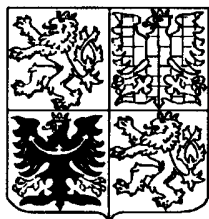


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 23.02.93
(32) 09.02.93, 24.02.92
(31) 93/15005, 92/840361
(33) US, US
(40) 12.04.95

(21) 2017-94

(13) A3

6(51)

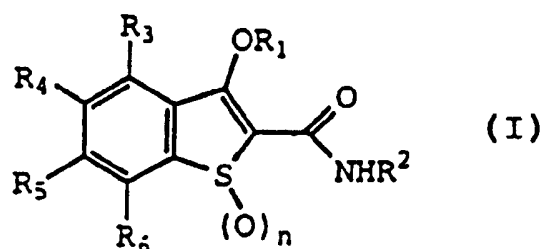
C 07 D 333/70
C 07 D 409/12
A 61 K 31/38

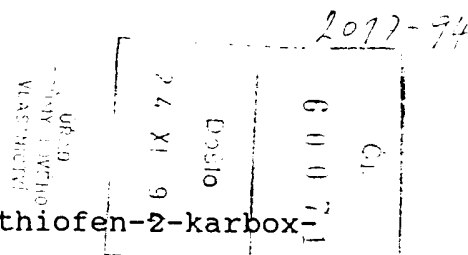
(71) WARNER-LAMBERT COMPANY, Ann Arbor, MG, US;

(72) Boschelli Diane Harris, Plymouth, MG, US;
Connor David Thomas, Ann Arbor, MG, US;
Wright Clifford Dean, Thousand Oaks, CA, US;

(54) 3-alkoxy-, aroxy- nebo
aralkoxybenzo/b/thiofen-2-karboxamidy

(57) Předmětem řešení jsou 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo/b/thiofen-2-karboxamidy obecného vzorce I, kde R_1 představuje nižší alkylskupinu, fenylyskupinu nebo benzylskupinu; R_2 představuje atom vodíku, nižší alkylskupinu, fenylyskupinu, benzylskupinu, zbytek thiofenu, skupinu vzorce $(CH_2)_mQ$ nebo fenylyskupinu, benzylskupinu nebo zbytek thiofenu, přičemž poslední tři skupiny jsou substituovány zbytkem $(CH_2)_mQ$; n představuje celé číslo s hodnotou od 0 do 2; m představuje celé číslo s hodnotou od 0 do 6; Q představuje skupinu obecného vzorce CO_2R_7 , kde R_7 představuje atom vodíku nebo nižší alkylskupinu; a R_3 , R_4 , R_5 a R_6 nezávisle představuje vždy atom vodíku, hydroxyskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, nižší alkylskupinu nebo nižší alkoxy skupinu a jejich farmaceuticky vhodné soli pro inhibici adheze leukocytů ke stimulovaným buňkám humánního endothelu, a tedy pro léčbu zánětlivých chorob. Některé z těchto sloučenin jsou předmětem tohoto řešení jako takové.





3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karbox-
amidy ~~jako takové a pro léčbu zánětlivých chorob~~

Oblast techniky

Vynález se týká 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidů jako takových a pro prevenci adheze leukocytů k buňkám endothelu, a tedy pro léčbu zánětlivých chorob.

Dosavadní stav techniky

Adheze leukocytů k vaskulárnímu endothelu je integrální součástí patogenese zánětů. Proces adheze předchází transendotheliální migraci leukocytů do obklopující tkáně a následnému poškození tkáně. O sloučeninách, které jsou schopny inhibovat tuto počáteční adhesivní interakci, se předpokládá, že by mohly být účinné při léčbě zánětlivých chorob, jako je reumatoidní arthritida, asthma a psoriasis. Jako příklady jiných indikací, na něž se však vynález neomezuje, je možno uvést syndrom respiračních obtíží u dospělých, reperfusní poškození, ischemii, ulcerativní kolitidu, vaskulitidu, aterosklerosu, zánětlivou chorobu střev a metastasy nádorů.

Receptory adheze jsou organizovány do tří hlavních skupin: do skupiny selektinů, silné skupiny imonoglobulinů a skupiny integrinů (Nature 1990; 346:426). Členové všech těchto tří skupin se podílejí na mediaci adheze leukocytů v průběhu zánětu (přehled tohoto oboru je uveden v Thrombosis and Hemostasis 1991; 65 (3): 223), Clinical and Experimental Allergy 1990; 20:619, Transplantation 1989; 48:727, Biochemical Pharm. 1990; 40 (8):1683). Adhesní molekula 1 v endothelu pro leukocyty (ELAM-1 nebo E-selektin) je členem selektininové skupiny glykoproteinů, které povzbuzují

vzájemnou adhesi mezi buňkami. Bylo oznámeno, že ELAM-1 se maximálně exprimuje na povrchu buněk endothelu 4 hodiny po stimulaci buněk endothelu cytokiny, jako je interleukin-1 (IL-1) nebo faktor α nekrosy nádorů (TNF- α) nebo jiné mediátory zánětu, jako je lipopolysacharid (LPS) (Proc. Nat. Acad. Sci. 1987; 84:9238).

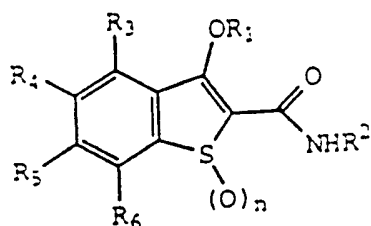
Molekula 1 pro intercelulární adhesi (ICAM-1) je členem velké skupiny imunoglobulinů a k maximální expresi této látky také dochází po stimulu v rozmezí od 12 do 24 hodin. Zjistilo se, že 4 hodiny po stimulaci buněk endothelu inflamatorním mediátorem je na povrchu buněk přítomna jak ELAM-1, tak ICAM-1 (J. Clin. Invest. 1988; 82:1746 a J. Immun. 1986; 137:1893, Blood 1991; 78:2721).

3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy podle tohoto vynálezu jsou schopny při stanovení in vitro bránit adhesi neutrofilů k humánním buňkám endothelu umbilikální vény (HUVECS) stimulovaným TNF α .

3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy podle tohoto vynálezu jsou nové, ale spadají do generického rozsahu US patentu č. 4 800 211, jako možné duální inhibitory cyklooxygenasy a 5-lipoxygenasy. Specifické sloučeniny podle tohoto vynálezu v podstatné míře neinhibují izolovanou 5-lipoxygenasu.

Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu jsou 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy dále uvedeného obecného vzorce I a jejich farmaceuticky vhodné soli pro inhibici adheze leukocytů ke stimulovaným buňkám humánního endothelu, a tedy pro léčbu zánětlivých chorob. Sloučeniny podle vynálezu mají strukturu odpovídající obecnému vzorci I



(I)

kde

- R_1 představuje nižší alkylskupinu, fenylskupinu nebo benzylskupinu;
- R_2 představuje atom vodíku, nižší alkylskupinu, fenylskupinu, benzylskupinu, zbytek thiofenu, skupinu vzorce $(CH_2)_mQ$ nebo fenylskupinu, benzylskupinu nebo zbytek thiofenu, přičemž poslední tři skupiny jsou substituovány zbytkem $(CH_2)_mQ$;
- n představuje celé číslo s hodnotou od 0 do 2;
- m představuje celé číslo s hodnotou od 0 do 6;
- Q představuje skupinu obecného vzorce CO_2R_7 , kde R_7 představuje atom vodíku nebo nižší alkylskupinu; a
- R_3 , R_4 , R_5 a R_6 nezávisle představuje vždy atom vodíku, hydroxyskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, nižší alkylskupinu nebo nižší alkoxyskupinu.

V přednostním provedení jsou předmětem vynálezu následující sloučeniny

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
 3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
 5-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-
karboxamid;
3-(1-methylethoxy)-5-nitro-benzo[b]thiofen-2-
karboxamid;
7-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-
karboxamid;
3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;
5-methoxy-3-(fenylmethoxy)benzo[b]thiofen-2-
karboxamid;
5-methoxy-3-(fenoxy)benzo[b]thiofen-2- karboxamid;
5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-
karboxamid;
6-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-
karboxamid;
4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;
3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;
ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;
2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;
4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]aminomethyl]benzoová kyselina;
methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;
4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]benzenoctová kyselina;
methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;
3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]benzenoctová kyselina;
methyl-5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]pentanoát;

5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]pentanová kyselina;

3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-2-thiofenkarboxylová kyselina;

5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-thiofen-2-karboxamid;

N-ethyl-(5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-thiofen-2-karboxamid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-fenylbenzo[b]-thiofen-2-karboxamid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-dioxid;

3-(1,1-dimethylethoxy)-5-methoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;

6-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-amino-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]butanoát;

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]butanová kyselina;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethyl)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

ethyl-6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylát;

6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylová kyselina;

ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazolacetát;

2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazolooctová kyselina;

3-methoxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;

methyl-2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoát;

2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;

methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzensulfonát;

N-[1-(hydroxymethyl)-1-methylethyl]-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát-1-oxid;

5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-fenoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethoxy)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid a

3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid

ve formě volných sloučenin nebo ve formě farmaceuticky vhodných solí pro léčbu zánětlivých chorob.

Předmětem vynálezu jsou také následující nové sloučeniny a jejich farmaceuticky vhodné adiční soli

s kyselinami:

5-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;
5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;
3-(1-methylethoxy)-5-nitrobenzo[b]thiofen-
2-karboxamid;
7-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;
3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;
5-methoxy-3-(fenylmethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;
5-methoxy-3-(fenoxy)benzo[b]thiofen- 2-karboxamid;
5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;
6-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;
ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;
4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]aminomethyl]benzoová kyselina;
methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;
4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]benzenoctová kyselina;
methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;
3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]benzenoctová kyselina;
methyl-5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]pentanoát;
5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]pentanová kyselina;

5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thiofen-2-karboxamid;
N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thiofen-2-karboxamid;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-fenylbenzo[b]-
thiofen-2-karboxamid;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)-
benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid-1-oxid;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid-1,1'-dioxid;
3-(1,1-dimethylethoxy)-5-methoxybenzo[b]-
thiofen-2-karboxamid;
6-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;
5-amino-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;
methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]butanoát;
4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]butanová kyselina;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethyl)-
benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
ethyl-6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylát;
6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylová kyselina;
ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazolacetát;
2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazoloctová kyselina;
3-methoxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-
benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;

methyl-2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoát;
2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;
methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzensulfonát;
N-[1-(hydroxymethyl)-1-methylethyl]-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát-1-oxid;
5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
5-methoxy-3-fenoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethoxy)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid a
3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid.

Při definici sloučenin obecného vzorce I a zvláště výhodných konkrétních sloučenin podle vynálezu se používá určitých termínů, které mají následující význam:

Pod pojmem "nižší alkylskupina" a "nižší alkoxy-skupina" se rozumí přímá nebo rozvětvená alkylskupina nebo alkoxy skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku. Jako příklady nižších alkylskupin je možno uvést methylskupinu, ethylskupinu, propylskupinu, isopropylskupinu (která bývá někdy též

označována názvem (methyl)ethylskupinu) a terc.butylskupinu (která bývá někdy též označována názvem 1,1-(dimethyl)ethylskupina). Jako příklady nižších alkoxykupin je možno uvést methoxykupinu, ethoxykupinu, isopropoxykupinu (která někdy bývá označována též názvem 1-(methyl)ethoxykupina) apod.

Sloučeniny obecného vzorce I jsou dále schopny tvořit farmaceuticky vhodné adiční soli s kyselinami a/nebo soli s bázemi. Všechny tyto formy spadají do rozsahu tohoto vynálezu.

