(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

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

(10) **FI 950305 A7**

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

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 950305

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07C279/22

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **24.01.1995**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **24.01.1995**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **26.07.1995**

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

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

25.01.1994 DE 4402057 19.04.1994 DE 4413615

(71) Hakija - Sökande - Applicant

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

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Schwark, Jan-Robert,** Frankfurt/Main, SAKSA, (DE)
2 • **Kleemann, Heinz-Werner,** BAD HOMBURG, SAKSA, (DE)
3 • **Lang, Hans-Jochen,** Hofheim/Taunus, SAKSA, (DE)
4 • **Weichert, Andreas,** Egelsbach, SAKSA, (DE)
5 • **Scholz, Wolfgang,** Eschborn, SAKSA, (DE)
6 • **Albus, Udo,** Florstadt, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

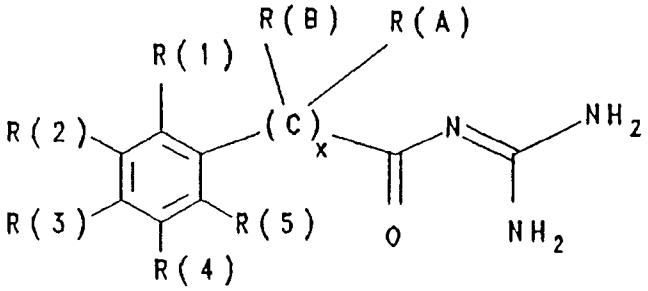
(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Perfluorialkyyliryhmiä sisältäviä fenyylisubstituoituja alkyylikarboksyylihappoguanididejä, menetelmä niiden valmistamiseksi, niiden käyttö lääkeaineena tai diagnostisena aineena sekä niitä sisältävä lääkeaine

Fenylsubstituerade alkylkarboxylsyraguanidider innehållande perfluoralkylgrupper, förfarande för framställning av dessa, deras användning som läkemedel eller diagnostiska medel samt läkemedel innehållande dessa

Perfluorialkyyliryhmiä sisältäviä fenyylisubstituoituja alkyylikarboksyylihappoguanididejä, menetelmä niiden valmistamiseksi, niiden käyttö lääkeaineena tai diagnostisena aineena sekä niitä sisältävä lääkeaine

Keksintö koskee perfluorialkyyliryhmillä varustettuja fenyylisubstituoituja alkyylikarboksyylihappoguanididejä, joilla on kaava I



(I)

jossa

R(A) on vety, F, Cl, Br, I, CN, OR(6), (C_{1-8})-alkyyli, (C_{3-8})-sykloalkyyli, $O_r(CH_2)_aC_bF_{2b+1}$ tai NR(7)R(8),

r on 0 tai 1,

a on 0, 1, 2, 3 tai 4,

b on 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 tai 8;

R(6) on vety, (C_{1-8})-alkyyli, (C_{3-8})-alkenyyli, (C_{3-8})-sykloalkyyli, fenyyli tai bentsyyli, jolloin aromaatit ovat substituoimattomia tai substituoituja 1 - 3:lla seuraavasta ryhmästä peräisin olevalla substituentilla: F, Cl, CF_3, metyyli, metoksi ja NR(9)R(10),

R(9) ja R(10) tarkoittavat H, (C_{1-4})-alkyyliä tai (C_{1-4})-perfluorialkyyliä;

R(7) ja R(8) on määritelty itsenäisesti kuten R(6);

R(B) on määritelty itsenäisesti kuten R(A);

X on 1, 2 tai 3;

R(1) on vety, (C_{1-8})-alkyyli, (C_{3-8})-sykloalkyyli, $-O_t(CH_2)_dC_eF_{2e+1}$, F, Cl, Br, I tai CN,

t on 0 tai 1,

d on 0, 1, 2, 3 tai 4,

e on 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 tai 8;

R(2), R(3), R(4) ja R(5) on määritelty itsenäisesti kuten R(1),

kuitenkin sillä ehdolla, että vähintään yksi substituenteista R(1), R(2), R(3), R(4), R(5), R(A) ja R(B) on $-O_t(CH_2)_dC_eF_{2e+1}-$ tai $-O_r(CH_2)_aC_bF_{2b+1}$-ryhmä,

sekä niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja.

Edullisia ovat kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa

R(A) on vety, F, Cl, Br, I, CN, OR(6), (C_{1-4})-alkyyli, $-C_bF_{2b+1}$ tai NR(7)R(8),

b on 1, 2, 3 tai 4;

R(6) on vety, (C_{1-4})-alkyyli, (C_{3-8})-alkenyyli, (C_{3-8})-sykloalkyyli, fenyyli tai bentsyyli, jolloin aromaatit ovat substituoimattomia tai substituoituja 1 - 3:lla seuraavasta ryhmästä peräisin olevalla substituentilla: F, Cl, CF_3, metyyli, metoksi ja NR(9)R(10),

R(9) ja R(10) tarkoittavat H, CH_3 tai CF_3;

R(7) ja R(8) on määritelty itsenäisesti kuten R(6);

R(B) on määritelty itsenäisesti kuten R(A);

X on 1, 2 tai 3;

R(1) on vety, (C_{1-8})-alkyyli, $-C_eF_{2e+1}$, F, Cl, Br, I tai CN;

e on 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 tai 8;

R(2), R(3), R(4) ja R(5) on määritelty itsenäisesti kuten R(1),

kuitenkin sillä ehdolla, että vähintään yksi substituenteista R(1), R(2), R(3), R(4), R(5), R(A) ja R(B) on $-C_eF_{2e+1}$ tai $-C_bF_{2b+1}$,

sekä niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Erityisen edullisia ovat kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa

