РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

(19) BG (11) 107634 A

7(51) C 07 C 309/65
C 07 C 311/08
C 07 C 311/09
A 61 K 31/18
A 61 K 31/255
A 61 P 25/28

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ
ЗА
ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 107634
(22) Заявено на 13.03.2003
(24) Начало на действие на патента от:

Приоритетни данни

(31) 10047486 (32) 26.09.2000 (33) DE

(41) Публикувана заявка в бюлетин № 12 на 31.12.2003
(45) Отпечатано на
(46) Публикувано в бюлетин № на
(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег. №

(71) Заявител(и):
BAYER AKTIENGESELLSCHAFT, LEVERKUSEN (DE)

(72) Изобретател(и):
Markus Heil, Leichlingen
Heinrich Meier
Paul Naab, Wuppertal
Arnd Voerste, Koeln
Jean-Marie-Viktor De Vry, Roesrath
Dirk Denzer, Solingen
Frank Mauler, Overath
Klemens Lustig
Jan-Bernd Lenfers, Wuppertal (DE)

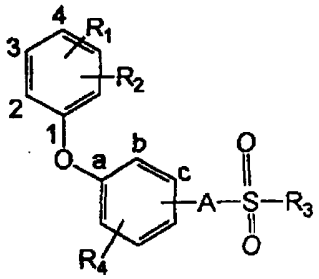
(74) Представител по индустриална собственост:
Георги Цветанов Перев, 1124 София, ул. "Леонардо да Винчи" 3

(86) № и дата на PCT заявка:
PCT/EP01/10564, 13.09.2001

(87) № и дата на PCT публикация:
WO02/26702, 04.04.2002

(54) ФЕНОКСИФЕНИЛОВИ АЛКАНСУЛФОНАТИ

(57) Изобретението се отнася до феноксифенилови алкансулфонати с формула



в която A означава кислород или NH, R^3 означава (C_4-C_7)-алкил, който може да бъде едно- или многократно заместен с флуор или хлор. Изобретението се отнася и до метод за тяхното получаване, до приложението им за производство на лекарствени средства за лечение и/или профилактика на болести, особено за лечение на болкови състояния и невродегенеративни заболявания.

11 претенции

BG 107634 A

2473/03-ГП

ФЕНОКСИФЕНИЛОВИ АЛКАНСУЛФОНАТИ

Област на техниката

Изобретението се отнася до феноксифенилови алкансулфонати от формула (I), където A означава кислород или NH и R^3 означава (C_4-C_7)-алкил, който може да бъде едно- или многократно заместен с флуор или хлор, до метод за тяхното получаване, до приложението им за производство на лекарствени средства за лечение и/или профилактика на болести, особено за лечение на болкови състояния и невродегенеративни заболявания.

Предшестващо състояние на техниката

Сред съставките на конопа (*Cannabis sativa*) е фармакологично най-важният Δ^9-тетрахидроканабинол (Δ^9-THC), който предизвиква основните ефекти на канабиса върху човешката централна нервна система (ЦНС). Потенциалните исторически и съвременни приложения на препаратите на канабиса обхващат, между другото, аналгезия, повръщане, анорексия, глаукома и двигателни нарушения.

Досега са идентифицирани два подвида канабиноидни рецептори и един смесен вариант. CB1- и CB2-рецепторите притежават седем трансмембранни области и спадат към семейството на G-протеин-свързаните рецептори. CB1-рецепторът и смесеният вариант CB1a са локализирани предимно в ЦНС. CB2-рецепторът е открит предимно в периферната тъкан, особено в левкоцитите, слезката и макрофагите.

Досега са известни няколко структурни класа на канабиноид-рецепторни агонисти: класически канабиноиди като например Δ^9-THC, некласически канабиноиди като например аминоалкилиндоли, и ейкозаноиди. Към последните спада ендогенният CB1-рецепторен агонист анандамид.

В WO-A-98/37061 и WO-A-00/10968 се описват определени арилоксифенилови алкансулфонати като канабиноид-рецепторни агонисти за лечение на невродегенеративни заболявания.

US-A-3,462,473, *Biochem. Pharmacol.* 1972, 21, 1127-1134, *Fed. Proc. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol.* 1971, 30, 841-847 *J. Pharm. Sci.* 1973, 62, 1780-1784 разкриват определени p-феноксифенилови алкансулфонати и тяхното хипохолестеролемично, съответно хиполипидемично действие.

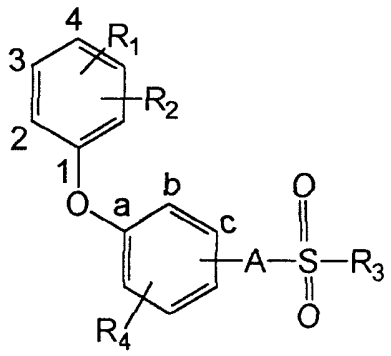
Освен това, известни са определени феноксифенилови алкансулфонати и тяхното приложение като хербициди (1), антимикробни средства (1), смазочни средства (3), сенсибилизатори за термо-хартия (4) и синтетични междинни продукти (5): (1) EP-A-0 023 725; US-A-3,929,903; US-A-4,415,354; *Chem. Abstr.* 1979, 91, 175034 (JP-A-54066631); *Chem. Abstr.* 1981, 94, 156552 (JP-A-55154953); *Chem. Abstr.* 1981, 95, 168773 (JP-A-56046859); *Chem. Abstr.* 1981, 95, 168789 (JP-A-56079665); *Chem. Abstr.* 1989, 111, 2678 (JP-A-63104903); (2) DE-A-14 93 776; DE-A-21 31 754; US-A-3,629,477; US-A-3,772,445; US-A-3,850,972; CH-B-450 347; CH-B-459 656; *Chem. Abstr.* 1997, 127, 72725 (JP-B-50003375); (3) US-A-3,346,612; (4) US-A-4,837, 197; (5) *Chem. Abstr.* 1997, 127, 26629 (JP-A-09087210); *Tetrahedr.* 1990, 46, 4161-4164, *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 39, 435-436.

Техническа същност на изобретението

Задача на настоящото изобретение бе да осигури канабиноид-рецепторни агонисти с подобрено действие.

Тази задача се разрешава чрез нови съединения съгласно изобретението.

Настоящото изобретение се отнася до нови съединения с общата формула (I),



(I)

където

R^1 означава водород, (C_1-C_4)-алкил, халоген, трифлуорметил, трифлуорметокси-, циано- или нитро-,

R^2 означава халоген, трифлуорметил, трифлуорметокси-, циано- или нитро-,

R^3 означава (C_4-C_7)-алкил, който може да бъде едно- или многократно с флуор или хлор,

R^4 означава водород или халоген, и

A означава кислород или NH.

Съединенията съгласно изобретението могат да съществуват в стереоизомерни форми, които се държат или като образ и огледален образ (енантиомери), или не се държат като образ и огледален образ (диастереомери). Изобретението се отнася както до енантиомерите, така и до диастереомерите и техните съответни смеси. Тези смеси на енантиомерите и диастереомерите могат да бъдат разделени на техните стереоизомерни съставки по познат начин.

Съединенията съгласно изобретението могат да се намират под формата на техните соли. Най-общо тук се споменават соли с органични или неорганични основи или киселини.

В рамките на настоящото изобретение се предпочитат физиологично приемливи соли. Физиологично приемливи соли на съединенията от изобретението могат да бъдат соли на веществата от изобретението с минерални киселини, въглеродни киселини или сулфонови киселни. Особено предпочитани са, например, соли със солна киселина, бромова киселина, сярна киселина, фосфорна киселина, метансулфонова киселина, етансулфонова киселина, толуолсулфонова киселина, бензолсулфонова киселина, нафталиндисулфонова киселина, оцетна киселина, пропионова киселина, млечна киселина, винена киселина, лимонена киселина, фумарова киселина, малеинова киселина или бензоева киселина.

Физиологично приемливи соли могат да бъдат също метални или амониеви соли на съединенията от изобретението. Особено предпочитани са, например, натриеви, калиеви, магнезиеви или калциеви соли, както и амониеви соли, които са производни на амоняк или органични амини като например етиламин, ди-, съответно триетиламин, ди-, съответно триетаноламин, дициклохексамин,

диметиламиноетанол, аргинин, лизин, етилендиамин или 2-фенилетиламин.

Към настоящото изобретение спадат също амониеви съединения, които могат да бъдат получени чрез прехвърляне на свободни амини посредством алкилиране.

В рамките на настоящото изобретение заместителите имат най-общо следното значение:

$(C_1$-$C_4)$-алкил в рамките на изобретението означава правоверижен или разклоненоверижен алкилов остатск с 1 до 4 въглеродни атома. Като примери могат да се посочат: метил, етил, n-пропил, изопропил, n-бутил, i-бутил, s-бутил и t-бутил.

$(C_4$-$C_7)$-алкил в рамките на изобретението означава правоверижен или разклоненоверижен алкилов остатък с 4 до 7 въглеродни атома. Като примери могат да се посочат: n-бутил, i-бутил, s-бутил, t-бутил, i-пентил, n-пентил, хексил или хептил. Предпочитани са n-бутил, n-пентил или n-хексил.

Халоген в рамките на изобретението включва флуор, хлор, бром и йод. Предпочитани са хлор или флуор.

Предпочитани са съединения с общата формула (I), в която

R^1 означава водород, флуор, хлор, метил-, трифлуорметил, трифлуорметокси-, циано- или нитро-,

R^2 означава флуор, трифлуорметил, трифлуорметокси-, циано- или нитро-,

R^3 означава n-бутил, n-лентил, 4,4,4-трифлуорбут-1-ил или 5,5,5-трифлуорпент-1-ил,

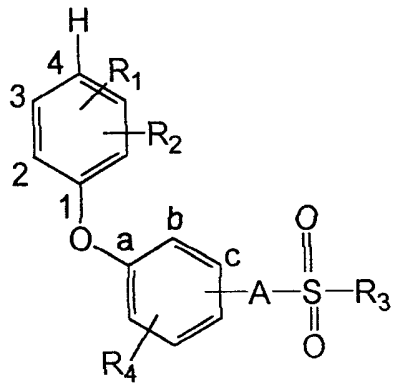
R^4 означава водород, и

A означава кислород.

Особено предпочитани са съединения с общата формула (I), в която

R^1, R^2, R^3, R^4 и A имат горното значение, а на позиция 4 в заместения с R^1 и R^2 фенилов пръстен се намира водороден атом.

