

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

290 968

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1994 - 2017

(22) Přihlášeno: 23.02.1993

(30) Právo přednosti:
24.02.1992 US 1992/840361
09.02.1993 US 1993/15005

(40) Zveřejněno: 12.04.1995

(Věstník č. 4/1995)

(47) Uděleno: 23.09.2002

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 13.11.2002
(Věstník č. 11/2002)

(86) PCT číslo: PCT/US93/01672

(87) PCT číslo zveřejnění: WO 93/017008

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl. ⁷:

A 61 K 31/381
A 61 P 29/00

(73) Majitel patentu:

WARNER-LAMBERT COMPANY, Ann Arbor, MI,
US;

(72) Původce vynálezu:

Boschelli Diane Harris, Plymouth, MI, US;
Connor David Thomas, Ann Arbor, MI, US;
Wright Clifford Dean, Thousand Oaks, CA, US;

(74) Zástupce:

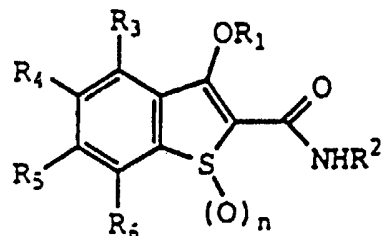
Čermák Karel JUDr., Národní 32, Praha 1, 11000;

(54) Název vynálezu:

Léčivo pro léčení zánětlivých chorob

(57) Anotace:

Použití 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidů obecného vzorce I, kde R₁ představuje alkylskupinu, fenylyskupinu nebo benzylskupinu; R₂ představuje atom vodíku, alkylskupinu, fenylyskupinu, benzylskupinu, zbytek thiofenu, skupinu vzorce (CH₂)_mQ nebo fenylyskupinu, benzylskupinu nebo zbytek thiofenu, přičemž poslední tři skupiny jsou substituovány zbytkem (CH₂)_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 CO₂R₇, kde R₇ představuje atom vodíku nebo alkylskupinu; a R₃, R₄, R₅ a R₆ nezávisle představuje vždy atom vodíku, hydroxyskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, alkylskupinu nebo alkoxyskupinu; a jejich farmaceuticky vhodných solí s kyselinami pro výrobu léčiv pro inhibici adheze leukocytů ke stimulovaným buňkám endothelu, a tedy pro léčbu zánětlivých chorob.



(I)

CZ 290968 B6

Léčivo pro léčení zánětlivých chorob

Oblast techniky

5

Vynález se týká použití určitých 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidů pro výrobu léčiv pro prevenci adheze leukocytů k buňkám endothelu, a tedy pro léčení zánětlivých chorob.

10

Dosavadní stav techniky

Adheze leukocytů k vaskulárnímu endothelu je integrální součástí patogeneze zánětů. Proces adheze předchází transendotheliální migraci leukocytů do obklopující tkáně a následnému poškození tkáně. O sloučeninách, které jsou schopny inhibovat tuto počáteční adhezivní integraci, se předpokládá, že by mohly být účinné při léčení zánětlivých chorob, jako je revmatoidní artritida, astma a psoriasis. Jako příklady jiných indikací, na něž se však vynález neomezuje, je možno uvést syndrom respiračních obtíží u dospělých, reperfúzní poškození, ischemii, ulcerativní kolitis, vaskulitidy, aterosklerózu, zánětlivou chorobu střev a metastázy 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, Transplantation 1989; 48:727, Biochemical Pharm. 1990; 40 (8):1683). Adhezivní molekula 1 v endothelu pro leukocyty (ELAM-1 nebo E-selektin) je členem selektinové skupiny glykoproteinů, které povzbuzují vzájemnou adhezi 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 nekrózy nádorů (TNF- α) nebo jiné mediátory zánětu, jako je lipopolysacharid (LPS) (Proc. Nat. Acad. Sci. 1987; 84:9 238).

Molekula 1 pro intercelulární adhezi (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; 82:1 746 aj. Immun. 1986; 137:1 893, Blood 1991; 78:2 721).

3-Alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy podle tohoto vynálezu jsou schopny při stanovení in vitro bránit 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 cyklooxygenázy a 5-lipoxygenázy. Specifické sloučeniny podle tohoto vynálezu v podstatné míře neinhibují izolovanou 5-lipoxygenázu.

V US patentu č. 4 761 424 jsou popsány určité benzo[b]thiofen-2-karboxamidy vykazující inhibiční účinnost na 5-lipoxygenázu.

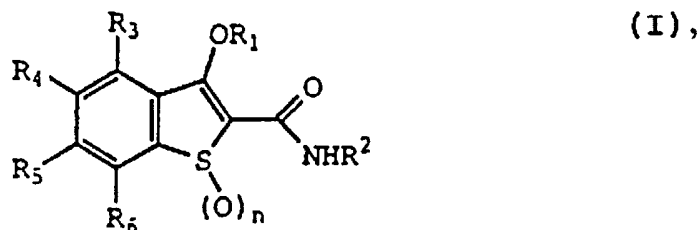
50

Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu je použití určitých dále definovaných 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidů a jejich farmaceuticky vhodných solí pro výrobu léčiva

55

pro inhibici adheze leukocytů ke stimulovaným buňkám lidského endotelu, a tedy pro léčení zánětlivých chorob. Sloučeniny podle vynálezu mají strukturu odpovídající obecnému vzorci I



kde

5

R_1 představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenylskupinu nebo benzylskupinu;

10

R_2 představuje atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, 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;

15

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 alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku; a

20

R_3 , R_4 , R_5 a R_6 nezávisle představuje vždy atom vodíku, hydroxyskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkoxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku;

a do jejich rozsahu také spadají jejich farmaceuticky vhodné soli s kyselinami.

