktózy, sacharózy, škrobu), dezintegračního činidla (např. škrobu a uhličitanu vápenatého), pojiva (např. škrobu, arabské gumy, karboxymethylcelulózy, polyvinylpyrrolidonu a hydroxypropylcelulózy), mazadla (např. talku, stearátu hořečnatého, polyethylenglykolu 6000) a dalších přísad, a jestliže je to nutné, potažením sestaveného produktu pro účel maskování chutě, enterického rozpouštění nebo trvalého uvolňování obecně známým způsobem. Mezi potahovací činidla pro tento účel patří například hydroxypropylmethylcelulóza, ethylcelulóza, hydroxymethylcelulóza, hydroxypropylcelulóza, polyoxyethylenglykol, Tween 80, Prulonic F68, acetátftalát celulózy, ftalát hydroxypropylmethylcelulózy, acetátsukcinát hydroxymethylcelulózy, Eudragit (vyráběný Rohm Company, Německo; 5 kopolymer methakrylová kyselina/akrylová kyselina) a barviva (např. oxid železitý a oxid titaničitý). Pro enterický přípravek se obecně známým způsobem mezi enterickou fází a fází obsahující léčivo může vložit mezifáze, která tyto dvě fáze oddělí.

Přípravek pro vnější použití se může vyrobit tak, že se sloučenina podle předloženého vynálezu připraví jako pevný, polopevný nebo kapalný prostředek obvykle známým způsobem. Tak pevný prostředek se vyrobí například rozpráškovaním sloučeniny podle předloženého vynálezu jako takové nebo ve směsi s excipients (např. glykolem, mannitolem, škrobem a/nebo mikrokrystalic- 15 kovou celulózu), zahušťujícím činidlem (např. přírodním kaučukem, celulózovým derivátem, polymerem kyseliny akrylové) a dalšími přísadami. Kapalný prostředek se vyrobí tak, že se připraví sloučenina podle předloženého vynálezu jako olejová nebo vodná suspenze téměř stejným způsobem jako u injekce. Polopevný prostředek se s výhodou připraví jako vodný nebo olejovitý gel nebo jako mast. Všechny tyto prostředky mohou obsahovat regulátory pH (např. kyselinu uhličitou, kyselinu fosforečnou, kyselinu citrónovou, kyselinu chlorovodíkovou nebo 20 hydroxid sodný), ochranná činidla (např. estery paraoxybenzoové kyseliny, chlorbutanol, benzalkoniumchlorid) a další přísady.

Čípek se vyrobí tak, že se připraví sloučenina podle předloženého vynálezu jako olejovitý nebo vodný pevný, polotuhý nebo kapalný prostředek obecně známým způsobem. Mezi užitečné 30 olejovité základy takových prostředků patří glyceridy vyšších mastných kyselin (např. kakaové máslo, uitepsoly vyráběné Dynamite Nobel Company, Německo), střední mastné kyseliny (např. MIGLYOL vyráběný Dynamite Nobel Company, Německo) a rostlinné oleje (např. sezamový olej, sojový olej a bavlníkový olej). Mezi vodné základy patří například polyethylenglykoly a propylenglykol. Mezi základy pro vodné gely patří například přírodní kaučuky, celulózové 35 deriváty, vinylové polymer a polymery kyseliny akrylové.

Nejlepší způsob provedení vynálezu

Předložený vynález je zde dále popsán podrobněji pomocí, ale bez omezení na ně, následujících 40 referenčních příkladů, příklad, comparačních příkladů a experimentálních příkladů.

¹H-NMR spektra jsou změřena s tetramethylsilanem jako vnitřním standardem použitím spektrometru Varian GEMINI 200 (200 MHz), spektrometru JEOL LAMBDA 300 (300 MHz) nebo spektrometru Bruker AM500 (500 MHz); všechny hodnoty δ jsou uvedeny v ppm. Pokud není 45 jinak uvedeno, „%“ znamenají % hmotnostní. Výtěžek je uveden v % molárních.

Další symboly, které jsou zde použity, mají následující významy:

s:	singlet
50 d:	dublet
t:	triplet
dt:	dublet tripletu
m:	multiplet
br:	široký
55 TFA:	kyselina trifluoroctová

THF: tetrahydrofuran
 Me: methyl
 Et: ethyl

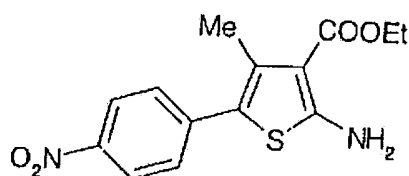
- 5 Pojem „teplota místnosti“ znamená rozsah od asi 15 do 25 °C, ale není konstruován jako striktně omezující.

Příklady provedení vynálezu

10

Referenční příklad 1

Ethylester 2-amino-4-methyl-5-(4-nitrofenyl)thiofen-3-karboxylové kyseliny



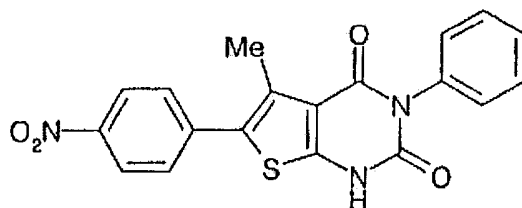
15

Směs 4-nitrofenylacetonu (35,0 g, 195 mmol), ethylesteru kyanooctové kyseliny (23,8 g, 195 mmol), octanu amonného (3,1 g, 40 mmol) a kyseliny octové (9,1 ml, 159 mmol) se zahřívá 24 hodin pod zpětným chladičem, přičemž se současně Dean-Starkovým zachycovačem odstraňuje voda vznikající při reakci. Po ochlazení se reakční směs zahustí za sníženého tlaku a zbytek se roztřepe mezi dichlormethan a vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Organický extrakt se promyje vodným roztokem chloridu sodného, vysuší se (MgSO₄) a rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak olejovitá sloučenina. Takto získaný olej se rozpustí v ethanolu, následuje přidání síry (5,0 g, 160 mmol) a diethylaminu (16,0 ml, 160 mmol) a směs se míchá 2 hodiny při 60 až 70 °C. Po ochlazení se reakční směs zahustí za sníženého tlaku. Získá se tak zbytek, který se roztřepe mezi dichlormethan a vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Organický extrakt se promyje vodným roztokem chloridu sodného, vysuší se (MgSO₄) a rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak surový produkt, který se překrystaluje ze směsi ether-hexan. Získá se tak tituliná sloučenina jako červené destičky (22,2 g, 52 %). T.t. 168 až 170 °C (rekrytalizace ze směsi ether-hexan). Pro C₁₄H₁₄N₂O₄S vypočteno: 54,89 % C, 4,61 % H, 9,14 % N, nalezeno: 54,83 % C, 4,90 % H, 9,09 % N. ¹H-NMR spektrum (200 MHz, CDCl₃, δ): 1,39 (3 H, t, J = 7,1 Hz), 2,40 (3 H, s), 4,34 (2 H, q, J = 7,1 Hz), 6,27 (2 H, br), 7,48 (2 H, d, J = 8,7 Hz), 8,23 (2 H, d, J = 8,7 Hz). IČ spektrum (KBr): 3446, 3324, 1667, 1580, 1545, 1506, 1491, 1475, 1410 a 1332 cm⁻¹.

35

Referenční příklad 2

5-Methyl-6-(4-nitrofenyl-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion

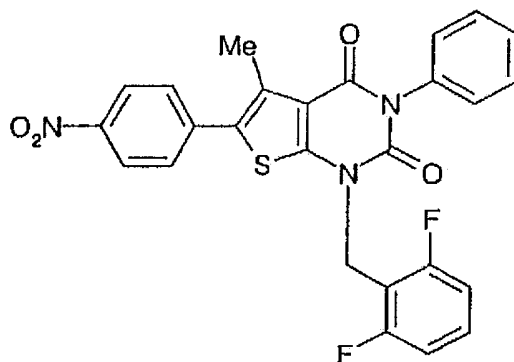


40

K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 1 (5,00 g, 16,32 mmol) v pyridinu (30 ml) se přidá fenylozokyanát (2,66 ml, 24,48 mmol). Po 6 hodinách míchání při 45 °C se reakční směs zahustí za sníženého tlaku a zbytek se rozpustí v ethanolu (6 ml). K tomuto roztoku se přidá 28% methoxid sodný (7,86 g, 40,80 mmol) a směs se míchá 2 hodiny za teploty místnosti. Přidá se 2N kyselina chlorovodíková (25 ml, 50 mmol) a ethanolové rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zfiltruje, promyje se směsí vody s ethanolem, vysuší se ve vakuu a překrystaluje se z ethanolu. Získá se tak tituliná sloučenina jako žlutý prášek (6,09 g, 98 %). T.t. vyšší než 300 °C. Pro $C_{19}H_{13}N_3O_4S \cdot 0,3 H_2O$ vypočteno: 59,30 % C, 3,56 % H, 10,92 % N, nalezeno: 59,56 % C, 3,52 % H, 10,93 % N. 1H -NMR spektrum (300 MHz, DMSO- d_6 , δ): 2,50 (3 H, s), 7,31 až 7,46 (5 H, m), 7,78 (2 H, d, $J = 8,8$ Hz), 8,32 (2 H, d, $J = 8,8$ Hz), 12,50 (1 H, s). IČ spektrum (KBr): 1715, 1657, 1593 a 1510 cm^{-1} .

Referenční příklad 3

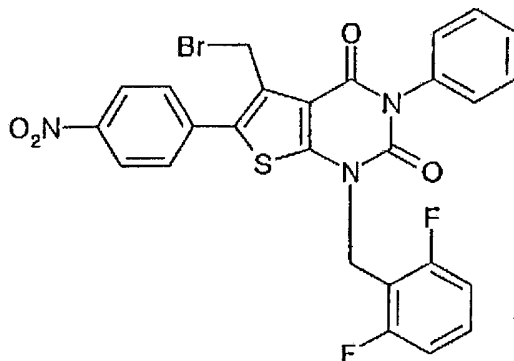
1-(2,6-Difluorbenzyl)-5-methyl-6-(4-nitrofenyl)-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4-(1H,-3H)-dion



K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 2 (52,54 g, 0,131 mmol) v N,N-dimethylformamidu (1,0 l) se přidá uhličitan draselný (19,00 g, 0,138 mol), jodid draselný (22,90 g, 0,138 mol) a 2,6-difluorbenzylchlorid (22,40 g, 0,138 mol) a směs se míchá dvě hodiny za teploty místnosti. Tato reakční směs se zahustí za sníženého tlaku. Získá se tak zbytek, který se roztřepe mezichloroform a vodný roztok chloridu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem. Spojené extrakty se promyjí vodným roztokem chloridu sodného, vysuší se ($MgSO_4$) a rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak tituliná sloučenina jako světležluté krystalky (61,5 g, 93 %). T.t. 280 až 282 °C. Pro $C_{26}H_{17}N_3O_4SF_2$ vypočteno: 61,78 % C, 3,39 % H, 8,31 % N, nalezeno: 61,67 % C, 3,46 % H, 8,21 % N. 1H -NMR spektrum (300 MHz, $CDCl_3$, δ): 2,57 (3 H, s), 5,38 (2 H, s), 6,94 (2 H, d, $J = 8,1$ Hz), 7,42 až 7,58 (8 H, m), 8,29 (2 H, d, $J = 8,8$ Hz). IČ spektrum (KBr): 1719, 1669, 1524 a 1473 cm^{-1} .

Referenční příklad 4

B-Brommethyl-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-(4-nitrofenyl)-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4-(1H,3H)-dion



5

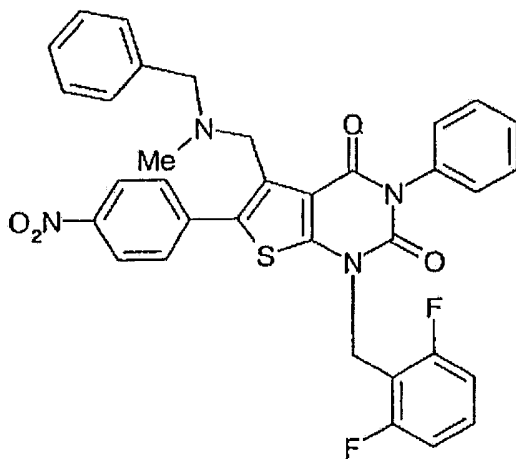
Směs sloučeniny získané v referenčním příkladu 3 (30,34 g, 0,060 mmol), N-bromsukcinimidu (12,81 g, 0,072 mol), α,α' -azobisisobutyronitrilu (1,15 g, 0,007 mol) a chlorbenzen (450 ml) se míchá 3 hodiny při 85 °C. Po ochlazení se reakční směs promyje vodným roztokem chloridu sodného, vysuší se (MgSO_4) a rozpouštědlo se pak za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se překrystaluje z ethylacetátu. Získá se tak titulóvní sloučenina jako žluté jehličky (80,21 g, 100 %). T.t. 228 až 229 °C. ^1H -NMR spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ): 4,77 (2 H, s), 5,38 (2 H, s), 6,96 (2 H, t, $J = 8,1$ Hz), 7,29 až 7,58 (6 H, m), 7,79 (2 H, d, $J = 8,5$ Hz), 8,35 (2 H, d, $J = 8,5$ Hz). IČ spektrum (KBr): 1721, 1680, 1524, 1473 a 1348 cm^{-1} . Hmotnostní spektrum (FAB): m/z 584 (MH^+).

15

Referenční příklad 5

5-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-(4-nitrofenyl)-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4-(1H,3H)-dion

20



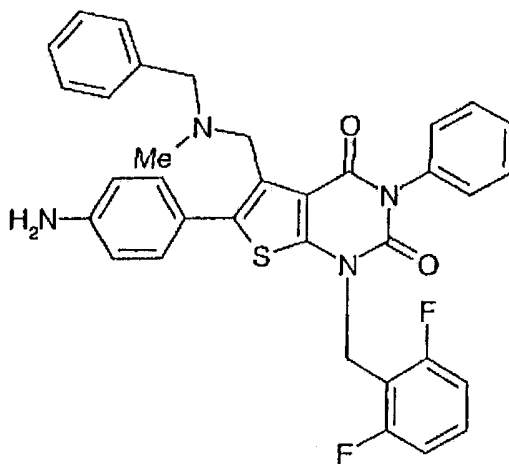
K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 4 (80,00 g, 0,119 mmol) v N,N-dimethylformamidu (600 ml) se přidá ethyldiizopropylamin (27,00 ml, 0,155 mol) a benzylmethylamin (18,45 ml, 0,143 mol) za chlazení ledem. Po dvou hodinách míchání za teploty místnosti se reakční směs zahustí a zbytek se roztřepe mezi ethylacetát a nasycený vodný roztok hydrogenuhlíčitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem. Organické extrakty se spojí, vysuší

25

- se (MgSO_4) a rozpouštědlo se pak za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se žlutý olej (74,90 g, 100 %), který se překrystaluje z ethylacetátu. Získá se tak titulní sloučenina jako žluté jehličky. T.t. 173 až 174 °C. Pro $\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4\text{SF}_2 \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 64,45 % C, 4,29 % H, 8,84 % N, nalezeno: 64,50 % C, 4,24 % H, 8,82 % N. $^1\text{H-NMR}$ spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ , volný amin): 1,31 (3H, s), 3,60 (2 H, s), 3,96 (2 H, s), 5,39 (2 H, s), 6,95 (2 H, t, $J = 8,2 \text{ Hz}$), 7,18 až 7,55 (11 H, m), 8,02 (2 H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$), 8,26 (2 H, d, $J = 9,0 \text{ Hz}$). IČ spektrum (KBr) [hydrochlorid]: 1719, 1678, 1597 a 1520 cm^{-1} .

