

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) **FI 875300 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 875300

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07D233/61
C07D249/08
C07D403/12

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 01.12.1987

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 01.12.1987

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 04.06.1988

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

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

03.12.1986 DE 3641320

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Sandoz AG, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Egger, Helmut, Wien, ITÄVALTA, (AT)

2 • Wälichli, Rudolf, Switzerland, SVEITSI, (CH)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Papula Oy, Mechelininkatu 1 a, 00180 Helsinki

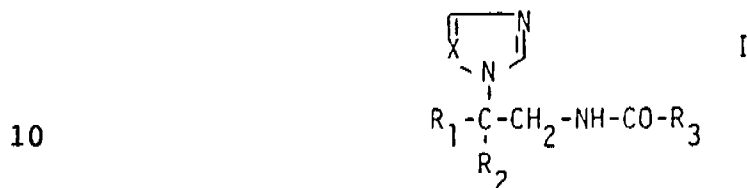
(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Atsolijohdannaisia.

Azolderivat.

MENETELMÄ ATSOLIJOHDANNAISTEN VALMISTAMISEKSI - FÖRFA- RANDE FÖR FRAMSTÄLLNING AV AZOLDERIVATOR

Keksinnön kohteena on menetelmä terapeuttises-
5 ti käyttökelpoisten uusien atsolijohdannaisten valmis-
tamiseksi, joilla on kaava I



jolloin R_1 ja R_2 tarkoittavat fenyyliä tai fenyyliä, joka on substituoitu kloorilla tai fluorilla;
 R_3 tarkoittaa C_{1-4} alkyyliä; C_{1-4} alkoksia; indolyyliä;
 15 indanyyliä; C_{1-4} alkyyliä, joka on substituoitu syanolla, bentsyylioksilla tai metoksitrietyleenioksilla; fenyyliä, joka on substituoitu kloorilla, fluorilla tai syanolla; tai bifenylyyliä, joka on substituoitu kloorilla; ja
 20 X tarkoittaa CH tai N;
 jolloin kun R_3 on metyyli, R_1 ja/tai R_2 tarkoittaa kloorilla tai fluorilla substituoitua fenyyliä.

Mono-substituutio on edullinen, erityisesti p-
 asemassa, kun R_1 ja R_2 tarkoittavat substituoitua fe-
 25 nyyliä.

Seuraavat merkitykset kaavassa I oleville symboleille ovat edullisia joko yksin tai yhdistelmänä:
 R_1 ja R_2 on p-F-, erityisesti p-Cl-fenyyli. X on CH. R_3 omaa edellä mainitut edulliset merkitykset ja on eri-
 30 tyisesti p-F-, p-Cl tai p-CN- fenyyli.

Eräässä edullisessa kaavan I mukaisten yhdisteiden ryhmässä R_1 , R_2 ja X tarkoittavat samaa kuin edellä ja R_3 on substituoimaton tai mono- tai poly-
 substiuoitu alkyyli, aryylitai heteroaryyli.

35 Kaavan I mukaiset yhdisteet voivat olla vapaassa muodossa tai happoadditiosuolojen muodossa.

Tekniikan tason osalta viitataan saksalaiseen

hakemusjulkaisuun DE 2 041 771, jossa on esitetty joukko fenyyli-imidatsolyylialkanyyli johdannaisia. Julkaisun mukaiset yhdisteet ovat tunnettuja antimykoottisina aineina. Nyt on kuitenkin yllättäen todettu, että viitatus hakemusjulkaisun mukaisista, hyvin laajan ja epätasällisen määrittelyn johdosta sadoista mahdollisista yhdisteistä vain eräillä on aromataasia inhiboivaa aktiivisuutta. Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä, jotka muodostavat yhtenäisen yhdisteiden ryhmän omine yllättävine ominaisuuksineen, ei ole kuitenkaan kuvattu konkreettisin esimerkein viitatussa julkaisussa DE 2041771.

Kaavan I mukaiset yhdisteet vapaassa muodossa tai happoadditiosuolan muodossa voidaan valmistaa keksinnön mukaisesti asyloimalla kaavan II mukainen yhdiste



jossa R_1 , R_2 ja X tarkoittavat samaa kuin edellä, käyttäen karboksyylihappoa $R_3\text{COOH}$ tai sen reaktiivista johdannaista ja ottamalla talteen näin saatu yhdiste vapaassa muodossa tai happoadditiosuolan muodossa.

