(19)

SUOMI - FINLAND
(FI)

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

(10) **FI 922340 A7**

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

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 922340

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07D487/04

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **22.05.1992**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **22.05.1992**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **24.11.1992**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

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

23.05.1991 GB 9111130

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **Imperial Chemical Industries PLC,** 20 Manchester Square, London W1U 3AN, ISO-BRITANNIA, (GB)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Caulkett, Peter William Rodney,** United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)
2 • **Jones, Geraint,** United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)
3 • **Poucher, Simon Martin,** United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)
4 • **Collis, Michael George,** United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Atsolijohdannaisia

Tämä keksintö koskee uusia atsolijohdannaisia ja tarkemmin määriteltynä tiettyjä 2-furyylitriatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiineja, joilla on hyödyllisiä farmakologisia ominaisuuksia (ja jotka vaikuttavat erityisesti adenosiinin vaikutusten, kuten verisuonten laajenemisen, vastaisesti). Tämän keksinnön piiriin kuuluu myös näitä uusia atsolijohdannaisia sisältäviä farmaseuttisia koostumuksia käytettäviksi nisäkkäiden tiettyjen sydän-, ääreisverisuoni- ja aivoverisuonijärjestelmiin vaikuttavien sairauksien ja häiriöiden hoitoon. Keksinnön piiriin kuuluu myös menetelmä näiden uusien atsolijohdanaisten valmistamiseksi ja formuloimiseksi.

Teofylliiniä (1,3-dimetyyliksantiinia) on käytetty kliinisesti (tavallisesti etyleenidiamiinisuolanaan, joka tunnetaan myös aminofylliininä) hengitysstimulanttina, keskushermostoon vaikuttavana stimulanttina, keuhkoputkia laajentavana aineena, sydänstimulanttina ja diureettina. Tämä kliinisten käyttötarkoitusten moninaisuus on osoitus teofylliiniin farmakologisten vaikutusten laajasta alueesta. Niihin kuuluvat fosfodiesteraasin inhibitio, adenosiinireseptoriantagonismi, solunsisäisen kalsiumin mobilisointi ja katekoliamiinien vapautus. Jokin aika sitten teofylliinin on raportoitu olevan käyttökelpoinen sydänlihasiskemian (Maseri *et al.*, The Lancet, 1989, 683 - 686), luustolihasiskemian (Picano *et al.*, Angiology 1989, painossa) ja aivoiskemian hoidossa [Skinhoj *et al.*, Acta. Neurol. Scand. 46 (1970) 129 - 140]. Teofylliinin suotuisten vaikutusten näissä iskemiahäiriöissä otaksutaan johtuvan nimellä "vascular steal" tunnetun ilmiön vähentymisestä tai estymisestä sen ansiosta, että tällä yhdisteellä on kyky vastustaa adenosiinin vaikutuksia salpaamalla adenosiinireseptoreja, jotka ovat välittäjinä metaboliaan liittyvässä verisuonten laajenemisessa.

"Vascular steal" -ilmiö voi tapahtua, kun johonkin määrättyyn verisuonipatjaan verta tuova päävaltimo tukkeutuu osittain tai kokonaan, jolloin seurauksena on iskemia. Tässä tilanteessa vaarantunut verisuonipatja laajenee ja veren virtausta pidetään yllä joko kaventuneen suonen poikki tai rinnakkaisten suonien läpi tapahtuvan virtauksen kasvamisella. Voimistunut metabolinen aktiivisuus viereisissä verisuonipatjoissa johtaa kuitenkin sellaisten välittäjäaineiden kuin adenosiinin vapautumiseen, mikä saa aikaan niiden laajenemisen, joka johtaa rajoittuneeseen veren virtaukseen vaarantuneeseen verisuonipatjaan, jota nämä viereiset alueet "ryöstävät". Veren häviäminen vaarantuneesta patjasta "vascular steal" -ilmiön vuoksi verisuonipatjoihin, joissa perfuusio on normaali, vähentää edelleen veren virtausta vaarantuneessa verisuonipatjassa. Teofylliinin moninaiset farmakologiset ominaisuudet tekevät vaikeaksi sen käytön verisuoniston tukkeumasairauksien ja -tilojen sännöllisessä hoidossa tai ehkäisyssä. Sen toiminta samalla fosfodiesteraasi-inhibiittorina johtaa sydämen stimulaatioon, joka on haitallista sydänlihasiskemiapotilaille. Teofylliinin suhteellisen alhainen teho merkitsee lisäksi sitä, että terapeuttisesti käyttökelpoiset annostasot ovat lähellä annoksia, jotka voivat aiheuttaa vakavia keskushermostosivuvaikutuksia.

EP-hakemusjulkaisussa 383 589 esitetään tiettyjen 2-furyylipyratsoli[2,3-a][1,3,5]triatsiinien kaavoja, mutta ei esitetä niiden valmistusta koskevia yksityiskohtia. Yhdelläkään näistä yhdisteistä ei esitetä olevan terapeuttista käyttöä.

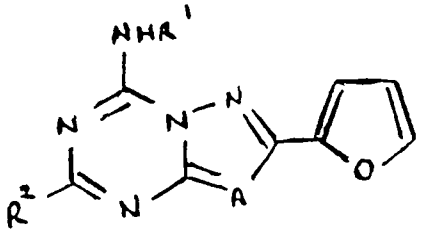
Muutamille triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiineilla ja pyratsolo[2,3-a][1,3,5]triatsiineille, joissa ei ole 2-furyylisubstituenttia, on esitetty terapeuttisia käyttökohteita. Niinpä tiettyjen triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinien on esitetty olevan keuhkoputkia laajentavia aineita (US-patenttijulkaisu 4 734 413). Tiettyjä pyratsolo-

[2,3-a][1,3,5]triatsiineja on kuvattu vaihtelevasti mahan haponerityksen estäjiksi (GB-hakemusjulkaisu 2 134 107 ja EP-hakemusjulkaisu 0 172 608); anti-inflammatorisiksi aineiksi (EP-hakemusjulkaisut 0 172 608 ja 207 651); keuhkoputkia laajentaviksi aineiksi (GB-hakemusjulkaisu 2 016 002, BE-patenttijulkaisu 815 405 ja US-patenttijulkaisu 3 995 039) ja fosfodiesteraasi-inhibiitoreiksi [US-patenttijulkaisu 3 846 423 ja J. Med. Chem. 25(3) (1982) 243 - 249].

EP-hakemusjulkaisussa 459 702, joka on julkaistu 4. joulukuuta 1991, esitetään tiettyjä 2-heteroaryylitriatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiineja ja pyratsolo[2,3-a][1,3,5]-triatsiineja, joilla on adenosiiniantagonistiaktiivisuus.

Olemme nyt havainneet (mikä on pohjana keksinnöllemme), että ryhmä jäljempänä määriteltävän kaavan I mukaisia uusia 2-furyylitriatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiineja on tehokkaita adenosiinin vaikutusten ja erityisesti sen verisuonia laajentavien vaikutusten antagonisteja.

Tämän keksinnön mukaisesti tarjotaan käyttöön yhdiste, jolla on kaava I,



(I)

jossa

R^1 on vetyatomi tai C_{1-6}-alkyyli- tai C_{1-4}-alkanoyyliryhmä;

R^2 on fenyyliryhmä, C-atomiin sitoutunut aromaattinen 5- tai 6-jäseninen heterosyklinen rengas, joka sisältää yhden happiatomin tai rikkiatomin ja/tai yksi tai kaksi typpiatomia, tai C_{1-8}-alkyyli-, -alkenyyli- tai -alkynyyliryhmä, joka on substituoimaton tai substituoitu fe-

nyyliryhmällä tai C-atomiin sitoutuneella aromaattisella 5- tai 6-jäsenisellä heterosyklisellä renkaalla, joka sisältää yhden happiatomin tai rikkiatomin ja/tai yksi tai kaksi typpiatomia, jolloin mahdolliset fenyyliryhmät ovat substituoimattomia tai substituoituja yhdellä, kahdella tai kolmella ryhmällä, joita ovat C_{1-4}-alkyyli- ja C_{1-4}-alkoksyyliryhmät, halogeeniatomit ja trifluorimetyyli-, hydroksyyli-, bentsyylioksyyli- ja C_{1-5}-alkanoyylioksyyliryhmät;

A on N tai CT, jossa T on vetyatomi tai C_{1-4}-alkyyliryhmä;

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola.

Ymmärrettäneen, että tietyt kaavan I mukaisista yhdisteistä voivat esiintyä tai olla eristettävissä yhdessä tai useammassa erilaisessa enantiomeerisessa tai raseemisessa muodossa (tai niiden seoksina). On ymmärrettävä, että keksinnön piiriin kuuluu mikä tahansa tällainen muoto, jolla on adenosiinin vaikutuksia antagonisoiva ominaisuus; on hyvin tunnettua, miten yksittäisiä enantiomeerisia muotoja valmistetaan esimerkiksi syntetisoimalla asianomaisista kiraalisista lähtöaineista tai jakamalla raseeminen muoto enantiomeereiksi. Samoin tietyssä muodossa olevan adenosiiniantagonistin ominaisuuksia voidaan helposti tutkia, esimerkiksi käyttämällä yhtä tai useampaa tavanomaista *in vitro* tai *in vivo* -testiä, joita kuvataan yksityiskohtaisesti jäljempänä.

R^1 voi olla esimerkiksi vetyatomi tai metyyli- tai asetyyliryhmä. R^1 on edullisesti vetyatomi.

Kun R^2 on C_{1-8}-alkyyli-, -alkenyyli- tai -alkynyyliryhmä, se voi olla suoraketjuinen tai haarautunut. Se on edullisesti suoraketjuinen. Substituoitu C_{1-8}-alkyyli-, -alkenyyli- tai -alkynyyliryhmä on edullisesti substituoitu pääteasemassaan. Kun R^2 on alkenyyli- tai alkynyyliryhmä, se liittyy edullisesti triatsiinirenkaan asemaan 5 suoraan

kaksois- tai kolmoissidoksen kautta. Alkenyyliryhmä voi olla E- tai Z-konfiguraatiossa.

Erityisesimerkkejä C_{1-8}-alkyyli-, -alkenyyli- ja -alkynyyliryhmistä ovat seuraavat:

alkyyliryhmät: metyyli-, etyyli-, propyyli-, butyyli-, pentyyli- ja heksyyliryhmät;

alkenyyliryhmät: etenyyli-, propenyyli-, butenyyli-, pentenyyli- ja heksenyyliryhmät;

alkynyyliryhmät: etynyyli-, propynyyli-, butynyyli-, pentynyyli- ja heksynyyliryhmät.

R^2 on edullisesti ryhmä, jolla on kaava $R^3(CH_2)_nX_m$, jossa n on 0 tai kokonaisluku 1 - 6; m on 0 tai 1; X on HC≡CH ti C≡C; R^3 on fenyyliryhmä, joka on substituoimaton tai substituoitu yhdellä, kahdella tai kolmella ryhmällä, joita ovat C_{1-4}-alkyyli- ja C_{1-4}-alkoksyyliryhmät, halogeeniatomit ja trifluorimetyyli-, hydroksyyli-, bentsyylioksyyli- ja C_{1-5}-alkanoyylioksyyliryhmät, C-atomiin sitoutuneella aromaattisella 5- tai 6-jäsenisellä heterosyklisellä renkaalla, joka sisältää yhden happiatomin tai rikkiatomin ja/tai yksi tai kaksi typpiatomia, C-atomiin sitoutunut aromaattinen 5- tai 6-jäseninen heterosyklinen rengas, joka sisältää yhden happiatomin tai rikkiatomin ja/tai yksi tai kaksi typpiatomia, tai kun n on suurempi kuin 0, vetyatomi.

Erityisesimerkkejä fenyyliryhmän mahdollisista substituenteista ovat seuraavat:

C_{1-4}a-lkyyliryhmät: metyyli- ja etyyliryhmät;

C_{1-4}-alkoksyyliryhmät: metoksyyli- ja etoksyyliryhmät;

halogeeniatomit; fluori ja kloori;

C_{1-5}-alkanoyylioksyyliryhmät; pivaloyylioksyyliryhmä.