10 Referenční příklad 6

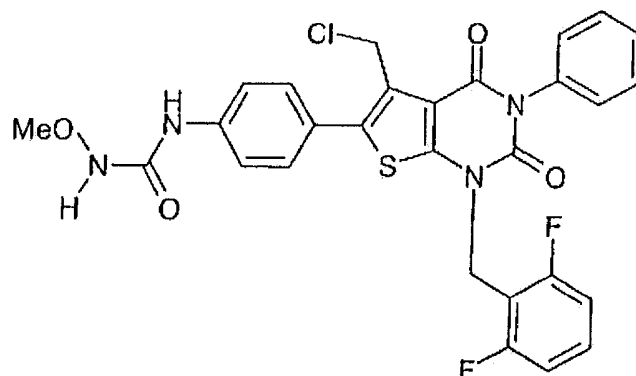
6-(4-Aminofenyl)-5-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-3-fenylthieno-[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



- 15 K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 5 (3,00 g, 4,80 mmol) v kyselině mravenčí (30 ml) se přidá 1M roztok kyseliny chlorovodíkové v etheru (14,4 ml, 14,4 mmol) a 10% paladium na uhlí (300 mg) za chlazení ledem. Hydrogenace se provádí za atmosférických podmínek, za teploty místnosti a za konstantního míchání po dobu dvou hodin. Tato reakční směs se zfiltruje Celitem a filtrát se za sníženého tlaku zahustí. Zbytek se roztřepe mezi dichlormethanem a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje dichlormethanem, organické extrakty se spojí a vysuší (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak titulní sloučenina jako bílé krystalky (2,41 g, 84 %). T.t. 205 až 207 °C. Pro $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_2\text{SF}_2 \cdot 0,1 \text{ AcOEt} \cdot 1,2 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 66,09 % C, 5,03 % H, 8,96 % N, nalezeno: 66,93 % C, 4,94 % H, 8,67 % N. $^1\text{H-NMR}$ spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ): 2,05 (3H, s), 3,56 (2 H, s), 3,83 (2 H, br), 3,88 (2 H, s), 5,36 (2 H, s), 6,70 (2 H, t, $J = 8,8 \text{ Hz}$), 6,88 až 6,94 (2 H, m), 7,21 až 7,31 (8 H, m), 7,41 až 7,53 (5 H, m). IČ spektrum (KBr): 1715, 1657, 1628 a 1537 cm^{-1} .

Referenční příklad 7

5-Chlormethyl-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-methoxyureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]-pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



5

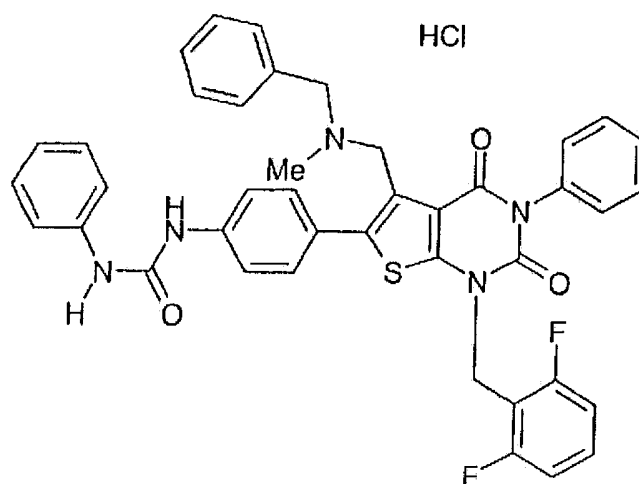
- K roztoku sloučeniny popsané níže v příkladu 1 (2,00 g, 3,00 mmol) v tetrahydrofuranu (90 ml) se při -78°C přidá 1-chlorethylester chlormravenčí kyseliny (0,42 ml, 3,89 mmol). Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a směs se míchá dvě hodiny. Tato reakční směs se roztřepe mezi chloroform a vodný roztok chloridu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem. Extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak titulní sloučenina jako bílý prášek (1,68 g, 96 %). T.t. 217 až 219°C . $^1\text{H-NMR}$ spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ): 3,83 (3H, s), 4,84 (2 H, s), 5,37 (2 H, s), 6,94 (2 H, t, $J = 8,2$ Hz), 7,15 (1 H, s), 7,28 až 7,65 (11 H, m). IČ spektrum (KBr): 1717, 1628, 1541, 1508 a 1473 cm^{-1} . Hmotnostní spektrum (FAB, m/z): 583 (MH^+).

15

Referenční příklad 8

- 20 Použitím sloučeniny získané v referenčním příkladu 6 jako výchozí materiál se stejným způsobem jako v níže popsaných příkladech 1 a 2 získají sloučeniny referenčního příkladu č. 8-1 až 9-3.

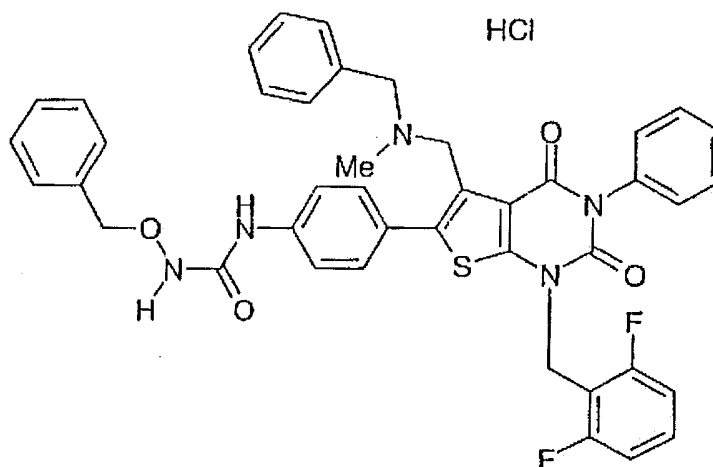
Sloučenina z referenčního příkladu č. 8-1



25

Výtěžek 64 %. T.t. 190 až 194°C .

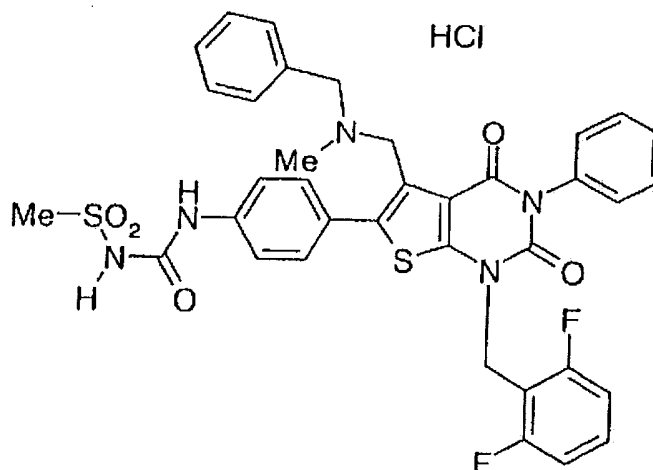
Sloučenina z referenčního příkladu č. 8-2



Výtěžek 91 %. T.t. 210 až 215 °C.

5

Sloučenina z referenčního příkladu č. 8-3

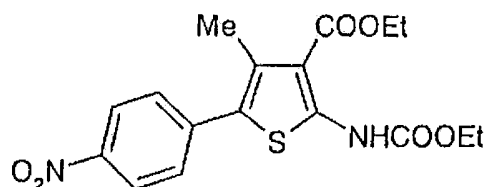


Výtěžek 82 %. T.t. 254 až 257 °C.

10

Referenční příklad 9

Ethylester 2-ethoxykarbonylamino-4-methyl-5-(4-nitrofenyl)thiofen-3-karboxylové kyseliny



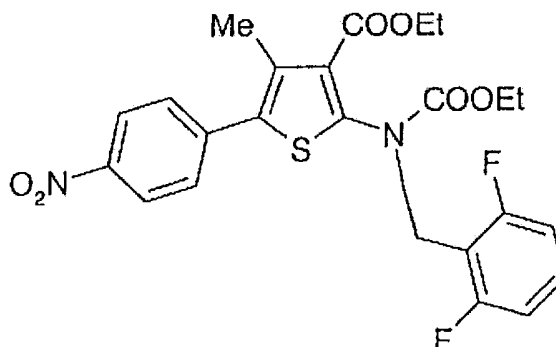
15

Sloučenina získaná v referenčním příkladu 1 (500 mg, 1,63 mmol) se rozpustí v toluenu (9 ml). Následuje přidání ethylesteru kyseliny chlormravenčí (0,19 ml, 1,96 mmol). Směs se zahřívá pod zpětným chladičem 5 hodin. Po ochlazení se reakční směs zahustí za sníženého tlaku. Zbytek se

zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak titulní sloučenina jako žlutý prášek (90 mg, 79 %). T.t. 130 až 131 °C (po rekrystalizaci ze směsi ethylacetát–hexan). ^1H -NMR spektrum (200 MHz, CDCl_3 , δ): 1,35 (3 H, t, $J = 7,1$ Hz), 1,42 (3 H, t, $J = 7,2$ Hz), 2,42 (3 H, s), 4,31 (2 H, q, $J = 7,1$ Hz), 4,39 (2 H, q, $J = 7,2$ Hz), 7,59 (2 H, d, $J = 9,0$ Hz), 8,27 (2 H, d, $J = 9,0$ Hz), 10,66 (1 H, s). IČ spektrum (KBr): 1740, 1665, 1597, 1557, 1553, 1516, 1352 a 1257 cm^{-1} .

Referenční příklad 10

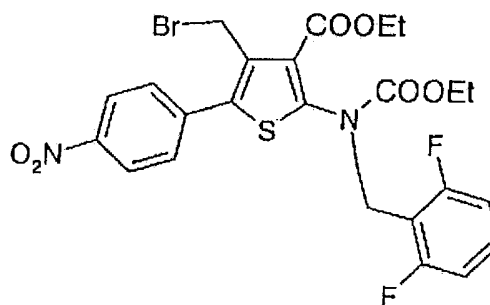
- 10 Ethylester 2-[N-(2,6-difluorbenzyl)-N-ethoxykarbonylamino]-4-methyl-5-(4-nitrofenyl)thiofen-3-karboxylové kyseliny



K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 9 (490 mg, 1,30 mol) v N,N -dimethylformamidu (20 ml) se přidá uhličitán draselný (196 mg, 1,42 mol), jodid draselný (236 mg, 1,42 mol) a 2,6-difluorbenzylchlorid (232 mg, 1,42 mmol). Směs se míchá za teploty místnosti 5 hodin. Tato reakční směs se zahustí a zbytek se roztřepe mezi chloroform a vodný roztok chloridu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem. Organické extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se amorfní prášek, který se překrystaluje z methanolu. Získá se tak titulní sloučenina jako žluté práškovité krystaly (520 mg, 79 %). T.t. 91 až 92 °C. ^1H -NMR spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ): 1,15 až 1,35 (6 H, m), 2,40 (3 H, s), 4,15 až 4,29 (4 H, m), 4,97 (2H, s), 6,86 (2 H, t, $J = 7,8$ Hz), 7,25 až 7,32 (1 H, m), 7,51 (2H, d, $J = 8,8$ Hz), 8,25 (2 H, d). IČ spektrum (KBr): 1717, 1597, 1524, 1475, 1392 a 1348 cm^{-1} .

Referenční příklad 11

- 30 Ethylester 4-brommethyl-2-[N-(2,6-difluorbenzyl)-N-ethoxykarbonylamino]-5-(4-nitrofenyl)thiofen-3-karboxylové kyseliny

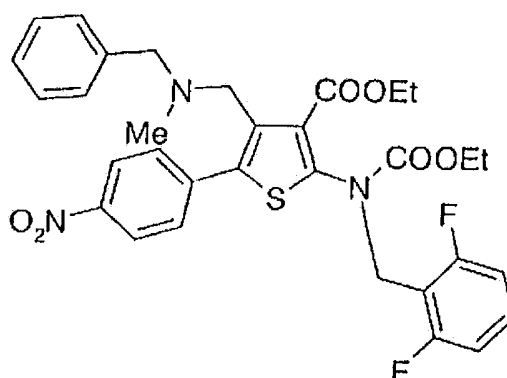


Směs sloučeniny získané v referenčním příkladu 10 (20 g, 39,64 mol), N -bromsukcinimidu (7,76 g, 43,60 mol), α,α' -azobisisobutyronitrilu (0,72 g, 4,36 mol) a tetrachlormethanu (300 ml) se míchá dvě hodiny při 100 °C. Po ochlazení se reakční směs promyje vodným roztokem

chloridu sodného, vysuší (MgSO_4) a rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak titulní sloučenina jako amorfní prášek (23 g, 100 %). T.t. 105 až 108 °C. ^1H -NMR spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ): 1,15 až 1,39 (6 H, m), 4,09 až 4,39 (4 H, m), 4,71 (2 H, s), 4,99 (2 H, s), 6,86 (2 H, t, $J = 7,8$ Hz), 7,22 až 7,32 (1 H, m), 7,72 (2 H, d, $J = 8,0$ Hz), 8,32 (2 H, d, $J = 8,0$ Hz). IČ spektrum (KBr): 1725, 1628, 1522, 1475, 1379 a 1348 cm^{-1} . Hmotnostní spektrum (FAB): m/z 582 (MH^+).

Referenční příklad 12

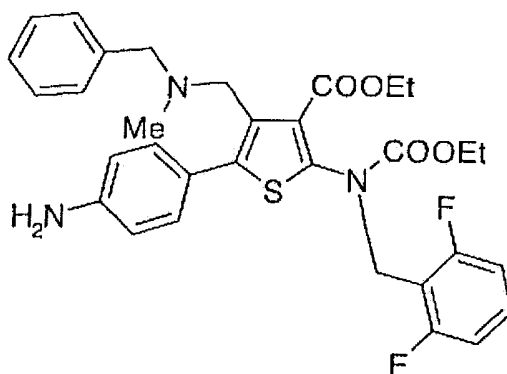
Ethylester 4-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-2-[N-(2,6-difluorbenzyl)-N-ethoxykarbonylamino]-5-(4-nitrofenyl)thiofen-3-karboxylové kyseliny



K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 11 (2,0 g, 3,43 mmol) v N,N-dimethylformamidu (20 ml) se přidá ethyldiizopropylamin (0,90 ml, 5,15 mmol) a benzylmethylamin (0,53 ml, 4,11 mmol) za chlazení ledem. Směs se míchá za teploty místnosti 3 hodiny. Tato reakční směs zahustí a zbytek se roztřepe mezi ethylacetát a nasycený vodný roztok hydrogenuhlíčitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem. Organické extrakty se spojí, vysuší se (MgSO_4) a rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se titulní sloučenina jako žlutý olej (2,1 g, 48 %). ^1H -NMR spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ): 1,18 až 1,44 (6 H, m), 1,95 (3 H, s), 3,27 (2 H, s), 3,70 (2 H, s), 4,20 až 4,43 (4H, m), 5,03 (2 H, s), 6,80 (2 H, t, $J = 7,8$ Hz), 7,10 až 7,27 (6 H, m), 7,52 (2 H, d, $J = 8,0$ Hz), 8,24 (2 H, d, $J = 8,0$ Hz). IČ spektrum (KBr): 1719, 1628, 1597, 1522, 1473, 1402, 1377 a 1348 cm^{-1} .