Farmaceuticky vhodné adiční soli sloučenin obecného vzorce I s kyselinami zahrnují soli netoxických anorganických kyselin, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina dusičná, kyselina fosforečná, kyselina sírová, kyselina bromovodíková, kyselina jodovodíková, kyselina fluorovodíková, kyselina fosforečná apod. a soli netoxických organických kyselin, jako například alifatických monokarboxylových a dikarboxylových kyselin, fenylsubstituovaných alkanových kyselin, hydroxyalkanových kyselin, alkandiových kyselin, aromatických kyselin, alifatických a aromatických sulfonových kyselin atd. Tyto soli tedy zahrnují sulfáty, disulfáty, hydrogensulfáty, sulfity, hydrogensulfity, nitráty, fosfáty, monohydrogenfosfáty, dihydrogenfosfáty, methafosfáty, difosfáty, chloridy, bromidy, jodidy, acetáty, trifluoracetáty, propionáty, kapryláty, isobutyryáty, oxaláty, malonáty, sukcináty, suberáty, sebakáty, fumaráty, maleáty, mandeláty, benzoáty, chlorbenzoáty, methylbenzoáty, dinitrobenzoáty, ftaláty, benzensulfonáty, toluensulfonáty, fenylacetáty, citráty, laktáty, maleáty, tartráty, methansulfonáty apod. Do rozsahu solí spadají též soli odvozené od aminokyselin, jako jsou argináty apod. a glukonáty a galakturonáty a soli n-methylglukaminu (viz například Berge, S. M. et al.

"Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 66, strana 1 až 19 (1977)).

Adiční soli s kyselinami odvozené od těchto bázi-
kých sloučenin se připravují obvyklým způsobem, tj. tak, že
se sloučenina ve formě volné báze uvede do styku s dosta-
tečným množstvím požadované kyseliny, aby vznikla sůl.
Volnou bázi lze regenerovat ze soli tím, že se sůl uvede do
styku s bází a získaná volná báze se obvyklým způsobem
izoluje. Volné báze se poněkud liší od odpovídajících
solných forem v určitých fyzikálních vlastnostech, jako je
rozpustnost v polárních rozpouštědlech, ale pro účely tohoto
vynálezu jsou jinak soli ekvivalentní odpovídajícím volným
bázím.

Farmaceuticky vhodné adiční soli s bázemi vznikají
s anorganickými nebo organickými bázemi, jako například
bázemi odvozenými od kovů nebo aminy, jako například
s bázemi odvozenými od alkalických kovů a kovů alkalických
zemí, jako jsou například hydroxidy, nebo organickými
aminy. Jako příklady kovů, kterých se může používat jako
kationtů, je možno uvést sodík, draslík, hořčík, vápník
apod. Jako příklady vhodných aminů je možno uvést
N,N'-dibenzylethyldiamin, chlorprokain, cholin,
diethanolamin, dicyklohexylamin, ethyldiamin, N-methyl-
glukamin a prokain (viz například Berge, S. M. et al.
"Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science,
66, strana 1 až 19 (1977)).

Adiční soli s bázemi odvozené od těchto kyselých
sloučenin se připravují obvyklým způsobem, tj. tak, že se
sloučenina ve formě volné kyseliny uvede do styku s dosta-
tečným množstvím požadované báze, aby vznikla sůl. Volnou
kyselinu lze regenerovat ze soli tím, že se sůl uvede do
styku s kyselinou a získaná volná kyselina se obvyklým

způsobem izoluje. Volné kyseliny se poněkud liší od odpovídajících solných forem v určitých fyzikálních vlastnostech, jako je rozpustnost v polárních rozpouštědlech, ale pro účely tohoto vynálezu jsou jinak soli ekvivalentní odpovídajícím volným kyselinám.

Některé ze sloučenin podle tohoto vynálezu mohou existovat v nesolvatovaných formách i v solvatovaných formách, jako jsou například hydratované formy. Obecně jsou solvatované formy, včetně hydratovaných forem, ekvivalentní nesolvatovaným formám a spadají do rozsahu tohoto vynálezu.

Při indikaci inhibitorů adheze buněk podle tohoto vynálezu je samozřejmě třeba vzít v úvahu mimo jiné konkrétně léčenou chorobu, její závažnost, stejně tak jako věk, pohlaví, hmotnost a podobné parametry léčeného subjektu, což je v rozsahu zkušeností ošetřujícího lékaře.

Při lékařském použití se bude množství sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmakologicky vhodné soli, kterého je zapotřebí pro dosažení terapeutického účinku, měnit, jak v závislosti na konkrétně použité sloučenině, tak na druhu podávání, druhu ošetřovaného savce a zejména na druhu choroby, která má být léčena. Vhodná dávka sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodné soli pro savce, který je postižen nebo u něhož je pravděpodobnost postižení některou z výše uvedených chorob, leží v rozmezí od 0,1 μ g do 500 mg sloučeniny na kg tělesné hmotnosti. V případě systemického podávání může být podávaná dávka v rozmezí od 0,5 do 500 mg sloučeniny/kg tělesné hmotnosti, přičemž nejvýhodnější dávka je v rozmezí od 0,5 do 50 mg/kg tělesné hmotnosti savce a tato dávka se podává 2 až 3 x denně. V případě topického podávání, například na kůži nebo do oka, může být vhodná dávka v rozmezí od 0,1 ng do

100 μg sloučeniny na kg tělesné hmotnosti. Obvykle je tato dávka asi 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

V případě orálního podávání při léčbě nebo profylaxi arthritidy nebo zánětů obecně, ať již vznikly z jakéhokoliv důvodu, může být vhodná dávka sloučeniny obecného vzorce I nebo její fyziologicky vhodné soli stejná, jako jsou dávky uvedené v předchozím odstavci, ale přednostně tato dávka leží v rozmezí od 1 mg do 10 mg sloučeniny/kg, přičemž přednostní dávka leží v rozmezí od 1 mg do 5 mg/kg tělesné hmotnosti savce. Vhodná je například dávka 1 až 2 mg/kg tělesné hmotnosti savce.

Běžný lékař nebo veterinář je snadno schopen určit a předepsat účinné množství sloučeniny, které bude schopno zabránit postupu choroby, na níž je léčba zaměřena. Při tomto postupu může lékař nebo veterinář zpočátku použít poměrně nízkých dávek, a potom může dávky zvyšovat tak dlouho, dokud se nedosáhne maximální odpovědi.

Účinnou přísadu podle vynálezu je sice možno podávat samotnou, ale přednostně se tato přísada podává ve formě farmaceutického přípravku obsahujícího sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodnou adiční sůl s kyselinou nebo sůl s bází a farmaceuticky vhodný nosič pro tuto účinnou přísadu. Také tyto přípravky jsou předmětem vynálezu.

Přípravky podle vynálezu jak pro veterinární, tak pro humánní léčebné použití, obsahují účinnou přísadu ve spojení s farmaceuticky vhodným nosičem pro tuto přísadu a popřípadě jednou nebo více jiných terapeutických přísad. Nosič nebo nosiče musí být "vhodné" v tom smyslu, že musí být kompatibilní s ostatními přísadami přípravku a nesmí být škodlivé pro pacienta.

Vhodné přípravky zahrnují přípravky pro orální, pulmonární, oftalmické, rektální, parenterální (včetně subkutánního, intramuskulárního a intravenosního), intraartikulární, topické, nasální a bukalní podávání. Tyto přípravky zahrnují také dlouhodobě působící přípravky, které jsou známy v tomto oboru.

Přípravky podle vynálezu je možno účelně zpracovávat na jednotkové dávkovací formy, což lze provádět jakýmkoliv dobře známými způsoby ve farmaceutickém oboru. Při všech těchto způsobech je podstatným stupněm spojování účinné přísady s nosičem, který je složen z jedné nebo více pomocných přísad. Obecně se tyto přípravky vyrábějí homogenním smísením účinné přísady s kapalným nosičem nebo jemně rozděleným pevným nosičem nebo oběma nosiči tohoto typu, načež se vzniklá směs popřípadě tváří na požadované formy.

Přípravky podle tohoto vynálezu, které se hodí pro orální podávání, mohou mít podobu oddělených jednotek, jako jsou kapsle, oplatky, tablety nebo pastilky, z nichž každá obsahuje předem určené množství účinné přísady; nebo podobu prášků nebo granulí; podobu roztoků nebo suspenzí ve vodných nebo nevodných kapalinách; nebo podobu emulzí typu olej ve vodě nebo voda v oleji. Účinná přísada může být také podobu bolu, ochucené hmoty pro veterinární aplikaci, nebo pasty.

Užitečnost sloučenin podle vynálezu jako inhibitorů adheze leukocytů k vaskulárnímu endotelu, inhibitorů enzymu 5-lipoxygenasy a enzymu cyklooxygenasy, a tedy jejich užitečnost pro léčbu chorob spojených se záněty, je možno demonstrovat jejich účinností při různých standardních zkušebních postupech. Následuje popis každého postupu a výsledky, kterých při něm bylo dosaženo.

Způsob stanovení inhibice adhese humánních neutrofilů
k buňkám endothelu humánní umbilikální vény
stimulovaným TNF α , IL-1 α a LPS 3-alkoxy-, aroxy- nebo
aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy

Izolace neutrofilů

Neutrofily se izolují z žilní krve, ošetřené anti-koagulantem, získané od zdravých dobrovolníků, způsobem popsaným v Ferrante a Thong (J. Immunol. Methods 1978; 24:389-93). Buněčný preparát se skládá z více než 98 % z neutrofilů.

Kultura buněk endothelu

Buňky endothelu humánní umbilikální vény z druhého pasážování (HUVEC) (Clonetics, San Diego, Kalifornie, USA) se naočkují do jamek kultivační misky s 24 jamkami Falcon (Becton Dickinson, Lincoln Park, New Jersey, USA) při koncentraci přibližně 2×10^4 buněk na jamku. Buňky se nechají narůst na konfluentní monovrstvu v endoteliálním bazálním médiu (EBM, Clonetics), doplněném 5 % fetálního telecího séra (Hyclone Laboratories, Logan, Utah, USA), 10 ng/ml EGF, 1 μ g/ml hydrokortisonu a 0,4 % extraktu z hovězího mozku (Clonetics) v atmosféře 5% oxidu uhličitého při teplotě 37°C.

Adhese neutrofilů

Neutrofily (30×10^6) se značí po dobu 60 minut při 37°C pomocí 100 μ Ci Na⁵¹CrO₄ (ICN Biomedicals, Costa Mesa, Kalifornie, USA) v 2,0 ml Hankova vyváženého solného roztoku bez vápenatých a hořečnatých iontů (HBSS, GIBCO Laboratories, Grand Island, New York, USA). Buňky se 2 x promyjí v HBSS a suspendují v nedoplněném EBM.

Stimulace HUVEC faktorem α nekrosy nádorů (TNF α) (Genzyme, Cambridge, Massachusetts, USA), interleukinem (IL-1 α) (Genzyme) nebo lipopolysacharidem z *E. coli* 0111:B4 (LPS) (Sigma) za přítomnosti nebo nepřítomnosti léčiva se zahájí 4 hodiny před přidavkem neutrofilů. Pro studie s cytokiny se suspenzní médium nedoplňuje EBM, zatímco pro studie s LPS se doplňuje EBM. Ukázalo se, že takové ošetření vede k maximální expresi molekul ELAM-1 pro adhesi buněk endothelu k leukocytům a k maximální expresi molekul ICAM-1 (J. Immunol. 1986; 137:1893); Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1987:9238). Bezprostředně před přidáním ^{51}Cr -značených neutrofilů k monovrstvám HUVEC se kultury promyjí 1 ml nedoplňovaného média, aby se odstranila stimulační látka a/nebo léčivo. Neutrofily (5×10^5) se potom přidají k HUVEC v 0,5 ml nedoplněného média a 30 minut inkubují při 37°C. Neutrofily, které nepřilnou, se odstraní odsátím. Po přidavném promývacím stupni se adherované neutrofily lysují v 0,5 ml 1N roztoku hydroxidu amonného přes noc při 37°C. Lysáty se shromáždí a radioaktivita v každé jamce se stanoví spektroskopicky za použití záření gamma.