R(A) on vety, F, Cl, Br, I, CN, OR(6), (C_{1-4})-alkyyli, $-C_bF_{2b+1}$ tai NR(7)R(8),

b on 1, 2, 3 tai 4;

R(6) on vety, (C_{1-4})-alkyyli, (C_{1-4})-perfluorialkyyli, fenyyli tai bentsyyli, jolloin aromaatit ovat substituoi-

mattomia tai substituoituja 1 - 3:lla seuraavasta ryhmästä peräisin olevalla substituentilla: F, Cl, CF_3, metyyli, metoksi ja NR(9)R(10);

R(9) ja R(10) tarkoittavat H, CH_3 tai CF_3;

R(7) ja R(8) on määritelty itsenäisesti kuten R(6);

R(B) on määritelty itsenäisesti kuten R(A);

X on 2;

R(1) on vety, (C_{1-4})-alkyyli, $-C_eF_{2e+1}$, F tai Cl;

e on 1, 2, 3 tai 4;

R(2), R(3), R(4) ja R(5) on määritelty itsenäisesti kuten R(1),

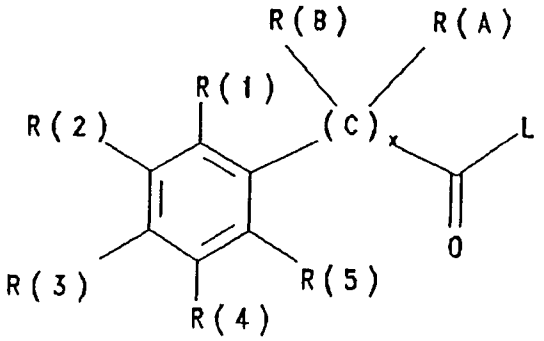
kuitenkin sillä ehdolla, että vähintään yksi substituenteista R(1), R(2), R(3), R(4), R(5), R(A) ja R(B) on $-C_eF_{2e+1}$ tai $-C_bF_{2b+1}$,

sekä niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat.

Jos kaavan I mukainen yhdiste sisältää yhden tai useamman asymmetriakeskuksen, niin silloin nämä voivat olla sekä S- että myös R-konfiguroituja. Yhdisteet voivat esiintyä optisina isomeereinä, diastereomeereinä, rasemaatteina tai niiden seoksina.

Kuvatut alkyyli- ja perfluorialkyylitähteet voivat olla sekä suoraketjuisia että haarautuneita.

Keksintö koskee edelleen menetelmää kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, jolle on tunnusomaista, että kaavan II mukaisia yhdisteitä



(II)

joissa R(1) - R(5) sekä R(A) että R(B) tarkoittavat samaa kuin edellä, ja L tarkoittaa helposti nukleofiilisesti korvattavissa olevaa lähtevää ryhmää, saatetaan reagoimaan guanidiinin kanssa.

Kaavan II mukaisia aktivoituja happojohdannaisia, joissa L on alkoksi-, edullisesti metoksiryhmä, fenoksiryhmä, fenyylitio-, metyylitio-, 2-pyridyylitioryhmä, typpiheterosyklinen ryhmä, edullisesti 1-imidatsolyyli, saadaan edullisesti sinänsä tunnetulla tavalla perustana olevista karboksyylihappoklorideista (kaava II, L = Cl), joita puolestaan voidaan jälleen valmistaa sinänsä tunnetulla tavalla perustana olevista karboksyylihapoista (kaava II, L = OH) esim. tionyylikloridilla.

Kaavan II (L = Cl) mukaisten karboksyylihappokloridien ohella voidaan myös valmistaa muita kaavan II mukaisia aktivoituja happojohdannaisia sinänsä tunnetulla tavalla suoraan perustana olevista karboksyylihappojohdannaisista (kaava II, L = OH), kuten esim. kaavan II mukaisia metyyliestereitä, joissa L = OCH_3, käsittelemällä näitä kaasumaisella HCl:llä metanolissa, kaavan II mukaisia imidatsolideja käsittelemällä niitä karbonyylidi-imidatsolilla [L = 1-imidatsolyyli, Staab, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1, 351 - 367 (1962)], seosanhydridejä II Cl-$COOC_2H_5$:llä tai tosyylikloridilla trietyyliamiinin läsnä ollessa inertissä liuottimessa, kuten myös aktivoimalla karboksyylihapot disykloheksyylikarbodi-imidillä (DCC) tai O-[(syaani(etoksikarbonyyli)metyleeni)amino]-1,1,3,3-tetrametyyliuronium-tetrafluoriboraatilla ("TOTU") [Proceedings of the 21. European Peptide Symposium, Peptides 1990, julkaisijat E. Giralt ja D. Andreu, Escom, Leiden, 1991]. Useita sopivia menetelmiä kaavan II mukaisten aktivoitujen karboksyylihappojohdannaisten valmistamiseksi on ilmoitettu lähdekirjallisuuden kera julkaisussa J. March, Advanced Organic Chemistry, 3. painos (John Wiley & Sons, 1985), s. 350.

Kaavan II mukaisen aktivoidun karboksyylihappojohdannaisen reaktio guanidiinin kanssa tapahtuu sinänsä tunnetulla tavalla proottisessa tai aproottisessa polaarisessa, mutta inertissä orgaanisessa liuottimessa. Tällöin karboksyylihappometyyliesterin (II, L = OMe) reaktiossa guanidiinin kanssa käytetään edullisesti metanolia, isopropanolia tai THF:ää lämpötilassa välillä 20 °C - näiden liuottimien kiehumislämpötila. Useimmissa kaavan II mukaisten yhdisteiden ja suolavapaan guanidiinin välisissä reaktioissa työskenneltiin edullisesti aproottisissa inerteissä liuottimissa, kuten THF:ssä, dimetoksietaanissa tai dioksaanissa. Mutta myös vettä voidaan käyttää liuottimena käytettäessä emästä, kuten esim. NaOH:ta, kaavan II mukaisen yhdisteen ja guanidiinin välisessä reaktiossa.

