



FI 000110364B



SUOMI – FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT

(10) FI 110364 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats

31.12.2002

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

C07D 217/22, 295/12, 401/12, 409/12

(21) Patentihakemus - Patentansökning

950818

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag

22.02.1995

(24) Alkupäivä - Löpdag

22.02.1995

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig

26.08.1995

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

25.02.1994 FR 9402159 P

(73) Haltija - Innehavare

1 •Les Laboratoires Servier, 1, rue Carle Hébert, 92415 Courbevoie Cedex, RANSKA, (FR)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Peglion, Jean-Louis, 5 allée des Begonias, 78110 Le Vesinet, RANSKA, (FR)

2 •Vilaine, Jean-Paul, 21 rue des Valles, 92290 Chatenay Malabry, RANSKA, (FR)

3 •Villeneuve, Nicole, 135 rue Danton Bat A1, 92500 Rueil Malmaison, RANSKA, (FR)

4 •Iliou, Jean-Pierre, 47 boulevard R. Wallace, 92800 Puteau, RANSKA, (FR)

5 •Bidouard, Jean-Pierre, 15 rue Auguste Blanqui, 91380 Chilly Mazarin, RANSKA, (FR)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Jalo Ant-Wuorinen Ab

Iso Roobertinkatu 4 - 6 A, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

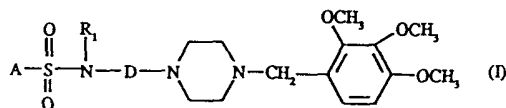
Uudet substituoidut sulfoniamidit ja niitä sisältävät farmaseuttiset koostumukset

Nya substituerade sulfonamider och farmaceutiska kompositioner, som innehåller dessa föreningar

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

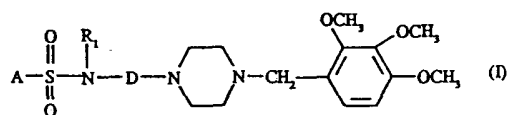
Keksintö koskee kaavan I mukaisia substituoituja sulfoniamideja



jossa A, R₁ ja D ovat selityksessä määritellyt, niiden fysiologisesti hyväksyttäviä suoloja ja niiden käyttöä lääkeaineina.

110364

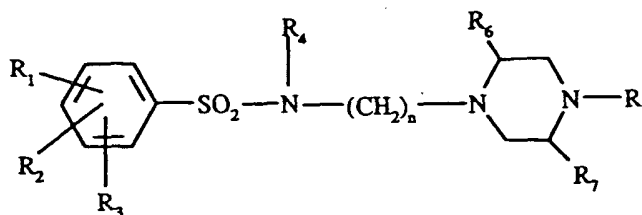
Uppfinningen avser substituerade sulfonamider med formeln
I



vari A, R_1 och D betecknar detsamma som i beskrivningen, fysiologiskt godtagbara salter därav, samt deras användning som läkemedel.

kee kaavan

5



mukaisia sulfoniamideja, toisin sanoen yhdisteitä, joissa
sulfoniamidiryhmä on aina kiinnittynyt bentseenirenkaa-
seen, joka itse on mahdollisesti substituoitu, mutta ha-
kemus ei sisällä lainkaan edellä kuvatun kaavan I yh-
teydessä määriteltyjä, kaavan A mukaisia bisyklisiä täh-
teitä, tai viittaa niihin.

15 Siten viitejulkaisu EP 0330065A ei voi vaikuttaa tämän
hakemuksen patentoitavuuteen.

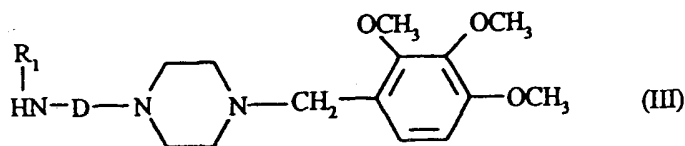
Kaavan I mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa menetel-
mällä, jossa kaavan II mukainen sulfokloridi

20



jossa A tarkoittaa samaa kuin edellä, saatetaan reagoi-
maan kaavan III mukaisen amiinin kanssa

25

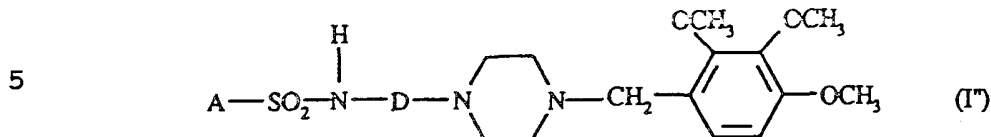


30 jossa R₁ ja D tarkoittavat samaa kuin edellä.

Lisäksi kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa R₁, A ja D
tarkoittavat samaa kuin edellä

35

voidaan myös valmistaa saattamalla kaavan I" mukaiset yhdisteet



joissa A ja D tarkoittavat samaa kuin edellä, reagoimaan natriumhydridin, sitten kaavan II' mukaisen halidin kanssa

10



jossa R_1 tarkoittaa samaa kuin edellä ja X tarkoittaa halogeeniatomia, sopivassa liuottimessa kuten N,N-dimetyyliasetamidissa.

15

Kaavan I mukaiset yhdisteet voidaan muuntaa additiosuoloiksi fysiologisesti siedettävien happojen kanssa. Nämä suolat muodostavat osan keksintöä. Näiden suolojen muodostukseen käyttökelpoisina happoina voidaan mainita esimerkiksi mineraalihapoista suola-, bromivety-, typpi-, rikki- ja fosforihappo ja orgaanisista hapoista etikka-, propioni-, maleiini-, fumaari-, viini-, oksaali-, bentsoe-, metaanisulfony- ja isetionihappo.

20

25

Kaikki lähtöaineena käytetyt kaavan II mukaiset sulfokloridit on kuvattu kirjallisuudessa. Kaavan III mukaiset lähtöaineet valmistettiin tunnetuista tuotteista eri menetelmillä riippuen substituenttien D ja R_1 merkityksistä, kuten mainitaan jäljempänä seuraavissa esimerkeissä.

30

Keksinnön mukaisilla yhdisteillä on arvokkaita farmakologisia ja terapeuttisia ominaisuuksia. Erityisesti näille yhdisteille on osoitettu seuraavaa:

35

IN VITRO

- toisaalta niiden antihypoksinen aktiivisuus, mikä estää eristettyjen rotansydänten toimintahäiriön hapenpuute-uudelleenhapetus -käsittelyiden aikana ja rajoittaa hypoksian (hapenpuute) aiheuttamaa sydänsolujen kuoliota,
- 5 - toisaalta niiden suojavaikutus ylimääräisen solunsisäisen kalsiumin mallin suhteen: kalsiumparadoksin aiheuttamaa rotan sydänsolujen kuoliota vastaan, ja

10 IN VIVO

- niiden anti-iskeeminen aktiivisuus sepelvaltimon ahtaantumisen aiheuttaman sydäninfarktin aikana sioissa.

Nämä ominaisuudet mahdollistavat sen, että keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää lääkeaineina iskeemisten patologisten tilojen ehkäisevässä ja parantavassa hoidossa, erityisesti sydän- ja verisuonitautien alalla: angina pectoris, sydäninfarkti ja iskeemisten sydän- tautien (rytmihäiriö, sydämen vajaatoiminta) ja ääreis-
20 verisuonien patologisten tilojen jälkitilat.

Keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää myös aivojen alueella, erityisesti hoidettaessa aivoverisuonivauriota ja kroonisiin aivoverenkierronhäiriöihin liittyvien
25 vajavuuksien oireita, ja oftalmologian alalla, erityisesti hoidettaessa verisuoniperäisiä verkkokalvon häiriöitä, ja iskeemistä alkuperää olevia tuntohermoihin liittyviä oireita.

30 Annos voi vaihdella erityisesti potilaan iän ja painon, annostustavan, sairauden luonteen ja muiden hoitojen mukaan ja on välillä 1-200 mg aktiiviainetta 1-3 kertaa päivässä.

35 Keksintö koskee myös farmaseuttisia koostumuksia, jotka sisältävät aktiiviaineena kaavan I mukaisen yhdisteen tai sen fysiologisesti hyväksyttävän suolan, sekoitettuna

yhteen tai useampaan sopivaan farmaseuttiseen täyteaineeseen tai yhdistettynä niihin.

Näin saadut farmaseuttisesti koostumukset ovat tavallisesti annosmuodossa sisältäen 1-200 mg aktiivainetta. Ne voivat olla esimerkiksi tablettien, rakeiden, gelatiinikapseleiden, suppositorioiden tai injektoitavien tai juotavien liuosten muodossa, ja ne voidaan antaa oraalisesti, rektaalaisesti tai parenteraalisesti riippuen kyseessä olevasta tapauksesta.

Seuraavat esimerkit kuvaavat keksintöä. Jollei muuta erityisesti mainita, sulamispisteet on määritetty Koflerin kuumalevyä käyttäen.

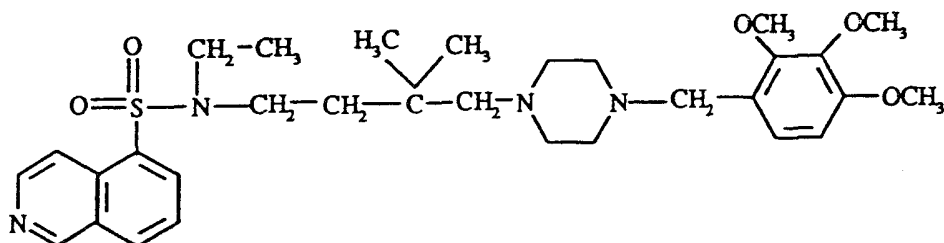
15

Esimerkki 1

N-etyyli-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)-piperatsin-1-yyli]butyyli}-{isokinolin-5-yyli)sulfoniamidi:

20

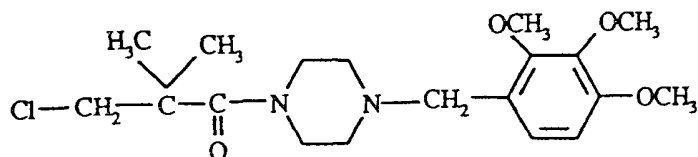
25



30

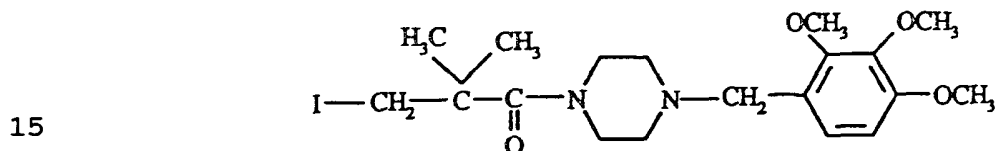
1) 0,1 moolia 3-kloori-2,2-dimetyylipropionihappokloridia lisätään tipoittain samalla sekoittaen seokseen, jossa on 0,1 moolia N-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsiinia ja 0,1 moolia trietyyliamiinia 250 ml:ssa bentseeniä. Annetaan reagoida yön yli samalla sekoittaen, minkä jälkeen seos siirretään pulloon ja pestään vedellä. Haluttu tuote, jolla on kaava

35



erotetaan öljynä 54 %:n saannolla.

2) 0,053 moolia näin saatua tuotetta ja 0,063 moolia natriumjodidia 600 ml:ssa metyylietyyliketonia kuumennetaan palautusjäähdyttäen 24 tuntia. HPLC:llä tapahtuvan tarkistuksen jälkeen lisätään jälleen 0,063 moolia natriumjodidia, minkä jälkeen keitetään palautusjäähdyttäen 24 tuntia. Koko seos saatetaan huoneen lämpötilaan, haihdutetaan, otetaan eetteriin ja pestään yksinormaalilla natriumtiosulfaatilla. Haluttu tuote, jolla on kaava



saadaan öljynä 95 %:n saannolla.

3) Edellä saatua jodattua yhdistettä kuumennetaan 100 °C:ssa 6 tunnin ajan samalla sekoittaen kahden ekvivalentin kanssa natriumsyanidia 100 ml:ssa dimetyyliformamidia. Sitten dimetyyliformamidi haihdutetaan pois ja jäännös otetaan veteen ja uutetaan dietyylieetterillä. Näin saatu nitriili, 54 %:n saannolla ja öljyn muodossa, käytetään sellaisenaan ilman lisäpuhdistusta.

4) Edellä saatu nitriili liuotetaan 250 ml:aan tetrahydrofuraania ja saatu liuos käsitellään 10 ekvivalentilla boraanidimetyylisulfidilla. Reaktioseosta kuumennetaan palautusjäähdyttäen 6 tunnin ajan. Solvolysoidaan 25 ml:lla metanolia, minkä jälkeen haihdutetaan ja hydrolysoidaan 40 ml:lla väkevää suolahappoa 80 ml:ssa metanolia, haihdutetaan, otetaan veteen ja uutetaan dietyylieetterillä ja vesifaasi tehdään emäksiseksi ja uutetaan etyyliaseetaatilla. Haluttu amiini saadaan öljynä 90 %:n saannolla.

5) 0,017 moolia (isokinolin-5-yyli)sulfokloridihydrokloridia lisätään annoksittain huoneen lämpötilassa 0,017 mooliin edellä saatua amiinia ja 0,034 mooliin trietyyliamiinia 65 ml:ssa metyleenikloridia. Reagoivat aineet
5 jätetään kosketuksiin toistensa kanssa yön yli samalla sekoittaen, siirretään sitten pulloon ja pestään 100 ml:lla yksinormaalista natriumhydroksidiliuosta, ja orgaaninen faasi kuivataan. Sitten kromatografoidaan $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ -systeemillä (95:5) piidioksidipylväässä, ja
10 6,3 g haluttua tuotetta kerätään öljyn muodossa.

6) 2,8 g (0,005 moolia) edellisessä vaiheessa valmistettua sulfoniamidia, liuotettuna 30 ml:aan dimetyyliasetamidia, saatetaan reagoimaan stoikiometrisen määrän kanssa
15 60 %:ista natriumhydridiä. Kun kaasun kehittyminen on päättynyt, lisätään 0,005 moolia etyylijodidia ja reaktioseosta sekoitetaan yli yön. Sitten seos laimennetaan runsaalla määrällä vettä, uutetaan etyyliasetaatilla, kuivataan ja haihdutetaan, jolloin saadaan esimerkin
20 1 otsikkotuote öljyn muodossa 64 %:n saannolla. N-etyyli-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}-(isokinolin-5-yyli)sulfoniamidin difumaraatti sulaa 143-146 °C:ssa.