Modifikovaný způsob stanovení inhibice adheze humánních neutrofilů k buňkám endothelu humánní umbilikální vény stimulovaným TNF α , IL-1 α a LPS
3-alkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy

Výše popsaná zkouška za použití humánních neutrofilů značených ^{51}Cr se modifikuje. Neutrofily jsou nyní značeny fluorescenčním barvivem, kalceinem. Tato metoda umožňuje kvantifikaci adheze neutrofilů fluorescenční spektroskopií.

Buněčná kultura

Buňky HUVEC (Clonetics Corp., San Diego, Kalifornie, CC-2617 USA) se naočkují do jamek kultivační misky s 96 jamkami Corning (Corning Glass Works, Corning, New York, USA) při koncentraci přibližně 5×10^3 buněk na jamku. Buňky se nechají narůst na konfluentní vrstvu v endoteliálním bazálním médiu (EBM, MCDB-131, Clonetics), doplněném 10 ng/ml EGF, 1 µg/ml hydrokortisonu, 0,4 % extraktu z hovězího mozku a 5 % fetálního hovězího séra. Jeden den před prováděním stanovení, obvykle 3 dny po naočkování, se ke kulturám přidá další dávka doplněného EBM (S-EBM) (0,2 ml/jamka).

Výroba přípravků obsahujících zkoušené sloučeniny

Ze zkoušené sloučeniny se vyrobí 10 ml zásobního roztoku o koncentraci 1,0mM. Sloučenina se nejprve solubilizuje v 0,1 ml DMSO a potom se ke vzniklému roztoku přidá 9,9 ml (S-EBM). Vzniklý přípravek se v jednom stupni zředí na koncentraci 66,6µM. Solubilizace a ředění se provádějí v polystyrenových nádobách.

Izolace humánních neutrofilů

Humánní neutrofilly se izolují z žilní krve, ošetřené antikoagulantem, získané od zdravých dobrovolníků, způsobem popsáným v Ferrante a Thong; výše uvedená citace. Buněčný preparát se skládá z více než 98 % z neutrofilů.

Stimulace HUVEC

Vyrobí se roztok rekombinantního humánního faktoru α nekrosy nádorů (TNF, Genzyme, Boston, MA, kódové označení

TNF-H) o koncentraci 400 U/ml v S-EBM. Zásobní roztok TNF má koncentraci 20 000 U/ml v Delbeccově solném roztoku pufovaném fosforečnanem (PBS, Gibco, Grand Island, New York, USA), doplněném 0,1 % BSA a uchovává se při -70°C . Buňky HUVEC se jednou promyjí 0,2 ml teplého nedoplněného EBM a potom 4 hodiny stimulují při 37°C pomocí 200 U/ml TNF za přítomnosti zkoušené sloučeniny v $33,3\mu\text{M}$ koncentraci. To se provede přidavkem 0,1 ml roztoku TNF o koncentraci 400 U/ml a 0,1 ml roztoku zkoušené sloučeniny o koncentraci $66,6\mu\text{M}$. Přidávání těchto látek se provádí pomalu, aby se neporušila monovrstva buněk HUVEC. Každá sloučenina se zkouší v 6 jamkách. V každé misce je také přítomna jamka, v níž se stimulace neprovádí (kontrolní jamka s vehikulem) a jamka, v níž se provádí stimulace TNF, ale k níž se nepřidává zkoušená sloučenina.

Značení neutrofilů

Jednu hodinu před přidáním neutrofilů k HUVEC se neutrofily ($5 \times 10^6/\text{ml}$) 30 minut značí při 37°C s $5\mu\text{M}$ kalceinem - AM (Molecular Probes, Eugene, Oregon, USA) v Hankově vyváženém solném roztoku doplněném 0,45 % BSA. Zásobní roztok kalceinu má koncentraci 5mM v bezvodém dimethylsulfoxidu a skladuje se v exsikátoru při -20°C . Na konci inkubace se buňky 2 x promyjí chladným HBSS a resuspendují na výslednou koncentraci 1×10^6 buněk/ml v nedoplněném EBM.

Přidání neutrofilů k HUVEC

Na konci čtyřhodinové stimulace a bezprostředně před přidáním neutrofilů k monovrstvě HUVEC se misky opláchnou 0,2 ml teplého nedoplněného EBM, aby se odstranil TNF a léčivo. Neutrofily (1×10^5 buněk) se pomalu přidají do každé ošetřované jamky a následuje 30-ti minutová inkubace při 37°C . Na konci inkubace se misky 2 x pro-

myjí 0,2 ml teplého nedoplněného EBM a nakonec se přidá 0,1 ml nedoplněného EBM za účelem vyhodnocování.

Stanovení relativní fluorescence

Relativní fluorescence se stanovuje za použití systémů Millipore Cytofluor 2 300 (excitace = 480, emise = 530, senzitivita = 4).

Výpočet

Stanovení je považováno za pozitivní, jestliže má stimulace buněk HUVEC pomocí TNF za následek 300% zvýšení adheze neutrofilů ve srovnání s adhezí nestimulovaných buněk HUVEC. Výsledky (%) jsou vyjádřeny jako střední hodnoty inhibice adheze stimulované TNF a získají se výpočtem z následující rovnice:

$$\text{Inhibice (\%)} = 100 - \left[\frac{\text{S.A. (léčivo)} - \text{N.A.}}{\text{S.A. (kontrolní)} - \text{N.A.}} \right] \times 100$$

kde

S.A. představuje stimulovanou adhesi a

N.A. představuje nestimulovanou adhesi.

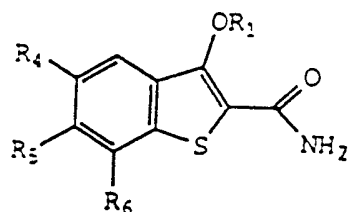
Sloučeniny vykazující inhibiční účinnost 50% nebo vyšší při 33,3 μ M koncentraci se znovu zkoušejí při 33,3 μ M, 10,0 μ M, 3,3 μ M a 1,0 μ M koncentraci, za účelem stanovení hodnot IC₅₀. Pro stanovení těchto hodnot se použije lineární regresní analýzy středních hodnot inhibice.

Výsledky dosažené za použití určitých sloučenin podle vynálezu jsou uvedeny v tabulkách 1 až 3. Sloučeniny z

příkladů 36 až 44 v tabulce 2 a sloučeniny z příkladů 45 až 53 v tabulce 3 byly zkoušeny modifikovaným způsobem.

T a b u l k a 1

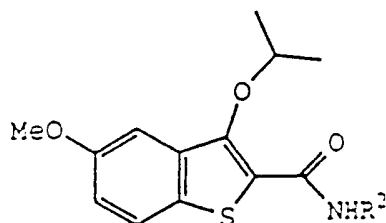
Inhibice adheze pomocí 3-alkoxybenzo[b]thiofen-2-primárních karboxamidů



Příklad číslo	R ₁	R ₄	R ₅	R ₆	Adheze (inhibice v % při 100 μM nebo IC ₅₀ , μM)
1	<i>i</i> -Pr	OMe	H	H	3,8
2	<i>i</i> -Pr	H	H	H	(60%)
3	<i>I</i> -Pr	Cl	H	H	(72%)
4	<i>i</i> -Pr	Me	H	H	(61%)
5	<i>i</i> -Pr	NO ₂	H	H	(40%)
6	<i>i</i> -Pr	H	H	OMe	(35%)
7	Me	OMe	H	H	(60%)
8	CH ₂ Ph	OMe	H	H	(57%)
9	Ph	OMe	H	H	(59%)
10	<i>i</i> -Pr	OH	H	H	1.2
11	<i>i</i> -Pr	H	OMe	H	(24%)
30	<i>t</i> -Bu	OMe	H	H	(100%)
31	<i>i</i> -Pr	H	Cl	H	(26%)
32	<i>i</i> -Pr	NH ₂	H	H	(49%)

T a b u l k a 2

Inhibice adheze pomocí
3-alkoxybenzo[b]thiofen-2-substituovaných karboxamidů



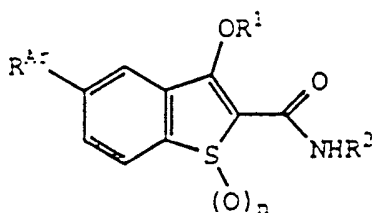
příklad číslo	R²	Adheze (inhibice v % při 100 μM nebo IC ₅₀ , μM)
1	H	3,8 ^b
12	Ph- <i>p</i> -COOH	50 ^b
13	Ph- <i>m</i> -COOH	(28%)
14	Ph- <i>o</i> -COOEt	(32%)
15	Ph- <i>o</i> -COOH	(35%)
16	CH ₂ Ph- <i>p</i> -COOH	(47%)
17	Ph- <i>p</i> -CH ₂ COOMe	(27%)
18	Ph- <i>p</i> -CH ₂ COOH	(32%)
19	Ph- <i>m</i> -CH ₂ COOMe	(45%)
20	Ph- <i>m</i> -CH ₂ COOH	(70%)
21	(CH ₂) ₄ COOMe	(8%)
22	(CH ₂) ₄ COOH	(9%)
23	thiofen -2-COOH	(20%)
24	Me	(78%)
25	Et	(64%)
26	Ph	(12%)
27	CH ₂ Ph	(35%)
33	(CH ₂) ₃ COOMe	(100%)
34	(CH ₂) ₃ COOH	(35%)
35	<i>i</i> -Pr	(100%)
36	2-pyridyl-4-CO ₂ Et	(26%) ^a
37	2-pyridyl-4-CO ₂ H	(8%) ^a
38	2-thiazolyl- 4-CH ₂ CO ₂ Et	(72%) ^a
39	2-thiazolyl- 4-CH ₂ CO ₂ H	(26%) ^a
40	Ph- <i>o</i> -Me- <i>p</i> -CO ₂ H	(34%) ^a
41	Ph- <i>m</i> -OH- <i>p</i> -CO ₂ Me	(32%) ^b
42	Ph- <i>m</i> -OH- <i>p</i> -CO ₂ H	34 ^c
43	Ph- <i>p</i> -SO ₂ Me	(67%) ^b
44	C(CH ₃) ₂ CH ₂ OH	(20%) ^b

a- sloučenina zkoušena v koncentraci 33,3μM

b- IC₅₀ (μM)

T a b u l k a 3

Inhibice adheze pomocí
3-alkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidů a jejich oxidů



Příklad číslo	n	R¹	R²	R¹ʳ	Adheze (inhibice v % při 100 μM nebo IC₅₀, μM)
1	0	i-Pr	H	OMe	3.8
28	1	i-Pr	H	OMe	(83%)
29	2	i-Pr	H	OMe	(4%)
45	1	i-Pr	Et	OMe	(36%)
46	1	i-Pr	Me	OMe	(43%)
47	1	i-Pr	Bn	OMe	(15%)
48	1	i-Pr	Ph-p-COOMe	OMe	(6%)
49	1	i-Pr	H	OH	(79%)
50	1	i-Pr	H	Me	(69%)
51	1	Ph	H	OMe	(15%)
52	1	i-Pr	i-Pr	OMe	(8%)
53	1	Me	H	OMe	(40%)

Jedna z výše uvedených sloučenin, 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid z příkladu 1, poskytuje silnou inhibici humánní jednosměrné smíšené lymfocytové reakce (MLR). Tato sloučenina má hodnotu IC₅₀ 0,3 μM (n = 2). Podrobnosti tohoto stanovení jsou uvedeny dále.