Това може да бъде пояснено със следната формулна схема:



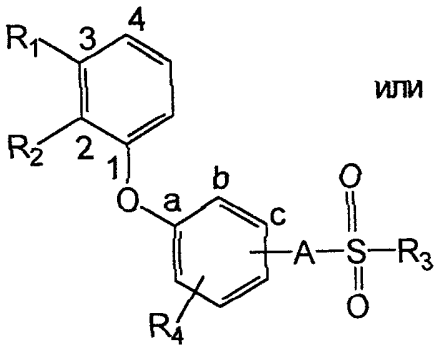
(Ia)

Особено много са предпочитани съединения с общата формула (I), в която

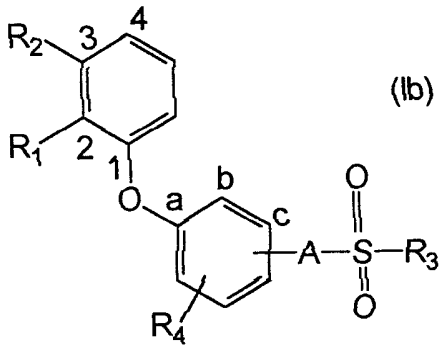
R^1, R^2, R^3, R^4 и A имат горното значение, и

R^1и R^2 се намират на позиции 2 и 3 във фениловия пръстен.

Позициите на R^1и R^2 във фениловия пръстен могат да бъдет пояснени чрез следната формулна схема:



или



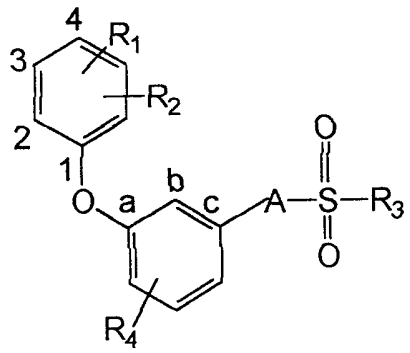
(Ib)

Също така особено предпочитани са съединения с общата формула (I), в която

R^1, R^2, R^3, R^4 и A имат горното значение, и

A се намира на позиция в бензоловия остатък.

Позицията на A в бензовоия остатък може да бъде разяснена чрез следната формулна схема:



(Ic)

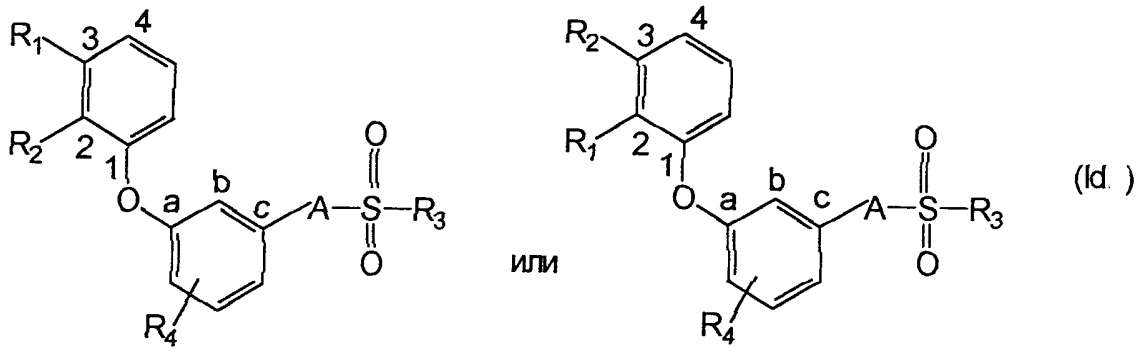
Особено много са предпочитани съединения с общата формула (I), в която

R^1, R^2, R^3, R^4 и A имат горното значение, и

R^1и R^2 се намират на позиции 2 и 3 във фениловия пръстен, и

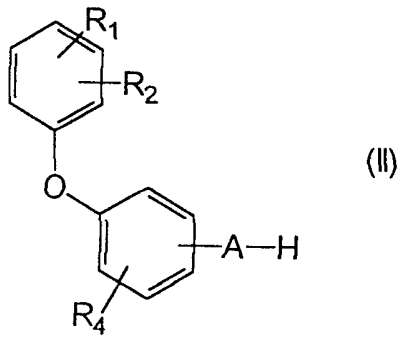
A се намира на позиция с в бензоловия остатък.

Позициите на R^1, R^2 и A могат да бъдат пояснени чрез следната формулна схема:



(Id)

Освен това е открит метод за получаване на съединения с общата формула (I), характеризиращ се с това, че съединение с общата формула (II)



(II)

в която R^1, R^2, R^4 и A имат горното значение,

реагира в инертен разтворител в присъствието на подходяща основа и евентуално в присъствие на фазово-преходен катализатор

със съединение с общата формула (III)

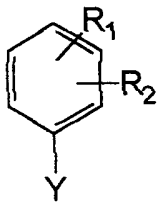
$$X^1 - SO_2 - R^3 \text{ (III)}$$

в която

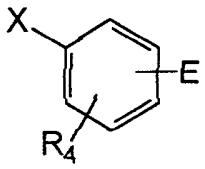
X^1 означава подходяща отделяща се група, и

R^3 има горепосоченото значение.

Съединенията с общата формула (II) са нови и могат да бъдат получени по аналогия с общоизвестните методи, като съединение с общата формула (IV) реагира със съединение с общата формула (V)



(IV)



(V)

в която

R^1, R^2 и R^4 имат горното значение,

а) Y означава хидрокси-група и X означава подходяща отделяща се група, или обратно

б) Y означава подходяща отделяща се група и X означава хидрокси-група,

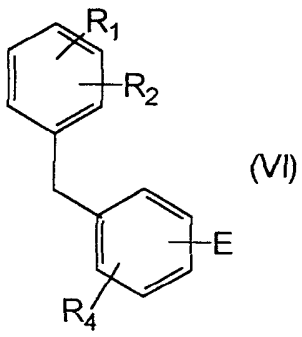
и

E означава нитро-група или група с формулата -O-R^5-,

където

R^5 означава подходяща защитна хидрокси-група,

като това се извършва в инертен разтворител в присъствие на подходяща основа и евентуално в присъствие на Cu(I)- или Cu(II)-съединение, като първоначално се получава съединение с общата формула (VI)

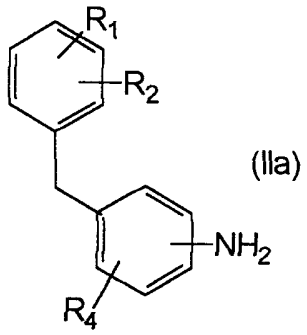


(VI)

в която R^1, R^2, R^4 и E имат горното значение,

като

[A] това съединение, в случая, когато E означава нитро-група, се редуцира при подходящи условия според обичайните методи до съединение с общата формула (IIa)

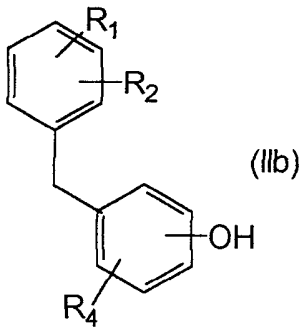


(IIa)

в която R^1, R^2 и R^4 имат горното значение,

или

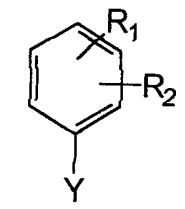
[B] в случая, когато E означава група с формулата -O-R^5-, защитната група R^5 се отстранява в подходящи условия според обичайните методи при освобождаване на съединение с общата формула (IIb)



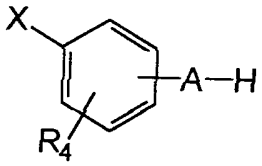
(IIb)

в която R^1, R^2 и R^4 имат горното значение.

Съединенията с общата формула (II) могат да бъдат получени също, като съединение с общата формула (IV) реагира със съединение с общата формула (VII)



(IV)

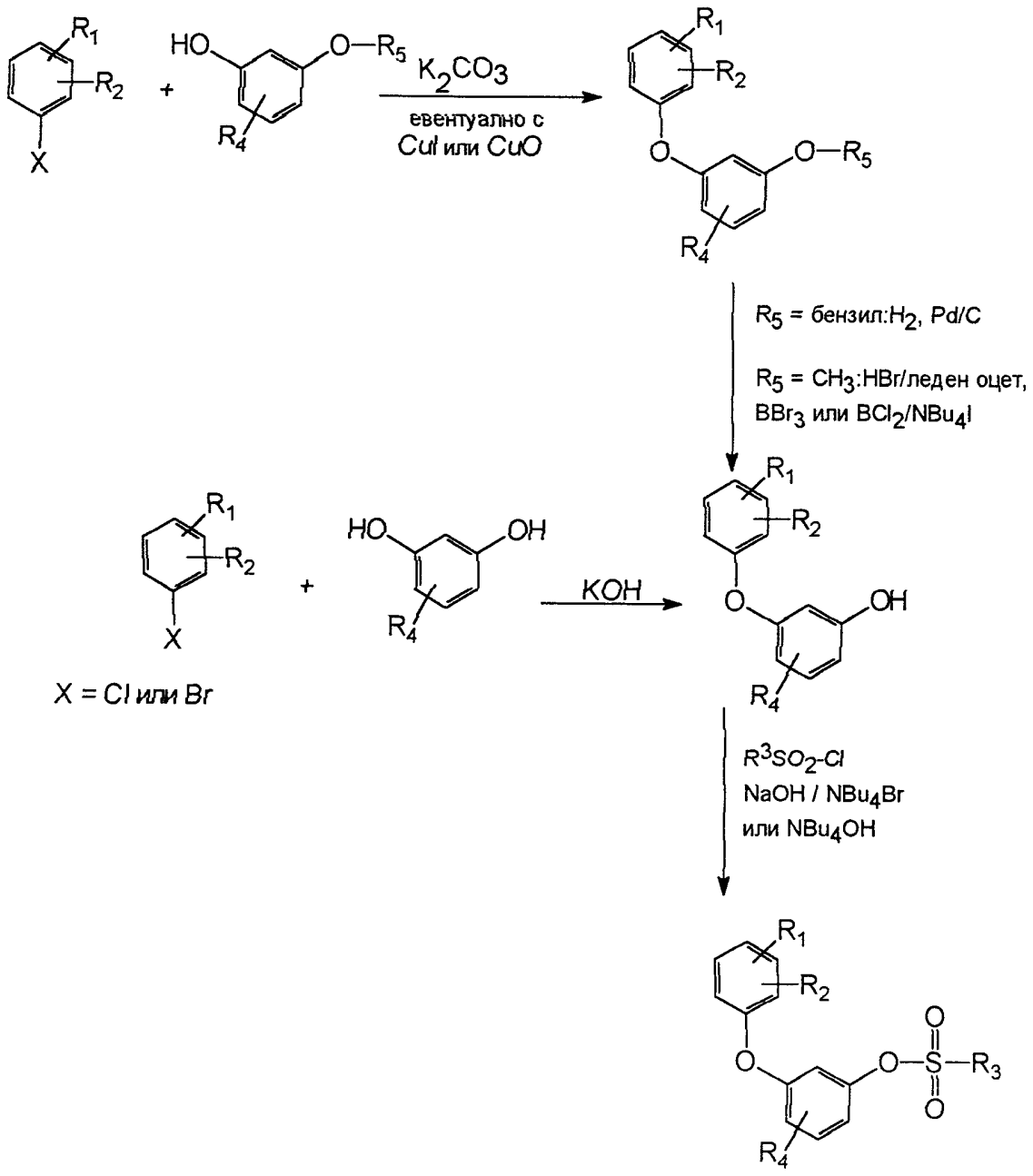


(VII)

в които R^1, R^2, R^4, A, X и Y имат горепосоченото значение,

което се извършва в инертен разтворител в присъствие на подходяща основа и евентуално в присъствие на Cu(I)- или Cu(II)-съединение.