25 **Esimerkit 2-5**

Seuraavien esimerkkien yhdisteet valmistettiin edeten esimerkissä 1 kuvatun menetelmän mukaisesti:

30 2) N-bentsyyli-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}-(isokinolin-5-yyli)sulfoniamidi, vastaavan 2,5-fumaraatin s.p. 174-176°C.

35 3) ~~1R~~ N-etyyli-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}-10-kamfosulfoniamidi, vastaavan dihydrokloridin s.p. 243-245 °C.

4) (1S)-N-etyyli-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trimetoksi-bentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}-10-kamfosulfoniami-
di, vastaavan dihydrokloridin s.p. 243-245 °C.

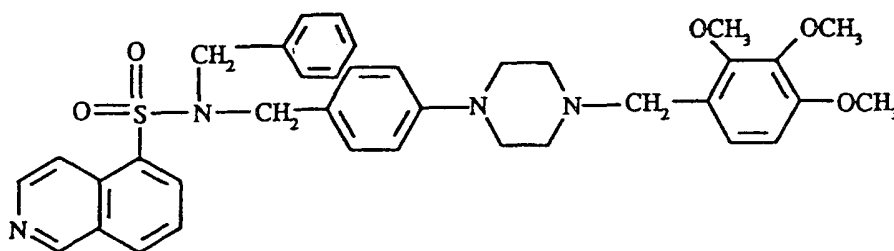
5) (1R)-N-bentsyyli-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trime-
toksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}-10-kamfosul-
foniamidi, vastaavan dihydrokloridin s.p. 188-191 °C.

Esimerkki 6

10

N-bentsyyli-N-{{4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperat-
sin-1-yyli]fenyyli]metyyli}-(isokinolin-5-yyli)sul-
foniamidi

15



20

1) 0,2 moolia fluoribentsonitriiliä, 0,2 moolia kalium-
karbonaattia ja 0,2 moolia N-(2,3,4-trimetoksibentsyy-
li)piperatsiinia kuumennetaan 100 °C:ssa 8 tunnin ajan
25 samalla sekoittaen. Sitten seos laimennetaan vedellä ja
uutetaan dietyylieetterillä, orgaaninen faasi uutetaan
yksinormaalisella suolahapolla ja yhdistetyt vesifaasit
tehdään emäksisiksi kylmässä väkevällä natriumhydroksidi-
liuoksella ja uutetaan etyyliasetaatilla. Haluttu nitrii-
30 li saadaan öljyn muodossa 40 %:n saannolla.

2) Näin saatu nitriili pelkistetään yhdellä ekvivalenttil-
la litiumalumiinihydridiä 150 ml:ssa tetrahydrofuraania.
Hajotuksen jälkeen saadaan öljy, joka pikakromatografoi-
35 daan käyttäen eluenttina CH₂Cl₂/CH₃OH/NH₄OH-seosta
(95:5:0,5). Haluttu amiini saadaan öljynä 37 %:n saannol-
la.

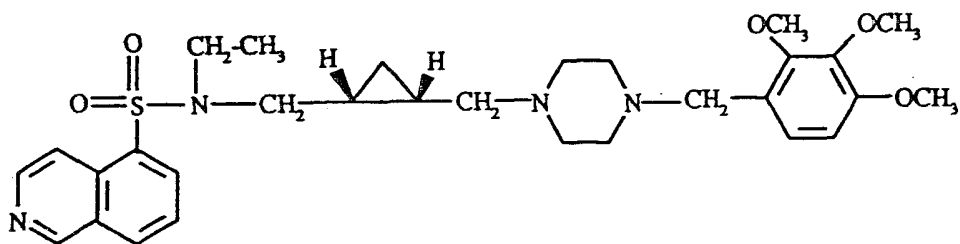
3) Edellä saadun amiinin yhdistäminen (isokinolin-5-yyli)sulfokloridiin tehdään esimerkissä 1, kappale 5), kuvatun menetelmän mukaisesti. N-alkylointi tehdään esimerkissä 1, kappale 6), kuvatun menetelmän mukaisesti käyttäen bentsyylibromidia etyylijodidin sijasta. Tällä tavoin saadaan esimerkin 6 otsikkoyhdiste, jonka hydrokloridi sulaa 152-155 °C:ssa.

Esimerkki 7

10

Cis-N-etyyli-N-{2-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]metyyli}syklopropyylimetyyli}-(isokinolin-5-yyli)sulfoniamidi

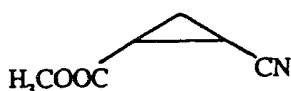
15



20

1) Metyyli-2-syanosykloprop-1-yylikarboksylaatin *cis/trans*-seoksen valmistus

25



Seos, jossa on 0,5 moolia akrylonitriiliä ja 0,5 moolia metyyliklooriasetaattia kaadetaan suspensioon, jossa on 50 ml tolueenia ja 0,5 moolia natriumhydridiä. Reaktioseoksen annetaan seistä yksi yö samalla sekoittaen, sitten hajotetaan hyvin hitaasti 150 ml:lla dietyylieetteriä, joka sisältää 16 ml metanolia. Seos siirretään putkoon, laimennetaan dietyylieetterillä, pestään kylläisellä natriumkloridiliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan.

Cis/trans-seos otetaan talteen tislaamalla, k.p./15 mm = 120-140 °C (saanto 20 %).

- 2) 2-syanosykloprop-1-yylikarboksyylihapon *cis/trans*-seoksen valmistus

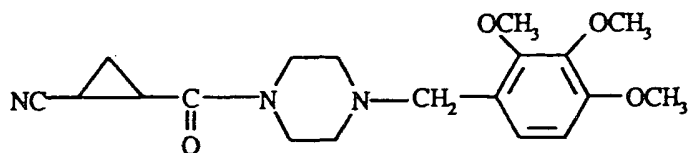


- 10 11,7 g (0,093 moolia) edellä saatua metyyli-2-syanosykloprop-1-yylikarboksylaattia hydrolysoidaan 100 ml:lla yksinormaalista natriumhydroksidiliuosta ja 50 ml:lla etanolia yön yli samalla sekoittaen. Alkoholi haihdutetaan pois, lisätään 100 ml yksinormaalista suolahappoa ja
- 15 haihdutetaan kuiviin vakiopainoon.

- Sakka otetaan 100 ml:aan asetonitriiliä, natriumkloridi suodatetaan pois ja haihdutetaan. Saadaan 2-syanosykloprop-1-yylikarboksyylihapon *cis/trans*-seos, s.p. 80-90 °C
- 20 (saanto 81 %).

- 3) 1-syano-{2-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]karbonyyli}syklopropanin valmistus erotettuina *cis*- ja *trans*-isomeerimuotoina:

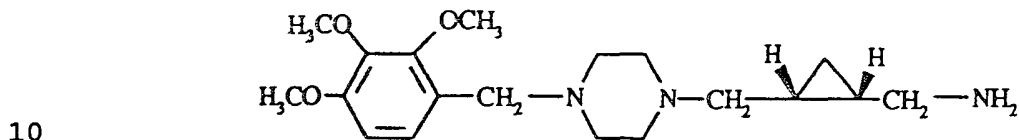
25



- 30 12,2 g (0,075 moolia) karbonyylidi-imidatsolia lisätään yhdellä kertaa suspensioon, jossa on 8,4 g (0,075 moolia) 2-syanosykloprop-1-yylikarboksyylihappoa ja 50 ml CH₂Cl₂:ta, ja seosta sekoitetaan kaksi tuntia sen jälkeen, kun kaasun kehittyminen on päättynyt. 20 g (0,075 moolia)
- 35 4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsiinia 100 ml:ssa CH₂Cl₂:ta kaadetaan tipoittain ja seos jätetään yhdeksi yöksi sekoittumaan. Sitten koko seos kaadetaan pulloon,

pestään vedellä, kuivataan ja haihdutetaan. Pikakromatografisesti saadaan 8,3 g (35 %) *trans*-isomeeriä (öljy) ja 11,1 g (47 %) *cis*-isomeeriä, s.p. 108-110 °C.

