

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 814003 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 814003

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07D

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **14.12.1981**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **14.12.1981**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **16.06.1982**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

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

15.12.1980 GB 8040081

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Pfizer Corporation, Calle 15 1/2, Avenida Santa Isabel, Colon, PANAMA, (PA)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Cross, Peter Edward, Canterbury, Kent, ISO-BRITANNIA, (GB)

2 •Dickinson, Roger Peter, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

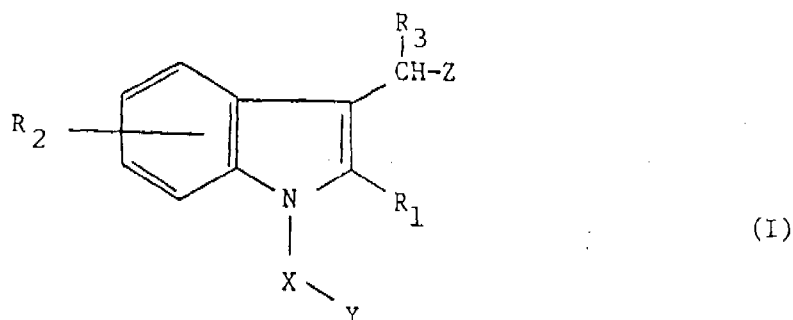
Menetelmä terapeutisesti käytettävien indolijohdannaisten valmistamiseksi.

Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara indolderivat.

Menetelmä terapeuttisesti käytettävien indolijohdannaisten valmistamiseksi

Tämä keksintö koskee indolijohdannaista, ja erityisesti tiettyjä 3-(pyrid-3- tai -4-yylialkyyli)indoleja. Sellaiset yhdisteet pystyvät selektiivisesti estämään tromboksaanisyntetaasisyymien toimintaa estämättä merkittävästi prostasykliinisyntetaasi- tai syklo-oksigenaasisyymien toimintaa. Yhdisteet voivat siten olla käyttökelpoisia esimerkiksi verisuonitukoksen, iskeemisen sydäntaudin, aivohalvauksen, ohimenevän iskeemisen kohtauksen, migreenin, syövän ja diabeteksen verisuonikomplikaatioiden hoidossa.

Siten keksintö sisältää yleiskaavan



mukaiset yhdisteet, joissa

R_1 on vety, C_{1-4} -alkyyli, C_{3-7} -sykloalkyyli tai fenyyl;

R_2 on vety, C_{1-4} -alkyyli, C_{1-4} -alkoksyylili tai halogeeni;

R_3 on vety tai C_{1-4} -alkyyli;

X on $-(CH_2)_n$, jossa n on 1, 2 tai 3, $-CH_2CH(CH_3)-$ tai $-CH_2-$;

Y on $-COOH$, $-COO(C_{1-4}\text{-alkyyli})$, $-CONH_2$, $-CN$ tai 5-tetratsolyyli ja Z on 3- tai 4-pyridyyli, ja niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat. Halogeeni on F, Cl, Br tai I.

3 tai 4 hiiliatomista muodostuneet alkyyli- ja alkoksyyliryhmät voivat olla suoraketjuisia tai haaroituneita.

R_1 on edullisesti CH_3 .

R_2 ja R_3 ovat kumpikin edullisesti H tai CH_3 .

X on edullisesti $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ tai $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$.

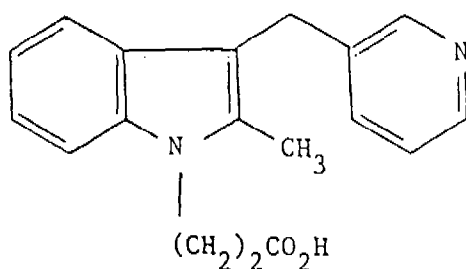
Y on edullisesti $-\text{COOH}$.

5 Z on edullisesti 3-pyridyyli.

Edullinen sykloalkyyliiryhmä on syklopropyyli.