V přednostním provedení jsou předmětem vynálezu následující sloučeniny

25

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

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

30

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;

35

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

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

40

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;

45

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;
 5 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;
 10 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;
 15 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;
 20 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;
 25 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;
 30 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;
 35 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(fenylmethyl)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
 40 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-dioxid;
 3-(1,1-diemthylethoxy)-5-methoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;
 6-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
 45 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;
 50 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-pyridin-
 55 karboxylát;

- 6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylová kyselina;
- 5 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-thiazolactová kyselina;
- 10 3-methoxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;
- 15 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;
- 20 methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzen-sulfonát;
- N-[1-(hydroxymethyl)-1-methylethyl]-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- 25 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;
- 30 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;
- 35 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-fenylbenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
- 40 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
- 3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid
- 45 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 5-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- 5-methyl-3-(1-methylethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- 3-(1-methylethoxy)-5-nitrobenzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- 10 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;
- 15 5-methoxy-3-(fenoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- 5-hydroxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- 20 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
- 25 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
- 30 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
- 35 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;
- 40 5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- N-ethyl-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- 45 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;
- 50 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-oxid;
- 3-(1,1-dimethylethoxy)-5-methoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- 55 6-chlor-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;

- 5-amino-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- 5 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;
- 10 ethyl-6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridin-karboxylát;
- 6-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridinkarboxylová kyselina;
- 15 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-thiazolactová kyselina;
- 20 3-methoxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina;
- 25 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;
- 30 methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzen-sulfonát;
- N-[1-(hydroxymethyl)-1-methylethyl]-5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
- 35 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;
- 40 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;
- 45 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;
- 50 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 „alkylskupina s 1 až 4 atomy uhlíku“ a „alkoxyskupina s 1 až 4 atomy uhlíku“ se rozumí přímá nebo rozvětvená alkylskupina nebo alkoxyskupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku. Jako příklady nižších alkylskupin je možno uvést methylskupinu, ethylskupinu, propylskupinu, izopropylskupinu (která bývá někdy též označována názvem (methyl)ethylskupina) a terc.butylskupinu (která bývá někdy též označována názvem 1,1-(dimethyl)ethylskupina). Jako příklady nižších alkoxyskupin je možno uvést methoxyskupinu, ethoxyskupinu, izopropoxyskupinu (která někdy bývá označována též názvem 1-(methyl)ethoxyskupina) 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, iziobutyráty, 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-methylglykaminu (viz například Berge, S. M. et al. „Pharmaceutical Salts“, Journal of Pharmaceutical Science 66, str. 1 až 19 (1977)).

Adiční soli s kyselinami odvozené od těchto bazických sloučenin se připravují obvyklým způsobem, tj. tak, že se sloučenina ve formě volné báze uvede do styku s dostatečným množstvím požadované kyseliny, aby vznikla sůl. Volnou bázi lze regenerovat ze solí 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 vznikající s anorganickými nebo organickými bázemi, jako například bázemi odvozenými od kovů nebo aminy, jako například s bázemi odvozenými od alkalických kovů a kovů alkalických zemin, jako jsou například hydroxidy, nebo organickými aminy. Jaké 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'-dibenzylethylendiamin, chlorprokain, cholin, diethanolamin, dicyklohexylamin, ethylen-diamin, N-methylglukamin 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 dostatečným množstvím požadované báze, aby vznikla sůl. Volnou kyselinu lze regenerovat ze solí 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.

5

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.

- 10 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
- 15 postižení některou z výše uvedených chorob, leží v rozmezí od 0,1 µg 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
- 20 do 100 µg sloučeniny na kg tělesné hmotnosti. Obvykle je tato dávka asi 0,1 µg/kg.

- V případě orálního podávání při léčení nebo profylaxi arthritidy nebo zánětů obecně, ať již vznikly z jakéhokoli důvodu, může být vhodná dávka sloučeniny obecného vzorce I nebo její fyziologicky vhodné soli stejná, jako jsou dávky uvedené v předchozím odstavci, ale přednostně
- 25 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
- 30 bude schopno zabránit postupu choroby, na niž 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
- 35 podává ve formě farmaceutického přípravku obsahujícího sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodnou adiční sůl s kyselinou nebo sůl sází 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
- 40 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
- 45 (včetně subkutánního, intramuskulárního a intravenózního), intraartikulární, topické, nosální 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
- 50 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.

55

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 mít také podobu bolu, ochucené hmoty pro veterinární aplikaci, nebo pasty.

Užitečnost sloučenin podle vynálezu jako inhibitorů adheze leukocytů k vaskulárnímu endotelu, inhibitorů enzymu 5-lipoxygenázy a enzymu cyklooxygenázy, 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 adheze humánních neutrofilů k buňkám endotelu humánní vény stimulovaným $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\alpha$ a LPS 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karbox-amidy

Izolace neutrofilů

Neutrofilů se izolují z žilní krve, ošetřené antikoagulantem, 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 endotelu

Buňky endotelu humánní umbilikální vény z druhého pasážování (HUVEC) (Clonetics, San Diego, Kalifornie, USA) se neočkují 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 $\mu\text{g/ml}$ hydrokortisonu a 0,4 % extraktu z hovězího mozku (Clonetics) v atmosféře 5% oxidu uhličitého při teplotě 37 °C.

Adheze neutrofilů

Neutrofilů (30×10^6) se značí po dobu 60 minut při 37 °C pomocí 100 μCi $\text{Na}^{51}\text{CrO}_4$ (ICN Biomedicals, Costa Mesa, Kalifornie, USA) v 2,0 ml Hankova vyváženého solného roztoku bez vápenatých a hořčnatých 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 nekrózy nádorů ($\text{TNF}\alpha$) (Genzyme, Bannbridge, Massachusetts, USA), interleukinem ($\text{IL-1}\alpha$) (Genzyme) nebo lipopolysacharidem z E. coli 0111:B4 (LPS) (Sigma) za přítomnosti nebo nepřítomnosti léčiva se zahájí 4 hodiny před přidáním 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 adhezi buněk endotelu 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 nedoplněného média, aby se odstranila stimulační látka a/nebo léčivo. Neutrofilů (5×10^5) se potom přidají k HUVEC v 0,5 ml nedoplněného média a 30 minut inkubují při 37 °C. Neutrofilů, které nepřilnou, se odstraní odsátím. Po přidání promývacím stupni se adhezané neutrofilů lyzují v 0,5 ml 1N roztoku hydroxidu amonného přes noc při 37 °C. Lyzáty se shromáždí a radioaktivita v každé jamce se stanoví spektroskopicky za použití záření gama.