- 5 4) *Cis*-2-([4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]metyyli)sykloprop-1-yyliaminiin valmistus



22,7 g (0,3 moolia) boraanidimetyylisulfidia kaadetaan tipoittain liuokseen, jota sekoitetaan ja jossa on 8,3 g edellä saatua *cis*-nitriiliä 315 ml:ssa tetrahydrofurania. Seosta kuumennetaan palautusjäähdyttären 6 tunnin ajan, palautetaan huoneen lämpötilaan, hajotetaan hitaasti 20 ml:lla metanolia ja pidetään palautuslämpötilassa kunnes kaasun kehittyminen on päättynyt. Sitten seos haihdutetaan, otetaan 50 ml:aan metanolia ja 10 ml:aan väkevää suolahappoa ja kuumennetaan palautusjäähdyttären kunnes kaasun kehittyminen on päättynyt.

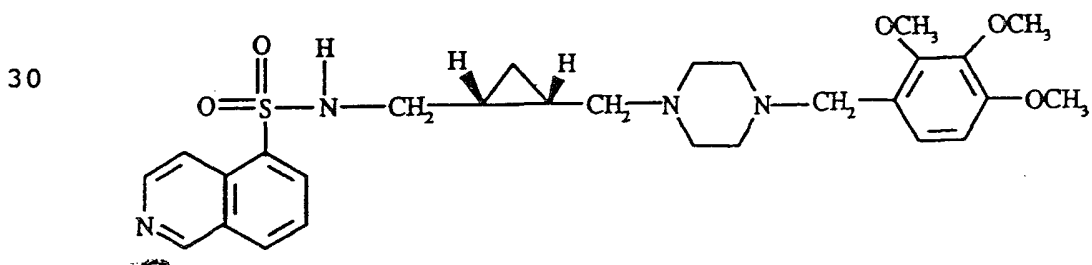
15

20

Sitten metanoli haihdutetaan pois ja vesifaasi tehdään emäksiseksi kylmässä, uutetaan dietyylieetterillä, kuivataan ja haihdutetaan. Saanto 2,3 g (29 %).

25

- 5) *Cis*-yhdisteen valmistus, jolla on kaava:



35 1,1 g (0,004 moolia) (isokinolin-5-yyli)sulfokloridihydrokloridia lisätään annoksittain liuokseen, jossa on 2,3 g (0,008 moolia) *cis*-{2-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli-

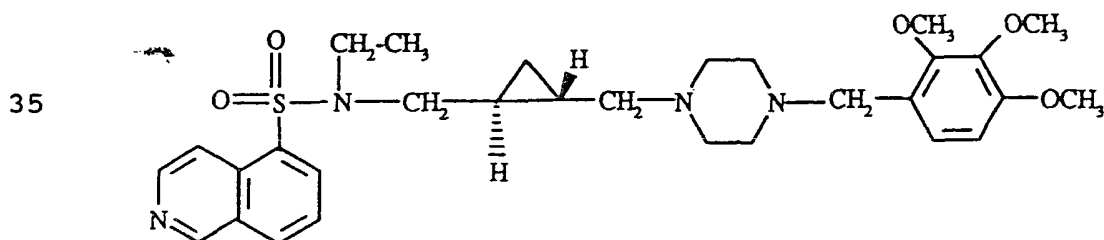
li)piperatsin-1-yyli]metyyli}sykloprop-1-yyli}metyyli-
amiinia ja 0,8 g trietyyliamiinia 25 ml:ssa CH₂Cl₂:ta.
Reagoivat aineet jätetään kosketuksiin toistensa kanssa
yhdeksi yöksi ja siirretään sitten pulloon, pestään yk-
5 sinormaalisella natriumhydroksidiliuoksella, sitten ve-
dellä ja haihdutetaan. Pikakromatografointi käyttäen
eluenttina CH₂Cl₂/CH₃OH-seosta (95:5) tuottaa 1,2 g halut-
tua tuotetta 57 %:n saannolla.

10 6) Esimerkin 7 otsikkoyhdisteen valmistus

1,2 g (0,0024 moolia) kohdassa 5) saatua sulfoniamidia 15
ml:ssa dimetyyliasetamidia käsitellään 0,1 g:lla 60 %:is-
ta natriumhydridiä. Sen jälkeen lisätään 0,4 g etyylijo-
15 didia ja seos jätetään sekoittumaan huoneen lämpötilaan
yöksi. Koko seos laimennetaan vedellä ja uutetaan etyy-
liasetaatilla. Pikakromatografointi käyttäen eluenttina
CH₂Cl₂/CH₃OH-seosta (95:5) tuottaa 1 g haluttua ainetta
(saanto 80 %). Suolanmuodostus tehdään liuottamalla 5
20 ml:aan etyyliasetaatia, johon lisätään 3 ekvivalenttia
yksinormaalista suolahappoa deietyylietterissä. Seos
suodatetaan ja kuivataan ja tuote kiteytetään 5 ml:ssa
metyylisyanidia, jolloin saadaan *cis*-N-etyyli-N-{2-[4-
25 (2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]metyyli}sy-
klopropyyli]metyyli}-(isokinolin-5-yyli)sulfoniamidin tri-
hydrokloridi, s.p. 175 °C.

Esimerkki 8

30 *Trans*-N-etyyli-N-{2-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)pipe-
ratsin-1-yyli]metyyli}syklopropyyli]metyyli}-(isokinolin-5-
yyli)sulfoniamidi



valmistettiin analogisesti esimerkissä 7 kuvatun menetelmän kanssa mutta korvaten kappaleesta 4) lähtien *cis*-yhdiste vastaavalla *trans*-yhdisteellä. Esimerkin 8 otsikokohdisteen trihydrokloridi sulaa 162-165 °C:ssa.

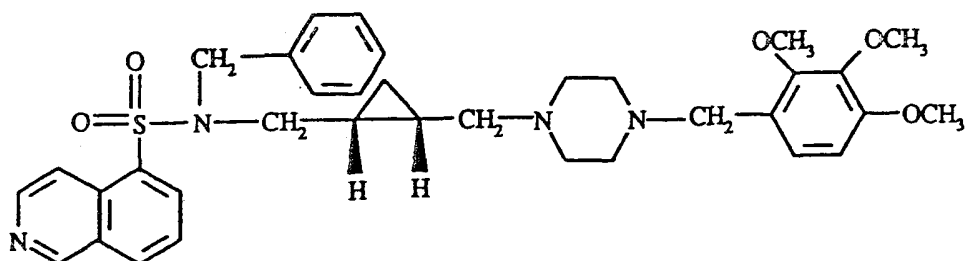
5

Esimerkki 9

Cis-*N*-bentsyyli-*N*-{2-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]syklopropyyli]metyyli}-*N*-[isokinolin-5-yyli]sulfoniamidi

10

15



valmistettiin kuten esimerkissä 7, mutta kappaleen 6) etyylijodidi korvattiin bentsyylibromidilla. Näin saadaan *cis*-*N*-bentsyyli-*N*-{2-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]syklopropyyli]metyyli}-*N*-[isokinolin-5-yyli]sulfonamidin trihydrokloridi, s.p. 202-204 °C.