Edulliset yksittäiset yhdisteet ovat seuraavien kaavojen mukaisia:

10

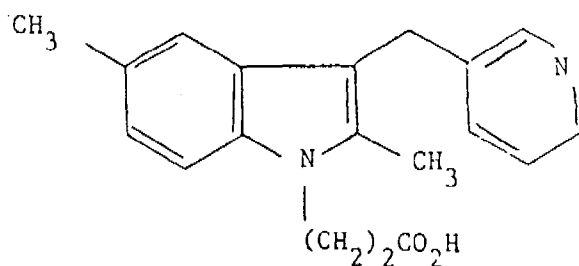


15

20

tai

25



30

35

Keksintö sisältää myös menetelmän, jolla estetään tromboksaanisyntetaasientsyymin toimintaa eläimissä, ihminen mukaan luettuna, estämättä prostasykliinisyntetaasi- tai syklo-oksigenaasientsyymin toimintaa merkittävästi, ja joka käsittää vaikuttavan määrän antamisen eläimelle kaavan (I) mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa tai farmaseuttista valmistetta, joka sisältää sellaisen yhdisteen tai suolan yhdistettynä farmaseuttisesti hyväksyttävään laimennus- tai kantoaineeseen.

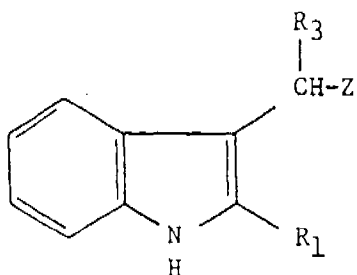
Keksintö sisältää lisäksi kaavan (I) mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan käytettäväksi eläimen, ihminen mukaan luettuna, hoidossa estämään tromboksaanisyntetaasientsyymin toimintaa estämättä merkittävästi prostasykliinisyntetaasi- tai syklo-oksigenaasientsyymin toimintaa.

Keksintö sisältää myös farmaseuttisen valmisteon, joka käsittää kaavan (I) mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan yhdistettynä farmaseuttisesti hyväksyttävään laimennus- tai kantoaineeseen.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät happoadditiosuolat ovat sellaisten happojen kanssa muodostettuja suoloja, jotka sisältävät farmaseuttisesti hyväksyttävän anionin, esimerkiksi hydrokloridi-, hydrobromidi-, sulfaatti- tai bisulfaatti-, fosfaatti- tai vetyfosfaatti-, asetaatti-, maleaatti-, fumaraatti-, laktaatti-, tartraatti-, sitraatti-, glukonaatti-, sukki-naatti- ja p-tolueenisulfonaattisuolat. Yhdisteet, joissa Y on COOH, voivat muodostaa farmaseuttisesti hyväksyttäviä, kationisia suoloja, kuten natrium-, kalium- ja ammonium-suoloja.

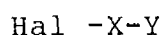
Kaavan (I) mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa muutamalla eri tavalla:

(1) Kaavan (I) mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa kaavan



(II)

jossa R_1 , R_2 , R_3 ja Z ovat kaavassa (I) määritellyjä, mukaisesta yhdisteestä antamalla yhdisteestä (II) vahvaa emästä käyttäen saadun anionin reagoida kaavan,



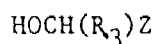
(III)

jossa Hal on Cl, Br tai I ja X ja Y kaavassa (I) määritellyjä, mukaisen alkyloivan aineen kanssa.

Sopivia emäksiä anionin muodostamiseksi yhdisteestä (II) ovat natriumamidi ja alkalimetallihydridit: natriumhydridi on edullinen. "Hal" on edullisesti Br.

Tyypillisessä menetelmässä yhdiste (II) liuotetaan soveltuvaan orgaaniseen liuottimeen, esimerkiksi kuivaan dimetyyliformamidiin (DMF), ja sen jälkeen lisätään varovasti natriumhydridi. Sen jälkeen kun anionin muodostuminen on täydellistä, lisätään alkyloiva aine (III) soveltuvassa orgaanisessa liuottimessa, ja saatua liuosta sekoitetaan huoneen lämpötilassa noin 24 tuntia. Tarvittaessa reaktioseos voidaan kuumentaa 130°C :een reaktion kiihdyttämiseksi. Sen jälkeen tuote voidaan eristää ja puhdistaa tavanomaisin menetelmin.

