FI000094862B

(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLÄGGNINGSSKRIFT 94862

C (45) Patentti myönnetty
Patent meddelat 10 11 1995

(51) Kv.lk.6 - Int.cl.6

C 07D 317/46

SUOMI-FINLAND

(FI)

(21) Patenttihakemus - Patentansökning 912142

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag 03.05.91

(24) Alkupäivä - Löpdag 03.05.91

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig 05.11.91

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. -
Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad 31.07.95

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

04.05.90 US 519192 P

(71) Hakija - Sökande

1. **American Cyanamid Company**, One Cyanamid Plaza, Wayne, N.J. 07470, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. **Bloom, Jonathan David**, 151 East Hartsdale Avenue, Hartsdale, N.Y. 10530, USA, (US)
2. **Claus, Thomas Harrison**, 68 Montvale Avenue, Montvale, N.J. 07645, USA, (US)
3. **Devries, Vern Gordon**, 425 Farview Street, Ridgewood, N.J. 07450, USA, (US)
4. **Dolan, Jo Alene**, 5 Marisa Drive, Spring Valley, N.Y. 10977, USA, (US)
5. **Dutia, Minu Dhanjisha**, 5 Amethyst Court, West Nyack, N.Y. 10944, USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: **Oy Kolster Ab**

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

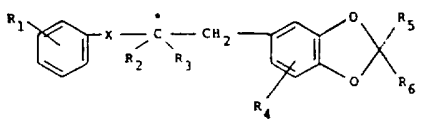
Menetelmä uusien, terapeuttisesti käyttökelpoisten 5-(2-((2-aryyli-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksolijohdannaisten valmistamiseksi
Förfarande för framställning av nya, terapeutiskt användbara 5-(2-((2-aryl-hydroxietyl)amino)propyl)-1,3-benzodioxolderivat

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

---

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksinnön kohteena ovat substituoidut 1,3-bentsodioksolit, joilla on diabetestä ja/tai veren liikasokerisuutta ja/tai liikalihavuutta vastustavia ominaisuuksia. Yhdisteillä on kaava

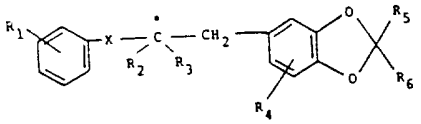


jossa R_1 ja R_4 merkitsevät vetyä, alkyyliä, alkoksia, hydroksia, halogeenia, trifluorimetyyliä, karboksia, hydroksialkyyliä, alkoksikarbonyyliä, tioalkyyliä, sulfonyyliä tai sulfinyyliä; X on



jossa R' on vety, alkyyli tai asyyli ja Y on karbonyyli tai tiokarbonyyli; R_2 ja R_3 merkitsevät vetyä tai alkyyliä; R_5 ja R_6 merkitsevät vetyä, karboksia, alkoksikarbonyyliä, hydroksimetyyliä, tai ryhmää $-CH_2OCH_2COOR_7$ tai $-CH_2OCH_2CH_2OR_7$, joissa R_7 on vety tai alkyyli; sillä ehdolla, että R_5 ja R_6 eivät molemmat voi olla vetyjä. Keksintö koskee lisäksi menetelmiä näiden yhdisteiden valmistamiseksi sekä niitä sisältäviä koostumuksia.

Uppfinningen avser substituerade 1,3-bensodioxoler, vilka har antidiabetiska egenskaper och/eller egenskaper, vilka motverkar hög sockerhalt i blodet och/eller övervikt. Föreningarna har formeln



där R_1 och R_4 betecknar väte, alkyl, alkoxi, hydroxi, halogen, trifluormetyl, karboxi, hydroxialkyl, alkoxikarbonyl, tioalkyl, sulfonyl eller sulfinyl; X är



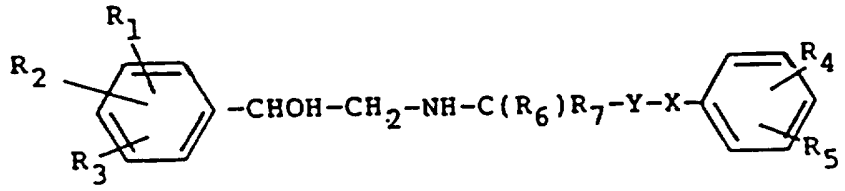
där R' är väte, alkyl eller acyl och Y är karbonyl eller tiokarbonyl; R_2 och R_3 betecknar väte eller alkyl; R_5 och R_6 betecknar väte, karboxi, alkoxikarbonyl, hydroximetyl eller gruppen $-CH_2OCH_2COOR_7$ eller $-CH_2OCH_2CH_2OR_7$, där R_7 är väte eller alkyl; förutsatt, att R_5 och R_6 båda icke är väte. Uppfinningen avser även förfaranden för framställning av dessa föreningar samt kompositioner, vilka innehåller dessa.

Menetelmä uusien, terapeuttisesti käyttökelpoisten 5-(2-((2-aryyli-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksolijohdannaisten valmistamiseksi

Tämän keksinnön kohteena on menetelmä uusien 1,3-bentsodioksoliyhdisteiden valmistamiseksi, joilla on diabetestä vastustavia ja/tai veren korkeaa sokeripitoisuutta vastustavia ominaisuuksia nisäkkäissä. Keksinnön mukaisesti saatavat uudet substituoidut 5-(2-((2-aryyli-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksolit ovat käyttökelpoisia diabeteksen ja/tai veren liikasokerisuuden ja/tai liikalihavuuden hoidossa nisäkkäissä.

On hyvin tunnettua käyttää lääkeaineita hoidettaessa henkilöitä, jotka kärsivät diabeteksesta, veren liikasokerisuudesta ja liikalihavuudesta.

Ainsworth et al., US-patentti 4 478 849, kuvaa sekundaarisia amiiniyhdisteitä, joilla on yleinen kaava (I):

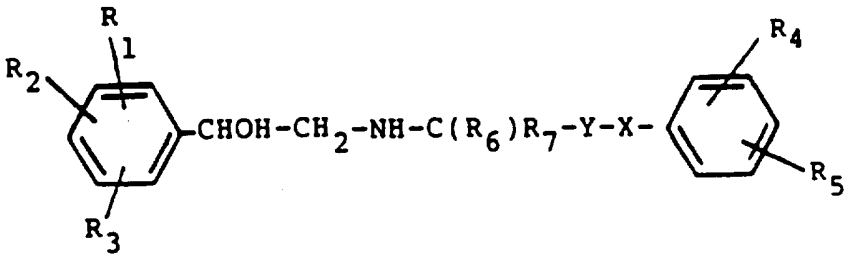


(I)

jossa R_1 on vety-, fluori- tai klooriatomi tai hydroksyyli-, hydroksimetyyli-, metyyli-, metoksyyli-, amido-, formamido-, asetamido-, metyylisulfonyyliamido-, nitro-, bentsyylioksi-, metyylisulfonyylimetyyli-, ureido-, trifluorimetyyli- tai metoksibentsyyliaminoryhmä; R_2 on vety-, fluori- tai klooriatomi tai hydroksyyliryhmä; R_3 on vety- tai klooriatomi tai hydroksyyliryhmä; R_4 on karboksyylihapporyhmä tai sen suola, esteri tai amidi; R_5 on vety-, kloori- tai fluoriatomi tai metyyli-, metoksyyli- tai hydroksyyliryhmä tai karboksyylihapporyhmä tai sen suola, esteri tai amidi; R_6 on vetyatomi tai metyyli- tai propyyliryhmä; X on happiatomi tai sidos; ja Y on alkyleeniryh-

mä, jossa on korkeintaan 6 hiiliatomia, tai sidos, joilla yhdisteillä on liikalihavuutta ja/tai veren liikasokerisuutta vastustavaa aktiivisuutta.

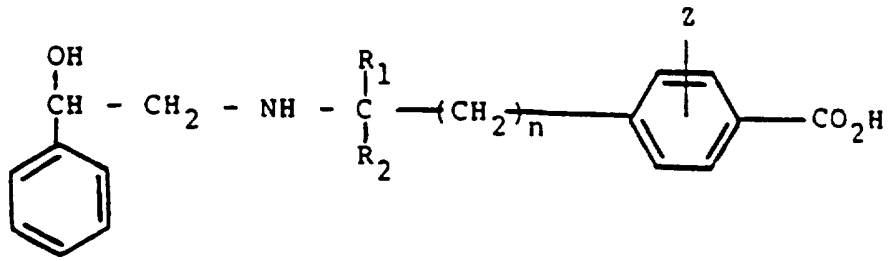
Ainsworth et al., US-patentti 4 396 627 kuvaa sekundaarisia amiiniyhdisteitä, joilla on kaava (II):



(II)

jossa R_1, R_2 ja R_3 ovat kuten kaavassa (I) on määritetty, tai kukin on yksittäisesti bromiatomi; R_4 on alkyyliryhmä, jossa on 1-10 hiiliatomia ja joka on substituoitu ryhmällä hydroksyyli, alempi alkoksyyli, okso, alempi asyylioksi tai OCH_2CO_2H, tai sen alempi alkyyliesteri; R_5 on vety-, kloori- tai fluoriatomi tai metyyli-, metoksyyli- tai hydroksyyliryhmä tai karboksyylihapporyhmä tai sen suola, esteri tai amidi; R_6 on vetyatomi tai metyyli-, etyyli- tai propyyliryhmä; R_7 on vetyatomi tai metyyli-, etyyli- tai propyyliryhmä; X on happiatomi tai sidos; ja Y on alkyleeniryhmä, jossa on korkeintaan 6 hiiliatomia, tai sidos; jotka yhdisteet ovat hyödyllisiä vähennettäessä veren korkeita glukoosi- ja lipidiarvoja ihmisissä ja eläimissä.

Ainsworth et al, US-patentti 4 385 066 kuvaa aryylietanoliamiinijohdannaisia, joilla on kaava (III):

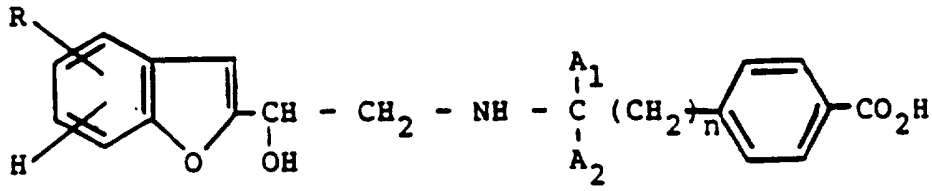


(III)

jossa R_1 ja R_2 ovat metyyli tai vety; n on 1, 2 tai 3; ja Z on alkyyli, jossa on 1-6 hiiliatomia, alkoksi, jossa on

1-6 hiiliatomia, halogeeni tai vety; jotka yhdisteet ovat hyödyllisiä hoidettaessa liikalihavuutta ja/tai veren liikasokerisuutta ja/tai tulehdusta nisäkkäissä.

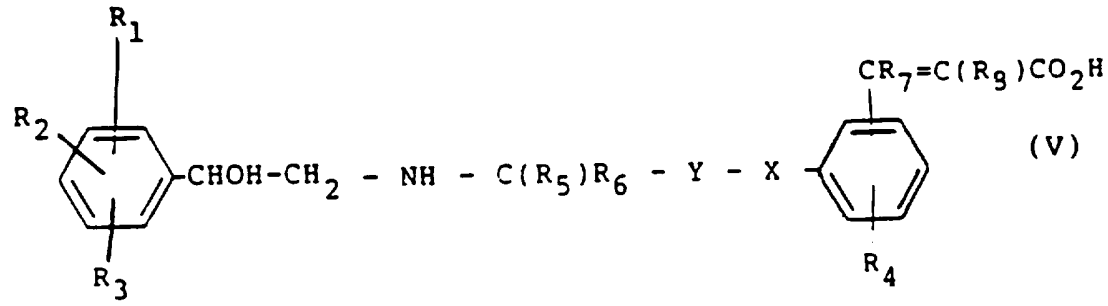
Ferris, US-patentti 4 341 793 kuvaa sekundaarisia amiiniyhdisteitä, joilla on kaava (IV):



(IV)

jossa A_1 ja A_2 ovat vety tai metyyli; n on 1, 2 tai 3; ja R on vety, kloori, bromi, hydroksi, nitro, amino tai trifluorimetyyli; jotka yhdisteet ovat hyödyllisiä veren liikasokerisuutta vastustavina aineina tai liikalihavuutta vastustavina aineina.

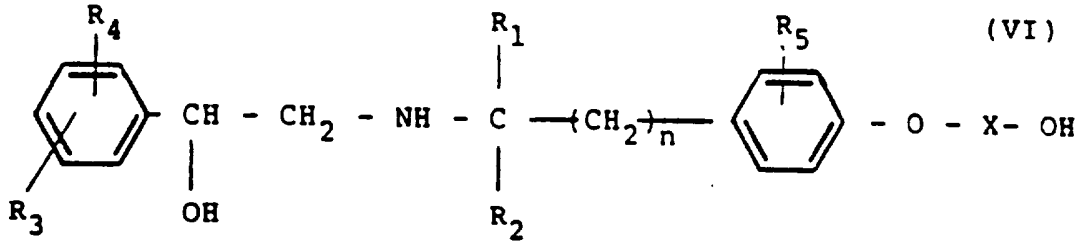
Smith et al., US-patentti 4 309 443 kuvaa kanelihappojohdannaisia, joilla on kaava (V):



(V)

jossa R_1 ja R_2 ja R_3 ovat kuten kaavassa (II) on määritetty; R_4 on vety-, kloori- tai fluoriatomi tai metyyli-, metoksyyli- tai hydroksyyliryhmä tai karboksyylihapporyhmä tai niiden suola, esteri tai amidi;
R_5 ja R_6 ovat vetyatomi tai metyyliryhmä; R_7 ja R_8 ovat vetyatomi tai metyyli- tai etyyliryhmä; X on happiatomi tai sidos; ja Y on alkyleeniryhmä, jossa on korkeintaan viisi hiiliatomia; joilla johdannaisilla on havaittu olevan liikalihavuutta ja/tai veren liikasokerisuutta vastustavaa aktiivisuutta.

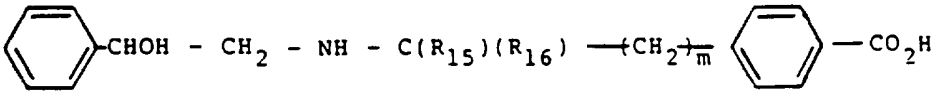
Duckworth, US-patentti 4 382 958 kuvaa sekundaarisia amiinikoostumuksia, joilla on kaava (VI):



(VI)

jossa jokainen R_1 ja R_2 on vety, metyyli tai etyyli; R_3 on vety, fluori, kloori, bromi tai trifluorimetyyli; jokainen R_4 ja R_5 on vety, fluori, kloori, bromi, alkyyli, jossa on 1-6 hiiliatomia, tai alkoksi, jossa on 1-6 hiiliatomia; n on 1 tai 2; ja X on suora tai haarautunut alkyleeni, jossa on 1-12 hiiliatomia; jotka koostumukset ovat liikalihavuutta vastustavia, veren liikasokerisuutta , tulehdusta ja verihiutaleiden yhteenkasautumista vastustavia aineita.

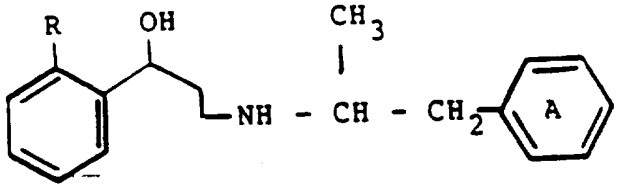
Ainsworth et al., US-patentti 4 654 371 kuvaa sekundaarisia amiiniyhdisteitä, joilla on kaava (VII):



(VII)

jossa R_{15} on vetyatomi tai metyyliryhmä; R_{16} on vetyatomi tai metyyliryhmä ja m on 1; jotka yhdisteet ovat hyödyllisiä lihavuuden ja veren liikasokerisuuden hoidossa ihmisissä tai eläimissä.