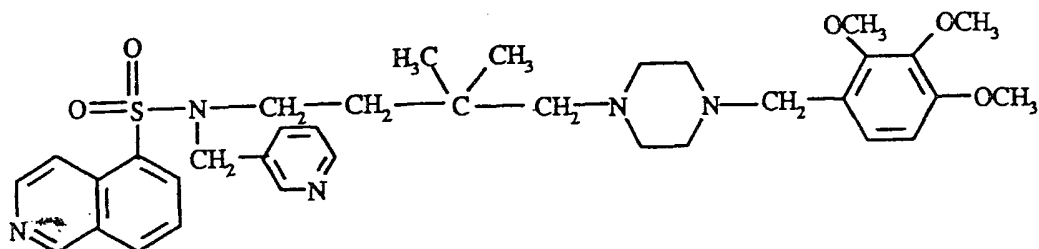
20

Esimerkki 10

25

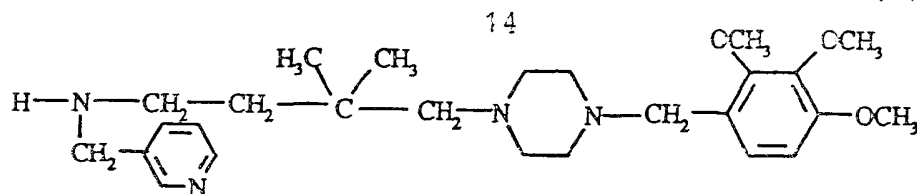
N-(pyrid-3-yyli]metyyli)-*N*-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli]-*N*-[isokinolin-5-yyli]sulfoniamidi:

30



35

1) Valmistetaan amiini, jolla on kaava



7,3 g (0,02 moolia) esimerkin 1 kappaleessa 4) saatua
 5 amiinia kuumennetaan palautuslämpötilaan 80 ml:ssa eta-
 nolia yhdessä 3-pyridiinikarbonialdehydin (2,14 g, 0,02
 moolia) kanssa. Seos palautetaan huoneen lämpötilaan,
 minkä jälkeen lisätään annoksittain 0,8 g natriumborohyd-
 10 ridiä. Sen jälkeen, kun kaasun kehittyminen on lakannut,
 reagoivat aineet jätetään kosketuksiin toistensa kanssa 4
 tunnin ajaksi, sitten laimennetaan vedellä ja uutetaan
 dietyylieetterillä. Kuivataan ja haihdutetaan, minkä jäl-
 keen saadaan 6,5 g öljyä, jonka ominaisuudet vastaavat
 haluttua tuotetta ja joka käytetään sellaisenaan ilman
 15 lisäpuhdistusta.

2) Esimerkin 10 otsikkoyhdisteen valmistus

Edellä saatu amiini kondensoidaan (isokinolin-5-yyli)sul-
 20 fokloridihydrokloridin kanssa esimerkissä 1, kappale 5),
 kuvatun menetelmän mukaisesti, jolloin saadaan esimerkin
 10 otsikkoyhdiste, jonka tetrahydrokloridi sulaa yli 260
 °C:n lämpötilassa.

25 Esimerkit 11-14

Seuraavien esimerkkien yhdisteet valmistettiin edeten
 esimerkissä 10 kuvatun menetelmän mukaisesti.

30 **11)** N-(pyrid-2-yylimetyyli)-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-
 trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}-(iso-
 kinolin-5-yyli)sulfoniamidi, korvamalla esimerkin 10 kap-
 paleen 1) 3-pyridiinikarbonialdehydi 2-pyridiinikar-
 bonialdehydillä. Saatu vapaa emäs sulaa 110-113 °C:ssa.

35

12) N-(pyrid-4-yylimetyyli)-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-
 trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}-(iso-

kinolin-5-yyli)sulfoniamidi, korvaamalla 3-pyridiinikarbonialdehydi esimerkin 10 kappaleessa 1) 4-pyridiinikarbonialdehydillä. Otsikkoyhdisteen tetrametaanisulfonaatti sulaa 143-146 °C:ssa.

5

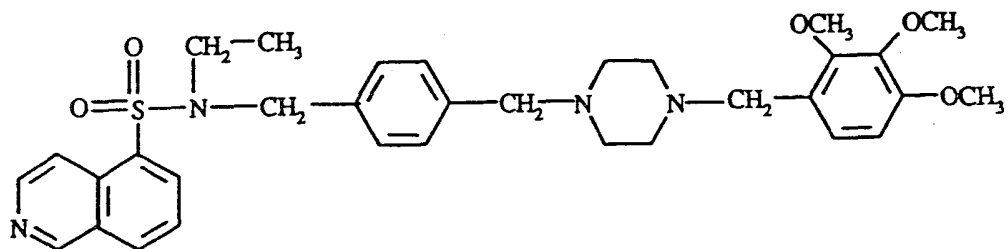
13) N-(tien-2-yylimetyyli)-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}-(isokinolin-5-yyli)sulfoniamidi, korvaamalla esimerkin 10 kappaleen 1) 3-pyridiinikarbonialdehydi 2-tiofeenikarbonialdehydillä. Otsikkoyhdisteen trihydrokloridi sulaa 188-190 °C:ssa.

14) N-(tien-3-yylimetyyli)-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}-(isokinolin-5-yyli)sulfoniamidi, korvaamalla esimerkin 10 kappaleen 1) 3-pyridiinikarbonialdehydi 3-tiofeenikarbonialdehydillä. Otsikkoyhdisteen trihydrokloridi sulaa 158-160 °C:ssa.

20 Esimerkki 15

N-etyyli-N-{{4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]metyyli}bentsyyli}-(isokinolin-5-yyli)sulfoniamidi:

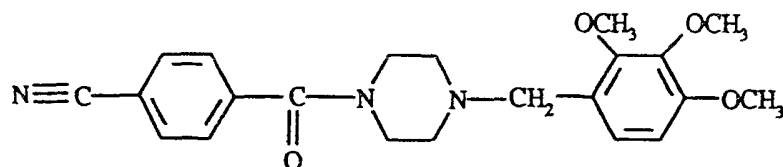
25



30

1) Valmistetaan nitrili, jolla on kaava

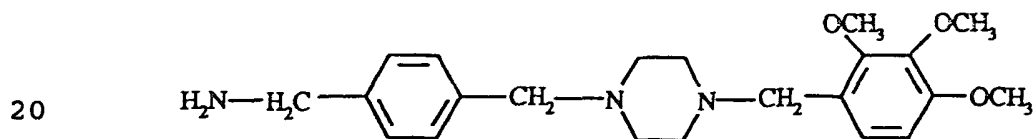
35



27,6 g (0,17 moolia) karbonyylidi-imidatsolia lisätään suspensioon, jossa on 25 g (0,17 moolia) p-syanobentsoehappoa 250 ml:ssa metyleenikloridia.