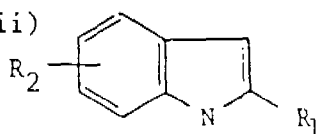
Kaavan (II) mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa esimerkiksi seuraavia menetelmiä käyttäen:



i) KOH

→ yhdiste (II);

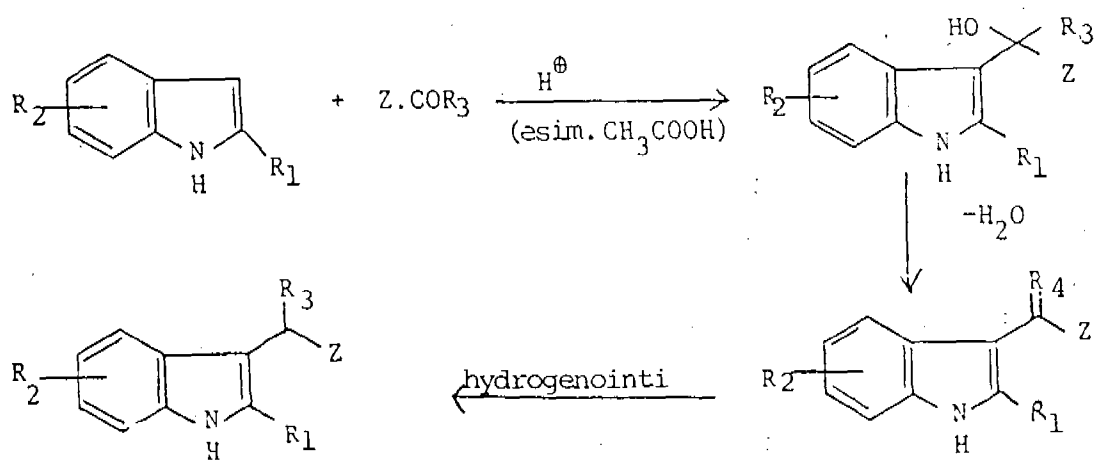
ii)



iii) Raynen lejeerinki;



Välituotteet, joissa R_3 on C_{1-4} -alkyyli, voidaan valmistaa myös seuraavasti:



R_1 , R_2 , R_3 ja Z ovat kaavassa (I) määritellyjä.

R_4 on alkyleeniryhmä, jossa on yhtä monta hiiliatomia kuin R_3 :ssa. Esimerkiksi dehydratoitaessa välituotetta, jossa R_3 on CH_3 , saadaan yhdiste, jossa R_4 on CH_2 , ja joka sitten hydrogenoidaan (käyttäen esim. Pd/C , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, H_2 2-5 atm:ssä) halutuksi lopputuotteeksi.

Tämä reaktio voidaan suorittaa tavanomaisia menetelmiä käyttäen, kuten niitä, jotka on esitetty J. Het. Chem. 9(1972) 833:ssa.

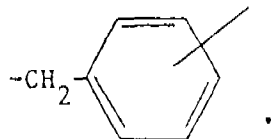
Indolilähtöaineita on esitetty EP-julkaisun 3901 selitysosassa, julkaistu 5. syyskuuta 1979.

(2) Kaavan (I), jossa X on $-(\text{CH}_2)_2-$ ja Y on $-\text{CN}$ tai $-\text{COO}(\text{C}_{1-4}\text{-alkyyli})$, mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa

antamalla kaavan (II) mukaisen yhdisteen reagoida emäksen ollessa läsnä akryylnitriiliin tai akryylihapon C_{1-4} -alkyyliesterin kanssa, vastaavasti. Samoin yhdisteet, joissa $X = -CH_2CH(CH_3)-$ ja $Y = -CN$ tai $-COO(C_{1-4}\text{-alkyyli})$, voidaan valmistaa vastaavalla tavalla käyttäen metakryylnitriiliä tai metakryylihapon C_{1-4} -alkyyliesteriä. Reaktio suoritetaan tavallisesti siten, että kaavan (II) mukainen yhdiste ja akryylihappojohdannainen on liuotettu soveltuvaan liuottimeen, esimerkiksi dioksaaniin tai tetrahydrofuraaniin. Sen jälkeen lisätään vahvaa orgaanista emästä, esimerkiksi bentsyyli-*trimetyyliammoniumhydroksidia* metanolissa ("Triton B"-kauppanimi), ja sitten saatua liuosta joko sekoitetaan huoneen lämpötilassa tai tarvittaessa kuumennetaan korkeintaan refluksoitumislämpötilassa korkeintaan 6 tuntia. Sen jälkeen tuote voidaan eristää ja puhdistaa tavanomaisin menetelmin.

(3) Luonnollisesti tietyt Y-ryhmät voidaan saada aikaan kemiallisilla muutosreaktioilla, ja nämä mahdollisuudet ovat alan asiantuntijoiden hyvin tuntemia. Siten esimerkiksi kaavan (I), jossa Y on karbonyyliryhmä, mukaiset yhdisteet voidaan valmistaa vastaavista estereistä, joissa Y on $-COO(C_{1-4}\text{-alkyyli})$, emäshydrolyysillä. Happo voidaan muuttaa erilaisiksi johdannaisiksi, esimerkiksi happokloridin tai imidatsolidin muodostamisella ja sitä seuraavalla reaktiolla ammoniakin kanssa saadaan amideja, joissa Y on $-CONH_2$, tai hapon reaktiolla C_{1-4} -alkanolin kanssa happokatalysaattorin ollessa läsnä saadaan C_{1-4} -alkyyliestereitä.

Amidit, joissa Y on $-CONH_2$, voidaan myös valmistaa hydrolysoimalla kaavan (I), jossa Y on syaaniryhmä, mukaisia yhdisteitä esimerkiksi väkevää suolahappoa käyttäen akryylnitriilien, joissa X on $-(CH_2)_n-$ tai $-CH_2CH(CH_3)-$, ollessa kyseessä, tai alkalista vetyperoksidia käyttäen akryylnitriilien, joissa X on



ollessa kyseessä. Kiivaampaa nitriilin alkalista hydro-
lyysiä, esimerkiksi alkalimetallihydroksidia käyttäen ja
refluksoiden, voidaan myös käyttää vastaavien happojen,
joissa Y on karboksyyli-ryhmä, valmistamiseksi, tai vaihto-
5 ehtoisesti voidaan muodostaa 5-tetratsolyylirengas nitrii-
lin reaktiolla natriumatsidin ja ammoniumkloridin kanssa.
Esterien, joissa Y on $-\text{COO}(\text{C}_{1-4}\text{-alkyyli})$, voidaan myös
antaa reagoida ammoniakkin kanssa, jolloin muodostuu vas-
taavia amideja.

10 Kaikki nämä reaktiot ovat aivan tavanomaisia, ja
niissä käytettävät menetelmät ja niissä vallitsevat olosuh-
teet ovat alan asiantuntijoiden hyvin tuntemia, kuten myös
muut mahdollisuudet ja muunnelmat.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti hyväk-
15 syttävät happoadditiosuolat voidaan valmistaa tavanomaisin
menetelmin, esimerkiksi antamalla sopivassa liuottimessa,
esimerkiksi etanolissa, olevan vapaan emäksen reagoida liuok-
sen kanssa, jossa on yksi ekvivalentti haluttua happoa sopi-
vassa liuottimessa, esimerkiksi eetterissä. Suola saostuu
20 tavallisesti liuoksesta, tai se eristetään haihduttamalla
liuotin. Samoin kationiset suolat voidaan valmistaa tavan-
omaisin menetelmin.

Silloin kun keksinnön mukaisissa yhdisteissä on
asy-metrinen hiiliatomi, keksintö sisältää raseemiset seok-
25 set sekä erotetut, optisesti aktiiviset, isomeeriset D- ja
L-muodot. Sellaiset muodot saadaan tavanomaisin menetelmin,
esimerkiksi suolan fraktioivalla kiteyttämällä soveltuvaa
optisesti aktiivista happoa, esimerkiksi viinihappoa
käyttäen.