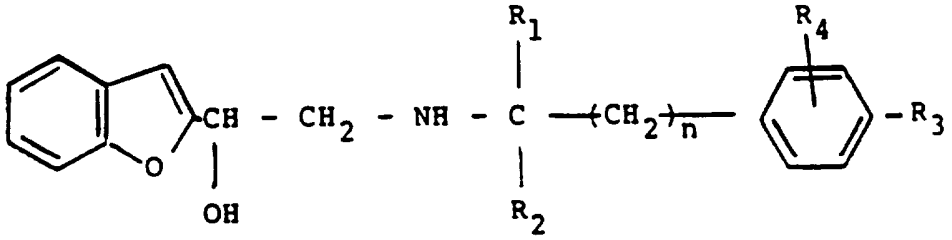
Ikezaki et al., US-patentti 4 490 392 kuvaa bentsyylialkoholijohdannaisia, joilla on kaava (VIII):



(VIII)

jossa R on hydroksi, bentsyylioksi, halogeeni tai alkoksi, jossa on 1-4 hiiliatomia, ja rengas A on monometoksifenyyli, dimetoksifenyyli, trimetoksifenyyli tai 3,4-metyleenidioksifenyyli;, jotka johdannaiset ovat hyödyllisiä diabetestä vastustavina aineina.

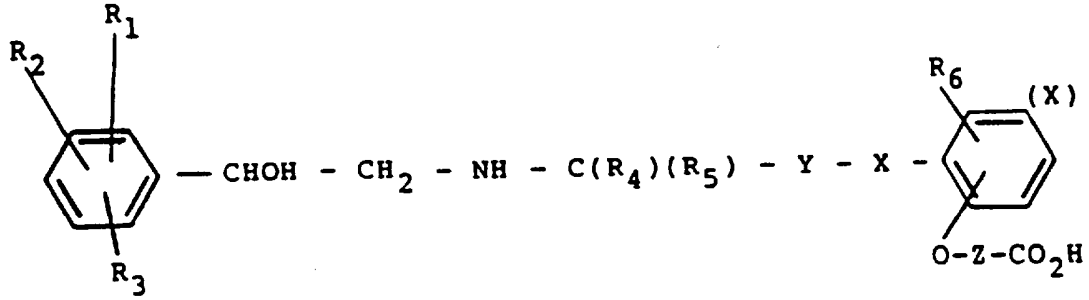
Ferris, US-patentti 4 432 993 kuvaa 2-(2-bentsofuranyyli)etanoliamiinijohdannaisia, joilla on kaava (IX):



(IX)

jossa R_1 on vety tai metyyli; R_2 on vety tai metyyli; R_3 on hydroksi, hydroksi(C_1-C_6)alkoksi, bentsyylioksi tai ryhmä X-Y-Z, jossa (i) X on sidos tai happi, Y on C_1-C_6 suora tai haarautunut alkyleeni ja Z on vety tai karboksi; tai (ii) X on sidos tai -O-CH_2-, Y on C_2-C_6 suora tai haarautunut alkenyleeni ja Z on karboksi; R_4 on vety, hydroksi, halogeeni, C_1-C_6 alkyyli tai C_1-C_6 alkoksi; ja n on 1, 2 tai 3; joilla johdannaisilla on lihavuutta, veren liikasokerisuutta, tulehdusta ja verihiutaleiden yhteenkasautumista vastustavaa aktiivisuutta.

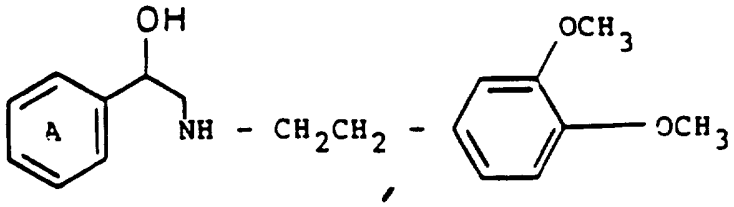
Ainsworth et al., US-patentti 4 338 333 kuvaa etaaniamiinijohdannaisia, joilla on kaava (X):



(X)

jossa R_1, R_2 ja R_3 ovat kuten kaavassa (I) on määritetty, tai jokainen on riippumattomasti bromiatomi; R_4 on vetyatomi tai metyyliryhmä; R_5 on vetyatomi tai metyyliryhmä; R_6 on vety-, fluori- tai klooriatomi tai metyyli-, metoksyyli- tai hydroksiryhmä; X on happiatomi tai sidos; Y on alkyleeniryhmä, jossa on korkeintaan kuusi hiiliatomia, tai sidos; ja Z on alkyleeni-, alkenyleeni- tai alkynyleeniryhmä, jossa on korkeintaan 10 hiiliatomia; joilla johdannaisilla on lihavuutta ja/tai veren liikasokerisuutta vastustavia ominaisuuksia.

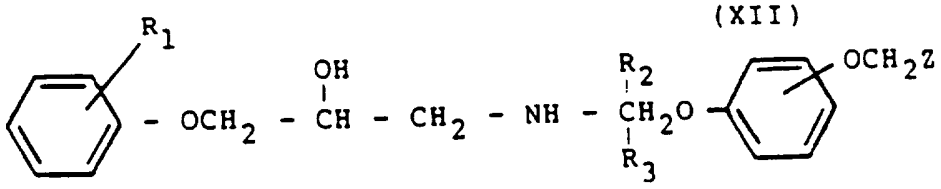
Ikezaki et al., US-patentti 4 032 575 kuvaa bentsyylialkoholiamiinijohdannaisia, joilla on kaava (XI):



(XI)

jossa rengas A on monohydroksifenyyli; jotka johdannaiset aiheuttavat laskua veren sokeriarvoissa kun rengas A on 2-hydroksifenyyli.

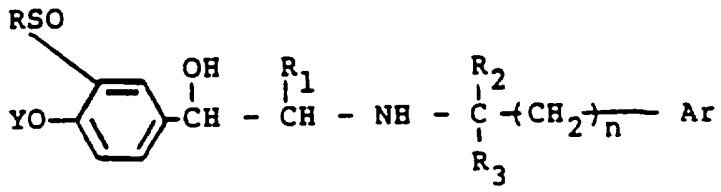
Holloway et al., US-patentti 4 772 631 kuvaa fenoksietikkahappoeettereitä, joilla on kaava (XII):



(XII)

jossa R_1 on vety tai fluori; R_2 ja R_3 ovat vety tai alkyyli, jossa on 1-3 hiiliatomia; Z on CH_2OH tai ryhmä $-COR_4$, jossa R_4 on OH, NH_2 tai alkoksi, jossa on 1-6 hiiliatomia; jotka eetterit ovat hyödyllisiä lihavuuden ja vastaavien sairauksien hoidossa.

Philion, US-patentti 4 751 246 kuvaa bentseenimetanoli- ja etyyliamiiniyhdisteitä, joilla on kaava (XIII):



(XIII)

jossa R_1, R_2 ja R_3 ovat riippumattomasti vety tai alempi alkyyli; n on kokonaisluku 1-3; Ar on fenyyli, metyleenidioksifenyyli tai fenyyli, jossa on 1-3 substituenttia valittuna ryhmästä, jossa on halogeeni, alempi alkyyli, hydroksi ja alempi alkoksi; R on alempi alkyyli; ja Y on vety, alempi alkyyli, alempi alkoksi, alempi alkyyli; alempi alkanoyyli, aroyyli, bentseenisulfonyyli tai tolueenisulfonyyli; jotka yhdisteet ovat hyödyllisiä kohonnutta verenpainetta vastustavina aineina.

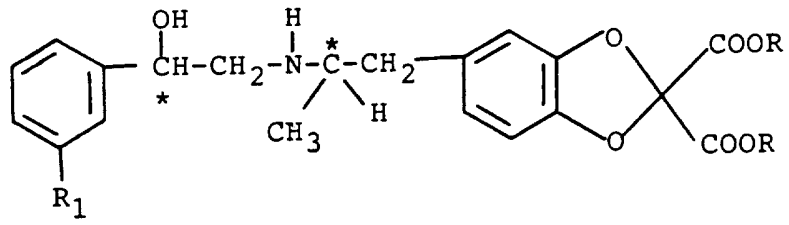
Nyt on havaittu, että uusien substituoitujen 5-(2-((2-aryyli-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksolien ryhmällä on huomattavasti parannettuja veren liikasokerisuutta ja lihavuutta vastustavia ominaisuuksia, joilla on suurempi β_3 selektiivisyys verrattuna alan aikaisempii yhdisteisiin. Täten nämä uudet yhdisteet ovat hyödyllisiä diabeteksen, veren liikasokerisuuden ja lihavuuden hoidossa, osoittaen minimaalisia sivuvaikutuksia, ts. kohonnutta sydämen sykettä ja lihastärinää ihmisissä ja eläimissä, formuloituina farmaseuttisiksi koostumuksiksi.

Kuviossa 1 verrataan tämän keksinnön mukaisesti saatavan yhdisteen ja aikaisemman alan yhdisteen selektiivisyyttä.

Kuviossa 2 verrataan tämän keksinnön mukaisesti saatavan yhdisteen ja aikaisemman alan yhdisteen selektiivisyyttä.

Tämän keksinnön kohteena on siten menetelmä uusien, terapeuttisesti käyttökelpoisten 5-(2-((2-aryyli-2-hydrok-

sietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksolijohdannaisten valmistamiseksi, joilla on kaava XIV



(XIV)

jossa R_1 on halogeeni; ja kumpikin R on vety tai C_1-C_4-alkyyli; ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen, niiden enantiomeerien, niiden raseemisten seosten ja niiden diastereomeeristen seosten valmistamiseksi.

Edeltävän kaavan yhdisteissä asymmetriset keskukset hiiliatomissa on merkitty asteriskilla. Täten yhdisteet voivat olla vähintäin kahdessa ja usein neljässä isomeerisessä muodossa. Tämä keksintö käsittää kaikki yhdisteiden stereoisomeerit, riippumatta siitä ovatko ne vapaita muista stereoisomeereistä tai ovat seoksena muiden stereoisomeerien kanssa missä tahansa suhteessa, ja käsittää täten esimerkiksi enantiomeerien raseemisen seoksen, kuten myös isomeerien diastereomeerisen seoksen.

Edullisesti molemmilla asymmetrisillä hiiliatomeilla on R absoluuttisessa stereokemiallisessa konfiguraatiossa.

Minkä tahansa yhdisteen absoluuttinen konfiguraatio voidaan määrittää tavallisella röntgenkristallografialla.

Edullisia yhdisteitä ovat

($\underline{R}^*$,$\underline{R}^*$)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesteri;

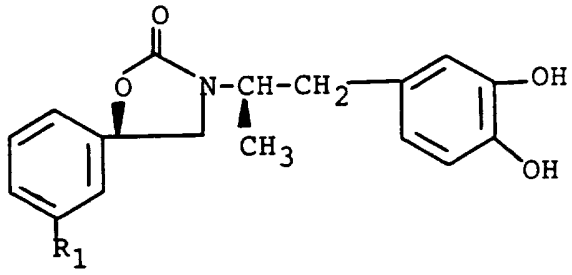
($\underline{R}^*$,$\underline{R}^*$)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodietyyliesteri;

($\underline{R}^*$,$\underline{R}^*$)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodi-isopropyyliesteri;

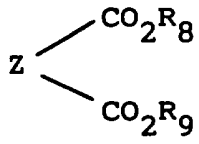
($\underline{R}^*$,$\underline{R}^*$)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon, dinatriumsuola; ja niiden optisesti aktiiviset johdannaiset.

Keksinnön mukaiselle menetelmälle uusien kaavan XIV mukaisten yhdisteiden ja niiden edellä mainittujen johdannaisten valmistamiseksi on tunnusomaista, että

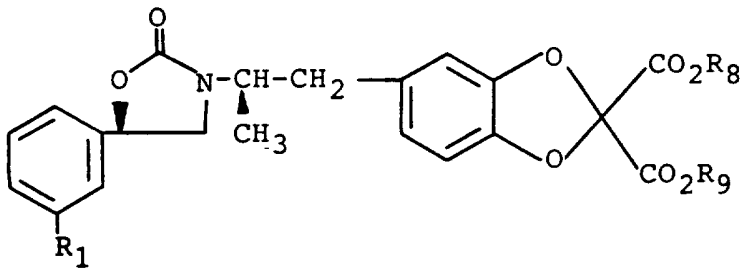
(a) saatetaan yhdiste, jolla on kaava



jossa R_1 merkitsee samaa kuin edellä, reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava

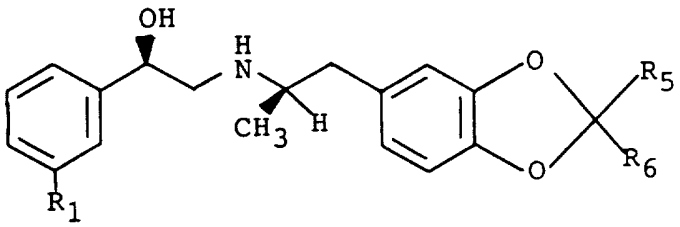


jossa R_8 ja R_9 ovat kumpikin C_1-C_4-alkyyli ja Z on dihalogeenimetyleeni, muodostamaan yhdiste, jolla on kaava



jossa R_1, R_8 ja R_9 merkitsevät samaa kuin edellä; ja

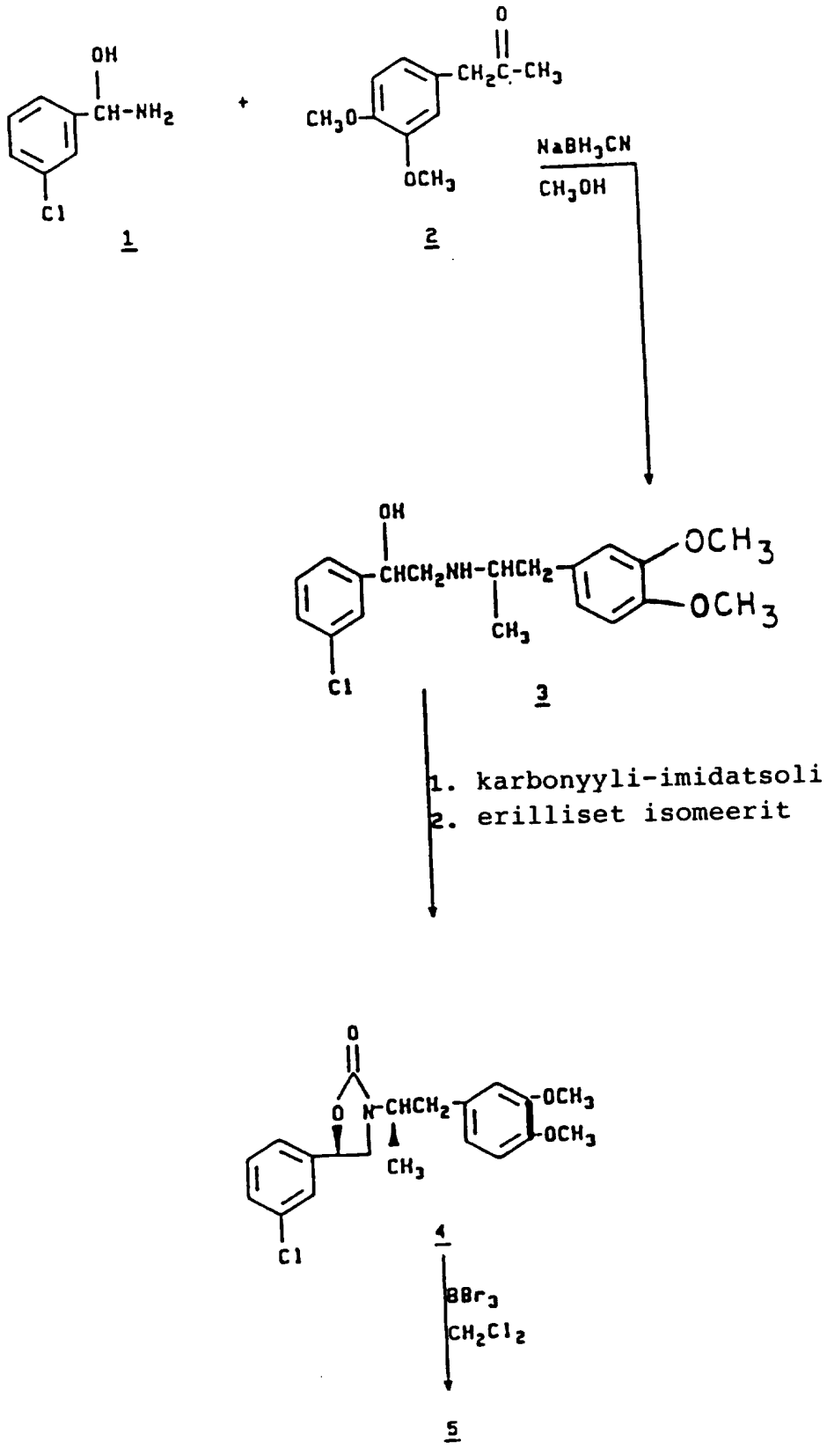
(b) (i) saatetaan vaiheen (a) tuote reagoimaan ensin emäksen kanssa ja sitten hapon kanssa alkoholissa muodostamaan yhdiste, jolla on kaava

