

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

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

(10) **FI 955818 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **955818**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -  
International patent classification  
**C07D333/34  
C07D333/36  
C07D277/36  
C07D277/46  
C07D409/06  
C07D409/12**

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **04.12.1995**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **04.12.1995**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **06.06.1996**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

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

05.12.1994 AT 2252/94

(71) Hakija - Sökande - Applicant

**1 • Esch, Peter**, 72, Avenue Frédéric Mistral 06130 Grasse, France, RANSKA, (FR)  
**2 • Towart, Robertson**, 13 Sefton Paddock Stoke Poges, SL2 4PT, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)  
**3 • Rovenszky, Franz**, Ziehrerstrasse 27, Österreich, ITÄVALTA, (AT)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

**1 • Esch, Peter**, Österreich, ITÄVALTA, (AT)  
**2 • Towart, Robertson**, Österreich, ITÄVALTA, (AT)  
**3 • Rovenszky, Franz**, Österreich, ITÄVALTA, (AT)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

**Leitzinger Oy**, High Tech Center, Tammasaarekatu 1, 00180 Helsinki

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

**Uudet heterosykliset amidit**

**Nya heterocykliska amider**

Uudet heterosykliset amidit. - Nya heterocykliska amider.

Keksintö koskee uusia heterosyklisiä amideja, joita voidaan käyttää lääkkeinä häiriöitä ja sairauksia vastaan, jotka voidaan tervehdyttää tai parantaa kaliumkanaviin vaikuttamalla.

On tunnettua, että virtsarakon lihaksiston kontrolloimattomat tai epästabiilit lihaskouristukset voivat aiheuttaa virtsanpidätyskyvyttömyyttä. Vaikka parasympaattisella hermostolla on ihmisellä suuri merkitys virtsarakon kontrolloidussa, fysiologisessa toiminnassa, voidaan kontrolloimattomien virtsanpäästöjen kuitenkin useammin katsoa johtuvan virtsarakon sileän lihaksiston yliherkkyydestä (K.-E. Andersson, Pharmacology of lower urinary tract smooth muscles and penile erectile tissue, Pharmacol. Rev., 45, 253-308, 1993). Määrätyt lääkkeet, esimerkiksi kouristuksia lievittävät aineet, kalسيومantagonistit ja kaliumkanava-aktivaattorit, pystyvät hylitsemään tätä yliherkkyyttä. Joitakin näistä käytetään jo käytännössä virtsanpidätyskyvyttömyyden ennaltaestäjinä (K.-E. Andersson, Current concepts in the treatment of disorders of micturition, Drugs, 35, 477-494, 1988). Kaikkien siellä kuvattujen yhdisteiden haittana on niiden selvä sivuvaikutusprofiili, joka sisältää mm. sydän-verisuoni- ja ruoansulatuskanavan häiriöitä (sama).

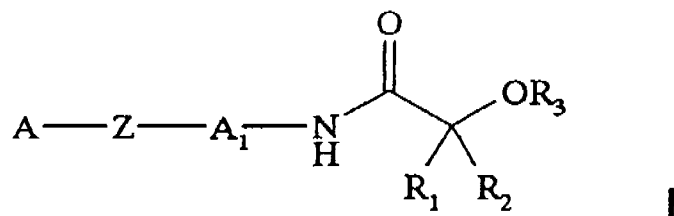
Julkaisusta EP-A 0 524 781 tunnetaan substituoidut amidit, jotka aikaansaavat kaliumkanavien aukenemisen. Nämä substituoidut amidit sisältävät substituentteina mahdollisesti substituoidun fenyyli- tai pyridyyli-ryhmän. Julkaisusta EP-A 0 617 010 tunnetaan samalla lailla vaikuttavat amidit, jotka sisältävät substituentteina mahdollisesti substituoidun fenyyli-, pyridyyli-, pyrimidyyli-, pyridatsinyyli- tai pyrat-sinyyli-ryhmän.

Tämän keksinnön tehtävänä oli aikaansaada uusia yhdisteitä, joilla on erinomainen teho kaliumkanaviin vaikutuksessa ja

hyvä selektiivisyys vähentyneillä sivuvaikutuksilla ja jotka ovat sen vuoksi tunnettuja yhdisteitä parempia.

Odottamattomasti tämä tehtävä voitiin ratkaista aikaansaamalla uusia heterosyklisiä amideja, joissa on heteroaromaattisina substituentteina rikkiä tai rikkiä ja tyypeä sisältävä rengas.

Keksinnön kohteena ovat sen mukaisesti kaavan I mukaiset heterosykliset amidit

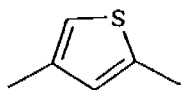


jossa

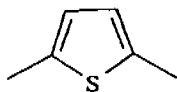
A on aromaattinen tai S- tai N-heteroaromaattinen rengas, jossa on 5 - 10 C-atomia, ja joka voi mahdollisesti olla substituoitu yhdellä tai usealla suoraketjuisella tai haaroittuneella C<sub>1-4</sub>-alkyyllillä, C<sub>1-4</sub>-alkoksilla, hydroksilla, halogeenilla tai CF<sub>3</sub>:lla, CF<sub>3</sub>CF<sub>2</sub>:lla,

Z on ryhmä C=O, SO tai SO<sub>2</sub>,

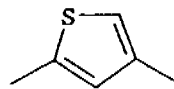
A<sub>1</sub> on kaavan IIa - IIc mukainen heteroaromaattinen järjestelmä



IIa

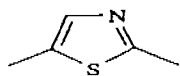


IIb

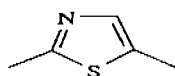


IIc

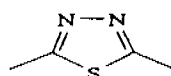
tai kaavan IIIa - IIIc mukainen heteroaromaattinen järjestelmä



IIIa



IIIb



IIIc

$R_1$  ja  $R_2$  ovat toisistaan riippumatta H, suoraketjuinen tai haaroittunut  $C_{1-4}$ -alkyyli tai fluorattu alkyyli, ja  $R_3$  on H, suoraketjuinen tai haaroittunut  $C_{1-4}$ -alkyyli tai fysiologisissa oloissa lohkeava ryhmä.

Kaavan I mukaiset yhdisteet voivat olla optisten antipodiensa seoksena, mutta myös kulloinkin enantiomeeripuhdaa muodos-  
sa. Sekä kaavan I mukaisten yhdisteiden optisten antipodien seokset että kulloinkin enantiomeeripuhdas muoto ovat keksin-  
nön kohteena.

Kaavassa I ryhmä A on aromaattinen tai S- tai N-heteroaromaattinen rengas, jossa on 5 - 10 C-atomia, esimerkiksi fenyyli-ryhmä, tienyyli-ryhmä, pyridyyli-ryhmä, pyrimidyyli-ryhmä, pyridatsyyli-ryhmä, imidatsolyyli-ryhmä. Nämä ryhmät voivat mahdollisesti olla kerran tai useasti substituoituja, esimerkiksi suoraketjuisella tai haaroittuneella  $C_{1-4}$ -alkyyllillä, kuten metyyli, etyyli, propyyli, isopropyyli, butyyli, isobutyli tai t-butyli, tai suoraketjuisella tai haaroittuneella  $C_{1-4}$ -alkoksilla, esimerkiksi metoksi-, etoksi-, propoksi- tai butoksiryhmillä. Edelleen tämä heteroaromaattinen rengas voi olla substituoitu kerran tai useasti hydroksilla, halogeenilla, kuten kloori, fluori tai bromi, tai ryhmillä  $CF_3$  tai  $CF_3CF_2$ .

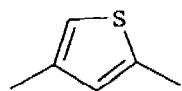
Edullisia ovat ne yhdisteet, joissa ryhmä A on fenyyli, halogeenilla, erikoisesti kloorilla tai fluorilla tai  $CF_3$ :lla,  $CF_3CF_2$ :lla kerran tai useasti substituoitu fenyyli tai 2- tai 3-tienyyli.