Referenční příklad 13

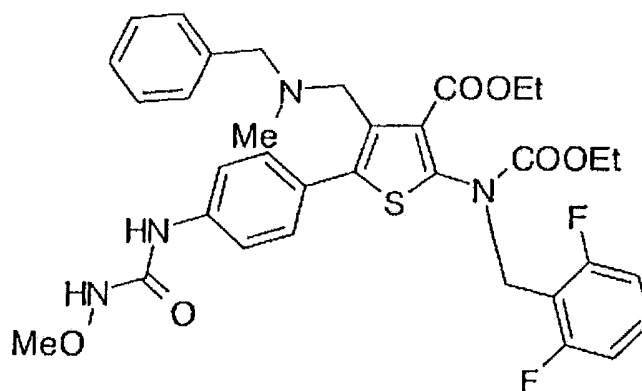
Ethylester 5-(4-aminofenyl)-4-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-2-[N-(2,6-difluorbenzyl)-N-ethoxykarbonylamino]thiofen-3-karboxylové kyseliny



K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 12 (10,0 g, 16,03 mmol) v kyselině mravenčí (100 ml) se přidá 1M roztok kyseliny chlorovodíkové v etheru (48 ml, 48 mmol) a 10% paladium na uhlí (1000 mg) za chlazení ledem. Hydrogenace se provádí za atmosférických podmínek a za teploty místnosti po dobu pěti hodin. Tato reakční směs se zfiltruje Celitem a filtrát se za sníženého tlaku zahustí. Zbytek se roztřepe mezi dichlormethan a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje dichlormethanem, organické vrstvy se spojí a vysuší (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak titulní sloučenina jako bílý amorfni prášek (7,9 g, 84 %). $^1\text{H-NMR}$ spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ): 1,15 až 1,31 (6 H, m), 1,90 (3 H, s), 3,21 (2 H, s), 3,65 (2 H, s), 3,79 (2 H, s), 4,09 až 4,24 (4 H, m), 5,01 (2 H, s), 6,67 až 6,80 (4 H, m), 7,12 až 7,26 (8 H, m). IČ spektrum (KBr): 1717, 1628, 1493, 1406 a 1379 cm^{-1} .

Referenční příklad 14

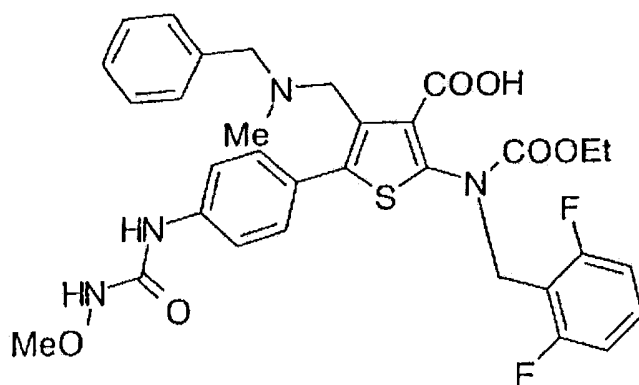
Ethylester 4-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-2-[N-(2,6-difluorbenzyl)-N-ethoxykarbonylamino]-5-[4-(3-methoxyureido)fenyl]thiofen-3-karboxylové kyseliny



K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 13 (0,9 g, 1,52 mmol) v dichlormethanu (20 ml) se za chlazení ledem přidá triethylamin (0,43 ml, 3,09 mmol). K tomuto roztoku se přidá N,N'-karbonyldiimidazol (0,492 g, 3,03 mmol) za chlazení ledem a směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 48 hodin. Reakční směs se opět ochladí ledem a přidá se hydrochlorid O-methylhydroxylaminu (1,27 g, 15,2 mmol), triethylamin (2,2 ml, 15,8 mmol) a dichlormethan (5 ml). Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se tři hodiny. Tato reakční směs se roztřepe mezi chloroform a vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem. Organické extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak titulní sloučenina jako světležlutý amorfni prášek (0,93 g, 92 %). $^1\text{H-NMR}$ spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ): 1,16 (3 H, br s), 1,29 (3 H, t, $J = 7,1$ Hz), 1,91 (3 H, s), 3,22 (2 H, s), 3,67 (2 H, s), 3,82 (3 H, s), 4,17 (2 H, br s), 4,21 (2 H, d, $J = 7,1$ Hz), 5,02 (2 H, s), 6,78 (2 H, t, $J = 7,8$ Hz), 7,12 až 7,32 (6 H, m), 7,40 (2 H, d, $J = 8,6$ Hz), 7,53 (2 H, d, $J = 8,6$ Hz), 7,62 (1 H, s). IČ spektrum (KBr): 3300, 2982, 1719, 1628, 1591, 1528, 1473 a 1408 cm^{-1} .

Referenční příklad 15

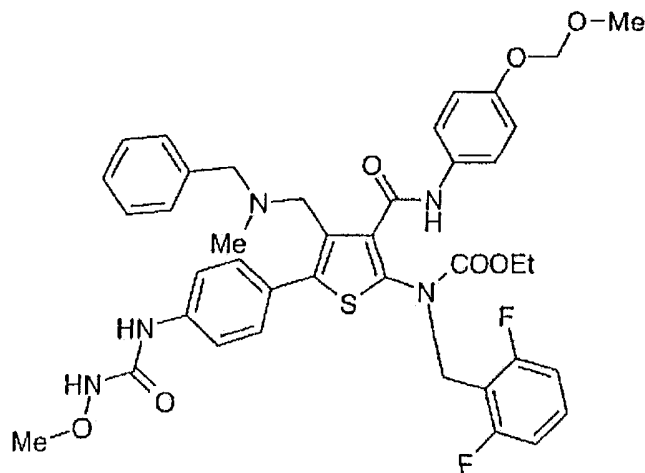
4-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-2-[N-(2,6-difluorbenzyl)-N-ethoxykarbonylamino]-5-[4-(3-methoxyureido)fenyl]thiofen-3-karboxylová kyselina



K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 14 (0,1 g, 0,15 mmol) v ethanolu (2,5 ml) se přidá roztok 2N hydroxidu sodného ve vodě (0,37 ml, 0,74 mmol). Tato reakční směs se míchá jednu hodinu za teploty místnosti a dalších 18 hodin při 55 °C. Po ochlazení se reakční směs zneutralizuje 2N kyselinou chlorovodíkovou a roztřepe se mezi ethylacetát a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem. Organické extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO₄). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak titulní sloučenina jako bezbarvý amorfni prášek (0,078 g, 81 %). Pro C₃₂H₃₂N₄O₆SF₂ vypočteno: 60,18 % C, 5,05 % H, 8,77 % N, nalezeno: 60,00 % C, 5,18 % H, 8,83 % N. ¹H-NMR spektrum (200 MHz, CDCl₃, δ): 1,0 až 1,35 (3 H, br s), 2,16 (3 H, s), 3,84 (3 H, s), 3,84 (2 H, s), 3,88 (2 H, s), 4,10 až 4,30 (2 H, br s), 6,77 (2 H, t), 6,70 až 6,85 (1 H, br s), 7,15 až 7,35 (8 H, m), 7,58 (2 H, d, J = 8,0 Hz), 7,50 až 7,65 (1 H, br s), 7,90 až 8,00 (1 H, br s).

Referenční příklad 16

4-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-2-[N-(2,6-difluorbenzyl)-N-ethoxykarbonylamino]-3-(4-methoxymethoxyfenylaminokarbonyl)-5-[4-(3-methoxyureido)fenyl]thiofen



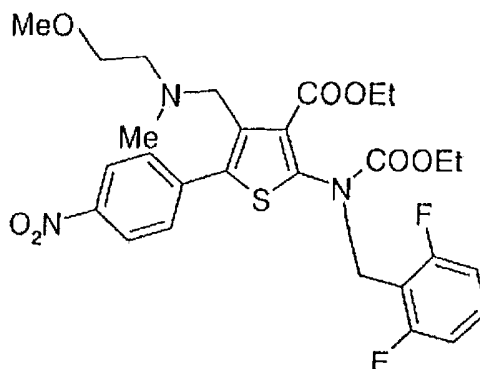
K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 15 (0,80 g, 1,23 mmol) triethylaminu (0,88 ml, 6,31 mmol) a 4-methoxymethoxyanilinu (0,96 g, 6,27 mmol) v dichlormethanu se přidá benzotriazol-1-yloxytrypyrrolidino-fosfonium-hexafluorofosfát (PyBOP) (0,72 g, 1,38 mmol) za chlazení ledem. Směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 14 hodin. Tato reakční směs se roztřepe mezi chloroform a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem. Organické extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO₄). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak titulní sloučenina jako světle-žlutý amorfni prášek (0,82 g, 93 %). ¹H-NMR spektrum (300 MHz, CDCl₃, δ): 1,21 (3 H, br s),

2,07 (3 H, br s), 3,20 (2 H, s), 3,47 (3 H, s), 3,68 (2 H, s), 3,83 (3 H, s), 4,24 (2 H, br s), 5,07 (2 H, br s), 5,13 (2 H, s), 6,75 (2 H, t, $J = 7,9$ Hz), 6,93 (2 H, d, $J = 9,0$ Hz), 7,12 až 7,18 (3 H, m), 7,23 až 7,25 (4 H, m), 7,43 (2 H, d, $J = 9,0$ Hz), 7,54 (2 H, d, $J = 8,5$ Hz), 7,65 (1 H, s). IČ spektrum (KBr): 3288, 2940, 1717, 1672, 1628, 1598, 1564, 1528, 1510 a 1473 cm^{-1} .

5

Referenční příklad 17

10 Ethylester 2-[N-(2,6-difluorbenzyl)-N-ethoxykarbonylamino]-4-[N-(2-methoxyethyl)-N-methylaminomethyl]-5-[4-(3-nitrofenyl)thiofen-3-karboxylové kyseliny

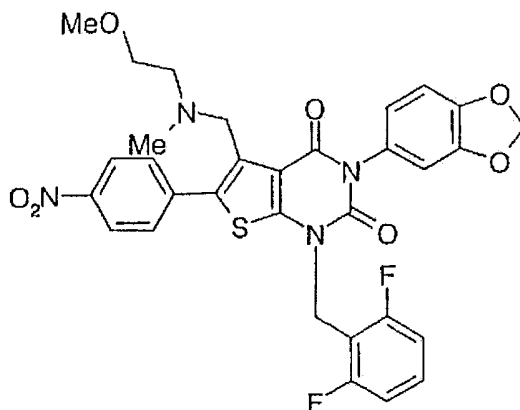


15 K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 11 (12,82 g, 22,0 mmol) se přidá ethyldiizopropylamin (7,7 ml, 44,2 mmol) a N-(2-methoxyethyl)methylamin (3,5 ml, 32,6 mmol) v ethylacetátu (120 ml). Směs se míchá 20 hodin za teploty místnosti. Tato reakční směs se roztřepe mezi ethylacetát a nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem. Organické extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak titulu sloučenina jako hnědý olej (10,27 g, 79 %). ^1H -NMR spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ , volný amin): 1,16 až 1,38 (6 H, m), 2,08 (3 H, s), 2,46 (2 H, t, $J = 6,0$ Hz), 3,28 (3 H, s), 3,36 (2 H, t, $J = 6,0$ Hz), 3,63 (2 H, s), 4,09 až 4,32 (4 H, m), 5,01 (2 H, s), 6,86 (2 H, t, $J = 8,1$ Hz), 7,21 až 7,32 (1 H, m), 7,70 (2 H, d, $J = 8,7$ Hz), 8,23 (2 H, d, $J = 8,7$ Hz). IČ spektrum (KBr): 2984, 1725, 1628, 1597, 1520 a 1473 cm^{-1} . Hmotnostní spektrum (FAB, m/z): 592 (MH^+).

25

Referenční příklad 18

1-(2,6-Difluorbenzyl)-5-[N-(2-methoxyethyl)-N-methylaminomethyl]-3-(3,4-methylenedioxyfenyl)-6-(4-nitrofenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion

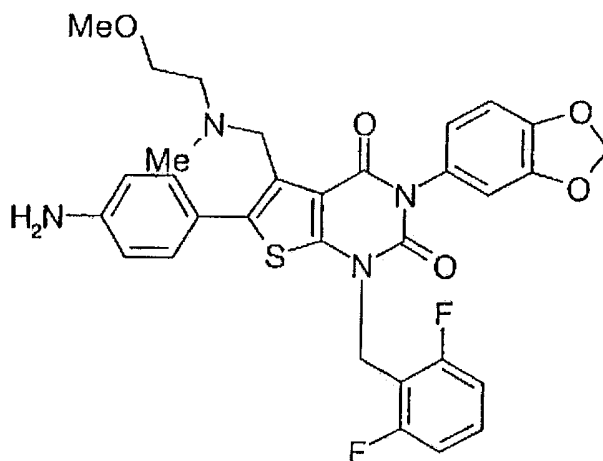


30

K roztoku 3,4-methylenedioxyanilinu (3,30 g, 24,3 mmol) v toluenu (80 ml) se přidá roztok 1,01M dimethylaluminiumchloridu v hexanu (22,2 ml, 22,0 mmol) za chlazení ledem. Tato reakční směs se míchá jednu hodinu za chlazení ledem. K této reakční směsi se přidá roztok sloučeniny získané v referenčním příkladu 17 (2,20 g, 3,70 mmol) v toluenu (30 ml) a směs se míchá 20 hodin za teploty místnosti. Tato reakční směs se nalije do ledu s vodou a roztřepe se mezi ethylacetát a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem. Organické extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak surový produkt, který se překrystaluje ze směsi ethylacetátu s hexanem. Získá se tak titulní sloučenina jako hnědé krystaly (0,60 g, 68 %). T.t. 190 až 192 °C. Pro $\text{C}_{31}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_7\text{SF}_2$ vypočteno: 58,49 % C, 4,12 % H, 8,80 % N, nalezeno: 58,50 % C, 3,91 % H, 8,61 % N. ^1H -NMR spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ , volný amin): 2,21 (3 H, s), 2,68 (2 H, t, $J = 5,7$ Hz), 3,31 (3 H, s), 3,44 (2 H, t, $J = 5,7$ Hz), 3,87 (2 H, s), 5,38 (2 H, s), 6,03 (2 H, s), 6,73 až 6,76 (2 H, m), 6,90 až 6,97 (3 H, m), 7,28 až 7,38 (1 H, m), 8,00 (2 H, d, $J = 8,7$ Hz), 8,26 (2 H, d, $J = 8,7$ Hz). IČ spektrum (KBr): 2894, 1719, 1671, 1628, 1597, 1547, 1520, 1487, 1462, 1348 a 1243 cm^{-1} .

Referenční příklad 19

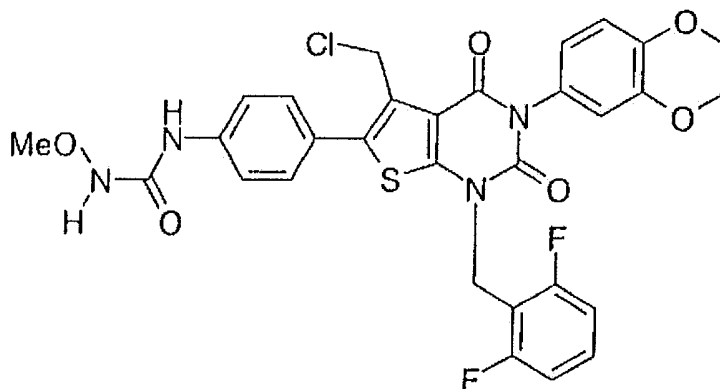
6-(4-Aminofenyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-5-[N-(2-methoxyethyl)-N-methylaminomethyl]-3-(3,4-methylenedioxyfenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 18 (1,56 g, 2,50 mmol) v kyselině mravenčí (30 ml) se přidá 1M roztok kyseliny chlorovodíkové v etheru (7,4 ml, 7,4 mmol) a 10% paladium na uhlí (200 mg) za chlazení ledem. Hydrogenace se provádí za atmosférických podmínek za teploty místnosti po dobu dvou hodin za konstantního míchání. Tato reakční směs se zfiltruje Celitem a filtrát se za sníženého tlaku zahustí. Zbytek se roztřepe mezi chloroform a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem, organické vrstvy se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se surový produkt, který se překrystaluje ze směsi ethylacetát-hexan. Získá se tak titulní sloučenina jako hnědé krystaly (1,46 g, 96 %). T.t. 200 až 202 °C. Pro $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_5\text{SF}_2 \cdot 1,0 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 59,61 % C, 4,84 % H, 8,97 % N, nalezeno: 59,27 % C, 4,53 % H, 8,48 % N. ^1H -NMR spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ , volný amin): 2,13 (3 H, s), 2,63 (2 H, t, $J = 7,5$ Hz), 3,26 (3 H, s), 3,41 (2 H, t, $J = 5,7$ Hz), 3,80 (2 H, s), 5,34 (2 H, s), 6,01 (2 H, s), 6,68 až 6,76 (4 H, m), 6,89 až 6,93 (3 H, m), 7,24 až 7,39 (3 H, m). IČ spektrum (KBr): 2926, 1715, 1667, 1628, 1533, 1506, a 1464 cm^{-1} .