Asylointi suoritetaan edullisesti konventionaaliseen tapaan.

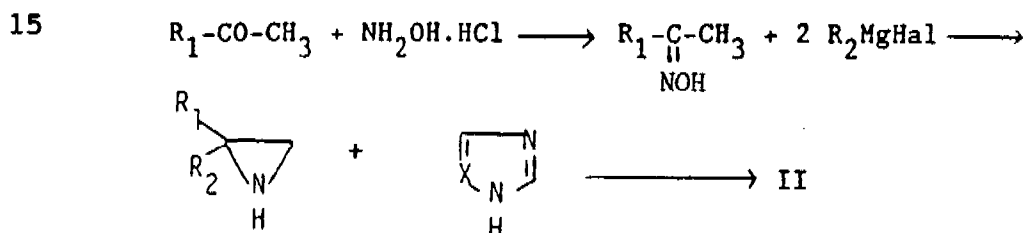
Keksinnön mukainen menetelmä voidaan toteuttaa esim. antamalla kaavan II mukaisen yhdisteen reagoida vastaavan happohalidin kanssa liuottimessa, joka on inertti reaktio-olosuhteissa, esim. orgaanisessa tai epäorgaanisessa emäksessä, joka samanaikaisesti toimii happoa sitovana aineena, esim. pyridiinissä, valinnaisesti lisäämällä asylointia kiihdyttävää ainetta, kuten 4-dimetyyliaminopyridiiniä. Asylointia varten kaavan II mukainen yhdiste voidaan myös antaa reagoida esim.

hapon $R_3\text{COOH}$ aktiivisen esterin kanssa. Reaktio voidaan toteuttaa esim. pyridyyli-2-tioliesterillä seoksessa, joka on inertti reaktio-olosuhteissa, esim. di-alempialkyyli-karboksyylihappoamidissa, kuten dimetyyli-

5 formamidissa, huoneenlämpötilassa. Lisäksi kaavan II mukaisen yhdisteen voidaan antaa reagoida $R_3\text{COOH}$ kanssa N-hydroksi-bentsotriatsolin ja disykloheksyylikarbodiimidin läsnäollessa.

Lopputuote voidaan eristää reaktioseoksesta tunnetuilla menetelmillä ja puhdistaa tarvittaessa.

Kaavan II lähtöaineet ovat osittain uusia ja ne voidaan saada esim. seuraavan reaktiokaavion mukaisesti:



Loput lähtöaineet, kuin myös asylointiaineet, ovat tunnettuja tai ne voidaan valmistaa analogisesti tunnettujen menetelmien kanssa, tai vastaavasti analogisesti esimerkeissä kuvattujen menetelmien kanssa.

25 Seuraavissa esimerkeissä, jotka havainnollistavat keksintöä yksisyiskohtaisemmin, mutta rajoittamatta keksintöä, kaikki lämpötilat on annettu Celsius-asteina ja ovat korjaamattomia.

30 Esimerkki 1: 2,2-Bis-(4-kloorifenyyli)-2-(1H-imidatsol-1-yyli)-1-(4-klooribentsoyyliamino)etaani

0.34 ml 4-klooribentsoyylidikloridia lisätään tipoittain samalla jäällä jäähdyttäen 670 mg 2,2-bis-(4-kloorifenyyli)-2-(1H-imidatsol-1-yyli)-1-aminoetaaniin 4 ml kuivassa pyridiinissä. Seosta sekoitetaan 4 h ajan huoneenlämpötilassa. Se kaadetaan kylmään, kyl-

35 lästettyyn natriumvetykarbonaattiliuokseen ja uutetaan

etyyliasetaatilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit pestään kyllästetyllä natriumvetykarbonaattiliuoksella ja natriumkloridiliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatilla ja konsentroidaan haihdutuksella. Jäännös kiteytyy
 5 etyyliasetaatin ja dietyylieetteriin liuotettuna. Värittömiä kiteitä, sp: 241-244°.

2,2-Bis-(4-kloorifenyyli)-2-(1H-imidatsol-1-yyli)-1-aminoetaani, jota käytettiin lähtöaineena saadaan seuraavasti.