Esimerkkeihin substituoimattomista ja substituoiduista fenyyliryhmistä kuuluvat seuraavat: 4-metyylifenyyli-, 4-metoksifenyyli-, 3-fluorifenyyli-, 4-fluorifenyy-

li-, 3,5- difluorifenyyli-, 3-trifluorimetyylifenyyli-, 4-trifluorimetyylifenyyli-, 4-hydroksifenyyli-, 4-bentsyylioksifenyyli- ja 4-pivaloyylioksifenyyliryhmät.

Erityisesimerkkejä C-atomiin sitoutuneista aromaattisista 5- tai 6-jäsenisistä renkaista, jotka sisältävät yhden happiatomin tai rikkiatomin ja/tai yksi tai kaksi typpiatomia, ovat tiofenyyli-, furyyli-, pyridyyli- ja tiatsolyyliryhmät.

Erityisesimerkkejä luvusta n ovat 0 ja 2.

Erityisesimerkkejä ryhmistä R^2 ovat fenyyli-, 3-trifluorimetyylifenyyli-, 4-metoksifenyyli-, 4-metyylifenyyli-, 3-fluorifenyyli-, 3,5-difluorifenyyli, tiofenyyli-, 4-bentsyloksibentsyyli-, heks-1-ynyyli-, but-3-enyyli-, 2-fenyylietynyyli-, 2-fenyylietyyli- ja 3-fenyylipropyyliryhmät.

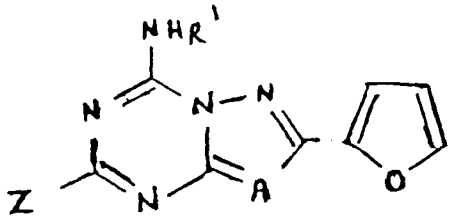
A voi olla esimerkiksi N tai CT, jossa T on vetyatomi tai metyyliryhmä. A on edullisesti N tai CH.

Erityisesimerkkeihin farmaseuttisesti hyväksyttävistä suoloista kuuluvat suolat fysiologisesti hyväksyttäviä anioneja muodostavien happojen kanssa, esimerkiksi vahvojen happojhen, kuten vetykloridi-, vetybromidi-, rikki-, fosfori-, metaanisulfoni- ja trifluorietikkahapon, kanssa muodostetut suolat. Riittävän emäksisten kaavan I mukaisten yhdisteiden ollessa kyseessä soveltuviin suoloihin kuuluvat lisäksi esimerkiksi suolat fysiologisesti hyväksyttäviä anioneja muodostavien orgaanisten happojen, kuten oksaali-, sitruuna tai maleiinihapon, kanssa. Tietyt kaavan I mukaiset yhdisteet, esimerkiksi sellaiset, joissa R^2 on fenoliryhmä, voivat muodostaa emässuoloja fysiologisesti hyväksyttäviä kationeja muodostavien emästen, kuten alkalimetalli- ja maa-alkalimetallisuolojen kanssa.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa käyttämällä menettelyjä, jotka ovat analogisia heterosyklisten yhdisteiden ja orgaanisen kemian aloilla tunnetuille menetelmille rakenteellisesti vastaavien yhdisteiden

valmistamiseksi. Tällaiset menettelyt kuuluvat keksinnön piiriin sen yhtenä lisäpiirteenä, ja niiden joukossa ovat seuraavat edulliset menettelyt yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava I, jossa R^1, R^2 ja A ovat edellä määriteltyjä.

(a) Saatetaan yhdiste, jolla on kaava II,

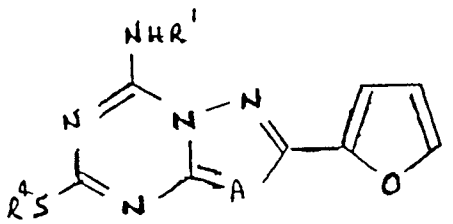


(II)

jossa Z on sopiva poistuva ryhmä, esimerkiksi hydrokarbyylisulfonyyliryhmä, kuten C_{1-6}-alkyylisulfonyyliryhmä (kuten metyylisulfonyyli- tai etyylisulfonyyliryhmä), tai halogeeniatomi (kuten kloori-, bromi- tai jodiatomi), reagoimaan sopivan organometallireagenssin kanssa (kuten Grignard-reagenssin kanssa, jolla on kaava R^2MgY, jossa Y on halogeeniatomi, kuten kloori-, bromi- tai jodiatomi)

Menetelmä on kätevä toteuttaa lämpötilassa, joka on esimerkiksi alueella 10 - 120 °C, mielellään 15 - 80 °C, ja sopivassa liuottimessa tai laimennusaineessa, kuten eetterissä, esimerkiksi dietyylieetterissä tai tetrahydrofuraanissa. Se on erityisen edullinen yhdisteiden valmistamiseksi, joilla on kaava I, jossa R^2 on substituoimaton tai substituoitu fenyyliryhmä.

Kaavan II mukaisia lähtöaineita voidaan valmistaa alalla hyvin tunnetuin tavanomaisin menetelmin. Niinpä esimerkiksi sellaisia yhdisteitä, joilla on kaava II, jossa Z on alkyylisulfonyyliryhmä, voidaan valmistaa hapettamalla vastaava alkyylitiojohdannainen, jolla on kaava III,

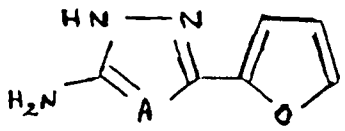


(III)

jossa R^4 on C_{1-6}-alkyylitioryhmä, käyttämällä tavanomaista hapetinta, kuten perhappoa, esimerkiksi peretikka-, perbentsoe- tai klooriperbentsoehappoa, sopivan lämpötilan ollessa alueella 0 - 40 °C ja sopivassa liuottimessa tai laimennusaineessa, kuten dikloorimetaanissa tai trikloorimetaanissa. Yhdisteitä, joilla on kaava II, jossa Z on kloori- tai bromiatomi, voidaan vastaavasti valmistaa esimerkiksi saattamalla alkyylitiojohdannainen, jolla on kaava III (jossa R^4 on erityisesti metyylitio- tai etyylitioryhmä), reagoimaan kloorin tai bromin kanssa vetykloridin tai vastaavasti vetybromidin läsnä ollessa lämpötilassa, joka on yleisellä alueella, esimerkiksi -20 - 15 °C, yleisesti ottaen inertissä polaarisessa liuottimessa kuten etanolissa tai 2-propanolissa.

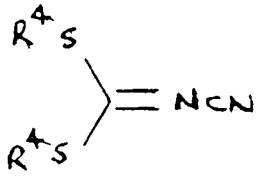
Kun käytetään Grignard-reagenssia, jolla on kaava R^2MgY, se voidaan valmistaa kätevästi *in situ* saattamalla kaavaa R^2Y vastaava yhdiste reagoimaan magnesiumin kanssa.

Itse kaavan III mukaisia alkyylitiolähtöaineita voidaan valmistaa esimerkiksi saattamalla yhdiste, jolla on kaava IV,



(IV)

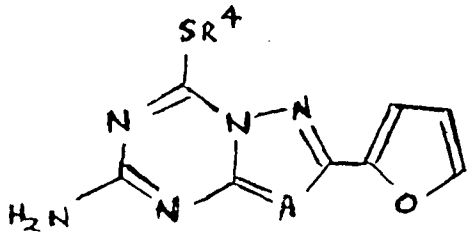
reagoimaan sopivan N-syanoditioiminokarbonaatin kanssa, jolla on kaava V,



(V)

jossa R^4 on mikä tahansa edellä määritelty ryhmä, korotetussa lämpötilassa, joka on esimerkiksi alueella 60 - 200 °C, kätevästi sulatteena liuottimen tai laimennusaineen poissa ollessa, jolloin saadaan yhdiste, jolla on kaava III, jossa R^1 on vetyatomi. Kun tarvitaan yhdiste, jolla on kaava I, jossa R^1 on alkyyliryhmä, yhdiste, jolla on kaava III, jossa R^1 on vety, voidaan alkyloida tai asyloida tavanomaisesti.

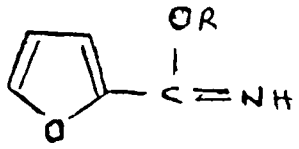
Ymmärrettäneen, että joissakin olosuhteissa, kun A on N, saattaa syntyä myös jonkin verran isomeerista 7-alkyylitio-5-aminoyhdistettä, jolla on kaava VI,



(VI)

kaavojen IV ja V mukaisten yhdisteiden reaktion aikana, ja että tämä materiaali voidaan erottaa tavanomaisin menetelmin, esimerkiksi kromatografisesti.

Itse lähtöaineyhdisteitä, joilla on kaava IV, jossa A on N, voidaan valmistaa esimerkiksi saattamalla sopiva iminoeetteri, jolla on kaava VII,

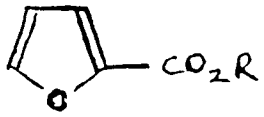


(VII)

jossa R on C_{1-4}-alkyyliryhmä, kuten metyyli- tai etyyliryhmä, (muodostettu 2-furonitriilistä ja kaavan ROH mukaisesta alkoholista vedettömän hapon, kkuten vetykloridin, läsnä ollessa), reagoimaan aminoguanidiinisuolan (erityisesti nitraatin) kanssa sopivan emäksen, kuten pyridiinin tai

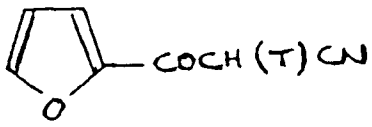
2,6-lutidiinin, läsnä ollessa, jota emästä voidaan käyttää myös liuottimena reaktiossa, esimerkiksi alueella 60 - 120 °C olevassa lämpötilassa.

Itse lähtöaineyhdisteitä, joilla on kaava IV, jossa A on CT, voidaan valmistaa esimerkiksi saattamalla sopiva esteri, jolla on kaava VIII,



(VIII)

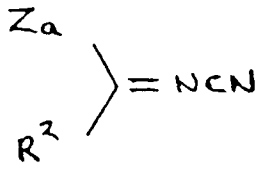
jossa R on alempi alkyyliryhmä, kuten metyyli- tai etyyliryhmä) reagoimaan emäksisissä olosuhteissa alkalimetallisuolan kanssa, jolla on kaava TCHMCN (jossa M on alkalimetalli, kuten natrium tai litium) ja joka valmistetaan kätevästi *in situ* lisäämällä nitriiliä, jolla on kaava TCH_2CN, alkalimetallin liuokseen nestemäisessä ammmoniakissa, jolloin saadaan vastaava syanoalkyyliketoni, jolla on kaava IX.



(IX)

Viimeksi mainittu yhdiste syklisoidaan sitten hydratsiinilla, esimerkiksi kuumentamalla sopivassa liuottimessa tai laimennusaineessa, kuen etanolissa tai propanolissa, jolloin saadaan tarvittava pyratsoli, jolla on kaava IV.

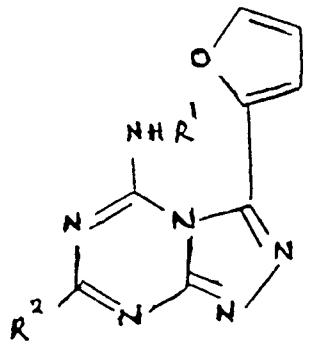
(b) Saatetaan yhdiste, jolla on kaava IV, reagoimaan korotetussa lämpötilassa yhdisteen kanssa, jolla on kaava X,



(X)

jossa Za on poistuva ryhmä (kuten C_{1-6}-alkyylitioryhmä, esimerkiksi metyylitioryhmä).

Tämä menettely toteutetaan yleensä yleisellä alueella, esimerkiksi alueella 60 - 200 °C, olevassa lämpötilassa ja se voidaan toteuttaa liuottimen tai laimennusaineen poissa ollessa. Voidaan myös kätevästi käyttää mitä tahansa tavanomaista liuotinta, joka on yleisesti ottaen inerttiä ja jolla on riittävän korkea kiehumispiste. Ymmärrettäneen, että tietyissä olosuhteissa, kun A on N, esimerkiksi toteutettaessa reaktio vain hieman huoneenlämpötilan yläpuolella olevassa lämäpötilassa, saattaa syntyä merkittäviä määriä termodynaamisesti vähemmän stabiilia isomeerista [1,2,4]triatsolo[4,3-a][1,3,5]triatsiinijohdannaista, jolla on kaava XI,



(XI)

ja tämä isomeerinen materiaali voidaan erottaa tavanomaisin menetelmin, kuten kromatografisesti.