Jos L = Cl, työskennellään edullisesti lisäten happoa sitovaa ainetta, esim. guanidiiniylimääränä halogeenivetyhapon sitomiseksi.

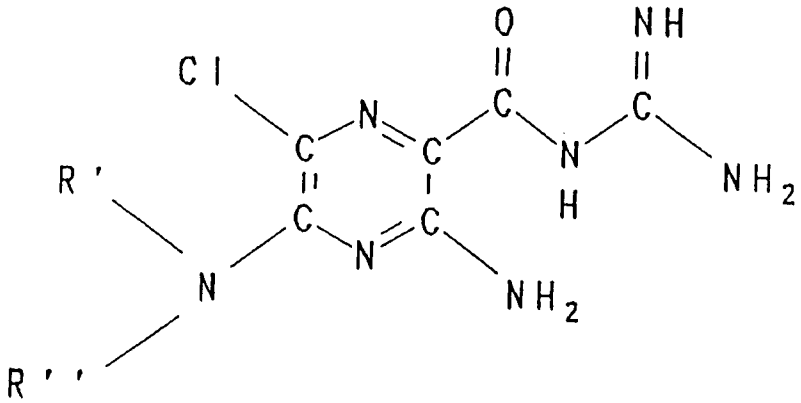
Osa perustana olevista kaavan II mukaisista karboksyylihappojohdannaisista on tunnettuja ja kirjallisuudessa kuvattuja. Tuntemattomia kaavan II mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa kirjallisuudesta tunnettujen menetelmien mukaisesti. Saadut karboksyylihapot saatetaan jollakin edellä kuvatulla menetelmävaihtoehdolla reagoimaan keksinnön mukaisiksi kaavan I mukaisiksi yhdisteiksi.

Joidenkin substituenttien liittäminen onnistuu kirjallisuudesta tunnettuja menetelmiä käyttäen palladiumvälitteisellä aryylihalogenidien tahi aryylitriflaattien ristiin-kytkennällä esim. organostannaaneilla, organoboronihapoilla, organoboraaneilla tai organokupari- tahi organosinkkiyhdisteillä tai päätealkyyneillä.

Kaavan I mukaiset asyyliguanidiinit ovat yleensä heikkoja emäksiä ja ne voivat sitoa happoa suolojen muodostuessa. Happoadditiosuoloina tulevat kysymykseen kaikkien farmakologisesti siedettävien happojen suolat, esim. halogenidit, erityisesti hydrokloridit, laktaatit, sulfaa-

tit, sitraatit, tartraatit, asetaatit, fosfaatit, metyylisulfonaatit ja p-tolueenisulfonaatit.

Kaavan I mukaiset yhdisteet ovat substituoituja asyyliguanidiineja. Asyyliguanidiinien huomattavin edustaja on pyratsiinijohdannainen amiloridi, jota käytetään terapiassa kaliumia säästävänä diureettina. Kirjallisuudessa kuvataan useita muita amiloridi-tyyppisiä yhdisteitä, kuten esim. dimetyyliamiloridia tai etyyli-isopropyyliamiloridia.



Amiloridi: R', R" = H

Dimetyyliamiloridi: R', R" = CH_3

Etyyli-isopropyyliamiloridi: R' = C_2H_5, R" = $CH(CH_3)_2$.

Tämän lisäksi tunnetaan tutkimuksia, jotka viittaavat amiloridin rytmihäiriöitä ehkäiseviin ominaisuuksiin (Circulation 79, 1257 - 63 (1989). Esteenä yhdisteen laajalle käytölle rytmihäiriöitä ehkäisevänä aineena on kuitenkin, että tämä vaikutus on ainoastaan heikko ja sen ohella esiintyy verenpainetta alentavaa ja salureettista vaikutusta ja nämä sivuvaikutukset eivät ole toivottavia sydämen rytmihäiriöiden hoidossa.

Viittauksia amiloridin rytmihäiriöitä ehkäiseviin ominaisuuksiin saatiin myös eläinten eristetyillä sydämillä suoritetuissa kokeissa (Eur. Heart J. 9 (Suppl. 1): 167 (1988) (book of abstracts). Niinpä todettiin esim. rottien

sydämiä apuna käyttäen, että keinotekoisesti aikaansaatu kammiovärinä voitiin ehkäistä täysin amiloridilla. Amiloridia vielä paljon tehokkaampi tässä koemallissa oli edellä mainittu amiloridijohdannainen etyyli-isopropyyliamiloridi.

US-patenttijulkaisussa 5 091 394 (HOE 89/F 288), EP-hakemusjulkaisussa 556 674 (HOE 92/F 034) ja US-patenttijulkaisussa 3 780 027 kuvataan bentsoyyliguanidiineja. Keksinnön mukaiset yhdisteet eroavat näistä CO-ryhmän ja fenyylitähteen välillä olevan -CR(A)R(B)-ryhmän perusteella.

Patenttijulkaisusta WO 84/00 875 tunnetaan mm. samanlaisia asyyliguanidiineja, joissa ei kuitenkaan missään tapauksessa ole perfluorialkyyliryhmiä.