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

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

Buněčná kultura

10

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, 15 1 $\mu\text{g/ml}$ 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

20

Ze zkoušené sloučeniny se vyrobí 10 ml zásobního roztoku o koncentraci 1,0 mM. 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 66,6 μM . Solubilizace a ředění se provádějí v polystyrénových nádobách.

25

Izolace humánních neutrofilů

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

30

Stimulace HUVEC

Vyrobí se roztok rekombinantního humánního faktoru α nekrozy 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 pufrovaném 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 $^\circ\text{C}$ pomocí 200 U/ml TNF za přítomnosti zkoušené sloučeniny v 33,3 μM koncentraci. To se provede přidávkou 0,1 ml roztoku TNF o koncentraci 400 U/ml a 0,1 ml roztoku zkoušené sloučeniny o koncentraci 66,6 μM . Přidávání těchto látek se provádí pomalu, aby se neporušila monovrstva buněk HUVEC. Každá sloučenina se zkouší v 6 jamkách. V každé misce je také přítomná 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.

45

Značení neutrofilů

Jednu hodinu před přidáním neutrofilů k HUVEC se neutrofilů ($5 \times 10^6/\text{ml}$) 30 minut značí při 37 $^\circ\text{C}$ s 5 μM kalceinem – AM (Molecular Probes, Eugene, Oregon, USA) v Hankově vyváženém solném roztoku doplněném 0,45 % BSA. Zásobní roztok kalceinu má koncentraci 5 mM 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.

50

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

Stanovení relativní fluorescence

elativní 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 adhezi a

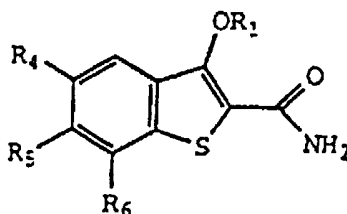
N.A. představuje nestimulovanou adhezi.

Sloučeniny vykazují inhibiční účinnost 50% nebo vyšší při 33,3 μM koncentraci se znovu zkoušejí při 33,3 μM, 10,0 μM, 3,3 μM a 1,0 μM koncentraci, za účelem stanovení hodnot IC_{50} . 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.

Tabulka 1

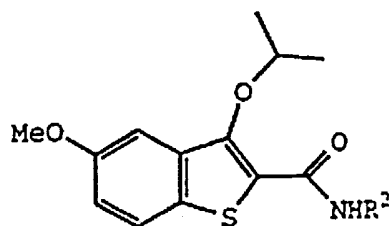
Inhibice adheze pomocí alkoxybenzo[b]thiofen-2-primárních karboxamidů



Příklad číslo	R ₁	R ₄	R ₅	R ₆	Adheze (inhibice v % při 100 μM nebo IC ₅₀ , v μM)
1	i-Pr	OMe	H	H	3,8
2	i-Pr	H	H	H	(60 %)
3	l-Pr	Cl	H	H	(72 %)
4	i-Pr	Me	H	H	(61 %)
5	i-Pr	NO ₂	H	H	(40 %)
6	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-Pr	OH	H	H	1,2
11	i-Pr	H	OMe	H	(24 %)
30	t-Bu	OMe	H	H	(100 %)
31	i-Pr	H	Cl	H	(26 %)
32	i-Pr	NH ₂	H	H	(49 %)

Tabulka 2

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



Příklad číslo	R ²	Adheze (inhibice V % při 100 μM nebo IC ₅₀ , μM)
1	H	3,8 ^b
12	Ph-p-COOH	50 ^b
13	Ph-m-COOH	(28 %)
14	Ph-o-COOEt	(32 %)
14	Ph-o-COOH	(35 %)
16	CH ₂ Ph-p-COOH	(47 %)
17	Ph-p-CH ₂ COOMe	(27 %)
18	Ph-p-CH ₂ COOH	(32 %)
19	Ph-m-CH ₂ COOMe	(45 %)
20	Ph-m-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-Pr	(100 %)
36	2-pyridyl-4-CO ₂ Et	(26 %) ^a
37	2-pyridyl-4-CO ₂ H	(8 %) ^a
38	2-thizolyl-4-CH ₂ CO ₂ Et	(72 %) ^a

Tabulka 2 - pokračování

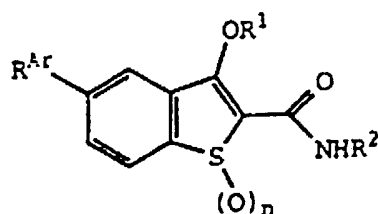
Příklad číslo	R ²	Adheze (inhibice V % při 100 μM nebo IC ₅₀ , μM)
39	2-thizolyl-4-CH ₂ CO ₂ H	(26 %) ^a
40	Ph-o-Me-p-CO ₂ H	(34 %) ^a
41	Ph-m-OH-p-CO ₂ Me	(32 %) ^b
42	Ph-m-OH-p-CO ₂ H	34
43	Ph-p-SO ₂ Me	(67 %) ^b
44	C(CH ₃) ₂ CH ₂ OH	(20 %) ^b

a- sloučenina zkoušena v koncentraci 33,3 μM

5 b- IC₅₀ (μM)

Tabulka 3

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



Příklad číslo	n	R ¹	R ²	R ^{Ar}	Adheze (inhibice v % při 100 μM nebo IC ₅₀ , v 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 %)

15 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

20 Izolace lymfocytů

25 Heparinizuje se periferní krev získaná od normálních humánních 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 promyje 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.