Erikoisen edullisia ovat yhdisteet, joissa ryhmä A on fenyyli, joka on mahdollisesti substituoitu halogeenilla.

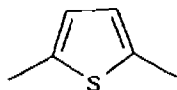
Ryhmä Z on karbonyyli-ryhmä  $C=O$ , sulfinyyli-ryhmä  $SO$  tai sulfonyyli-ryhmä  $SO_2$ .

Edullisia ovat yhdisteet, joissa ryhmä Z on karbonyyliryhmä tai sulfonyyliryhmä.

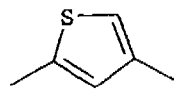
Ryhmä A<sub>1</sub> on kaavojen IIa - IIc mukainen heteroaromaattinen järjestelmä



IIa

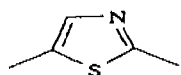


IIb

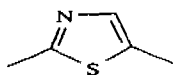


IIc

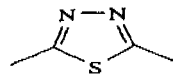
tai kaavan IIIa - IIIc mukainen heteroaromaattinen järjestelmä



IIIa



IIIb



IIIc

Edullisia ovat yhdisteet, joissa ryhmä A<sub>1</sub> on kaavan IIb, IIIb tai IIIc mukainen heteroaromaattinen järjestelmä.

Erikoisen edullisia ovat yhdisteet, joissa ryhmä A<sub>1</sub> on kaavan IIb mukainen heteroaromaattinen järjestelmä.

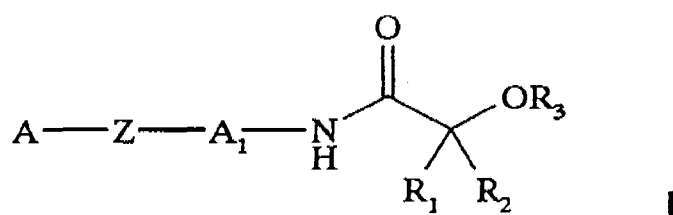
Ryhmät R<sub>1</sub> ja R<sub>2</sub> ovat toisistaan riippumatta H, suoraketjuinen tai haaroittunut C<sub>1-4</sub>-alkyyli-ryhmä, kuten esimerkiksi metyyli-, etyyli-, propyyli-, isopropyyli-, butyyli-, isobutyyli- tai t-butyyliryhmä tai fluorattu alkyyli-ryhmä, esimerkiksi ryhmä CF<sub>3</sub> tai CF<sub>3</sub>CF<sub>2</sub>.

Edullisia ovat ne yhdisteet, joissa ryhmät R<sub>1</sub> ja R<sub>2</sub> ovat toisistaan riippumatta suoraketjuinen tai haaroittunut C<sub>1-4</sub>-alkyyli-ryhmä tai ryhmä CF<sub>3</sub>.

Erityisen edullisia ovat yhdisteet, joissa ryhmät R<sub>1</sub> ja R<sub>2</sub> ovat toisistaan riippumatta metyyli-ryhmä tai ryhmä CF<sub>3</sub>.

Ryhmä  $R_3$  on H, suoraketjuinen tai haaroittunut alkyylili, jossa on 1 - C-atomia, metyyli-, etyyli-, propyyli-, isopropyyli-, butyyli-, isobutyyli- tai t-butyyliryhmä tai fysiologisissa oloissa lohkeava ryhmä. Sellaisia fysiologisissa oloissa lohkeavia ryhmiä ovat esimerkiksi ryhmä CON, asetyyli- tai asetyylialkyyli-ryhmät.

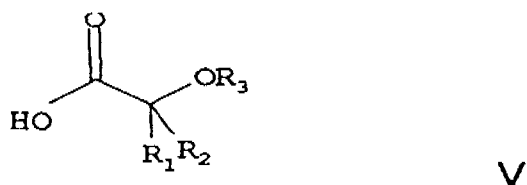
Keksinnön edelleen eräänä kohteena on menetelmä kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi



jossa kaavan IV mukainen yhdiste



liitetään tunnettujen liitosreagenssien avulla kaavan V mukaisen yhdisteen kanssa



ja mahdollisesti näin saatu optisten antipodien seos erotetaan enantiomeereiksi.

Kaavan V mukaisia yhdisteitä voidaan myös käyttää optisesti aktiivisessa muodossaan, jolloin tuotteena saadaan kulloinkin kaavana I mukaisen yhdisteen entantiomeeripuhdasta muotoa.

Kaavan IV ja V mukaiset yhdisteet ovat kirjallisuuden tunte-  
mia tai voidaan valmistaa ammattimiehelle tavallisilla mene-  
telmillä.

Liitosreagensseina käytetään esimerkiksi peptidisynteesistä  
tunnettuja liitosreagensseja, esimerkiksi  $\text{SOCl}_2$ :ta, DCC:tä,  
N,N-karbonyyliidi-imidatsolia ja vastaavia.

Menetelmän suoritukseen saatetaan kaavan IV mukaista yhdis-  
tettä sopivassa laimennusaineen kontaktiin liitosreagenssin,  
esimerkiksi tionyylikloridin, DCC:n tai N,N-karbonyyliidi-imi-  
datsolin kanssa. Laimennusaineina tulevat kyseeseen reaktio-  
oloissa inertit laimennusaineet tai liuottimet, esimerkiksi  
N,N-dimetyyliasetamidi, dimetyyliformamidi tai tetrahydrofu-  
raani ja vastaavat. Reaktiolämpötila riippuu liitosreagenssin  
valinnasta, ja voi vaihdella 25 ja 100 °C.

Seuraavaksi lisätään kaavan V mukaista yhdistettä, ja anne-  
taan reagoida lämpötilassa -25 - 100 °C, erikoisesti huoneen-  
lämpötilassa.

Saatu reaktiotuote eristetään seuraavaksi uuttamalla ja li-  
uottimen poistamalla, ja voidaan mahdollisesti puhdistaa  
edelleen tunnetuilla menetelmillä, esimerkiksi uudelleenki-  
teyttämällä tai kromatografoimalla.

Mahdollisesti läsnä olevien reaktiotuotteiden optisten anti-  
podien muodossa olevan seoksen erotus tapahtuu ammattimiehelle  
tavallisilla menetelmillä, esimerkiksi liittämällä (1S)-  
(-)-kamfaanihappokloridin tai (R)-(+)-metyylibentsyyli-isosy-  
anaatin kanssa, minkä jälkeen näin saadut diastereomeerit  
erotetaan tavallisilla menetelmillä, esimerkiksi kiteyttämäl-  
lä tai kromatografoimalla, ja suojaryhmät lohkaistaan pois.

Keksinnön mukaisilla yhdisteillä on erinomainen teho kalium-  
kanaviin vaikutuksessa vähentyneillä sivuvaikutuksilla. Niil-  
lä on hyvä selektiivisyys virtsarakon ja pois johtavien virt-  
satiehyiden häiriöissä ja sairauksissa, jotka voidaan paran-  
taa tai joita voidaan lievittää kaliumkanaviin vaikuttamalla.

Näisen farmakologisten ominaisuuksien perusteella voi uusilla yhdisteillä yksinään tai seoksessa muiden vaikuttavien aineiden kanssa olla käyttöä tavallisten galeenisten valmisteiden muodossa lääkkeinä hoidettaessa häiriöitä tai sairauksia, jotka voidaan parantaa tai joita voidaan lievittää kaliumkanaviin vaikuttamalla.

Edelleen keksintö koskee lääkkeitä, joida käytetään esimerkiksi farmaseuttisten valmisteiden muodossa, jotka sisältävät keksinnön kaavan I mukaisia yhdisteitä ja niiden suoloja seoksena oraaliseen, enteraaliseen, parenteraaliseen ja paikalliseen käyttöön sopivien, farmaseuttisten, orgaanisten tai epäorgaanisten väliaineiden, esimerkiksi veden, gelatiinin, arabikumin, maitosokerin, tärkkelyksen, magnesiumstearaatin, talkin, kasvisöljyjen, polyalkyleeniglykolin, vaseliinin ja vastaavien kanssa.