Způsob stanovení inhibice humánní jednosměrné smíšené
lymfocytové reakce pomocí 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-
benzo[b]thiofen-2-karboxamidu

Izolace lymfocytů

Heparinizuje se periferní krev získaná od normálních humáních dárců. Lymfocyty se izolují centrifugací s hustotním gradientem za použití gradientů Ficoll-Hypaque (10 ml krve a 4 ml Ficoll-Hypaque o hustotě 1,09 mg/ml, Pharmacia) 20 minut při 1 200 x g při teplotě místnosti. Lymfocyty (horní vrstva) se oddělí a 3 x promyjí Hankovým vyváženým solným roztokem (HBSS) bez hořčíku a vápníku (MA Bioproducts) a 10 minut centrifugují při 300 g. Životaschopnost buněk se stanoví na základě vylučování tripanové modři. Buňky se udržují na ledu až do přidání do kultivačních misek.

Kultivační médium

Finální kultivační médium se skládá z RPMI-1 640 (Mikrobiological Associates) doplněného L-glutaminem (2mM), penicilinem (100 IU/ml), streptomycinem (100 µg/ml), pufrem HEPES (10 mM) a 10 % tepelně inaktivovaného (50°C, 30 minut) fetálního telecího séra (FCS) (Armour).

Jednosměrná smíšená lymfocytová reakce (MLR) - kultury

Lymfocyty, kterých se používá jako stimulátorů, se ošetří mitomycinem C (50 µg/ml/10⁷ buněk). Ošetření probíhá 20 minut při 37°C. Buňky se 2 x promyjí HBSS bez hořčíku a vápníku. Respondující buňky (50 µl při 8 x 10⁶ buněk/ml ve 40% FCS) se přidají do jednotlivých jamek 96 jamkové mikrotitrační misky, vždy se stejným počtem a objemem allogeneických, mitomycinem C-ošetřených stimulátorových buněk

(nikoliv ve FCS). Zkoušené látky a média se přidávají ve formě 50 μ l alikvotů tak, že parametry výsledné kultury jsou: 2×10^6 respondujících buněk/ml (4×10^5 respondujících buněk/jamka) v médiu obsahujícím 10 % FCS. Nestimulované respondující buňky se také zkoušejí (kontrolní vzorky pro stanovení pozadí) jednak v samotném médiu a jednak se zředěnými zkoušenými sloučeninami. Kultury se pulsně ošetřují 0,5 μ Ci ^{3} H-thymidinu posledních 6 hodin šestidenní inkubační periody. Potom se kultury sklídí a spočítají, jak je to uvedeno výše, za použití automatického zařízení pro sklízení buněk a standardního scintilačního počítání rozpadů v kapalně fázi.

Jeden ze zkoušených 3-alkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidů [5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid z příkladu 28] je účinný při potlačování edemu polštářku chodidla vyvolaného *Mycobacterium* (MFE), což je subakutní model zánětu. Tato sloučenina vykazuje hodnotu ID₄₀ 10,9 mg/kg v MFE. Podrobnosti tohoto stanovení jsou uvedeny dále.

Způsob stanovení inhibice edemu polštářku chodidla
vyvolaného organismem *Mycobacterium* pomocí
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid-1-oxid

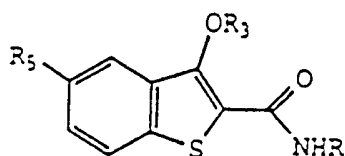
Mycobacterium butyricum (5 mg/ml) se upraví ultrazvukovým zpracováním v parafinovém oleji po dobu 10 minut v ledové lázni. Otok polštářku chodidla se vyvolá v den 0 vstříknutím 0,1 ml směsi obsahující *Mycobacterium* do levé zadní tlapy lehce anestetizované krysy. Otok zadní tlapy se stanoví rtuťovou plethysmografií v den 1, 2 a 3. Skupiny krys se ošetřují zkoušenými sloučeninami (suspenderovanými v 0,5% hydroxypropylmethylcelulose s přísadou 0,2 % smáčedla Tween 80) nebo vehikulem jednu hodinu před vstřík-

nutím směsi obsahující *Mycobacterium* a v den 1 a 2. Inhibice otoku se stanoví na základě porovnání změny objemu zadní tlapky u krys ošetřených zkoušenou sloučeninou a vehikulem.

Inhibice cyklooxygenasy a 5-lipoxygenasy některými ze sloučenin podle vynálezu je uvedena v tabulce 4. Použité zkušební metody jsou popsány dále.

T a b u l k a 4

Inhibice 5-lipoxygenasy a cyklooxygenasy pomocí
3-alkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidů



Příklad číslo	R	R-3	R-5	ARBL/ARBC	5-LO
				IC ₅₀ (μM) nebo inhibice v % při 10 μM	(inhibice v % při 30 μM)
1	H	iPr	OMe	36	13%
12	Ph-p-COOH	iPr	OMe	36/89	16%
2	H	iPr	H	N/N	NA
9	H	Ph	OMe	N/N	NA

N = nižší než 40% inhibice při 10μM koncentraci

Na = nižší než 4% inhibice při 30μM koncentraci

Stanovení 5-lipoxygenasy a cyklooxygenasy - celé buňky
ARBL/ARBC

Materiály

Linie kryších basofilických leukemických buněk (RBL-1) se získá ze sbírky American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA).

Souprava pro radioimunoesej (RIA) LTB_4 se získá od firmy Amersham (Arlington Heights, IL, USA) a souprava pro radioimunoesej $\text{PGF}_{2\alpha}$ se získá od firmy Seragen (Boston, MA, USA).

Všechna média pro tkáňové kultury pocházejí od firmy Gibco (Grand Island, New York, USA).

Metoda

Buňky RBL-1 se pěstují v suspenzní kultuře v Eaglově minimálním esenciálním médiu doplněném 12 % fetálního hovězího séra při 37°C v inkubátoru, do něhož se uvádí směs vzduchu a 5 % oxidu uhličitého. Buňky se sklídí centrifugací a potom se promyjí chladným roztokem chloridu sodného pufrovaným fosforečnanem o pH 7,4 (PBS; chlorid sodný, 7,1 g; hydrogenfosforečnan dvojsodný, 1,15 g; dihydrogenfosforečnan draselný, 0,2 g; a chlorid draselný, 0,2 g/litr). Nakonec se buňky suspendují v PBS s obsahem 1,0mM vápníku na hustotu 2×10^6 buněk/ml. Buňky se inkubují buď se zkoušenou látkou nebo bez ní (v dimethylsulfoxidu) (1 % dimethylsulfoxidu nemá vliv na metabolismus kyseliny arachidonové) po dobu 10 minut při teplotě místnosti. Přidá se vápníkový ionofor A23187 (5 μ M) a buňky se inkubují 7 minut při 37°C. Reakce se zastaví ochlazením zkumavek na ledu v průběhu 10 minut. Buňky se oddělí centrifugací a supernatant se uloží při -20°C. Alikvoty (100 μ l) se

analyzují na LTB_4 a $\text{PGF}_{2\alpha}$ za použití souprav pro radioimunoesej od dodavatele.

Protokol pro stanovení inhibice 5-lipoxygenasy

Sloučeniny se hodnotí jakožto inhibitory aktivity 5-lipoxygenasy obsažené v supernatantu získaném centrifugací při 20 000 x g pěstovaných krysích buňkách s basofilní leukemií (RBL). Inkubační směs obsahuje 5 % objemových supernatantu RBL 20 000 x g ve zkouškovém pufru (10mM BES, 10mM PIPES, 1mM EDTA, 0,75mM chlorid vápenatý, 1mM ATP, 100mM chlorid sodný, pH 6,8). Dimethylsulfoxidové vehikulum (2 % objemová) s obsahem nebo bez obsahu inhibitorů se preinkubuje s enzymem po dobu 20 minut při 30°C před iniciací reakce katalyzované 5-lipoxygenasou přidavkem 3,3 nmol [^{14}C]arachidonové kyseliny (55,8 mCi/mmol, New England Nuclear, Boston, MA, USA) rozpuštěné v 5 μl 0,028% (objemově) vodného hydroxidu amonného. Po 20 minutách přídatné inkubace při 37°C se reakce ukončí přidavkem 3 objemů methanolu obsahujícího 100 μg trifenylyfosfinu. Potom se vzorky analyzují HPLC s radiometrickou detekcí na reakční produkty 5-lipoxygenasy.

Všechna stanovení se provádějí dvojmo a inhibice v procentech se vypočítá na základě porovnání produktů vytvořených při zkušební inkubaci se střední hodnotou u kontrolní skupiny ošetřené vehikulem. Hodnoty IC_{50} (50% inhibiční koncentrace se vypočítají regresní analýzou lineární části křivky závislosti inhibice tvorby 5-HETE v procentech proti dekadickému logaritmu koncentrace inhibitoru.

Sloučeniny podle vynálezu, v nichž R_2 představuje atom vodíku, se přednostně připravují z odpovídajících benzo[b]thiofen-2-karboxylových kyselin. Výchozí karboxylové kyseliny je možno vyrobit způsobem popsáním v US

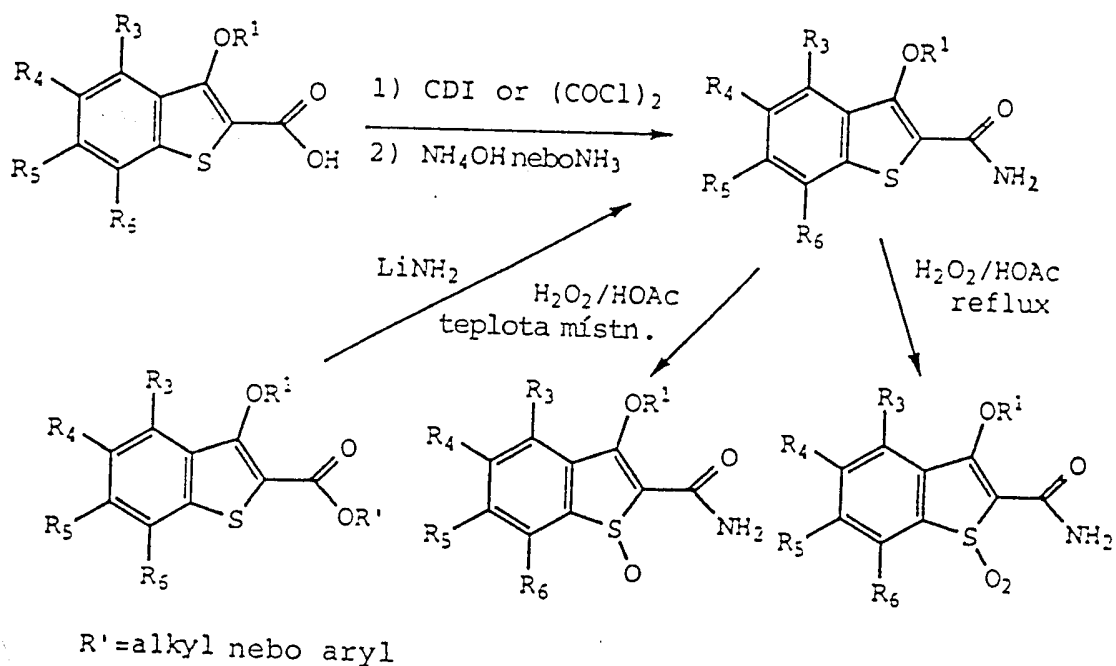
patentu č. 4 703 503. Tato citace je zde uvedena náhradou za přenesení celého jejího obsahu do popisu tohoto vynálezu. Jak je to znázorněno ve schematu 1, uvedeném dále, benzo[b]thiofen-2-karboxylová kyselina se nejprve nechá reagovat s kondenzačním činidlem, přednostně 1,1'-karbonyldiimidazolem (CDI) v rozpouštědle, jako je tetrahydrofuran nebo acetonitril, za vzniku odpovídající imidazolidové nebo jiné odstupující skupiny. Alternativně se může benzo[b]thiofen-2-karboxylová kyselina nejprve převést na halogenid kyseliny za použití reakčního činidla, jako je thionylchlorid nebo přednostně oxalylchlorid, za přítomnosti katalytického množství dimethylformamidu v rozpouštědle, jako je methylenchlorid nebo tetrahydrofuran. Potom se provede reakce s vodným hydroxidem amonným nebo plynným amoniakem, kterou vznikne požadovaný primární benzo[b]thiofen-2-karboxamid.