Методите съгласно изобретението могат да бъдат разяснени чрез следната схема като пример:



Инертни разтворители съгласно смисъла на изобретението са такива разтворители, които не се променят или се променят несъществено в избраните реакционни условия.

Подходящи за метод (II) + (III) → (I) инертни разтворители са например етери, като например диетилетер, гликолмоно- или -диметилетер, диоксан или тетрахидрофуран, или въглеводороди като бензол, толуол, ксилол, циклохексан или петролни фракции, или халоген-въглеводороди като метиленхлорид, хлороформ, тетрахлорвъглерод или диметилсулфоксид, триамид на хексаметил-фосфорна киселина, етилацетат, пиридин, триетиламин или пиколин. Възможно е също така да се използват смеси на посочените разтворители, евентуално и с вода. Особено предпочитани са метиленхлорид, метиленхлорид/вода, тетрахидрофуран, диоксан и диоксан/вода.

Като снови за реакция (II) + (III) → (I) са подходящи органични амини, особено три-(C_1-C_6)-алкиламини, като например триетиламин или диизопропилетиламин, или хетероцикли като пиридин, метилпиперидин, пиперидин или N-метил-морфолин, алкални или алкалоземни хидроксиди или карбонати, като например натриев хидроксид, калиев хидроксид, натриев карбонат, калиев карбонат, или алкохолати, като например натриев метанолат или натриев етанолат. Особено предпочитани са триетиламин, пиридин и натриев хидроксид.

Основите се прилагат най-общо в количество от 0.1 мол до 5 мола, предпочитано от 1 до 3 мола, съответно към 1 мол от съединенията с общата формула (II).

Методът (II) + (III) → (I) може евентуално да се извърши и в присъствие на фазово-преходен катализатор. Като фазово-преходни катализатори са подходящи, например, четвъртични амониеви соли, предпочитано тетрабутиламониев бромид.

Като отделяща се група X^1 е подходящ, например, халоген, предпочитано хлор.

Реакциите могат да се извършват при нормално налягане, но и при повишено или понижено налягане (например 0.5 до 3 бара). Най-общо се работи при нормално налягане.

Методът (II) + (III) → (I) се извършва в температурна област от 0°C до 100°C, предпочитано при 0°C до 30°C.

Като подходящи инертни разтворители за методи (IV) + (V) → (VI) и (IV) + (VII) → (II) са се доказали следните: органични разтворители като етери, например диетилетер, гликолмоно- или -диметилетер, диоксан или тетрахидрофуран, или въглеводороди като бензол, толуол, ксилол, циклохексан, или петролни фракции или халоген-въгловодороди като метиленхлорид, хлороформ, тетрахлорвъглерод, или диметилсулфоксид, диметилформамид, N-метилпиролидон, триамид на хексаметил-фосфорна киселина, етилацетат, пиридин, триетиламин или пиколин. Възможно е, също така, да се използват смеси на посочените разтворители, евентуално и с вода. Особено предпочитани са пиридин, N-метил-пиролидон, диметилформамид и диметилсулфоксид.

Методи (IV) + (V) → (VI) и (IV) + (VII) → (II) могат евентуално да бъдат извършени в присъствие на Cu(I)- или Cu(II)-съединение. Предпочитани са Cu(I)-йодид или Cu(II)-оксид.

Като основи за методи (IV) + (V) → (VI) и (IV) + (VII) → (II) са подходящи алкалоземни карбонати или хидрогенкарбонати, особено натриев и калиев карбонат, алкалоземни хидроксиди, особено натриев хидроксид, или органични амини, особено три-(C_1-C_6)-алкиламини, като например триетиламин. Особено предпочитани са калиев хидроксид, натриев хидроксид и калиев карбонат.

Основите се прилагат най-общо в количество от 0.1 мол до 5 мола, предпочитано от 1 до 3 мола, спрямо 1 мол от съединенията с общата формула (IV), съответно (V).

Като отделяща се група X при метод (IV) + (V) → (VI) вариант а), съответно Y при метод (IV) + (V) → (VI) вариант б), са подходящи, например, халоген или сулфонато-група като например трифлат. Предпочитани са флуор, хлор или бром.

Реакциите могат да се извършват при нормално налягане, но и при повишено или понижено налягане (например 0.5 до 5 бара). Най-общо се работи при нормално налягане.

Реакциите се извършват в температурна област от 20°C до 200°C, предпочитано при 100°C до 160°C.

Методите за редукция на защитните хидрокси-групи, както и методите за тяхното отделяне са известни (например T.W.Greene,

P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2nd Ed., New York, 1991 и цитираната там литература; *J. Org. Chem.* 1999, 64, 9719-9721).

Като защитна група R^5 при реакционната последователност (IV) + (V) → (VI) → (IIb) са подходящи, например, метил, бенил, алил, меноксиметил, 2-триметилсилил-етокси-метил или триметилсилил. Предпочитани са метил и бензил.

Съединенията от общата формула (III) са търговски достъпни, познати в литературата или могат да бъдат синтезирани аналогично на известните от литературата методи (сравни например с J. Chem. Soc. C 1968, 1265; Chem. Ber. 1967, 100, 1696; флуорирани хлориди на алкансулфонова киселина могат, например, да бъдат получени според WO-A-98/37061 DE-A-19 422 64).

Съединенията от общите формули (IV), (V) и (VII) са известни или могат да бъдат получени съгласно познати методи.

Съединенията от общите формули (IV) и (V) са търговски достъпни, познати от литературата или могат да бъдат получени аналогично на известните от литературата методи (сравни, например J. March, "Advanced Organic Chemistry", 4th Ed., Wiley, 1992, стр. 531-534 и 1295, съответно, цитираната там литература; *Synthesis* 1990, 1145-1147).

Изненадващо, съединенията от изобретението са показали непредвидим, ценен фармакологичен спектър.

Те се отличават като високоефективни агонисти на канабиноидните рецептори с висока метаболитна стабилност и висока

орална бионаличност. Поради това са подходящи особено за орална терапия.

Те могат да бъдат прилагани самостоятелно или в комбинация с други лекарствени средства за профилактика и лечение на остри и/или хронични болки (за класификация виж "Classification of Chronic Pain, Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms, 2nd Ed., Meskey & Begduk, IASP-Press, Seattle, 1994), както и на невродегенеративни заболявания, особено за лечение на раково-предизвикани болки и хронични невропатни болки, като например при диабетна полиневропатия, постхерпетична невралгия, периферни нервни увреждания, централна болка (например като следствие от мозъчна исхемия) и тригеминална невралгия, както и при други хронични болки, като например лумбаго, болка в гърба (low back pain) или ревматични болки. Освен това субстанциите са подходящи и за лечение на първични остри болки с различна генеза и на произлизащите от тях вторични болкови състояния, както и за лечение на хронифицирали, в миналото остри, болкови състояния.

За комбинация със съединенията от изобретението за лечение на остри и/или хронични болки са подходящи, например, опиати, например трамадол, морфин, дихидрокодеин, декстропропоксифен, трициклични антидепресанти, например Амитриптилин, антиконвулсанти, например Карбамазепин, Габапентин, нестероидни противовъзпалителни (НСПВС), например Аспирин, Ибупрофен, Напроксен, включително COX(=циклооксигеназа)-2-инхибитори, например Рофекоксиб, Целекоксиб.

Съединенията от изобретението са подходящи, също така, за лечение на първични и/или вторични болестни състояния на мозъка,

например преди или след мозъчно-съдови спазми, мигрена, спастичност, хипоксия и/или аноксия с различна от посочената генеза, перинатална асфиксия, автоимунни заболявания, метаболитни и органни заболявания, които могат да протичат с увреждане на мозъка, както и увреждания на мозъка вследствие първични мозъчни увреди, например епилепсия и атеро- и/или артериосклеротични изменения. Съединенията от изобретението са подходящи също така за лечение на хронични или психиатрични заболявания като например депресия, стомашни язви, невродегенеративни заболявания като например болест на Алцхаймер, на Паркинсон или на Хънтингтон, множествена склероза, амиотрофична латерална склероза (АЛС), невродегенерация поради остри и/или хронични вирусни или бактериални инфекции и мултиинфарктна деменция.

Освен това, те могат да бъдат прилагани в лекарствени средства за лечение на повръщане, гадене, глаукома, астма, анорексия, гърчове, ревматизъм, седиране и двигателни нарушения.

Субстанциите от изобретението са подходящи и за лечение на заболявания, които са предизвикани от бактериални и/или вирусни инфекции, които се основават на директни и/или индиректни изменения в имунната система, съответно на абнормно активиране при участие на имунната система, като например при местни или системи автоимунни заболявания (например лупус еритематодес във всичките му варианти), възпалително /или автоимунно предизвикани заболявания на ставите (например хроничен полиартрит, травматично-предизвикани възпаления), възпалителни и/ли автоимунно предизвикани заболявания на костния и мускулния апарат, възпалителни и/ли автоимунно предизвикани болестни процеси на вътрешните органи (например болест на Крон, язвен колит,

гломерулонефрит) и на външните органи (например алергични реакции при поемане на антигени по въздушен път) и на централната нервна система (например множествена склероза, болест на Алцхаймер, психиатрични заболявания), както и на сетивните органи, първични и/ли вторични и/или автоимунни заболяватния на самата кръвотворна и имунна система (например реакции на отхвърляне, СПИН), както и при кожни заболявания с възпалителна и/или автоимунна генеза при човек или животно. Освен това, субстанциите действат и при индиректни симптоми на тези заболявания, като например болка.

Предпочитано е тяхното приложение за лечение на болка, спастицитет, мозъчни исхемии и черепно-мозъчни травми.

Примери за изпълнение на изобретението

Действието *ин витро* на съединенията от изобретението върху канабиноидните рецептори може да бъде показано посредством следните биологични опити:

1. Клетъчни култури от CHOCB1-репортер-клетъчна линия от плъх са получени съгласно описания в WO-A-98/37061, стр. 55, метод.