Kaavan X mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa menetelmällä jota kuvataan julkaisussa Arch. Pharm. (Weinheim) 303(8), s. 625 - 633.

(c) Keksintö tarjoaa siten käytettäväksi lisämenetelmän yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava I, jossa A on N, jossa menetelmässä saatetaan kaavan XI mukainen [1,2,4]triatsolo[4,3-a][1,3,5]triatsiinijohdannainen toisiintumaan.

Toisiintumisreaktio toteutetaan yleisesti esitettynä kuumentamalla kaavan XI mukaista yhdistettä sopivassa liuottimessa tai laimennusaineessa, esimerkiksi C_{1-6}-alkanolissa, kuten etanolissa, 2-propanolissa tai butanolissa, lämpötilassa, joka on yleisellä alueella, esimerkiksi 60 - 140 °C. Toisiintumisreaktio voidaan mahdollisesti toteuttaa happo- tai emäskatalysaattorin, esimerkiksi alkalimetallialkoksidin tai -hydroksidin, kuten natriumhydroksidin, läsnä ollessa.

Kaavan XI mukaisia lähtöaineita voidaan valmistaa esimerkiksi edellä kohdassa (b) kuvatulla tavalla.

(d) Sellaisten yhdisteiden kohdalla, joilla on kaava I, jossa R^2 on hydroksifenyyliryhmä, poistetaan suojaus vastaavasta kaavan I mukaisesta johdannaisesta, jonka hydroksyyliryhmä on suojattu, esimerkiksi bentsyyliryhmällä.

Ymmärrettäneen, että yhdisteisiin, joilla on kaava I, jossa R^2 on hydroksifenyyliryhmä, kuuluvat yhdisteet, joissa R^2 on hydroksifenyyliryhmä, ja yhdisteet, joissa osa ryhmästä R^2 on hydroksifenyyli, kuten esimerkiksi hydroksifenyylialkyyliryhmässä.

Suojausryhmät ja niiden poisto-olosuhteet ovat alalla tunnettuja hydroksyyliryhmien yhteydessä käytettäviä ryhmiä ja olosuhteita, jotka ovat yhteensopivia muiden reaktiivisten ryhmien läsnäolon kanssa kaavan I mukaisessa yhdisteessä. Niinpä esimerkiksi bentsyyliryhmä voidaan poistaa hydraamalla sopivan katalysaattorin, kuten hiilellä olevan palladiumin, läsnä ollessa suunnilleen 1 baarin

vetypaineessa sopivassa inertissä laimennusaineessa tai liuottimessa, kuten metanolissa, etanolissa tai t-butyylimetyylieetterissä, suunilleen huoneenlämpötilassa.

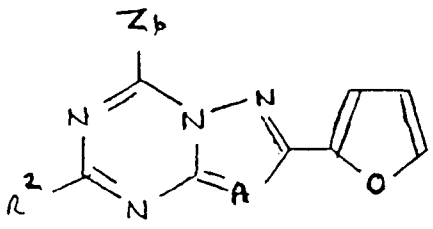
Kaavan I mukaisia suojattuja johdannaisia voidaan yleisesti esitettynä valmistaa käyttämällä tässä esitettyjen menetelmien (a) - (c) ja (e) kanssa analogisin menettelyin käyttämällä kuitenkin asianmukaisesti suojattuja lähtöaineita.

(e) Sellaisen yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava I, jossa R^2 on substituoimaton tai substituoitu alkynyyliryhmä [kuten ryhmä, jolla on kaava $R^3(CH_2)_nC{\equiv}C$], yhdiste, jolla on kaava II, jossa Z on jodi, saatetaan reagoimaan asianmukaisen alkyynin (kuten kaavaa $R^3(CH_2)_nC{\equiv}C$] vastaavan yhdisteen) kanssa palladiumkatalysaattorin läsnä ollessa.

Soveltuviin palladiumkatalysaattoreihin kuuluvat palladium(II)suolaa, esimerkiksi palladium(II)asetaattia tai palladium(II)kloridia; fosfiinia, kuten trifenyylifosfiinia; ja mahdollisesti tertiaarista amiinia, kuten trietyyliamiinia ja/tai kuparijodidia sisältävät katalysaattorit.

Reaktio on kätevä tehdä alueella 0 - 100 °C, edullisesti 10 - 40 °C, olevassa lämpötilassa. Tämän reaktion yhteydessä sopiviin liuottimiin kuuluvat amidit, kuten dimetyyliformamidi.

(f) Sellaisten yhdisteiden kohdalla, joilla on kaava I, jossa A on N ja R^1 on vetyatomi tai C_{1-6}-alkyyliryhmä, yhdiste, jolla on kaava XII,

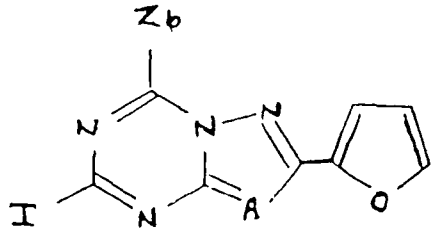


(XII)

jossa Zb on sopiva poistuva ryhmä, esimerkiksi aryylioksyyliryhmä (kuten fenoksyyliryhmä), alkyylitioryhmä (kuten metyylitioryhmä) tai halogeeniatomi (kuten kloori- tai bromiatomi), saatetaan reagoimaan kaavaa R^1NH_2 vastaavan yhdisteen kanssa.

Menettely toteutetaan kätevästi esimerkiksi alueella 0 - 100 °C olevassa lämpötilassa. Tähän menettelyyn soveltuviin liuottimiin kuuluvat alkoholit, kuten etanoli, ja eetterit, kuten tetrahydrofuraani. Kun R^1 on vetyatomi, on erityisen kätevää käyttää ammoniakin liuosta alkoholissa, kuten etanolissa, ympäristön lämpötilassa.

Yhdisteitä, joilla on kaava XII, jossa R^2 on substituoimaton tai substituoitu C_{1-8}-alkynyyliryhmä, voidaan valmistaa saattamalla yhdiste, jolla on kaava XIII,



(XIII)

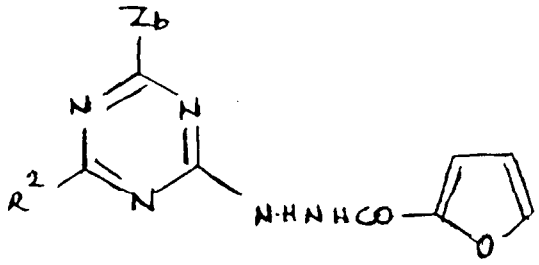
reagoimaan alkyynin kanssa palladiumkatalysaattorin läsnä ollessa noudattamalla edellä kohdassa (e) kuvattua menetelmää.

Yhdisteitä, joilla on kaava XII, jossa R^2 on substituoimaton tai substituoitu C_{1-8}-alkyyli- tai -alkenyyliryhmä, voidaan valmistaa hydraamalla vastaava yhdiste, jolla on kaava XII, josa R^2 on substituoimaton tai substituoitu C_{1-8}-alkynyyliryhmä, käyttämällä tavanomaista menetelmää, esimerkiksi käyttämällä palladiumia hiilellä.

Kaavan XIII mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa saattamalla yhdiste, jolla on kaava VI, jossa A on N (joka yhdiste voidaan valmistaa edellä kuvatulla tavalla), reagoimaan dijodimetaanin ja amyylinitriitin kanssa. Tämä

reaktio toteutetaan kätevästi lämpötilassa 50 - 150 °C sopivassa liuottimessa, kuten dikloorimetaanissa.

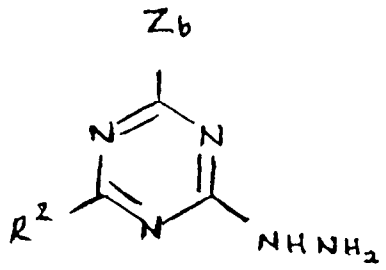
Kaavan XII mukaisia yhdisteitä voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa dehydraamalla yhdiste, jolla on kaava XIV.



(XIV)

Soveltuviin dehydrausaineisiin kuuluvat esimerkiksi fosforipentoksidi ja sulfonyylikloridi, kuten p-tolueenisulfonyylikloridi. Dehydraus on kätevä tehdä alueella 60 - 180 °C olevassa lämpötilassa. Kun käytetään fosforipentoksidia, soveltuviin liuottimiin kuuluvat aromaattiset hiilivedyt, kuten ksyleeni ja tolueeni. Kun käytetään sulfonyylikloridia, sopiviin liuottimiin kuuluvat tertiaariset amiinit, kuten pyridiini.

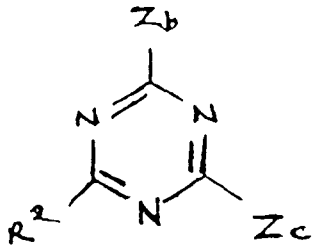
Kaavan XIV mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa saattamalla yhdiste, jolla on kaava XV,



(XV)

reagoimaan 2-halogeenikarbonyylifuraanin, kuten 2-kloorikarbonyylifuraanin kanssa. Reaktio voidaan kätevästi toteuttaa alueella -10 - 40 °C olevassa lämpötilassa. Tähän reaktioon soveltuviin liuottimiin kuuluvat halogenoidut hiilivedyt, kuten dikloorimetaani.

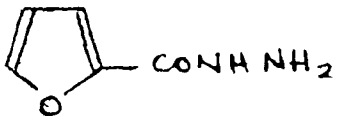
Kaavan XV mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa saattamalla yhdiste, jolla on kaava XVI,



(XVI)

jossa Zc on poistuva ryhmä, reagoimaan hydratsiinin kanssa.

Kaavan XII mukaisia yhdisteitä voidaan vaihtoehtoisesti valmistaa saattamalla kaavan XVI mukainen yhdiste reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava XVII.



(XVII)

Kaavan XVI mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa menetelmillä, joita kuvataan julkaisuissa Synthesis 11 (1981) 907 - 908 ja Synthesis 1 (1978) 40 - 42.

Ymmärrettäneen, että niitä yhdisteitä, joissa R^1 on muu kuin vetyatomi, voidaan valmistaa myös tekemällä tavanomainen alkylointi tai asylointi vastaavalle kaavan I mukaiselle yhdisteelle, jossa R^1 on vetyatomi ja joka on valmistettu jollakin edellä esitetyistä menetelmistä (a) - (f).

Ymmärrettäneen myös, niitä kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa R^2 sisältää asyylioksyyliryhmän, esimerkiksi sellaisia, joissa R^2 on C_{1-5}-alkanoyylioksifenyyliryhmä tai C_{1-5}-alkanoyylioksifenyyli-C_{1-8}-alkyyliryhmä, voidaan valmistaa asyloimalla vastaavia kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa R^2 sisältää hydroksyyliryhmän, kuten esimerkiksi

sellaisia, joissa R^2 on hydroksifenyyli- tai hydroksifenyyli-C_{1-8}-alkyyliryhmä. Asylointi voidaan tehdä reaktiolla minkä tahansa tavanomaisen asylointiaineen, esimerkiksi C_{1-5}-alkanoyylihalogenidin tai C_{1-5}-alkaanihappoanhydridin, kanssa.

Sellaisia kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa R^2 on substituoimaton tai substituoitu alkyyli- tai alkenyyliryhmä, voidaan valmistaa kätevästi hydraamalla vastaava yhdiste, jossa R^2 on alkenyyli- tai alkynyyliryhmä, tavanomaisesti, esimerkiksi käyttämällä katalysaattorina palladiumia hiilellä.

Kun tarvitaan farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, se voidaan tämän jälkeen valmistaa esimerkiksi saattamalla kaavan I mukainen yhdiste reagoimaan sopivan, fysiologisesti hyväksyttävän ionin muodostavan hapon tai emäksen kanssa tai jollakin muulla tavanomaisella menettelyllä.