Farmaseuttiset valmisteet voivat olla kiinteässä muodossa, esimerkiksi tabletteina, kalvotabletteina, rakeina, peräpuikkoina, kapseleina, mikrokapseleina, tai nestemäisessä muodossa, esimerkiksi liuoksina, injektio-liuoksina, suspensioina tai emulsioina tai koostumuksissa, joissa on lääkeaineen hidadunut vapautuminen.

Mahdollisesti ne voidaan steriloida ja/tai ne sisältävät apuaineita kuten säilöntä-, stabilointi- tai emulgoimisaineita, suoloja osmoottisen paineen muuttamiseksi, tai puskuroimisaineita.

Erityisesti voivat farmaseuttiset valmisteet sisältää keksinnön mukaisia yhdisteitä yhdistelmänä muiden terapeuttisesti arvokkaiden aineiden kanssa. Näiden kanssa keksinnön mukaiset yhdisteet voidaan formuloida yhdessä edellä mainittujen apu- ja/tai väliaineiden kanssa yhdistelmävalmisteiksi.

Uusia yhdisteitä voi olla keksinnön mukaisissa koostumuksissa osuus 0,1 - 200 mg tablettia kohden, jolloin loppu on farmaseuttisesti hyväksyttävää täyteainetta.

Sopiva annos yhdisteiden antoon on noin 0,01 - 100 mg/kg/päivä, myös muut annokset tulevat kuitenkin kyseeseen hoidettavan potilaan kulloisenkin tilan mukaan. Uudet yhdisteet voidaan antaa myös useampina annoksina.

**Esimerkki 1: N-[5-(fenyylikarbonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaanihappoon (240 mg, 1,52 mmol) 5 ml:ssa N,N-dimetyyliasetamidia lisätään -15/-10 °C:ssa tionyylikloridia (110 µl, 1,51 mmol), ja sekoitetaan tässä lämpötilassa yhden tunnin ajan. Seuraavaksi lisätään 2-amino-5-(fenyylikarbonyyli)-tiofeeniä (200 mg, 0,983 mmol), ja reaktioseos tasoitetaan huoneenlämpötilaan. Reaktion päätyttyä reaktioseos kaadetaan 200 ml:aan vettä, ja uutetaan 3 x 100 ml:lla etyyliasetaattia. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävä oranssinvärinen öljy puhdistetaan flash-kromatografialla (eluentti: 50-% tilavuus/tilavuus etyyliasetatti petrolieetterissä (40/60)).

Saanto 290 mg N-[5-(fenyylikarbonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidia (86 % teoreettisesta) hieman kellertävinä kiteinä.

Sp.: 169 - 170 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1,74 (s, 3H), 6,89 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 7,41 - 7,46 (m, 2H), 7,48 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 7,51 - 7,56 (m, 1H), 7,73 - 7,78 (m, 2H), 10,02 (s, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 20,0, 75,6 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 30,2 Hz), 114,5, 123,9 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 285,8 Hz), 128,5, 129,0, 132,2, 134,6, 134,7, 138,0, 147,3, 166,3, 189,5.

3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaanihapon synteesi kuvataan julkaisussa: R.A. Darrall, F. Smith, M. Stacey ja J.C. Tatlow; J. Chem. Soc. 1951, 2329.

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

5-(fenyylikarbonyyli)-tiofeeni-2-karboksyylimahppo:

Di-isopropyylimiiniin (11,6 ml, 82,2 mmol) 150 ml:ssa absoluuttista THF:ää lisätään tipoittain -70 °C:ssa 1,6 M liuos, jossa on n-butyylilitiumia n-heksaanissa (51,0 ml, 81,3 mmol). Kun on sekoitettu 15 min ajan -70 °C:ssa, lisätään tiofeeni-2-karboksyylimahppoa (5,00 g, 39,0 mmol), ja seos pidetään -70 °C:ssa. 45 min kuluttua lisätään tipoittain bentsonitriiliä (5,0 ml, 49 mmol), ja sekoitetaan 90 min ajan -70 °C:ssa. Huoneenlämpötilaan tasoituksen jälkeen reaktioseos kaadetaan 200 ml:aan vettä, ja uutetaan 200 ml:lla eetteriä, ja tämä orgaaninen faasi hylätään. Vesifaasi säädetään 6 N HCl-liuoksella happamaan pH-arvoon 2, ja uutetaan 2 x 200 ml:lla eetteriä. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, ja liuotin tislataan pois. Jäännös suspensoidaan 50 ml:aan 6 N HCl-liuosta, ja kuumennetaan 1 tunti 80 °C:seen. Saostuneet kiteet suodatetaan, ja kuivataan yön yli tyhjiössä.

Saanto: 8,3 g 5-(fenyylikarbonyyli)-tiofeeni-2-karboksyylimahppoa (92 % teoreettisesta) hieman kellertävinä kiteinä.

Sp.: 176 - 177 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 7,55 - 7,63 (m, 2H), 7,68 - 7,75 (m, 1H), 7,70 (d, J = 3,9 Hz, 1H), 7,77 (d, J = 3,9 Hz, 1H), 7,83 - 7,90 (m, 2H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 128,9, 129,1, 133,2, 133,5, 135,2, 136,8, 141,4, 146,8, 162,5, 187,7.

[5-(fenyylikarbonyyli)-tien-2-yyli]-karbamidihapon tert-butyylieeteri:

5-(fenyylikarbonyyli)-tiofeeni-2-karboksyylimahppoon (0,99 g, 4,3 mmol), 40 ml:ssa absoluuttista tert-butanolia lisätään trietyylimiinia (0,72 ml, 5,2 mmol) ja difenyylifosforyyliatsidia (1,1 ml, 5,1 mmol). Reaktioseosta keitetään 5 tunnin ajan refluksoiden. Liuotin tislataan pois. Jäännös otetaan etyyliasetaattiin, ja pestään vedellä. Orgaaninen faasi kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävä kiinteä aine puhdistetaan flash-

kromatografialla (eluentti: 25 % tilavuus/tilavuus etyyliasettaattia petrolieetterissä (40/60)).

Saanto: 400 mg [5-(fenyylikarbonyyli)-tien-2-yyli]-karbamidihapon tert-butyyliesteriä, (31 % teoreettisesta) oranssinvärinä kiteinä.

Sp.: 185 - 186 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 M Hz, CDCl<sub>3</sub>) 1,54 (s, 9H), 6,58 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,43 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,43 - 7,48 (m, 2 H), 7,52 (bs, 1H), 7,50 - 7,55 (m, 1H), 7,78 - 7,82 (m, 2H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 28,2, 82,7, 111,1, 128,3, 128,9, 131,6, 133,6, 134,5, 138,6, 150,1, 151,6, 188,1.

2-amino-5-(fenyylikarbonyyli)-tiofeeni

[5-(fenyylikarbonyyli)-tien-2-yyli]-karbamidihapon tert-butyyliesteriä (0,30 g, 0,99 mmol) liuotetaan 5 ml:aan trifluorietikkahappoa, ja sekoitetaan 2 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Trifluorietikkahappo tislataan pois, ja jäännös jätetään puolikylläisen natriumvetykarbonaattiliuoksen ja dikloorimetaanin välillä. Faasit erotetaan, ja vesifaasi uutetaan dikloorimetaanilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan kaliumkarbonaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Saanto: 0,20 g 2-amino-5-(fenyylikarbonyyli)-tiofeeniä (99 % teoreettisesta) punaisina kiteinä.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 5,99 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 7,18 (bs, 2H), 7,23 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 7,45 - 7,60 (m, 3H), 7,62 - 7,67 (m, 2H).