Primární amidy se také mohou připravit tak, že se na odpovídající ester benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny působí lithiumpamidem v kapalném amoniaku za přítomnosti pomocného rozpouštědla, jako je tetrahydrofuran.

Reakcí s oxidačním činidlem, přednostně peroxidem vodíku v kyselině octové, se benzo[b]thiofen-2-karboxamidy mohou převést na benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxidy nebo benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-dioxidy, v závislosti na podmínkách použitých při reakci. Pokud se pracuje při zvýšené teplotě, nebo pokud se používá nadbytku oxidačního činidla, oxidují se vzniklé benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxidy dále na benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-dioxidy.

Podmínky, kterých se používá při reakcích znázorněných ve schematu 1 a jejich obměnách jsou známe nebo je možno je stanovit na základě analogie s reakcemi, které jsou odborníkům v tomto oboru známy.

S c h e m a 1

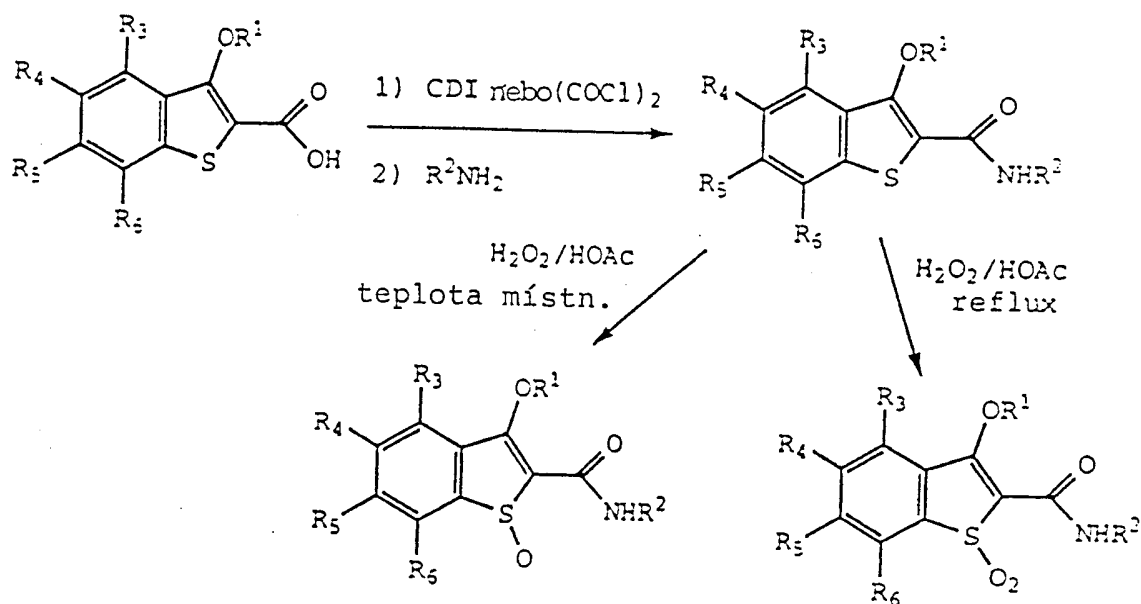


Jak je to znázorněno ve schematu 2, podobného postupu se používá pro výrobu sekundárních benzo[b]thiofen-2-karboxamidů. Místo s vodným hydroxidem amonným se intermediární imidazolid nebo chlorid kyseliny nechá reagovat s primárním aminem, popřípadě za přítomnosti báze, jako je triethylamin nebo 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en (DBU). Pokud je amin ve formě svého hydrochloridu, je třeba další báze k tomu, aby se amin ze soli uvolnil.

I v tomto případě lze modifikací oxidačních podmínek získat 1-oxidové nebo 1,1'-dioxidové analogy.

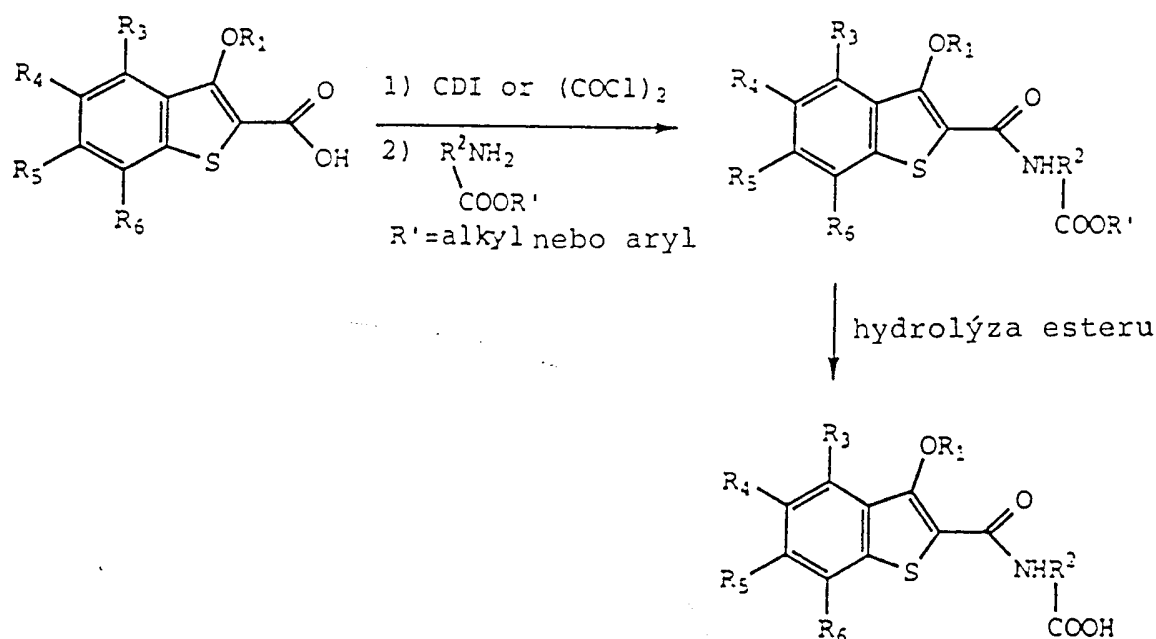
Podmínky, kterých se používá při reakcích znázor-
něných ve schematu 2 a jejich obměnách jsou známe nebo je
možno je stanovit na základě analogie s reakcemi, které jsou
odborníkům v tomto oboru známy.

S c h e m a 2



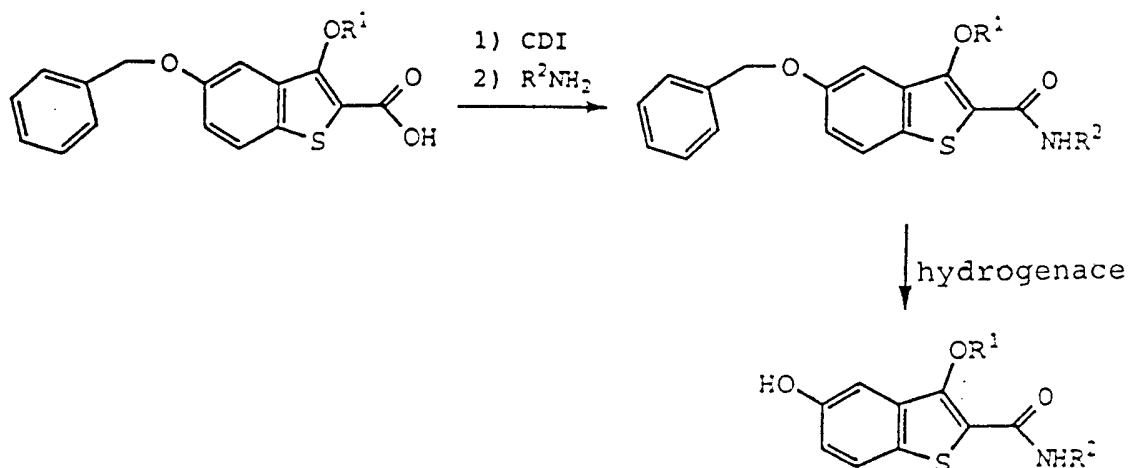
Ve schematu 3 je názorněna výroba sekundárních
benzo[b]thiofen-2-karboxamidů obsahujících funkční skupinu
karboxylové kyseliny. Tyto sloučeniny se vyrábějí přes
intermediární ester. Podobně jako je tomu ve schematu 2, se
benzo[b]thiofen-2-karboxylová kyselina aktivuje a potom
nechá reagovat s aminem obsahujícím požadovaný esterový
zbytek. Amin může být ve formě své soli s kyselinou chlo-
rovodíkovou. Meziproduct se izoluje a esterová funkční
skupina se hydrolyzuje, přednostně působením hydroxidu
sodného ve vodném ethanolu, a tak se získá požadovaná kar-
boxylová kyselina.

S c h e m a 3



Sloučeniny, v nichž jeden nebo více ze symbolů R₃ at R₆ představuje hydroxyskupinu, se připravují přes mezi-produkt obsahující vhodnou chránicí skupinu hydroxyskupiny. Jako příklad je ve schématu 4 znázorněna výroba 5-hydroxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidů. Amidy se vyrábějí z odpovídajících kyselin obsahujících hydroxyskupinu chráněnou ve formě benzyloetheru. Benzylová skupina se potom odštěpí, přednostně hydrogenací. Může se též použít jiných chránicích skupin, jako jsou silylskupiny, a ty se mohou odštěpívat standardními metodami.