Kun tarvitaan kiraalisen, kaavan I mukaisen yhdisteen optisesti aktiivinen muoto, voidaan toteuttaa mikä tahansa edellä kuvatuista menetelmistä (a) - (f) käyttämällä asianomaista optisesti aktiivista lähtöainetta tai jakaa raseeminen muoto optisesti aktiivisiksi isomeereikseen tavanomaisella menettelyllä, esimerkiksi käyttämällä sopivan hapon optisesti aktiivista muotoa.

Tietyt keksinnön mukaisissa menetelmissä käytettävät lähtöaineet ovat uusia, ja ne tarjotaan käyttöön keksinnön lisäpuolina. Keksintö tarjoaa käyttöön esimerkiksi yhdisteitä, joilla on kaava XI, jossa R^1 ja R^2 ovat edellä määriteltyjä ryhmiä. Keksintö tarjoaa käyttöön myös yhdisteitä, joilla on kaava XII, jossa R^2 ja Zb ovat edellä määriteltyjä ryhmiä.

Kuten edellä mainittiin, keksinnön mukaisilla yhdisteillä on kyky vaikuttaa antagonistisesti adenosiinin yhteen tai useampaa toimintoon, ja ne ovat arvokaita nisäkkäiden sydän-, ääreisverisuoni- ja/tai aivoverisuonijärjestelmiin vaikuttavien sairauksien tai tilojen, kuten

iskeemisten sydänsairauksien, ääreisverenkiertosairauksien (katkokävelyn) ja aivoiskemian, hoidossa. Nämä yhdisteet saattavat olla myös käyttökelpoisia migreenin hoidossa.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden vaikutukset adenosiidireseptoriantagonisteina voidaan osoittaa yhdellä tai useamalla seuraavista tavanomaisista *in vivo* ja/tai *in vitro* -testeistä.

(a) **A_2-adenosiinireseptoriaffiniteettitesti**

Tässä testissä tutkitaan testattavan adenosiiniantagonistin kykyä syrjäyttää tunnettu adenosiinia jäljittelevä aine [^{3}H]-N-etyylikarboksiamidoadenosiini (NECA) rotan feokromosytoomasolulinjasta PC12 (saatavissa Beatson Institutesta, Glasgow) valmistetuilla kalvopreparaateilla olevista sitoutumiskohdista. Perusmenettelyä ovat kuvanneet Williams *et al.* (J. Neurochemistry 48(2) (1987) 498 - 502).

Kalvopreparaatti valmistetaan seuraavasti: Pakastetut PC12-pelletit pestään kahdesti jääkylmällä, puskuroidulla fysiologisella suolaliuoksella ja otetaan solut talteen sentrifugoimalla (1500 G) lämpötilassa 3 °C. Erotetut solut suspendoidaan sitten hypotoniseen liuokseen (tislattuun veteen), annetaan niiden seistä jäähauteessa 30 min ja homogenoidaan ne sitten huolellisesti käyttämällä tavanomaista suurinopeuksista homogenaattoria ja jäähdyttäen ajoittain jäillä, niin että saadaan hienojakoinen suspensio. Homogenaatti sentrifugoidaan (48 000 G) ja pelletti suspedoidaan uudelleen Tris-HCl-puskuriin (50 mmol/l, pH 7,4), joka sisältää adenosiinideaminaasia (5 yksikköä/ml, tyyppi IV vasikan suoliston limakalvosta, Sigma Chemical Corporation, tuotenro A1280). Sitten seosta inkuboidaan lämpötilassa 20 °C. Reaktio keskeytetään 20 min:n kuluttua laimentamalla seos jääkylmällä puskuriliuoksella ja siirtämällä se jäähauteeseen. Saatu solukalvoja sisältävä materiaali otetaan talteen sentrifugoimalla ja pestään suspendoimalla uudelleen puskuriin ja sentrifugoimal-

la. Saatu pelletti suspendoidaan sitten jääkylmään puskuriin käyttämällä käsihomogenaattoria. Tuloksena oleva kalvosuspensio pakastetaan ja säilytetään nestetypessä käyttöön asti.

Sitoutumistutkimukset tehdään mikromaljoilla ja määritysseokset valmistetaan Tris-HCl-puskuriin (50 mmol/l, pH 7,4) huoneenlämpötilassa. Tutkittava yhdiste liuotetaan dimetyylisulfoksidiin (DMSO) ja laimennetaan sitten määrityspuskurilla testiliuoksiksi. (DMSO:n loppupitoisuuden ei anneta ylittää 1 til-%:a, jolloin DMSO ei vaikuta radioligandin sitoutumiseen kalvoreseptoriin.) Inkuboinnit tehdään lämpötilassa 30 °C ja ne kestävät 90 min; kokonaistilavuus on 150 µl ja se koostuu testiliuoksesta tai puskurista (50 µl), tritioidusta NECA:sta (50 µl) ja kalvosuspensiosta (50 µl). Inkuboinnin jälkeen näytteet suodatetaan nopeasti lasikuitumaton läpi ja suodattimet pestäbn reseptoriin sitoutumattoman radioligandin poistamiseksi. Reseptoriin sitoutunut, suodattimiin pidättynyt radioligandi määritetään sitten nestetuikelaskennalla. Suodatus ja pesu tehdään käyttämällä tavanomaista solujen talteenottoon tarkoitettua alipainesuodatuslaitetta. Määritetään spesifinen sitoutuminen (kokonaissitoutumisen ja epäspesifisen sitoutumisen erotus) kyseisen tutkittavan yhdisteen läsnä ollessa ja verrataan sitä vertailuarvoon. Tulokset on kätevä ilmoittaa vertailuaineen spesifisen sitoutumisen 50-%:iseen syrjäytykseen tarvittavan pitoisuuden logaritmin vastalukuna (pIC_{50}).

Yleisesti esitettynä sellaisten yhdisteiden pIC_{50}-arvo, joilla on antagonistiaktiivisuus tässä määrityksessä, on tyypillisesti edellä kuvatussa testissä (a) vähintään 6. Niinpä esimerkin 1 mukaisesti yhdisteen pIC_{50} on esimerkiksi noin 7,6. Käytettäessä samaa testimenettelyä tunnetun yhdisteen, 1,3-dimetyyliksantiinin, pIC_{50} on tyypillisesti noin 5.

(b) Marsun aortan supistumistesti

Tätä testiä ovat kuvanneet Collis *et al.* [British J. Pharmacology 97 (1989) 1274 - 1278], ja siinä määritetään tutkittavan yhdisteen kyky vaikuttaa antagonistisesti adenosiinin marsun aorttarengaspreparaatin fenylefriinillä indusoitua supistumista heikentävään vaikutukseen, joka välittyy A_2:na tunnetun adenosiinireseptorin kautta.

Aorttarengaspreparaatti valmistetaan seuraavasti: Marsun (Dunkin Hartley -kanta, uros, 250 - 400 g) rinta-aorttaleikkeet (3 - 5 mm) sijoitetaan kudoshauteisiin, jotka sisältävät hapetettua Krebsin liuosta (95 % O_2:a; 5 % CO_2:a) ja ovat lämpötilassa 37 °C. [Krebsin liuos sisältää nukleosidikuljetuksen inhibiittoria, dipyridamolia (10 µmol/l).] Isometrisen jännityksen kehittyminen rekisteröidään, kudokseen kohdistetaan lepojännitys 1 g ja sen annetaan tasapainottua 1 tunti. Sitten aorttarengaspreparaatti herkistetään fenylefriinille (10^{-5} mol/l). Preparaattiin lisätään erytro-9-(2-hydroksi-3-nonyyli)adeniinia (EHNA; 10 µmol/l) ja saatetaan 10 min:n kuluttua kudos supistumaan noin 50 %:iin maksimiarvosta lisäämällä $3 \cdot 10^{-6}$ mmol/l fenylefriiniä. Seuraavaksi lisätään kumulatiivisia määriä adenosiinia (10^{-7} - 10^{-3} mol/l) ja mitataan aikaansaatu relaksaatio. 20 min kestäneen pesun jälkeen lisätään tutkittavan yhdisteen (10^{-5} mol/l) DMSO-liuosta (korkeintaan 1 til-%) laimennettuna Krebsin liuoksella ja annetaan tasapainottua 30 min. Tasapainotusjakson kestettyä 20 min preparaattiin lisätään EHNA:a (10 µmol/l) ja 10 min:n kuluttua fenylefriiniä ($3 \cdot 10^{-6}$ mol/l) supistuksen aikaansaamiseksi uudelleen. Adenosiiniannos-vastekäyrä määritetään toistomittauksin, joita seuraa pesujakso.

Testattavat yhdisteet arvioidaan piirtämällä käyrä, joka kuvaa havaittua prosentuaalista relaksaatiota adenosiinipitoisuuden logaritmin funktiona; kompetitiivinen antagonismi saa aikaan yhdensuuntaissiirtymän adenosiinipitoisuus-relaksaatio(annos-vaste-)standardikäyrässä. An-

nossuhde (DR) lasketaan kunkin aorttarenkaan kohdalla jakamalla adenosiinipitoisuus, joka saa aikaan 50-%:isen relaksaation (ED_{50}) tutkittavan antagonistin läsnä ollessa, adenosiinin ED_{50}-pitoisuudella tutkittavan antagonistin poissa ollessa. Merkitsevää antagonistiaktiivisuutta osoittaa tässä testissä DR-arvo >2. pA2-arvo, joka on estimaatti annossuhteen 2 aikaansaavasta antagonistipitoisuudesta, voidaan myös laskea tavanomaisin laskentamenetelmin. Käytettäessä tätä testimenettelyä tunnetun yhdisteen, 1,3-dimetyyliksantiinin, pA2 on noin 5.

Eteisbradykardiatesti marsulla

Myös tätä testiä ovat kuvanneet Collis *et al.* [British J. Pharmacology 97 (1989) 1274 - 1278], ja siinä määritetään tutkittavan yhdisteen kyky vaikuttaa antagonistisesti adenosiinia jäljittelevän aineen, 2-klooriadenosiinin, bradykardiavaikutukseen sykkivässä marsun eteispreparaatissa, joka vaikutus välittyy A_1:nä tunnetun adenosiinireseptorin kautta.

Eteisparipreparaatti voidaan valmistaa seuraavasti: otetaan marsuista (Dunkin Hartley -kanta, uros, 250 - 400 g) eteispareja ja sijoitetaan ne elinhauteisiin, jotka sisältävät hapetettua Krebsin liuosta (95 % O_2:a; 5 % CO_2:a) ja ovat lämpötilassa 37 °C. Spontaanisti sykkivät eteiset saatetaan sitten lepojännityksen 1 g alaisiksi ja annetaan tasapainottua 50 min pitäen yllä jatkuva ylivirtaus. Sitten virtaus keskeytetään ja lisätään adenosiinideaminaasia (1 yksikkö/ml) endogeenisesti syntyneen adenosiinin kerääntymisen estämiseksi. 15 min:n tasapainotusjakson jälkeen annostellaan adenosiinia jäljittelevää ainetta, 2-klooriadenosiinia (10^{-8} - 10^{-4} mol/l) kumulatiivisen annos-vastekäyrän edellyttämällä tavalla, niin että saadaan aikaan eteisen sykkimistaajuuden maksimaalinen hidastuminen. Kun haudetta on huuhdottu 30 min, siihen annostellaan uudelleen adenosiinideaminaasia ja annetaan tasapainottua 15 min. Sitten hauteeseen lisätään liuosta,

joka sisältää 10^{-5} mol/l tutkittavaa yhdistettä DMSO:ssa ja inkuboidaan 30 min. Tutkittavan yhdisteen mahdollinen vaikutus sykkimisnopeuteen rekisteröidään ennen annos-vastekäyrän määrittämistä uudelleen 2-klooriadenosiinille. Yhdisteet, jotka ovat adenosiiniantagonisteja, heikentävät 2-klooriadenosiinivastetta.