5 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), pufrům 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 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 µl alikvotů tak, že parametry výsledné kultury jsou: 2 x 10⁶ respondujících buněk/ml (4 x 10⁵ 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 pulzně ošetřují zkoušenými sloučeninami. Kultury se pulzně ošetřují 0,5 µCi ³H-thymidinu posledních 6 hodin šestidenní inkubační periody. Potom se kultury sklídí a spočítají, jak je to uvedeno výše, za použití automatického zařízení pro sklizení 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.

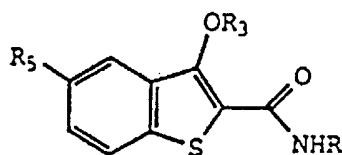
Způsob stanovení inhibice edemu polštářku chodidla vyvolaného organismem Mycobacterium pomocí 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxidu

Mycobacterium butyricum (5 mg/ml) se upraví ultrazvukovým zpracováním v parařinovém 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 tlapky lehce anestezizované krysy. Otok zadní tlapky se stanoví rtuťovou plethysmografií v den 1, 2 a 3. Skupiny krys se ošetřují zkoušenými sloučeninami)suspendovanými v 0,5% hydroxypropylmethylcelulóze s přísadou 0,2 % smáčedla Tween 80) nebo vehikulem jednu hodinu před vstříknutím 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 cyklooxygenázy a 5-lipoxygenázy některými ze sloučenin podle vynálezu je uvedena v tabulce 4. Použité zkušební metody jsou popsány dále.

Tabulka 4

Inhibice 5-lipoxygenázy a cyklooxygenázy pomocí 3-alkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidů



Příklad číslo	R	R-3	R-5	ARBL/ARBC IC ₅₀ (μM) nebo inhibice v % při 10 μM	5-LO (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-lipoxygenázy a cyklooxygenázy – celé buňky ARBL/ARBC

Materiály

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

Souprava pro radioimunoesej (RIA) LTB₄ se získá od firmy Amersham (Arlington Heights, IL, USA) a souprava pro radioimunoesej PGF_{2α} 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 pufovaným 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 x 10⁶ buněk/ml. Buňky se inkubují buď se zkušnou 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 (5μM) 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 μl) se analyzují na LTB₄ PGF_{2α} za použití souprav pro radioimunoesej od dodavatele.

Protokol pro stanovení inhibice 5-lipoxygenázy

Sloučeniny se hodnotí jakožto inhibitory aktivity 5-lipoxygenázy obsažené v supernatantu získaném centrifugací při 20 000 x g pěstovaných krysích buněk s basofilní leukémií (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-lipoxygenázy přidavkem 3,3 nmol [¹⁴C]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 přídavné inkubace při 37 °C se reakce ukončí přidavkem
 5 3 objemů methanolu obsahujícího 100 µg trifenyfosfinu. Potom se vzorky analyzují HPLC s radiometrickou detekcí na reakční produkty 5-lipoxygenázy.

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
 10 vehikulem. Hodnoty IC₅₀ (50% inhibiční koncentrace) se vypočítají analýzou lineární části křivky závislosti inhibice tvorby 5-HETE v procentech proti dekadickému logaritmu koncentrace inhibitoru.

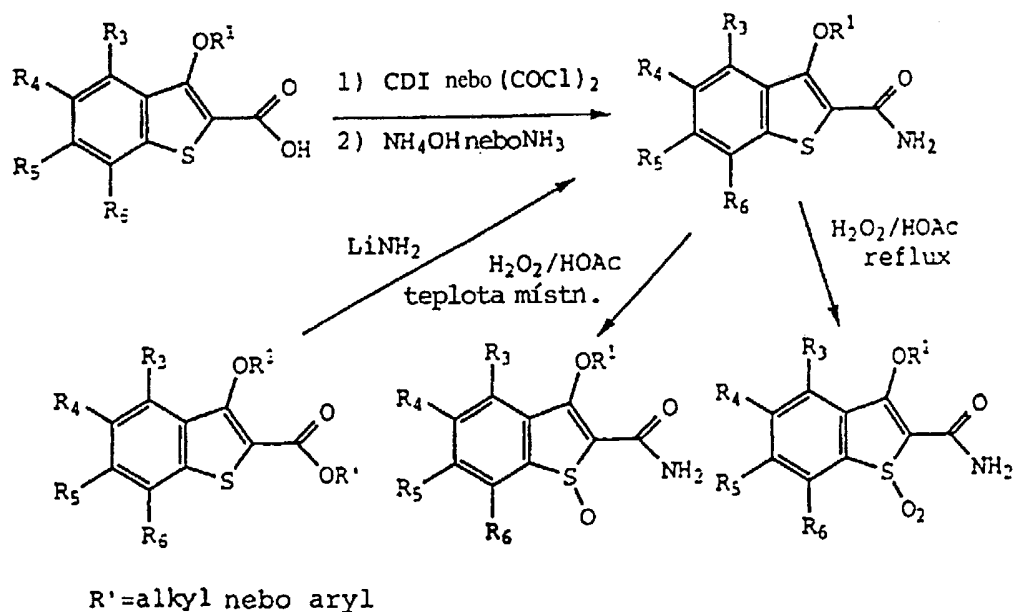
Sloučeniny podle vynálezu, v nichž R₂ představuje atom vodíku, se přednostně připravují
 15 z odpovídajících benzo[b]thiofen-2-karboxylových kyselin. Výchozí karboxylové kyseliny je možno vyrobit způsobem popsáným v US patentu č. 4 703 503. Tato citace je zde uvedena náhradou za přenesení celého jejího obsahu do popisu tohoto vynálezu. Jak je to znázorněno ve schématu 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
 20 tetrahydrofuran nebo acetonitril, za vzniku odpovídající imidazolinové 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
 25 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 lithiiumamidem v kapalném amoniaku za přítomnosti pomocného
 30 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.
 35 Pokud se pracuje při zvýšené teplotě, nebo pokus 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 schématu 1 a jejich obměnách jsou
 40 známé nebo je možno je stanovit na základě analogie s reakcemi, které jsou odborníkům v tomto oboru známy.