За скрининга на субстанцията е приложен следният тест-протокол:

Клетъчните култури са отглеждани в модифицирана с 50% Dulbecco среда на Eagle / 50% F-12 (DMEM/F12) с 10% FCS при 37°C и 10%CO_2, като са разредени 1:10 след 2 до 3 дни. Тест-културите са поставени при 5000 клетки на паничка в 96-ямкова плочка и са оставени 70 часа при 37°C. След това културите са промити внимателно с фосфатно-буфериран солев разтвор и са

реконституирани със свободна от серум Ultra-CHO среда (Bio-Whittaker). Разтворените в DMSO субстанции са разредени 1 x в средата и са пипетирани в клетъчните култури (максимална крайна концентрация на DMSO при теста: 0.5%). 20 минути по-късно е добавен форсколин и след това културите са инкубирани 3 часа в инкубатор при 37°C. След това излишъците са отстранени и клетките са лизирани при добавяне на 25 µл лизиращ реактив (25 mM трифосфат, pH 7.8 с 2mM DTT, 10% глицерин, 3% ТритонX100). Директно след това е добавен луциферазно-субстратен разтвор (2.5mM АТФ, 0.5 mM луциферин, 0.1 mM коензим A, 10 mM трицин, 1.35 mM $MgSO_4$, 15 mM DTT, pH 7.8), разклащано е за кратко и луциферазната активност е измерена с камерна система Hamamatsu.

За инактивиране на G_1-протеини тест-културите преди теста са третирани за 16 часа с 5 ng/ml (крайна концентрация) пертусис-токсин.

IC_{50}-стойностите са изчислени чрез програмата GraphPadPrism (Hill-изравняване, специално – "one-site competition").

Пример 17 показва в този тест IC_{50}-стойност от 0.81 nM.

2. Тест за hCB2-луциферазен репортер-ген

CHOluc9-клетки са трансфицирани стабилно с човешкия CB2-рецептор. Трансфекцията, клон-селекцията и провеждането на теста са извършени аналогично на работите с CB1-рецептора при плъх. За фармакологично характеризиране на клетките и тестването на субстанцията е използван следният тест-протокол:

Клетъчните култури са отглеждани в модифицирана с 50% Dulbecco среда на Eagle / 50% F-12 (DMEM/F12) с 10% FCS при 37°C и 10%CO_2, като са разредени 1:10 след 2 до 3 дни. Тестк-културите са поставени при 5000 клетки на паничка в 96-ямкова плочка и са оставени 70 часа при 37°C. След това средата е отстранена от културите и е заместена със свободна от серум Ultra-CHO среда (Bio-Whittaker). Разтворените в DMSO субстанции (200 x крайна концентрация) са пипетирани в клетъчните култури (максимална крайна концентрация на DMSO при теста: 0.5%) и 20 минути по-късно е добавен форсколин. След това културите са инкубирани 3.5 часа в инкубатор при 37°C. След това горните слоеве са отстранени и клетките са лизирани при добавяне на 25 μл лизиращ реактив (25 mM трифосфат, pH 7.8 с 2mM DTT, 10% глицерин, 3% ТритонX100). Директно след това е добавен 50 μл луциферазно-субстратен разтвор (5mM АТФ, 1 mM луциферин, 0.2 mM коензим A, 10 mM трицин, 1.35 mM $MgSO_4$, 15 mM DTT, pH 7.8), разклащано е за кратко и луциферазната активност е измерена с фотомултиплицираща камерна измерваща система (Hamamatsu).

IC_{50}-стойностите са изчислени чрез програмата GraphPadPrism™ (Hill-изравняване, специално - "one-site competition").

3. Свързване към кортексни мембрани при плъх

Мембранният протеин е изготвен съгласно стандартните методи от различни тъкани, съответно клетки. Заедно са пипетирани буфер, маркиран лиганд, DMSO или тест-субстанция, добавени са 100 μгр протеин, сместа е разбъркана добре и е инкубирана 60 минути при 30°C във водна баня. След изтичане на инкубационното време реакцията е спряна чрез добавяне на леденостуден инкубационен

буфер във всяка тръбичка. След филтриране е извършено промиване с 3/4 мл инкубационен буфер. Филтратите са прехвърлени в мини-виалки, радиоактивността е определена на течно-сцинтилационен брояч.

Метаболитната стабилност на съединенията от изобретението може да бъде показана чрез следния *ин витро*-анализ:

4. Микрозомални изследвания на стабилността

Метаболитната стабилност на съединенията от изобретението може да бъде измерена в чернодробни микрозоми на плъх (аналогично на *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997, 283, 46-58).

За определяне на микрозомната стабилност и изчисляването на максимално възможната бионаличност (Fmax) на основата на "ефекта на първо преминаване през черния дроб" (Фаза 1 реакции) субстанцията е инкубирана при малки концентрации с микрозомен протеин за 15 минути при добавяне на кофактори при 37°C.

Инкубацията, както ивземането на проби, се извършва на модифициран пипетиращ автомат на фирмата Canberra.

Както показва и сравнението с пример от WO-A-98/37061, съединенията от изобретението са метаболитно по- стабилни при този тест:

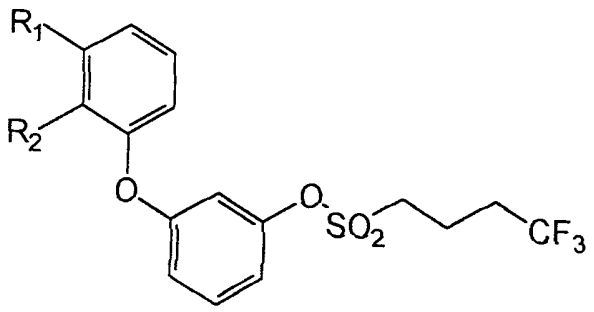


Таблица 1

	R^1	R^2	Fmax[%]
Пример 304 от WO-A-98/37061	CH_3	CH_3	2
Пример 15	Cl	CH_3	4
Пример 17	H	OCF_3	40

Бионаличността на съединенията от изобретението, както и други фармакокинетични параметри могат да бъдат определени *ин виво* по следния начин:

5. Фармакокинетика при плъх

а) Венозна инфузия

Субстанцията е вливана чрез Braun-канюла в странична опашна вена директно в кръвния ток за 15 минути. За точното вливане на избраната доза и обем е използвана калибрирана 20 мл спринцовка. За инфузията е използвана помпа на Braun Melsungen Nr.152440/1.

б) Орално приложение

Приложението на субстанцията се извършва като болус посредством сонда в хранопровода.

в) Вземане на проби и обработване

Кръв и плазма

Кръвни проби са събирани от катетеризирани животни (югуларната вена) в хепаринизирани тръбички. Кръвта е

центрофугирана и плазмата е подготвена по съответен начин за анализа (LC-MS-MS). Плазмата е съхранявана до анализирането при под -15°C.

г) Фармакокинетични резултати

Микрозомните данни (чернодробни микрозоми от плъх) предсказват максимално възможна бионаличност до 100%.

Производните от опитите *ин виво* (плъх) фармакокинетични данни за Пример 22 са:

Орални данни: (Доза: 3 мг/кг):AUC_{norm}: 0.102 kg*час/л,
$C_{макс, норм}$: 0.0198 кг/л, $t_{макс}$: 2.29 часа, $t_{1/2}$:2.36 часа, F:33%.

Венозни данни: (Доза: 0.3 мг/кг):AUC_{norm}: 0.307 kg*час/л,
$C_{макс, норм}$: 0.5978 кг/л, V_{ss}: 4.12 кг, $t_{1/2}$:1.6 часа.

Тук значението е:

AUC_{norm}:	нормираната за 1 мг/кг доза повърхност под кривата плазма-концентрация
$C_{макс, норм}$:	нормираната за 1 мг/кг доза максимална плазмена концентрация след еднократно приложение
$t_{макс}$:	времето, за което се достига максималната концентрация в плазмата след еднократно приложение
$t_{1/2}$:	крайно време на полуживот
F:	бионаличност; тук: дялът на дозата в проценти, който

е наличен при сравнение със системно венозно приложение

V_{ss}: явен обем на разпределение при "steady state".

Действието ин виво на съединенията от изобретението може да бъде примерно показано в следните модели при животни:

6. Хипотермия (плъхове)

Агонистичното действие *ин виво* върху CB1-рецептора е проверено при опит с хипотермия у плъхове.

Опитната субстанция е приложена p.o. (=перорално=през устата) пет минути след определяне на базалната телесна температура чрез хранопроводна температурна сонда. Една контролна група е получила също p.o. само разтворителя на тест-субстанциите (Cremophore EL 1-10% + дестилирана вода). Телесната температура е измерена 120 и 240 минути след p.o. приложение. Бройката в групата е възлизала на 5-7 животни (плъхове).

Изпитване на агонизма при хипотермия у плъхове

Пример	$ED_{-1}{}^{\circ}C$ [a)] [mg/kg]
22	10 mg/kg

[a)] Ефективна доза за намаляване на телесната температура с 1°C

Приложимостта на съединенията от изобретението за лечение на болкови състояния могже да бъде показана в следните животински модели:

7. Аксонотомия на разклонения на седалищния нерв при плъх (модел на хронична болка)

Под пентобарбиталова анестезия е отпрепарирана трифуркацията на седалищен нерв, прекъснати са аксоналните влакна на перонеалния, както и на тибиалния клон, след като нервите са лигирани проксимално от мястото на аксонотомията. Контролните животни са били с фиктивна операция. След операцията аксонотомираните животни са развили хронична механична хипералгезия. Хипералгезията се тества с помощта на прибор за отчитане на натиск в сравнение с фиктивно оперираните животни (електронен анестезиометър на von Frey, IITC Inc.-Life Science Instruments, Woodland Hills, CA, USA).

Приложението на субстанцията се извършва по различно време преди тестването на болката чрез различни пътища на приложение (венозно, интраперитонеално, през устата, интратекално, интракавитарно, трансдермално).

Пример 22 намалява хипералгезията в модела при минимално ефективна доза от 1 мг/кг перорално (остро приложение, 60 минути преди теста).

Приложимостта на съединенията от изобретението за лечение, например, на невродегенеративни заболявания може да бъде показана в модел на постоянна огнищна мозъчна исхемия при плъх (ПМИ-О) или в модел на субдурален хематом при плъх (СДХ) (WO-A-98//37061, стр. 60f).

Новите вещества могат да бъдат въведени по обичаен начин в традиционните формулировки, като таблетки, дражета, хапчета, гранулати, аерозоли, сиропи, емулсии, суспензии и разтвори, като се използват инертни, нетоксични, фармацевтично подходящи вехикулуми или разтворители. Тук терапевтично ефективното съединение трябва да бъде в концентрация от около 0.5 до 90% тегловни от общата смес, т.е. в количества, които са достатъчни да достигнат зададената област на дозиране.

Формулировките се изготвят, например, чрез смесване на веществата с разтворители и/или вехикулуми, евентуално при използване на емулгатори и/или диспергиращи средства, като например, в случай на използване на вода като разредител, могат евентуално да се използват органични разтворители като помощни разтворители.

Приложението става по обичайния начин, предпочитано орално, трансдермално или парентерално, особено перлингвално или венозно. То може да бъде извършено, обаче, и чрез инхалиране през устата или носа, например с помощта на спрей, както и през кожата.

Най-общо се е доказало като благоприятно за постигане на ефективни резултати, когато се прилагат количества от около 0.001 до 10 мг/кг, а при орално приложение предпочитано около 0.005 до 3 мг/кг телесно тегло.