Tutkittavat yhdisteet arvioidaan vertaamalla pelkällä 2-klooriadenosiinilla saatuja annos-vastekäyriä kyseisen yhdisteen läsnä ollessa saatuihin käyriin. Kompetitiiviset adenosiiniantagonistit aiheuttavat yhdensuuntaissiirtymän 2-klooriadenosiiniannos-vastekäyrässä. Annossuhde (DR) lasketaan kullekin eteisparille jakamalla 2-klooriadenosiinipitoisuus, joka saa aikaan eteisen sykkimistiheyden 50-%:isen hidastumisen (ED_{50}) tutkittavan yhdisteen läsnä ollessa, 2-klooriadenosiinin ED_{50}-pitoisuudella tutkittavan yhdisteen poissa ollessa. pA2 saadaan sitten vastaavalla tavalla kuin edellä kohdassa (b). Tässä testissä esimerkin 1 mukaisen yhdisteen pA2 on 7,4. Vastaavasti tunnetun yhdisteen, 1,3-dimetyyliksantiinin, pA2 on tyypillisesti noin 5.

(d) Verenpainetesti nukutetulla kissalla

Tässä testissä tutkitaan testettavan yhdisteen kykyä vaikuttaa antagonistisesti diastolisen verenpaineen laskuun, jonka saa aikaan adenosiinia jäljittelevän aineen, 2-klooriadenosiinin, antaminen.

Uroskissat (2 - 3 kg) nukutetaan natriumpentobarbitonilla (45 mg/kg i.p.). Seuraavat verisuonet katetroidaan: oikea kaulalaskimo (nukutusaineen infusoimiseksi suunnilleen nopeudella 7 mg/kg tunnissa isotooniseen suolaliuokseena valmistettuna liuoksena, jonka pitoisuus on 3 mg/ml), vasen kaulalaskimo (tutkittavien aineiden antamista varten) ja oikeanpuoleinen yhteiden päänvaltimo (verenpaineen ja pulssin seuraamiseksi). Määritetään veren kaasutilanne ja pH ja pidetään ne fysiologisella alueella ennen 2-klooriadenosiinin antamista. Määritetään annos-

vastevertailukäyrä (DRC) 2-klooriadenosiinille (0,3 - 30 µg/kg) mittaamalla diastolisen verenpaineen lasku. Sitten annetaan i.v. tutkittavan aineen liuosta seoksessa, joka sisältää tilavuussuhteessa 1:1 polyetyleeniglykoli (PEG) 400:aa ja natriumhydroksidiliuosta (0,1 mol/l), ja määritetään 15 mn:n kuluttua DRC 2-klooriadenosiinille. Tämä menettely toistetaan kahdesti seuraten veren kaasusisältöä ja pH:ta ja pitäen ne fysiologisella alueella kaikkien DRC-määritysten välissä. Sitten lasketaan kullekin tutkittavalle yhdisteelle 2-klooriadenosiinipitoisuus, joka tarvitaan alentamaan diastolista verenpainetta 30 mmHg ja muodostetaan Schild-käyrä niille yhdisteille, joilla annossuhde (DR) on >2. Tästä käyrästä määritetään K_B-arvo.

Edellä mainittu testi (d) voidaan kätevästi muuntaa sellaiseksi, että mahdollistetaan suun kautta annettujen tutkittavien yhdisteiden arvioiminen, antamalla tutkittavaa yhdistettä hereillä oleville kissoille, joihin on asennettu valtimo- ja laskimokatetrit, ja mittaamalla adenosiinin indusoimaa verenpaineen alenemista estävä vaikutus.

(e) Nukutetuilla koirilla tehty testi

Tässä testissä arvioidaan tutkittavan yhdisteen antagonistista vaikutusta adenosiinin sydämen lyöntitiheyttä alentavaan ja verisuonten laajenemista voimistavaan toimintaan (mitattuna takaraajan perfuusiopaineen alenemisella).

Beaglet (12 - 18 kg) nukutetaan natriumpentobarbitonilla (50 mg/kg, iv.). Seuraavat verisuonet katetroidaan: oikea kaulalaskimo (nukutusaineen infusoimiseksi suunnilleen nopeudella 112 mg tunnissa isotooniseen suolaliuokseen valmistettuna liuoksena, jonka pitoisuus on 3 mg/ml), oikea olkavarsilaskimo (lääkkeiden ja tutkittavien aineiden antamista varten), oikea olkavarsivaltimo (systeemisen verenpaineen ja pulssin seuraamiseksi) ja

vasen päänvaltimo (adenosiinin antamiseksi vasempaan kammioon). Molemmat kiertäjähermot ja oikea reisihermo ja lonkkahermo sidotaan ja katkaistaan. Annetaan kerta-annoksena 1250 yksikköä hepariinia ennen oikean takaraajan perfusointia suoliluuvaltimosta vakionopeudella tulevalla verellä. Oikea jalka sidotaan juuri nilkan alapuolelta. Eläimelle annetaan sitten ksamoterolia (1 mg/kg) sydämen lyöntinopeuden stabiloimiseksi korkealle tasolle ja nitrobentsyylitioinosiinia (NBTI, 0,5 mg/kg) adenosiinin vastaanoton estämiseksi. Eläin herkistetään adenosiinille NBTI:n antoa seuraavan tasapainotusjakson aikana määrittämällä annos-vastekäyrä (DRC). Tänä aikana korjataan mahdollinen veren kaasu- ja pH-epätasapaino. Määritetään vertailu-DRC ja sen jälkeen korkeintaan kolme DRC:tä tutkittavan yhdisteen kumulatiivisen annon jälkeen [edellä kohdassa (d) kuvatulla tavalla]. Kukin DRC-määritys tehdään 15 min:n kuluttua tutkittaman yhdisteen annosta ja mitattavina parametreina olevien pulssin ja takaraajan perfuusiopaineen palauduttua stabiiliin tilaan. Veren kaasusisältö ja pH pidetään vastaavasti fysiologisella alueella koko määrityksen ajan.

Lasketaan kullekin tutkittavan yhdisteen annokselle adenosiinimäärä, joka tarvitaan alentamaan mitattua parametria, ts. pulssia ja takaraajan perfuusiopainetta 50 % (ED_{50}), ja muodostetaan Shild-käyrä. Tästä käyrästä määritetään K_B-arvo adenosiinin aikaansaaman pulssivasteen ja verisuonten laajenemisvasteen antagonismille.

(f) Harjoitushyperemiatesti nukutetulla kissalla

Tässä testissä arvioidaan tutkittavan yhdisteen antagonistista vaikutusta verisuonteen laajenemisvasteeseen, joka esiintyy nykäyksittäisen supistumisen aikana. Verisuonten laajenemisen osittaisena välittäjänä on endogeenisen adenosiinin vapautuminen supistuvasta luustolihaksesta.

Kissat (2,4 - 3,6 kg) nukutetaan natriumpentobarbitonilla (50 mg/kg, ip.). Seuraavat verisuonet katetroidaan: vasen kaulalaskimo (nukutusaineen infusoimiseksi suunnilleen nopeudella 0,12 mg/min isotooniseen suolaliuokseen valmistettuna liuoksena, jonka pitoisuus on 6 mg/ml), oikea ulompi kaulalaskimo (lääkkeiden ja tutkittavien aineiden antamista varten), oikeanpuoleinen yhteinen päänvaltimo (systeemisen valtimoverenpaineen ja pulssin seuraamiseksi) ja oikea olkavarsivaltimo (verinäytteiden ottamiseksi).

Veren virtaus vasempaan tajaraajaan mitataan vasemman ulkopuolisen suoliluuvaltimon ympärillä olevalla sähkömagneettisella virtausanturilla. Koko vasen takaraaja saatetaan supistumaan stimuloimalla lonkka- ja reisihermoja taajudella 3 Hz 20 min:n ajan. Pitkän varpaidenojentajalihaksen ja pitkän pohjelihaksen aikaansaama aktiivinen jännitys mitataan isometrisesti voima-anturilla. Harjoitus toistetaan kahdesti samalla eläimellä tutkittavan yhdisteen poissa ja läsnä ollessa. Määritetään tutkittavien yhdisteiden kyky vähentää verisuonten laajenemista luustolihassupistuksen aikana.

Tässä testissä tunnettu yhdiste, 1,3-dimetyyliksantiini, saa aikaan merkitsevän inhibition annoksella 10 mg/kg.

Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä annetaan vaihtolämpöisille eläimille terapeuttisiin tai profylaktisiin tarkoituksiin sydän-vesisuonisairauksien ja -haittatilojen hoidon ja ennaltaehkäisyn yhteydessä yleensä parhaiten farmaseuttisen koostumuksen muodossa, joka sisältää mainittua kaavan I mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa sekoitettuna tai yhdistettynä farmseuttisesti hyväksyttävään laimennus- tai kantaja-aineeseen. Tällaisia koostumuksia tarjotaan käyttöön keksinnön yhtenä lisäpiirteenä.

Yleisesti esitettynä ajatellaan, että kaavan I mukaista yhdistettä annetaan suun kautta, laskimonsisäisesti tai jollakin muulla lääketieteellisesti hyväksyttävällä tavalla (kuten inhalaationa, puhaltamalla sisään tai antamalla kielen alle tai ihon läpi) siten, että vastaanotetuksi tulee yleisellä alueella, esimerkiksi 0,001 - 10 (erityisesti esimerkiksi 0,05 - 5) mg/painokilo. Ymmärrettäneen kuitenkin, että kulloinkin annettava annos vaihtelee väistämättä hoidettavan sairauden tai tilan luonteen ja vakavuuden ja potilaan iän ja sukupuolen mukaan.

Keksinnön mukainen koostumus voi olla erilaisissa antomuodoissa. Se voi olla esimerkiksi tabletteina, kapseleina, liuoksina tai suspensioina oraalisen annon ollessa kyseessä; peräpuikkoina annettavaksi rektaalisesti; steriilin liuoksen tai suspension muodossa laskimon- tai lihaksensisäisinä ruiskeina tapahtuvaa antoa varten; aerosoli- tai sumutusliuoksen tai -suspension muodossa annettavaksi inhaloimalla; jauheena yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävien inerttien kiinteiden laimennusaineiden, kuten laktoosin, kanssa annettavaksi puhaltamalla; tai laastarin muodossa transdermaalista antoa varten. Koostumukset voivat kätevästi olla yksikköannosmuodossa, joka sisältää esimerkiksi 5 - 200 mg kaavan I mukaista yhdistettä tai vastaavan määrän sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa.

Koostumuksia voidaan valmistaa tavanomaisin menettelyin käyttämällä alalla hyvin tunnettuja farmaseuttisesti hyväksyttäviä laimennus- ja kantaja-aineita. Suun kautta annettaviksi tarkoitettuja tabletteja ja kapseleita voidaan kätevästi muodostaa käyttämällä enteeristä päällystettä (kuten selluloosa-asetaattiftalaattiin perustuvaa päällystettä) kaavan I mukaisen aktiivisen aineen ja mahahappojen välisen kosketuksen minimoimiseksi.

Keksinnön mukaiset koostumukset voivat sisältää myös yhtä tai useampaa ainetta, joilla tiedetään olevan

arvoa hoidettavien sydän- ja verisuonisairauksien ja -tilojen yhteydessä. Niinpä ne voivat sisältää kaavan I mukaisen yhdisteen lisäksi esimerkiksi jotakin tunnettua verihiutaleiedn aggregoitumisen inhibiittoria, prostanoidikonstriktoriantagonistia tai syntaasi-inhibiittoria (tromboksaani A_2 -antagonistia tai syntaasi-inhibiittoria), syklo-oksygenaasi-inhibiittoria, hypolipideemistä ainetta, verenpainetta alentavaa ainetta, inotrooppista ainetta, adrenergistä beetasalpaajaa, trombolyyttistä ainetta tai verisuonia laajentavaa ainetta.

Sen lisäksi että kaavan I mukaisia yhdisteitä käytetään hoitavassa lääketieteessä, ne ovat käyttökelpoisia myös farmakologisina välineinä kehitettäessä ja standardoitaessa testausjärjestelmiä uusien sydän- ja verisuonilääkkeiden tutkimiseksi koe-eläimillä, kuten kissoilla, koirila, kaniineilla, apinoilla, rotilla ja hiirillä.