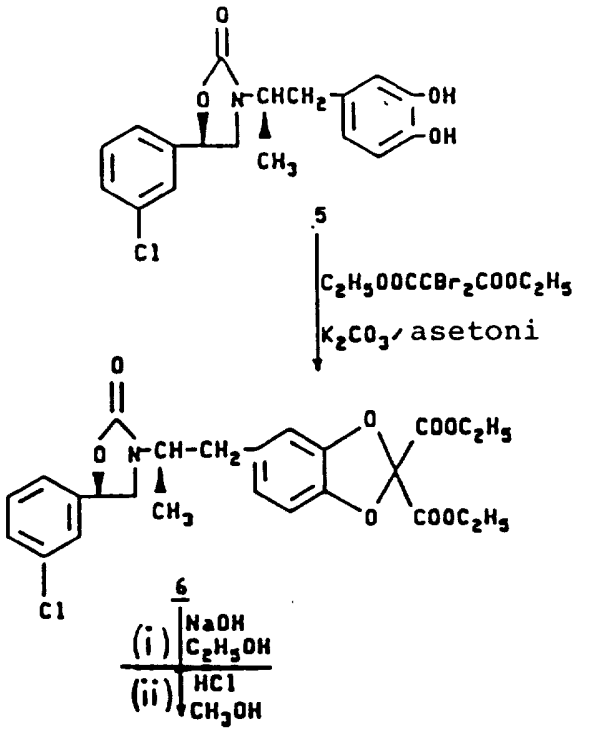


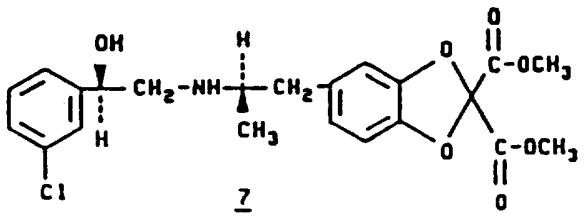
jossa R_1 merkitsee samaa kuin edellä ja R_5 ja R_6 ovat kumpikin alkoksikarbonyyli; ja valinnaisesti,

(b) (ii) saatetaan vaiheen (b) (i) tuote reagoimaan aineen tai aineiden kanssa, jotka muuttavat ryhmät R_5 ja R_6 karboksiryhmiksi.

Tämän keksinnön edullisissa suoritusmuodoissa voidaan käyttää seuraavaa reaktiokaavaa.


OH
CH-NH2
Cl
1
+
O
CH2C-CH3
CH3O
OCH3
2
NaBH3CN
CH3OH
OH
CHCH2NH-CHCH2
CH3
OCH3
OCH3
Cl
3
1. karbonyyli-imidatsoli
2. erilliset isomeerit
O
O
N-CHCH2
CH3
OCH3
OCH3
Cl
4
BBr3
CH2Cl2
5


O
O N-CHCH2
OH
OH
CH3
Cl
5
C2H5OOCCBr2COOC2H5
K2CO3/ asetoni
O
O N-CH-CH2
CH3
COOC2H5
O
COOC2H5
Cl
6
(i) NaOH C2H5OH
(ii) HCl CH3OH

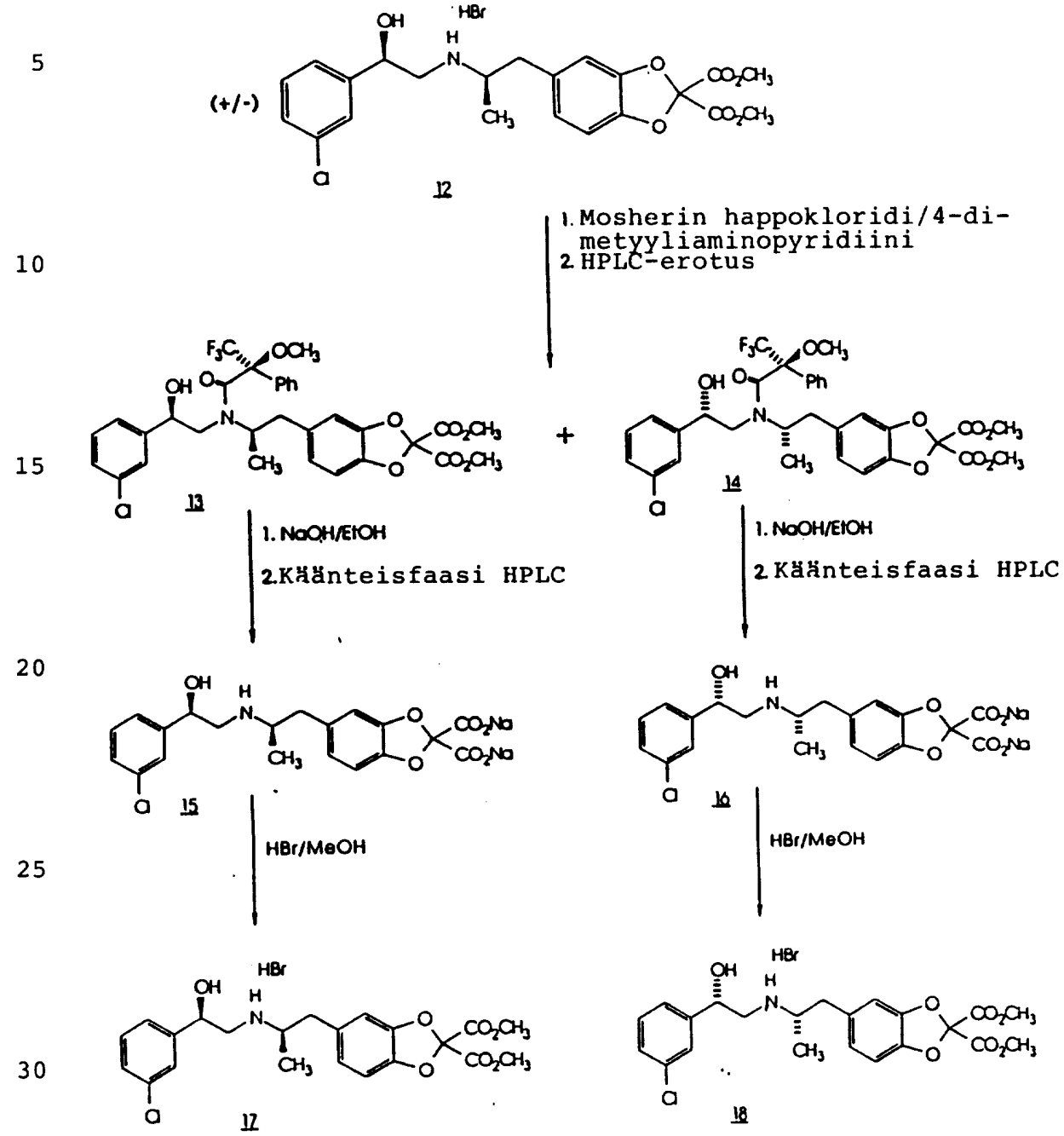

OH
H
CH2-NH
CH2
CH3
Cl
7
O
C-OCH3
O
C-OCH3
O

Edeltävän edullisen reaktiokaavan mukaisesti 2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyliamiini 1 ja 3,4-dimetoksifenyyliasetoni 2 saatetaan reagoimaan natriumsyaaniboorihydridin kanssa metanolissa antamaan 3-kloori-α-(((2-(3,4-dimetoksifenyyli)-1-metyylietyyli)amino)metyyli)bentseenimetanoli 3, joka saatetaan reagoimaan karbonyylidi-imidatsolin ja trietyyliamiinin kanssa tetrahydrofuraanissa, mitä seuraa isomeerien erottaminen, antamaan syklisoitu johdannainen 4, joka saatetaan reagoimaan booritribromidin kanssa dikloorimetaanissa antamaan (R*,R*)-(+/-)-5-(3-kloorifenyyli)-3-(2-(3,4-dihydroksifenyyli)-1-metyylietyyli)-2-oksatsolidinoni 5. Yhdiste 5 saatetaan sitten reagoimaan dietyylidibromimalonaatin ja vedettömän kaliumkarbonaatin kanssa asetonissa antamaan (R*,R*)-(+/-)-5-(2-(5-(3-kloorifenyyli)-2-okso-3-oksatsolidinyyli)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodietyyliesteri 6, joka sitten saatetaan reagoimaan ensin natriumhydroksidin kanssa etanolissa ja sitten vetykloridikaasun kanssa metanolissa antamaan tuote (R*,R*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappo, dimetyyliesteri 7.

Tämän keksinnön mukaisesti saatavat optiset isomeerit ja niiden johdannaiset, suolat ja esterit voidaan resoloida menetelmällä, jossa: (a) liitetään kiraalinen apuryhmä N-9 asemaan yhdisteiden enantiomeerien (+) ja (-) seoksessa muodostamaan uusi diastereoisomeerien pari; (b) erotetaan uusi diastereoisomeerien pari ja otetaan talteen uusi (+) tai (-) enantiomeeri; ja (c) muutetaan pääosin puhdas uusi diastereoisomeeri vastaavaksi yhdisteen johdannaisen, suolan tai esterin pääosin puhtaaksi (+) tai (-) enantiomeeriksi.

Edullisessa suoritusmuodossa voidaan käyttää seuraavaa kaavaa II.

Kaavio II


(+/-)
12
1. Mosherin happokloridi/4-dimetyyliaminopyridiini
2. HPLC-erotus
13
14
1. NaOH/EtOH
2. Käänteisfaasi HPLC
1. NaOH/EtOH
2. Käänteisfaasi HPLC
15
16
HBr/MeOH
HBr/MeOH
17
18

Esitetyn reaktiokaavan mukaisesti kaaviossa II (R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)-amino)propyyli-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidi (12) käsitellään happokloridilla, joka on johdettu (S)-(-)-metoksi-trifluorimetyylifenyylietikkahaposta (Mosher'in haposta). Diastereomeeriset amidit 13 ja 14 erotetaan valmistavalla HPLC:llä, käsitellään natriumhydroksidilla ja dinatriumsuolat 15 ja 16 (puhtaat enantiomeerit) eristetään vastaavasti käänteisfaasipylväskromatografisesti. Kummankin suolan käsittely vetybromidihapolla metanolissa antaa kummatkin diesterit, (R,R)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidi (17) ja (S,S) 5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidi (18) vastaavasti. Samalla tavalla voidaan valmistaa vastaavat dietyyli- ja di-isopropyyliesterit.

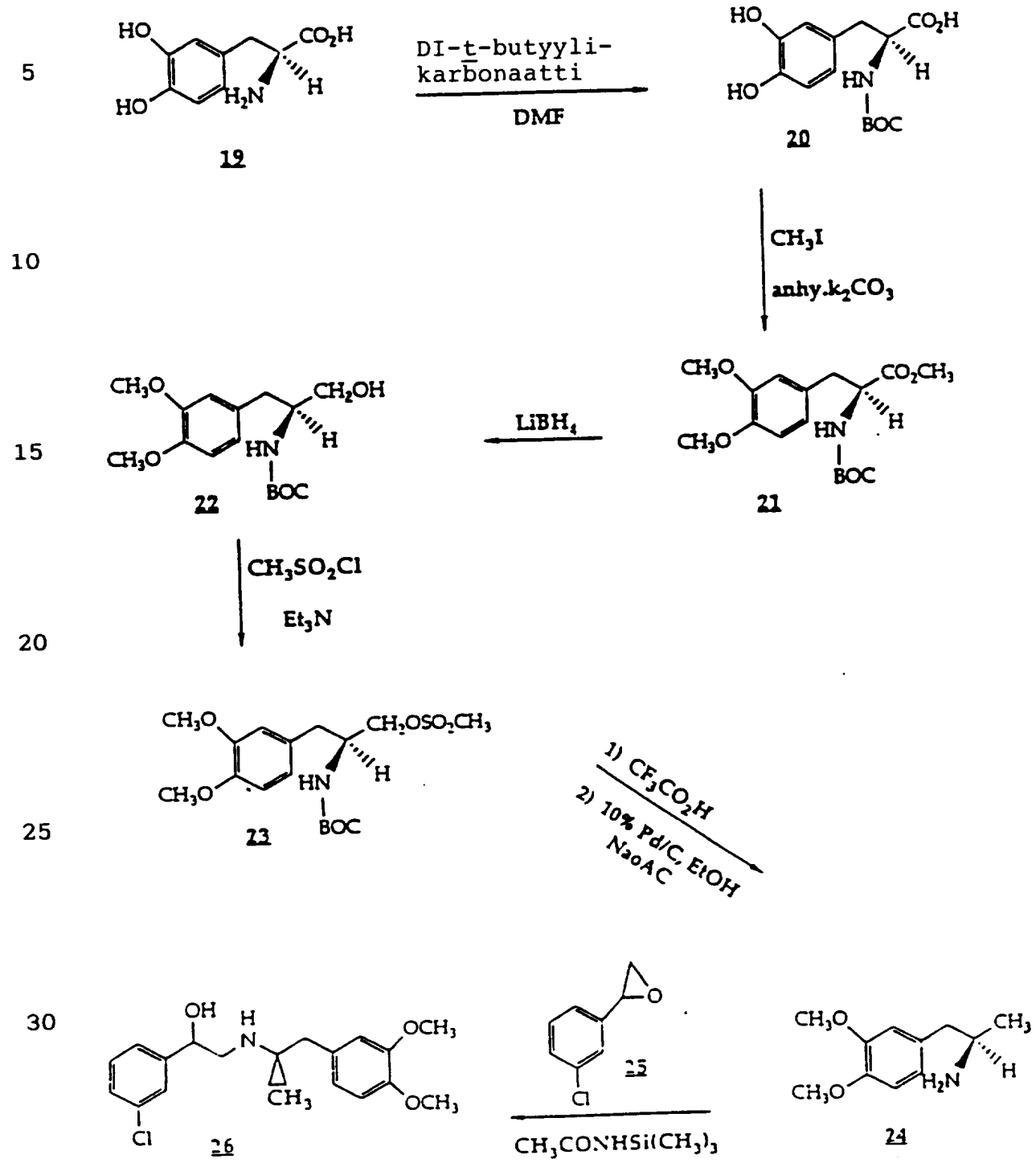
Toistamalla edeltävä kaava lähtien (R^*,S^*)-(+/-)-5-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidista saadaan molemmat enantiomeerit (R,S)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidi ja (S,R) 5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli-1,3-bentsodioksoli-2,2-karboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidi vastaavasti. Samalla tavalla voidaan valmistaa vastaavat dietyyli- ja di-isopropyyliesterit.