Въпреки това, евентуално може да се наложи отклонение от посочените количества, и то в зависимост от телесното тегло, съответно вида на приложението, от индивидуалната реакция спрямо медикамента, вида на неговата формулировка и времето, съответно

интервала, през който той се прилага. Така, в някои случаи може да бъде достатъчно и по-малко от посоченото минимално количество, докато в други случаи посочената горна граница да трябва да бъде надвишена. В случай на приложение на по-големи количества може да бъде препоръчително тяхното разпределение в повече отделни дози за деня.

Определянето на времето на ретенция на изходните съединения и производствените примери с HPLC са извършени при следните условия:

Колона: Kromasil C18 60*2; инжекционен обем 1.00 μл; скорост: 0.75 мл/мин; елуент: A =0.01M aq H_3PO_4, B=CH_3CN; градиент [t(min):A/B]]: 0:90/10; 0.5:90/10; 4.5:10/90; 6.5:10/90; 7.5:90/10.

Съкращения:

Aq.	воден
CH	циклохексан
DC	тънкослойна хроматография
DCI	директна химична йонизация (при MS)
DCM	дихлорметан
EE	етилацетат (етилов естер на оцетна киселина)
EI	електронно-ударна йонизация (при MS)
ESI	електроспрей-йонизация (при MS)
HPLC	мощна, бърза течна хроматография
Me	метил
MG	молекулно тегло
MS	мас-спектроскопия
NMR	ядрено-мегнитно-резонансна спектроскопия
R_f	ретенционен индекс (при DC)
R_t	ретенционно време (при HPLC)

Изходни съединения

Пример 1

3-метокси-1-(3-метил-2-нитрофенокси)бензол

(Дифенилетерна синтеза - Метод А)

14.7 гр (96.0 ммол) 3-метил-2-нитрофенол, 53.9 гр (288 ммол) 3-броманизол и 18.3 гр (96.0 ммол) калиев карбонат са поставени в около 600 мл придин и са загряти до около 140°C. Оставени са отново да се охладят и са добавени 18.3 гр (96 ммол) Cu(I)-йодид. Разбърквано е за около 60 часа при около 140°C. След отстраняване на разтворителя във вакуум утайката е отделена в толуол и отново е концентрирано. Утайката е извлечена в дихлорметан и е филтрирана върху кварцов пясък. След промиване с още дихлорметан е извършено промиване с 5N HCl, 2N NaOH, 5N HCL, вода и солев разтвор. След изсушаване над магнезиев сулфат е концентрирано във вакуум и полученият суров продукт е пречистен чрез дестилиране в сферична тръба.

Добив: 3.50 гр (13%; HPLC-чистота 94%).
R_f: 0.28 (циклохексан/етилацетат 5:1)
MS (EI): 259 (100%, $[M]^+$)
HPLC: ретенционно време = 4.94 мин
^{1}HNMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ /ppm = 2.37 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 6.1-6.65 (m, 2H), 6.67-6.74 (m, 1H), 6.83 (d, J=8Hz, 1H), 6.99 (d, J=8Hz, 1H), 7.14-7.32 (m, 2H).

Пример II

3-метокси-1[2-(трифлуорметил)фенокси]бензол

(Дифенилетерна синтеза - Метод А)

50.0 гр (222 ммол) 2-бромбензотрифлуорид, 27.6 гр (222 ммол) 3-метоксифенолол и 30.7 гр (222 ммол) калиев карбонат са поставени в около 450 мл придин и са загряти за кратко до около 100°C. Оставени са отново да се охладят и са добавени 17.7 гр (222 ммол) Cu(II)-оксид. Разбъркване е за около 48 часа при кипене (температура около 140°C). След отстраняване на разтворителя във вакуум утайката е отделена в дихлорметан и е разбъркано с 2N солна киселина. След това органичната фаза е промита с 1N натриева луга и вода. След изсушаване над магнезиев сулфат е концентрирано във вакуум и полученият суров продукт е пречистен чрез дестилиране в сферична тръба.

Добив: 3.72 гр (62%; HPLC-чистота 98%).
R_f: 0.47 (циклохексан/етилацетат 5:1)
MS (EI): 2689 (100%, $[M]^+$)
HPLC: ретенционно време = 5.14 мин
^{1}HNMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ /ppm = 3.79 (s, 3H), 6.56-6.65 (m, 2H), 6.71(ddd, J=8Hz, 2Hz,1Hz, 1H), 6.97 (d, J=8Hz, 1H), 7.17 (t, J=8Hz, 1H), 7.25 (t, J=8Hz, 1H), 7.46 (td, J=8Hz, 1Hz, 1H), 7.66 (d, J=8Hz, 1H).

Пример III

1-[2-циано-3-(трифлуорметил)фенокси]-3-метоксибензол

(Дифенилетерна синтеза - Метод С)

В аргонова атмосфера са поставени 10.7 гр (52.1 ммол) 2-хлор-6-(трифлуорметил)бензонитрил [Пример 5 в DE-A-38 36 159; 2-хлор-6-(трихлорметил)бензонитрил, получен от 2,6-диметил-бензонитрил съгласно Пример 3 от DE-A-2 214 058] в безводен DMF, смесени са с 7.19 гр (52.1 ммол) калиев карбонат и 6.46 гр (52.1 ммол) 3-метоксифенол и са бъркани 5 часа при 100°C. След това са смесени с 500 мл 2N NaOH и 200 мл наситен разтвор на солна киселина. Екстрахирано е двукратно с около 300 мл етер, пречистените органични фази са изсушени над магнезиев сулфат, извършено е изпаряване във вакуум и е хроматографирано върху 450 гр кварцов гел в елуент толуол. Фракциите на продуктите са изпарени до сухо и към оставащото масло е добавен малко етер. Оставено е да кристализира, вакуумирано е и е промито с пентан.

Добив: 9.36 гр (57%; HPLC-чистота 96%).
R_f: 0.39 (толуол)
Точка на топене: 68°C.
HPLC: ретенционно време = 4.89 мин
^{1}HNMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ /ppm = 3.72 (s, 3H), 6.62-6.87 (m, 3H), 7.08 (d, J=8Hz, 1H), 7.33 (t, J=8Hz, 1H), 7.44 (d, J=8Hz, 1H), 7.57 (t, J=8Hz, 1H).

Пример IV

1-[2-хлор-3-(трифлуорметил)фенокси]-3-метоксибензол

(Дифенилетерна синтеза - Метод D)

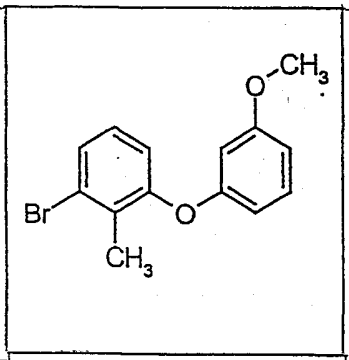
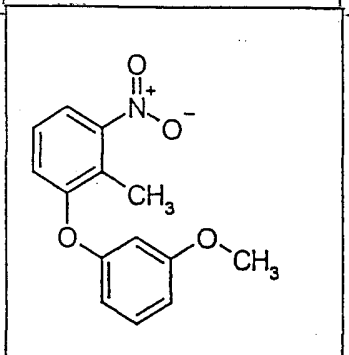
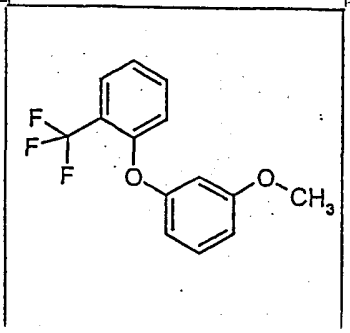
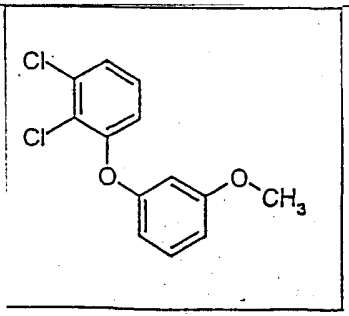
В аргонова атмосфера са поставени 1.00 гр (5.09 ммол) 2-хлор-3-(трифлуорметил)фенол в 10 мл DMF и са смесени с 0.72 гр (5.09

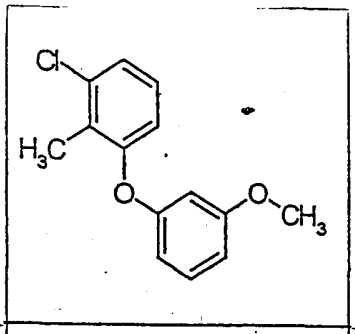
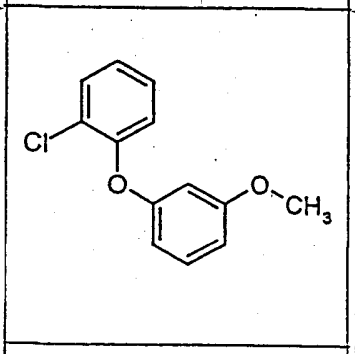
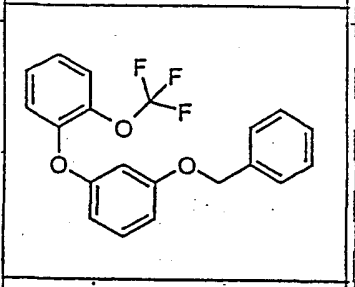
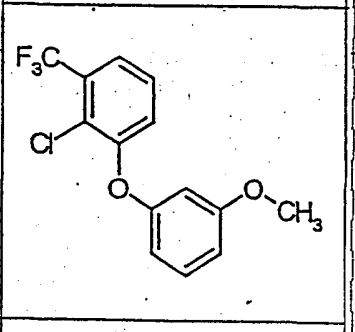
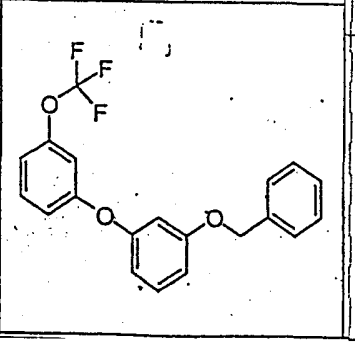
ммол) 3-флуорнитробензол и 0.70 гр (5.09 ммол) калиев карбонат. Сместа е загрявана за около 16 часа при температура на кипене. След охлаждане сместа е поставена върху 50 мл 2N натриева основа и е разбърквана за 1 час, след това е добавен 20 мл разтвор на натриев хлорид и е разбърквано още 30 минути. След това е екстрахирано с дихлорметан, органичната фаза е изсушена над магнезиев сулфат и е извършено концентриране във вакуум. Пречистването чрез хроматография върху кварцов гел в елуент циклохексан/етилацетат 20:1 води до получаване на 0.69 гр (42%; HPLC-чистота 100%) от желаното съединение.