**Esimerkki 2: N-[5-(fenyylikarbonyyli)-tiatsol-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaanihappoon (150 mg, 0,949 mmol) 5 ml:ssa N,N-dimetyyliasetamidia lisätään -15/-10 °C:ssa tionyylikloridia (80 µl, 1,1 mmol), ja sekoitetaan tässä lämpötilassa 1 tunnin ajan. Kun on lisätty 2-amino-5-(fenyylikarbonyyli)-tiatsolia (130 mg, 0,636 mmol) ja tasapainotettu huoneenlämpötilaan, reaktioseosta sekoitetaan 2,5

tuntia, kaadetaan seuraavaksi 100 ml:aan vettä, ja uutetaan 3 x 100 ml:lla etyyliasetaattia. Yhdistetyt orgaaniset faasit pestään 50 ml:lla kylläistä natriumkloridiliuosta, kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävä öljy puhdistetaan flash-kromatografialla (eluentti: 33 % tilavuus/tilavuus etyyliasetaattia petroli-eetterissä (40/60)), jolloin saadaan N-[5-(fenyylikarbonyyli)-tiatsol-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaniamidia (0,10 g, 46 %) hieman kellertävinä kiteinä. Nämä kiteet uutetaan dikloorimetaaniin. Saanto: 50 mg otsikkoyhdistettä valkoisina kiteinä.

Sp.: 193 - 194 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 1,62 (s, 3H), 7,56 - 7,61 (m, 3H), 7,67 - 7,72 (m, 1H), 7,84 - 7,88 (m, 2H), 8,17 (s, 1H).

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

Tiatsol-2-yylikarbamidihapon tert-butylesteri

2-aminotiatsolia (5,00 g, 49,9 mmol) ja di-tert-butyylipyrokarbonaattia (23,0 ml, 100 mmol) 250 ml:ssa absoluuttista metanolia keitetään 2 tunnin ajan refluksoiden. Lisäksi lisätään tipoittein di-tert-butyylipyrokarbonaattia (11,5 ml, 50,1 mmol), ja seosta keitetään vielä 2 tunnin ajan refluksoiden. Reaktioseos otetaan 250 ml:aan metanolia, ja sekoitetaan aktiivihiiilen kanssa, suodatetaan, ja aktiivihiiili pestään dikloorimetaanilla. Yhdistettyjen orgaanisten faasien liuottimet haihdutetaan, minkä jälkeen jäännös uutetaan heksaanilla.

Saanto: 9,41 g tiatsol-2-yylikarbamaattihapon tert-butyylisteriä (94 % teoreettisesta) vaaleankeltaisina kiteinä.

Sp.: 178 - 179 °C (heksaani).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 1,48 (s, 9H), 7,13 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 7,35 (d, J = 3,8 Hz, 1H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 28,0, 81,1, 112,9, 137,9, 152,9, 159,9.

[5-(fenyylikarboxyyli)-tiatsol-2-yyli]karbamidihapon tert-butyyliesteri

Di-isopropyyliamiiniin (1,55 ml, 11,0 mmol) 100 ml:ssa absoluuttista THF:ää lisätään -70 °C:ssa tipoitain 1,6 M n-butyylilitiumin liuosta n-heksaanissa (6,90 ml, 11,0 mmol). Kun on sekoitettu 30 min ajan -70 °C:ssa, lisätään tiatsol-2-yylikarbamidihapon tert-butyyliesteriä (1,00 g, 4,99 mmol), ja seos pidetään -70 °C:ssa. 60 min kuluttua lisätään tipoitain bentsonitriiliä (0,60 ml, 5,9 mmol), ja sekoitetaan 60 min ajan -70 °C:ssa. Reaktioseoksen huoneenlämpötilaan tasoittamisen jälkeen sekoitetaan 2 tunnin ajan. Reaktioseos kaadetaan 300 ml:aan puolikylläistä ammoniumkloridiliuosta, ja uutetaan 4 x 100 ml:lla dikloorimetaania. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Raakatuote (1,40 g) suspendoidaan 150 ml:aan eetteriä, ja lisätään 100 ml 0,1 N HCl-liuosta. Seosta keitetään 1,5 tunnin ajan refluksoiden. Reaktioseos otetaan 100 ml:aan 0,1 N HCl-liuosta, ja uutetaan 4 x 100 ml:lla dikloorimetaania. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Saanto: 1,15 g [5-(fenyylikarboxyyli)-tiatsol-2-yyli]karbamidihapon tert-butyyliesteriä (76 % teoreettisesta) keltaisina kiteinä.

Sp.: 232 - 233 °C (hajoaa).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub> + 10 % DMSO-d<sub>6</sub>) 1,36 (s, 9H), 7,26 - 7,32 (m, 2H), 7,36 - 7,41 (m, 1H), 7,58 - 7,63 (m, 2H), 7,68 (s, 1H), 11,26 (bs, 1H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub> + 10 % DMSO-d<sub>6</sub>) 28,1, 82,7, 128,4, 128,5, 131,8, 132,1, 138,1, 146,7, 152,5, 166,6, 187,4.

2-amino-5-(fenyylikarboxyyli)-tiatsoli

[5-(fenyylikarboxyyli)-tiatsol-2-yyli]-karbamidihapon tert-butyyliesteriä (0,82 g, 2,70 mmol) liuotetaan 25 ml:aan trifluorietikkahappoa, ja sekoitetaan 1,5 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Trifluorietikkahappo tislataan pois, ja jäännös

jaetaan puolikiylläisen natriumvetykarbonaattiliuoksen ja dikloorimetaanin välillä. Faasit erotetaan, ja vesifaasi uutetaan dikloorimetaanilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit pestään puolikiylläisellä natriumvetykarbonaattiliuoksella, kuivataan kaliumkarbonaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Saanto: 0,37 g 2-amino-5-(fenyylikarbonyyli)-tiatsolia (67 % teoreettisesta) keltaisina kiteinä.

Sp.: 147 - 149 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 7,48 - 7,53 (m, 2H), 7,57 - 7,62 (m, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,68 - 7,73 (m, 2H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 127,1, 128,3, 128,7, 131,7, 138,4, 151,0, 174,9, 185,5.

**Esimerkki 3: N-[5-(fenyylikarbonyyli)-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaanihappoon (157 mg, 0,993 mmol) 5,0 ml:ssa NN-dimetyyliasetamidia lisätään -20/-15 °C:ssa tionyylikloridia (80 µl, 1,1 mmol), ja sekoitetaan -15/-10 °C:ssa 1 tunnin ajan. Kun on lisätty 2-amino-5-(fenyylikarbonyyli)-1,3,4-tiadiatsolyyliä (127,7 mg, 0,622 mmol) ja tasapainotettu huoneenlämpötilaan, reaktion päätyttyä reaktioseos kaadetaan 80 ml:aan vettä, ja uutetaan 3 x 25 ml:lla etyyliasetaatia. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävä öljy puhdistetaan flash-kromatografialla (eluentti: 50 % tilavuus/tilavuus etyyliasetaatia petroli-eetterissä (40/60)).

Saanto: 160 mg N-[5-(fenyylikarbonyyli)-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidia (75 % teoreettisesta) beigenvärisinä kiteinä.

Sp.: 182 - 183 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 1,65 (s, 3H), 7,60 - 7,65 (m, 2H), 7,62 (bs, 1H), 7,73 - 7,78 (m, 1H), 8,33 - 8,37 (m, 2H), 10,8 (bs, 1H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 19,8, 75,3 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 29,2 Hz), 125,9 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 285,8 Hz), 128,8, 130,7, 134,3, 134,9, 161,9, 163,6, 169,4, 184,2.

2-amino-5-(fenyylikarbonyyli)-1,3,4-tiadiatsolin synteesi kuvataan julkaisussa: G. Werber, F. Buccheri ja M.L. Marino; J. Heterocyclic Chem. 1975, 12, 581.