Referenční příklad 20

5-Chlormethyl-1-(2,6-difluorbenzyl)-3-(3,4-ethyldioxyfenyl)-6-[4-(3-methoxyureido)-fenyl]thieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



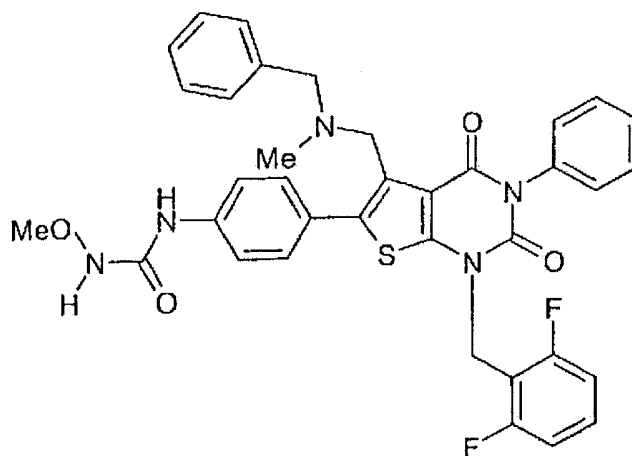
5

Použitím sloučeniny, která se získá v následujícím příkladu 8 jako výchozího materiálu se stejným způsobem jako v referenčním způsobu 7 získá titulní sloučenina. Výtěžek 63 %. T.t. 204 až 209 °C.

10

Příklad 1

5-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-methoxyureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (sloučenina z příkladu č. 1)



15

K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 6 (5,0 g, 8,41 mmol) v dichlormethanu (120 ml) se přidá triethylamin (2,34 ml, 16,82 mmol) za chlazení ledem. Směs se potom míchá. K této reakční směsi se přidá N,N'-karbonyldiimidazol (2,73 g, 16,82 mmol) za chlazení ledem. Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 42 hodiny. Směs se pak opět ochladí ledem a přidá se hydrochlorid O-methylhydroxylaminu (7,02 g, 84,08 mmol) a triethylamin (11,7 ml, 84,08 mmol). Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se tři hodiny. Tato reakční směs se roztřepe mezi chloroform a nasycený roztok hydrogenuhlíčitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem. Extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO₄). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se světležlutá pevná látka, která se překrystaluje ze směsi chloroform-ether. Získá se tak titulní sloučenina jako bílé krystaly (4,52 g, 80 %). T.t. 204 až 205 °C. Pro C₃₆H₃₁N₅O₄SF₂ vypočteno: 64,75 % C, 4,68 % H, 10,49 % N, nalezeno: 64,61 % C, 4,67 % H, 10,31 % N. ¹H-NMR spektrum (300 MHz, CDCl₃, δ): 2,05 (3 H, s), 3,57 (2 H, s), 3,82

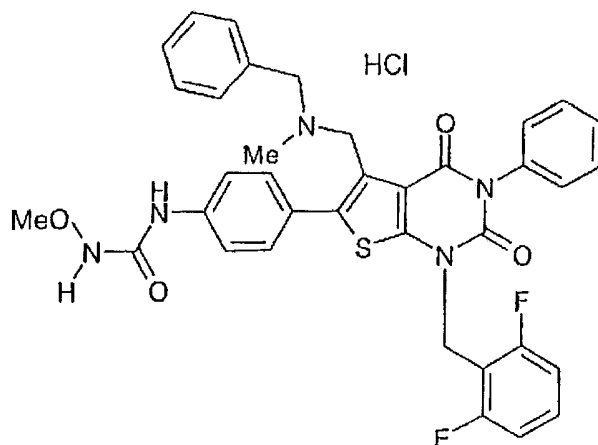
25

(3 H, s), 3,90 (2 H, s), 5,37 (2 H, s), 6,92 (2 H, d, $J = 8,2$ Hz), 7,16 až 7,31 (9 H, m), 7,42 až 7,57 (5 H, m), 7,63 (1 H, s), 7,73 (2 H, d, $J = 8,8$ Hz). IČ spektrum (KBr): 3338, 3064, 1717, 1669, 1628, 1591, 1531 a 1470 cm^{-1} .

5

Příklad 2

Hydrochlorid 5-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-methoxyureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dionu (sloučenina z příkladu č. 2)



10

K roztoku bílých krystalů získaných v příkladu 1 (38,34 g, 57,42 mmol) v dichlormethanu (800 ml) se přidá kyselina chlorovodíková (1M roztok v diethyletheru) (100 ml) za chlazení ledem. Směs se míchá 10 minut za teploty místnosti. Tato reakční směs se zahustí za sníženého tlaku a zbytek se překrystaluje ze směsi methanolu s etherem. Získá se titulní sloučenina jako bílý prášek (40,0 g, 99 %). T. t. 182 až 185 °C. Pro $\text{C}_{36}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_4\text{SF}_2 \cdot \text{HCl} \cdot 0,5\text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 60,63 % C, 4,66 % H, 9,82 % N, nalezeno: 60,45 % C, 4,68 % H, 9,62 % N. IČ spektrum (KBr): 3440, 3042, 1713, 1665, 1628, 1593, 1539 a 1473 cm^{-1} . Hmotnostní spektrum (FAB, m/z): 668 (MH^+).

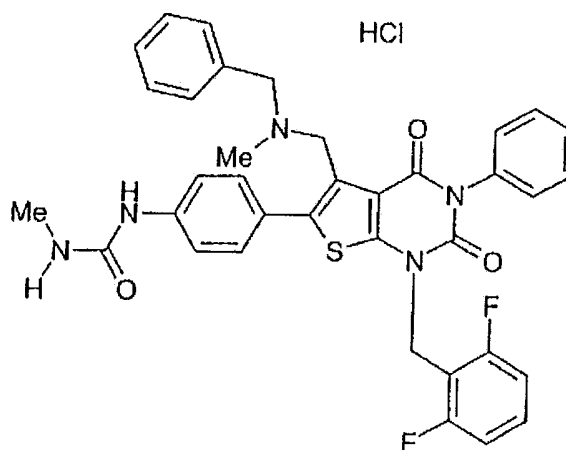
20

Příklad 3

Použitím sloučeniny získané v referenčním příkladu 6 jako výchozí materiál se stejným způsobem jako v příkladech 1 a 2 získají sloučeniny z příkladu č. 3-1 až 3-9.

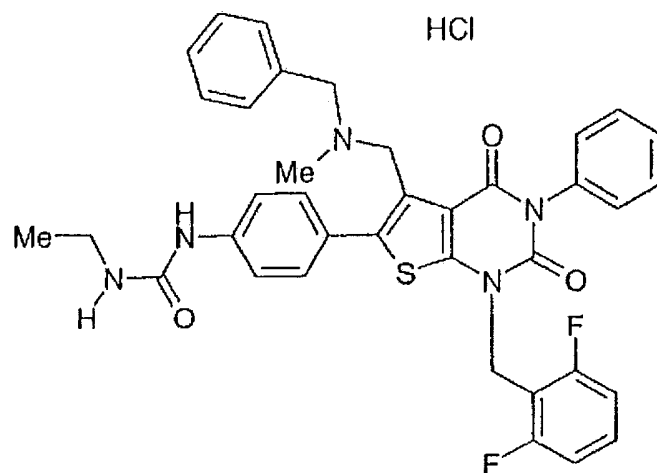
25

Sloučenina z příkladu č. 3-1:



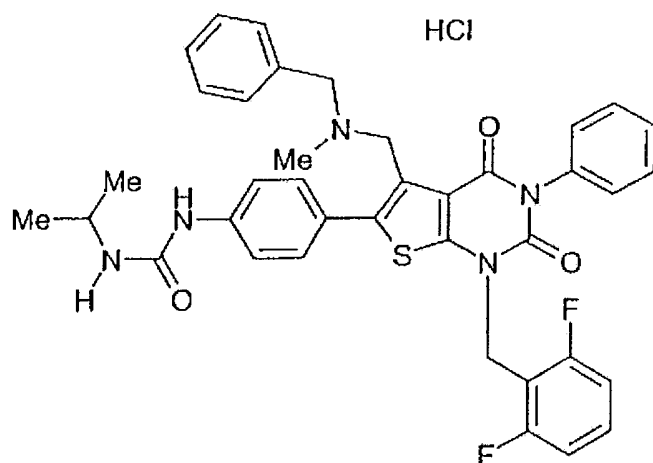
Výtěžek 91 %, t.t. 175 až 180 °C (hydrochlorid).

Sloučenina z příkladu č. 3-2:



5 Výtěžek 81 %, t.t. 179 až 182 °C (hydrochlorid).

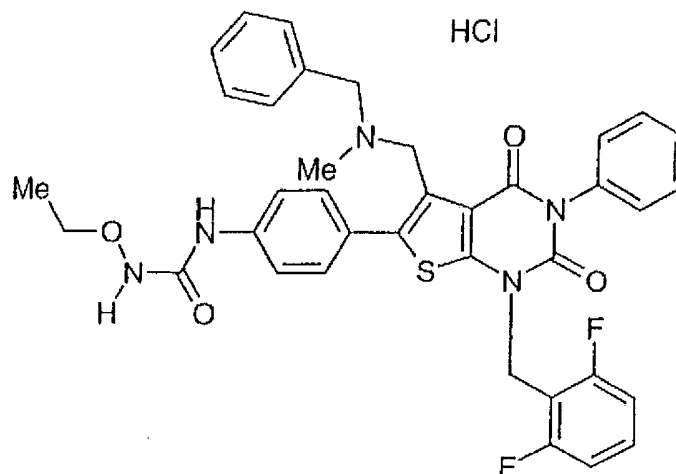
Sloučenina z příkladu č. 3-3:



Výtěžek 80 %, t.t. 172 až 177 °C (hydrochlorid).

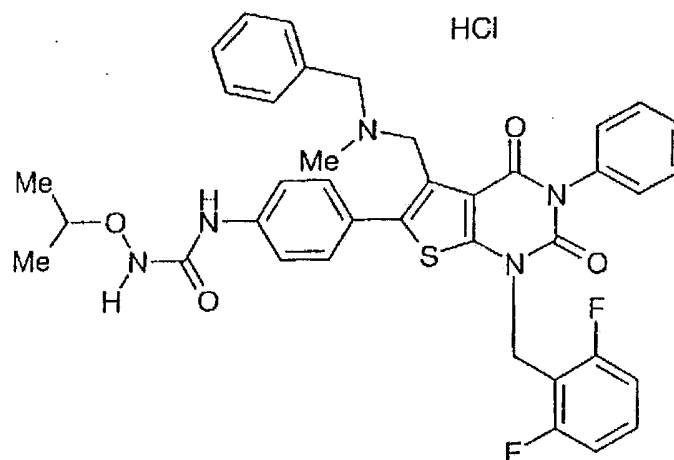
10

Sloučenina z příkladu č. 3-4:



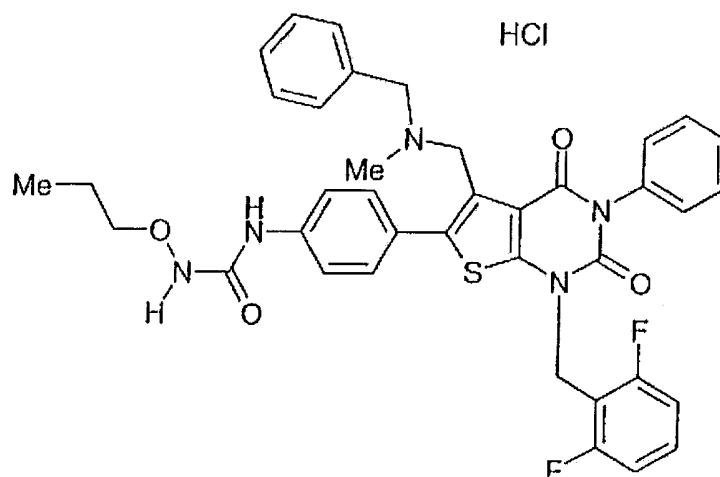
Výtěžek 99 %, t.t. 193 až 197 °C (hydrochlorid).

Sloučenina z příkladu č. 3–5:



5 Výtěžek 91 %, t.t. 201 až 204 °C (hydrochlorid).

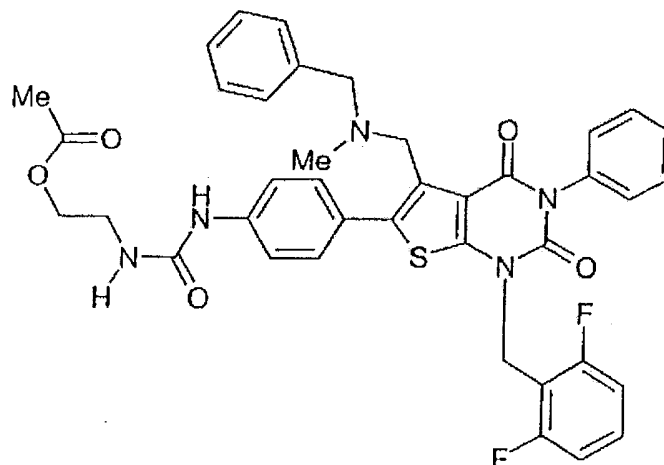
Sloučenina z příkladu č. 3–6:



Výtěžek 89 %, t.t. 210 až 215 °C (hydrochlorid).

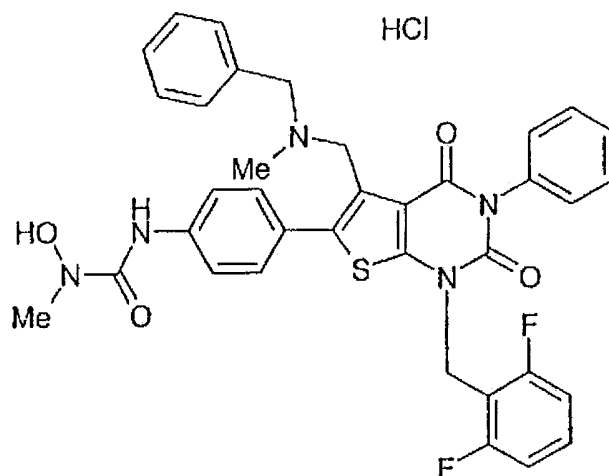
10

Sloučenina z příkladu č. 3–7:



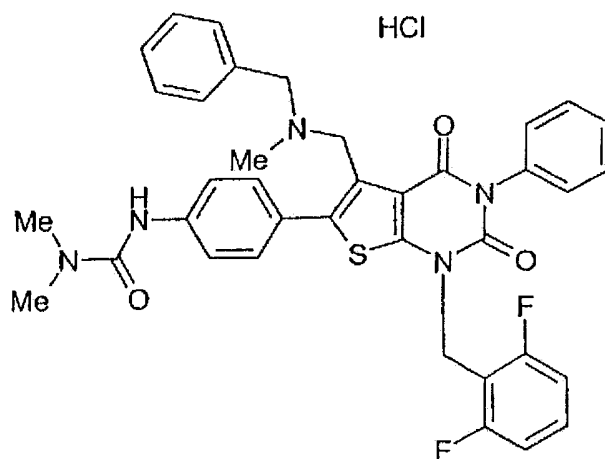
Výtěžek 89 %, t.t. 199 až 200 °C (volný amin).