R_f: 0.39 (циклохексан/етилацетат 2:1)
MS (EI): 317 (100%, $[M]^+$)
HPLC: ретенционно време = 5.22 мин
^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ /ppm = 7.51 (dd, J=8Hz, 2Hz, 1H), 7.56-7.83 (m, 5H), 8.05 (dd, J=8Hz, 2Hz, 1H).

Следващите примери V – XIII са получени по аналогичен начин, чрез методите 1 или B за получаване на изходните съединения от съответните изходни съединения:

Таблица I:

Пример №	Структура	MG	Метод / добив в %	HPLC-чистота в % R_t в мин.	R_f-стойност (елуент)	MS
V		293.2	B / 15	94 / 5.55	0.53 (CH/EE 20:1)	DCI/NH_3: 293 (100%, $[M]^+$)
VI		259.3	A / 59	96 / 5.05	0.31 (CH/EE 2:1)	EI:259 (100%, $[M]^+$)
VII		268.2	B / 62	98 / 5.14	0.47 (CH/EE 5:1)	EI:268 (100%, $[M+H]^+$)
VIII		269.1	A / 45	78 / 5.36	0.51 (CH/EE 2:1)	EI:268 (90%, $[M]^+$)

Пример №	Структура	MG	Метод / добив в %	HPLC-чистота в % R_t в мин.	R_f-стойност (елуент)	MS
IX		248.7	A / 70	96 / 5.54	0.55 (CH/EE 5:1)	EI:248 (100%, $[M]^+$)
X		234.7	A / 61	73 / 5.09	0.46 (CH/EE 2:1)	DCI/NH_3 :235 (100%, $[M+H]^+$)
XI		360.3	B / 45	96 / 5.67	0.53 (CH/EE 5:1)	ESI:361 (100%, $[M+H]^+$)
XII		302.7	A / 77	89 / 5.36	0.55 (CH/EE 2:1)	EI:302 (100%, $[M]^+$)
XIII		360.3	B / 57	96 / 5.83	0.14 (CH/EE 2:1)	EI:360 (26%, $[M]^+$)

Пример XIV

3-(3-метил-2-нитрофенокси)фенол
(Метилетерно разцепване - Метод А)

В аргонова атмосфера 500 мг (1.93 ммол) 1-метокси-3-(3-метил-2-нитрофен-окси)бензол са поставени в 2 мл безводен дихлорметан и разтворът е изстуден до –20°С. При тази температура са добавени 5.8 мл 1М разтвор на бортрибромид в дихлорметан. Оставено е да се изстуди до 0°С и е бъркано 1 час. След смесване с вода трикратно е екстрахирано с дихлорметан. Пречистените органични фази са промити с разтвор на натриев хидрогенкарбонат, изсушени са над магнезиев сулфат и са концентрирани във вакуум. Хроматографското пречиставен върху кварцов гел в елуент циклохексан/етилацетат 30:1 води до получаване на 424 мг (89%) от желаното съединение.
R_f: 0.18 (циклохексан/етилацетат 2:1)
MS (EI): 245 (100%, $[M]^+$)
HPLC: ретенционно време = 4.40 мин
^{1}HNMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ /ppm = 2.37 (s, 3H), 4.88 (широк s, 1H), 6.54 (t, J=2Hz, 1H), 6.57-6.66 (m, 2H), 6.85 (d, J=8Hz, 1H), 7.01 (d, J=8Hz, 1H), 7.19 (t, J=8Hz, 1H), 7.27 (t, J=8Hz, 1H).

Пример XV

3-[2-циано-3-(трифлуорметил)фенокси]-фенол
(Метилетерно разцепване - Метод В)

В аргонова атмосфера 10.0 гр (34.1 ммол) 1-(2-циано-3-флуорметилфенокси)-3-метоксибензол са поставени в 2 мл безводен дихлорметан и са смесени с 13.9 гр (37.5 ммол) n-тетрабутиламониев

йодид. Разтворът е изстуден до –78°C и е бавно са накапани 120 мл 1N разтвор на бортрихлорид в дихлорметан, като температурата е оставена да не се повишава над -70°C. За 2 часа е оставено да се затопли до стайна температура. Реакционната смес е излята върху 300 мл ледена вода, сместа е екстрахирана трикратно с дихлорметан, органичната фаза е промита двукратно с наситен разтвор на натриев хидрогенкарбонат и един път със солев разтвор. Изсушено е над магнезиев сулфат и е хроматографирано върху приблизително 400 гр кварцов гел с дихлорметан. Към получения маслен продукт е добавен пентан и е оставено да кристализира.

Добив: 7.75 гр (96%; HPLC-чистота 96%)

R_f: 0.16 (CH_2Cl_2)

Точка на топене: 108°C

HPLC: ретенционно време = 4.41 мин

^{1}HNMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ /ppm = 5.13 (s, 3H), 6.59-6.78 (m, 3H), 7.11 (d, J=8Hz, 1H), 7.28 (t, J=8Hz, 1H), 7.45 (d, J=8Hz, 1H), 7.58 (t, J=8Hz, 1H).

Пример XVI

3-[2-хлор-3-(трифлуорметил)фенокси]-фенол

(Метилетерно разцепване - Метод C)

600 мг (1.98 ммол) 3-метокси-1-[2-хлор-3-(трифлуорметил)фенокси]-бензол са поставени в 6 мл оцетна киселина, смесени са с 3.60 мл 48% воден разтвор на бромова киселина и са загрявани 4 часа при кипене. След изстудяване са разредени с вода и екстрахирани с етилацетат. Органичните фази са промити трикратно с вода и след това са изсушени върху магнезиев сулфат и концентрирани във вакуум. Хроматографиране върху кварцов

гел с елуент дихлорметан/циклохексан 2:1 води до получаване на 484 мг от желаното съединение (81%, HPLC-чистота 96%)..

R_f: 0.39 (циклохексан/етилацетат 2:1)

MS (EI):288 ($[M]^+$)

HPLC: ретенционно време = 4.80 мин

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ /ppm = 6.37 (t, J=2Hz), 6.44 (ddd, J=8Hz, 2Hz, 1Hz, 1H), 6.59 (ddd, J=8Hz, 2Hz, 1Hz, 1H), 7.20 (t, J=8Hz, 1H), 7.39 (dd, J=8Hz, 1Hz, 1H), 7.56 (t, J=8Hz, 1H), 7.68 (dd, J=8Hz, 1Hz, 1H), 9.69 (s, 1H).

Пример XVI

3-[3-(трифлуорметил)фенокси]-фенол

(Метилетерно разцепване - Метод D)

1.70 гр (4.72 ммол) 3-бензилокси-1-[3-(трифлуорметил)фенокси]-бензол са суспендирани в 135 мл тетрахидрофуран и 15 мл етанол в съд за хидриране, като след добавяне на 170 мг 10%-ен Pd върху въглен са хидрирани при нормална температура при 1 атмосфера водород за една нощ. С цел преработване катализаторът е филтриран върху кварцов пясък, филтратът е концентриран и е хроматографиран върху кварцов гел при градиент циклохексан/етилацетат 10:1 до 1:1.

Отстраняването на разтворителя води до получаване на 1.27 гр от желаното съединение (99%, HPLC-чистота 95%).

R_f: 0.28 (циклохексан/етилацетат 5:1)

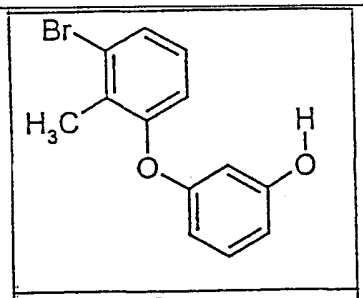
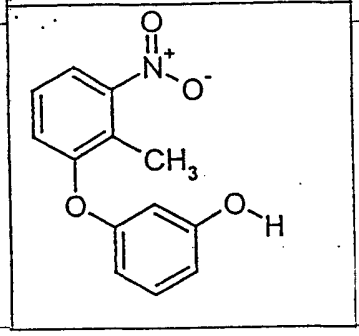
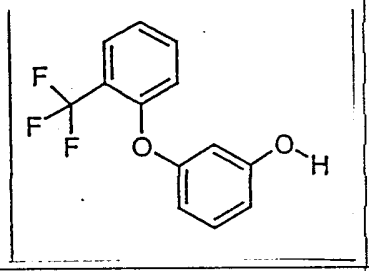
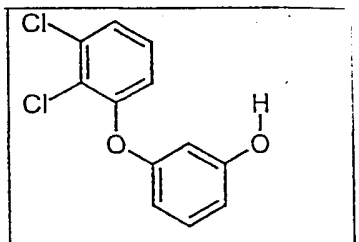
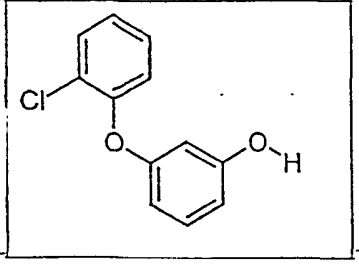
MS (EI):270 ($[M]^+$)

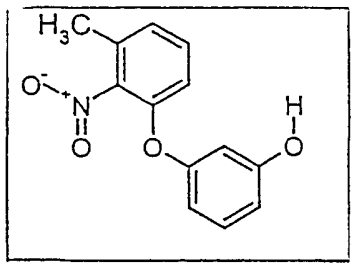
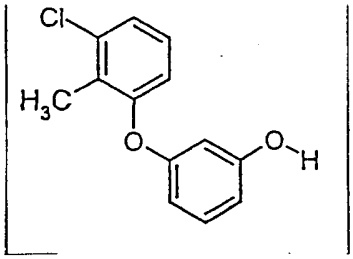
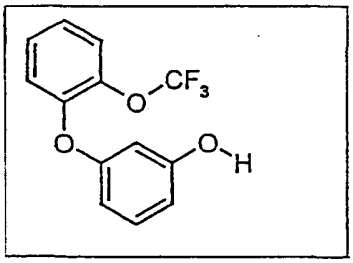
HPLC: ретенционно време = 4.78 мин

^{1}HNMR (200 MHz, $CDCL_3$): δ /ppm = 4.97 (s, 1H), 6.53 (t, J=2Hz, 1H), 6.56-6.57 (m, 2H), 6.85-7.01 (m, 3H), 7.2 (t, J=8Hz, 1H), 7.34 (t, J=8Hz, 1H).