**Esimerkki 4: N-[5-(fenyylisulfonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaanihappoon (170 mg, 1,08 mmol) 5 ml:ssa N,N-dimetyyliasetamidia lisätään -15/-10 °C:ssa tionyylikloridia (80 µl, 1,1 mmol), ja sekoitetaan 1 tunti tässä lämpötilassa. Ku on lisätty 2-amino-5-(fenyylisulfonyyli)-tiofeeniä (170 mg, 0,710 mmol) ja tasapainotettu huoneenlämpötilaan, reaktioseos kaadetaan reaktion päätyttyä 200 ml:aan vettä, ja uutetaan 3 x 100 ml:lla etyyliasetaatia. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävä oranssinvärinen öljy puhdistetaan flash-kromatografialla (eluentti: 50 % tilavuus/tilavuus etyyliasetaatia petroleetterissä (40/60)).

Saanto: 202 mg N-[5-(fenyylisulfonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidia (75 % teoreettisesta) harmaina kiteinä.

Sp.: 161 - 163 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 1,57 (s, 3H), 7,11 (d, J= 4,2 Hz, 1H), 7,58-7,70 (m, 5H), 7,90-7,93 (m, 2 H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 19,9, 75,3 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 29,2 Hz), 114,3, 125,9 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 285,8 Hz), 126,6, 129,8, 131,4, 132,5, 133,5, 142,6, 147,1, 167,3.

Lähtöaine valmistetaan seuraavalla tavalla:

**5-(fenyylisulfonyyli)-tiofeeni-2-karboksyylihappo**

Di-isopropyliamiiniin (11,6 ml, 82,2 mmol) 150 ml:ssa absoluuttista THF:ää lisätään -78 °C:ssa tipoittain 1,6 M n-butyylilitiumin liuosta n-heksaanissa (51,0 ml, 81,3 mmol). Kun on sekoitettu 30 min ajan -70 °C:ssa, lisätään tiofeeni-2-karboksyylihappoa (5,00 g, 39,0 mmol), ja seosta pidetään -78

°C:ssa. 60 min kuluttua lisätään difenyylidisulfidia (9,39 g, 43,0 mmol), ja sekoitetaan 60 min ajan -78 °C:ssa. Kun reaktioseos on tasapainotettu huoneenlämpötilaan, se kaadetaan 400 ml:aan 1 N HCl-liuosta, ja uutetaan 3 x 200 ml:lla dikloorimetaania. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävä oranssinvärinen öljy (14,59 g) liuotetaan 150 ml:aan metanolia, ja lisätään 0 °C:ssa tipoittain liuos, jossa on Oxone<sup>®</sup>:ää (113,87 g, 185,22 mmol) 450 ml:ssa vettä. Kun reaktioseos on tasapainotettu huoneenlämpötilaan, sekoitetaan jälkeen päin 3 tunnin ajan. Reaktioseos uutetaan 3 x 200 ml:lla eetteriä. Yhdistetyt orgaaniset faasit pestään 100 ml:lla 1 N HCl-liuosta, kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jääneet keltaiset kiteet (9,76 g) suspendoidaan dikloorimetaaniin. Kiteet suodatetaan pois, ja pestään pienellä määrällä kylmää dikloorimetaania.

Saanto: 4,80 g 5-(fenyylisulfonyyli)-tiofeeni-2-karboksylihappoa (46 % teoreettisesta) valkoisina kiteinä.

Sp.: 184 - 185 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 7,64 - 7,69 (m, 2H), 7,71 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 7,72 - 7,77 (m, 1H), 7,85 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 8,00 - 8,05 (m, 2H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 127,4, 130,1, 133,4, 134,2, 134,5, 140,7, 142,2, 147,1, 161,8.

[5-(fenyylisulfonyyli)-tien-2-yyli]-karbamidihapon tert-butyyliesteri

5-(fenyylisulfonyyli)-tiofeeni-2-karboksylihappoon (1,00 g, 3,7 mmol) 40 ml:ssa absoluuttista tert-butanolia lisätään trietyyliamiinia (0,62 ml, 4,4 mmol) ja difenyylifosforyyliatsidia (0,97 ml, 4,5 mmol). Reaktioseosta keitetään 5 tunnin ajan refluksoiden. Liuotin tislataan pois. Jäännös otetaan etyyliasetaattiin, ja pestään vedellä. Orgaaninen faasi kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävä vihreänmusta öljy puhdistetaan flash-kromatografialla (eluentti: 33 % tilavuus/tilavuus etyyliasetaattia petrolieetterissä (40/60)).

Saanto: 520 mg [5-(fenyylisulfonyyli)-tien-2-yyli]-karbamidihapon tert-butyyliesteriä (41 % teoreettisesta) valkoisina kiteinä.

Sp.: 170 - 171 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 1,47 (s, 9H), 6,53 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 7,56 d, J = 4,3 Hz, 1H), 7,57 - 7,68 (m, 3H), 7,87 - 7,92 (m, 2H), 11,13 (bs, 1H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 28,0, 81,6, 110,2, 126,5, 129,0, 129,7, 133,3 (2x C), 142,9, 150,5, 152,5.

#### 2-amino-5-(fenyylisulfonyyli)-tiofeeni

[5-(fenyylisulfonyyli)-tien-2-yyli]-karbamidihapon tert-butyyliesteriä (0,37 g, 1,1 mmol) liuotetaan 5 ml:aan trifluorietikkahappoa, ja sekoitetaan 2 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Trifluorietikkahappo tidlataan pois, ja jäännös jaeetaan puolikiylläisen natriumvetykarbonaattiliuoksen ja dikloorimetaanin välillä. Faasit erotetaan, ja vesifaasi uutetaan dikloorimetaanilla. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan kaliumkarbonaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Saanto: 0,20 g 2-amino-5-(fenyylisulfonyyli)-tiofeeniä (76 % teoreettisesta)) hieman kellertävinä kiteinä.

Sp.: 144 - 145 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 5,90 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 6,81 (bs, 2H), 7,32 (d, J= 4,0 Hz, 1H), 7,55 - 7,65 (m, 3H), 7,79 - 7,84 (m, 2H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 104,4, 117,9, 126,1, 129,5, 132,7, 136,5, 143,8, 165,1.

#### **Esimerkki 5: N-[5-(fenyylikarbonyyli)-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli]-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

2-hydroksi-isovoihappoon (82,9 mg, 0,796 mmol) 5,0 ml:ssa N,N-dimetyyliasetamidia lisätään -20/-15 °C:ssa tionyylikloridia (60 µl, 0,82 mmol), ja sekoitetaan 1 tunnin ajan -15/-10 °C:ssa. Kun on lisätty 2-amino-5-(fenyylikarbonyyli)-1,3,4-tiadiatsolia (97,5 mg, 0,475 mmol) ja tasapainotettu reaktioseos huoneenlämpötilaan, sekoitetaan yön yli. Reaktioseos kaadetaan 75 ml:aan vettä, ja uutetaan 3 x 25 ml:lla

etyyliasetaatia. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäänyt öljy puhdistetaan flash-kromatografialla (eluentti: 33 % tilavuus/tilavuus etyyliasetaatia petroli-eetterissä (40/60)).

Saanto: 30,1 mg N-[5-(fenyylikarbonyyli)-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli]-2-hydroksi-2-metyyllipropaaniamidi (22 % teoreettisesta) hieman kellertävinä kiteinä.

Sp.: 189 - 190 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1,65 (s, 6H), 7,55 - 7,60 (m, 2H), 7,68 - 7,73 (m, 1H), 8,41 - 8,45 (m, 2H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 27,6, 74,1, 128,6, 130,9, 134,2, 134,9, 163,4, 164,2, 175,7, 184,0.

**Esimerkki 6: N-[5-(fenyylikarbonyyli)-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli]-2-hydroksi-2-metyyllibutaaniamidi**

2-hydroksi-2-metyyllivoihappoon (96,0 mg, 0,813 mmol) 5,0 ml:ssa N,N-dimetyyliasetamidia lisätään -20/-15 °C:ssa tioniyylikloridia (60 µl, 0,82 mmol), ja sekoitetaan 1 tunnin ajan -15/-10 °C:ssa. Kun on lisätty 2-amino-5-(fenyylikarbonyyli)-1,3,4-tiadiatsolia (102,3 mg, 0,499 mmol) ja tasapainotettu reaktioseos huoneenlämpötilaan, sekoitetaan yön yli. Reaktioseos kaadetaan 100 ml:aan vettä, ja uutetaan 3 x 25 ml:lla etyyliasetaatia. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävä öljy puhdistetaan flash-kromatografialla (eluentti: 33 % tilavuus/tilavuus etyyliasetaatia petroli-eetterissä (40/60)).