Spesifisemmin, kiraalinen valmistus voidaan toteuttaa synteettisellä reaktiokaavalla, joka on esitetty kaaviossa III. L-DOPA 19 käsitellään di-t-butyylidikarbonaatilla dimetyyliformamidissa antamaan (S)-N-(1-(1,1-dimetyylietoksi)karbonyyli)-3-hydroksi-L-tyrosiini 20, joka saatetaan reagoimaan metyylijodidin ja vedettömän kaliumkarbonaatin kanssa asetonissa antamaan (S)-N-(1,1-dimetyylietoksi)karbonyyli)-3,4-dimetoksi-L-fenyylialaniinimetyy-

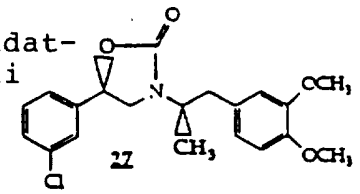
liesteri 21, joka pelkistetään litiumboorihydridillä antamaan (S)-1,1-dimetyylietyyli-(2-(3,4-dimetoksifenyyli)-1-(hydroksimetyyli)etyyli)karbonaatti 22, joka saatetaan reagoimaan metaanisulfonyylikloridin ja trietyyliamiinin kanssa metyleenikloridissa antamaan (S)-1,1-dimetyylietyyli-(2-(3,4-dimetoksifenyyli)-1-(((metyylisulfonyyli)oksi)-metyyli)etyyli)karbamaatti 23. Yhdistettä 23 käsitellään trifluorietikkahapolla ja pelkistetään sitten käyttäen 10-%:sta Pd/C ja vetyä antamaan (R)-3,4-dimetoksimetyylibentseenietaaniamiini 24. Yhdistettä 24 käsitellään 3-klooristyreenioksidilla 25 ja N-(dimetyylisilyyli)asetamidilla antamaan seos, jossa on (R,S)- ja (S,S)-3-kloori-(((2-(3,4-dimetoksifenyyli)-1-metyylietyyli)amino)metyyli)bentseenimetanoli 26. Yhdisteen 26 reaktio karbonyylidi-imidatsolin ja trietyyliamiinin kanssa tetrahydrofuraanissa, mitä seuraa diastereomeerien kromatograafinen erottaminen, antaa syklisoidun johdannaisen 27, joka saatetaan reagoimaan booritribromidin kanssa dikloorimetaanissa antamaan (R,R)-5-(3-kloorifenyyli)-3-(2-(3,4-dihydroksifenyyli)-1-metyylietyyli)-2-oksatsolidinonin 28. Yhdiste 28 saatetaan sitten reagoimaan dietyylidibromimalonaatin ja vedettömän kaliumkarbonaatin kanssa asetonissa antamaan (R,R)-5-(2-(5-(3-kloorifenyyli)-2-okso-3-oksatsolidinyyli)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodietyyliesteri 29. Yhdiste 29 saatetaan reagoimaan 5N natriumhydroksidin kanssa etanolissa ja sitten eristetään käänteisfaasikromatografisesti antamaan (R,R)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuola 15.

Vaihtoehtoisesti, saattamalla yhdiste 24 reagoimaan (R)-3-klooristyreenioksidin kanssa, valmistetaan enantiomeerisesti puhdas 15. Enantiomeerisesti puhtaita epoksideja voidaan valmistaa asymmetrisellä pelkistämisellä vastaavista X-klooriketoneista kuten on kuvannut Corey julkaisussa J. Am. Chem. Soc., 109, 5551 (1987), mitä seuraa emäksellä katalysoitu sulkeminen epoksidiksi.

Kaavio III

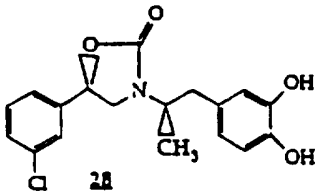

HO
CO2H
H2N
H
HO
19
DI-t-butyyli-karbonaatti
DMF
HO
CO2H
HN
H
HO
BOC
20
CH3I
anhy.k2CO3
CH3O
CO2CH3
HN
H
CH3O
BOC
21
LiBH4
CH3O
CH2OH
HN
H
CH3O
BOC
22
CH3SO2Cl
Et3N
CH3O
CH2OSO2CH3
HN
H
CH3O
BOC
23
1) CF3CO2H
2) 10% Pd/C, EtOH
NaOAc
OH
H
N
OCH3
CH3
OCH3
Cl
26
O
Cl
25
CH3CONHSi(CH3)3
CH3O
CH3
CH3O
H2N
H
24

1) Karbonyylidi-imidatsoli
2) Erilliset isomeerit

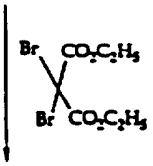


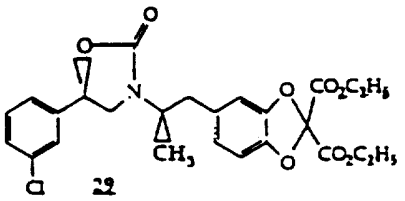
27

BBr_3, CH_2Cl_2



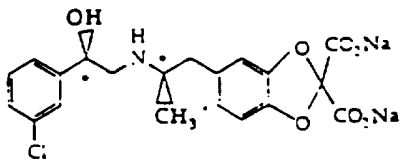
28





29

1) 5N. NaOH, EtOH
2) Käänteisfaasi HPLC



15

Tämän keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä voidaan käyttää diabeteksen ja/tai veren liikasokerisuuden ja/tai liikalihavuuden hoitamisessa ihmisissä tai muissa nisäkkäissä antamalla ihmiselle tai muulle nisäkkäälle lihavuutta vastustava, vaikuttava määrä tai veren liikasokerisuutta vastustava, vaikuttava määrä tämän keksinnön mukaisesti saatavaa yhdistettä.

Tämän keksinnön mukaisesti saatavista yhdisteistä voidaan valmistaa farmaseuttisia koostumuksia, jotka sisältävät vaikuttavan määrän tämän keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävän kantoaineen kanssa.

Lisäksi tämän keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä voidaan käyttää rasvattoman lihan määrän kasvattamiseksi syötäväksi kelpaavissa eläimissä antamalla syötäväksi kelpaaville eläimille vaikuttava määrä ko. yhdistettä.

Tunnusomaista sokeritaudille (diabetes mellitus) ovat aineenvaihdunnalliset vajaatoiminnat glukoosin muodostamisessa ja hyödyntämisessä, mikä johtaa tarkoituksenmukaisten veren sokeriarvojen ylläpitämisen epäonnistumiseen. Näiden vajausten tulos on kohonnut veren glukoosi tai veren liikasokerisuus (hyperglycemia). Diabeteksen hoidon tutkimus on keskittynyt yrityksiin normalisoida paasto ja aterian jälkeiset veren glukoosiarvot. Hoitomenetelmiin on kuulunut lisätty insuliinin ruoansulatuskanavan ulkopuolinen antomuoto, lääkkeiden oraalinen antomuoto ja ruokavalio.

Sokeritaudin kaksi päämuotoa on nyt havaittu. Tyyppi I diabetes eli insuliinista riippuva diabetes, johtuu insuliinin, hormoonin, joka säätelee glukoosin hyödyntämistä, absoluuttisesta vajauksesta. Tyyppi II diabetes'ta eli insuliinista riippumatonta diabetesta, ilmenee usein insuliinin normaaleilla tai jopa kohonneilla arvoilla ja se vaikuttaa johtuvan kudosten kyvyttömyydestä reagoida

tarkoituksenmukaisesti insuliinille. Suurin osa tyypin II diabeetikoista ovat myös lihavia.

Tämän keksinnön mukaisesti saatavat yhdisteet testattiin veren sokerin niukkuuden ja lihavuutta vastustavan aktiivisuuden suhteen seuraavan menetelmän mukaisesti.

Lihavat hiiret (C57 Bl/6J (ob/ob)) ja/tai diabeettiset hiiret (C57 Bl/KsJ (db/db)) saatiin Jackson Laboratories'ista, Bar Harbor, Maine. Lihavat rotat (fa/fa) saatiin Charles River Laboratories'ista, Wilmington, Massachusetts. Lihavat hiiret olivat 8 viikon ikäisiä ja diabeettiset hiiret olivat 9 viikon ikäisiä kokeen alkaessa. Lihavat rotat olivat 12-14 viikon ikäisiä kokeen alkaessa.

Koeyhdisteet liuotettiin metanoliin, sekoitetiin jyrsijäruoan kanssa, perustuen yhdisteen painon suhteessa ruoan painoon, ja kuivattiin huolellisesti.

Kuuden kontrollirotan ryhmät saivat liuottimella (metanoli) käsiteltyä ruokaa.

Kuuden hiiren koeryhmiä syötettiin ad libitum aina 7 viikkoon asti ja ruoan kulutus laskettiin päivittäin punnitsemalla ruokakuppi ennen tuoreen ruoan lisäämistä ja sen jälkeen. Täten 40 g:n hiiri, jolle syötettiin koeyhdistettä pitoisuutena 0,02 % ruokavaliosta, sai 20 mg/kg/päivä annoksen, mikäli se söi 4 g ruokaa päivässä.

Kuuden rotan koeryhmille syötettiin 25 g ruokaa/päivä yksi kuukausi. Lukuunottamatta ensimmäistä tai kahta ensimmäistä päivää ne söivät kaiken ruoan jokaisena päivänä. Kun näitä eläimiä ruokitaan ad libitum, ne kuluttavat 26 g ruokaa/päivä ja yhdisteellä ei ole mitään vaikutusta ruoan kulutukseen.

Hiiret tai rotat punnittiin ennen ensimmäistä käsittelyä ja kerran esitetyn käsittelyjakson lopulla.

Verinäytteet kerättiin ennen ensimmäistä käsittelyä ja kerran jokaisen esitetyn käsittelyjakson lopussa silmäkuopan takaisella puhkaisulla (retro-orbital puncture) käyttäen heparinisoituja kapillaariputkia.

Plasma eristettiin linkoamalla Beckman mikrolingossa viisi minuutia. Plasman glukoosipitoisuudet määritettiin Beckman glukoosi-analysaattorilla, glukoosioksidaasimenetelmällä.

Näiden kokeiden tulokset tämän keksinnön edustaville yhdisteille ja aikaisemman alan vertaileville yhdisteille on esitetty taulukoissa I-III.

TAULUKKO I

Yhdiste	Hiiri-tyyppi	Annos (paino-%)	Plasmaglukoositaso; mg/100 ml Viikkoja			
			0	**1**	**4**	
(R^*,R^*)-(-/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidi	ob/ob	0 (kontrolli)	233	283	275	
		0,0005	270	164	179	
		0,002	276	150	156	
		0,005	237	143	157	
			0	**1**	**5**	**7**
	db/db	0 (kontrolli)	445	496	543	566
		0,0005	452	162	164	170
		0,002	453	151	150	161
		0,005	447	148	138	180
			0	**1**	**4**	
(R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuola	ob/ob	0 (kontrolli)	232	273	245	
		0,0005	218	193	240	
		0,002	220	162	197	
		0,005	220	145	165	
			0	**1**	**5**	**7**
	db/db	0 (kontrolli)	445	496	543	566
		0,002	453	236	190	250
		0,005	452	155	145	165
			0	**5**	**10**	
(R^*,S^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesteri	ob/ob	0 (kontrolli)	227	284	213	
		0,005	218	162	174	
		0,02	219	135	153	

TAULUKKO II
Painonmuutos

Yhdiste	Hiiri- tai rotta-tyyppi	Annos (paino-%)	Painonmuutos grammoina viikkoja				Keskimääräinen päivittäinen ruoankulutus g/eläin
			1	2	3	4	
(R*,R*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)-amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappo-dimetyyliesteri-hydrobromidi	ob/ob	0 (kontrolli)	1,4	3,7	5,4	7,2	4,5
		0,0005	0,5	2,2	3,2	5,2	5,6
		0,002	-0,3	1,1	1,6	3,2	5,6
		0,005	-1,1	-0,7	-0,2	1,6	5,8
	fa/fa	0 (kontrolli)	18	39	57	72	25
		0,0006	14	20	27	26	25
		0,002	1	2	3	4	25
		0,006	10	4	-15	-8	25
(R*,R*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuola	ob/ob	0 (kontrolli)	3,1	5,6	7,0	9,3	4,5
		0,002	1,6	4,1	4,7	7,3	5,2
		0,005	0,2	1,6	2,4	4,7	5,9

94862

TAULUKKO III
Plasmaglukoosivertailu

Yhdiste	Rotta- tai hiiri-tyyppi	Annos (paino-%)	Plasmaglukoositaso; mg/100ml Viikkoja 0	1	2
(R^*,R^*)-(+/-)-(4-(2-((2-(4-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)fenoksi)etikkahappometyyliesteri**	ob/ob	0 (kontrolli)	233	183	252
		0,0005	232	140	126
		0,0001	231	143	119
		0,005	231	137	138
	db/db	0 (kontrolli)	444	349	604
		0,005	440	138	132
(R^*,R^*)-(+/-)-α-(((2-(1,3-bentsodioksol-5-yyli)-1-metyylietyyli)-amino)metyyli)-3-klooribentseenimetanoliseos	ob/ob	0 (kontrolli)	217	217	
		0,002	226	234	
		0,005	227	175	
		0,02	227	149	
(R^*,S^*)-(+/-)-α-(((2-(1,3-bentsodioksol-5-yyli)-1-metyylietyyli)amino)metyyli)-3-klooribentseenimetanolin kanssa	ob/ob	0 (kontrolli)	217	217	
		0,002	228	204	
		0,005	226	176	
		0,02	229	128	

** Aikaisemman alan yhdiste

Taulukosta I nähdään, että tämän keksinnön yhdisteet ja niiden farmaseuttisesti aktiiviset suolat alentavat tehokkaasti veren glukoosiarvoja annettaessa oraalisesti veren liikasokerisuudesta kärsiville hiirilajeille, jotka ovat tyypin II diabeteksen eläinmalleja. Taulukosta II nähdään myös, että tämän keksinnön yhdisteet vähentävät painon lisääntymistä, kun niitä annetaan hiiri- ja rottalajeille, jotka ovat liikalihavuuden eläinmalleja. Tarkka mekanismi niiden toiminnasta ei ole tunnettua eikä keksintöä tulisi rajoittaa mihinkän erityiseen toimintamekanismiin.

Tehokkaina veren liikasokerisuutta vastustavina ja painoa vähentävinä aineina nämä yhdisteet ovat hyödyllisiä veren liikasokerisuuden hoitoon ja liikalihavuuden hoitoon tyypin II diabeteksessä.

Selektiivisyys

ß-adrenaliini- vaikutteiset reseptorit voidaan jakaa $ß_1$, $ß_2$ ja $ß_3$ alatyypeiksi. $ß_1$-reseptoreiden aktivointi lisää sydämen sykettä, kun taas $ß_2$-reseptoreiden aktivointi kiihdyttää glykogeenin hajoamista lihaksessa ja täten estää glykogeenisynteesin. $ß_3$-reseptoreiden aktivointi kiihdyttää lipolyysiä (hajottaa rasvakudoksen triglyseridit glyseroliksi ja vapaiksi rasvahapoiksi) ja edistää täten rasvamassan häviötä. Yhdisteillä, jotka kiihdyttävät $ß_3$-reseptoreita, on lihavuutta vastustavaa aktiivisuutta. Lisäksi niillä on veren liikasokerisuutta tai lihavuutta vastustavaa aktiivisuutta, mutta itse vaikutusmekanismi on tuntematon. Yhdisteellä, joka selektiivisesti stimuloi $ß_3$-reseptoreja, ts. jolla on vähän tai ei yhtään $ß_1$- tai $ß_2$-aktiivisuutta, on haluttua anti-diabetes- ja/tai lihavuutta vastustavaa aktiivisuutta, mutta ilman ei-toivottuja lisääntyneen sydämen sykkeen ($ß_1$-vaikutus) tai lihastärinän ($ß_2$-vaikutus) vaikutuksia.