10 a) 2,2-bis-(4-kloorifenyyli)atsiridiini

Grignard-liuos, joka sisältää 8.45 g magnesiua ja 36 ml bromobentseeniä 200 ml absoluuttisessa eetterissä, sekoitetaan 300 ml kuivaan tolueeniin ja eetteri tislataan pois, kunnes sisälämpötilaksi tulee
 15 107°. Tämän jälkeen 28.8 g p-klooriasetofenonioksiinia 100 ml kuivassa tolueenissa lisätään tipoittain kiehuvaan liuokseen, seosta refluksoidaan 1½ h ja sitten sekoitetaan samalla jäällä jäähdyttäen 300 ml 20 % ammoniumkloridiliuoksen kanssa. Faasierotuksen jälkeen
 20 vesifaasia uutetaan eetterillä. Yhdistetyt orgaaniset faasit pestään kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatilla ja konsentroidaan haihduttamalla. Öljyinen jäännös kromatografoidaan silikaageelillä (0,040 - 0.063 mm) petrolieetterillä 60 - 80°
 25 ja dietylieetteri/petrolieetterillä (3/2). Näin saatu ruskea öljy karakterisoidaan NMR-spektrillä. ¹H-NMR(CDCl₃): 2.36 (2H, s, leveä, -CH₂): 7.20 - 7.55 (8H,m,aromaat).

30 b) 2,2-bis-(4-kloorifenyyli)-2-(1H-imidatsol-1-yyli)-1-aminoetaani

3.96 g 2,2-di-(4-kloorifenyyli)atsiridiiniä kuumennetaan 95° lämpötilassa (sulaa) 20 h 5.1 g imidatsolin kanssa. Sulate otetaan talteen etyyliasetaat-
 ti/vedellä, ja H₂O faasia uutetaan muutamia kertoja
 35 etyyliasetaatilla. Orgaaniset faasit pestään 0,25 % viinihappoliuoksella ja kyllästetyllä natriumkloridiliuoksella, kuivataan magnesiumsulfaatilla ja konsentroi-

daan haihduttamalla. Jäännös, kuin myös haluttu tuote, sisältää myös paikkaisomeeri- 1,1-bis-(4-kloorifenyyli)-2-(1H-imidatsol-1-yyli)-1-aminoetaania ja erotus suoritetaan silikageelillä (0,040 - 0.063 mm) dikloori-
 5 metaani/metanoli/petrolieetterillä (20/1/5). Saadaan viskoosia keltaisenruskeaa öljyä.

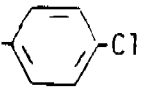
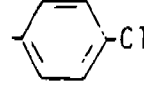
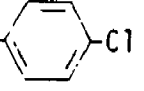
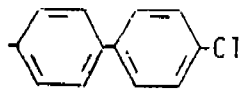
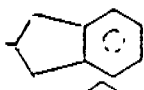
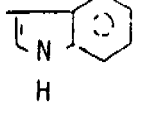
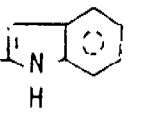
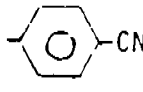
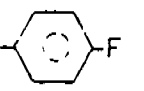
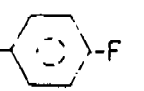
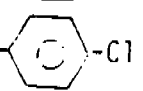
$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 1,40 (2H, leveä, $-\text{NH}_2$); 3.90 (2H, s, $-\text{CH}_2$); 6.9 - 7.5 (6H, m, aromaat., imidatsoli); 7.68 (1H, imidatsoli).

10 Seuraavat lähtöaineet saadaan analogisesti:
 2,2-bis-fenyyli-2(1H-imidatsol-1-yyli)-1-aminoetaani (esimerkki 2). Saadaan viskoosina kellertävänä öljynä;

15 2,2-bis-(4-kloorifenyyli)-2-(1H-1,2,4-triat-sol-1-yyli)-1-aminoetaani (esimerkki 3). Saadaan viskoosina keltaisenruskeana öljynä;

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 1.75 (2H, s, leveä, $-\text{NH}_2$); 3.93 (2H, s, $-\text{CH}_2$; 6.9 - 7.5) (8H, m, aromaat.): 7.88 (1H, s, triatsoli); 8.10 (1H, s, triatsoli).