Keksintöä valaistaan seuraavin, sitä rajoittamattomin esimerkein, joissa, ellei toisin mainita:

(i) haihdutukset tehtiin pyöröhaihduttimella alipaineessa;

(ii) toimenpiteet tehtiin huoneenlämpötilassa, ts. alueella 18 - 26 °C;

(iii) flash-pylväskromatografia tai keskinkertaisessa paineessa tehtävä nestekromatografia (MPLC) tehtiin silikageelillä [Fluka Kieselgel 60 (luettelonumero 60738), Fluka AG, Buchs, Sveitsi, tai Merck Kieselgel Art. 9385, E. Merck, Darmstadt, Saksa];

(iv) saannot esitetään vain asian valaisemiseksi, eivätkä ne välttämättä ole korkeimpia huolellisella menetelmän kehittelyllä saavutettavissa olevia saantoja;

(v) protoni-NMR-spektrit määritettiin normaalisti taajuudella 200 MHz käyttämällä liuottimena deuteroitua dimetyylisulfoksidia ja sisäisenä standardina tetrametyylisilaania (TMS) ja ne ilmoitetaan kemiallisina siirtyminä (delta-arvoina, ppm) suhteessa TMS:iin käyttämällä pää-

piikkien merkitsemiseen tavanomaisia lyhenteitä; s, singletti; m, multipletti; t, tripletti; br, leveä, d, dubletti; q, kvartetti;

(vi) kaikki lopputuotteet karakterisoitiin alkuainemikroanalyysillä ja NMR- ja/tai massaspektrometrialla.

Esimerkki 1

Magnesiumin (0,63 g) suspensioon eetterissä (10 ml) lisättiin fenyylibromidin (2,7 ml) liuos eetterissä (20 ml) ja sekoitettiin seosta 1 tunti. Sitten lisättiin huoneenlämpötilassa 7-amino-2-(2-furyyli)-5-metyylisulfonyyli-(1,2,4)-triatsolo[1,3,5]-triatsiinin (1,2 g) liuos kuivassa tetrahydrofuraanissa (50 ml) ja sekoitettiin seosta 2 tuntia. Reaktio keskeytettiin sitten kylläisellä ammoniumkloridin vesiliuoksella ja tuote uutettiin etyyliasetaatilla (3 x 100 ml). Orgaaninen liuos kuivattiin (magnesiumulfaatti), suodatettiin ja haihdutettiin. Jäännös käsiteltiin kromatografisesti silikageelillä eluenttina tolueenin ja etyyliasetaatin seos (20 til-%), jolloin saatiin kiinteä aine, josta saatiin isopropanolista kiteyttämällä7-amino-2-(2-furyyli)-5-fenyyli-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a](1,3,5]triatsiinia, sp. >300 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{14}H_{10}N_6O$:

Mitattu C, 60,6; H, 3,7; N, 29,6 %

Laskettu C, 60,4; H, 3,7; N, 29,9 %;

NMR: 6,73 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,22 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,55 (monimutkainen, 3 H, fenyyli-3H, fenyyli-4H ja fenyyli-5H); 7,94 (d, 1 H, furyyli-5H); 8,40 (dd, 2 H, fenyyli-2H ja fenyyli-6H); 8,93 (d, 2 H, NH_2);

m/e 279 $(M+H)^+$.

Tarvittava lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

(1) Vetykloridikaasua (20,0 g) puhallettiin jäähdytettyyn seokseen, joka sisälsi 2-furonitriiliä (46,5 g) ja absoluuttista etanolia (23,0 g). Kun kaasu oli lisätty, seoksesta kiteytyi kiinteä aine. Kiteinen aine otettiin talteen suodattamalla ja sitä refluksoitiin pyridiinissä

(300 ml) aminoguanidiininitraatin (56,0 g) kanssa 4 tuntia. Seos jäähdytettiin, poistettiin kiinteä aine suodattamalla ja haihdutettiin suodos, jolloin saatiin 3-amino-3-(2-furyyli)-1,2,4-triatsoliraakatuote. Tämä materiaali puhdistettiin käsittelemällä typpihapolla (400 ml, 50 til-%). Muodostunut kiteinen suola otettiin talteen suodattamalla, pestiin peräkkäin vedellä (100 ml) ja etanolilla (50 ml) ja kuivattiin ilmassa, jolloin saatiin 3-amino-5-(2-furyyli)-1,2,4-triatsolinitraattia (45,0 g), sp. 130 - 133 °C (hajoaa). Useita eriä tätä suolaa (184 g) suspendoitiin kuumaan veteen (400 ml) ja lisättiin natriumkarbonaattia (46,0 g) annoksittain. Saadun emäksisen liuoksen annettiin jäähtyä, jolloin saatiin 3-amino-5-(2-furyyli)-1,2,4-triatsolia (82,0 g) värittöminä prismamaisina kiteinä, sp. 204 - 206 °C.

NMR: 6,05 (s, 2 H, NH_2); 6,6 (s, 1 H, furyyli-4H); 6,7 (s, 1 H, furyyli-3H); 7,7 (s, 1 H, furyyli-5H); 12,05 (br s, 1 H, NH).

(2) Perusteellisesti toisiinsa sekoitettuja 3-amino-5-(2-furyyli)-1,2,4-triatsolia (33,0 g) ja dimetyyli-N-syanoditioiminokarbonaattia (33,0 g) kuumennettiin lämpötilassa 170 °C 1 tunti hitaan argonvirtauksen alla. Tuloksena oleva kiinteä aine puhdistettiin jäähdytyksen jälkeen pylväskromatografisesti silikageelillä (600 g) käyttämällä eluenttina kasvavaa etyyliasetaattimäärää (5 - 10 til-%) dikloorimetaanissa, jolloin saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-metyylitio-[1,2,4]-triatsolo[1,5a]-[1,3,5]triatsiinia värittömänä kiinteänä aineena (1,1 g), joka oli suurin piirtein puhdasta TLC:n mukaan ja käytettiin ilman jatkopuhdistusta. [Pieni määrä edellä mainittua kiinteää ainetta uudelleenkiteytettiin etanolista, jolloin saatiin kiteitä, sp. 238 - 240 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_9H_8N_6OS \cdot 0,05C_2H_5OH$:

Mitattu: C, 44,0; H, 3,3; N, 33,7 %

Laskettu: C, 43,6; H, 3,3; N, 33,6 %;

NMR: 1,05 ja 3,4 (t+q, kide-etanoli); 2,5 (s, 3 H, CH_3S-); 6,7 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,2 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,7 (d, 1 H, furyyli-5H); 8,7 - 9,0 (br d, 2 H, NH_2); m/e 248 (M^+).]

(3) 3-klooriperoksibentsoehapon (väkevyys 50 %, 45,0 g) liuos dikloorimetaanissa (300 ml) lisättiin sekoittaen jäillä jäähdytettyyn suspensioon, joka sisälsi 7-amino-2-(2-furyyli)-5-metyylitio-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia (8,0 g) dikloorimetaanissa (300 ml). Vesikerros heitettiin pois. Tuloksena oleva suspension annettiin lämmetä ympäristön lämpötilaan ja sitä sekoitettiin 16 tuntia. Liuotin haihdutettiin ja jäännökseen lisättiin etanolia (150 ml). Saadun suspension annettiin seistä 30 min ajoittain pyörittäen. Kiinteä aine otettiin sitten talteen suodattamalla, pestiin etanolilla ja kuivattiin, jolloin saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-metyylisulfonyyli-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia (6,6 g) värittömänä kiinteänä aineena, joka käytettiin ilman lisäpuhdistusta.

NMR: 3,3 (s, 3 H, $CH_3 \cdot SO_2$); 6,7 (q, 1 H, furyyli-4H); 7,3 (q, 1 H, furyyli-3H); 7,9 (q, 1 H, furyyli-5H); 9,4 - 9,8 (d, 2 H, NH_2).

Esimerkki 2

Liuoksen, joka sisälsi 2-(2-furyyli)-7-metyylitio-5-fenyylietynyyli[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia (0,8 g) ammoniakin etanoliliuoksessa (40 ml), annettiin seistä ympäristön lämpötilassa 2 tuntia. Sitten liuotin haihdutettiin ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä eluoiden peräkkäin dikloorimetaanin ja etyyliasetaatin seoksella (2 til-%) ja dikloorimetaanin ja metanolin seoksella (1 til-%), jolloin saatiin kiinteä aine (0,25 g). Se kiteytettiin isopropanolista (50 ml), jolloin saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-fenyylietynyyli-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia värittöminä kiteinä, sp. >280 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{16}H_{10}N_6O \cdot 0,5C_3H_7OH$:

Mitattu: C, 62,9; H, 4,2; N, 24,9 %;

Laskettu: C, 63,2; H, 4,2; N, 25,3 %;

NMR: 6,74 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,24 (dd, 1 H, furyyli-3H); 7,53 (monimutkainen, 3 H, fenyyli-3H, fenyyli-4H ja fenyyli-5H); 7,68 (monimutkainen, 2 H, fenyyli-2H ja fenyyli-6H); 7,95 (m, 1 H, furyyli-5H); 9,07 (br s, 2 H, NH_2);

m/e 381 $(M+H)^+$.

Lähtöaine valmistettiin seuraavasti:

(a)2-(2-furyyli)-5-jodi-7-metyylitio-[1,2,4]triatsoli[1,5-a][1,3,5]triatsiinin (2,5 g) ja fenyyliasetyleenin (1,5 ml) liuokseen dimetyyliformamidissa (40 ml) lisättiin trietyyliamiinia (1,1 ml), bis(trifenyylifosfiini)palladium(II)kloridia (0,2 g) ja kupari(I)jodidia (0,1 g) ja seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 3 tuntia. Reaktioseos laimennettiin vedellä (350 ml) ja uutettiin etyyliasetaatilla (3 x 50 ml). Orgaaninen uuteliuos pestiin vedellä, kuivatiin magnesiumsulfaatilla ja haihdutettiin. Raakatuote puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä (150 g) eluoiden etyyliasetaatin ja dikloorimetaanin seoksella (1 til-%). Tuotetta sisältävien fraktioiden jäännös trituroitiin eetterin kanssa ja suodatettiin, jolloin saatiin 2-(2-furyyli)-7-metyylitio-5-fenyylietynyyli[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia (1,0 g). Kiteyttämällä näyte isopropanolista saatiin keltaista kiteistä tuotetta, sp. 188 - 190 °C;

Alkuaineanalyysi yhdistyeelle $C_{17}H_{11}N_5OS$:

Mitattu: C, 60,8; H, 3,1; N, 20,9 %;

Laskettu: C, 61,2; H, 3,3; N, 21,0 %;

NMR: 2,8 (s, 3 H, CH_3S); 6,75 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,35 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,55 (monimutkainen, 3 H, fenyyli-3H, fenyyli-4H, ja fenyyli-5H); 7,74 (monimutkainen, 2 H, fenyyli-2H ja fenyyli-6H); 8,0 (m, 1 H, furyyli-5H);

m/e 353 M^+.

(b) 5-amino-2-(2-furyyli)-7-metyylitio-[1,2,4]triatsoli[1,5-a][1,3,5]triatsiinin (5 g), dijodimetaanin (40 ml) ja amyylinitriitin (8 ml) seosta sekoitettiin lämpötilassa 120 °C 75 min. Reaktioseos suodatettiin silikageelin (250 g) läpi käyttämällä dikloorimetaania liuottimena ja jäljelle jäänyt 2-(2-furyyli)-5-jodi-7-metyylitio-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiini käytettiin sellaisenaan. Kiteytettiin näyte tolueenista, jolloin saatiin vaaleankeltaista kiinteää ainetta, sp. 211 - 213 °C.

NMR: 2,73 (s, 3 H, CH_3S); 6,74 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,33 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,98 (d, 1 H, furyyli-5H); m/e 360 $(M+H)^+$.