Yhdisteen selektiivisyys määritettiin käyttäen seuraavia menetelmiä. Vaikutus sydämen sykkeeseen ($ß_1$-vaiku-

tus) määritettiin käyttäen eristettyä oikeaa eteistä. Marsujen sydämet pantiin petrimaljaan, jossa oli Krebs Henseleit bikarbonaattipuskuria (KHB), jolla oli seuraava koostumus (mM): NaCl, 112,9: KCl, 4,7: KH_2PO_4, 1,2: $MgSO_4$. $7H_2O$, 1,2: $NaHCO_3$, 25,0: $CaCl_2$, 2,4 ja glukoosi 11,5. Puskuria ilmastettiin jatkuvasti 95-%:sella O_2:lla - 5-%:sella CO_2:lla. Oikea eteinen poistettiin ja liitettiin toisesta päästään kudospidikkeeseen (tissue holder) ja elektrodiliitokseen (MRA Corp.) ja toinen pää liitettiin voimansiirtojärjestelmään (Gould-Statham, Burco). Kudoksia pidettiin 32 °C:ssa 50 ml:n lasikammiossa (MRA Corp.) 0,5 g:n jännityksessä. Sydämen sykettä seuratiin Gras polygrafilla. Kahden tunnin tasapainottamisen jälkeen eteinen altistettiin 1 x 10^{-6} M isoproterenolille viideksi minuutiksi. Sydämen sykkeen kasvu laskettiin ja sitä pidettiin maksimireagointina kyseiselle kudokselle. Kudokset pestiin sitten ja niiden annettiin tasapainottua 90 minuuttia. Kumulatiiviset pitoisuus-väkevöintikäyrät määritettiin sitten jokaiselle yhdisteelle tai liuottimelle. Kaikki reagoinnit mitattiin viisi minuuttia altistamisen jälkeen. Jokaisen yhdisteen reagoinnit ilmaistiin prosentuaalisena reagointina isoproterenolille. Molaarinen EC_{50}-arvo on yhdisteen pitoisuus, joka aikaansai 50 % kyseisen sydämen sykkeen maksimikasvusta.

Yhdisteiden $ß_2$-vaikutus määritettiin niiden kyvystä estää insuliinilla välitetty ^{14}C-glukoosin muodostuminen glykogeeniksi eristetyssä lihaksessa. Hiirten leveä kantalihas poistettiin, sidottiin kummastakin päästään ja pantiin pidikkeeseen jännityksen ylläpitämiseksi. Kiinnitetty lihas lisättiin ampulliin, jossa oli 2 ml KHB 1,5-%:sessa sarvikarjan seerumialbumiinissa, 0,3 mU/ml insuliinia, 5mM ($U^{-14}C$) glukoosia ja tarkoituksenmukaisina lisäyksinä yhdistettä tai liuotinta. Ampulleja kaasutettiin 95-%:sella O_2 - 5-%:sella CO_2:lla, suljettiin ja kudosta inkuboitiin yksi tunti pyörivässä vesihauteessa 37 °C:ssa. Sitten lihas

poistettiin, pestiin jääkylmällä suolaliuoksella, kuivattiin ja punnittiin. Sitten se lisättiin 1 ml:aan 30-%:sta KOH, joka sisälsi 5 mg/ml osteriglykogeeniä, kiehutettiin 10 minuuttia ja 0,4 ml 2-%:sta Na_2SO_4 ja 3,2 ml 100-%:sta etanolia lisättiin. Seisomisen jälkeen yön yli 4 °C:ssa glykogeeni pelletoitiin sentrifugoimalla, pestiin keran 66-%:sella etanolilla ja pelletoitiin uudestaan. Pelletti liuotettiin 1 ml:aan vettä ja läsnäoleva radioaktiivisuuden määrä määritettiin neste-tuikelaskimella. Glykogeeniin liitetyn radioaktiivisuuden vähentyminen jokaiselle yhdisteelle ilmoitettiin prosentuaalisena vähennyksenä 1 x 10^{-7}M isoproterenolin läsnäollessa. Molaarinen EC_{50}-arvo on yhdisteen pitoisuus, joka antaa 50 %:isen omasta maksimiprosentuaalisesta vähennyksestä insuliinilla välitetyssä ^{14}C-glukoosin liittymisessä glykogeeniksi.

Yhdisteiden β_3-vaikutus määritettiin niiden kyvystä kiihdyttää rasvasolun lipolyysiä. Rotan lisäkivesten rasvatyynyt poistettiin ja pantiin 0,9-%:iseen suolaliuokseen. 4 g kudosta siirrettiin pulloon, jossa oli 20 ml ilmastettua Krebs-Henseleit bikarbonaatti (KHB) -puskuria, joka sisälsi 3 % rasvahappo-vapaata sarvikarjaseerumialbumiinia, johon oli lisätty 75 mg raakaa bakteerista kollagenaasia (Worthington). Kudosta inkuboitiin n. 45 minuuttia 37 °C:ssa varovasti ravistaen. Solut pestiin sitten kolme kertaa kahdella tilavuudella KHB-puskuria, suodatettiin kahden metallilankasihtikerroksen läpi ja saatiin 20 ml:n lopputilavuus KHB-puskurilla. 1 ml solususpensionäytteestä lisättiin muovisiin koeputkiin, jotka sisälsivät tarkoituksenmukaisia lisäyksiä liuotinta tai yhdistettä. Soluja kaasutettiin yksi minuutti 95-%:sella O_2 - 5-%:isella CO_2:lla ja inkuboitiin 30 minuuttia. Reaktio keskeytettiin lisäämällä 0,1 ml 30-%:sta perkloorihappoa ja 0,1 ml kloroformia. Linkoamisen jälkeen 0,5 ml pinnalla olevaa nestettä siirrettiin toiseen putkeen ja neutraloitiin 0,04 ml:lla 3M K_2CO_3 - 0,5M trietanoliamiinia. Muodos-

tuneen glyserolin määrä endogeenisistä triglyserideistä määritettiin kytketty-entsyymispektrofotometrisellä kokeella. 1/10 ml neutraloitua uutetta lisättiin koeputkeen, joka sisälsi 0,91 ml analyysinäytettä, jossa oli: 0,84M glysiiniä, 0,42M hydratsiinisulfaattia, 4,2mM EDTA, 0,9 mM ß-NAD, 9,9 mM $MgCl_2$, 1 mM ATP, 17 U glyserofosfaattidehydrogenaasia ja 4,3 U glyserokinaasia. Koeputkia inkuboitiin 40 minuuttia 37 °C:ssa jatkuvasti ravistaen. Muodostuneen NADH:n määrä, joka oli suhteessa glyserolin määrään, määritettiin absorbanssin kasvusta 340 nm:ssä. Tämä arvo korjattiin muodostuneelle NADH-määrälle glyserolin poissaollessa inkuboimalla toinen neutraloidun uutteen näyte samalla näyteseoksella, mutta ilman glyserokinaasia. Molaarinen EC_{50} arvo on yhdisteen molaarinen pitoisuus, joka on 50 % yhdisteiden omasta maksimi-lipolyysistä.

Kuvassa 1 on esitetty selektiivisyysvertailu keksinnön mukaisesti saatavalle yhdisteen CL_1, (R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidin ja vastaavan aikaisemman alan yhdisteen BRL_1, (R^*,R^*)-(+/-)-(4-(2-((2-(4-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)fenoksi)etikkahappometyyliesterin (Beechman) välillä.

Tulokset osoittavat, että aikaisemman alan yhdisteellä BRL_1 on hiukan suurempi $ß_3$-tehokkuus, mutta sillä on myös suurempia ei-toivottuja $ß_1$- ja $ß_2$-aktiivisuuksia kuin CL_1:llä. Kuvassa 2 on esitetty selektiivisyysvertailu keksinnön mukaisesti saatavan yhdisteen CL_2, (R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuolan ja vastaavan aikaisemman alan yhdisteen, BRL_2, (R^*,R^*)-(+/-)-α-(((2-(1,3-bentsodioksol-5-yyli)-1-metyylietyyli)-amino)metyyli)-3-klooribentseenimetanolin (Beecham) välillä.

Tulokset osoittavat, että CL_2:lla on hieman suurempi $ß_3$-tehokkuus kuin BRL_2:lla. CL_2:lla ei ole mitattavaa $ß_1$-

aktiivisuutta, kun taas BRL_2:lla on huomattava β_1-aktiivisuus. CL_2 osoittaa ainoastaan minimaalista β_2-aktiivisuutta 1×10^{-4} M:ssä, kun taas BRL_2 on voimakas vaikuttaja, jolla on mitattava aktiivisuus 1×10^{-7}M:ssa. Täten molemmilla aikaisemman alan yhdisteillä on enemmän ei-toivottuja aktiivisuuksia kuin vastaavilla tämän keksinnön mukaisesti saatavilla yhdisteillä. Nämä tulokset on koottu seuraavaan taulukkoon IV.

Taulukkoon IV on myös koottu resoloitujen muotojen (RR ja SS) suhteelliset β_3-tehokkuudet sekä suolasta (CL_2) että metyyliesteristä (CL_1). Tästä tuloksesta nähdään, että suurin osa aktiivisuudesta on jokaisessa tapauksessa RR-isomeerissä. Dinatriumsuolojen tapauksessa RR-enantiomeeri on 47 kertaa tehokkaampi kuin SS-enantiomeeri. Metyyliesterin tapauksessa RR-isomeeri on 36 kertaa tehokkaampi.

Taulukko IV

β_3 - selektiivisyysvertailu

Yhdiste	Lipolyysi (β_3) (EC_{50}, M)	Oikean eteisen reagointi (β_1) (EC_{50}, M)	Glykogeenisynteesi (β_2) (EC_{50}, M)
Suolat:			
CL_2	6×10^{-9}	$>10^{-3}$	$>1 \times 10^{-4}$
CL_3	3×10^{-9}	-	-
CL_4	$1,4 \times 10^{-7}$	-	-
BRL_2**	9×10^{-9}	$5,6 \times 10^{-6}$	8×10^{-7}
Esterit:			
CL_1	3×10^{-8}	$1,4 \times 10^{-8}$	8×10^{-7}
CL_5	8×10^{-9}	-	-
CL_6	$2,9 \times 10^{-7}$	-	-
BRL_1**	$1,3 \times 10^{-8}$	2×10^{-7}	$1,2 \times 10^{-7}$
Isoproterenoli	$1,2 \times 10^{-8}$	$1,5 \times 10^{-9}$	8×10^{-9}

β_3 - selektiivisyys ((EC_{50} - β_1 tai β_2)/ED_{50} - β_3))

	Selektiivisyys lipolyysille:		Suhteellinen seletiivisyys (CL/BRL)	
	Eteinen	Gly. Syn.	Eteinen	Gly. Syn
Suolat:				
CL_2	>167,000	>16,700	>268	>188
BRL_2**	622	89		
Esterit:				
CL_1	47	27	3,1	3,0
BRL_1**	15	9		
Isoproterenoli	0,1	0,7		

CL_1 = (R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidi

CL_2 = (R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuola

BRL_1 = (R^*,R^*)-(+/-)-(4-(2-((2-(4-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)fenoksi)etikkahappometyyliesteri

BRL_2 = (R^*,R^*)-(+/-)-(4-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)fenoksi)etikkahaponmononatriumsuola

** = vertaileva esimerkki

CL_3 = (R,R)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikaboksyylihapon dinatriumsuola

CL_4 = (S,S)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuola

CL_5 = (R,R)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidi

CL_6 = (S,S)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidi.

Tulokset osoittavat, että tämän keksinön mukaisesti saatavat yhdisteet, CL_2 ja CL_1 ovat 200 ja 3 kertaa selektiivisempiä lipolyysille kuin aikaisemman alan yhdisteet, BRL_2 ja BRL_1, vastaavasti.

Edellä esitettyjen kykyjen lisäksi jotkut tämän keksinnön mukaisesti saatavista yhdisteistä ovat hyödyllisiä muiden tämän keksinnön mukaisesti saatavien yhdisteiden valmistamiseksi.

Keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä voidaan antaa oraalisesti farmaseuttisina koostumuksina esimerkiksi inertin laimentimen tai syötäväksi kelpaavan kantoaineen kanssa, tai ne voidaan sulkea kova- tai pehmeäkuorisiin kapseleihin tai ne voidaan puristaa tableteiksi tai ne voidaan lisätä suoraan ruokavalion ruokaan. Oraalista terapeuttista antomuotoa varten näitä aktiivisia yhdisteitä voidaan lisätä täyteaineiden kanssa ja käyttää tablettien, pillereiden, kapseleiden, ampullien, eliksiirien, suspensioiden, siirappien ja vastaavien muodossa. Tällaisten koostumusten ja valmisteiden tulisi sisältää vähintäin 0,1 % aktiivista yhdistettä. Näiden koostumusten aktiivisen yhdisteen prosenttiosuutta voidaan tietenkin vaihdella ja se voi edullisesti olla n. 2 % - 60 paino-% yksiköstä. Aktiivisen yhdisteen määrä tällaisissa terapeuttisesti hyödyllisissä koostumuksissa on sellainen, että saadaan vaikuttava annos.

Käytetty aktiivisen aineosan vaikuttava annos vaihtelee riippuen käytetystä kyseisestä yhdisteestä, antomuodosta, hoidettavasta sairaudesta ja hoidettavan sairauden vakavuudesta.

Hoidettaessa sokeritautia ja/tai veren liikasokerisuutta saadaan tavallisesti hyviä tuloksia kun keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä annetaan päivittäisinä annoksina n. 0,1 mg - n. 1 mg/kg eläimen elopainoa, edullisesti annettuna jaettuina annoksina 2 - 6 kertaa päivässä jatkuvasti erittävänä muotona. Suuremmalle osalle suurista

nisäkkäistä päivittäinen kokonaisannos on n. 3,5 mg - n. 140 mg, edullisesti n. 3,5 mg - n. 5 mg. 70 kg painavan aikuisen ihmisen tapauksessa päivittäinen kokonaisannos on tavallisesti n. 7 mg - n. 70 mg. Tätä annosaluetta voidaan säätää mahdollistamaan optimi terapeuttinen reagointi.

Hoidettaessa lihavuutta yhdessä diabeteksen ja/tai veren liikasokerisuuden kanssa tai pelkästään lihavuutta, saadaan tavallisesti tyydyttäviä tuloksia kun keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä annetaan päivittäisenä annoksena 1 mg - n. 10 mg eläimen elopaino kohti, edullisesti annettuna jaettuina annoksina 2 - 6 kertaa päivässä, tai jatkuvasti erittävänä muotona. Useimmille suurille nisäkkäille päivittäinen kokonaisannos on n. 35 mg - n. 1400 mg, edullisesti n. 35 mg - n. 50 mg. 70 kg painavan aikuisen ihmisen tapauksessa päivittäinen kokonaisannos on tavallisesti n. 70 mg - n. 700 mg. Tätä annosaluetta voidaan säätää antamaan optimaalinen terapeuttinen reagointi.

Tabletit, pillerit, kapselit ja vastaavat voivat myös sisältää sideainetta, kuten traganttikumia, akaasiaa, maissitärkkelystä tai gelatiinia; täyteaineita, kuten dikalsiumfosfaattia; disintegrointiaineita, kuten maissitärkkelystä, perunatärkkelystä, algiinihappoa; voiteluainetta, kuten magnesiumstearaattia; ja makeuttajaa, kuten sakkaroosia, laktoosia tai sakkariinia. Kun yksikköannosmuoto on kapseli, se voi sisältää, edeltävänkaltaisten aineiden lisäksi nestemäistä kantoainetta, kuten rasvaöljyä.

Monia muita aineita voi olla läsnä päällysteenä tai aineina, jotka modifioivat yksikköannoksen lääketieteellistä muotoa. Esimerkiksi tabletit voidaan päällystää sellakalla, sokerilla tai molemmilla. Siirappi tai eliksiiri voi sisältää, aktiivisen aineosan lisäksi, sakkaroosia makeuttajana, metyyli- ja propyyliparabeenejä säilöntäaineena, väri- ja makuaineita, kuten kirsikka- tai appelsiinimakua.

Näitä aktiivisia yhdisteitä voidaan antaa myös ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti. Näiden aktiivisten yhdisteiden liuokset ja suspensiot voidaan valmistaa veteen, johon on sopivasti sekoitettu pinta-aktiivista ainetta, kuten hydroksipropyyliselluloosaa. Dispersiot voidaan myös valmistaa glyseroliin, nestemäisiin polyetyleeniglykoleihin ja niiden seoksiin öljyissä. Tavallisissa varasto- ja käyttöolosuhteissa nämä valmisteet sisältävät säilöntäainetta, joka estää mikro-organismien kasvun.