Schéma 1

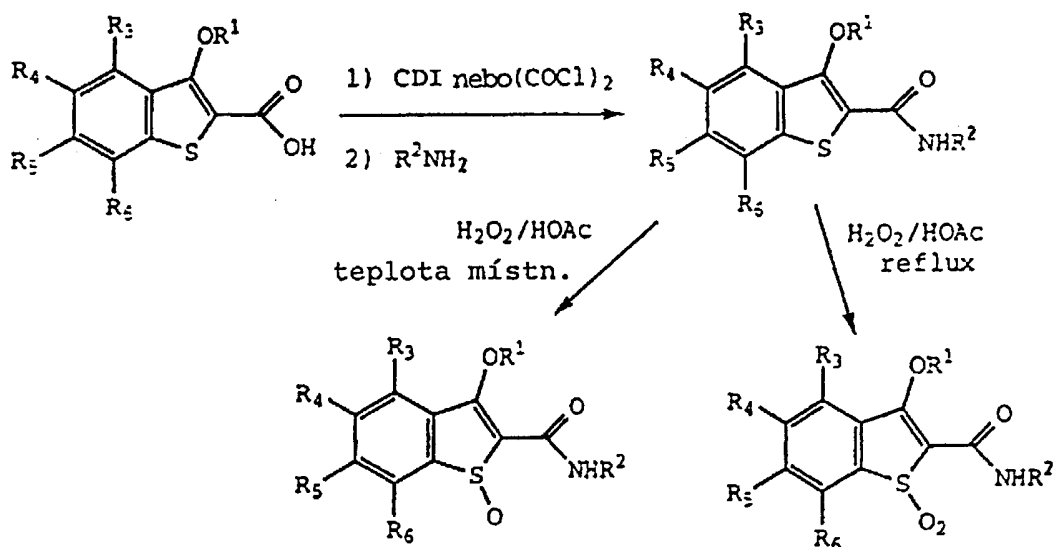


Jak je to znázorněno ve schématu 2, podobného postupu se používá pro výrobu sekundárních benzo[b]thiopen-2-karboxamidů. Místo s vodným hydroxidem amonným se intermediární imidazolid nebo chlorid kyseliny nechá reagovat s primárním aminem, popřípadě za přítomnosti báze, jako je triethylamin nebo 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en (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.

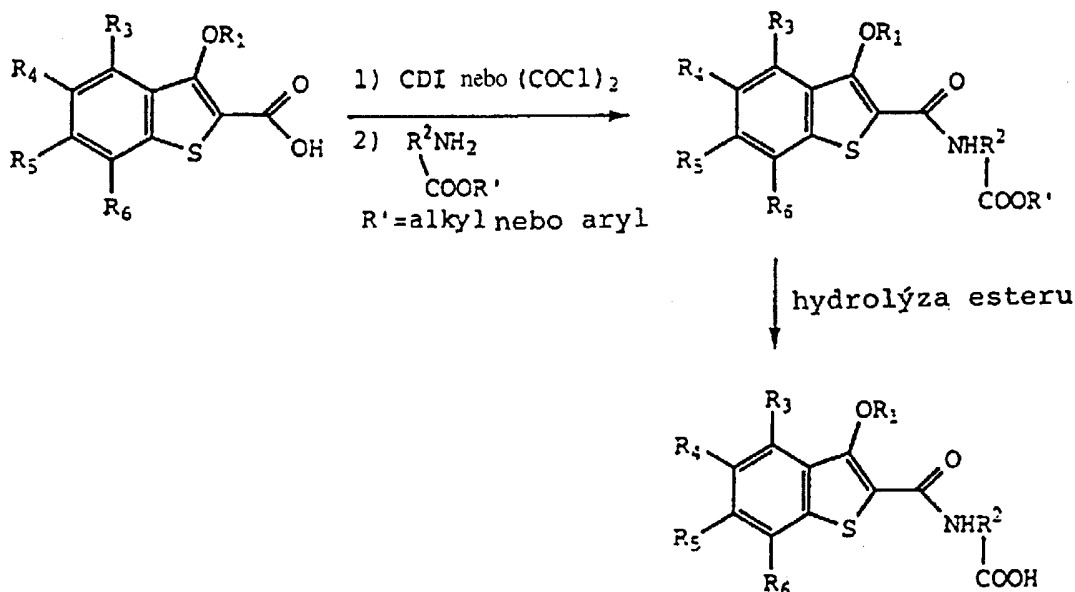
Podmínky, kterých se používá při reakcích znázorněných ve schématu 2 a jejich obměnách jsou známe nebo je možno je stanovit na základě analogie s reakcemi, které jsou odborníkům v tomto oboru známy.

Schéma 2



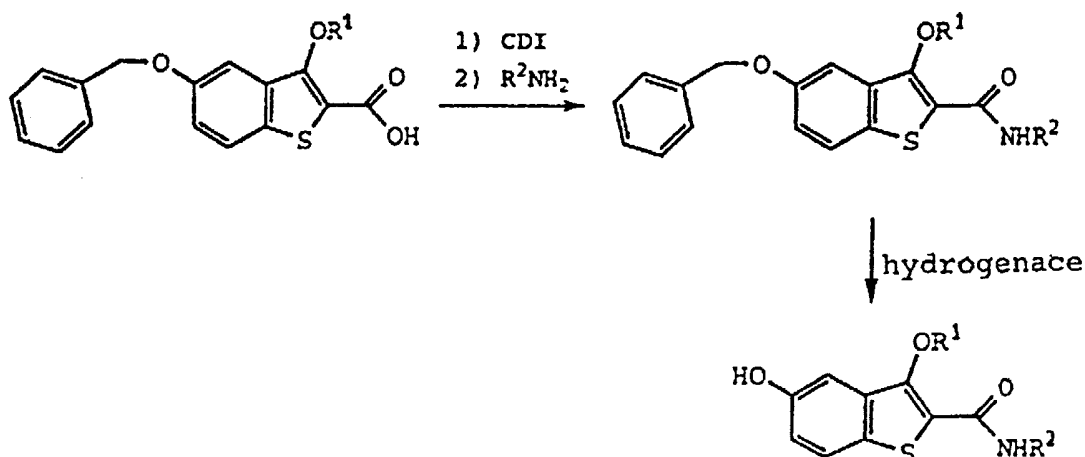
- 5 Ve schématu 3 je znázorněna výroba sekundárních benzo[b]thiofen-2-karboxamidů obsahujících funkční skupinu karboxylové kyseliny. Tyto sloučeniny se vyrábějí přes intermediární ester. Podobně jako je tomu ve schématu 2, se benzo[b]thiofen-2-karboxylová kyselina aktivuje a potom nechá reagovat s aminem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