Следващите примери XVIII – XXV са получени по аналогичен начин съответно на методите A, C или D:

Таблица II:

Пример №	Структура	MG	Метод/ добив в %	HPLC-чистота в % R_t в мин.	R_f-стойност (елуент)	MS
XVIII		279.1	C / 79	92/ 4.93	0.21 (CH/EE 10:1)	EI:278 (100%, $[M]^+$)
XIX		245.2	C / 75	100/4.46	0.24 (CH/EE 5:1)	DCI/NH_3 :263 (100%, $[M+NH_4]$
XX		254.2	C / 99	98 / 4.56	0.56 (CH/EE 2:1)	EI:254 (100%, $[M+H]^+$)
XXI		255.1	C / 49	91 / 4.72	0.20 (CH/EE 5:1)	EI:254 (43%, $[M]^+$)
XXII		220.7	C / 80	94 / 4.44	0.21 (CH/EE 5:1)	EI:220 (61%, $[M]^+$)

Пример №	Структура	MG	Метод/ добив в %	HPLC-чистота в % R_t в мин.	R_f-стойност (елуент)	MS
XXIII		245.2	A / 89	99 / 4.4	0.18 (CH/EE 2:1)	DCI/NH_3 :263 (100%, [M+NH_4]
XXIV		234.7	C / 64	96 / 4.83	0.39 (CH/EE 2:1)	EI:234 (100%, $[M+H]^+$)
XXV		270.3	D / 98	95 / 4.65	0.29 (CH/EE 2:1)	EI:270 (100%, $[M+H]^+$)

Пример XXVI

3-[2-хлор-3-(трифлуорметил)феноксИ]-анилин

В аргонова атмосфера 630 мг (1.98 ммол) 1-[2-хлор-3-(трифлуорметил)феноксИ]-3-нитробензол са поставени с 625 мг (9.09 ммол) амониев формиат и 31.5 мг 10% паладий/въглен катализатор в 7 мл метанол. Сместа е загрявана при кипене 2 часа. След изстудяване е филтрирано над кварцов пясък, промито е с метанол и филтратът е

концентриран. Отново е промито с дихлорметан, екстрахирано е двукратно с вода, органичните фази са изсушени над магнезиев сулфат и са концентрирани отново. Хроматографското пречистване върху кварцов гел с елуент циклохексан/етилацетат 6:1 води до получаване на 458 мг (72%; HPLC-чистота 90%) от желаното съединение.

R_f: 0.48 (циклохексан/етилацетат 1:1)

MS (ESI):288 (22%, $[M+H]^+$)

HPLC: ретенционно време = 4.41 мин

^{1}HNMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ /ppm = 5.28 (s, 2H), 6.11-6.19 (m, 2H), 6.38 (ddd, J=8Hz, 2Hz, 1Hz, 1H), 7.03 (t, J=8Hz, 1H), 7.33 (dd, J=8Hz, 1Hz, 1H), 7.54 (t, J=8Hz, 1H), 7.63 (dd, J=8Hz, 1Hz).

Пример XXVII

3-[2-циано-3-(трифлуорметил)фенокси]-3-хидроксибензол
(Дифенилетерна синтеза – Метод E)

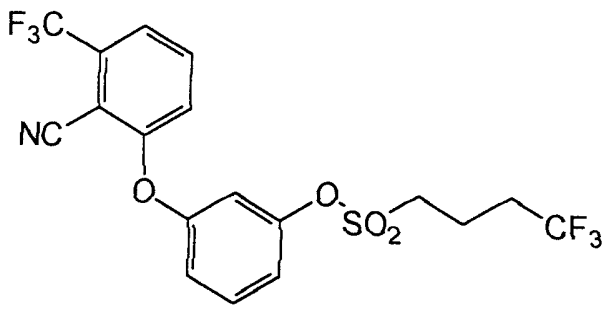
Резорцинол [44.0 гр (0.4 мол) е частично разтворен в 170 мл N-метил-пиролидон, смесен е с калиев хидроксид [поне 85%-ен; 34.5 гр (0.52 мол)] и след това с 2-хлор-6-(трифлуорметил)бензонитрил [20.5 гр (0.1 мол)]. Сместа е разбъркване 2.5 часа при 60-65°C. след добавяне на 300 мл толуол и 400 мл вода водната фаза е отделена и още веднъж е екстрахирано с толуол. Пречистените органични фази са изсушени над магнезиев сулфат и след филтриране са концентрирани. Налагането на маслената утайка със 150 мл вода, филтрирането и изсушаването води до получаване на леко кафеникави кристали.

Добив: 22 гр (79% от теоретичната стойност; сравни с пример XV).

Производствени примери

Пример 1

3-[2-циано-3-(трифлуорметил)феноксиJфенил 4,4,4-трифлуор-1-бутансулфонат



(Естер на сулфоновата киселина – Метод А)

В аргонова атмосфера 7.70 гр (27.6 ммол) 3-[2-циано-3-(трифлуорметил)феноксиJ-фенол са разтворени в 60 мл дихлорметан, след което разтворът е смесен с 4.32 гр (13.1 ммол) тетрабутиламониев бромид и 3.95 мл 45%-ен разтвор на NaOH. При 0°С са добавени 6.64 гр (31.5 ммол) хлорид на 4,4,4-трифлуорбутан-1-сулфонова киселина, разтворени в 20 мл дихлорметан. Жълто до оранжево оцветяващият се разтвор се бърка 1 час. След последващо разреждане с вода се екстрахира трикратно с вода. Пречистените органични фази се промиват със солев разтвор и се изсушават над магнезиев сулфат. Пречистването се извършва с бърза хроматография върху 360 гр кварцов гел в постепенен градиент на елуент от циклохексан/дихлорметан 1:1 до 1:4. Центрофугирането води до

получаване на маслена утайка, която кристализира при добавяне на пентан.

Добив: 1. Фракция 9.21 гр (18%, HPLC-чистота 100%)

R_f : 0.56 (CH_2Cl_2)

Точка на топене: 60-61°C

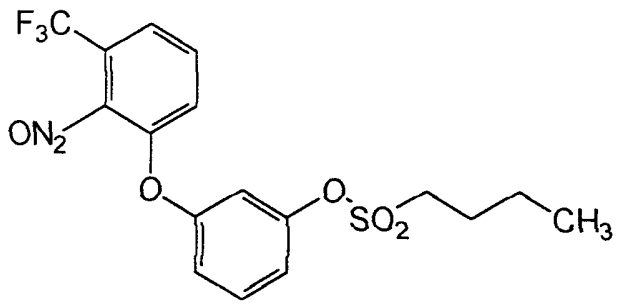
MS (ESI): 454 ($[M+H]^+$)

HPLC, ретенционно време = 5.08 мин.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$):δ /ppm= 2.2-2.5 (m, 4H), 3.39 (t, J=7Hz, 2H), 7.0-7.3 (m, 4H), 7.50 (t, J=8Hz, 1H), 7.53 (d, J=8Hz, 1H), 7.64 (d, J=8Hz).

Пример 2

3-3-(метил-2-нитро-фенокси)фенил пентансулфонат



(Естер на сулфоновата киселина – Метод В)

Към 200 гр (0.82 ммол) 3-(3-метил-2-нитрофенокси)-фенол при стайна температура в 5 мл дихлорметан са добавени първо 1 мл 40%-ен разтвор на тетрабутиламониев хидроксид, след 5 мин. бъркане – 153 мг (0.90 ммол) разтвор на хлорид на n-пентансулфонова киселина. След 1.5 часа разбъркване е смесено с 0.5 мл 10% разтвор на

$NaHCO_3$, сместа е филтрирана над 3-гр колба с Extrelut (Merck Darmstadt, Nr. 115095) и колбата е промита многократно с дихлорметан. Пречистването се извършва с бърза хроматография върху кварцов гел с елуент циклохексан/етилацетат 30:1 води до получаване на 255 мг (82%p HPLC-чистота 99%) от желаното съединение.

R_f : 0.35 (циклохексан/етилацетат 2:1)

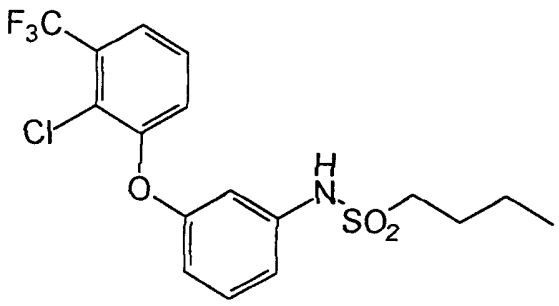
MS (ESI): 380 (100%, $[M+H]^+$)

HPLC, ретенционно време = 5.29 мин.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$):δ /ppm= 0.93 (t, J=7Hz, 3H), 1.30-1.51 (m, 4H), 1.89-2.02 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 3.18-3.28 (m, 2H), 6.85-7.42 (m, 7H).

Пример 3

N-{3-[2-хлор-3-(трифлуорметил)феноксиjфенил}-4,4,4-трифлуорбутан-1-сулфонамид



(Сулфонамид – Метод С)

В аргонова атмосфера 100 мг (0.35 ммол) 3-[2-хлор-3-(трифлуорметил)феноксиj-анилин са поставени в 1 мл дихлорметан. Добавени са 106 мг (1.04 ммол) триетиламин и 77 мг (0.37 ммол)

хлорид на 4,4,4- трифлуорбутан-1-сулфонова киселина, разтворени в 1 мл дихлорметан и се бърка при стайна температура. След 4 дни се добавят още 0.3 еквивалента хлорид на 4,4,4-трифлуорбутан-1-сулфонова киселина и се бърка още 3 дни. След това се смесва с 2N солна киселина и се екстрахира еднократно с наситен солев разтвор. Органичната фаза се изсушава над магнезиев сулфат и се концентрира във вакуум. Пречистването с бърза хроматография върху 360 гр кварцов гел в елуент дихлорметан/циклохексан 7:2 води до получаване на 96 мг (54%, HPLC-чистота 90%) от желаното съединение.

R_f : 0.33 (дихлорметан/циклохексан 2:1)

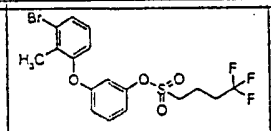
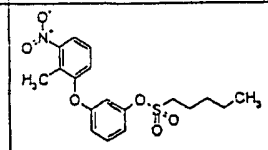
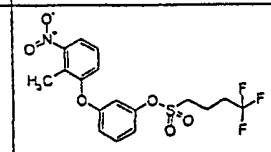
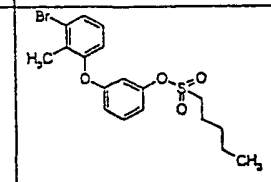
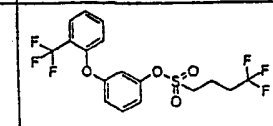
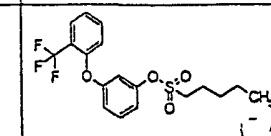
MS (DCI/NH_3): 479 ($[M+NH_4]^+$)

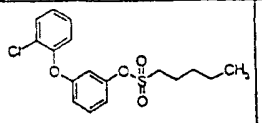
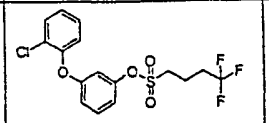
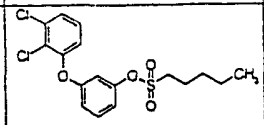
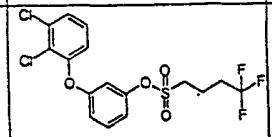
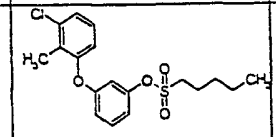
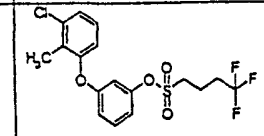
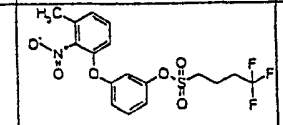
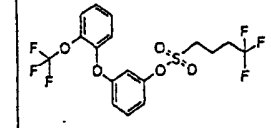
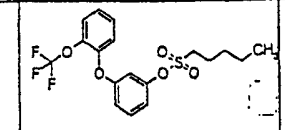
HPLC, ретенционно време = 8.34 мин.