20 Seuraavat kaavan I mukaiset yhdisteet voidaan saada analogisesti esimerkin I kanssa sopivasta lähtöaineesta.

Esim.	X	R ₁	R ₂	R ₃	S.p. °C
2	CH	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅		193-197°
3	N			" "	158-162°
4	CH	" "	" "	-CH ₃	178-182°
5	CH	" "	" "	-C(CH ₃) ₃	131-136°
6	CH	" "	" "		220-224°
7	CH	" "	" "		144-146°
8	CH	" "	" "		amorf.
9	CH	" "	" "	OC ₂ H ₅	amorf.
10	CH	" "	" "	CH(CH ₃)-O-CH ₂ - 	amorf. (rase- maatti)
11	CH	" "	" "		253-256°
12	CH	" "	" "		233-235°
13	CH	" "	" "	CH ₂ (O-CH ₂ -CH ₂) ₃ OCH ₃	öljy
14	CH	" "	" "	CH ₂ -CN	219-220°
15	CH				218-220°
16	CH	" "	" "		229-232°
17	CH	" "	" "	CH ₃	181-183°

Kaavan I mukaiset yhdisteet omaavat farmakologista aktiivisuutta ja soveltuvat tämän vuoksi käytettäväksi farmaseuttisina aineina.

Erityisesti yhdisteet osoittavat aromataasia
5 inhiboivaa aktiivisuutta seuraavissa kokeissa.

1. Aromataasin inhibitio in vitro

Entsyymilähteenä käytetään ihmisen istukan mikrosomeja. Näiden mikrosomien preparoimiseksi otetaan
10 koko ihmisen istukka jäähdytettynä laboratorioon heti synnytyksen jälkeen, ylimäärä verta poistetaan huuhtomalla perusteellisesti 0.25 M sokeriliuoksella, sitten istukka leikataan paloiksi ja välittömästi homogenisoidaan samalla jäähdyttäen (1g elintä + 1.5 g KCl/tris puskuri, pH 7.4; ultraturrax 3 x 10 s/0 °C).
15 Osittain rikkoutuneiden solujen, solutumien ja mitokondrioiden 200, 7000 ja 11000 g, 10 min jokaiselle, sedimentaation jälkeen saadaan mikrosomifraktio postmitokondriaaliseen supernatantin 105,000 g/60 min sentrifugoinnilla. Pelletti, joka pestään kerran, suspendoidaan tämän jälkeen isotonisessa KCl/tri puskurissa 0,5 - 1 µM konsentraation omaavaan Cyt P-450.

Aromataasiaktiivisuuden määrittäminen suoritetaan modifioidulla tunnetulla menetelmällä (Thompson E.A., Siiteri P.K. [1974], J. Biol. Chem. 249, 5364 - 5372),
25 käyttäen 1β, 2β ³H-androstenedionia substraattina NADPH regenerointisysteemin läsnäollessa. Testiyhdisteet lisätään konsentraationa 0.01 ja 1 µM. 30 min 37 °C lämpötilassa inkuboinnin jälkeen reaktio lopetetaan sekoittamalla suuri ylimäärä kloroformia, ja vesi- ja
30 orgaaninen faasi erotetaan. Vesifaasin radioaktiivisuus katsotaan johtuvan ³H₂O:sta, jota muodostuu, kun 1β, 2β ³H-androstenedioni aromatisoituu oestroniksi, ja sitä käytetään entsyymaattisen aktiivisuuden mittana. Yhdisteet, jotka merkittävästi inhiboivat aromataasia näissä
35 koeolosuhteissa, testataan tämän jälkeen laimennetulla konsentraatiovälillä IC₅₀-arvojen määrittämiseksi.

Seuraavassa taulukossa on esitetty IC₅₀-arvoja

esimerkeissä valmistetuille yhdisteille.

TAULUKKO:

5	Esimerkki/ao yhdiste	IC ₅₀ /nM
	1	4,2
	7	6
	8	8
	9	9
10	10	9,6
	12	3,4
	13	7,2
	15	15

15 2. Ovulaation inhibitio

Säännöllisen kierron omaavat naarasrotat saavat testiainetta aikana klo 16.00 päivänä ennen ovulaatiota ja aikana klo 11.00 ovulaatiopäivänä. Ovulaatio määritetään laskemalla munasolut vaginaalinäytteestä.

20 3. Vaikutus munasarja-aromataasiin ja E2 tuottoon in vivo

Aikuisia naarasrottia esikäsitellään 12 päivän ajan 25 IU/päivä s.c. PMSG:lla (raskaana olevan tamman seerumin gonadotropiinia), 13. päivänä testiainetta annetaan oraalisesti konsentraationa 0.032 - 10 mg/kg. Tämän jälkeen rotat tapetaan 8, 24 ja 48 h myöhemmin ja veri ja munasarjat poistetaan. Mikrosomit preparoidaan yhdestä kunkin eläimen munasarjasta, ja aromataasiaktiivisuus määritetään kuten on esitetty edellä. Oestradioli uutetaan toisesta munasarjasta ja sen määrä määritetään RIA avulla; samalla lailla määritetään veren oestradioli.