(c) Perusteellisesti toisiinsa sekoitettuja 3-amino-5-(2-furyyli)-1,2,4-triatsolia (15,0 g) ja dimetyyli-N-syanoditioiminokarbonaattia (16 g) kuumennettiin lämpötilassa 170 °C 50 min hitaan argonvirtauksen alla. Tuloksena oleva kiinteä aine trituroitiin jäähdytyksen jälkeen metanolin kanssa ja suodatettiin, jolloin saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-metyylitio-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a]-[1,3,5]triatsiinia kellanvihreänä kiinteänä aineena. Suodoksesta saatu jäännös käsiteltiin kromatografisesti silikageelillä käyttämällä eluenttina dikloorimetaanin (97,5 til-%) ja metanolin (2,5 tl-%) seosta, jolloin saatiin lisää 7-amino-2-(2-furyyli)-5-metyylitio-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia (4,4 g) ja sen jälkeen 5-amino-2-(2-furyyli)-7-metyylitio-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia (2,2 g) keltaisena kiinteänä aineena. Pieni määrä edellä mainittua kiinteää ainetta kiteytettiin metanolista, jolloin saatiin vaaleankeltaisia neulamaisia kiteitä, sp. 254 - 257 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_9H_8N_6OS \cdot 0,125CH_3OH$:

Mitattu: C, 43,0; H, 3,5; N, 33,4 %

Laskettu: C, 43,4; H, 3,6; N, 33,3 %;

NMR: 2,67 (s, 3 H, CH_3S); 2,67 (s, 3 H, CH_3S); 6,68 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,15 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,68 (br s, 2 H, NH_2); 7,89 (d, 1 H, furyyli-5H);

m/e 248 (M^+).

5-jodi-7-metyylitio-2-(2-furyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiini voidaan valmistaa myös seuraavasti:

5-amino-2-(2-furyyli)-7-metyylitio-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinin (5,95 g), jodin (6,07 g), kuparijodidin (4,85 g), dijodimetaanin (15 ml) ja isopentyylinitriitin (10 ml) seosta tetrahydrofuraanissa (120 ml) refluksoitiin sekoittaen argonatmosfäärissä 2 tuntia. Seos jäähdytettiin, suodatettiin piimaan läpi ja haihdutettiin. Öljymäinen jäännös liuotettiin dikloorimetaaniin (200 ml), pestiin natriumtiosulfaattiliuoksella reagoimattoman jodin poistamiseksi, suodatettiin faasierotuspaperin läpi ja haihdutettiin, jolloin saatiin ruskeaa öljyä (5,5 g), joka puhdistettiin käsittelemällä kromatografisesti silikageelillä (200 g) käyttäen eluenttina 1 % metanolia sisältävää dikloorimetaania, jolloin saatiin kiinteä aine (3,5 g). Kiteyttämällä tämä kiinteä aine uudelleen etanolista saatiin 5-jodi-7-metyylitio-2-(2-furyyli)-[1,2,4]-triatsolo-[1,5-a][1,3,5]triatsiinia (1,6 g).

Esimerkki 3

Esimerkin 2 tuotteen (0,17 g) liuos etanolissa (150 g) hydrattiin huoneenlämpötilassa ja normaalipaineessa käyttämällä katalysaattorina 10 % palladiumia hiilellä (0,19 g). Kun vedyn vastaanotto oli loppunut, katalysaattori erotettiin suodattamalla ja liuotin haihdutettiin. Jäännös uudellenkiteytettiin isopropanolista, jolloin saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-[(2-fenyyli)etyyli]-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. 235 - 237 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{16}H_{14}N_6O$:

Mitattu: C, 62,2; H, 4,6; N, 27,3 %;

Laskettu: C, 62,7; H, 4,6; N, 27,4 %;

NMR: 2,98 (m, 2 H, CH_2); 3,07 (m, 2 H, CH_2); 6,71 (d, 1 H, furyyli-4H); 7,16 (m, furyyli-3H); 7,1 - 7,3 (monimutkinen, 5 H, fenyyli-H); 7,93 (s, 1 H, furyyli-5H); 8,84 (br d, 2 H, NH_2).

Esimerkki 4

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena 3-trifluorimetyylibromibentseeniä saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-(3-trifluorimetyylifenyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. 296 - 298 °C;

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{15}H_9F_3N_6O$:

Mitattu: C, 51,8; H, 2,6; N, 24,0 %;

Laskettu: C, 52,0; H, 2,6; N, 24,3 %;

NMR: 6,74 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,23 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,61 (t, 1 H; fenyyli-5H); 7,96 (monimutkainen, 2 H, furyyli-5H ja fenyyli-4H); 8,66 (s ja d, 2 H, fenyyli-6H ja fenyyli-2H); 9,07 (d, 2 H, NH_2);

m/e 347 $(M+H)^+$.

Esimerkki 5

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena 4-metoksibromibentseeniä saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-(4-metoksifenyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. >275 °C;

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{15}H_{12}N_6O_2$:

Mitattu: C, 58,3; H, 3,9; N, 26,9 %;

Laskettu: C, 58,4; H, 3,9; N, 27,3 %;

NMR: 3,86 (s, 3 H, CH_3O), 6,73 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,08 ja 8,35 (A_2B_2, 4 H, fenyyli-H); 7,20 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,94 (d, 1 H, furyyli-5H); 8,85 (d, 2 H, NH_2);

m/e 309 $(M+H)^+$.

Esimerkki 6

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena 4-metyylibromibentseeniä saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-(4-metyylifenyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. >275 °C;

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{15}H_{12}N_6O$:

Mitattu: C, 61,8; H, 4,2; N, 28,6 %;

Laskettu: C, 61,6; H, 4,1; N, 28,8 %;

NMR: 6,73 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,21 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,35 ja 8,29 (A_2B_2, 4 H, fenyyli-H); 7,94 (d, 1 H, furyyli-5H); 8,88 (s, 2H, NH_2);

m/e 293 $(M+H)^+$.

Esimerkki 7

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena 3-fluoribromibentseeniä saatiin 7-amino-5-(3-fluorifenyyli)-2-(2-furyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. >300 °C;

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{14}H_9FN_6O$:

Mitattu: C, 56,8; H, 2,9; N, 28,2 %;

Laskettu: C, 56,8; H, 3,1; N, 28,4 %;

NMR: 6,73 (dd, 1 h, furyyli-4H); 7,23 (dd, 1 H, furyyli-3H); 7,44 (monimutkainen t, 1 H; fenyyli-4H); 7,60 (monimutkainen, 1 H, fenyyli-5); 7,95 (d, 1 H; furyyli-5H); 8,09 ja 8,24 (monimutkainen d, fenyyli-2H ja fenyyli-6H); 9,00 (d, 2 H, NH_2);

m/e 297 $(M+H)^+$.

Esimerkki 8

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena 3,5-difluoribromibentseeniä saatiin 7-amino-5-(3,5-difluorifenyyli)-2-(2-furyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. 356 - 360 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{14}H_8F_2N_6O$:

Mitattu: C, 53,6; H, 2,4; N, 26,7 %;

Laskettu: C, 53,5; H, 2,6; N, 26,7 %;

NMR: 6,74 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,23 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,48 (tt, 1 H, fenyyli-4H); 7,95 (monimutkainen, 3 H, furyyli-5H, fenyyli-2H ja fenyyli-6H); 9,07 (d, 2 H, NH_2);

m/e 315 $(M+H)^+$.

Esimerkki 9

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena 2-bromitiofeenia saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-(2-tienyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a]-[1,3,5]triatsiinia, sp. 324 - 328 °C (hajoaa).

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{12}H_8N_6OS$:

Mitattu: C, 50,9; H, 2,8; N, 29,3 %;

Laskettu: C, 50,7; H, 2,8; N, 29,6 %;

NMR: 6,73 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,21 (d, 1 H, tienyyli-4H); 7,23 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,64 (dd, 1 H, tienyyli-5H); 7,95 (monimutkainen, 2 H, furyyli-5H ja tienyyli-3H); 8,94 (d, 2 H, NH_2);

m/e 285 $(m+H)^+$.

Esimerkki 10

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena 4-bentsyylioksibentsyylikloridia saatin7-amino-4-(4-bentsyylioksibentsyyli)-2-(2-furyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. 220 - 222 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{22}H_{18}N_6O \cdot 0,15H_2O$:

Mitattu: C, 65,7; H, 4,5; N, 20,8; H_2O 0,7 %:

Laskettu: C, 65,9; H, 4,6; N, 20,95; H_2O 0,7 %;

NMR: 3,91 (s, 2 H, CH_2); 5,07 (s, 2 H, CH_2O); 6,70 (dd, 1 H, furyyli-4H); 6,93 ja 7,25 (A_2B_2, 4 H, fenyyli-H); 7,16 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,3 - 7,5 (monimutkainen, 5 H, fenyyli-H); 7,92 (d, 1 H, furyyli-5H); 8,8 (d, 2 H, NH_2);

m/e 399 $(m+H)^+$.

Esimerkki 11

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena 3-trifluorimetyylibromibentseeniä saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-(3-trifluorimetyylifenyyli)pyratsolo-[2,3-a][1,3,5]triatsiinia, sp. 252 - 254 °C.

Alkuaineanalyssi yhdisteelle $C_{16}H_{10}F_3N_5O$:

Mitattu: C, 55,4; H, 2,9; N, 20,3 %;

Laskettu: C, 55,7; H, 2,9; N, 20,3 %;

NMR: 6,70 (dd, 1 H, furyyli-4H); 6,81 (s, 1 H, pyratsoli-3H); 7,09 (dd, 1 H, furyyli-3H); 7,77 (t, 1 H, fenyyli-5H); 7,88 (monmutkainen, 2H, furyyli-5H ja fenyyli-4H); 8,64 (monimutkainen, 2 H; fenyyli-6H ja fenyyli-2H); 8,70 (d, 2 H, NH_2);

m/e 346 $(M+H)^+$.

Esimerkki 12

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena 1-bromi-3-fenyylipropaania saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-(3fenyylipropyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. 164 - 167 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{17}H_{16}N_6O$:

Mitattu: C, 64,0; H, 5,1; N, 26,3 %;

Laskettu: C, 63,7; H, 5,0; N, 26,2 %;

NMR: 2,05 (kvintetti, 2 H, $CH_2CH_2CH_2$); 2,68 (monimutkainen, 4 H, aryyli-CH_2); 6,73 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,1 - 7,4 (monimutkainen, 6 H, fenyyli-H ja furyyli-3H); 7,94 (d, 1 H, furyyli-5H); 8,8 (d, 2 H, NH_2);

m/e 321 $(M+H)^+$.

Esimerkki 13

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta muodostamalla heksyyni-Grgnard-reagenssi tekemällä metallinvaihto heks-1-yynin ja etyyli-Grignard-reagenssin välillä saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-(heks-1-ynyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. 188 - 191 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{14}H_{14}N_6O \cdot 0,1H_2O$:

Mitattu: C, 59,1; H, 5,0; N, 29,8; H_2O, 0,4 %;

Laskettu: C, 59,1; H, 5,0; N, 29,6; H_2O, 0,6 %;

NMR: 0,93 (t, 3 H, CH_3); 1,3 - 1,65 (monimutkainen, 4 H, -CH_2CH_2-); 2,50 (monimutkainen, $CH_2C\equiv$); 6,73 (dd, 1 H,

furyyli-4H); 7,23 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,95 (d, 1 H, furyyli-5H); 8,95 (d, 2 H, NH_2);

m/e 283 $(M+H)^+$.

Esimerkki 14

7-amino-2-(2-furyyli)-5-(4-metoksifenyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinin (0,23 g) liuosta etikkahappoanhydridissa (10 ml) kuumennettiin höyryhauteella 18 tuntia. Liuotin haihdutettiin sitten alipaineessa ja jäännös puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä käyttämällä 5 til-% etyyliasetaattia sisältävää dikloorimetaania eluenttina. Kromatografiasta saatu kiinteä aine kiteytettiin etanolista, jolloin saatiin 7-asetyyliamino-2-(2-furyyli)-5-(4-metoksifenyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. 243 - 246 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{17}H_{14}N_6O$:

Mitattu: C, 58,0; H, 4,0; N, 23,9 %;

Laskettu: C, 58,3; H, 4,0; N, 24,0 %;

NMR: 2,50 (s, $NHCOCH_3$); 3,7 (s, 3 H, CH_3O); 6,75 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,12 ja 8,42 (A_2B_2, 4 H, fenyyli-H); 7,32 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,98 (d, 1 H, furyyli-5H); 11,42 (s, 1 H, NHCOCH);

m/e 351 $(M+H)^+$.