Saanto: 20,0 mg N-[5-(fenyylikarbonyyli)-1,3,4-tiadiatsol-2-yyli]-2-hydroksi-2-metyyllibutaaniamidia (13 % teoreettisesta) hieman kellertävinä kiteinä.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,98 (t, J= 7,4 Hz, 3H), 1,61 (s, 3H), 1,80 - 1,90 (m, 1H), 2,00 - 2,10 (m, 1H), 7,55 - 7,60 (m, 2H), 7,68 - 7,73 (m, 1H), 8,41 - 8,45 (m, 2H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,8, 25,8, 33,3, 76,9, 128,6, 130,9, 134,2, 134,9, 163,3, 164,1, 175,4, 184,0.

**Esimerkki 7: N-[5-(4-metyylifenyyლისulfonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaanihappoon (140 mg, 0,89 mmol) 10 ml:ssa N,N-dimetyyliasetamidia lisätään -15/-10 °C:ssa tionyylikloridia (70 µl, 1,51 mmol), ja sekoitetaan tässä lämpötilassa 1 tunnin ajan. Seuraavaksi lisätään 2-amino-5-(4-metyylifenyyლისulfonyyli)-tiofeeniä (145 mg, 0,57 mmol), ja reaktioseos tasapainotetaan huoneenlämpötilaan. Reaktion päätyttyä reaktioseos kaadetaan 200 ml:aan vettä, ja uutetaan 3 x 100 ml:lla etyyliasetattia. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävä ruskea öljy puhdistetaan flash-kromatografiolla (eluentti: 50 % tilavuus/tilavuus etyyliasetattia petrolieetterissä (40/60)).

Saanto 111 mg N-[5-(4-metyylifenyyლისulfonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidia (50 %d.Th) vaaleanruskeina kiteinä.

Sp.: 191 - 193 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 1,57 (s, 3H), 2,37 (s, 3H), 7,10 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,41 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,59 (bs, 1H), 7,61 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,79 (d, J = 7,9 Hz, 2H).

Analogisesti valmistettiin seuraavat yhdisteet

**Esimerkki 8:**

**N-[5-(4-kloorifenyyლისulfonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 1,58 (s, 3H), 7,13 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 7,66 - 7,70 (m, 3H), 7,90 - 7,93 (m, 2H).

**Esimerkki 9: N-[5-(4-fluorifenyyლისulfonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 1,58 (s, 3H), 7,12 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,41 - 7,46 (m, 2H), 7,60 (s, 1H), 7,67 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,96 (m, 2H), 8,01 (m, 2H).

**Esimerkki 10: N-[5-(2-tienyyylisulfonyyli)-2-tienyyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1,71 (s, 3 H), 6,70 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,03 (dd, J = 4,9, 3,8 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,59 (dd, J = 5,0, 1,3 Hz, 1H), 7,64 (dd, J = 3,9, 1,3 Hz, 1H), 9,68 (bs, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 20,2, 75,6 (q, <sup>2</sup>J<sub>C,F</sub> = 30,2 Hz), 112,9, 123,6 (q, <sup>1</sup>J<sub>C,F</sub> = 285,8 Hz), 127,9, 131,4, 133,0, 133,7, 133,9, 143,7, 145,9, 165,6.

**Esimerkki 11: N-[5-(2-pyridyyylisulfonyyli)-2-tienyyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1,69 (s, 3H), 6,79 (d, J = 4,0 Hz), 7,43 - 7,47 (m, 1H), 7,57 (d, J = 4,0 Hz), 7,90 (td, J = 8,0, 1,2 Hz, 1H), 8,07 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,59 - 8,62 (m, 1H), 10,11 (bs, 1H).

**Esimerkki 12: (-)-N-[5-(fenyyylisulfonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi**

N-[5-(fenyyylisulfonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidiin (2,00 g, 5,27 mmol) 100 ml:ssa dikloorimetaania lisätään 0 °C:ssa trietyyliamiinia (0,81 ml, 5,81 mmol) ja muutamia N,N-dimetyyli-4-aminopyridiinikiteitä. Seuraavaksi lisätään tipoittain liuos, jossa on (1S)-(-)-kamfaanihappokloridia (1,26 g, 5,81 mmol) 20 ml:ssa dikloorimetaania, ja reaktioseos tasapainotetaan huoneenlämpötilaan. Reaktion päätyttyä reaktioseos kaadetaan 200 ml:aan vettä, ja uutetaan 2 x 50 ml:lla dikloorimetaania. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Diastereomeerien seos (harmaata vaahtoa, 3,06 g) erotetaan flash-kromatografiolla (eluentti: 9 % tilavuus/tilavuus dietyylieetteriä dikloorimetaanissa). Pitkälle etenevä kamfaanihappoesteri eristetään valkoisena vaahtona (0,74 g, saanto: 25 % teoreettisesta)

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 1,01 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 1,11 (s, 3H), 1,71 (ddd,  $J = 13,3, 9,3, 4,2$  Hz, 1H), 1,95 (ddd,  $J = 13,3, 10,8, 4,6$  Hz, 1H), 2,03 (s, 3H), 2,12 (ddd,  $J = 13,6, 9,3, 4,5$  Hz, 1H), 2,43 (ddd,  $J = 13,6, 10,8, 4,2$  Hz, 1H), 6,75 (d,  $J = 4,2$  Hz, 1H), 7,45-7,57 (m, 4H), 7,91 - 7,95 (m, 2H), 9,27 (bs, 1H).

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 9,55, 16,42, 16,50, 16,55, 28,71, 30,79, 54,58, 54,95, 81,62 (q,  $^2J_{\text{C,F}} = 30,8$  Hz), 90,63, 113,38, 122,36 (q,  $^1J_{\text{C,F}} = 285,8$  Hz), 127,13, 129,32, 131,35, 133,18, 134,36, 142,34, 145,54, 160,93, 164,67, 177,61. Optinen puhtaus: > 99 % de (kiraalinen HPLC, Chiracel OD-H column, 10 % tilavuus/tilavuus etanoli in heksaani, virtausnopeus 1,0 ml/min).

Pitkälle etenevään kamfaanihappoesteriin (0,65 g, 1,16 mmol) 30 ml:ssa metanolia lisätään huoneenlämpötilassa 2 N NaOH-liuosta (0,60 ml, 1,2 mmol). Reaktion päätyttyä liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävä öljy otetaan 250 ml:aan dikloorimetaania, ja kaadetaan 250 ml:aan vettä, ja uutetaan 3 x 100 ml:lla dikloorimetaania. Yhdistetyt orgaaniset faasit kuivataan magnesiumsulfaatilla, suodatetaan, ja liuotin tislataan pois. Jäljelle jäävät valkoiset kiteet uudelleenkiteytetään heksaani/etyyliasetaatista.

Saanto: 340 mg (-)-N-[5-(fenyylisulfonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidia (77 % teoreettisesta) valkoisina kiteinä.

Sp.: 189 - 190 °C.  $[\alpha]^{20}_D = -46,5^\circ$  (c 0,94, MeOH). Optinen puhtaus: >99% ee (Chirale HPLC, Chiracel OD-H -kolonni, 10 % tilavuus/tilavuus etanolia heksaanissa, virtausnopeus 1,0 ml/min).  $^1\text{H}$ -NMR ja  $^{13}\text{C}$ -NMR-tiedot ovat identtiset raseemisen materiaalin kanssa.