S c h e m a 4

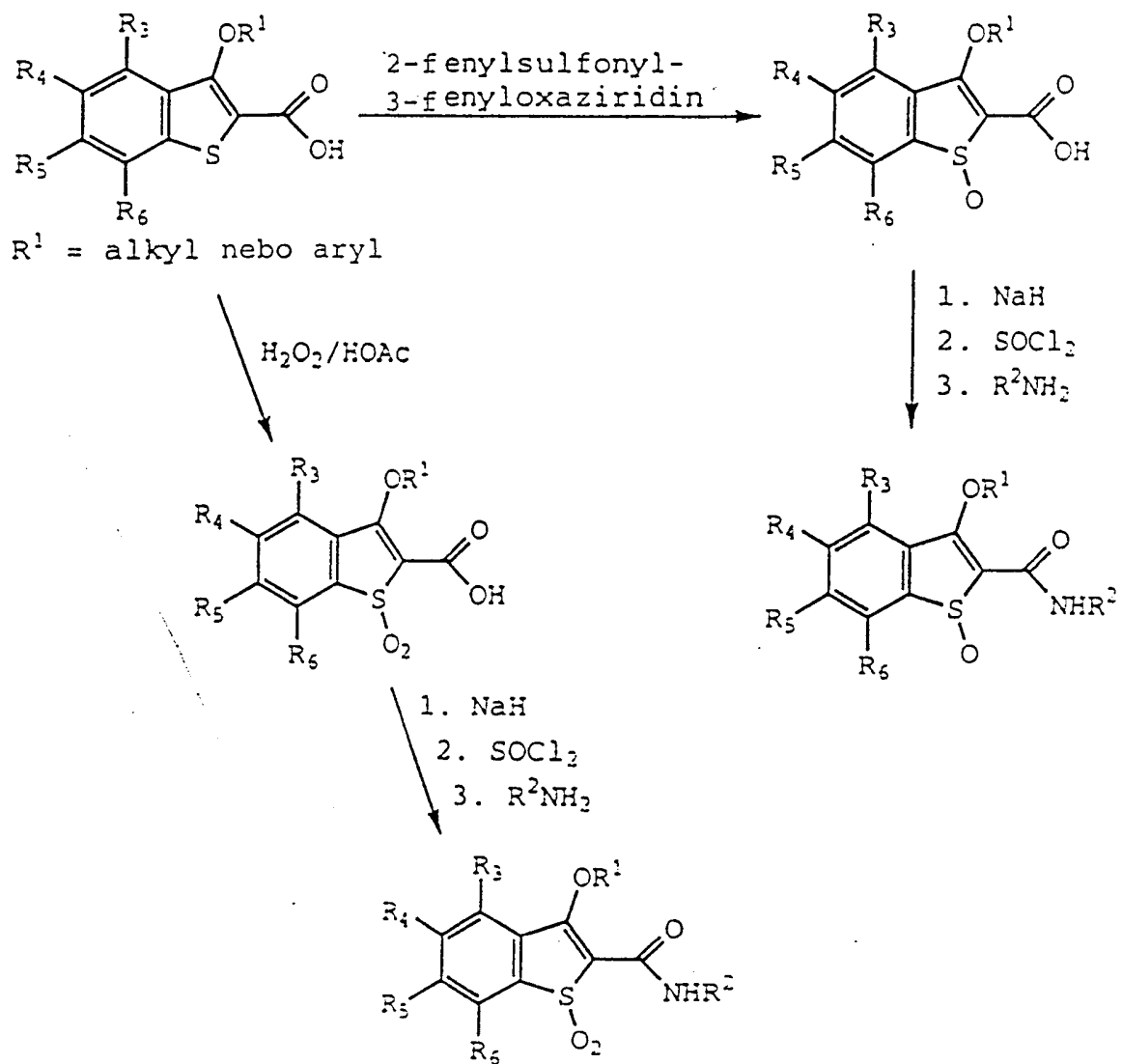


Ve schemech 5 a 6 jsou znázorněny alternativní a zlepšené způsoby výroby benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxidů a benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-dioxidů. Benzo[b]thiofen-2-karboxylová kyselina se může oxidovat na odpovídající 1-oxid pomocí trans-2-fenylsulfonyl-3-fenyloxaziridinu v rozpouštědle, jako je dichlormethan nebo aceton, nebo na odpovídající 1,1'-dioxid působením peroxidu vodíku v kyselině octové. Benzo[b]thiofen-2-karboxylová kyselina se může převést na požadovaný amid tak, že se nejprve vytvoří sodná sůl a potom chlorid kyseliny. Přídavkem amoniaku se získají primární 2-karboxamidy. Přídavkem primárních aminů se získají sekundární amidy.

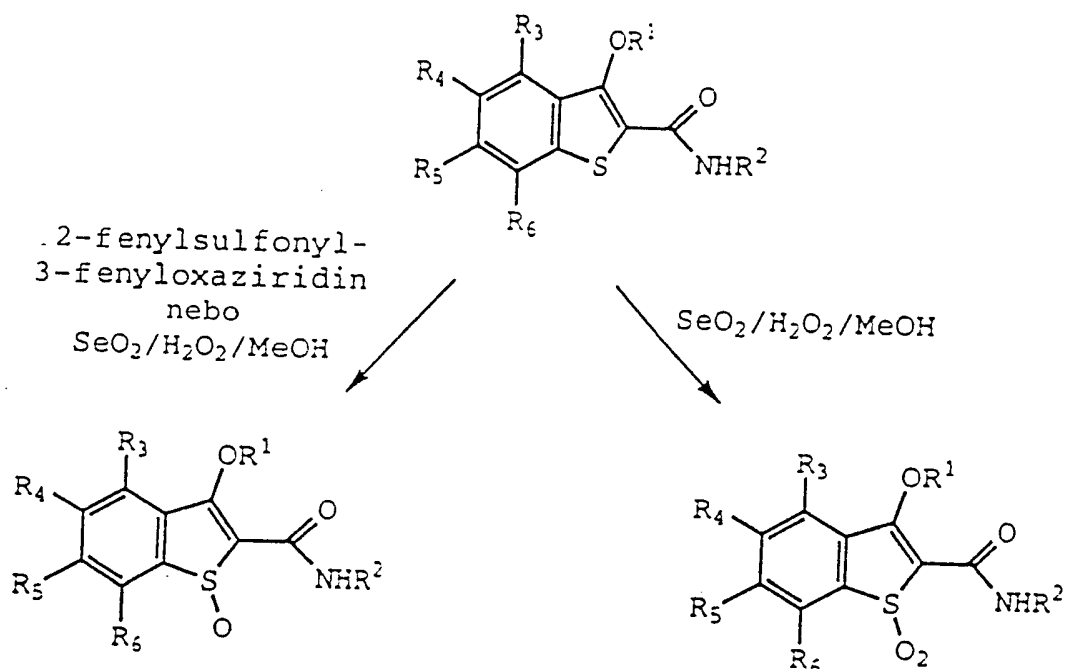
Benzo[b]thiofen-2-karboxamidy je také možno oxidovat na odpovídající benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxidy buď působením trans-2-fenylsulfonyl-3-fenyloxaziridinu nebo působením oxidu seleničitého a peroxidu vodíku v rozpouštědle, jako je methanol. Když se použije oxidu seleni-

čitého a peroxidu vodíku v nadbytku, získají se odpovídající benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-dioxidy.

S c h e m a 5



S c h e m a 6



Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech provedení. Tyto příklady mají výhradně ilustrativní charakter a rozsah vynálezu v žádném ohledu neomezují.

Příklady provedení vynálezu

P ř í k l a d 1

Výroba 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamidu je popsána v US 4 703 053.

P ř í k l a d 2

Výroba 3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamidu je popsána v US 4 703 053.

Obecný postup výroby primárních benzo[b]thiofen-2-karboxamidů z odpovídajících benzo[b]thiofen-2-karboxylových kyselin je popsán dále. Tohoto postupu bylo použito při výrobě sloučenin uvedených v příkladech 3 až 9 a také 30 až 31. Výroba odpovídajících kyselin je popsána v US 4 703 053.

K 1 mmol vhodné substituované benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny v 10 ml suchého tetrahydrofuranu se přidá 1,3 mmol N,N-karbonyldiimidazolu. Vzniklý roztok se 1 hodinu vaří pod zpětným chladičem a potom se nechá zchladnout na teplotu místnosti. Přidá se nadbytek vodného hydroxidu amonného (2 ml) a roztok se 30 minut míchá při teplotě místnosti. Směs se rozdělí mezi ethylacetát a roztok chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí mžikovou chromatografií za použití směsi hexanu a ethylacetátu v poměru 1 : 1, jako elučního činidla. Požadované benzo[b]thiofen-2-karboxamidy se získají ve formě analyticky čistých látek.

P ř í k l a d 3

5-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid (92%); teplota tání 165-167°C.

P ř í k l a d 4

5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid (94%); teplota tání 153-154°C.

P ř í k l a d 5

3-(1-methylethoxy)-5-nitrobenzo[b]thiofen-2-karboxamid (85%); teplota tání 205-207°C.

P ř í k l a d 6

7-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid
(91%); teplota tání 157-159°C.

P ř í k l a d 7

3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid
(70%); teplota tání 184-185°C.

P ř í k l a d 8

5-methoxy-3-(fenylmethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid
(72%); teplota tání 149-151°C.

P ř í k l a d 9

Poznámka: Místo na 1,1'-karbonyldiimidazol se oxalyl-
chloridem působí na odpovídající kyselinu a potom se provede
reakce s hydroxidem amonným.

5-methoxy-3-(fenoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid
(84%); teplota tání 197,5-198,5°C.

P ř í k l a d 10

5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid

Směs 3-(1-methylethoxy)-5-fenylmethoxy)benzo[b]-
thiofen-2-karboxamidu (120 mg, 0,35 mmol) [připraveného
obecným způsobem popsáným výše] a 20% palladia na uhlíku
(50 mg) ve 40 ml kyseliny octové se hydrogenuje po dobu 72
hodin. Katalyzátor se odfiltruje a filtrát se zkoncentruje
za sníženého tlaku. Surový produkt se chromatografuje za
použití elučního gradientu 1:1 až 1:2 hexan:ethylacetát.
Získá se 49,4 mg 5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thiofen-2-karboxamidu (56%); teplota tání 237-240°C (za
rozkladu).

P ř í k l a d 11

6-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid

Nadbytek lithia (74 mg, 10mM) se po částech přidá k roztoku katalytického množství dusičnanu železitého v 10 ml kapalného amoniaku o teplotě -78°C. Lázeň ze suchého ledu a acetonu se odstaví a reakční směs se nechá ohřát na teplotu zpětného toku. Když šedé zbarvení lithiumamidu zůstane v reakční směsi po dobu 10 minut, pomalu se ke směsi přidají 2 ml čerstvě předestilovaného tetrahydrofuranu a potom roztok methyl-6-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (200 mg, 0,71mM) ve 2 ml tetrahydrofuranu. Amoniak se nechá odpařit a reakční roztok se zředí ethylacetátem, promyje vodnou kyselinou chlorovodíkovou, dále vodou a nakonec roztokem chloridu sodného. Organická fáze se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Krystalický zbytek se suspenduje ve směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 1 : 9, přefiltruje a vysuší za sníženého tlaku při 50°C. Získá se 125 mg (66 %) bezbarvých krystalů o teplotě tání 164 až 166°C.

P ř í k l a d 12

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina

K 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyselině (353 mg, 1,32 mmol) v 5 ml suchého tetrahydrofuranu se přidá oxalylchlorid (140 µl, 1,60 mmol) a potom jedna kapka dimethylformamidu. Roztok se 1 hodinu míchá při teplotě místnosti a potom se zkoncentruje za sníženého tlaku. Výsledná pevná látka se počástech přidá k roztoku methyl-4-aminobenzoátu (250 mg, 1,65 mmol)

a triethylaminu (220 μ l, 1,58 mmol) v 10 ml tetrahydrofuranu o teplotě 0°C. Směs se 1 hodinu míchá při teplotě místnosti a potom se rozdělí mezi ethylacetát a roztok chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí mžikovou chromatografií za použití směsi hexanu a ethylacetátu v poměru 3 : 1, jako elučního činidla. Získá se 284 mg produktu o teplotě tání 138 až 142°C.

Směs 4,0 g methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoátu a 2 g 50% hydroxidu sodného ve 100 ml 10% vodného methanolu se zahřívá na parní lázni po dobu 15 minut a potom se nalije na led a vzniklá směs se okyselí 10% kyselinou chlorovodíkovou. Výsledná pryskyřice se extrahuje do 500 ml diethyletheru. Organická fáze se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surová pevná látka se trituje s ter.butylmethyletherem, a tak se získá 2,5 g produktu o teplotě tání 236 až 239°C (za rozkladu).

P ř í k l a d 13

3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina

Podobným způsobem jako v příkladu 12 se z 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (7,0 g, 26 mmol) a ethyl-3-aminobenzoátu (4,3 g, 26 mmol) získá 8,5 g (78%) intermediárního esteru. Zmýdlením surového esteru a překrystalováním z vodného ethanolu se získá 4,2 g (53%) produktu; teplota tání 197-200°C (za rozkladu).

P ř í k l a d 14

Ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát

Podobným způsobem jako v příkladu 12 se z 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (1,04 g, 3,9 mmol) a ethyl-2-aminobenzoátu (0,67 g, 4,1 mmol) získá 0,81 g (51%) produktu; teplota tání 105-106°C.