10 Schéma 3



- 15 Sloučeniny, v nichž jeden nebo více ze symbolů R_3 až R_6 představuje hydroxyskupinu, se připravují přes meziprodukt obsahující vhodnou chránicí skupinu hydroxyskupiny. Jako příklad je ve schématu 4 znázorněna výroba 5-hydroxybenzo[b]thiofen-2-karboxymidů. Amidy se vyrábějí z odpovídajících kyselin obsahujících hydroxyskupinu chráněnou ve formě benzyl-etheru. Benzylová skupina se potom odštěpí, přednostně hydrogenací. Může se též použít jiných chránicích skupin, jako jsou silylskupiny, a ty se mohou odštěpovat standardními metodami.

20 Schéma 4



- Ve schématech 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.
- 10 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 ethanol. Když se použije oxidu seleničitého a peroxidu vodíku v nadbytku, získají se odpovídající benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-dioxidy.

15

Schéma 5

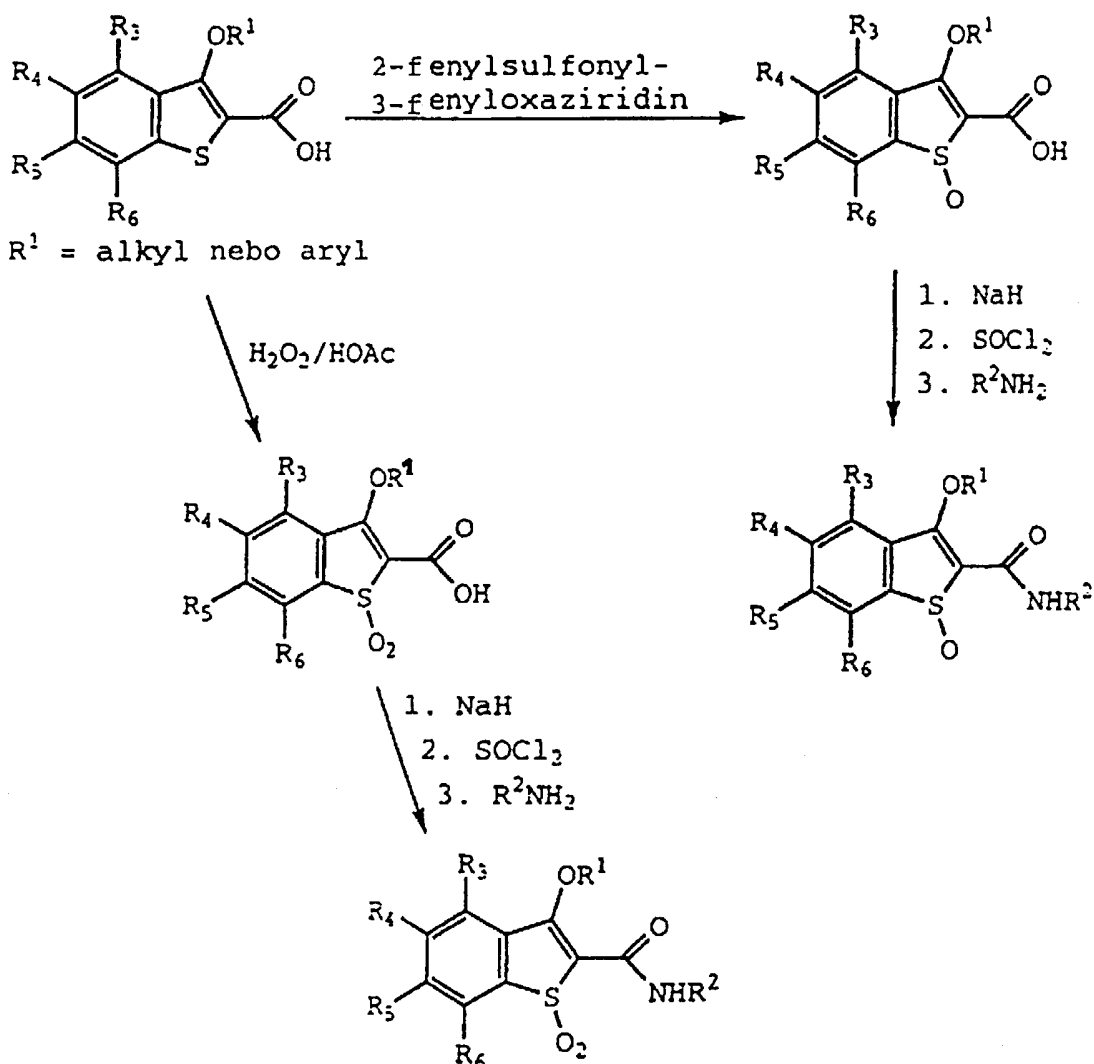
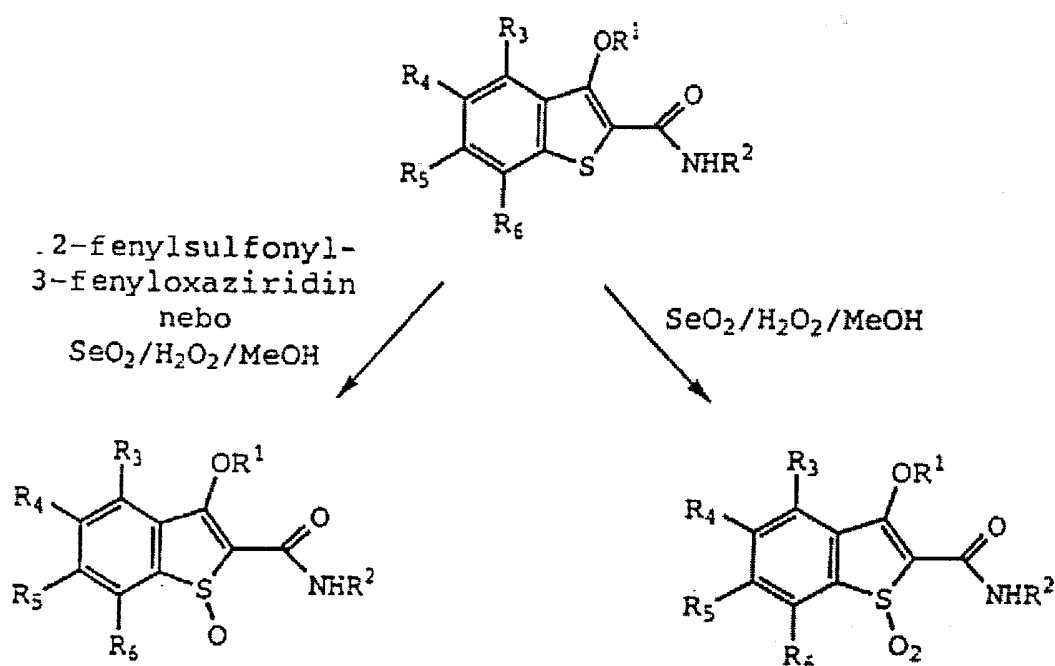