Sloučenina z příkladu č. 3–8:



5 Výtěžek 93 %, t.t. 195 až 198 °C (hydrochlorid).

Sloučenina z příkladu č. 3–9:



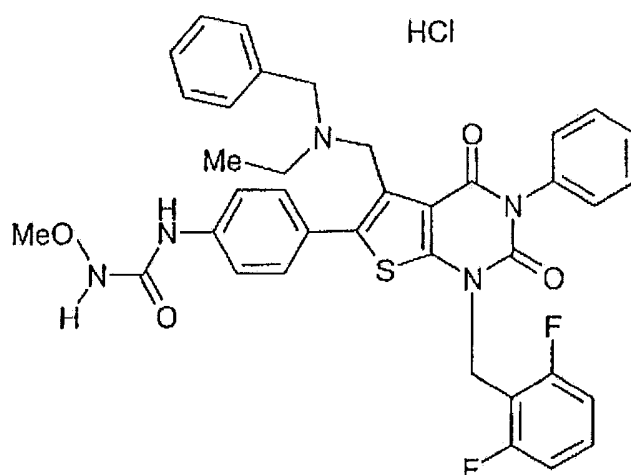
Výtěžek 95 %, t.t. 165 až 170 °C (hydrochlorid).

10

Příklad 4

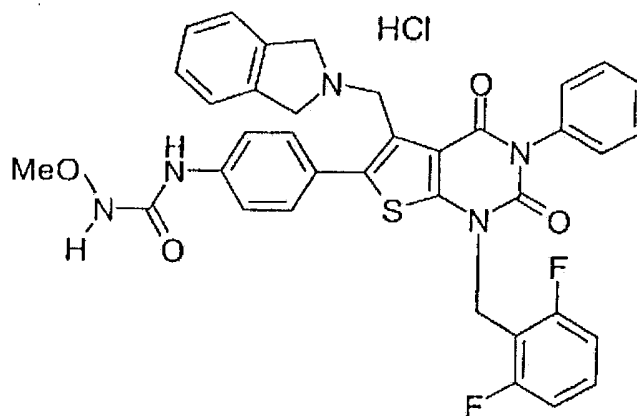
15 Použitím sloučeniny získané v referenčním příkladu 7 jako výchozí materiál se stejným způsobem jako v referenčním příkladu 5 získají sloučeniny z příkladů č. 4–1 až 4–5.

Sloučenina z příkladu č. 4-1:



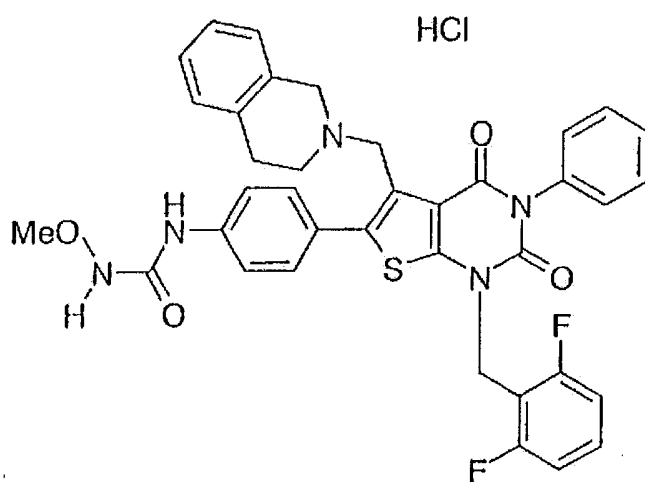
Výtěžek 80 %, t.t. 177 až 180 °C (hydrochlorid).

5 Sloučenina z příkladu č. 4-2:



Výtěžek 77 %, t.t. 205 až 210 °C (hydrochlorid).

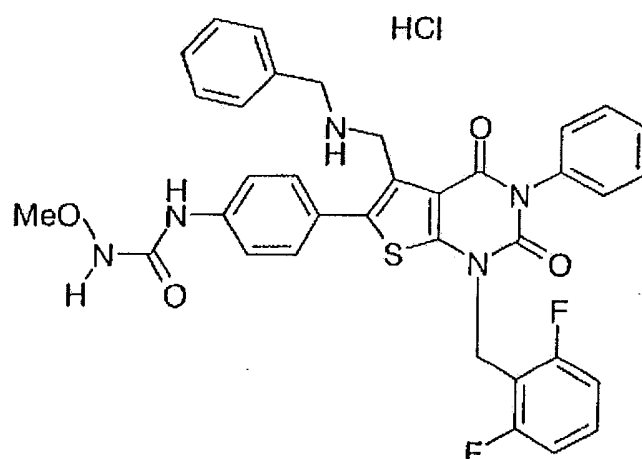
Sloučenina z příkladu č. 4-3:



10

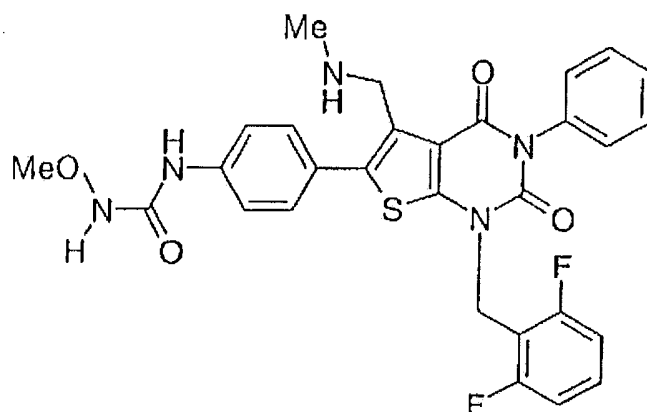
Výtěžek 77 %, t.t. 182 až 185 °C (hydrochlorid).

Sloučenina z příkladu č. 4-4:



Výtěžek 14 %, t.t. 270 °C (rozkl.) [hydrochlorid].

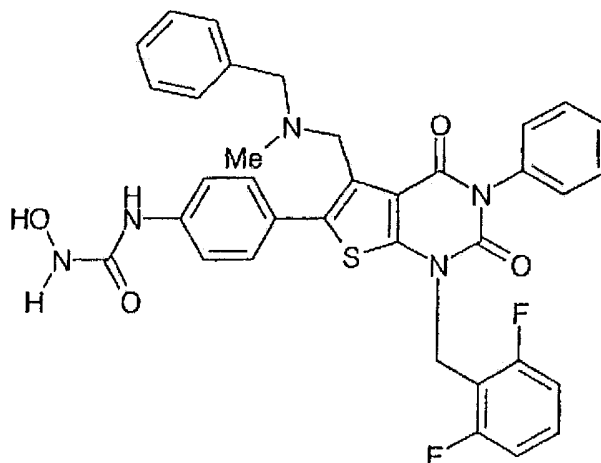
5 Sloučenina z příkladu č. 4-5:



Výtěžek 26 %, t.t. 260 °C (rozkl.) [volný amin].

10 Příklad 5

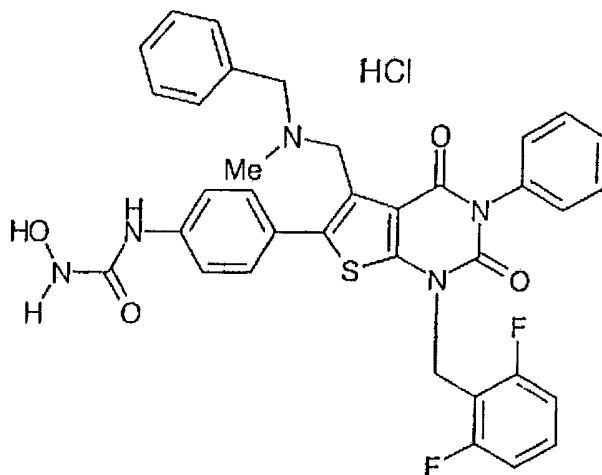
5-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-hydroxyureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 6 (2,0 g, 3,36 mmol) v dichlormethanu (40 ml) se přidá triethylamin (0,94 ml, 6,73 mmol) za chlazení ledem. Směs se potom míchá. K této reakční směsi se za chlazení ledem přidá N,N-karbonyldiimidazol (1,09 g, 6,73 mmol). Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 24 hodin. Reakční směs se pak opět ochladí ledem a přidá se O-(2,4-dimethoxybenzyl)hydroxylamin (3,11 g, 16,98 mmol). Reakční směs se pak nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 19 hodin. Tato reakční směs se roztřepe mezi chloroform a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem. Extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO₄). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. K roztoku zbytku v dichlormethanu (50 ml) se přidá kyselina trifluoroctová (5 ml). Směs se míchá 20 minut za teploty místnosti. Tato reakční směs se roztřepe mezi chloroform a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem. Extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO₄). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se bílý amorfni prášek, který se překrystaluje ze směsi chloroform-ether. Získá se tak titulní sloučenina jako bílé krystaly (2,2 g, 100 %). T.t. 164 až 165 °C. ¹H-NMR spektrum (300 MHz, CDCl₃, δ): 2,05 (3 H, s), 3,46 (2 H, s), 3,92 (3 H, s), 5,35 (2 H, s), 6,65 (1 H, br), 6,90 (2 H, t, J = 8,0 Hz), 7,28 až 7,65 (15 H, m), 8,04 (1 H, s), 9,73 (1 H, br). IČ spektrum (KBr): 3326, 2856, 1715, 1665, 1628, 1591, 1531 a 1468 cm⁻¹. Hmotnostní spektrum (FAB, m/z): 654 (MH)⁺.

Příklad 6

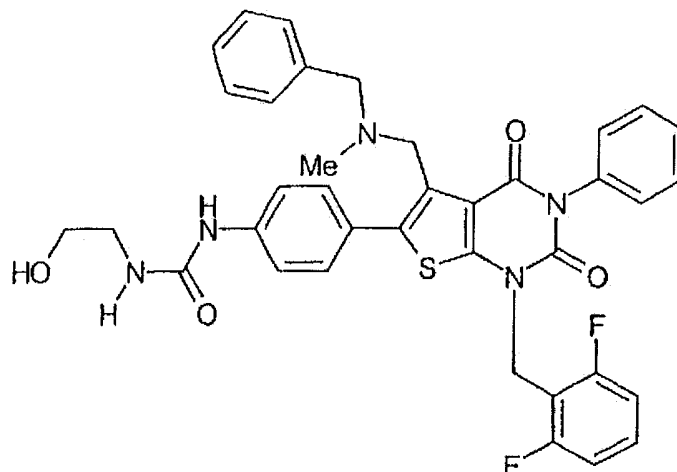
Hydrochlorid 5-(N-benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-hydroxyureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dionu



K roztoku bílých krystalů získaných v příkladu 5 (60 mg, 0,094 mmol) v dichlormethanu (5 ml) se přidá kyselina chlorovodíková (1M roztok v diethyletheru) (0,2 ml) za chlazení ledem. Směs se míchá 10 minut za stejné teploty. Tato reakční směs se zahustí za sníženého tlaku a zbytek se překrystaluje ze směsi methanolu s etherem. Získá se titulní sloučenina jako bílý prášek (72 mg, 100 %). T. t. 180 až 186 °C. Pro C₃₅H₂₉N₅O₄·SF₂·0,1 HCl·1,0 H₂O vypočteno: 59,36 % C, 4,55 % H, 9,89 % N, nalezeno: 59,37 % C, 4,60 % H, 9,87 % N. IČ spektrum (KBr): 3388, 3066, 1713, 1663, 1628, 1593, 1537 a 1473 cm⁻¹.

Příklad 7

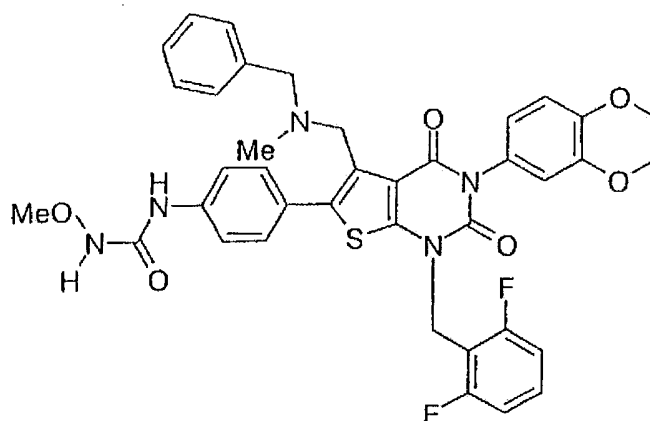
5-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-[3-(2-hydroxyethyl)-ureido]fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



K roztoku sloučeniny získané v příkladu č. 3–7 (900 mg, 1,24 mmol) v THF (20 ml) se přidá 5N roztok hydroxidu draselného ve vodě (7 ml) za chlazení ledem. Směs se potom míchá jednu hodinu při 60 °C. Tato reakční směs se roztřepe mezi ethylacetát a nasycený roztok chloridu sodného. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem. Extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO₄). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se bílý amorfní prášek, který se překrystaluje ze směsi chloroform–methanol–ether. Získá se tak titulní sloučenina jako bílé krystaly (850 mg, 88 %). T. t. 220 až 222 °C. Pro C₃₇H₃₃N₅O₄SF₂ vypočteno: 65,18 % C, 4,88 % H, 10,27 % N, nalezeno: 65,08 % C, 5,01 % H, 10,29 % N. ¹H–NMR spektrum (300 MHz, DMSO–d₆, δ): 1,93 (3 H, s), 3,17 (2 H, q, J = 8,4 Hz), 3,45 až 3,47 (4 H, m), 3,81 (2 H, s), 4,76 (1 H, t, J = 5,1 Hz), 5,28 (2 H, s), 6,28 (1 H, t, J = 5,4 Hz), 7,12 až 7,28 (9 H, m), 7,44 až 7,58 (8 H, m), 8,79 (1 H, s). IČ spektrum (KBr): 3530, 3364, 3066, 2958, 2884, 1715, 1667, 1595, 1531 a 1470 cm⁻¹. Hmotnostní spektrum (FAB, m/z): 682 (MH)⁺.

Příklad 8

5-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-3-(3,4-ethyldioxyfenyl)-6-[4-(3-methoxyureido)fenyl]thieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



K roztoku 3,4-ethyldioxyanilinu (3,90 g, 25,8 mmol) v dichlormethanu (100 ml) se přidá roztok 1,01M dimethylaluminiumchloridu v hexanu (25,5 ml, 25,8 mmol) za chlazení ledem. Směs se nechá ohřát na teplotu místnosti za míchání během 1 hodiny. K tomuto roztoku se přidá roztok sloučeniny získané v referenčním příkladu 14 (3,44 g, 5,16 mmol) v dichlormethanu (60 ml) a směs se míchá jeden den za teploty místnosti. Tato reakční směs se roztřepe mezi chloroform a nasycený vodný roztok chloridu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem.