Koska tähän menessä kaikki antiarrytmisesti vaikuttavat guanidiinit on johdettu aryyli- tahi heteroaryylikarboksyylihapoista, oli yllättävää että keksinnön mukaisilla yhdisteillä ei todettu mitään ei-toivottuja ja haitallisia salureettisia ominaisuuksia, mutta niillä on kuitenkin erittäin hyvät antiarrytmiset ominaisuudet, jollaisia esiintyy esim. hapenpuutteen yhteydessä. Yhdisteet soveltuvat farmakologisten ominaisuuksiensa vuoksi erinomaisen hyvin sydäntä suojaavan komponentin sisältävinä antiarrytmisinä lääkeaineina infarktin ennaltaehkäisyyn ja hoitoon sekä angina pectoriksen hoitoon, jolloin ne myös ennaltaehkäisevät tai vähentävät tehokkaasti patofysiologisia tapahtumia, jollaisia esiintyy iskemian aiheuttamien vaurioiden, erityisesti iskemiasta johtuvien sydämen rytmihäiriöiden yhteydessä. Keksinnön mukaisia, kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää näiden patologisiin, hypoksisiin ja iskeemisiin tiloihin kohdistuvan suojaavan vaikutuksen vuoksi ja soluvälitteisen Na^+/H^+-vaihtomekanismin estymisen johdosta lääkeaineina kaikkien akuuttien tai kroonisten, iskemian aiheuttamien vaurioiden tai niiden johdosta primäärisesti tai sekundäärisesti aiheutuneiden

sairauksien hoitamiseksi. Tämä koskee niiden käyttöä lääkeaineina operatiivisissa toimenpiteissä, esim. elinsiirroissa, jolloin yhdisteitä voidaan käyttää sekä luovuttajan elinten suojaamiseen ennen siirtoa ja siirron aikana, siirrettyjen elinten suojaamiseen esim. käsittelyn aikana ja/tai niiden fysiologisissa haudenesteissä säilyttämisen aikana, kuten myös siirrettäessä ne vastaanottajaelimistöön. Yhdisteet ovat samoin arvokkaita, suojaavasti vaikuttavia lääkeaineita suoritettaessa angioplastisia leikkaustoimenpiteitä esim. sydämessä, kuten myös perifeerisissä verisuonissa. Yhdisteiden iskeemisesti aiheutuneisiin vaurioihin kohdistuvan suojaavan vaikutuksen vuoksi ne soveltuvat myös hermoston, erityisesti keskushermoston, iskemioiden hoidossa käytettäviksi lääkeaineiksi, jolloin ne soveltuvat esim. halvauskohtauksen tai aivoödeeman hoitoon. Tämän lisäksi kaavan I mukaiset keksinnön mukaiset yhdisteet soveltuvat samoin shokin eri muotojen, kuten esim. allergisen, kardiogeenisen, hypovoleemisen ja bakteerisen shokin hoitoon.

Tämän lisäksi kaavan I mukaiset keksinnön mukaiset yhdisteet estävät tehokkaasti solujen proliferaatiota, kuten esim. fibroblastien proliferaatiota ja verisuonten sileiden lihassolujen proliferaatiota. Tämän johdosta kaavan I mukaiset yhdisteet tulevat kyseeseen arvokkaina terapeuttisina aineina sairauksissa, joissa solujen proliferaatio on primäärisena tai sekundäärisena syynä ja niitä voidaan tämän vuoksi käyttää ateroskleroosin, diabeteksen myöhäiskomplikaatioiden, syöpäsairauksien, fibroottisten sairauksien, kuten keuhkofibroosin, maksafibroosin tai munuaisfibroosin, elinten hypertrofian ja hyperplasian, erityisesti eturauhasen hyperplasian tai eturauhasen hypertrofian, vastaisina lääkeaineina.

Keksinnön mukaiset yhdisteet ovat solun natriumprotoni-antiportterin (Na^+/H^+-vaihdon) tehokkaita inhibiittoreita, Na^+/H^+-vaihdon ollessa lisääntynyt lukuisissa sai-

rauksissa (essentiaalinen verenpainetauti, ateroskleroosi, diabetes jne.) myös sellaisissa soluissa, joita voidaan helposti mitata, kuten esim. erytrosyyteissä, trombosyyteissä tai leukosyyteissä. Keksinnön mukaiset yhdisteet soveltuvat tämän vuoksi erinomaisiksi ja yksinkertaisiksi tieteellisiksi työkaluiksi, esim. käytettäessä niitä diagnostisina valmisteina verenpainetaudin määrättyjen muotojen määrittämiseksi ja erottamiseksi, mutta myös ateroskleroosin, diabeteksen, proliferatiivisten sairauksien jne. määrittämiseksi ja erottamiseksi. Tämän lisäksi kaavan I mukaiset yhdisteet soveltuvat ennaltaehkäisevään terapiaan estämään kohonneen verenpaineen, esim. essentiaalisen verenpainetaudin, kehittymistä.

Kaavan I mukaista yhdistettä sisältäviä lääkeaineita voidaan tällöin annostella suun kautta, parenteraalisesti, ruiskeena laskimoon, peräsuolen kautta tai inhaloimalla, jolloin edullisena pidetty annostelutapa on riippuvainen kunkin sairauden vaikeusasteesta. Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan tällöin käyttää yksinään tai yhdessä galeenisten apuaineiden kanssa, ja nimenomaan sekä eläinlääketieteessä että myös lääketieteessä.

Asiantuntija tietää oman asiantuntemuksensa perusteella, mitkä apuaineet ovat sopivia kullekin halutulle lääkevalmisteelle. Liuottimien, geelinmuodostajien, peräpuikoissa käytettävien perusmassojen, tablettien apuaineiden ja muiden vaikuttavissa aineissa käytettävien kantajaaineiden ohella voidaan käyttää esim. antioksidantteja eli hapetuksen estoaineita, dispergointiaineita, emulgaattoreita, vaahtoa poistavia aineita, makua parantavia aineita, säilöntäaineita, liukenemista välittäviä aineita tai väriaineita.