Sopivat farmaseuttiset muodot injektiota varten käsittävät steriilit vesipitoiset liuokset tai dispersiot ja steriilit jauheet paikan päällä tapahtuvaa steriilien injektoitavien liuosten tai dispersioiden valmistusta varten. Kaikissa tapauksissa muodon on oltava steriili ja siinä määrin juokseva, että se on helposti injektoitavissa. Sen on oltava stabiili valmistus- ja varastointiolosuhteissa ja sen on oltava suojattu mikro-organismien kontaminoivaa vaikutusta vastaan, kuten bakteereja ja sieniä vastaan. Kantoaine voi olla liuotin tai dispersioväliaine, joka sisältää esimerkiksi vettä, etanolia, polyolia (esim. glyserolia, propyleeniglykolia ja nestemäistä polyetyleeniglykolia), niiden sopivia seoksia ja kasviöljyjä.

Keksinnön mukaisesti saatavat yhdisteet ovat myös hyödyllisiä kasvattamaan rasvattoman lihan määrää ja/tai parantamaan rasvattoman lihan/rasvan suhdetta syötäväksi kelpaavissa eläimissä, ts. kavio- ja sorkkaeläimissä ja siipikarjassa. Eläinrehukoostumukset, jotka tehokkaasti kasvattavat rasvattoman lihan osuutta ja parantavat rasvattoman/rasvaisen lihan suhdetta siipikarjassa, sioissa, lampaissa, vuohissa, kotieläimissä ja karjassa, valmistetaan tavallisesti sekoittamalla keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä riittävän määrän kanssa eläinrehua muodostamaan koostumus, jossa on n. 1 - 1000 ppm yhdistettä rehussa.

Eläimen täydennysrehuja voidaan valmistaa sekoittamalla n. 75 - 95 paino-% keksinnön mukaisesti saatavaa

yhdistettä n. 5 - n. 25 paino-%:n kanssa sopivaa kantoainetta tai laimenninta. Sopivat kantoaineet täydennysrehukoostumusten valmistamiseksi käsittävät seuraavat: luserni, soijapapu, puuvillansiemenöljy, pellavaöljy, natriumkloridi, maissi, sokeriruokomelassit, urea, luu, maissin tähkä ja vastaavat. Kantoaineet edistävät aktiivisten aineosien yhtäläistä jakautumista loppurehussa, johon täydennys sekoitetaan. Täten se suoriutuu tärkeästä tehtävästään varmistaen aktiivisen aineosan hyvän jakautumisen rehussa.

Mikäli täydennystä käytetään pintarehuna, se yhtälailla varmistaa aktiivisen aineen yhtäläisen jakautumisen rehun pinnalla.

Edullinen lääkettä sisältävä sian-, karja-, lammas- ja vuohirehu sisältää tavallisesti 0,01 - 400 g aktiivista aineosaa rehutonnia kohti, optimimäärän näille eläimille ollessa tavallisesti n. 50 - 300 g rehutonnia kohti.

Edulliset siipikarja- ja kotieläinrehut sisältävät tavallisesti n. 0,01 - 400 g, ja edullisesti 10 - 400 g aktiivista aineosaa rehutonnia kohti.

Ruoansulatuskanavan ulkopuolista antomuotoa varten keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä voidaan valmistaa pastojen tai pellettien muotoon ja antaa istutuksena, tavallisesti eläimen pään tai korvan ihon alle, jossa eläimessä toivotaan kasvua rasvattoman lihan osuudessa ja parannusta rasvattoman/rasvaisen lihan suhteessa.

Tavallisesti ruoansulatuskanavan ulkopuolinen antomuoto käsittää injektion, jossa on riittävä määrä keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä antamaan eläimelle 0,001 - 100 mg/kg/päivä elopainoa kohden aktiivista aineosaa. Edullinen annos sioille, karjalle, lampaille ja vuohille on alueella n. 0,001 - 50 mg/kg/päivä elopainoa kohden aktiivista aineosaa; kun taas edullinen annosalue siipikarjalle ja kotieläimille on tavallisesti alueella 0,001 - 35 mg/kg/päivä elopainoa kohti.

Pastaformuloinnit voidaan valmistaa dispergoimalla aktiivinen yhdiste farmaseuttisesti hyväksyttävään öljyyn, kuten maapähkinäöljyyn, seesamiöljyyn, maissiöljyyn tai vastaaviin.

Pelletit, jotka sisältävät vaikuttavan määrän keksinnön mukaisesti saatavia yhdisteitä, voidaan valmistaa sekoittamalla kyseisiä yhdisteitä laimentimien, kuten karbovahan, karnubavahan ja vastaavien kanssa, ja voiteluaineita, kuten magnesium- tai kalsiumstearaattia voidaan lisätä parantamaan pelletointia.

Tietenkin on otettava huomioon, että enemmän kuin yksi pelletti voidaan antaa eläimelle halutun annostason saavuttamiseksi, joka aiheuttaa rasvattoman lihan osuuden kasvua ja parantaa rasvattoman/rasvaisen lihan suhdetta halutuksi. Lisäksi on havaittu, että istutukset voidaan myös tehdä jaksottaisesti eläimen hoitojakson aikana sopivan lääketason ylläpitämiseksi eläinten kehossa.

Keksinnön mukaisesti saatavilla yhdisteillä on monia etuja; lemmikin omistajalle tai eläinlääkärille, joka haluaa kasvattaa rasvattomuutta ja poistaa ei-toivotun rasvan lemmikkieläimistä, mainitut yhdisteet mahdollistavat sen, että tämä voidaan toteuttaa. Siipikarjan ja sikojen kasvattajat, jotka käyttävät mainittuja yhdisteitä, saavat rasvattomampia eläimiä ja täten korkeampia hintoja lihateollisuudesta.

Tulokset keksinnön mukaisesti saatavien yhdisteiden vaikutuksesta eläinten kasvuun käyvät ilmi taulukosta V.

<u>Koeyhdisteiden antilipogeeninen arviointi - hiiritutkimus</u>

CFI naarashiiret, 55 päivän ikäisiä, punnitaan viiden ryhminä ja jaetaan häkkeihin painon vaihteluvaikutuksen minimoimiseksi. Käsittelyt valitaan satunnaisesti häkeille.

Hoitomenetelmät testataan 1 - 3 toistoina, ts. kolmessa häkissä, joissa jokaisessa on viisi hiirtä. Käyte-

tään 10 häkkiä, joissa jokaisessa on viisi kontrollihiirtä. Koeyhdisteet sekoitetaan ruokavalioon esitettynä annospitoisuutena. Ruokaa ja vettä annetaan ad libitum 12 päivää koejakson aikana. Hiiret punnitaan viiden ryhmänä ja painon lisäys määritetään. Hiiret tapetaan katkaisemalla kaula. Jokaisen hiiren kohdun oikeanpuoleinen rasvatyyny poistetaan. Jokaisen häkin viiden hiiren rasvatyynyt punnitaan yhdessä. Rasva suhteessa kehon painoon määritetään käyttäen rasvatyynyjen absoluuttista painoa ja kehon absoluuttista painoa.

Voidaan havaita, että vähennys eläinten rasvatyynyjen painoissa viittaa tavallisesti käsiteltyjen eläinten kehon kokonaisrasvaosuuden vähentymiseen.

TAULUKKO V
Koeyhdisteiden jaettu vaikutus

Yhdiste	Annos PPM	AGR-%* kasvu suhteessa kontrolliin	Rasvavähennys suhteessa kontrolliin, %	Rasva/elopaino-suhde
(R^*,R^*)-(+/-)-5-[2-[[2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli]amino]propyyli]-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuola,	200	-3,47	56,76	1:29
(R^*,R^*)-(+/-)-5-[2-[[2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli]amino]propyyli]-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidi,	200	12,90	65,51	1:43
[R-(R^*,R^*)]-5-[2-[[2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli]amino]propyyli]-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapondi natriumsuola,	200 100 50	14,30 4,36 -9,23	53,65 58,19 54,35	1:33 1:33 1:26
[R-(R^*,R^*)]-5-[2-[[2-[3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli]amino]propyyli]-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappobis(1-metyylietyyli)esterin hydrokloridi,	200 100 50	23,92 9,74 15,58	60,25 60,90 68,01	1:43 1:40 1:32
KONTROLLI				1:13

*AGAR - eläimen kasvunlisäys

94862

Yhdisteet osoittivat hyvää rasvan vähentämisaktiivisuutta vaikuttamatta eläimen normaalikasvuun.

Seuraavat spesifiset esimerkit kuvaavat tätä keksintöä.

Esimerkki 1

(R*,R*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesteri

Seokseen, jossa oli 53,2 g trimetyylisilyylisyanidia ja 0,5 g vedetöntä alumiinikloridia argonin paineessa, lisättiin tipoittain 75,3 g 3-klooribentsaldehydiä sellaisella nopeudella, että reaktiolämpötila ei ylittänyt 80 °C. Seosta sekoitettiin 30 minuuttia, suodatettiin sitten ja pestiin eetterillä. Yhdistetty suodos ja pesu haihdutettiin öljyksi, joka tislattiin Kugelrohrilla antamaan 107,4 g O-trimetyylisilyyli-3-kloromandelonitriiliä (70-77 °C) vaaleankeltaisena nesteenä.

Seokseen, jossa oli 34,7 g natriumboorihydridiä ja 500 ml tetrahydrofuraania, lisättiin 104,6 g trifluorietikkahappoa 40 minuutin aikana sekoittaen 20 °C:n vesihauteessa. 110 g:n annos O-trimetyylisilyyli-3-kloromandelonitriiliä lisättiin 45 minuutin aikana, mitä seurasi 150 ml tetrahydrofuraania. Seosta sekoitettiin yön yli 20 °C:n vesihauteessa, sitten lisättiin tipoittain 500 ml vettä jäähdyttäen jäähauteessa. Seosta sekoitettiin sitten huoneen lämpötilassa yksi tunti, suodatettiin piimaan läpi, pestiin tetrahydrofuraanilla ja yhdistettyä suodosta ja pesua väkevöitiin tyhjössä, kunnes suurin osa tetrahydrofuraanista oli poistunut. 250 ml:n annos vettä ja 150 ml väkevää vetykloridihappoa lisättiin, liuosta kuumennettiin höyryhauteessa 1,5 tuntia, jäähdytettiin ja uutettiin kahdesti dikloorimetaanilla. Vesipitoiset uutteet yhdistettiin, tehtiin voimakkaasti emäksiseksi 200 ml:lla 10N natriumhydroksidia kylmähauteessa ja uutettiin neljä kertaa

dikloorimetaanilla. Dikloorimetaaniuutteet yhdistettiin, pestiin kahdesti vedellä, kuivattiin ja haihdutettiin keltaiseksi öljyksi. Tämä öljy liuotettiin eetteriin, suodatettiin piimaan läpi ja haihdutettiin öljyksi. Tämä öljy tislattiin Kugelrohrilla antamaan 58,73 g 2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyliamiinia paksuna oranssisena öljynä.

Seosta, jossa oli 4 g 2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyliamiinia, 4,53 g 3,4-dimetoksifenyyliasetonia, 2 g natriumsyaaniboorihydridiä ja 40 ml metanolia, sekoitettiin kolme tuntia ja käsiteltiin sitten antamaan 7,5 g öljyä. Tämä öljy puhdistettiin kromatografisesti, eluoiden heksaani:etyyliasetaatilla (1:1), sitten etyyliasetaatilla, antamaan 5,35 g 3-kloori-α-(((2-(3,4-dimetoksifenyyli)-1-metyylietyyli)amino)metyyli)bentseenimetanolia paksuna keltaisena siirappina.

Seosta, jossa oli 4,39 g 3-kloori-α-(((2-(3,4-dimetoksifenyyli)-1-metyylietyyli)amino)metyyli)bentseenimetanolia, 4,5 g karbonyylidi-imidatsolia, 13 ml trietyyliamiinia ja 45 ml tetrahydrofuraania, sekoitettiin yön yli, kaadettiin sitten veteen ja uutettiin kahdesti etyyliasetaatilla. Uutteet yhdistettiin, pestiin kahdesti 2N vetykloridihapolla, kerran suolaliuoksella, kuivattiin ja haihdutettiin öljyksi. Tämä öljy kromatografoitiin, eluoiden heksaani:etyyliasetaatilla (3:1 - 2:1). Jakeet 16-19 yhdistettiin ja haihdutettiin antamaan 2,02 g väritöntä siirappia. Jääkylmään liuokseen, jossa oli 1,71 g tätä siirappia 70 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin tipoittain 1,3 ml booritribromidia. Seosta sekoitettiin 0-5 °C:ssa 15 minuuttia, sitten huoneen lämpötilassa 20 minuuttia, jäähdytettiin vedellä ja sekoitettiin 20 minuuttia. Dikloorimetaanikerrokset erotettiin, pestiin suolaliuoksella, kuivattiin ja haihdutettiin antamaan 1,6 g ($\underline{R}^*$, $\underline{S}^*$)-(+/-)-5-(3-kloorifenyyli)-3-(2-(3,4-dihydroksifenyyli)-1-metyylietyyli)-2-oksatsolidinonia vaahtomaisena kiinteänä aineena.

Seosta, jossa oli 0,8 g edeltävää oksatsolidinonia, 0,74 g dietyylidibromimalonaattia, 1,2 g vedetöntä kaliumkarbonaattia ja 20 ml asetonia, sekoitettiin yön yli ja siihen lisättiin muutama tippa dietyylidibromimalonaattia. Seos suodatettiin, pestiin asetonilla ja yhdistetty suodos ja pesu haihdutettiin keltaiseksi öljyksi. Öljy puhdistettiin flashkromatografisesti, eluoiden 5-%:sella asetonilla tolueenissa. Puhtaat jakeet yhdistettiin ja haihdutettiin antamaan 766 mg ($\underline{R}^*$,$\underline{S}^*$)-(+/-)-5-(2-(5-(3-kloorifenyyli)-2-okso-3-oksatsolidinyyli)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodietyyliesteriä, värittömänä öljynä.

Seosta, jossa oli 636 mg edeltävää dietyyliesteriä, 23 ml 5N natriumhydroksidia ja 44 ml etanolia, kuumennettiin palautusjäähdyttäen argonin paineessa yön yli ja jäähdytettiin ja haihdutettiin sitten. Kiinteä jäännös otettiin talteen metanoliin, pantiin jäähauteeseen ja vetykloridikaasua kuplitettiin liuokseen 3 - 4 minuuttia. Seosta sekoitettiin 1,5 tuntia, kaadettiin sitten varovasti kyllästettyyn vesipitoiseen natriumbikarbonaattiin ja uutettiin etyyliasetaatilla. Tämä etyyliasetaattiuute pestiin suolaliuoksella, kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin öljyksi. Tämä öljy puhdistettiin flashkromatografisesti, eluoiden etyyliasetaatilla. Puhtaat jakeet yhdistettiin ja haihdutettiin antamaan 264 mg haluttua tuotetta värittömänä öljynä.

Esimerkki 2

($\underline{R}^*$,$\underline{S}^*$)-(+/-)-((5-(2-(5-(3-kloorifenyyli)-2-okso-3-oksatsolidinyyli)propyyli-1,3-bentsodioksol-2,2-diyyli)bis(metyleenioksi)bisetikkahappodimetyyliesteri

Seos, jossa on 1,63 g ($\underline{R}^*$,$\underline{S}^*$)-(+/-)-5-(2-(5-(3-kloorifenyyli)-2-okso-3-oksatsolidinyyli)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodietyyliesteriä, saatetaan reagoimaan 2,5 g:n kanssa litiumboorihydridiä

25 ml:ssa vedetöntä tetrahydrofuraania antamaan 1,26 g vastaavaa alkoholia valkoisena vaahtona.

590 mg:n annos 60-%:sta natriumhydridiä pestään kolme kertaa heksaanissa. Tähän lisätään argonin paineessa 10 ml kuivaa tetrahydrofuraania ja viiden minuutin aikana liuos, jossa on 1,24 g ($\underline{R}^*,\underline{R}^*$)-(+/-)-5-(2-(5-(3-kloorifenyyli)-2-okso-3-oksatsolidinyyli)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappoa 10 ml:ssa kuivaa tetrahydrofuraania. Liuosta sekoitetaan viisi minuuttia, sitten lisätään 1,36 g metyylibromiasetaattia 10 minuutin aikana. Sekoittamisen jälkeen yön yli tämä seos kaadetaan vesipitoiseen ammoniumkloridiin ja uutetaan kahdesti etyyliasetaatilla. Uutteet yhdistetään, kuivataan ja haihdutetaan öljyksi, joka puhdistetaan kromatografisesti, antamaan 1,03 g haluttua tuotetta vaaleankeltaisena öljynä.