30 Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden ja niiden farma-
seuttisesti hyväksyttävien suolojen on havaittu estävän
selektiivisesti tromboksaanisyntetaasientsyymin toimintaa
vaikuttamatta merkittävästi prostasykliinisyntetaasi- tai
syklo-oksigenaasientsyymin toimintaan. Siten yhdisteet
35 ovat arvokkaita erilaisten sairaustilojen hoidossa, joille
on ominaista prostasykliini/tromboksaani A_2 -epätasapaino.

Jäljempänä mainituista syistä näihin tiloihin voivat kuulua verisuonitukos, iskeeminen sydäntauti, aivohalvaus, ohimenevä iskeeminen kohtaus, migreeni, syöpä ja diabeteksen verisuonikomplikaatiot.

- 5 Tutkimus on osoittanut, että useimmissa kudoksissa arakidonihappometabolian päätuote on jompikumpi kahdesta epästabiilista aineesta, tromboksaani A_2 (TxA_2) tai prostasykliini (PGI_2). [Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 72(1975) 2994, Nature 263(1976) 663, Prostaglandins 12(1976) 897].
- 10 Useimmissa tapauksissa prostaglandiinit PGE_2 , PGF_2 ja PGD_2 ovat tämän biosynteettisen tien suhteellisen vähäisiä sivutuotteita. Tromboksaani A_2 :n ja prostasykliinin löytäminen on merkittävästi lisännyt ymmärtämystämme verisuoniston säätelystä, prostasykliini esimerkiksi on tehokas verisuonia laajentava aine ja verihiutaleiden aggregaattimuodostusta estävä aine, ja tämän jälkimmäisen suhteen se on voimakkein tähän mennessä löydettyistä sisäsyntyisistä aineista.
- 15 Prostasykliinisyntetaasientsyymi sijaitsee verisuoniston sisäkerroksessa, ja sen syöttäjinä toimivat endoperoksidit, joita suonen seinämän kanssa kosketuksiin joutuneet verihiukkaset vapauttavat. Siten tuotetulla prostasykliinillä on tärkeä merkitys verihiutaleiden suonien seinämille kerrostumisen estämisessä. [Prostaglandins 12(1976) 685, Science 1976 17, Nature 273(1978) 765].
- 20 Tromboksaani A_2 valmistetaan tromboksaanisyntetaasientsyymin avulla, jota on esimerkiksi verihiutaleissa. Tromboksaani A_2 on tehokas verisuonia supistava ja aggregaattimuodostusta edistävä aine. Sellaisenaan sen toiminta on täysin vastakkainen prostasykliinin toiminnalle. Jos
- 30 jostakin syystä verisuoniston prostasykliinin muodostus heikkenee, niin suonen seinämän kanssa kosketuksiin joutuneiden verihiutaleiden tuottamat endoperoksidit muuttuvat tromboksaaniksi, mutta eivät muutu tehokkaasti prostasykliiniksi [Lancet 1977 18, Prostaglandins 13(1978) 3].
- 35 Prostasykliini/tromboksaani -tasapainon muuttuminen jälkimmäisen aineen hyväksi saattaisi johtaa verihiutaleiden

aggregaattimuodostukseen, verisuonikouristukseen (=vasospasmi) [Lancet 1977 479, Science 1976 1135, Amer. J. Gardiology 41(1978) 787] ja lisääntyneeseen alttiuteen valtimontukokseen [Lancet (i) 1977 1216]. Tiedetään myös, että kokeellisessa valtimonkovettumataudissa prostasyklinin tuottaminen laskee ja tromboksaani A_2 :n tuotanto lisääntyy Prostaglandins 14(1977) 1025 ja 1035. Siten tromboksaani A_2 on todettu angina pectoris-muunnelmien, sydäninfarktien, äkillisen sydänkuoleman ja aivohalvauksen aiheuttajaksi [Tromb. Haemostasis 38(1977) 132]. Tutkimukset kaniineilla ovat osoittaneet, että näille tiloille tyypilliset EKG-muutokset syntyivät, kun juuri valmistettua tromboksaani A_2 :a ruiskutettiin suoraan eläimen sydämeen (Biochem. aspects of Prostaglandins and Thromboxanes, toimittajat N. Kharasch ja J. Fried, Academic Press, 1977, sivu 189). Tämän tekniikan katsotaan edustavan ainutlaatuista sepelvaltimopotilaiden sydänkohtausten eläinmallia, ja sitä on käytetty osoittamaan, että sellaisen yhdisteen antaminen, jonka on uskottu vaikuttavan tromboksaani A_2 :a vastaan, suojaa kaniineja tromboksaani A_2 -ruiskeen haitallisilta seurausvaikutuksilta.