#### **Esimerkki A:**

##### **Vaikutukset virtsarakon lihaksistoon in vitro**

Keksinnön mukaisten yhdisteiden vaikutus virtsarakon lihaksistoon voidaan osoittaa erityisesti kehitetyissä in vitro-kokeissa, kuten alla kuvataan. Tällöin  $\text{IC}_{50}$ -arvo tarkoittaa

sitä aineen konsentraatiota, joka vähentää supistusta 50 %:illa.

Koiraspuolisia albiinomarsuja painoltaan noin 400 g tapetaan kivuttomasti lyömällä niskaan, ja lasketaan veri nopeasti. Vatsaontelo avataan, ja virtsarakko poistetaan huolellisesti. se sijoitetaan Krebsin liuoksella täytettyyn petrimaljaan, ja ympäröivä side- ja rasvakudos poistetaan. Valmistetaan kaksi horisontaalista kudossuikalesuikaletta. Suikaleet ripustetaan elinhauteeseen kahden jousen avulla, jotka kiinnitetään kudossuikaleiden molempiin päihin. Tällöin ne kiinnitetään alhaalta koukkuun ja ylhäältä sähköiseen voimamittariin, joka voi mitata tarkasti supistukset, joiden suuruus on 0 - 10 g. Mitatut supistukset on vahvistettava siltavahvistimen avulla ja rekisteröitävä lämpöpiirturilla. Lisäksi saadut signaalit voidaan integroida sähköisesti toisella piirturikanavalla faasisupistusten kvantisoimiseksi.

Elinhauteet täytetään Krebs-liuoksella, jonka lämpötila on 37 °C, ja jonka läpi kuplitetaan hyvin O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-seosta ja jolla on seuraava koostumus (mmol/l): NaCl 118,4; KCl 4,7; CaCl<sub>2</sub> 2,5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2; MgSO<sub>4</sub> 1,2; NaHCO<sub>3</sub> 25; glukoosi 11.

Suikaleet jännitetään perusjännityksellä noin 0,5 g. Noin 30 minuutin tasapainotusajan jälkeen toista molemmista suikaleista ärsytetään sisäänrakennetuilla elektrodeilla joka minuutti sähköisesti (ärsyksen kesto 2 s, 30 Hz, 0,5 ms pulsin leveys, 10 V), ja herätetään täten lyhytkestoisia supistuksia. Toinen suikale muutetaan depolarisaatiolla (lisäämällä elinhauteeseen 15 mM KCl:ää) faasisupistuksiin. Sekä sähköärsytyksellä että depolarisaatiolla aiheutetut virtsarakkolihaksistosuikaleiden supistukset saavuttavat nopeasti tason. Heti kun saavutetaan tämä taso ("100 %-arvo"), elinhauteeseen lisätään testattavaa ainetta, ensin alhaiset konsentraatiot, esimerkiksi 10<sup>-8</sup> M, ja sitten tasaisin välein kasvavat annokset, kunnes supistukset pienenevät, tai saavutetaan loppukonsentraatio 10<sup>-4</sup> M. Jokainen testattava aine testataan siten 2

- 4 kertaa.

Analysointia varten mitataan jokaista koetta varten piirturipaperilla rekisteröityjen supistusten korkeus jokaisen lisätyn testikonsentraation vaikutuksen jälkeen. Ottaen huomioon alkuperäisen supistuskorkeuden ennen aineen lisäystä (100 %) voidaan siten saada  $IC_{50}$ -arvo. Kaikki  $IC_{50}$ -arvot esitetään taulukon 1 sarakkeessa A.

Esimerkki B

#### **Vaikutukset vesisuonilihaksistoon in vitro**

##### **Aorttarenkaat**

Koiraspuolisia rottia painoltaan noin 300 g tapetaan kivuttomasti iskulla niskaan, ja veri lasketaan nopeasti. Rintakehä avataan, ja aorta leikataan varovasti irti. Se pannaan Krebs-liuoksella täytettyyn petrimaljaan, ja ympäröivä side- ja rasvakudos poistetaan. Siitä valmistetaan kaksi rengasta. Kumpikin rengas ripustetaan elinhauteeseen. Tällöin ne kiinnitetään alhaalta koukkuun ja ylhäältä sähköiseen voimamittariin, joka voi mitata tarkasti supistuksia, joiden suuruus on 0 - 10 g. Mitatut supistukset vahvistetaan siltavahvistimella, ja rekisteröidään lämpöpiirturilla ja rekisteröidään lämpöpiirturilla.

Elinhauteet täytetään Krebs-liuoksella, jonka lämpötila on 37 °C, ja jonka läpi kuplitetaan hyvin  $O_2/CO_2$ -seosta ja jolla on seuraava koostumus (mmol/l): NaCl 118,4; KCl 4,7;  $CaCl_2$  2,5;  $KH_2PO_4$  1,2;  $MgSO_4$  1,2;  $NaHCO_3$  25; glukoosi 11.

Renkaat jännitetään perusjännityksellä noin 0,5 g. Noin 30 minuuttia pitkän tasapainotusajan jälkeen renkaat muutetaan depolarisaatiolla (lisätään elinhauteeseen 25 mM KCl:ää) supistumaan. Depolarisaatiolla aiheutetut aorttarenkaiden supistukset saavuttavat nopeasti tason. Heti kun tämä taso saavutetaan ("100 %-arvo"), elinhauteeseen lisätään testattavaa yhdistettä, ensin pieniä konsentraatioita, esimerkiksi

$10^{-8}$  M, ja sitten tasaisin välein kasvavia annoksia, kunnes supistukset pienenevät, tai saavutetaan loppukonsentraatio  $10^{-4}$  M. Jokainen testattava aine testataan siten 2 - 4 kertaa.

Analysointia varten mitataan jokaista koetta varten piirturi-paperilla rekisteröityjen supistusten korkeus jokaisen lisätyn testikonsentraation vaikutuksen jälkeen. Ottaen huomioon alkuperäisen supistuskorkeuden ennen aineen lisääystä (100 %) voidaan siten saada  $IC_{50}$ -arvo.  $IC_{50}$ -arvot esitetään taulukon 1 sarakkeessa B.

Esimerkki C:

#### **Vaikutukset verenpaineeseen in vivo**

##### **Hereilläään olevat rotat**

Koiraspuolisille Sprague-Dawley rotille (Charles River, Sulzfeld, Saksa) painoltaan noin 400 g istutettiin ennen kokeen alkua steriileissä oloissa katetri päänvaltimoon, jotta valtimoverenpainetta voitaisiin mitata jatkuvasti tavallisen painemittarin (esimerkiksi Statham P23d) avulla. Rotilta jätettiin ruoka pois yöksi ennen koepäivää. Koepäivänä rotat vietiin koelaboratorioon, ja rekisteröitiin verenpaine ja sydämen lyöntitaajuus noin 30 min ajan. Sitten 0,5-%:iseen metyylliselluloosaan suspendoidut testattavat aineet annettiin maharuokintaletkun avulla oraalisesti (tilavuus: 3 ml/kg kehonpainoa), ja verenpaine ja sydämen lyöntitaajuus mitattiin jatkuvatoimisesti seuraavien 6 tunnin ajan. Laskettiin prosentuaaliset mittausarvomuutokset lähtöarvoihin verrattuna, ja laskettiin 3 - 4 samalla lailla käsitellyn eläimen ryhmille. Tulokset esitetään taulukon 1 sarakkeessa C.