Esimerkki 15

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena 4-bromi-1-buteenia saatiin 7-amino-5-(3-but-3-enyyli)-2-(2-furyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinia, sp. 194 - 196 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{12}H_{12}N_6O \cdot 0,4C_2H_5OH$:

Mitattu: C, 55,8; H, 5,3; N, 30,6 %;

Laskettu: C, 56,0; H, 5,3; N, 30,6 %;

NMR: 2,77 (t, 2 H, $CH_2CH=$); 3,46 (t, CH_2); 4,9 - 5,15 (monimutkainen, 2 H, $CH_2=$); 5,9 (m, 1 H, CH=); 6,71 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,17 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,92 (d, 1 H, furyyli-5H); 8,8 (d, 2 H, NH_2);

m/e 257 $(M+H)^+$.

Esimerkki 16

Käyttämällä esimerkissä 1 kuvatun kaltaista menettelyä mutta lähtöaineena bromiheksaania saatiin 7-amino-2-(2-furyyli)-5-heksyyli-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]-triatsiinia, sp, 131,5 - 133 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{14}H_{18}N_6O$:

Mitattu: C, 58,7; H, 6,3; N, 29,3 %;

Laskettu: C, 58,7; H, 6,3; N, 29,3 %;

NMR: 0,86 (t, 3 H, CH_3); 1,29 (m, 4 H, $CH_3CH_2CH_2$); 1,73 (m, 2 H, βCH_2), 2,65 (t, 2 H, αCH_2); 6,71 (dd, 1 H, furyyli-4H); 7,17 (d, 1 H, furyyli-3H); 7,92 (d, 1 H, furyyli-5H); 8,77 (d, 1 Hm, furyyli-5H);

m/e 287 $(M+H)^+$.

Esimerkki 17

Lisättiin natriumhydridiä (86 mg 50-%:ista dispersiota öljyssä) sekoittaen 7-amino-5-(3,5-difluorifenyyli)-2-(2-furyyli)-[1,2,4]-triatsolo[1,5-a][1,3,5]triatsiinin (0,421 g) liuokseen dimetyyliformamidissa (5 ml). Seosta sekoitettiin, kunnes kuohuminen loppui ja saatiin kirkas liuos. Sitten lisättiin jodimetaania (0,256 g, 0,11 ml) ja reaktioseosta sekoitettiin ympäristön lämpötilassa 2 tuntia. Sitten lisättiin vettä (25 ml) ja jääetikkaa (0,5 ml) ja tuloksena oleva vesisuspensio uutettiin etyyliasetaatilla (3 x 50 ml). Orgaaniset uuteliuokset yhdistettiin ja pestiin vedellä (2 x 25 ml) ja kylläisellä NaCl-liuoksella (25 ml), kuivattiin ($MgSO_4$) ja haihdutettiin, jolloin saatiin keltainen kiinteä aine. Se puhdistettiin kromatografisesti silikageelillä. Eluoimalla tolueenilla, joka sisälsi 10 til-% etyyliasetaattia, saatiin 5-(3,5-difluorifenyyli)-2-(2-furyyli)-7-metyyliamino-[1,2,4]-triatsolo-[1,5-a][1,3,5]triatsiinia valkeana kiinteänä aineena, sp. 231 - 234 °C.

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{15}H_{10}F_2N_6O$:

Mitattu: C, 55,0; H, 3,1; N, 25,5 %;

Laskettu: C, 54,9; H, 3,1; N, 25,6 %;

NMR: 3,16 (s, 3 H, CH_3N); ,73 (dd, 1 H furyyli-4H); 7,21 (dd, 1 H, furyyli-3H); 7,47 (tt, 1 H, fenyyli-4H); 7,93 (d, 1 H, furyyli-5H); 7,97 - 8,05 (monimutkainen, 2 H, fenyyli-2H ja fenyyli-6H); 9,31 (s, 1 H, NH);

m/e 329 $(M+H)^+$.

Esimerkki 18

Seuraavassa valaistaan tyypillisiä farmaseuttisia antomuotoja, jotka sisältävät kaavan I mukaista yhdistettä, esimerkiksi missä tahansa edeltävistä esimerkeistä kuvattua yhdistettä (jäljempänä "yhdiste X") ja jotka on tarkoitettu terapeuttiseen tai profylaktiseen käyttöön ihmisille:

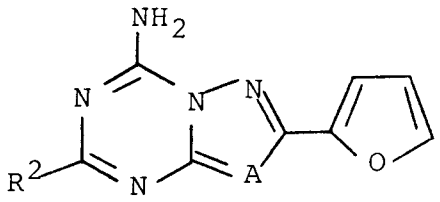
(a) **Tabletti**	**mg/tabletti**
Yhdistettä X	50
Laktoosia, Ph.Eur.	223,75
Natriumkroskarmelloosia	6,0
Maissitärkkelystä	15,0
Polyvinyylipyrrolidonia [tahna, 5 % (m/V)]	2,25
Magnesiumstearaattia	3,0

(b) **Kapseli**	**mg/kapseli**
Yhdistettä X	10
Laktoosia, Ph.Eur.	488,5
Magnesiumstearaattia	1,5

Edellä mainitut formulat voidaan valmistaa tavanomaisia, farmasia-alalla tunnetuin menettelyin. Tabletit voidaan varustaa enteerisellä päällysteellä tavanomaisin keinoin, esimerkiksi muodostamalla selluloosa-asetaatti-ftalaattipäällyste.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä uusien, terapeuttisesti käyttökelpoisten atsolijohdannaisten valmistamiseksi, joilla on kaava I



(I)

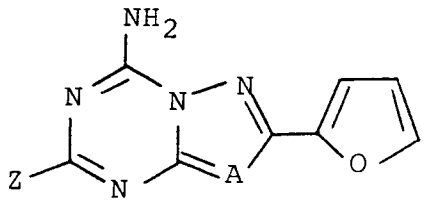
jossa

R^2 on fenyyliryhmä, tienyyliryhmä tai C_{1-8}-alkyyli-, -alkenyyli- tai -alkynyyliryhmä, joka on substituoimaton tai substituoitu fenyyliryhmällä tai furyylirenkaalla, jolloin mahdolliset fenyyliryhmät ovat substituoimattomia tai substituoituja yhdellä, kahdella tai kolmella ryhmällä, joita ovat C_{1-4}-alkyyli- ja C_{1-4}-alkoksiryhmät, halogeeniatomit ja trifluorimetyyli-, hydroksi-, bentsyylioksi- ja C_{1-5}-alkanoyylioksiryhmät; ja

A on N tai CN;

tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että

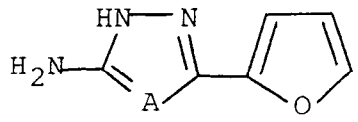
(a) saatetaan yhdiste, jolla on kaava II



(II)

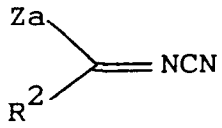
jossa A merkitsee samaa kuin edellä ja Z on sopiva poistuva ryhmä, reagoimaan asianmukaisen organometallireagenssin kanssa;

(b) saatetaan yhdiste, jolla on kaava IV



(IV)

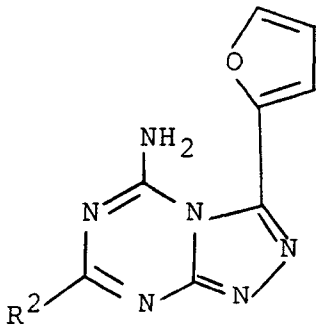
jossa A merkitsee samaa kuin edellä, reagoimaaan korotetussa lämpötilassa yhdisteen kanssa, jolla on kaava X



(X)

jossa R^2 merkitsee samaa kuin edellä ja Za on poistuva ryhmä;

(c) yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava I, jossa A on N, toteutetaan toisiintumisreaktio [1,2,4]triatsolo[4,3-a][1,3,5]triatsiinijohdannaiselle, jolla on kaava XI



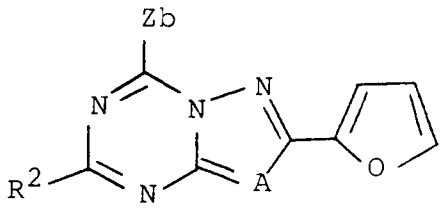
(XI)

jossa R^2 merkitsee samaa kuin edellä;

(d) yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava I, jossa R^2 on hydroksifenyyliryhmä, poistetaan suojaus vastaavasta kaavan I mukaisesta johdannaisesta, jonka hydroksiryhmä on suojattu;

(e) yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava I, jossa R^2 on substituoimaton tai subtituoitu alkynyyliryhmä, saatetaan yhdiste, jolla on kaava II, jossa Z on jodiatomi, reagoimaan asianmukaisen alkyynin kanssa palladiumkatalysaattorin läsnä ollessa; tai

(f) yhdisteiden valmistamiseksi, joilla on kaava I, jossa A on N, saatetaan yhdiste, jolla on kaava XII



(XII)

jossa R^2 ja A merkitsevät samaa kuin edellä kaavassa I ja Zb on sopiva poistuva ryhmä, reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava NH_3;

minkä jälkeen

haluttaessa yhdiste, jolla on kaava I, jossa R^2 sisältää asyylioksiryhmän, asyloidaan tavanomaisella tavalla vastaava yhdiste, jolla on kaava I, jossa R^2 on hydroksiryhmä;

haluttaessa yhdiste, jolla on kaava I, jossa R^2 on substituoimaton tai substituoitu alkyyli- tai alkenyyliryhmä, hydrataan tavanomaisella tavalla vastaava yhdiste, jossa R^2 on alkenyyli- tai alkynyyliryhmä;

kun tarvitaan kiraalisen, kaavan I mukaisen yhdisteen optisesti aktiivinen muoto, toteutetaan mikä tahansa edellä kuvatuista menetelmistä (a) - (f) käyttämällä asianomaista optisesti aktiivista lähtöainetta tai jaetaan raseeminen muoto optisesti aktiivisiksi isomeereikseen tavanomaisella menettelyllä; ja/tai

kun tarvitaan farmaseuttisesti hyväksyttävä suola, saatetaan kaavan I mukainen yhdiste reagoimaan fysiologi-

sesti hyväksyttävän ionin muodostavan sopivan hapon tai emäksen kanssa tai käytetään mitä tahansa muuta tavanomaista suolanmuodostusmenettelyä.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R^2 on ryhmä, jolla on kaava $R^3(CH_2)_nX_m$, jossa n on 0 tai kokonaisluku 1 - 6; m on 0 tai 1; X on HC=CH tai C≡C; ja R^3 on fenyyliryhmä, joka on substituoimaton tai substituoitu yhdellä, kahdella tai kolmella ryhmällä, joita ovat C_{1-4}-alkyyli- ja C_{1-4}-alkoksiryhmät, halogeeniatomit ja trifluorimetyyli-, hydroksi-, bentsyylioksi- ja C_{1-5}-alkanoyylioksiryhmät, tai furyylirengas, tai kun n on suurempi kuin 0, vetyatomi.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että fenyyliryhmän mahdollinen substituentti on metyyli-, etyyli-, metoksi- tai etoksiryhmä, fluori- tai klooriatomi tai trifluorimetyyli-, hydroksi-, bentsyylioksi- tai pivaloyylioksiryhmä.

Hak.n:o 922340

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar

912563 Int Cl D 487/04

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

FI 84726 Int Cl D 487/04

CH

DE 2720792 Cl D 487/04

DK

FR

GB 2016002 Int Cl D 487/04

NO

SE

US 4734413 Int Cl A61K 31/64, 3846423 Int Cl C07d 67/34
3995039 Int Cl C07D 251/72

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

Käännä Vänd

EP 172 608 Ck CorD 487/04 p. 383589 Ck A61K 31/54

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Journal of Medicinal Chemistry 25(1982):3 s. 243-9
Tetrahedron 44(1988):23 s. 7155-62

12.08.96

Olli Martikainen

Allekirjoitus