Organické vrstvy se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak tituliní sloučenina jako bílý amorfní prášek (3,2 g, 85 %). T. t. 185 až 187 °C. Pro $\text{C}_{38}\text{H}_{34}\text{N}_5\text{O}_6\text{SF}_2\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ vypočteno: 58,50 % C, 4,65 % H, 8,98 % N, nalezeno: 58,73 % C, 4,48 % H, 9,07 % N. ^1H -NMR spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ): 2,05 (3 H, s), 3,57 (2 H, s), 3,83 (3 H, s), 3,90 (2 H, s), 4,29 (4 H, s), 5,35 (2 H, s), 6,75 až 7,01 (5 H, m), 7,12 až 7,33 (7 H, m), 7,55 (2 H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,63 (1 H, s), 7,72 (2 H, d, $J = 8,0$ Hz). IČ spektrum (KBr): 1717, 1702, 1686, 1657, 1636, 1626, 1560, 1543, 1522, 1510 a 1475 cm^{-1} .

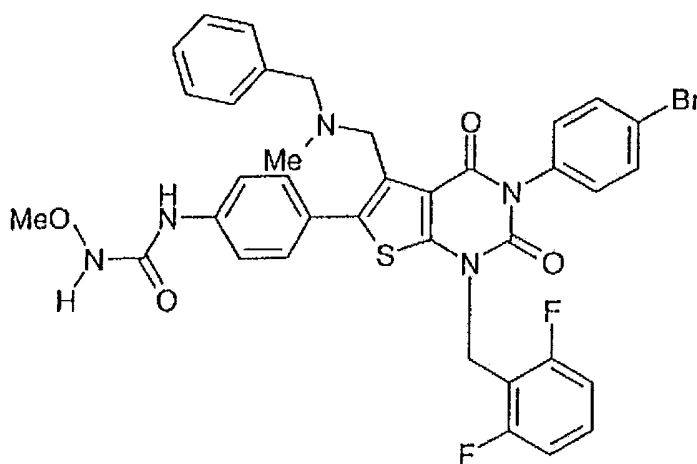
10

Příklad 9

Použitím sloučeniny získané v referenčním příkladu 14 jako výchozí materiál se stejným způsobem jako v příkladu 8 získají sloučeniny z příkladu č. 9-1 až 9-2.

15

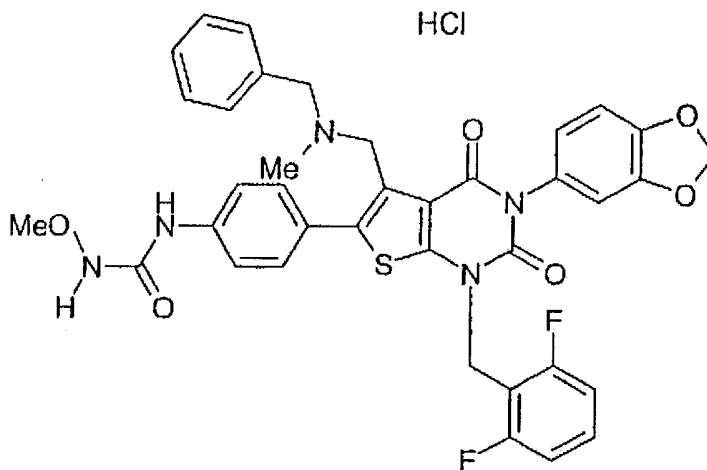
Sloučenina z příkladu č. 9-1:



Výtěžek 60 %, t.t. 148 až 151 °C (volný amin).

20

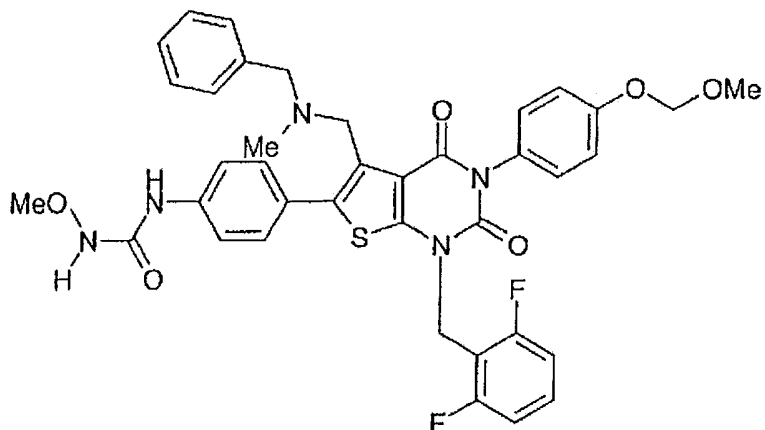
Sloučenina z příkladu č. 9-2:



Výtěžek 54 %, t.t. 169 až 170 °C (hydrochlorid).

Příklad 10

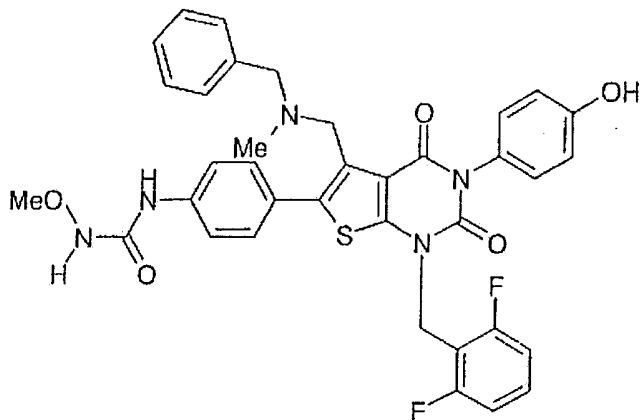
5 5-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-3-[4-(methoxymethoxy)fenyl]-
6-[4-(3-methoxyureido)fenyl]thieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (sloučenina
z příkladu č. 10)



K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 16 (0,84 g, 1,09 mmol) v bezvodém methanolu (50 ml) se přidá roztok methoxidu sodného (2,10 g, 10,4 mmol) v bezvodém methanolu (20 ml) za chlazení ledem. Tato směs se míchá 2,5 hodiny, přičemž se teplota nechá stoupnout na teplotu místnosti. Tato reakční směs se zneutralizuje 1N kyselinou chlorovodíkovou (10,9 ml, 10,9 mmol) a rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se roztřepe mezi chloroform a nasycený vodný roztok chloridu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem. Organické vrstvy se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO₄). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se překrystaluje ze směsi ethylacetátu z izopropyletherem. Získá se tak titulní sloučenina jako bílé krystalky (0,632 g, 80 %). T. t. 189 až 191 °C. Pro C₃₈H₃₅N₅O₆SF₂ vypočteno: 62,71 % C, 4,85 % H, 9,62 % N, nalezeno: 62,56 % C, 4,69 % H, 9,33 % N. ¹H-NMR spektrum (300 MHz, CDCl₃, δ): 2,05 (3 H, s), 3,49 (2 H, s), 3,57 (2 H, s), 3,82 (3 H, s), 3,91 (2 H, s), 5,21 (2 H, s), 5,36 (2 H, s), 6,92 (2 H, d, J = 8,0 Hz), 7,14 až 7,35 (11 H, m), 7,55 (2 H, d, J = 8,5 Hz), 7,63 (1 H, s), 7,72 (2 H, d, J = 8,5 Hz). IČ spektrum (KBr): 3380, 2940, 2830, 1717, 1703, 1669, 1628, 1589, 1524 a 1464 cm⁻¹.

Příklad 11

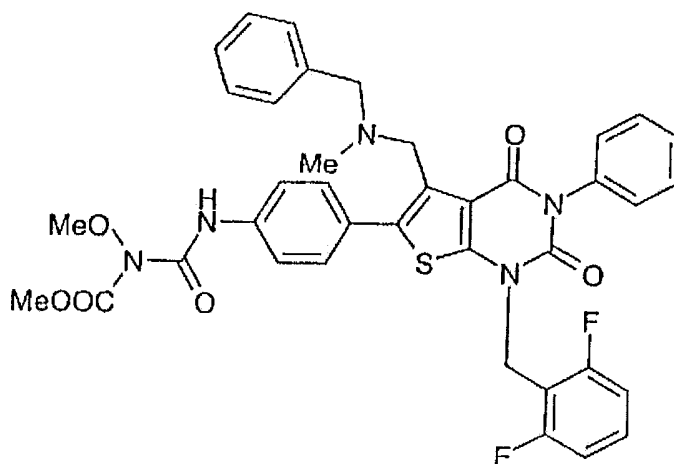
25 5-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-3-(4-hydroxyfenyl)-6-[4-(3-methoxyureido)fenyl]thieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



Sloučenina z příkladu č. 10 (0,35 g, 0,48 mmol) se rozpustí v acetonu (10 ml). Potom se přidá 6N kyselina chlorovodíková (1,0 ml, 6,0 mmol). Směs se míchá 6 hodin za teploty místnosti a zneutralizuje se roztokem 2N hydroxidu sodného (3 ml, 6,0 mmol) ve vodě za chlazení ledem. Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se roztřepe mezi chloroform a nasycený vodný roztok chloridu sodného. Vodná vrstva se extrahuje chloroformem. Organické extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se bílý bezbarvý amorfni prášek (0,18 g, 55 %), který se překrystaluje ze směsi chloroform-methanol. Získá se tak titulní sloučenina jako bílé krystaly (0,067 g). T. t. 178 až 182 °C. Pro $\text{C}_{36}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_5\text{SF}_2 \cdot 0,4 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 62,58 % C, 4,64 % H, 10,14 % N, nalezeno: 62,78 % C, 4,57 % H, 9,86 % N. $^1\text{H-NMR}$ spektrum (300 MHz, CDCl_3 , δ): 2,04 (3 H, s), 3,56 (2 H, s), 3,80 (3 H, s), 3,90 (2 H, s), 5,35 (2 H, s), 6,89 až 6,98 (4 H, m), 7,08 (2 H, d, $J = 8,8 \text{ Hz}$), 7,15 až 7,31 (6 H, m), 7,57 (2 H, d, $J = 8,6 \text{ Hz}$), 7,69 (2 H, d, $J = 8,6 \text{ Hz}$), 7,87 (1 H, s), 8,27 (1 H, s), 8,88 (1 H, s). IČ spektrum (KBr): 3446, 1717, 1663, 1630, 1601, 1534, 1520 a 1473 cm^{-1} .

Příklad 12

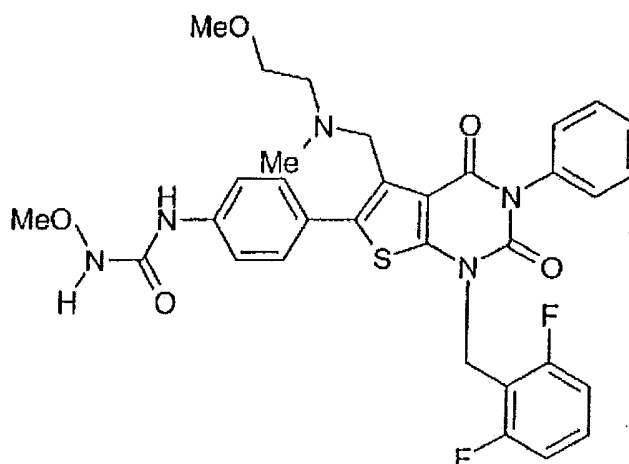
5-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-[(3-methoxy-3-methoxy-karbonyl)ureido]fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



K roztoku sloučeniny z příkladu 1 (0,334 g, 0,5 mmol) v tetrahydrofuranu (10 ml) se přidá triethylamin (0,08 ml, 0,6 mmol) a methylester kyseliny chlormravenčí (0,0425 ml, 0,55 mmol) za chlazení ledem. Směs se míchá 1 hodinu za chlazení ledem a potom 1 hodinu za teploty místnosti. K této směsi se přidá triethylamin (0,08 ml, 0,6 mmol) a ethylester kyseliny chlormravenčí (0,0425 ml, 0,55 mmol) a směs se míchá 2 hodiny při 40 °C a potom dvě hodiny za teploty místnosti. K této směsi se přidá vodný roztok chloridu sodného a extrahuje se ethylacetátem. Extrakty se spojí, promyjí se vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO_4). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se surový produkt, který se překrystaluje ze směsi ethylacetátu s diethyletherem. Získá se tak titulní sloučenina jako bezbarvé krystalky (0,204 g, 56 %). T. t. 150 až 152 °C. Pro $\text{C}_{38}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_6\text{SF}_2$ vypočteno: 62,89 % C, 4,58 % H, 9,65 % N, nalezeno: 62,68 % C, 4,69 % H, 9,44 % N. $^1\text{H-NMR}$ spektrum (200 MHz, CDCl_3 , δ): 2,06 (3 H, s), 3,57 (2 H, s), 3,91 (2 H, s), 3,93 (3 H, s), 3,98 (3 H, s), 5,37 (2 H, s), 6,92 (2 H, t, $J = 8,2 \text{ Hz}$), 7,15 až 7,60 (11 H, m), 7,57 (2 H, d, $J = 8,6 \text{ Hz}$), 7,73 (2 H, d, $J = 8,6 \text{ Hz}$), 10,06 (1 H, s). IČ spektrum (KBr): 1746, 1713, 1663, 1537, 1460, 1339, 1200, 1034 a 737 cm^{-1} .

Příklad 13

1-(2,6-Difluorbenzyl)-5-[N-(2-methoxyethyl)-N-methylaminomethyl]-6-[4-(3-methoxyureido)fenyl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



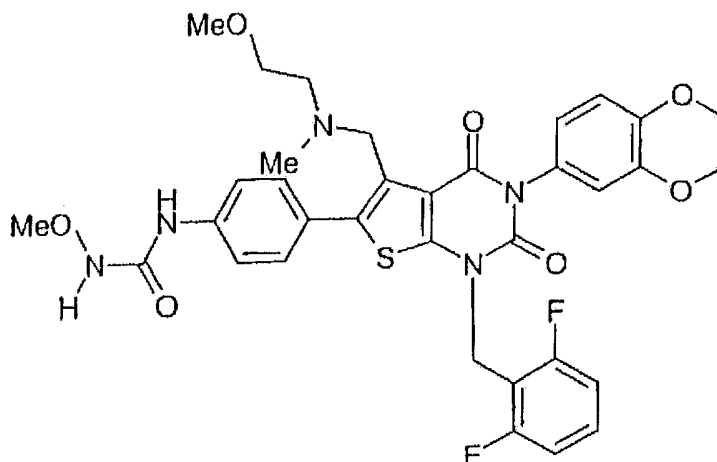
5

K roztoku sloučeniny získané v referenčním příkladu 7 (0,86 g, 1,48 mmol) v N,N-dimethylformamidu (15 ml) se přidá ethyldiizopropylamin (0,34 ml, 1,92 mmol), jodid draselný (245 mg, 1,48 mmol) a N-(2-methoxyethyl)methylamin (0,19 ml, 1,78 mmol). Směs se míchá 2 hodiny za teploty místnosti. Tato reakční směs se zahustí. Zbytek se roztřepe mezi ethylacetát a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem. Spojené extrakty se promyjí vodným roztokem chloridu sodného a vysuší se (MgSO₄). Rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddestiluje. Zbytek se zchromatografuje na silikagelu. Získá se tak titulní sloučenina jako bílé krystalky (840 mg, 89 %). T. t. 161 až 163 °C. Pro C₃₂H₃₁N₅O₅SF₂·0,5 H₂O vypočteno: 59,62 % C, 5,00 % H, 10,86 % N, nalezeno: 59,73 % C, 4,99 % H, 10,85 % N. ¹H-NMR spektrum (300 MHz, CDCl₃, δ): 2,14 (3 H, s), 2,64 (2 H, t, J = 5,9 Hz), 3,27 (3 H, s), 3,41 (2 H, t, J = 5,9 Hz), 3,83 (5 H, s), 5,37 (2 H, s), 6,93 (2 H, t, J = 8,2 Hz), 7,12 až 7,63 (12 H, m). IČ spektrum (KBr): 1709, 1663, 1560 a 1522 cm⁻¹.