Suun kautta tapahtuvassa annostelussa aktiivisiin yhdisteisiin sekoitetaan tarkoitukseen soveltuvia lisäaineita, kuten kantaja-aineita, stabilisaattoreita tai inerttejä laimennusaineita ja ne saatetaan tavanomaisia

menetelmiä käyttäen sopiviksi annostelumuodoiksi, kuten tableteiksi, lääkerakeiksi, piilokapseleiksi, vesipitoisiksi, alkoholipitoisiksi tai öljymäisiksi liuoksiksi. Inertteinä kantaja-aineina voidaan käyttää esim. arabikumia, magnesiumia, magnesiumkarbonaattia, kaliumfosfaattia, maitosokeria, glukoosia tai tärkkelystä, erityisesti maissitärkkelystä. Tällöin valmistus voi tapahtua sekä kuivaettä myös kosteagranulaattina. Öljymäisinä kantaja-aineina tai liuottimina tulevat kyseeseen esim. kasvi- tai eläinkunnasta peräisin olevat öljyt, kuten auringonkukkaöljy tai kalanmaksaöljy.

Annostelun tapahtuessa ruiskeena ihonalaiseen kudokseen tai laskimoon aktiiviset yhdisteet saatetaan mahdollisesti tavanomaisten aineiden, kuten liukenemista välittävien aineiden, emulgaattorien tai muiden apuaineiden, kanssa liuokseen, suspensioon tai emulsioon. Liuottimina tulevat kyseeseen esim. vesi, fysiologinen keittosuolaliuos tai alkoholit, esim. etanoli, propanoli, glyseroli, näiden ohella myös sokeriliuokset, kuten glukoosi- tai mannitoliliuokset, tai myös mainittujen eri liuottimien seokset.

Kaavan I mukaisen vaikuttavan aineen liuokset, suspensiot tai emulsiot farmaseuttisesti hyväksyttävässä liuottimessa, kuten erityisesti etanolissa tai vedessä, tai tällaisten liuottimien seoksessa, soveltuvat farmaseuttiseksi valmisteeksi annostelun tapahtuessa aerosolien tai sprayn muodossa.

Valmiste voi tarpeen vaatiessa sisältää vielä myös muita farmaseuttisia apuaineita, kuten tensidejä, emulgaattoreita ja stabilisaattoreita sekä ponnekaasua. Tällainen valmiste sisältää vaikuttavaa ainetta tavallisesti konsentraationa noin 0,1 - 10, erityisesti noin 0,3 - 3 paino-%.

Kaavan I mukaisen annosteltavan vaikuttavan aineen annostus ja annostelutiheys ovat riippuvaisia käytettyjen

yhdisteiden vaikutuksen voimakkuudesta ja vaikutuksen kestosta; tämän lisäksi myös hoidettavan sairauden lajista ja vaikeusasteesta sekä hoidettavan potilaan sukupuolesta, iästä, painosta ja yksilöllisestä hoitovasteesta.

Kaavan I mukaisen yhdisteen keskimääräinen päivittäinen annos noin 75 kg:n painoisella potilaalla on vähintään 0,001 mg/kg, edullisesti 0,01 mg/kg, korkeintaan 10 mg/kg, edullisesti 1 mg/kg painokilo. Sairauden akuutissa vaiheessa, esim. välittömästi sydäninfarktiin sairastumisen jälkeen, voidaan tarvita myös vielä suurempia ja ennen kaikkea useammin tapahtuvia annosteluja, esim. aina neljään kerta-annokseen/päivä saakka. Erityisesti laskimonsisäisessä annostelussa, esim. infarktipotilaalla intensiivivaiheessa, voi olla välttämätöntä annostella vaikuttavaa ainetta jopa 200 mg/päivä.

Luettelo lyhennyksistä:

MeOH	metanoli
DMF	N,N-dimetyyliformamidi
EI	elektroni-isku
DCI	desorptio-kemiallinen ionisaatio (Desorption-Chemical Ionisation)
RT	huoneenlämpötila
EE	etyyliasetaatti (EtOAc)
sp.	sulamispiste
HEP	n-heptaani
DME	dimetoksietaani
ES	elektronispray
FAB	Fast Atom Bombardment (pommittaminen nopeilla atomeilla)
CH_2Cl_2	dikloorimetaani
THF	tetrahydrofuraani
ekv	ekvivalentti
Pd/C	palladium hiilellä
Pt/C	platina hiilellä
LDA	litiumdi-isoproyyliamiini

Kokeellinen osa

Yleinen ohje asyyliguanidiinien (I) valmistamiseksi

Vaihtoehto A: Karboksyylihapoista (II, L = OH)

1,0 ekvivalenttia kaavan II mukaista karboksyylihappojohdannaista liuotetaan tai suspendoidaan vedettömään THF:ään (5 ml/mmol) ja sitten lisätään 1,1 ekvivalenttia karbonyylidi-imidatsolia. Sen jälkeen kun seosta on sekoitettu yli kaksi tuntia huoneenlämpötilassa, reaktioliuokseen lisätään 5,0 ekvivalenttia guanidiinia. Sen jälkeen kun seosta on sekoitettu yön yli, THF tislataan alennetussa paineessa rotavaporissa, lisätään vettä, pH saatetaan 2 N HCl:llä arvoon 6 - 7 ja vastaava asyyliguanidiini (kaava I) suodatetaan pois. Näin saadut asyyliguanidiinit voidaan muuttaa käsittelemällä niitä vesipitoisella, metanolipitoisella tai eetteripitoisella kloorivetyhapolla tai muilla farmakologisesti siedettävillä hapoilla vastaaviksi suoloiksi.