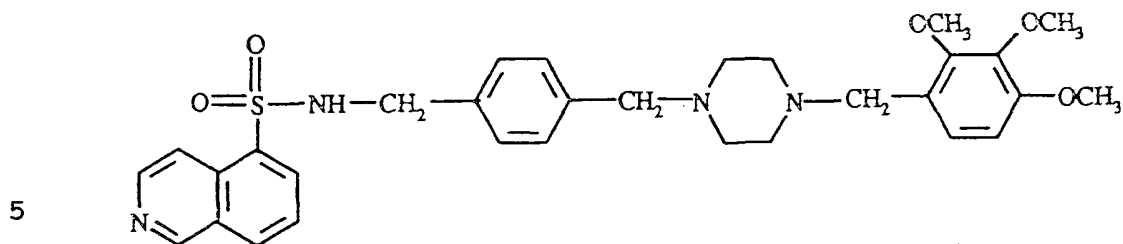
5 Kun kaasun kehittyminen on lakannut, reagoivat aineet jätetään kosketuksiin toistensa kanssa vielä 2 tunniksi. Saatuun liuokseen lisätään sitten nopeasti tipoittain 45,3 g (0,17 moolia) 1-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)pipe-
 10 ratsiinia liuotettuna 100 ml:aan metyleenikloridia. Reaktioseos jätetään huoneen lämpötilaan yöksi, minkä jälkeen se pestään vedellä ja sitten natriumhydroksidiliuoksella ja sitten taas vedellä. Seos kuivataan magnesiumsulfaa-
 15 tilla ja haihdutetaan, jolloin saadaan 65,8 g haluttua tuotetta öljyn muodossa.

2) Valmistetaan amiini, jolla on kaava:



21 ml boraanidimetyylisulfidia lisätään tipoittain noin 15 minuutin aikana 10 g:aan (0,0278 moolia) edellisessä
 25 vaiheessa saatua tuotetta liuotettuna 280 ml:aan tetrahydrofuraania. Seosta keitetään palautusjäähdyttäen yön ajan, annetaan jäähtyä ja solvolysoidaan sitten 43,7 ml:lla metanolia, joka sisältää muutamia tippoja rikki-
 30 happoa. Keitetään palautusjäähdyttäen 4 tuntia, minkä jälkeen seos haihdutetaan kuiviin, otetaan metyleenikloridiin, pestään vedellä ja kuivataan magnesiumsulfaa-
 35 tilla. Haihdutus tuottaa 5 g haluttua tuotetta öljyn muodossa.

3) Yhdisteen valmistus, jolla on kaava:



10 Edellä saatu amiini [15 g (0,014 moolia)] kondensoidaan (isokinolin-5-yyli)sulfokloridihydrokloridin kanssa esimerkiksi 1, kappale 5), kuvatun menetelmän mukaisesti, puhdistetaan kromatografisesti piidioksidipylvällä käyttäen eluenttina $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ -seosta (95:5), jolloin saadaan 2,4 g puhdasta yhdistettä.

4) Otsikkoyhdisteen valmistus

15

2,4 g (0,0041 moolia) edellä saatua yhdistettä käsitellään esimerkissä 1, kappale 6), kuvatun menetelmän mukaisesti. Puhdistetaan pikakromatografisesti piidioksidigeelillä käyttäen eluenttina $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ -seosta (95:5), min-
20 kä jälkeen saadaan 2,1 g vapaata emästä, jota käsitellään 3,5 ml:lla 3,5 N eetteristä suolahappoa, jolloin saadaan otsikkoyhdisteen trihydrokloridi, s.p. 220-222 °C.

Esimerkki 16: FARMAKOLOGINEN TUTKIMUS

25

Keksinnön mukaisten tuotteiden sydäntä suojaava aktiivisuus todettiin

in vitro

30 - toisaalta eristetyissä rotan sydämissä, jotka altistettiin hypoksia- ja uudelleenhapetus-syklille, sekä rotan sydänsoluissa, joissa aiheutettiin kuolio hapenpuutteen vaikutuksesta,

- toisaalta ylimääräisen solunsisäisen kalsiumin mallis-
sa: kalsiumparadoksilla aiheutettu rotan sydänsolujen

35 kuolio,

ja in vivo

- sepelvaltimonahtaumien sioissa aiheuttamien sydänin-

farktikohtausten aikana.

A. *IN VITRO* -TUTKIMUS

5 1. Materiaalit ja menetelmä

1.1. Hypoksia-uudelleenhapetus eristetyissä rotansydämissä

10 Wistar-urosrottien (325-375 g - Charles River -laji),
jotka oli nukutettu intraperitoneaalisesti natriumpento-
barbitaalilla (30 mg/kg i.p.), sydämet poistetaan hepa-
riini-injektion (i.v., 1 ml/kg) jälkeen ja perfusoidaan
nopeasti Langendorffin tekniikan mukaisesti 10 kPa:n (76
15 mmHg) vakiopaineessa ja stimuloidaan sähköisesti taajuu-
della 5 Hz käyttäen platinaelektrodeja. Isovolymetriset
supistumat rekisteröidään polyetylenei-sulkupallolla,
joka on yhdistetty paineanturiin (P23-Gould) ja joka vie-
dään sydämen vasempaan kammioon siten, että saavutetaan
20 noin 1,3 kPa:n (10 mmHg) diastolinen paine.

Käytetyn fysiologisen liuoksen, jonka lämpötila pidetään
37 °C:ssa, koostumus on seuraava (mM): NaCl, 118; KCl,
4,7; KH₂PO₄, 1,2; MgCl₂, 1,2; CaCl₂, 1,3; NaHCO₃, 25; glu-
25 koosi, 8; pH 7,4; 95 % O₂ + 5 % CO₂.

20-30 minuutin stabiloitumisjakson jälkeen sydäntä altis-
tetaan hapenpuutteelle (tehdään 95 % N₂:lla + 5 % CO₂:lla,
PO₂<8,0 kPa (60 mmHg)) 60 minuutin ajan ja sen jälkeen
30 sitä hapetetaan uudelleen 30 minuutin ajan; testattavaa
yhdistettä inkuboidaan etukäteen 15 minuuttia ja hypok-
sian keston ajan.

EX ~~Vivo~~ ^{Vivo}-kokeita varten yhdiste annostetaan oraalisesti (1
35 ml/kg) 3 tuntia ennen kuin eläin tapetaan.

1.2. Tutkimukset rotan sydänsoluilla

Sydänlihassolujen perusviljelmät valmistetaan vastasyntyneiden rottien sydämistä. Sydänsoluja käytetään 4.- 6. päivinä viljelmään laittamisesta.

1.2.1. Hypoksialla aiheutettu rotan sydänsolujen kuolio

Hypoksialle altistettuja soluja inkuboidaan 3 tai 4 tuntia typpiatmosfäärissä painekammiossa, joka pidetään 37 °C:ssa. Soluja käsitellään testimolekyyleillä vain silloin kun ne altistetaan hypoksialle. Hypoksialla aiheutettu solukuolio arvioidaan mittaamalla spektrofotometrisesti 3 tai 4 tunnin inkuboinnin jälkeen supernatanttiin vapautunut laktaattidehydrogenaasin prosenttiosuus soluissa.

1.2.2. Kalsiumparadoksin aiheuttama rotan sydänsolujen kuolio

Ensiksi sydänsoluja inkuboidaan 30 minuutin ajan puskurissa joko ilman kalsiumia tai ilman magnesiumia mutta siten, että mukana on 1 mM EDTA:a. Supernatantin poistamisen jälkeen soluja inkuboidaan 4 tunnin ajan 3,8 mM kalsiumpuskurissa. Soluja käsitellään kahdesti testimolekyyleillä: siirrettäessä EDTA-puskuriin ja sitten siirrettäessä 3,8 mM Ca^{2+} -puskuriin.