Esimerkki 3

($\underline{R}^*,\underline{R}^*$)-(+/-)-3-(2-(2,2-bis((2-hydroksietoksi)metyyli)-1,3-bentsodioksol-5-yyli)-1-metyylietyyli)-5-(3-kloorifenyyli)-2-oksatsolidinoni

Seoksen, jossa on 420 mg ($\underline{R}^*,\underline{R}^*$)-(+/-)-(5-(2-(5-(3-kloorifenyyli)-2-okso-3-oksatsolidinyyli)propyyli-1,3-bentsodioksoli)-2,2-diyyli)bis(metyleenioksi)bisetikkahappodimetyyliesteriä, 0,75 g litiumboorihydridiä ja 10 ml vedetöntä tetrahydrofuraania, annetaan reagoida 1,5 tuntia, mikä antaa 340 mg haluttua tuotetta maitomaisena kalvona.

Esimerkki 4

($\underline{R}^*,\underline{R}^*$)-(+/-)-((5-(2-(2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksol-2,2-diyyli)bis(metyleenioksi)bisetikkahappo,dimetyyliesteri

Seosta, jossa on 370 mg ($\underline{R}^*,\underline{R}^*$)-(+/-)-(5-(2-(5-(3-kloorifenyyli)-2-okso-3-oksatsolidinyyli)propyyli)-1,3-bentsodioksol-2,2-diyyli)bis(metyleenioksi)bisetikkahappodimetyyliesteriä, 9 ml 5N natriumhydroksidia ja 19 ml

absoluuttista etanolia, palautusjäähdytetään yön yli, jäähdytetään sitten, tehdään happamaksi pH-arvoon 5 väkevällä vetykloridihapolla ja haihdutetaan kuiviin tyhjössä. Jäännös liuotetaan 20 ml:aan metanolia, kyllästetään sitten vetykloridikaasulla ja sekoitetaan 1,5 tuntia. Seos kaadetaan vesipitoiseen natriumbikarbonaattiin ja uutetaan kahdesti etyyliasetaatilla. Uutteet yhdistetään, pestään suolaliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Jäännös puhdistetaan flashkromatografisesti eluoiden etyyliasetaatilla antamaan 220 mg haluttua tuotetta vaaleankeltaisena paksuna öljynä.

Esimerkki 5

($\underline{R}^*$,$\underline{R}^*$)-(+/-)-α-(((2-(2,2-bis((2-hydroksietoksi)-metyyli)-1,3-bentsodioksol-5-yyli)-1-metyylietyyli)amino)metyyli)-3-klooribentseenimetanoli

Seosta, jossa on 270 mg ($\underline{R}^*$,$\underline{R}^*$)-(+/-)-3-(2-(2,2-bis((2-hydroksietoksi)metyyli)-1,3-bentsodioksol-5-yyli)-1-metyylietyyli)-5-kloorifenyyli)-2-oksatsolidinonia, 200 ml etanolia ja 5 ml 5N natriumhydroksidia, palautusjäähdytetään argonin paineessa 8 tuntia, kaadetaan sitten suolaiseen veteen ja uutetaan kahdesti etyyliasetaatilla. Uutteet yhdistetään, pestään suolaliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan. Jäännös puhdistetaan flashkromatografisesti eluoiden dikloorimetaani:metanoli:ammoniumhydroksidilla (250:35:5). Jakeet 3 ja 4 yhdistetään ja haihdutetaan antamaan 170 mg haluttua tuotetta paksuna keltaisena öljynä.

Esimerkki 6

(R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuola,

Liuosta, jossa on (R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-(5-(3-kloorifenyyli)-2-okso-3-oksatsolidinyyli)propyyli-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappo dietyyliesteriä, (550 mg, 1,09 mmoolia), 5N NaOH:ia (15 ml) ja tislattua vettä (15 ml), kuumennetaan palautusjäähdyttäen argonin ilmake-

hässä 17 tuntia. Liuos jäähdytetään ja tehdään happamaksi pH-arvoon 9 käyttäen väkevää HCl, mikä aiheuttaa valkoisen kiinteän aineen saostumisen suurina määrinä. Seos suodatetaan ja kiinteä aine pestään vedellä. Yhdistetty suodos ja vesipesu (53 ml) pannaan pylvääseen, joka on täytetty C_{18} käänteisfaasisilikageelillä (75 ml), joka on ensin pesty MeOH:lla (150 ml) ja sitten pH 8,5-liuoksella ja sitten tuote eluoidaan käyttäen MeOH:vettä (1:1). Tuote, joka sisältää jakeet, antaa keltaisen öljyn, joka muuttuu jauhemaiseksi kiinteäksi aineeksi lisättäessä MeOH. Kiinteä aine kerätään ja pestään eetterillä antamaan kuiva valkoinen jauhe, 395 mg (78 %).

Esimerkki 7

(R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterin hydrobromidi

Absoluuttista metanolia (20 ml) käsitellään tipoittain tislatulla asetyylibromidilla (20 tippaa) ja liuosta sekoitetaan viisi minuuttia. Tähän liuokseen lisätään (R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuolaa (500 mg, 1,09 mmoolia) ja liuosta sekoitetaan 24 tuntia huoneen lämpötilassa. Liuos haihdutetaan antamaan ruskea öljy, joka liuotetaan kloroformiin ja suodatetaan natriumbromidin poistamiseksi. Kloroformi haihdutetaan ja eetteriä lisätään muodostuneeseen ruskeaan öljyyn antamaan vaaleanruskea kiinteä aine. Kiinteä aine kerätään ja pestään eetterillä antamaan kuiva jauhe (520 mg, 90 %). Uudelleenkiteyttäminen asetonitriili-eetteristä saostaa analyyttisen näytteen, sp. 145-147 °C.

Esimerkki 8

(R,R)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)-amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuola ja

(S,S)-5-(2-((-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)-amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuola

Liuosta, jossa on (R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesterihydrobromidia (1,00 g, 1,88 mmoolia), trietyyliamiinia (0,48 g, 4,71 mmoolia) ja (S)-(-)-2-trifluorimetyyli-2-metoksifenyyliasetyylikloridia (0,54 g, 2,26 mmoolia) 10 ml:ssa metyleenikloridia, sekoitetaan huoneen lämpötilassa kolme päivää. Keltainen liuos laimennetaan 50 ml:lla eetteriä ja pestään peräkkäin 2N HCl:llä, vesipitoisella natriumbikarbonaatilla ja suolaliuoksella. Orgaaninen liuos kuivataan ($MgSO_4$), suodatetaan ja väkevöidään antamaan keltainen öljy. Puhdistaminen valmistavalla HPLC:llä (silika, heksaani:etyyliasetaatti 4:1) antaa: (1) vähemmän polaarisen isomeerin, 229 mg (18 %) ja (2) polaarisemman isomeerin, 248 mg (20 %), molemmat kuivina vaahtoina.

Polaarisempaa isomeeriä (235 mg, 0,353 mmoolia) kuumennetaan palautusjäähdyttäen liuoksessa, jossa on etanolia (4 ml) ja 5N NaOH (2 ml), 24 tuntia argonin ilmakehässä. Liuos jäähdytetään ja tehdään happamaksi pH-arvoon 9 käyttäen väkevää HCl, mikä aikaansaa valkean kiinteän aineen muodostumisen. Koko seos panostetaan flashkromatografiapylvääseen, joka on täytetty C_{18} silikalla (40 ml), joka on valmistettu kuten (R^*,S^*)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodinatriumsuolakokeessa. Tuotteen eristäminen toteutetaan samalla tavalla kuten edellä on kuvattu. Saadaan tuote (pelkästään yhtä enantiomeeriä) valkoisena jauheena (117 mg, 71 %). Toinen enantiomeeri

saadaan vähemmän polaarisen diastereomeerin vastaavasta hydrolyysistä.

Esimerkki 9

(R,R)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)-amino)-propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihapon dinatriumsuola

Seosta, jossa on 25 g L-DOPA, 27,7 g di-t-butyylidikarbonaattia 300 ml:ssa dimetyyliformamidia, kuumennetaan 65 °C:ssa 22 tuntia, jäähdytetään, kaadetaan 5-%:seen sitruunahappoliuokseen ja uutetaan kahdesti etyyliasetaatilla. Etyyliasetaattiuutteet pestään suolaliuoksella, kuivataan, suodatetaan ja haihdutetaan antamaan 31,0 g (S)-N-(1,1-dimetyylietoksi)karbonyyli-3-hydroksi-L-tyrosiinia, ruskeana öljynä.

Seosta, jossa on 31,0 g edeltävää t-butyylikarbonaattijohdannaista, 52 ml jodimetaania ja 145 g vedetöntä kaliumkarbonaattia 300 ml:ssa asetonia, kuumennetaan palautusjäähdyttäen 20 tuntia, jäähdytetään, suodatetaan ja liuotin haihdutetaan antamaan jäännös. Tämä jäännös jaetaan sitten veden ja metyleenikloridin kesken. Metyleenikloridiuute pestään suolaliuoksella, kuivataan, suodatetaan ja haihdutetaan antamaan 27 g (S)-N-(1,1-dimetyylietoksi)karbonyyli-3,4-dimetoksi-L-fenyylialaniini, metyyliesteriä keltaisena kiinteänä aineena.

Seoksen, jossa on 27,0 g edeltävää esterijohdannaista, 3,7 g litiumboorihydridiä ja 180 ml tetrahydrofuraania, annetaan reagoida 18 tuntia, mikä antaa 22,0 g (S)-1,1-dimetyylietyyli-(2-(3,4-dimetoksifenyyli)-1-(hydroksimetyyli)etyyli)karbamaattia valkoisena kiinteänä aineena.

Jääkylmään liuokseen, jossa on 22,0 g edeltävää hydroksimetyylijohdannaista, 15 ml trietyyliamiinia 140 ml:ssa vedetöntä tetrahydrofuraania, lisätään 7,0 ml metaanisulfonyylikloridia, sekoitetaan huoneen lämpötilassa kaksi tuntia, laimennetaan vedellä ja uutetaan etyyli-

asetaatilla. Etyyliasetaattiuute pestään 2N vetykloridihapolla, 1N natriumhydroksidilla, suolaliuoksella ja kuivataan sitten, suodatetaan ja haihdutetaan antamaan 25,0 g (S)-1,1-dimetyylietyyli-(2-(3,4-dimetoksifenyyli)-1-((metyylisulfonyyli)oksi)metyyli)etyyli)karbamaattiavalkoisena kiinteänä aineena.

Seoksen, jossa on 18,0 g edeltävää mesyylijohdannaista ja 35 ml trifluorietikkahappoa 80 ml:ssa metyylikloridia, annetaan reagoida 18 tuntia ja liuotin haihdutetaan antamaan harmaa öljy. Öljy liuotetaan etanoliin ja 15 g:aan natriumasetaattia ja 1,8 g 10-%:sta palladium/-hiiltä lisätään. Saatua seosta hydrataan sitten Parr-sekoittimessa yön yli. Katalyytti suodatetaan ja suodos haihdutetaan antamaan öljy. Öljy puhdistetaan Kugelrohrtislauksella antamaan 5,8 g (R)-3,4-dimetoksimetyylibentseenietaaniamiinia valkoisena kiinteänä aineena.

Seosta, jossa on 420 mg edeltävää amiinia ja 311 mg N-(trimetyylisilyyli)asetamidia 2 ml:ssa dimetyylisulfoksidia, sekoitetaan huoneen lämpötilassa yksi tunti. Liuosta, jossa on 349 mg 3-klooristyreenioksidia 0,3 ml:ssa dimetyylisulfoksidia, lisätään edeltävään seokseen ja saatua seosta kuumennetaan 65 °C:ssa - 70 °C:ssa 20 tuntia, jäähdytetään, kaadetaan seokseen, jossa on jäätä ja väkevää vetykloridihappoa, sekoitetaan, tehdään emäksiseksi 10N NaOH:lla ja uutetaan etyyliasetaatilla. Etyyliasetaattiuute pestään suolaliuoksella, kuivataan, suodatetaan ja haihdutetaan antamaan öljy, joka puhdistetaan flashkromatografisesti antamaan 489 mg (R,S)- ja (S,S)-3-kloori-α-(((2-(3,4-dimetoksifenyyli)-1-metyylietyyli)amino)metyyli)bentseenimetanolia.

Seosta, jossa on 1,4 g edeltäviä bentseenimetanolijohdannaisia, 1,39 g karbonyylidi-imidatsolia, 3,5 ml trietyyliamiinia ja 15 ml tetrahydrofuraania, sekoitetaan yön yli, kaadetaan sitten veteen ja uutetaan kahdesti etyyliasetaatilla. Etyyliasetaattiuute pestään 2N vetykloridiha-

polla, suolaliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan öljyksi. Öljy kromatografoidaan, eluoidaan heksaani:etyyliasetaatilla (3:1 - 2:1). Sakkaa sisältävät jakeet yhdistetään ja haihdutetaan antamaan 318 mg väritöntä öljyä. Jääkylmään liuokseen, jossa on 300 mg tätä öljyä, lisätään tipoittain 0,23 ml booritribromidia. Seosta sekoitetaan 0-5 °C:ssa 15 minuuttia, sitten huoneen lämpötilassa 20 minuuttia, jäähdytetään vedellä ja sekoitetaan 20 minuuttia. Dikloorimetaanikerros erotetaan, pestään suolaliuoksella, kuivataan ja haihdutetaan antamaan 254 mg (R,R)-5-(3-kloorifenyyli)-3-(2-(3,4-dihydroksifenyyli)-1-metyylietyyli)-2-oksatsolidinonia vaahtomaisena kiinteänä aineena.

Seosta, jossa on 240 mg edeltävää oksatsolidinonia, 243 mg dietyylibromimalonaattia, 450 mg vedetöntä kaliumkarbonaattia ja 10 ml asetonia, sekoitetaan yön yli, suodatetaan, pestään asetonilla ja haihdutetaan ruskeaksi öljyksi. Öljy puhdistetaan flashkromatografisesti, eluoiden 5-%:sella asetonilla tolueenissa. Puhtaat jakeet yhdistetään ja haihdutetaan antamaan 237 mg (R,R)-5-(3-kloorifenyyli)-2-okso-3-oksatsolidinyyli)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodietyyliesteriä värittömänä öljynä.

Seosta, jossa on 234 mg edeltävää dietyyliesteriä, 8,5 ml 5N natriumhydroksidia ja 17 ml etanolia, kuumennetaan palautusjäähdyttäen argonin paineessa yön yli, jäähdytetään ja tehdään sitten happamaksi pH-arvoon 9 käyttäen väkevää vetykloridihappoa, mikä saa aikaan valkoisen kiinteän aineen saostumisen suurina määrinä. Seos suodatetaan ja kiinteä aine pestään vedellä. Yhdistetty suodos ja vesipesu (22 ml) panostetaan pylvääseen, joka on täytetty C_{18} käänteisfaasisilikageelillä, joka on ensin pesty metanolilla (64 ml) ja sitten pH 8,5-liuoksella. Tuote eluoidaan käyttäen metanoli:vettä (1:1). Tuotteen, joka sisältää jakeet, haihduttaminen antaa keltaisen öljyn, joka muuttuu jauhemaiseksi kiinteäksi aineeksi lisättäessä metanolia.

Kiinteä aine kerätään ja pestään eetterillä antamaan 8,5 mg tämän esimerkin yhdistettä valkoisena kiinteänä aineena.

Esimerkki 10

(R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodietyyliesterin hydrobromidi

Esimerkin 7 menetelmä dimetyyliesterin valmistamiseksi toistetaan korvaamalla metanoli etanolilla muodostamaan esimerkin yhdiste valkoisena jauheena, sp. 174-176 °C.