Yleinen ohje asyyliguanidiinien (I) valmistamiseksi

Vaihtoehto B: Karboksyylihappoalkyyliestereistä (II, L = O-alkyyli)

1,0 ekvivalenttia kaavan II mukaista karboksyylihappoalkyyliesteriä sekä 5,0 ekvivalenttia guanidiinia (vapaata emästä) liuotetaan isopropanoliin tai suspendoidaan THF:ään ja refluksoidaan (tyypillinen reaktioaika 2 - 5 tuntia) kunnes reaktio on täydellinen (ohutkerroskontrolli). Liuotin tislataan alennetussa paineessa (rotavaporissa), jäännös liuotetaan etyyliasetaattiin ja pestään kolme kertaa $NaHCO_3$-liuoksella. Sitten se kuivataan Na_2SO_4:llä, liuotin tislataan pois vakuumissa ja kromatografoidaan silikageelillä käyttäen sopivaa eluointiainetta, esim. EE/MeOH 5:1.

(Suolanmuodostus, vertaa vaihtoehto A).

Esimerkki 1

3-(3-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoguanididi

Hydrogenoimalla m-trifluorimetyylikanelihappo käyttäen 10-%:ista Pd/C:tä EE:ssä huoneenlämpötilassa normaa-

lipaineessa saatiin 3-(3-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoa.

1,0 ekvivalentin tätä tyydytettyä karboksyylihappoa annettiin reagoida vaihtoehdon A mukaisesti 1,1 ekvivalentin kanssa karbonyylidi-imidatsolia ja 5 ekvivalentin kanssa guanidiinia.

MS (ES): 260 (M + 1).

Esimerkki 2

3-(2-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoguanididi

Hydrogenoimalla o-trifluorimetyylikanelihappo käyttäen 10-%:ista Pd/C:tä EE:ssä huoneenlämpötilassa normaalipaineessa saatiin 3-(2-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoa.

1,0 ekvivalentin tätä tyydytettyä karboksyylihappoa annettiin reagoida vaihtoehdon A mukaisesti 1,1 ekvivalentin kanssa karbonyylidi-imidatsolia ja 5 ekvivalentin kanssa guanidiinia.

MS (ES): 260 (M + 1).

sp.: 73 - 80 °C

Esimerkki 3

3-(3-trifluorimetoksifenyyli)propionihappoguanididihydrokloridi

Hydrogenoimalla m-trifluorimetoksikanelihappo käyttäen 10-%:ista Pd/C:tä EtOH:ssä huoneenlämpötilassa normaalipaineessa saatiin 3-(3-trifluorimetoksifenyyli)propionihappoa.

1,0 ekvivalentin tätä tyydytettyä karboksyylihappoa annettiin reagoida vaihtoehdon A mukaisesti 1,1 ekvivalentin kanssa karbonyylidi-imidatsolia ja 5 ekvivalentin kanssa guanidiinia ja eristettiin hydrokloridina.

MS (ES): 276 (M + 1).

Esimerkki 4

3-(4-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoguanididi

Hydrogenoimalla p-trifluorimetyylikanelihappo käyttäen 10-%:ista Pd/C:tä EE:ssä huoneenlämpötilassa normaa-

lipaineessa saatiin 3-(4-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoa.

1,0 ekvivalentin tätä tyydytettyä karboksyylihappoa annettiin reagoida vaihtoehdon A mukaisesti 1,1 ekvivalentin kanssa karbonyylidi-imidatsolia ja 5 ekvivalentin kanssa guanidiinia.

MS (ES): 260 (M + 1)

sp.: 146 - 153 °C

Esimerkki 5

2-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoguanidihydrokloridi

5a) 2-metyylimalonihappodietyyliesteri muutettiin THF:ssä 1 ekvivalentilla natriumhydridiä anioniksi ja alkyloitiin 1,05 ekvivalentilla 3-trifluorimetyylibentsyylibromidia. Tavanomaisen käsittelyn jälkeen saatiin 2-metyyli-2-(3-trifluorimetyylibentsyyli)malonihappodietyylieste-riä.

Väritön öljy MS (ES): 333 (M + 1)

5b) Vaiheesta 5a) saatu diesteri saippuoitiin refluksoimalla jääetikka/5 N HCl-seoksessa ja dekarboksyloitiin 2-metyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)propionihapoksi.

Väritön öljy MS (ES): 233 (M + 1)

5c) Vaiheesta 5b) saatu karboksyylihappo muutettiin vaihtoehdon A mukaisesti guanididiksi ja eristettiin hydrokloridina.

Amorfinen kiintoaine, MS (ES): 274 (M + 1).

Esimerkki 6

2-etyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoguanididi

6a) 1 ekvivalentti 3-(3-trifluorimetyylifenyyli)-propionihappoa muutettiin THF:ssä -78 °C:ssa kahden LDA-ekvivalentin avulla anioniksi (30 min. sekoittamista -78 °C:ssa, sitten 30 min. huoneenlämpötilassa). Sitten lisättiin -78 °C:ssa kaksi ekvivalenttia etyylijodidia ja

seosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa. Hapan käsittely 2 N HCl:llä ja kromatografinen puhdistus antoivat 2-etyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoa.

6b) Vaiheesta 6a) saatu karboksyylihappo muutettiin vaihtoehdon A mukaisesti guanididiksi ja eristettiin vapaana emäksenä.

Väritön öljy, MS (ES): 288 (M + 1).