Schéma 6



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

5

Příklady provedení vynálezu

10 Příklad 1

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

15

Příklad 2

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

20 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.

25 K 1 mmol vhodné substituované benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny v 10 ml suchého tetrahydrofuranu se přidá 1,3 mmol N,N-karbonyldiimidolu. 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, 30 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.

Příklad 3

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

5

Příklad 4

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

10

Příklad 5

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

15

Příklad 6

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

20

Příklad 7

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

25

Příklad 8

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

30

Příklad 9

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

35

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

Příklad 10

40

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) [připraveno obecným způsobem popsaným 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).

50

Příklad 11

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

- 5 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]-
- 10 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
- 15 125 mg (66 %) bezbarvých krystalů o teplotě tání 164 až 166°C .

Příklad 12

- 20 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
- 25 zkoncentruje za sníženého tlaku. Výsledná pevná látka se po částech přidá k roztoku methyl-4-aminobenzoátu (250 mg, 1,65 mmol) a triethylaminu (220 μl , 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 přechistí mžikovou chromatografií za použití
- 30 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
- 35 lázni po dobu 15 minut a potom se nalije na led a vzniklá směs se okyslí 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 trituruje s ter.butylmethyletherem, a tak se získá 2,5 g produktu o teplotě tání 236 až 239°C (za rozkladu).

40

Příklad 13

- 45 3-[[[5-Methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová kyselina

- Podobným způsobem jak 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. Zmýdelněním surového esteru a překrystalizováním z vodného ethanolu se získá 4,2 g (53 %) produktu; teplota tání 197 – 200°C (za rozkladu).

50

Příklad 14

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

- 5 Podobným způsobem jak 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.

10 Příklad 15

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

- 15 Zmýdlením 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).

Příklad 16

- 20 4-[[[5-Methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]aminomethyl]benzoová kyselina

- 25 Roztok 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyseliny (500 mg, 2,0 mmol) 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-(aminomethylbenzoátu) (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 roztokem chloridu sodného.

- 30 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.
- 35 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).

40

Příklad 17

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

- 45 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 µl, 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 kyseliny 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 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.

55

Příklad 18

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

10 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.

15

Příklad 19

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

20 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.

25 Příklad 20

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

30 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.

35 Příklad 21

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

40 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 chloridu sodného. Potom se organická vrstva vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí mřížkovou 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.

50

Příklad 22

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

- 5 Methyl-5-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-karbonyl]amino]valerát (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 s roztokem chloridu sodného. Potom se organická vrstva vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku.
- 10 Surový produkt se překrystaluje ze směsi ethylacetátu a hexanu. Získá se 205 mg (85 %) produktu o teplotě tání 135 až 137 °C.

Příklad 23

- 15 3-[[[5-Methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-2-thiofenkarboxylová kyselina

- 20 K 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxylové kyselině (7,0 mg, 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) a triethylaminu (11 ml, 79 mmol) v 75 ml tetrahydrofuranu. Směs se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti a potom
- 25 se rozloží 10% kyselinou chlorovodíkovou. Dále se směs extrahuje ethylacetátem a spojené organické vrstvy se promyjí 5% roztokem hydrogenuhlíčitanu 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.

- 30 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 parní lázni, potom se ochladí a přidá do 60 g ledu. Vzniklá směs se okyselí 10% kyselinou chlorovodíkovou a vysrážená pevná látka se odfiltruje a promyje vodou. Surový produkt se
- 35 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:

- 40 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
- 45 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.

50 Příklad 24

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

55

Příklad 25

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

Příklad 26

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

Příklad 27

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

Příklad 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 hydrogenuhličitanu sodného. Organické látky se extrahují ethylacetátem. Organická fáze se promyje nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu 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) [připraveno způsobem popsaným 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. 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 přidavné frakce [4,3 g (14 %) a 2,1 g (7 %)].

Natriumhydrid (326 mg, 5,18 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 dalším okyseleným roztokem chloridu sodného, nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a nakonec roztokem chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým, 5 přefiltruje a zkoncentruje za sníženého tlaku. Výsledná pevná klátka 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.

10 Příklad 29

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

15 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.

20

Příklad 30

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

25

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

30 Příklad 31

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

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

Příklad 32

40 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 přičistí 45 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.

50 Příklad 33

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

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

Příklad 34

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

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

Příklad 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.