2. TULOKSET

30

2.1. Vaikutukset hypoksialle ja uudelleenhapetukselle altistetuissa eristetyissä rotan sydämissä

Taulukko 1 osoittaa, että käytetyillä pitoisuuksilla (10^{-6} M, 3×10^{-7} M tai 5×10^{-7} M) keksinnön mukaiset yhdisteet vähentävät 60 minuutin hypoksian jälkeen kehittyvää supistumaa 20-63 % ja 30 minuutin uudelleenhapetuksen jäl-

keen 35-95 %. Lisäksi ne mahdollistavat paremman sydämen toiminnan palautumisen uudelleenhapetuksen aikana: käsiteltyjen sydänten kammiopaine itse asiassa yltää 48-89,7 %:iin alkuarvostaan, joka niillä oli ennen hypoksiaa, kun taas vertailusydänten kammiopaine pysyy välillä 22,5 - 33,5 % alkuperäisestä arvostaan.

Taulukko 2 osoittaa, että vertailueläinten sydämiin verrattaessa esimerkin 2 yhdisteellä oraalisesti käsiteltyjen rottien sydämet ovat suojattuja hypoksian ja uudelleenhapetuksen aiheuttamilta modifikaatioilta *ex vivo*:

1. 60 minuutin hypoksian ja 30 minuutin uudelleenhapetuksen jälkeen kehittyneen supistuman väheneminen on 50 % ja vastaavasti 37 % verrattuna vertailueläinten sydänten kehittämän supistuman vähenemään;
2. kammiopaineen palautuminen (56 % alkuperäisestä arvosta) on ylivertainen verrattuna vertailueläinten sydänten kammiopaineen palautumiseen (33,5 % alkuperäisestä arvostaan).

Taulukko 1: Keksinnön mukaisten yhdisteiden vaikutukset hypoksialle ja uudelleenhapetukselle altistettujen eristettyjen rotansydänten supistumaan ja toiminnan palautumiseen.

Yhdisteet	Pitoisuus (M)	n	Supistuma (mmHg)		Vasemman kammion paine % alkuperäisestä arvosta ennen hypoksiaa
			Hypoksia 60 min	Uudelleenhapetus 30 min	Uudelleenhapetus 30 min
Vertailu		7	48,0±7,1	29,3±8,0	33,5±8,2
Esim. 1	10 ⁻⁶	8	32,3±1,6	7,8±3,4	72,4±9,4
Vertailu		12	50,2±4,6	27,7±4,6	22,5±6,2
Esim. 10	5x10 ⁻⁷	3	18,7±5,8	1,3±1,3	89,7±11,8
Esim. 15	3x10 ⁻⁷	3	40,0±6,2	18,0±7,2	48,1±4,9

Taulukko 2: Esimerkin 2 yhdisteen vaikutus oraalisesti rotille annettuna hypoksialle ja uudelleenhapetukselle *ex vivo* altistettujen eristettyjen sydänten supistumaan ja toiminnan palautumiseen

Yhdiste	n	Supistuma (mmHg)		Vasemman kammion paine % alkuperäisestä arvostaan ennen hypoksiaa
		Hypoksia 60 min	Uudelleenhapetus 30 min	Uudelleenhapetus 30 min
Vertailu	5	47,6±2,4	19,2±4,8	33,5±8,2
Esim. 2 10 mg/kg PO	7	23,7±6,1	12,0±6,6	56,6±7,6

2.2 Tutkimukset sydänsoluilla

2.2.1. Vaikutukset hypoksialla aiheutettuun rotan sydänsolujen kuolioon

Taulukko 3 osoittaa, että keksinnön mukaiset yhdisteet vähentävät hapenpuutteesta aiheutuvaa kuoliota pitoisuudesta riippuvalla tavalla konsentraatiosta 10^{-6} M alkaen. Maksimaalinen suoja vaihtelee 49,4 %:sta 76,4 %:iin yhdisteistä riippuen.

Taulukko 3: Hypoksialla aiheutettu rotan sydänsolujen kuolio

Pitoisuus (M) Yhdisteet	0	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
Esim. 2	100	56,8	23,6	47,1
Esim. 10	100	83,2	91,6	46,5
Esim. 15	100	75,7	67,7	50,6

Tulokset on ilmoitettu prosentteina suhteessa pelkästään hypoksialla indusoitujen solujen kuolioon (kuolioindeksi

100).

2.2.2. Vaikutukset kalsiumparadoksilla aiheutettuun rotan sydänsolujen kuolioon

5

Taulukko 4 osoittaa, että yhdisteet vähentävät kalsiumparadoksilla aiheutettua kuoliota. Maksimaalinen suoja yltää 70-93 %:iin pitoisuuksilla 10^{-6} M tai 10^{-5} M.

Taulukko 4: Kalsiumparadoksilla aiheutettu rotan sydänsolujen kuolio

Pitoisuus (M) Yhdisteet	0	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}
Esim. 2	100	70,8	30,1	35,3
Esim. 15	100	103,7	15,7	6,8

Tulokset on ilmaistu prosentteina suhteessa pelkästään kalsiumparadoksilla indusoituun solukuolioon (kuoliaindeksi 100).

5

B. IN VIVO -TUTKIMUS

1. Materiaalit ja menetelmät

10 Tutkimus tehdään 3 kuukauden ikäisillä molempia sukupuolia olevilla "Large White"-sioilla, jotka painavat 18-23 kg.

15 Eläimet nukutetaan Zoletil®-nukutusaineella (15 mg/kg i.m.). Nukutustila pidetään yllä natriumtiopentaali-perfuusiolla (6-8 mg/kg/h). Eläinten henkitorveen asetetaan välittömästi hengityspotki ja niitä ventiloidaan ilman ja hapen seoksella. Tehdään rintakehän "T"-leikkaus rintalastan pitkittäistä osaa pitkin ja avataan 4. ja 5. kylkiluun välistä. Sydän suspensoidaan sydänpussiin leikkamalla sydänpussi ja kiinnittämällä se neljään kohtaan

20

rintakehän lihaksiin. Vasemman sepelvaltimon kammioiden välisen haaran etupuolen tasolle sijoitetaan sähkömagneettinen virtausrengas, ja tästä renkaasta välittömästi alavirtaan sijoitetaan pneumaattinen sulkupallo, näiden kahden ollessa siten suunniteltuja, että ne vaikuttavat sepelvaltimon ahtaumaan virtausta säätelemällä. Piettosähköiset kiteet, jotka on kytketty Triton-sonomikrometriin, sijoitetaan vasemman kammioseinän sisäkalvon alle sydämen akselia kohtisuoraan olevan ympärysmitan tason mukaisesti. Kiteiden tarkoitus on rekisteröidä sydämen sisäkalvon sydänfilmiä ahtautuneen sepelvaltimon alueella.

2. KOKEELLINEN OHJELMA

15

Sydänkohtaus saadaan aikaan täyttämällä sulkupallo, jolloin sepelvaltimon virtaus alenee 50-60 %. Tehdään kaksi samanlaista 3 minuutin ahtaumaa, joilla on toistettavat ja reversiibelit vaikutukset ja joiden välillä on 55 minuutin toipumisjakso.