30 4. Subkrooniset vaikutukset in vivo

Testiainetta annetaan kerran päivässä 7 päivän ajan nuorille, 23 pv vanhoille, naarasrotille. 4. - 7. päivinä injektoidaan s.c. lisäksi testosteronipropionaattia. 8. päivänä eläimet tapetaan, veret kerätään

ja kohdun poistetaan, puhdistetaan ja punnitaan. Testosteronin anto aikaansaa huomattavan kohdun painon kohoamisen, mikä johtuu testosteronin muuttumisesta aromataasin avulla oestrodiliksi. Siten metrauksen
 5 (kohdun liikakasvu) inhibitiio testiaineella 7 päivän käsittelyllä on aromataasin tuottaman oestrogeenin inhibition tarkka mitta.

5. Krooniset vaikutukset

Oestrogeenista johtuvat rinnan kasvaimet indusoidaan rotissa oraalisella kerta-annolla 7, 12-dimetyyli-
 10 bents[a]antraseenia (DMBA). Käsittely testiaineella aloitetaan, kun kasvaimet ovat saavuttaneet keskiarvokoon n. 1500 m³ ja jatkuneet 6 viikon ajan.

Kaavan I mukaiset yhdisteet osoittavat tätä aktiivisuutta p.o. konsentraatioin n. 1 mg/kg - n. 10
 15 mg/kg kerran tai kahdesti päivässä annettuna.

Aromataasilla on tärkeä osa oestrogeenien biosynteesissä nisäkkäillä.

Tämän entsyymin blokkaus spesifisillä inhibiittoreilla voi vaikuttaa normaalin steroiditason voimakkaaseen madaltumiseen. Tällainen steroiditason ei-invasiivinen kemiallinen alentaminen vastakohtana kirurgiselle hormonia tuottavien elinten (eturauhanen, munasarjat, adrenaalirauhaset) poistolle, tuo toivottavan
 20 vaihtoehdon ja lisän steroideihin yhteydessä olevien kasvaimien, esim. eturauhasen kasvaimien, polykystisen munasarjasyndrooman, maitorauhassyövän, munasarjojen kasvaimen, kohdun limakalvon kasvaimien, kuin myös Cushing'n syndrooman, hoitoon.

Tämän vuoksi kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää steroidisynteesien spesifisinä inhibiittoreina, edellä luetteloitujen kasvaimien hoidossa. Indikoitu sopiva päiväannos on n. 10 mg - n. 100 mg kaavan I mukaista yhdistettä sopivasti annettuna, esim. neljästi
 25 päivässä annettaviin annoksiin jaettuna.

Kaavan I mukaiset yhdisteet voidaan antaa mitä tahansa konventionaalista tietä, erityisesti enteraalii-

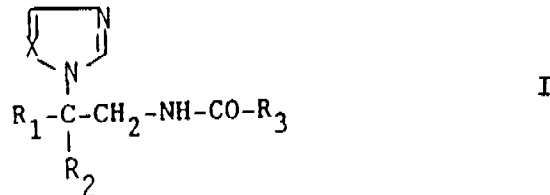
sesti, edullisesti oraalisesti, esim. tablettien tai kapselien muodossa, tai parenteraalisesti, esim. injektioitavien liuosten tai suspensioiden muodossa.

5 Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan antaa vapaan emäksen muodossa tai farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan muodossa. Tällaiset suolat voidaan valmistaa konventionaaliseen tapaan, ja ne omaavat samaa luokkaa olevan aktiivisuuden kuin vapaat emäkset. Esillä oleva keksintö tuo myös esiin farmaseuttiset
10 ainekokoomukset, jotka sisältävät kaavan I mukaista yhdistettä vapaan emäksen tai farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan muodossa yhdessä ainakin yhden farmaseuttisen kantajan tai laimennusaineen kanssa. Tällaiset ainekokoomukset voidaan valmistaa konventionaaliseen tapaan. Yksikköannosmuodot sisältävät,
15 esim. n. 2.5 mg - 50 mg kaavan I mukaista yhdistettä vapaan emäksen tai farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan muodossa.

Keksintö koskee myös kaavan I mukaisia yhdisteitä
20 vapaassa muodossa tai farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan muodossa käytettäväksi farmaseuttisena aineena, erityisesti aromataasi-inhibiittoreina, ja kaavan I mukaisten yhdisteiden käyttöä vapaassa muodossa tai farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan muodossa valmistettaessa aromaataasi-inhi-
25 bitioon tarkoitettua lääkevalmistetta.