P ř í k l a d 15

2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina

Zmýdelněním 0,25 g ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetátu se získá 0,17 g (72%) produktu; teplota tání 239-242°C (za rozkladu).

P ř í k l a d 16

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]aminomethyl]benzoová kyselina

Roztok 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (500 mg, 2,0 mmol) a 1,1'-karbonyldiimidazolu (421 mg, 2,6 mmol) ve 20 ml tetrahydrofuranu se 1 hodinu vaří pod zpětným chladičem. Potom se směs ochladí na 0°C, přidá se hydrochlorid methyl-4-(aminomethyl)benzoátu (524 mg, 2,6 mmol) a potom triethylamin (326 µl, 2,6 mmol). Směs se 4 hodiny míchá při teplotě místnosti a potom se rozdělí mezi ethylacetát a 1N kyselinu chlorovodíkovou. Organická vrstva se promyje vodou a rozto-

kem chloridu sodného. Potom se organická vrstva vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí mžikovou chromatografií za použití gradientu ethylacetátu a methylenchloridu v poměru od 1 : 9 do 15 : 85, jako elučního činidla. Získá se 49 mg požadovaného intermediárního esteru. Tento ester se spolu s 15 mg monohydrátu hydroxidu lithného zahřívá ve 2 ml 50% vodného methanolu na teplotu zpětného toku po dobu 1 hodiny. Organická vrstva se promyje vodou, potom roztokem chloridu sodného, vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Překrystalováním ze směsi ethylacetátu a hexanu se získá 32,1 mg produktu (výtěžek 65 %, vztaženo na ester) o teplotě tání 142 až 143°C (za rozkladu).

P ř í k l a d 17

Methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát

K 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyselině (500 mg, 2,0 mmol) ve 20 ml suchého tetrahydrofuranu se přidá oxalylchlorid (262 μ l, 3,0 mmol) a potom jedna kapka dimethylformamidu. Ke směsi se přidá hydrochlorid methyl-4-aminofenylacetátu (605 mg, 3,0 mmol) a potom triethylamin (1,4 ml, 10 mmol). Směs se přes noc míchá při teplotě místnosti a potom se rozdělí mezi ethylacetát a 1N kyselinu chlorovodíkovou. Organická vrstva se promyje vodou a roztokem chloridu sodného. Potom se organická vrstva vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí mžikovou chromatografií za použití gradientu od směsi ethylacetátu a hexanu v poměru od 1 : 1 do čistého ethylacetátu, jako elučního činidla. Získá se 692 mg (84 %) požadovaného produktu o teplotě tání 111 až 113°C.

P ř í k l a d 18

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenoctová kyselina

Methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]fenylacetát (300 mg, 0,73 mmol) a 91 mg monohydrátu hydroxidu lithného ve směsi 5 ml methanolu a 2 ml vody se 2 hodiny vaří pod zpětným chladičem. Reakční směs se rozdělí mezi ethylacetát a vodnou kyselinu chlorovodíkovou. Organická vrstva se promyje vodou a roztokem chloridu sodného. Potom se organická vrstva vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí překrystalováním ze směsi ethylacetátu a hexanu. Získá se 247 mg (85 %) produktu o teplotě tání 195,5 až 196,5°C.

P ř í k l a d 19

Methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát

Podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 17, se z 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (500 mg, 2,0 mmol) a hydrochloridu methyl-3-amino-fenylacetátu (605 mg, 3,0 mmol) získá 506 mg (61%) produktu; teplota tání 103-106°C.

P ř í k l a d 20

3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenoctová kyselina

Podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 18, se z methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-

yl]karbonyl]amino]fenylacetátu (250 mg, 0,60 mmol) a 76 mg monohydrátu hydroxidu lithného získá 172 mg (72%) produktu; teplota tání 155-156°C.

P ř í k l a d 21

Methyl-5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]pentanoát

Roztok 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-thiofen-2-karboxylové kyseliny (500 mg, 2,00 mmol) a 1,1'-karbonyldiimidazolu (421 mg, 2,60 mmol) ve 20 ml tetrahydrofuranu se 1 hodinu vaří pod zpětným chladičem. Potom se směs ochladí na 0°C a přidá se k ní hydrochlorid methyl-5-aminovalerátu (787 mg, 4,7 mmol) a potom triethylamin (836 µl, 6,0 mmol). Směs se přes noc vaří pod zpětným chladičem a potom se rozdělí mezi ethylacetát a 1N vodnou kyselinu chlorovodíkovou. Organická vrstva se promyje 1N kyselinou chlorovodíkovou, nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a roztokem choridu sodného. Potom se organická vrstva vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí mžikovou chromatografií za použití směsi hexanu a ethylacetátu v poměru 9 : 1, jako elučního činidla. Získá se 530 mg (70 %) produktu o teplotě tání 82 až 84°C.

P ř í k l a d 22

5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]pentanová kyselina

Methyl-5-[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-thien-2-yl]karbonyl]aminovalerát (250 mg, 0,66 mmol) a 83 mg monohydrátu hydroxidu lithného ve směsi 5 ml methanolu a 2 ml vody se 7 hodin míchá při teplotě místnosti a potom se

rozdělí mezi ethylacetát a vodnou kyselinu chlorovodíkovou. Organická vrstva se promyje vodou a roztokem chloridu sodného. Potom se organická vrstva vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se překrystaluje ze směsi ethylacetátu a hexanu. Získá se 205 mg (85 %) produktu o teplotě tání 135 až 137°C.

P ř í k l a d 23

3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-2-thiofenkarboxylová kyselina

K 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyselině (7,0 g, 26 mmol) ve 100 ml suchého tetrahydrofuranu se přidá oxalylchlorid (2,8 ml, 32 mmol) a potom 4 kapky dimethylformamidu. Roztok se 45 minut míchá při teplotě místnosti a potom se zkoncentruje za sníženého tlaku. Výsledná pevná látka se rozpustí v suchém tetrahydrofuranu a vzniklý roztok se přikape k roztoku methyl-3-amino-2-thiofenkarboxylátu (4,5 g, 29 mmol) s triethylaminu (11 ml, 79 mmol) v 75 ml tetrahydrofuranu. Směs se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti a potom se rozloží 10% kyselinou chlorovodíkovou. Dále se směs extrahuje ethylacetátem a spojené organické vrstvy se promyjí 5% roztokem hydrogenuhličitanu sodného a roztokem chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se překrystaluje z terc.butylmethyletheru, a tak se získá 4,5 g bílé pevné látky o teplotě tání 131 až 137°C.

4,4 g (11 mmol) tohoto esteru se smíchá s 50% vodným hydroxidem sodným (4,0 g, 50 mmol) v 10% vodném methanolu (200 ml) a 40 ml tetrahydrofuranu. Směs se 2 hodiny zahřívá na perní lázni, potom se ochladí a přidá do 60 g ledu. Vzniklá směs se okyselí 10% kyselinou chlorovodíko-

vou a vysrážená pevná látka se odfiltruje a promyje vodou. Surový produkt se překrystaluje z 95% ethanolu. Získá se 3,0 g (71 %) produktu o teplotě tání 223 až 227°C (za rozkladu).

Obecný postup pro výrobu sekundárních benzo[b]thiofen-2-karboxamidů z odpovídajících kyselin:

Roztok vhodně substituované benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (1mM) a 1,1'-karbonyldimidazolu (1,3mM) v suchém tetrahydrofuranu se 1 až 2 hodiny vaří pod zpětným chladičem. Reakční roztok se ochladí na 0°C a přidá se k němu nadbytek primárního aminu. Potom se reakční směs zředí ethylacetátem, promyje vodnou kyselinou chlorovodíkovou a potom vodou a roztokem chloridu sodného. Organická fáze se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Analyticky čisté produkty se získají sloupcovou chromatografií a/nebo překrystalováním.

P ř í k l a d 24

5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid (55%); teplota tání 104-105°C.

P ř í k l a d 25

N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid (62%); teplota tání 60-62°C.

P ř í k l a d 26

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-fenylbenzo[b]thiofen-2-karboxamid (27%); teplota tání 116-118°C.

P ř í k l a d 27

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)benzo[b]thiofen-2-karboxamid (81%); teplota tání 85-86°C.

P ř í k l a d 28

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid-1-oxid

Příprava A

Roztok 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzothiofen-2-karboxamidu (250 mg, 0,94 mmol) a 30% peroxidu vodíku (4 ml, 40 mmol) v kyselině octové (9,5 ml) se 8 hodin míchá při teplotě místnosti. Reakční roztok se zředí vodou a jeho hodnota pH se nastaví na 7 přidávkem vodného roztoku hydroxidu sodného a nasyceného roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného. Organické látky se extrahují ethylacetátem. Organická fáze se promyje nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného, vodou a roztokem chloridu sodného a vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se 2 x překrystaluje ze směsi ethylacetátu a hexanu. Získá se 60 mg (23 %) 1-oxidu o teplotě tání 163 až 164°C.

Příprava B

Roztok 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzothiofen-2-karboxylové kyseliny (30 g, 112 mmol) a (±)-trans-2-(fenylsulfonyl)-3-fenyloxaziridinu (35 g, 135 mmol) [připraveného způsobem popsáním v Org. Syn., 1987; 66:203] v chloroformu (500 ml) se 20 hodin míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se přefiltruje a pevná látka se promyje dvěma dávkami směsi chloroformu a hexanu v poměru 1 : 1. Filtrát se 8 hodin míchá při teplotě místnosti a potom se k němu přidá další (±)-trans-2-(fenylsulfonyl)-3-fenyloxaziridin (17 g, 66 mmol) a v míchání se pokračuje přes noc. Výsledná pevná látka se odfiltruje a filtrát se přes noc míchá při teplotě místnosti. Vysrážená pevná látka se znovu

odfiltruje. Frakce pevné látky se spojí a směs se překrystaluje ze směsi ethylacetátu a methanolu. Získá se 16,6 g analyticky čistého 1-oxidu 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzothiofen-2-karboxylové kyseliny o teplotě tání 184 až 187°C. Dalším překrystalováním se získají přídatné frakce [4,3 g (14 %) a 2,1 g (7 %)].

Natriumhydrid (326 mg, 8,15 mmol) se promytím zbaví oleje a přidá při teplotě místnosti k roztoku 1-oxidu 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzothiofen-2-karboxylové kyseliny (2,30 g, 8,1 mmol) v rozpouštědlovém systému, který se skládá z 25 ml dimethylformamidu a 75 ml tetrahydrofuranu. Směs se 1,5 hodiny míchá při teplotě místnosti a vzniklá hustá sraženina se ochladí na -10°C, načež se k ní přidá thionylchlorid (713 µl, 9,78 mmol). Po 2 hodinách se roztok ochladí na -78°C, což má za následek vznik suspenze. Pod povrch této suspenze se po dobu asi 1 minuty uvádí plynný amoniak. Po 10 minutách se reakční směs nalije do směsi 6N kyseliny chlorovodíkové a roztoku chloridu sodného. Organická fáze se promyje další okyseleným roztokem chloridu sodného, nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a nakonec roztokem chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Výsledná pevná látka se překrystaluje ze směsi ethylacetátu a hexanu. Získá se 1,44 g (63 %) 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxidu o teplotě tání 168,5 až 169,5°C.

P ř í k l a d 29

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid-1,1'-dioxid

Roztok 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzothiofen-2-karboxamidu (250 mg, 0,94mM) a 30% peroxidu vodíku (4

ml, 40mM) v kyselině octové (9,5 ml) se 6 hodin vaří pod zpětným chladičem. Vzniklý reakční roztok se zředí ethylacetátem a 5 x promyje roztokem chloridu sodného. Potom se reakční roztok vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Výsledná pevná látka se překrystaluje ze směsi ethylacetátu a hexanu. Získá se 67 mg (24 %) dioxidu o teplotě tání 151 až 153°C.