20

Käsittely annetaan 5 minuutin perfuusiona suoneen 10 minuuttia ennen ahtaumaa:

- liuottimen perfuusio ennen ensimmäistä ahtaumaa
- tuotteen tai liuottimen perfuusio ennen toista ahtaumaa

25

3. TUTKITTU PARAMETRI

Sydämen sisäkalvon sydänfilmin modifikaatio iskeemisellä alueella koostuu lisääntymisestä ST-segmentissä millivoltteina (mV) mitattuna.

30

4. TULOKSET

Vertailuryhmässä tehdyt kaksi sepelvaltimonahtaumaa aiheuttavat samat sydänfilimuutokset. Annostettuna intravenoosisti annoksilla 1 tai 3 mg/kg ennen toista sepel-

35

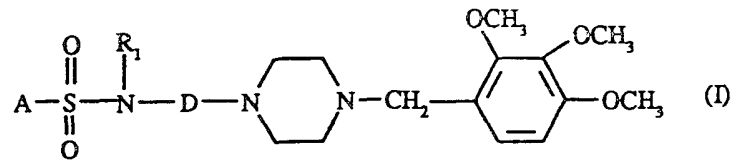
valtimonahtaumaa keksinnön mukaiset yhdisteet vähentävät 48-66 %:illa sydämen sisäkalvon sydänfilmin ST-segmentin lisääystä verrattuna ensimmäisen sepelvaltimoahtauman vaikutukseen.

Yhdisteet	Sydämen sisäkalvon ST-lisäys (mV)	
	Ahtauma 1	Ahtauma 2
Vertailu	1,9	1,9
Esim. 2 1mg/kg	1,5	0,6
Vertailu	2,8	2,9
Esim. 10 3mg/kg	2,5	1,3
Esim. 15 3mg/kg	1,5	0,5

Patenttivaatimukset

1. Kaavan I mukaiset substituoidut sulfoniamidit

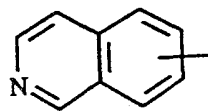
5



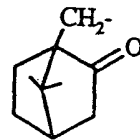
joissa

10 - A on jokin tähteistä

15



tai



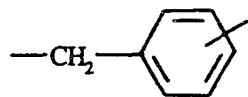
- R₁ on suoraketjuinen 1-7 hiiliatomia sisältävä alkyyli-
litähde, joka mahdollisesti on substituoitu yh-
dellä tai useammalla fenyyli-, pyridyyli- tai
tienyyli- tai -teellä,

20

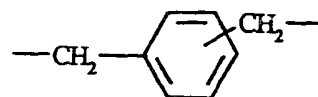
- D on a) tyydyttynyt, lineaarinen 2-6 hiiliatomia si-
sältävä hiilivetyketju, jonka katkaisee syklo-
propanitähde tai joka on substituoitu gem-dime-
tyyllillä, tai

25

b) kaavan



tai



30

mukainen ryhmä,

ja niiden sopivien happojen kanssa muodostetut fysiologi-
sesti siedettävät additiosuolat.

35

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on N-
bentsyyli-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyy-

li)piperatsin-1-yyli]butyyli)-(isokinolin-5-yyli)sulfoniamidi ja sen fumaraatti.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on N-
5 (pyrid-3-yyli]metyyli)-N-{3,3-dimetyyli-4-[4-(2,3,4-trime-
toksibentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli)-(isokinolin-5-
yyli)sulfoniamidi ja sen tetrahydrokloridi.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on N-
10 etyyli-N-{{4-[4-(2,3,4-trimetoksibentsyyli)piperatsin-1-
yyli]metyyli}bentsyyli)-(isokinolin-5-yyli)sulfoniamidi
ja sen trihydrokloridi.

5. Jonkin patenttivaatimuksista 1-4 mukaisen yhdisteen
15 käyttö valmistettaessa farmaseuttisia valmisteita.

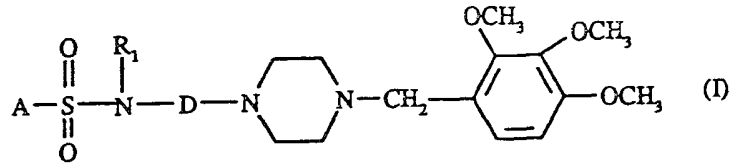
6. Farmaseuttiset koostumukset, joita voidaan käyttää
hoidettaessa sydänkohtauksiin liittyviä patologisia tilo-
ja, aivoverisuonivauriota ja kroonisiin aivoverenkierron
20 häiriöihin liittyvien vajavuuksien oireita ja jotka kä-
sittävät aktiiviaineena ainakin yhden jonkin patenttiva-
timuksista 1-4 mukaisista yhdisteistä yksin tai yhdessä
yhden tai useamman sopivan farmaseuttisen täyteaineen
kanssa.

25

Patentkrav

1. Substituerade sulfonamider med formeln I

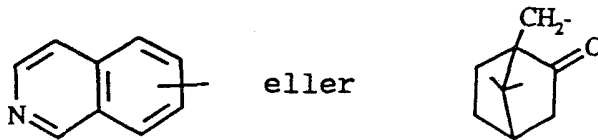
5



vari

10 - A är en av resterna

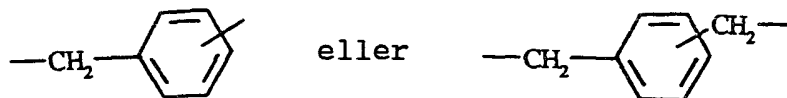
15



- R₁ är en 1-7 kolatomer innehållande alkylrest med en rak kedja, vilken rest eventuellt är substituerad med en eller flera fenyl-, pyridyl- eller tienylrester,
- D är a) en mättad, lineär 2-6 kolatomer innehållande kolvätekedja, vilken bryts av en cyklopropanrest eller vilken är substituerad med gem-dimetyl, eller
- b) en grupp med formeln

25

30



och deras fysiologiskt tolerabla additionssalter, som bildaas med lämpliga syror.

35

2. Förening enligt patentkravet 1, vilken är N-bensyl-N-{3,3-dimetyl-4-[4-(2,3,4-trimetoxibensyl)piperazin-1-

yl]butyl}-(isokinolin-5-yl)sulfonamid och dess fumarat.

3. Förening enligt patentkravet 1, vilken är N-(pyrid-3-ylmetyl)-N-{3,3-dimetyl-4-[4-(2,3,4-trimetroxibensyl)-piperazin-1-yl]butyl}-(isokinolin-5-yl)sulfonamid och dess tetrahydroklorid.

4. Förening enligt patentkravet 1, vilken är N-etyl-N-{{4-[4-(2,3,4-trimetroxibensyl)piperazin-1-yl]metyl}-bensyl}-(isokinolin-5-yl)sulfonamid och dess trihydroklorid.

5. Användning av en förening enligt något av patentkraven 1-4 vid framställning av farmaceutiska preparat.

15

6. Farmaceutiska sammansättningar, som kan användas vid behandling av patologiska tillstånd som hänför sig till hjärtattacker, cerebrovaskulärskador och symptom av brister som hänför sig till kroniska cirkulationsstörningar i hjärnan och vilka omfattar som aktivt ämne åtminstone en av föreningarna enligt något av patentkraven 1-4 ensam eller tillsammans med ett eller flera lämpliga farmaceutiska fyllmedel.