Příklad 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.

Příklad 37

6-[[[5-Methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-3-pyridin-karboxylová kyselina

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

Příklad 38

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

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-thiazol-acetátu (709 mg, 4,37 mmol) získá 1,22 g (73 %) produktu; teplota tání 91–92 °C.

Příklad 39

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

Zmýdlením 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.

Příklad 40

3-Methoxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová
 5 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-karboxy-
 benzoátu (310 mg, 1,38 mmol) [přípraveného esterifikací 4-amino-3-methoxybenzoové kyseliny
 10 (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).

15

Příklad 41

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

20

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) [přípraveného esterifikací sodné soli 4-aminosalicylové kyseliny (Sigma)
 jodmethanem] získá 172 mg (59 %) produktu; teplota tání 158,5–160 °C.

25

Příklad 42

2-Hydroxy-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzoová
 30 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.

35

Příklad 43

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

40

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-
 aminobenzensulfonát [přípraveného katalytickou hydrogenací methyl-4-nitrobenzensulfonátu
 (Aldrich) a převedením na sůl] získá 295 mg (56 %) produktu; teplota tání
 45 176,5–177 °C.

Příklad 44

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

Podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 12 se z 5-methoxy-3-(1-methylethyl)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.

5 Příklad 45

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

10 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) se přidá Se O₂ při teplotě místnosti. 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 nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, 1N kyselinou chlorovodíkovou a nakonec roztokem chloridu sodného. organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje
15 a zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový pevný produkt se přečistí chromatografií za použití gradientu ethylacetátu a dichlormethanu v poměru 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-oxid o teplotě tání 88 až 90 °C.

20

Příklad 46

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

25 Způsobem popsaným v příkladu 45 se oxiduje 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.

30 Příklad 47

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

35 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.

40 Příklad 48

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

45 Způsobem popsaným v příkladu 28, příprava B z 700 mg (2,48 mmol) 1-oxidu 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzothiofen-2-karboxylové kyseliny a 1,90 g (12,4 mmol) methyl-4-amino-benzoátu 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).

50

Příklad 49

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

- 5 (±)-trans-2-(fenylsulfony)-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).

10

Příklad 50

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

- 15 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.

20

Příklad 51

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

25

- 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).

30

Příklad 52

- 35 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.

40

Příklad 53

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

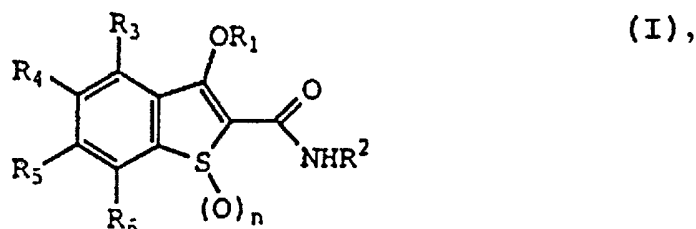
45

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).

PATENTOVÉ NÁROKY

5

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



kde

10

R₁ představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenylskupinu nebo benzylskupinu;

R₂ představuje atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenylskupinu, benzylskupinu, zbytek thiofenu, skupinu vzorce (CH₂)_mQ nebo fenylskupinu, benzylskupinu nebo zbytek thiofenu, přičemž poslední tři skupiny jsou substituovány zbytkem (CH₂)_mQ;

15

n představuje celé číslo s hodnotou od 0 do 2;

m představuje celé číslo s hodnotou od 0 do 6;

20

Q představuje skupinu obecného vzorce CO₂R₇, kde R₇ představuje atom vodíku nebo alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku; a

25

R₃, R₄, R₅ a R₆ nezávisle představuje vždy atom vodíku, hydroxyskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku;

nebo jejich farmaceuticky vhodných solí s kyselinami pro výrobu léčiva pro prevenci adheze leukocytů k buňkám endotelu, a tedy pro léčení zánětlivých chorob.

30

2. použití podle nároku 1, kde 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky vhodnými solemi s kyselinami jsou

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

35

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;

40

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

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

45

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;
 5 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;
 10 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;
 15 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;
 20 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;
 25 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;
 30 3-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]-2-thiofenkarboxy-
 lová kyselina;
 5-methoxy-N-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
 35 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;
 40 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1,1'-oxid;
 45 3-(1,1-dimethylethoxy)-5-methoxybenzo[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;
 50 4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]butanová kyselina a
 5-methoxy-3-(1-methylethoxy)-N-(1-methylethyl)benzo[b]thiofen-2-karboxamid
 55 nebo jejich farmaceuticky vhodné soli s kyselinami.

3. Použití podle nároku 1, kde 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky vhodnými solemi s kyselinami jsou

- 5 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;
 10 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;
 15 5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid;
 5-methoxy-3-fenoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid; a
 20 3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid-1-oxid
 nebo jejich farmaceuticky vhodné soli s kyselinami.

4. Použití podle nároku 1, kde 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky vhodnými solemi s kyselinami jsou

- 5-methyl-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
 3-(1-methylethoxy)-5-nitrobenzo[b]thiofen-2-karboxamid;
 30 7-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thiofen-2-karboxamid;
 3,5-dimethoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamid;
 35 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;
 40 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;
 45 4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]aminomethyl]benzeoová kyselina;
 methyl-4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenacetát;
 50 4-[[[5-methoxy-3-(1-methylethoxy)benzo[b]thien-2-yl]karbonyl]amino]benzenoová 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;
- 5 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;
- 10 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;
- 15 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;
- 20 3-(1,1-dimethylethoxy)-5-methoxybenzo[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;
- 25 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;
- 30 nebo jejich farmaceuticky vhodné soli s kyselinami.
5. Použití podle nároku 1, kde 3-alkoxy-, aroxy- nebo aralkoxybenzo[b]thiofen-2-karboxamidy obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky vhodnými solemi s kyselinami jsou
- 35 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;
- 40 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;
- 45 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

5 nebo jejich farmaceuticky vhodné soli s kyselinami.

10

Konec dokumentu