P ř í k l a d 30

3-(1,1'-dimethylethoxy)-5-methoxybenzo[b]thiofen-
2-karboxamid

Titulní sloučenina se připraví podobným postupem, jaký je popsán v příkladu 2 (74%); teplota tání 180-181°C.

P ř í k l a d 31

6-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid

Titulní sloučenina se připraví podobným postupem, jaký je popsán v příkladu 2 (90%); teplota tání 176-178°C.

P ř í k l a d 32

5-amino-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid

Směs 3-(1-methylethoxy)-5-nitrobenzo[b]thiofen-2-karboxamidu (104 mg, 0,37 mmol) a 5% palladia na uhlíku (10 mg) ve 20 ml kyseliny octové se hydrogenuje po dobu 1,5 hodiny. Katalyzátor se odfiltruje a filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí chromatografií za použití směsi hexanu a ethylacetátu v poměru 1 : 2, jako elučního činidla. Získá se 62 mg 5-amino-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamidu (výtěžek 67 %) o teplotě tání 150 až 151°C.

P ř í k l a d 33

Methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]-
karbonyl]amino]butanoát

Titulní sloučenina se připraví podobným postupem,
jaký je popsán v příkladu 21 (93%); teplota tání 35-36,5°C.

P ř í k l a d 34

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbo-
nyl]amino]butanová kyselina

Titulní sloučenina se připraví podobným postupem,
jaký je popsán v příkladu 22 (77%); teplota tání 101-102°C
(za rozkladu).

P ř í k l a d 35

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethyl)benzo[b]-
thiofen-2-karboxamid

Titulní sloučenina se připraví podobným postupem,
jaký je popsán v příkladu 24 (76%); teplota tání
64,5-65,5°C.

P ř í k l a d 36

Ethyl-6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylát

Podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 12 se
z 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové
kyseliny (1,07 g, 4,0 mmol) a ethyl-6-aminonikotinátu (690
mg, 4,2 mmol) získá 90 mg (6%) produktu; teplota tání
131-133°C.

P ř í k l a d 37

6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylová kyselina

Zmýdelněním 345 mg ethyl-6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylátu se získá 94 mg (29%) produktu; teplota tání 242-247°C (za rozkladu).

P ř í k l a d 38

Ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazolacetát

Podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 2 se z 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (1,033 g, 3,88 mmol) a ethyl-2-amino-4-thiazolacetátu (709 mg, 4,37 mmol) získá 1,22 g (73%) produktu; teplota tání 91-92°C.

P ř í k l a d 39

2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazolactová kyselina

Zmýdelněním 521 mg ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazolacetátu se získá 135 mg (28%) produktu; teplota tání 189-191°C.

P ř í k l a d 40

3-methoxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina

Podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 12 se z 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (230 mg, 0,86 mmol) a methyl-4-amino-3-methoxybenzoátu (310 mg, 1,38 mmol) [připraveného esterifikací 4-amino-3-methoxybenzoové kyseliny (Aldrich) MeOH/AcCl] získá 269 mg (73%) produktu; teplota tání 278°C (za rozkladu). Zmýdlením 100 mg methyl-3-methoxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoátu se získá 48 mg (50%) produktu; teplota tání 278-281°C (za rozkladu).

P ř í k l a d 41

Methyl-2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoát

Podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 12 se z 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (200 mg, 0,75 mmol) a methyl-4-aminosalicylátu (117 mg, 0,70 mmol) [připraveného esterifikací sodné soli 4-aminosalicylové kyseliny (Sigma) jodmethanem]. Získá se 172 mg (59%) produktu; teplota tání 158,5-160°C.

P ř í k l a d 42

2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina

Zmýdlením 100 mg methyl-2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoátu se získá 74 mg (76%) produktu; teplota tání 237-238°C.

P ř í k l a d 43

Methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]benzensulfonát

Podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 12 se z 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (300 mg, 1,1 mmol) a 402 mg, 1,8 mmol) methyl-4-aminobenzensulfonátu [přípraveného katalytickou hydrogenací methyl-4-nitrobenzensulfonátu (Aldrich) a převedením na sůl] se získá 295 mg (56%) produktu; teplota tání 176,5-177°C.

P ř í k l a d 44

N-[1-(hydroxymethyl)-1-methylethyl]-5-methoxy-
3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid

Podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 12 se z 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (2,50 g, 9,4 mmol) a 2-amino-2-methylpropanolu (3,7 ml, 38,6 mmol) získá 3,2 g (100%) produktu. Analytický vzorek připravený překrystalováním ze směsi ethylacetátu a hexanu taje při 138 až 138,5°C.

P ř í k l a d 45

N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid-1-oxid

K roztoku N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzo[b]thiofen-2-karboxamidu (195 mg, 0,66 mmol) v 8 ml methanolu s obsahem 530 µl peroxidu vodíku (30% roztok ve vodě). Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a potom se nalije do směsi ethylacetátu a nasyceného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Organická fáze se promyje nasy-

ceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, 1N kyselinou chlorovodíkovou a nakonec roztokem chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový pevný produkt se přečistí chromatografií za použití gradientu ethylacetátu a dichlormethanu v poměru od 1 : 9 do 1 : 1, jako elučního činidla. Získá se 96 mg (47 %) N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxidu o teplotě tání 88 až 90°C.

P ř í k l a d 46

5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thiofen-2-karboxamid-1-oxid

Způsobem popsaným v příkladu 45 se oxидуje 200 mg 5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid. Získá se 65 mg (30%) produktu; teplota tání 123-124°C.

P ř í k l a d 47

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)benzo[b]-
thiofen-2-karboxamid-1-oxid

Způsobem popsaným v příkladu 28, příprava B z 200 mg (0,71 mmol) 1-oxidu 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzo[b]-thiofen-2-karboxylové kyseliny a 388 µl (3,55 mmol) benzylaminu se získá 137 mg (52%) 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxidu ve formě žluté pryskyřice.

P ř í k l a d 48

Methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát-1-oxid

Způsobem popsaným v příkladu 28, příprava B z 700 mg (2,48 mmol) 1-oxidu 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny a 1,90 g (12,4 mmol) methyl-4-aminobenzoátu se získá 530 mg (51%) methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]-amino]benzenacetát-1-oxidu; teplota tání 162-162,5°C (za rozkladu).

P ř í k l a d 49

5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid

(±) - trans-2-(fenylsulfonyl)-3-fenyloxaziridin (400 mg, 1,5 mmol) se přidá k roztoku 5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamidu (300 mg, 1,2 mmol) v 15 ml acetonu. Získá se 200 mg (62%) 5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxidu; teplota tání 190°C (za rozkladu).

P ř í k l a d 50

5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid

Způsobem popsaným v příkladu 28, příprava B z 235 mg 5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny se získá 131 mg (53%) 1-oxidu 5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny; teplota tání 184-187°C. Z 1-oxidu 5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-

thiofen-2-karboxylové kyseliny (120 mg) se získá 63 mg (52%) produktu; teplota tání 175-177°C.

P ř í k l a d 51

5-methoxy-3-fenoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid

Způsobem popsaným v příkladu 28, příprava B z 500 mg 5-methoxy-3-fenoxybenzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny se získá 108 mg (21%) 1-oxidu 5-methoxy-3-fenoxybenzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny; teplota tání 204-206°C. Z 1-oxidu 5-methoxy-3-fenoxybenzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (200 mg) se získá 116 mg (58%) produktu; teplota tání 191-193°C (za rozkladu).

P ř í k l a d 52

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethoxy)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid

Způsobem popsaným v příkladu 45 se oxiduje 200 mg 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamidu. Získá se 111 mg (53%) produktu ve formě bezbarvého oleje.

P ř í k l a d 53

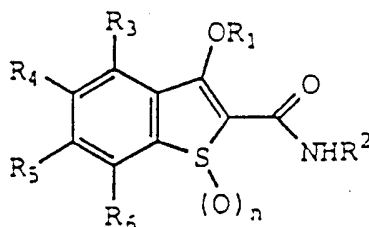
3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid

Způsobem popsaným v příkladu 49 se oxiduje 500 mg 3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidu. Získá se 100 mg (19%) produktu; teplota tání 195°C (za rozkladu).

P A T E N T O V É N Á R O K Y

24. XI. 94	60071
------------	-------

1. 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy obecného vzorce I



(I)

kde

R_1 představuje nižší alkylskupinu, fenylskupinu nebo benzylskupinu;

R_2 představuje atom vodíku, nižší alkylskupinu, fenylskupinu, benzylskupinu, zbytek thiofenu, skupinu vzorce $(CH_2)_mQ$ nebo fenylskupinu, benzylskupinu nebo zbytek thiofenu, přičemž poslední tři skupiny jsou substituovány zbytkem $(CH_2)_mQ$;

n představuje celé číslo s hodnotou od 0 do 2;

m představuje celé číslo s hodnotou od 0 do 6;

Q představuje skupinu obecného vzorce CO_2R_7 , kde R_7 představuje atom vodíku nebo nižší alkylskupinu; a

R_3 , R_4 , R_5 a R_6 nezávisle představuje vždy atom vodíku, hydroxyskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, nižší alkylskupinu nebo nižší alkoxyskupinu

nebo jejich farmaceuticky vhodné soli s kyselinami pro léčbu zánětlivých chorob.

2. 3-~~alkoxy~~-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy podle nároku 1, kterými jsou

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

3-(1-methylethoxy)-5-nitro-benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

7-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-methoxy-3-(fenylmethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-methoxy-3-(fenoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

6-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;

3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;

ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;

2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]aminomethyl]benzoová kyselina;

methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenoctová kyselina;
methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;
3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenoctová kyselina;
methyl-5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]pentanoát;
5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]pentanová kyselina;
3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-2-thiofenkarboxylová kyselina;
5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
N-ethyl-(5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-fenylbenzo[b]thiofen-2-karboxamid;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-dioxid;
3-(1,1-dimethylethoxy)-5-methoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;
6-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
5-amino-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]butanoát;
4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]butanová kyselina;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethyl)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

ethyl-6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylát;

6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylová kyselina;

ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazolacetát;

2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazolooctová kyselina;

3-methoxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;

methyl-2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoát;

2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;

methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzensulfonát;

N-[1-(hydroxymethyl)-1-methylethyl]-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát-1-oxid;

5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-fenoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethoxy)-
benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid a

3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid

a jejich farmaceuticky vhodné soli.

3. 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-
2-karboxamidy zvolené ze souboru, do něhož spadá

5-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;

5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;

3-(1-methylethoxy)-5-nitrobenzo[b]thiofen-
2-karboxamid;

7-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;

3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-methoxy-3-(fenylmethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;

5-methoxy-3-(fenoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;

6-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-
2-karboxamid;

ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]aminomethyl]benzoová kyselina;

methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-
2-yl]karbonyl]amino]benzenoctová kyselina;

methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-
thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;

3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenoctová kyselina;

methyl-5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]pentanoát;

5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]pentanová kyselina;

5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-fenylbenzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-dioxid;

3-(1,1-dimethylethoxy)-5-methoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;

6-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

5-amino-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]butanoát;

4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]butanová kyselina;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethyl)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

ethyl-6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylát;

6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylová kyselina;

ethyl-2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-thien-2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazolacetát;

2-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-4-thiazolooctová kyselina;

3-methoxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;

methyl-2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoát;

2-hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;

methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-thien-2-yl]karbonyl]amino]benzensulfonát;

N-[1-(hydroxymethyl)-1-methylethyl]-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

methyl-3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]-thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát-1-oxid;

5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-fenoxibenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;

5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethoxy)-benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid a

3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid

a jejich farmaceuticky vhodné soli.

MP-1367-94-Če