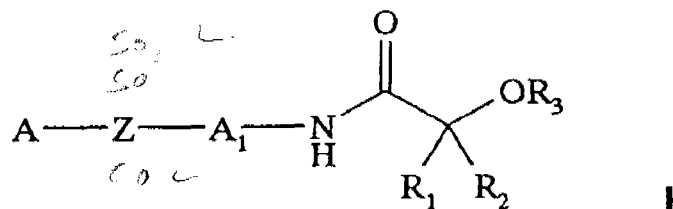
Taulukko 1

|      | A                         | B                         |              |                | C                                                 |    |    |    |        |
|------|---------------------------|---------------------------|--------------|----------------|---------------------------------------------------|----|----|----|--------|
| Yhd. | IC <sub>50</sub><br>mol/l | IC <sub>50</sub><br>mol/l | Se-<br>lekt. | Annos<br>mg/kg | Diastolisen paineen<br>alenema<br>% lähtöaineesta | 15 | 30 | 60 | 120min |
| 1    | 1,0x10 <sup>-4</sup>      | 2,5x10 <sup>-6</sup>      | 0,025        | 6              |                                                   | 3  | 2  | 4  |        |
| 2    | 1,0x10 <sup>-4</sup>      | 2,0x10 <sup>-5</sup>      | 0,2          | 6              | 2                                                 | 8  | 5  |    |        |
| 3    | 5,0x10 <sup>-5</sup>      | 1,0x10 <sup>-5</sup>      | 0,2          | 6              |                                                   | 3  | 2  | 4  |        |
| 4    | 1,7x10 <sup>-6</sup>      | 1,2x10 <sup>-6</sup>      | 0,7          | 6              | 1                                                 | 5  | 4  | 6  |        |
|      |                           |                           |              | 18             | 0                                                 | 8  | 10 | 15 |        |
| V    | 1,0x10 <sup>-6</sup>      | 6,5x10 <sup>-8</sup>      | 0,065        | 1              | 53                                                | 49 | 40 | 26 |        |

Taulukko 1: Edellä mainittujen aineiden rentouttava vaikutus virtsarakkosuikaleilla (sarake A) ja aorttarenkailla (sarake B) in vitro. Suhde IC<sub>50</sub>rakko/IC<sub>50</sub>aortta ilmaisee selektiivisyyden. Sarakkeessa C esitetään verenpainetta alentavat vaikutukset in vivo 15, 30, 60 ja 120 min aineen oraalisen annon jälkeen. Vertailuna esitetään vastaavat arvot vertailuaine (yhdiste V) kromakalimiin verrattuna.

Patenttivaatimukset

## 1. Kaavan (I) mukaiset heterosykliset amidit

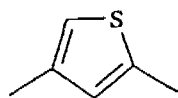


Th  
Ph  
jossa

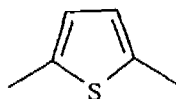
A on aromaattinen tai S- tai N-heteroaromaattinen rengas, jossa on 5 - 10 C-atomia, ja joka voi mahdollisesti olla substituoitu yhdellä tai usealla suoraketjuisella tai haaroittuneella C<sub>1-4</sub>-alkyyllillä tai C<sub>1-4</sub>-alkoksilla, hydroksilla, halogeeneilla tai CF<sub>3</sub>:lla tai CF<sub>3</sub>CF<sub>2</sub>:lla,

Z on ryhmä C=O, SO tai SO<sub>2</sub>,

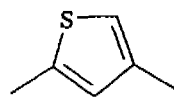
A<sub>1</sub> on kaavan (IIa) - (IIc) mukainen heteroaromaattinen järjestelmä



IIa

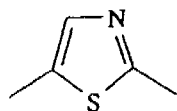


IIb

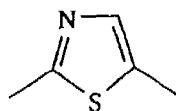


IIc

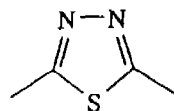
tai kaavan (IIa) - (IIc) mukainen heteroaromaattinen järjestelmä



IIIa



IIIb



IIIc

R<sub>1</sub> ja R<sub>2</sub> ovat toisistaan riippumatta H, suoraketjuinen tai haaroittunut C<sub>1-4</sub>-alkyyli tai fluorattu alkyyli, ja R<sub>3</sub> on H, suoraketjuinen tai haaroittunut C<sub>1-4</sub>-alkyyli, ase-

tyyli, alkyyliaasetyyli tai fysiologisissa oloissa lohkeava ryhmä.

2. Patenttivaatimuksen 1 kaavan (I) mukaiset heterosykliset amidit, jossa

A on mahdollisesti halogeenilla,  $\text{CF}_3$ :lla tai  $\text{CF}_3\text{CF}_2$ :lla substituoitu fenyyli-ryhmä tai 2- tai 3-tienyyli-ryhmä,

Z on ryhmä  $\text{C}=\text{O}$  tai  $\text{SO}_2$ ,

$\text{A}_1$  on kaavan (IIb), (IIIb) tai (IIIc) mukainen heteroaromaattinen järjestelmä,

$\text{R}_1$  ja  $\text{R}_2$  ovat toisistaan riippumatta suoraketjuinen tai haaroittunut alkyyliryhmä, jossa on 1 - 4 C-atomia tai ryhmä  $\text{CF}_3$ , ja  $\text{R}_3$  on H tai suoraketjuinen tai haaroittunut alkyyliryhmä, jossa on 1 - 4 C-atomia.

3. Patenttivaatimuksen 1 kaavan (I) mukaiset heterosykliset amidit, jossa

A on mahdollisesti halogeenilla,  $\text{CF}_3$ :lla tai  $\text{CF}_3\text{CF}_2$ :lla substituoitu fenyyli-ryhmä tai 2- tai 3-tienyyli-ryhmä,

Z on ryhmä  $\text{C}=\text{O}$  tai  $\text{SO}_2$ ,

$\text{A}_1$  on kaavan (IIb) mukainen heteroaromaattinen järjestelmä

$\text{R}_1$  on metyyli

$\text{R}_2$  on  $\text{CF}_3$

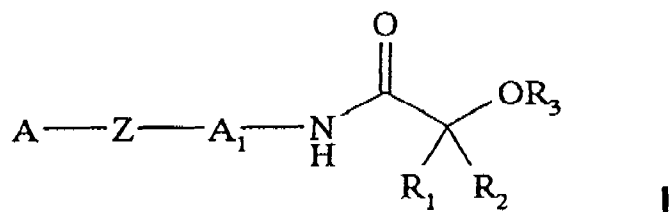
ja  $\text{R}_3$  on H.

4. N-[5-(fenyylisulfonyyli)-tien-2-yyli]-3,3,3-trifluori-2-hydroksi-2-metyylipropaaniamidi

5. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 4 mukaiset heterosykliset amidit, t u n n e t u t siitä, että yhdiste on kulloinkin enantiomeeripuhtaassa muodossaan.

6. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 4 mukaiset heterosykliset amidit, t u n n e t u t siitä, että yhdisteet ovat optisten antipodiensa seoksena.

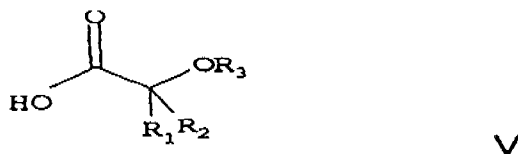
7. Menetelmä kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi



t u n n e t t u siitä, että kaavan (IV) mukainen yhdiste



liitetään tunnettujen liitosreagenssien avulla kaavan (V) mukaisen yhdisteen kanssa



ja näin saatu optisten antipodien seos mahdollisesti erotetaan enantiomeereiksi.

8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavan (V) mukaista yhdistettä käytetään optisesti aktiivisessa muodossa.

9. Farmaseuttiset valmisteet, t u n n e t t u siitä, että ne sisältävät patenttivaatimuksen kaavan (I) mukaisia heterosyklisiä amideja yhdessä tavallisten galeenisten apu- ja/tai väliaineiden ja/tai laimennusaineiden kanssa.

10. Patenttivaatimuksen 1 kaavan (I) mukaisten heterosyklisten amidien käyttö hoitamaan häiriöitä tai sairauksia, jotka voidaan parantaa tai joita voidaan lievittää kaliumkanaviin vaikuttamalla.

11. Patenttivaatimuksen 1 kaavan (I) mukaisten heterosyklisten amidien käyttö virtsarakon ja siitä pois johtavien virtsatiehyeiden häiriöiden ja sairauksien hoitoon.

12. Patenttivaatimuksen 1 kaavan (I) mukaisten heterosyklisten amidien käyttö virtsanpidätyskyvyttömyyden hoitoon.