Esimerkki 7

2-isopropyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoguanididi

Valmistettiin esimerkin 6 mukaisesti.

Väritön öljy, MS (ES): 302 (M + 1).

Esimerkki 8

2-isobutyyli-3-(3-trifluorimetyylifenyyli)propionihappoguanididi

Valmistettiin esimerkin 6 mukaisesti.

Amorfinen kiintoaine, MS (ES): 316 (M + 1).

Esimerkki 9

2-etyyli-3-[3,5-bis(trifluorimetyyli)fenyyli]propionihappoguanididi

Valmistettiin esimerkin 5 mukaisesti.

Väritön öljy, MS (ES): 356 (M + 1).

Esimerkki 10

2-(2-trifluorimetyylifenyyli)etikkahappoguanididihydrokloridi

Saatiin vaihtoehdon A mukaisesti vastaavasta etikkahappojohdannaisesta.

MS (ES): 246 (M + 1)

sp.: 135 - 141 °C.

Esimerkki 11

2-(3-trifluorimetyylifenyyli)etikkahappoguanididihydrokloridi

Saatiin vaihtoehdon A mukaisesti vastaavasta etikkahappojohdannaisesta.

MS (ES): 246 (M + 1)

sp.: 122 - 126 °C.

Esimerkki 12

2-(4-trifluorimetyylifenyyli)etikkahappoguanididihydrokloridi

Saatiin vaihtoehdon A mukaisesti vastaavasta etikkahappojohdannaisesta.

MS (ES): 246 (M + 1)

sp.: 102 - 107 °C.

Farmakologiset tiedot:

Kaniinin punasolujen Na^+/H^+-vaihdon estyminen:

Valkoiset Uuden Seelannin kaniinit (Ivanovas) saivat kuuden viikon ajan standardi-dieettiruokaa, joka sisälsi 2 % kolesterolia Na^+/H^+-vaihdon aktivoimiseksi ja, jotta voitaisiin määrittää liekkifotometrisesti Na^+-virtaus punasoluihin Na^+/H^+-vaihdon kautta. Verinäytteet otettiin korvavaltimoista ja tehtiin hyytymättömiksi 25 ky:llä kalium-hepariinia. Osaa jokaisesta näytteestä käytettiin sentrifugoimalla tapahtuvaan hematokriitin kaksoismääritykseen. Kunkin 100 µl:n määrätilavuuksia käytettiin punasolujen Na^+-lähtöpitoisuuden mittaukseen.

Amiloridi-sensitiivisen natriumin sisäänvirtauksen määrittämiseksi 100 µl jokaista verinäytettä inkuboitiin kulloinkin 5 ml:ssa hyperosmolaarista suola-sakkaroosi-väliainetta (mmol/l: 140 NaCl, 3 KCl, 150 sakkaroosi, 0,1 quabaiini, 20 tris-hydroksimetyyliaminometaani) pH-arvossa 7,4 ja 37 °C:ssa. Punasolut pestiin tämän jälkeen kolme kertaa jääkylmällä $MgCl_2$-quabaiini-liuoksella (mmol/l: 112 $MgCl_2$, 0,1 quabaiini) ja hemolysoitiin 2,0 ml:ssa tislattua vettä. Solunsisäinen natriumpitoisuus määritettiin liekkifotometrisesti.

Na^+-nettosisäänvirtaus laskettiin natriumin lähtöarvojen ja punasolujen natriumpitoisuuden välisestä erosta inkuboinnin jälkeen. Amiloridia estävä natriumin sisäänvirtaus saatiin punasolujen natriumpitoisuuksien välisestä erosta inkuboinnin jälkeen ilman amiloridia ja käyttäen

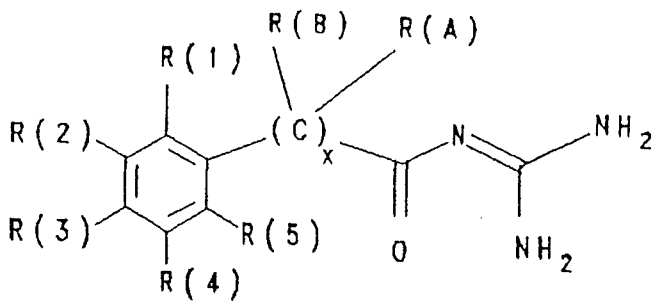
3 x 10^{-4} moolia/litra amiloridia. Tällä tavalla meneteltiin myös keksinnön mukaisten yhdisteiden kohdalla.

Na^+/H^+-vaihdon estymisen tulokset:

Esimerkki	IC_{50} (µmol/l)
1	0,6
2	0,5
3	0,7
4	0,05

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisen kaavan I mukaisen yhdisteen valmistamiseksi



(I)

jossa

R(A) on vety, F, Cl, Br, I, CN, OR(6), (C_{1-4})-alkyyli, $-C_bF_{2b+1}$ tai NR(7)R(8);

b on 1, 2, 3 tai 4;

R(6) on vety, (C_{1-4})-alkyyli, $-C_bF_{2b+1}$, fenyyli tai bentsyyli, jolloin aromaatit ovat substituoimattomia tai substituoituja 1 - 3:lla seuraavasta ryhmästä peräisin olevalla substituentilla: F, Cl, CF_3, metyyli, metoksi ja NR(9)R(10);

R(9) ja R(10) tarkoittavat vetyä, CH_3:a tai CF_3:a;

R(7) ja R(8) on määritelty itsenäisesti kuten R(6);

R(B) on määritelty itsenäisesti kuten R(A);

X on 2;

R(1) on vety, (C_{1-4})-alkyyli, $-O_t-C_bF_{2b+1}$, F tai Cl;