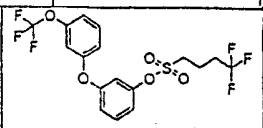
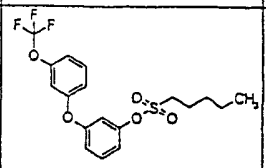
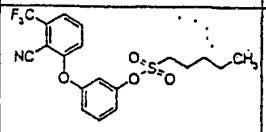
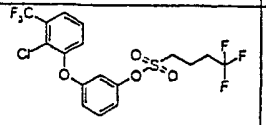
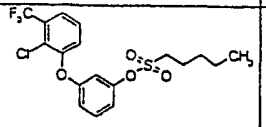
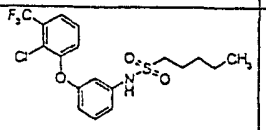
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6):δ /ppm= 1.80-1.93 (m, 2H), 2.31-2.50 (m, 2H), 3.25 (t, J=8Hz, 2H), 6.75 (dd, J=8Hz, 2Hz, 1H), 6.85(t, J=2Hz, 1H), 7.03 (dd, J=8Hz, 1Hz), 7.38 (t, J=8Hz, 1H), 7.43 (dd, J=8Hz, 1Hz, 1H), 7.58 (t, J=8Hz, 1H), 7.72 (dd, J=8Hz, 1Hz, 1H), 10.04 (s, 1H).

Следващите Примери 4 до 24 се получават по аналогичен начин, съответно на методите от производствените примери A, B или C от съответните изходни съединения:

Таблица 3:

Пример №	Структура	MG	Метод/ добив в %	HPLC-чистота в % / R_t в мин.	R_f-стойност (елуент)	MS
4		453,3	A / 61	97 / 5,15	0,33 (CH/EE 5:1)	ESI: 453 (79%, $[M+H]^+$)
5		379,4	A / 76	94 / 5,36	0,63 (CH/EE 1:1)	DCI/NH_3: 397 (100%, $[M+NH_4]^+$)
6		419,4	B / 78	100 / 5,12	0,69 (Toluol/EE 5:1)	ESI: 420 (100%, $[M+H]^+$)
7		413,3	A / 103	89 / 5,83	0,52 (CH/EE 2.1)	DCI/NH_3: 430 (100%, $[M+H]^+$)
8		428,4	A / 67	97 / 5,24	0,32 (CH/EE 2:1)	ESI: 451 (100%, $[M+Na]^+$), ESI: 429 (89%, $[M+H]^+$)
9		388,4	A / 79	94 / 5,47	0,53 (CH/EE 2:1)	ESI: 349 (35%, $[M+H]^+$)

Пример №	Структура	MG	Метод/ добив в %	HPLC-чистота в % / R_t в мин.	R_f-стойност (елуент)	MS
10		354,9	B / 63	81 / 5,44	0,45 (CH/EE 2:1)	DCI/NH_3: 372 (100%, $[M+NH_4]^+$)
11		349,8	B / 67	81 / 5,2	0,37 (CH/EE 2:1)	DCI/NH_3: 412 (100%, $[M+NH_4]^+$)
12		389,3	B / 76	100 / 5,64	0,48 (CH/EE 2:1)	DCI/NH_3: 406 (100%, $[M+NH_4]^+$)
13		429,2	B / 72	97 / 5,38	0,31 (CH/EE 2:1)	DCI/NH_3: 446 (100%, $[M+NH_4]^+$)
14		368,9	B / 84	93 / 5,77	0,49 (CH/EE 2:1)	DCI/NH_3: 386 (100%, $[M+NH_4]^+$)
15		408,9	B / 69	92 / 5,5	0,38 (CH/EE 2:1)	DCI/NH_3: 426 (100%, $[M+NH_4]^+$)
16		419,4	B / 81	98 / 5,07	0,23 (CH/EE 2:1)	ESI: 420 (100%, $[M+H]^+$)
17		444,4	A / 91	93 / 5,33	0,25 (CH/EE 5:1)	ESI: 445 (100%, $[M+H]^+$)
18		404,4	A / 17	98 / 5,65		DCI/NH_3: 422 (100%, $[M+NH_4]^+$)

Пример №	Структура	MG	Метод/ добив в %	HPLC-чистота в % / R_t в мин.	R_f-стойност (елуент)	MS
19		444,4	A / 29	96 / 5,4	0,26 (CH/EE 5:1)	ESI: 445 (57%, $[M+H]^+$)
20		404,4	A / 24	70 / 5,7		DCI/NH_3: 422 (100%, $[M+NH_4]^+$)
21		413,4	A / 95	100 / 5,1	0,33 (DCM/MeOH 100:3)	ESI: 414 (100%, $[M+H]^+$)
22		462,8	A / 86	97 / 5,4	0,36 (CH/DCM 2:1)	ESI: 463 (80%, $[M+H]^+$)
23		422,9	A / 97	100 / 5,62	0,49 (CH/EE 2:1)	DCI/NH_3: 440 (100%, $[M+NH_4]^+$)
24		421,9	C / 48	91 / 7,94	0,42 (CH/EE 2:1)	DCI/NH_3: 439 (100%, $[M+NH_4]^+$)

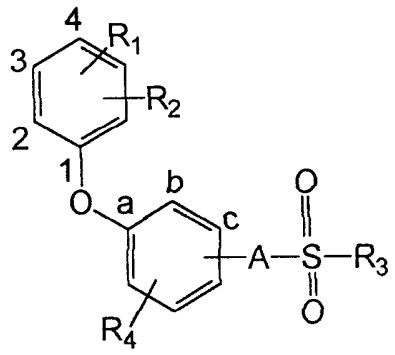
Горните примери имат следните ^{1}H-NMR-спектроскопски данни:

Таблица 4:

Пример	^{1}H-NMR (300 MHz): δ/ppm
17	$CDCl_3$; 2,17-2,42 (m, 4H); 3,33 (t, J=7Hz, 2H); 6,88 (t, J=2Hz; 1H) 6,92-6,95 (m, 1H); 7,01-7,05 (ddd, H=8 Hz, 2Hz, 0,5Hz; 1H); 7,09 (dd, J=8Hz, 2Hz, 1H); 7,18-7,39 (m, 4H).
21	DMSO-d_6; 0,86 (t, J=7Hz, 3H); 1,24-1,43 (m, 4H); 1,80 (quin, 2H); 3,56 (t, J=7,5Hz, 2H); 7,29-7,38 (m, 4H); 7,61 (t, J=8Hz, 1H); 7,77 (d, H=7,5Hz, 1H); 7,88 (t, J=8Hz, 1H).
22	DMSO-d_6; 2,02 (quin, 2H); 2,46 (m, 2H); 3,69 (t, J=7,5Hz, 2H); 7,02-7,08 (m, 3H); 7,17-7,20 (dd, J=8Hz, 2Hz, 1H); 7,48-7,63 (m, 3H); 7,72-7,75 (dd, J=8Hz, 1Hz, 1H).
23	DMSO-d_6; 0,86 (t, J=7Hz, 3H); 1,33 (m, 4H); 1,78 (quin, 2H); 3,52 (t, J=7,5Hz, 2H); 7,02-7,06 (m, 2H); 7,15-7,18 (m, 1H); 7,48-7,64 (m, 3H); 7,72-7,75 (dd, J=8*Hz, 1Hz, 1H).

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

1. Съединения с общата формула (I),



(I)

в която

R^1 означава водород, (C_1-C_4)-алкил, халоген, трифлуорметил, трифлуорметокси-, циано- или нитро-,

R^2 означава халоген, трифлуорметил, трифлуорметокси-, циано- или нитро-,

R^3 означава (C_4-C_7)-алкил, който може да бъде едно- или многократно с флуор или хлор,

R^4 означава водород или халоген, и

A означава кислород или NH.

2. Съединения съгласно претенция 1, като

R^1 означава водород, флуор, хлор, метил-, трифлуорметил, трифлуорметокси-, циано- или нитро-,

R^2 означава флуор, трифлуорметил, трифлуорметокси-, циано- или нитро-,

R^3 означава *n*-бутил, *n*-лентил, 4,4,4-трифлуорбут-1-ил или 5,5,5-трифлуорпент-1-ил,

R^4 означава водород, и

A означава кислород.

3. Съединения съгласно претенция 1 или 2,

като

R^1, R^2, R^3, R^4 и A имат посоченото в претенция 1 или 2 значение,

а на позиция 4 в заместения с R^1 и R^2 фенилов пръстен се намира водороден атом.

4. Съединения съгласно претенция 1 или 2,

като

R^1, R^2, R^3, R^4 и A имат посоченото в претенция 1 или 2 значение,

а R^1и R^2 се намират на позиции 2 и 3 във фениловия пръстен.

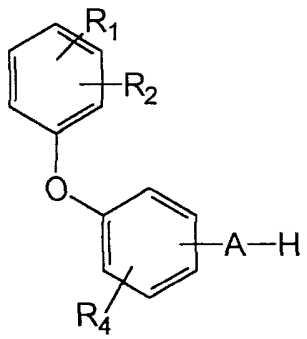
5. Съединения съгласно претенция 1 до 3,

като

R^1, R^2, R^3, R^4 и A имат посоченото в претенции 1 до 4 значение, и

A се намира на позиция в бензоловия остатък.

6. Метод за производство на съединенията съгласно претенция 1, характеризиращ се с това, че съединение с общата формула (II)



(II)

в която R^1, R^2, R^4 и A имат значението, посочено в претенция 1,

реагира в инертен разтворител в присъствието на подходяща основа и евентуално в присъствие на фазово-преходен катализатор със съединение с общата формула (III)

$$X^1 - SO_2 - R^3 \text{ (III)}$$

в която

X^1 означава подходяща отделяща се група, и

R^3 има горепосоченото значение.

7. Съединения с общата формула (I)) съгласно претенция 6

8. Съединения съгласно една от претенции 1 до 5 за лечение и/или профилактика на болести

9. Лекарствени средства, съдържащи поне едно съединение съгласно една от претенции 1 до 5 в смес с поне един фармацевтично приемлив, по същество нетоксичен вехикулум или ексципиент.

10. Приложение на съединения съгласно една от претенции 1 до 5 за производство на лекарствено средство за лечение и/или профилактика на болкови състояния и/или невродегенеративни заболявания.

11. Приложение на съединения съгласно една от претенции 1 до 5 за производство на лекарствено средство за лечение и/или профилактика на Паркинсонова болест.