20

Příklad 14

1-(2,6-Difluorbenzyl)-3-(3,4-ethylendioxyfenyl)-5-[N-(2-methoxyethyl)-N-methylaminomethyl]-6-[4-(3-methoxyureido)fenyl]thieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion

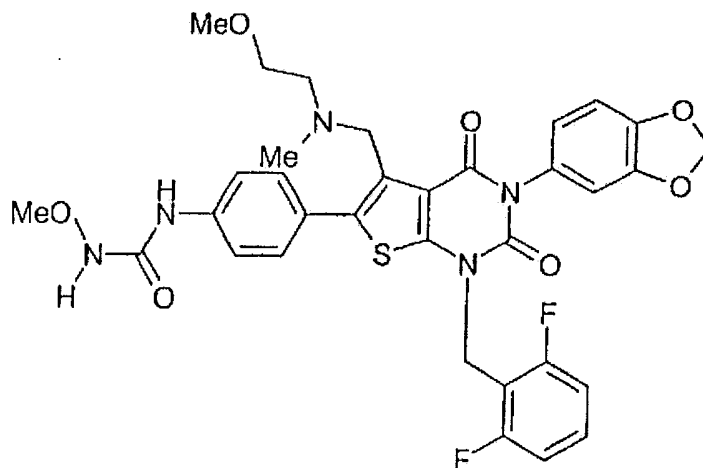


25

Použitím sloučenin získaných v referenčním příkladu 20 jako výchozí materiál se stejným způsobem jako v příkladu 13 získá titulní sloučenina. Výtěžek 79 %, t.t. 155 až 156 °C (volný amin).

Příklad 15

- 5 1-(2,6-Difluorbenzyl)-5-[N-(2-methoxyethyl)-N-methylaminomethyl]-6-[4-(3-methoxy-ureido)fenyl]-3-(3,4-methylenedioxyfenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion



Použitím sloučeniny získané v referenčním příkladu 19 jako výchozí materiál se stejným způsobem jako v příkladu 1 získá titulní sloučenina. Výtěžek 72 %, t.t. 150 až 152 °C (volný amin).

10

Preparační příklad 1

- 15 Použitím 100 mg sloučeniny z příkladu č. 1, 165 mg laktózy, 25 mg kukuřičného škrobu, 4 mg polyvinylalkoholu a 1 mg steáratu hořečnatého se konvenčním způsobem vyrobí tablety.

Preparační příklad 2

- 20 Sloučenina z příkladu č. 2 (5 g) se rozpustí v destilované vodě pro injekci. Získá se tak celkový objem 100 ml. Tento roztok se asepticky zfiltruje 0,22μm membránovým filtrem (vyrobeným Sumitomo Electric Industries, Ltd. nebo Sartorius) a rozdělí se po 2 ml do promytých sterilních ampulek. Následuje vysušení vymražením konvenčním způsobem. Získá se tak 100 mg vymražením vysušeného přípravku pro injekce na ampulku.

25

Preparační příklad 3

- 30 Použitím 100 mg sloučeniny z příkladu č. 4-2, 165 mg laktózy, 25 mg kukuřičného škrobu, 4 mg polyvinylalkoholu a 1 mg steáratu hořečnatého se konvenčním způsobem vyrobí tablety.

Preparační příklad 4

- 35 Sloučenina z příkladu č. 4-2 (5 g) se rozpustí v destilované vodě pro injekci. Získá se tak celkový objem 100 ml. Tento roztok se asepticky zfiltruje 0,22μm membránovým filtrem (vyrobeným Sumitomo Electric Industries, Ltd. nebo Sartorius) a rozdělí se po 2 ml do promytých sterilních ampulek. Následuje vysušení vymražením konvenčním způsobem. Získá se tak 100 mg vymražením vysušeného přípravku pro injekce na ampulku.

40

Preparační příklad 5

1) sloučenina z příkladu č. 1 nebo č. 4–2	5 g
2) laktóza/krystalická celulóza (částice)	330 g
3) D–mannitol	29 g
4) nízkosubstituovaná hydroxypropylcelulóza	20 g
5) talek	25 g
6) hydroxypropylcelulóza	50 g
7) aspartam	3 g
8) glycyrrhizinát dvojdraselný	3 g
9) hydroxypropylmethylcelulóza 2910	30 g
10) oxid titaničitý	3,5 g
11) žlutý oxid železitý	0,5 g
12) lehký oxid křemičitý	1 g

- 5 Složky ad 1), 3), 4), 5), 6), 7) a 8) se suspendují nebo rozpustí ve vyčištěné vodě a potáhnou se na částice jádra ad 2), takže se získají základní jemné částice, které se pak potáhnou složkami ad 9) až 11). Získají se potažené jemné částice, které se pak smíchají se složkou ad 12) za vzniku 500 g 1% jemných částíček sloučeniny. Tyto částice se rozdělí na 500mg dávky částic.

10

Experimentální příklad 1

1) Příprava ^{125}I –leuprorelu

- 15 Do zkumavky obsahující 10 μl $3 \cdot 10^{-4}\text{M}$ vodného roztoku leuprorelu a 10 μl 0,01 mg/ml lakto-peroxidázy se přidá 10 μl (37 MBq) roztoku Na^{125}I . Po promíchání se přidá 10 μl 0,001% peroxidu vodíku. Reakce se nechá probíhat 20 minut za teploty místnosti. Přidáním 700 μl 0,05% roztoku TFA (kyselina trifluoroctová) se reakce zastaví. Následuje vyčištění HPLC na obrátcených fázích. Podmínky použité pro HPLC jsou uvedeny níže. ^{125}I –leuprorelin byl eluován
- 20 v retenčním čase 26 až 27 minut.

Kolona: TSKgel ODS–80TM (TM znamená obchodní značku; totéž platí níže)
CTR (4,6 mm krát 10 cm).

- 25 Eluenty: rozpouštědlo A (0,05% TFA),
rozpuštědlo B (40% CH_3CN s 0,05% TFA),
0 minut (100 % rozpouštědla A) – 3 minuty (100 % rozpouštědla A) – 7 minut
(50 % rozpouštědla A + 50 % rozpouštědla B) – 40 minut
(100 % rozpouštědla B).

- 30 Eluční teplota: teplota místnosti.
Rychlost eluce: 1 ml/minutu.

2) Příprava krysí membránové frakce z předního laloku podvěsku mozkového obsahující GnRH receptory

35

- Přední laloky žláz podvěsku mozkového byly izolovány ze čtyřiceti krys Wistar (samci, stáří 8 týdnů) a promyty ledem ochlazeným homogenátovým pufrem [25mM Tris (tris(hydroxymethyl)aminomethan)–HCl, 0,3M sacharóza, 1mM EGTA (glykol–etherdiamin–N,N,N',N'–tetraoctová kyselina), 0,25mM PMSF (fenylmethylsulfonylfluorid), 10 j./ml aprotininu, 1 $\mu\text{g/kg}$ pepstatinu, 20 $\mu\text{g/ml}$ leupeptinu, 100 $\mu\text{g/ml}$ fosforamidonu, 0,03% azid sodný, pH 7,5]. Tkáň podvěsku mozkového byla nechána plavat ve 2 ml homogenátového pufru a homogenizována použitím homogenizátoru Polytron. Homogenát byl odstředován při 700 x g 15 minut. Super-
- 40

natant byl vložen do odstředivkové zkumavky a odstředování 1 hodinu při 100 000 x g. Získá se tak peleta membránové frakce. Tato peleta se suspenduje ve 2 ml testovacího pufru [25mM Tris-HCl, 1mM EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina), 0,1% BSA (hovězí serový albumin), 0,25mM PMSF, 1 µg/ml pepstatinu, 20 µg/ml leupeptinu, 100 µg/ml fosforamidonu a 0,03% azid sodný, pH 7,5] a suspenze se odstřeďuje 1 hodinu při 100 000 x g. Membránová frakce, která se izoluje jako peleta, byla resuspendována v 10 ml testovacího pufru, rozdělena na podíly, uchovávána při -80 °C a v případě potřeby roztáta.

3) Příprava membránové frakce buněk CHO (vaječník čínského křečka) obsahující GnRH receptor

Buňky CHO exprimující lidský GnRH receptor (10⁹ buněk) se suspendují ve fosforečnanem pufovaném solném roztoku doplněném o 5mM EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina) (PBS-EDTA) a odstřeďují se 5 minut při 100 x g. K buněčné peletě se přidá 10 ml buněčného homogenátového pufru (10mM NaHCO₃, 5mM EDTA, pH 7,5). Následuje homogenizace použitím homogenizátoru Polytron. Po odstředování 15 minut při 400 x g byl supernatant přenesen do ultraodstředivkové zkumavky a odstředován 1 hodinu při 100 000 x g. Získá se tak sraženina membránové frakce. Tato sraženina se suspenduje ve 2 ml testovacího pufru a odstřeďuje se 1 hodinu při 100 000 x g. Membránová frakce, která se izoluje jako sraženina, byla opět resuspendována ve 20 ml testovacího pufru, rozdělena a skladována při -80 °C před použitím do roztátí.

4) Stanovení míry inhibice navázání ¹²⁵I-leuporelinu

Shora připravené krysy a lidské membránové frakce (ad 2) a ad 3)) se zředí stejným testovacím roztokem. Získá se ředění 200 µg/ml. To se potom rozdělí po 188 µl na zkumavku. Když se používá krysí membránová frakce předního laloku podvěsku mozkového, přidá se současně do každé zkumavky 2 µl roztoku 0,1mM sloučeniny v 60% DMSO (dimethylsulfoxid) a 10 µl 38nM ¹²⁵I-leuporelinu. U membránové frakce buněk CHO s exprimovanými lidskými GnRH receptory se do každé zkumavky přidají současně 2 µl roztoku 2mM sloučeniny v 60% DMSO a 10 µl 38nM ¹²⁵I-leuporelinu. Pro stanovení maximálního navázaného množství se připraví reakční směs 2 µl 60% DMSO a 10 µl 38nM ¹²⁵I-leuporelinu. Pro stanovení množství nespecifické vazby se připraví reakční směs 2 µl 100µM leuporelinu v roztoku v 60% DMSO a 10 µl 38nM ¹²⁵I-leuporelinu.

Když se používá krysí membránová frakce předního laloku podvěsku mozkového, reakce se provádí 90 minut při 4 °C. Když se používá membránová frakce CHO s lidskými GnRH receptory, reakce se provádí 60 minut při 25 °C. Po každé reakci se reakční směs odpipetuje a zfiltruje skleněným filtrem Whatman ošetřeným polyethylenaminem (GF-F). Po této filtraci se gama-počítačem změří radioaktivita ¹²⁵I-leuporelinu zbývajících na filtračním papíru.

Pro nalezení míry inhibice navázání (%) každé testované sloučeniny se vypočte výraz (TB-SB)/(TB/NSB).100 (kde SB znamená radioaktivitu s přidanou sloučeninou, TB znamená maximální navázanou radioaktivitu, NSB znamená nespecificky navázanou radioaktivitou). Míra inhibice byla dále stanovena měněním koncentrace testované látky. Koncentrace 50% inhibice (hodnota IC₅₀) sloučeniny byla vypočtena z Hillova grafu. Výsledky jsou uvedeny níže.

testovaná sloučenina	míra inhibice navázání (%)		hodnota IC ₅₀ (µM)	
	krysa (1 µM)	člověk (20 µM)	krysa	člověk
sloučenina z příkladu č. 2	27	NT	NT	0,0001
sloučenina z příkladu č. 4-2	64	NT	0,5	0,0002

NT znamená naměřeno

5 Experimentální příklad 2

Potlačení plazmového LH u kastrováných opic

10 Sloučenina z příkladu č. 2 byla orálně podávána kastrováným samcům psích opic (*Macaca fascicularis*) a kvantitativně byl stanoven plazmový LH. Použití samci psích opic, kteří v době pokusu byli ve věku 4 let a 9 měsíců až 6 let a 3 měsíců, byly vykastrovány více než 3 měsíce před tímto pokusem. Testovaným zvířatům ($n = 3$) bylo podáno 30 mg/kg (3 ml/kg) sloučeniny suspendované v 0,5% methylcelulóze na konečnou koncentraci 1 % orálním podáním. Kontrolním zvířatům ($n = 2$) byly podány 3 ml/kg 0,5% methylcelulóзовého dispergačního činidla samotného orálním podáním. V době 24 hodin a těsně před podáním a v době 2, 4, 6, 8, 24 a 48 hodin po podání byla ze vzorků heparinizované plamy izolována krev femorální žíly a okamžitě skladována za podmínek mražení.

20 Koncentrace LH v plazmě byla stanovena biotestem použitím myších testikulárních buněk. Testikulární buňky byly izolovány od myších samců BALB/c (ve stáří 8 až 9 týdnů) a promyty třikrát 1 ml Dulbeccem modifikovaným Eagleho médiem (DMEM-H obsahujícím 20mM HEPES a 0,2% BSA na varle. Po 1 hodině inkubace při 37 °C se buňky nechaly projít nylonovým síťovým filtrem (70 μ m) a rozděleny do zkumavek v množství $8 \cdot 10^5$ buněk/zkumavku. Po dvojím promytí buněk 0,4 ml DMEM-H, byly přidány 0,4 ml DMEM-H roztoku obsahujícího 25 buď koňský LH (Sigma Company), jako standardní LH, nebo opičí plazmu, předem zředěné až 300krát, jako testovací vzorek. Následovala reakce 2 dny při 37 °C. Koncentrace testosteronu v kultivačním supernatantu byla stanovena radioimunotestem (CIS Diagnostic Company). Koncentrace LH v plazmě testované opice byla vypočtena ze standardní křivky pro standardní koňský LH.

30 Výsledky jsou společně uvedeny na obrázku 1.

35 Koncentrace LH je vyjádřena v procentech (%) základní koncentrace LH bezprostředně po podání každé jednotlivé psí opici a je uvedena jako průběh doby s dobou podání branou jako 0 (označeno šipkou). Hodnoty přes a po podání jsou označeny jako minus, respektive plus znaménko. Kontrolní skupina-1 (—▲—) a kontrolní skupina-2 (—◆—) znamenají orální podání dávky pouze s 0,5% methylcelulóзовým dispergačním činidlem (3 ml/kg), zatímco skupina sloučeniny-1 (—△—), skupina sloučeniny-2 (—□—) a skupina sloučeniny-3 a (—○—) podobně obdržely disperzi sloučeniny z příkladu č. 2 v 0,5% methylcelulóze (30 mg/kg, 3 ml/kg).

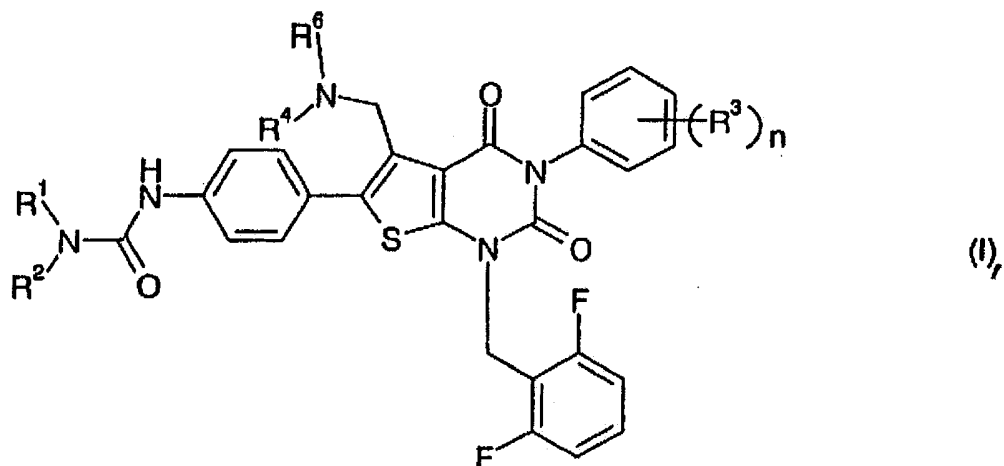
40 Kontrolní skupiny vykazovaly malé změny koncentrace plazmového LH dokonce i po podání. Naopak, u skupiny sloučenin koncentrace plazmového LH vykazovala rychlý spád počínající bezprostředně po podání a tento spád pokračoval až na 20 nebo méně % základní hodnoty po 24 hodinách od podání. Potom, po 48 hodinách od podání, bylo zaznamenáno opětovné zvýšení 45 koncentrace plazmového LH.