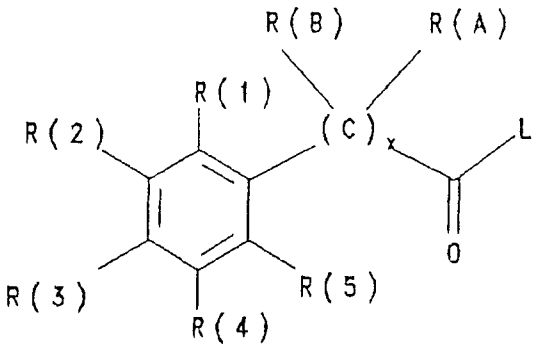
t on 0 tai 1;

b on 1, 2, 3 tai 4;

R(2), R(3), R(4) ja R(5) on määritelty itsenäisesti kuten R(1),

kuitenkin sillä ehdolla, että vähintään yksi substituenteista R(1), R(2), R(3), R(4) ja R(5) on $-C_bF_{2b+1}$-ryhmä,

sekä sen farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että kaavan II mukainen yhdiste



(II)

joissa R(1) - R(5) sekä R(A) että R(B) tarkoittavat samaa kuin edellä ja L tarkoittaa helposti nukleofiilisesti korvattavissa olevaa lähtevää ryhmää, saatetaan reagoimaan guanidiinin kanssa, ja yhdiste mahdollisesti muutetaan farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

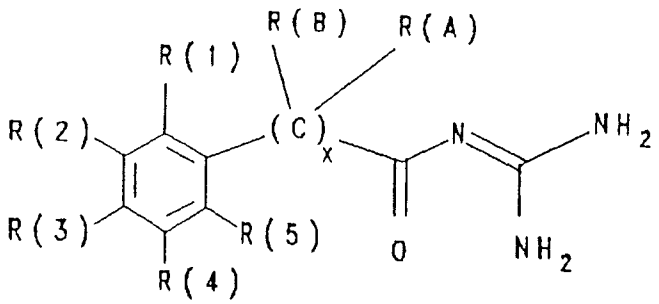
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että

R(1) on vety, (C_{1-4})-alkyyli, $-C_bF_{2b+1}$, F tai Cl;

b on 1, 2, 3 tai 4.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisen kaavan I mukaisen yhdisteen valmistamiseksi



(I)

jossa

R(A) on vety, F, Cl, Br, I, CN, OR(6), (C_{1-4})-alkyyli, $-C_bF_{2b+1}$ tai NR(7)R(8);

b on 1, 2, 3 tai 4;

R(6) on vety, (C_{1-4})-alkyyli, $-C_bF_{2b+1}$, fenyyli tai bentsyyli, jolloin aromaatit ovat substituoimattomia tai substituoituja 1 - 3:lla seuraavasta ryhmästä peräisin olevalla substituentilla: F, Cl, CF_3, metyyli, metoksi ja NR(9)R(10);

R(9) ja R(10) tarkoittavat vetyä, CH_3:a tai CF_3:a;

R(7) ja R(8) on määritelty itsenäisesti kuten R(6);

R(B) on määritelty itsenäisesti kuten R(A);

X on 2;

R(1) on vety, (C_{1-4})-alkyyli, $-O_t-C_bF_{2b+1}$, F tai Cl;

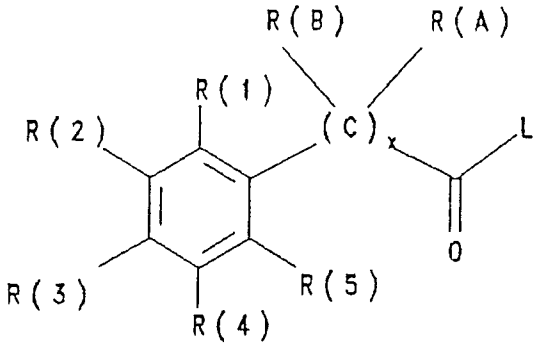
t on 0 tai 1;

b on 1, 2, 3 tai 4;

R(2), R(3), R(4) ja R(5) on määritelty itsenäisesti kuten R(1),

kuitenkin sillä ehdolla, että vähintään yksi substituenteista R(1), R(2), R(3), R(4) ja R(5) on $-C_bF_{2b+1}$-ryhmä,

sekä sen farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että kaavan II mukainen yhdiste



(II)

joissa R(1) - R(5) sekä R(A) että R(B) tarkoittavat samaa kuin edellä ja L tarkoittaa helposti nukleofiilisesti korvattavissa olevaa lähtevää ryhmää, saatetaan reagoimaan guanidiinin kanssa, ja yhdiste mahdollisesti muutetaan farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että

R(1) on vety, (C_{1-4})-alkyyli, $-C_bF_{2b+1}$, F tai Cl;

b on 1, 2, 3 tai 4.

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS **TUTKIMUSRAPORTTI**

Patentti- ja innovaatiolinja

PATENTTIHAKEMUS NRO	LUOKITUS
950305	C07C 279/22

TUTKITTU AINEISTO
Patenttijulkaisukokoelma (FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US), tutkitut luokat
Tiedonhaut ja muu aineisto

VIITEJULKAISUT

Kategoria*)	Julkaisun tunnistetiedot	Koskee vaatimuksia
A	EP-A 556672 (C07D 295/155)	
A	EP-A 87218 (C07C 129/12)	
A	GB-A 2055093 (C07C 129/12)	
A	WO-A 84/00875 (A01N 43/80)	
A	FI-A 942598 (C07C 279/22)	

*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna
Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu
A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este

Päiväys	Tutkija
26.9.2001	Eira Ylilammi