PATENTTIVAATIMUS

Menetelmä kaavan I mukaisen farmaseuttisesti
 aktiivisen atsolijohdannaisen valmistamiseksi vapaassa
 5 muodossa tai happoadditiosuolan muodossa,



10

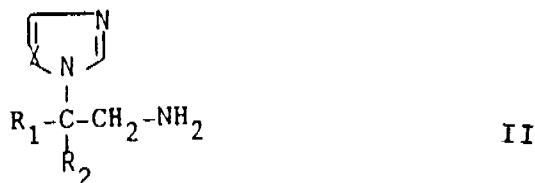
jolloin R_1 ja R_2 tarkoittavat fenyyliä tai fenyyliä, joka
 on substituoitu kloorilla tai fluorilla;

R_3 tarkoittaa C_{1-4} alkyyliä; C_{1-4} alkoksia; indolyyliä;
 15 indanyyliä; C_{1-4} alkyyliä, joka on substituoitu syanolla,
 bentsyylioksilla tai metoksitrietyleenioksilla; fenyy-
 liä, joka on substituoitu kloorilla, fluorilla tai
 syanolla; tai bifenylyyliä, joka on substituoitu kloo-
 rilla; ja

20 X tarkoittaa CH tai N;

jolloin kun R_3 on metyyli, R_1 ja/tai R_2 tarkoittaa kloo-
 rilla tai fluorilla substituoitua fenyyliä; t u n -
 n e t t u siitä, että asyloidaan kaavan II mukainen
 yhdiste,

25

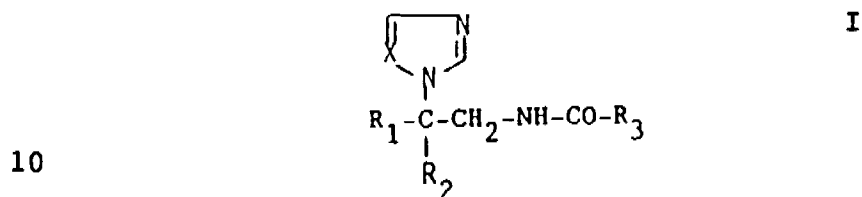


30

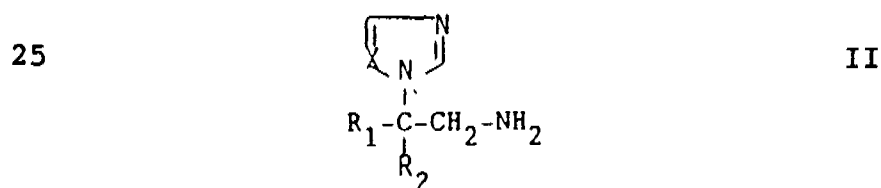
jossa R_1 , R_2 ja X tarkoittavat samaa kuin edellä, yhdis-
 teellä R_3COOH tai sen reaktiivisella johdannaisella,
 jossa R_3 tarkoittaa samaa kuin edellä, ja saatu yhdiste
 otetaan talteen vapaassa muodossa tai happoadditiosuo-
 35 lan muodossa.

PATENTKRAV

Förfarande för framställning av ett farmaceutiskt
 aktivt azolderivat enligt formel I i fri form eller i
 5 form av ett syraadditionssalt,



vari R_1 och R_2 är fenyl eller fenyl, som är substituerad
 med klor eller fluor; R_3 är C_{1-4} alkyl; C_{1-4} alkoxi; in-
 15 donyl; indanyl; C_{1-4} alkyl, som är substituerad med cyano,
 benzyloxi eller metoxitrietylenoxi; fenyl, som är subs-
 tituerad med klor, fluor eller cyano; eller bifenyl,
 som är substituerad med klor; och
 X är CH eller N;
 20 varvid då R_3 är metyl, R_1 och/eller R_2 är fenyl substi-
 tuerad med klor eller fluor; k ä n n e t e c k n a t
 därav, att en förening med formel II acyleras



30 vari R_1 , R_2 och X betyder detsamma som ovan, med fö-
 reningen R_3COOH eller dess reaktiva derivat, vari R_3
 betyder detsamma som ovan och den erhållna föreningen
 tas tillvara i fri form eller i form av ett syraaddi-
 tionssalt.