Shora uvedené výsledky ukazují, že sloučenina z příkladu č. 2, podávaná orálně, má významný depresivní účinek na koncentraci krevního LH.

50 Z předcházejících výsledků je zřejmé, že sloučeniny podle předloženého vynálezu antagonizují receptory LH-RH podvěsku mozkového blokovat LH-RH stimulaci z hypothalamu pro inhibování uvolňování LH.

Průmyslová využitelnost

Sloučenina podle předloženého vynálezu má vynikající aktivitu antagonistovat hormon uvolňující gonadotropin. Má také dobrou orální absorbovatelnost a vynikající stabilitu a farmakokinetiky. Při nízké toxicitě vykazuje také vynikající bezpečnost. Sloučenina podle předloženého vynálezu se tedy může používat jako profylaktické nebo terapeutické činidlo u onemocnění závislých na hormonech atd. Konkrétně je účinná jako profylaktické nebo terapeutické činidlo u rakovin závislých na pohlavních hormonech (např. rakovině prostaty, rakovině dělohy, rakovině prsu, nádoru podvěsku mozkového atd.), u hypertrofie prostaty, hysteromyomu, endometrióze, předčasné puberty, syndromu amenorey, syndromu vícemístného vaječníku, uhrů atd., nebo jako regulátor těhotenství (např. antikoncepční činidlo), léčivo při neplodnosti nebo regulátor menstruace. Je také účinná jako regulátor říje u zvířat, činidlo zlepšující kvalitu masa jako potraviny nebo regulátor růstu zvířat v oblasti hospodářství zvířat a jako promotor tření ryb v oblasti rybářství.

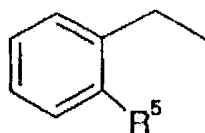
PATENTOVÉ NÁROKY**1. Thienopyrimidin obecného vzorce I**

v němž R^1 i R^2 znamená atom vodíku, hydroxylovou skupinu, alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxy(s 1 až 4 atomy uhlíku)karbonylovou skupinu nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována substituenty vybranými ze skupin (i) hydroxy, (ii) acyloxy s 1 až 7 atomy uhlíku, (iii) benzyloxy, (iv) amino, která může být substituována 1 až 2 substituenty vybranými ze skupin alkoxy(s 1 až 6 atomy uhlíku)karbonyl, benzyloxykarbonyl, acyl s 1 až 4 atomy uhlíku, alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku a alkyl(s 1 až 3 atomy uhlíku)sulfonyl, (v) alkoxy s 1 až 10 atomy uhlíku, (vi) cykloalkyloxy(se 3 až 7 atomy uhlíku)karbonyl-alkoxy-(s 1 až 3 atomy uhlíku) a (vii) alkoxy(s 1 až 3 atomy uhlíku)-alkoxy(s 1 až 3 atomy uhlíku),

R^3 znamená atom vodíku, atom halogenu, hydroxylovou skupinu nebo alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována shora jmenovanými substituenty (i) až (vii) nebo dvě přilehlé skupiny R^3 mohou společně tvořit alkylendioxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

R^4 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

R^6 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována shora jmenovanými substituenty (i) až (vii) nebo skupinu obecného vzorce

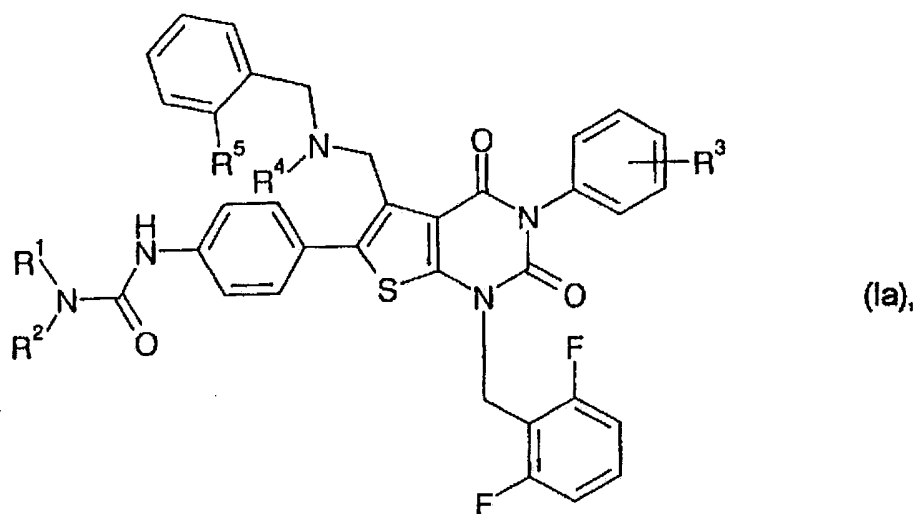


v němž R^5 znamená atom vodíku nebo R^4 a R^5 mohou společně tvořit pětičlenný nebo šestičlenný heterocyklický kruh a

5 n znamená celé číslo 0 až 5,

nebo jeho sůl.

2. Thienopyrimidin podle nároku 1 obecného vzorce Ia



10

v němž R^1 i R^2 znamená atom vodíku, hydroxylovou skupinu, alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována skupinami (i) až (vii) jmenovanými v nároku 1,

15 R^3 znamená atom vodíku, atom halogenu, nebo alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

R^4 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku a

R^5 znamená jak uvedeno v nároku 1,

20

nebo jeho sůl.

3. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I, v němž R^1 znamená alkoxy skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, nebo její sůl.

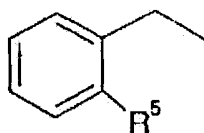
25

4. Sloučenina podle nároku 3 obecného vzorce I, v němž R^2 znamená atom vodíku, nebo její sůl.

5. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I, v němž R^3 znamená atom vodíku, nebo její sůl.

30

6. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I, v němž R^6 znamená skupinu obecného vzorce



kde R^5 má význam uvedený v nároku 1, nebo její sůl.

7. Sloučenina podle nároku 2 obecného vzorce I, v němž R^4 znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a R^5 znamená atom vodíku, nebo její sůl.

8. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I, v němž n znamená číslo 1 nebo 2, nebo její sůl.

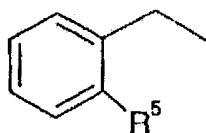
9. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I, v němž R^1 znamená hydroxylovou skupinu, alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která může být substituována hydroxylovou skupinou nebo alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)karbonyloxy skupinou,

R^2 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkoxy(s 1 až 4 atomy uhlíku)karbonylovou skupinu,

R^3 znamená atom vodíku, atom halogenu, hydroxylovou skupinu nebo alkoxy(s 1 až 4 atomy uhlíku)-alkoxy(s 1 až 4 atomy uhlíku)skupinu, nebo dvě přilehlé skupiny R^3 mohou společně tvořit alkylendioxy skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku,

R^4 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku,

R^6 znamená alkoxy(s 1 až 4 atomy uhlíku)-alkylovou(s 1 až 4 atomy uhlíku) skupinu, nebo skupinu obecného vzorce



v němž R^5 znamená atom vodíku nebo R^4 a R^5 společně tvoří pětičlenný nebo šestičlenný heterocyklický kruh a

n znamená číslo 1 nebo 2,

nebo její sůl.

10. Sloučenina podle nároku 1 obecného vzorce I, v němž R^1 znamená hydroxylovou skupinu, methoxy skupinu nebo alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku,

R^2 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku,

R^4 znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku,

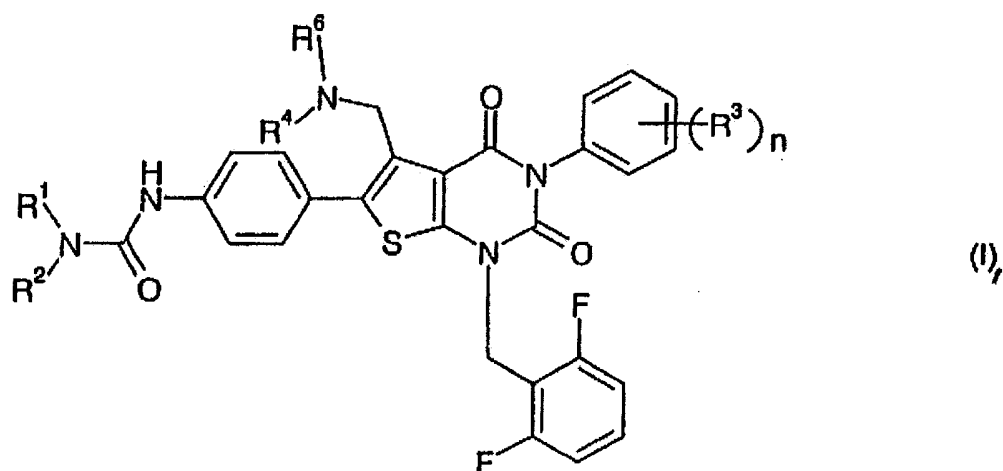
R^6 znamená benzylovou skupinu a

n znamená číslo 0,

nebo její sůl.

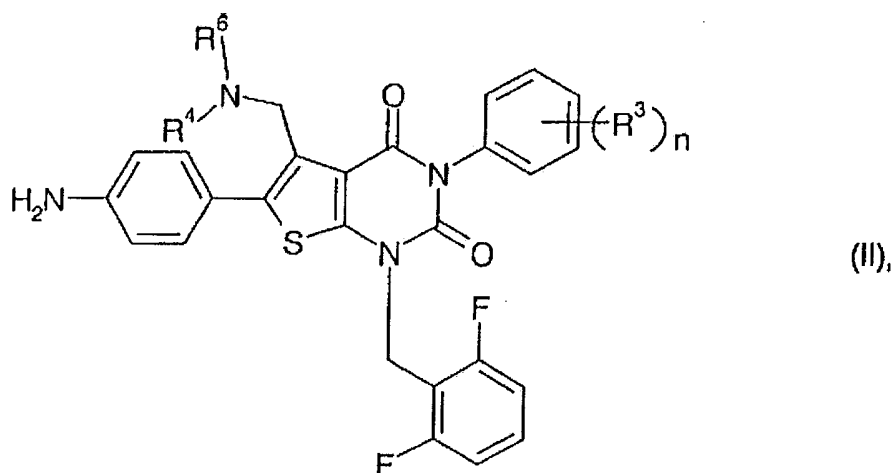
11. 5-(N-Benzyl-N-methylaminomethyl)-1-(2,6-difluorbenzyl)-6-[4-(3-methoxyureido)-feryl]-3-fenylthieno[2,3-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion nebo jeho sůl.

12. Způsob výroby thienopyrimidinové sloučeniny podle nároku 1 obecného vzorce I



5

v němž R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a n mají význam uvedený v nároku 1, nebo její soli, vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce II



10

v němž R^3 , R^4 , R^5 , R^6 a n mají význam uvedený v nároku 1, nebo její sůl, nechá reagovat s karbonyldiimidazolem nebo fosgenem, načež následuje reakce se sloučeninou obecného vzorce III



15

v němž R^1 a R^2 mají význam uvedený v nároku 1, nebo její soli.

13. Farmaceutický přípravek, vyznačující se tím, že obsahuje sloučeninu podle nároku 1 nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl.

20

14. Farmaceutický přípravek podle nároku 13, pro antagonizování hormonu uvolňujícího gonadotropin.

15. Farmaceutický přípravek podle nároku 14 pro předcházení nebo léčení onemocnění závislého na pohlavních hormonech.

25

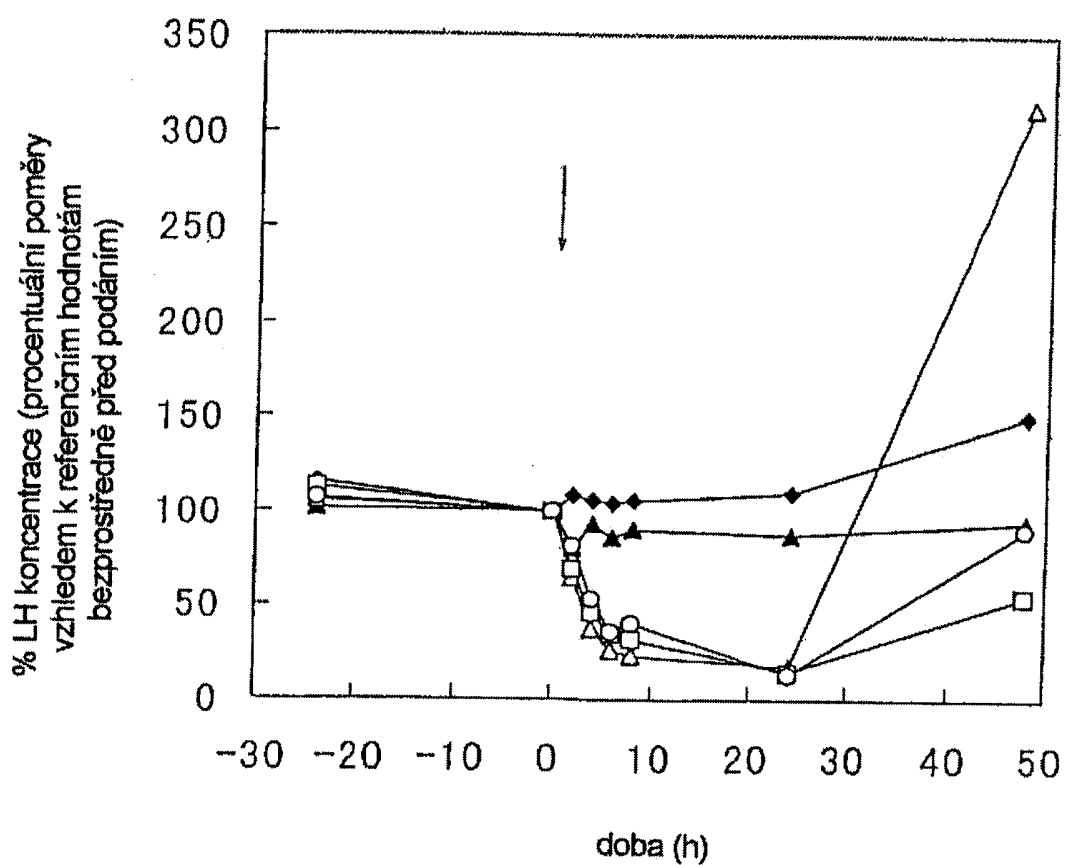
16. Použití sloučeniny podle nároku 1 nebo její farmaceuticky přijatelné soli pro výrobu farmaceutického přípravku pro antagonizování hormonu uvolňujícího gonadotropin.

5

1 výkres

Obr. 1

LH koncentrace v plasmě kastrované psí opice



- ▲- kontrolní skupina-1
- ◆- kontrolní skupina-2
- △- skupina sloučeniny-1
- skupina sloučeniny-2
- skupina sloučeniny-3

Konec dokumentu