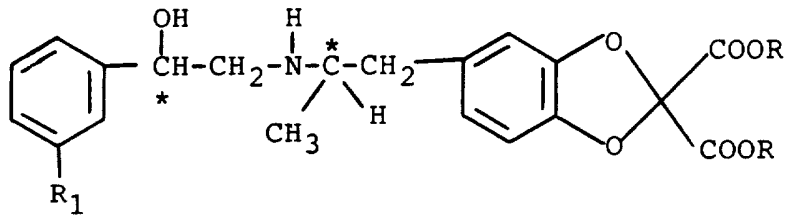
Esimerkki 11

(R^*,R^*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodi-isopropyyliesterin hydrobromidi

Esimerkin 7 menetelmä dimetyyliesterin valmistamiseksi toistetaan korvaamalla metanoli 2-propanolilla muodostamaan esimerkin yhdiste valkeahkona jauheena, sp. 170-172 °C.

Patenttivaatimukset

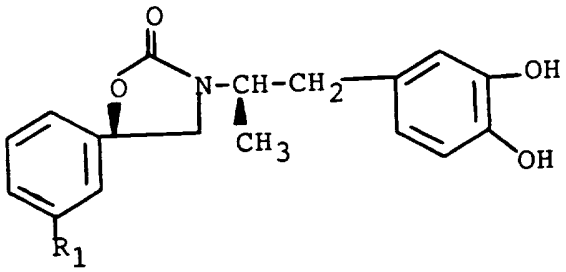
1. Menetelmä uusien, terapeuttisesti käyttökelpoisten 5-(2-((2-aryyli-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksolijohdannaisten valmistamiseksi, joilla on kaava XIV



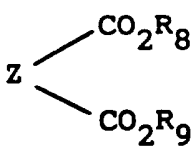
(XIV)

jossa R_1 on halogeeni; ja kumpikin R on vety tai C_1-C_4-alkyyli; ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävien suolojen, niiden enantiomeerien, niiden raseemisten seosten ja niiden diastereomeeristen seosten valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että

(a) saatetaan yhdiste, jolla on kaava

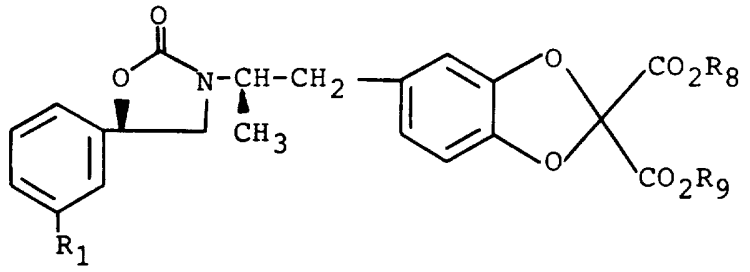


jossa R_1 merkitsee samaa kuin edellä, reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava



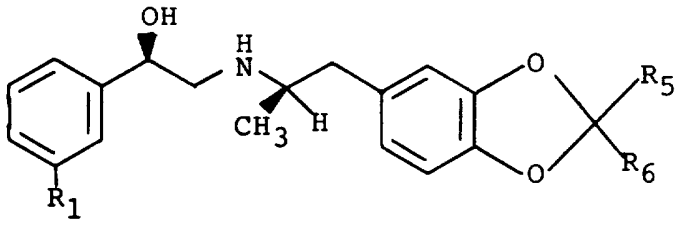
jossa R_8 ja R_9 ovat kumpikin C_1-C_4-alkyyli ja Z on dihalo-

geenimetyleeni, muodostamaan yhdiste, jolla on kaava



jossa R_1, R_8 ja R_9 merkitsevät samaa kuin edellä; ja

(b) (i) saatetaan vaiheen (a) tuote reagoimaan ensin emäksen kanssa ja sitten hapon kanssa alkoholissa muodostamaan yhdiste, jolla on kaava



jossa R_1 merkitsee samaa kuin edellä ja R_5 ja R_6 ovat kumpikin alkoksikarbonyyli; ja valinnaisesti,

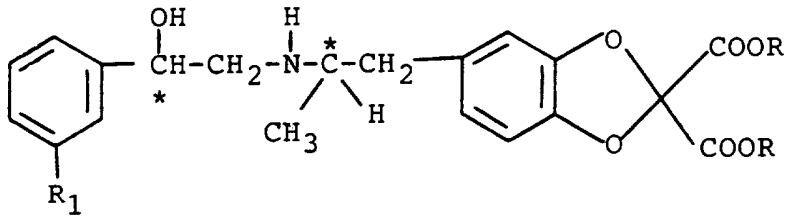
(b) (ii) saatetaan vaiheen (b) (i) tuote reagoimaan aineen tai aineiden kanssa, jotka muuttavat ryhmät R_5 ja R_6 karboksiryhmiksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (R*,R*)(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappodimetyyliesteri tai sen hydrobromidisuola.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan (R*,R*)-(+/-)-5-(2-((2-(3-kloorifenyyli)-2-hydroksietyyli)amino)propyyli)-1,3-bentsodioksoli-2,2-dikarboksyylihappo tai sen dinatriumsuola.

Patentkrav

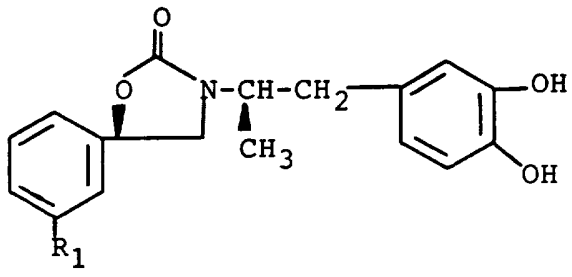
1. Förfarande för framställning av nya, terapeutiskt användbara 5-(2-((2-aryl-2-hydroxietyl)amino)propyl)-1,3-bensodioxolderivat med formeln XIV



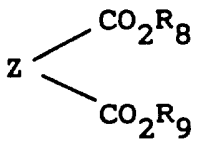
(XIV)

vari R_1 är halogen; och båda R betecknar väte eller C_1-C_4-alkyl; och farmaceutiskt godtagbara salter därav, enantiomerer därav, racemiska blandningar därav samt diastereomera blandningar därav, k ä n n e t e c k n a t därav, att man

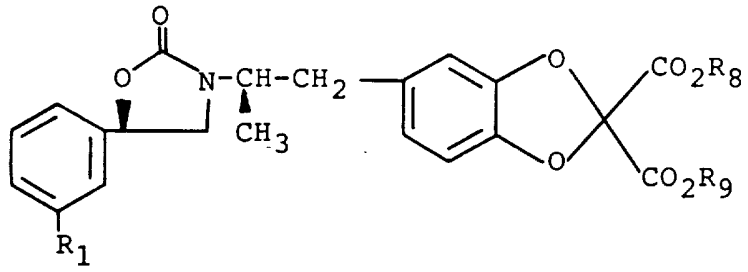
(a) omsätter en förening med formeln



vari R_1 betecknar samma som ovan, med en förening med formeln

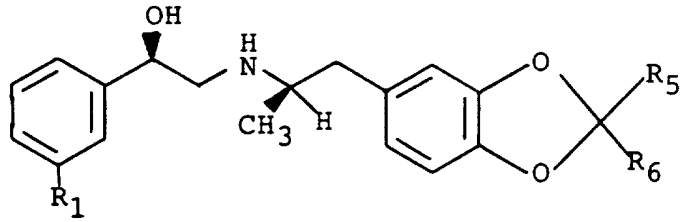


vari R_8 och R_9 båda betecknar C_1-C_4-alkyl och Z är dihalogenmetylen, för att bilda en förening med formeln



vari R_1, R_8 och R_9 betecknar samma som ovan; och

(b) (i) omsätter produkten från steg (a) först med en bas och sedan med en syra i en alkohol, för att bilda en förening med formeln



vari R_1 betecknar samma som ovan och R_5 och R_6 båda betecknar alkoxikarbonyl; och valfritt,

(b) (ii) omsätter produkten från steg (b) (i) med ett ämne eller ämnen som omvandlar grupperna R_5 och R_6 till karboxigrupperna.

2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att man framställer (R*,R*)(+/-)-5-(2-((2-(3-klorfenyl)-2-hydroxietyl)amino)propyl)-1,3-bensodioxol-2,2-dikarboxylsyradimetylester eller hydrobromidsalt därav.

3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att man framställer (R*,R*)(+/-)-5-(2-((2-(3-klorfenyl)-2-hydroxietyl)amino)propyl)-1,3-bensodioxol-2,2-dikarboxylsyra eller dinatriumsalt därav.

AKTIIVISUUS

% MAKSIMAALISESTA ISO-VASTEESTA

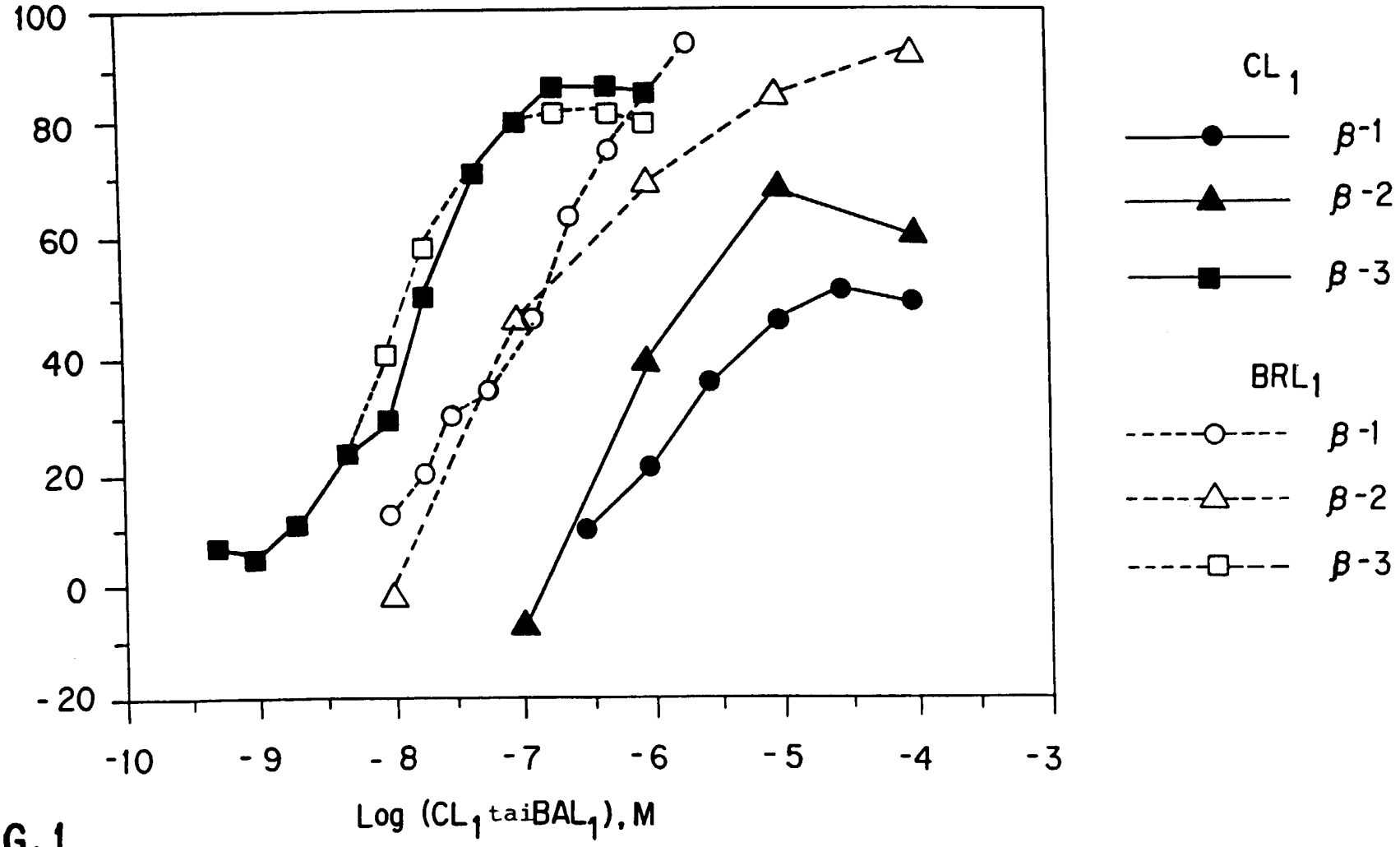


FIG. 1

94862

AKTIIVISUUS

% MAKSIMAALISESTA ISO-VASTEESTA

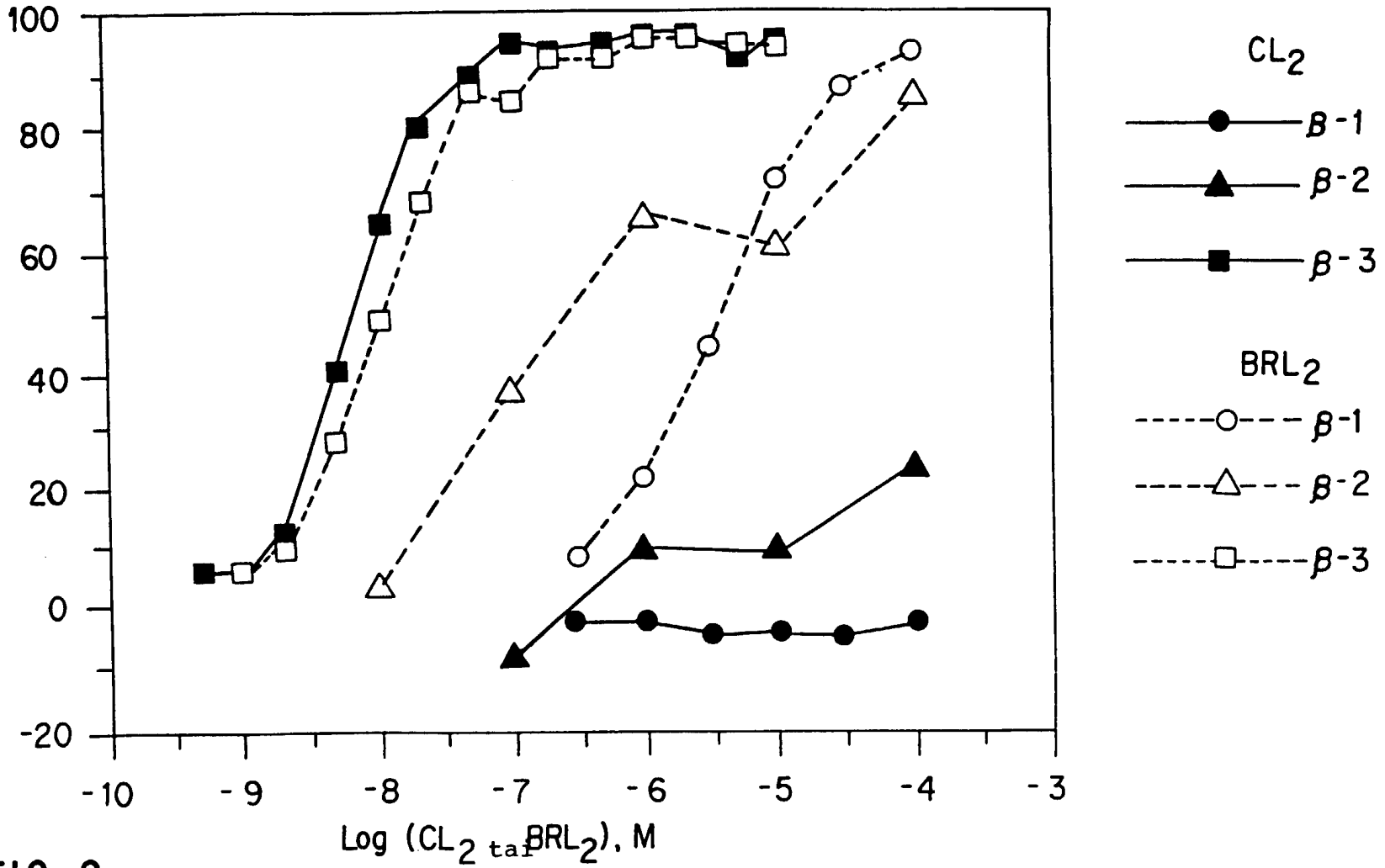


FIG. 2