Myös migreenissä PGI_2/TxA_2 -tasapainoa pidetään edistävänä tekijänä.

Migreenipäänsärky liittyy aivojen sisä- ja ulkopuolisen verenkierron muutoksiin, erityisesti päänsärkyä edeltävään aivoverenkierron heikkenemiseen, jota seuraa laajeneminen kummassakin verisuonialueessa päänsärkyvaiheen aikana.

Ennen päänsärlyn kehittymistä veren 5-hydroksitryptamiinitasot kohoavat, ja tämä aiheuttaa in vivo aggregaattimuodostusta ja verihiutaleisiin varastoituneen amiinin vapautumisen. Tiedetään, että migreenipotilaiden verihiutaleet ovat taipuvaisempia muodostamaan aggregaatteja kuin normaaliyksilöiden hiutaleet [J. Clin. Pathol. 24(1971) 250, J. Headache 17(1977) 101]. Lisäksi nyt on väitetty,

ettei verihäiriötoiminnan epänormaalisuus ole vain tärkeä tekijä migreenikohtausten synnyssä, vaan että se itse asiassa on niiden pääasiallisin syy [Lancet (i) 1978 501]. Siten lääke, joka selektiivisesti muuttaa verihäiriötoimintaa tromboksaani A_2 :n muodostusta estäväksi, voisi olla varsin hyödyllinen migreenin hoidossa.

Diabetes mellitus-potilailla esiintyvistä verihäiriötoiminnan epänormaalisuuksista on julkaistu selostuksia [Metabolism 28(1979) 394, Lancet (i) 1978 235]. Diabeetikoiden tiedetään olevan erityisen alttiita pienten verisuonien komplikaatioille, valtimonkovettumataudille ja valtimontukokselle, ja verihäiriötoiminnan ylitähtäisyyden on esitetty olevan syynä sellaisiin verisuonimuutoksiin. Diabeetikkojen verihäiriöt tuottavat kohonneita määriä TxB_2 :a ja malonidialdehydiä (Symposium "Diabetes and Thrombosis - Implications for therapy", Leeds U.K., huhtikuussa 1979). On myös osoitettu, että rotissa, joilla on kokeellinen diabetes, verisuoniston prostasykliinituotanto heikkenee ja verihäiriötoiminnan TxA_2 -synteesi kasvaa (IV International Prostaglandin Conference, Washington D.C., toukokuussa 1979). Siten prostasykliinin ja TxA_2 :n välisen epätasapainon katsotaan olevan syynä diabetekseen liittyviin pienten verisuonien komplikaatioihin. TxA_2 -syntetaasin toimintaa estävä aine voisi näin ollen osoittautua kliinisesti käyttökelpoiseksi näiden verisuonikomplikaatioiden estämisessä.

Aspiriini ja useimmat muut ei-steroidiset, tulehdusta vastustavat lääkkeet estävät syklo-oksigenaasientsyymin toimintaa. Tämä lopettaa PGG_2/H_2 -endoperoksidien tuotannon ja siten laskee sekä prostasykliini- että tromboksaani A_2 -tason. Aspiriinin ja sen kaltaisten lääkkeiden merkityksestä aivohalvauksen ja sydänkohtauksen estämisessä on esitetty arvioita [New England and J. Med. 299 (1978) 53, B.M.J. 1978 1188, Stroke 8(1977) 301].

Vaikkakin joitakin rohkaisevia tuloksia on saatu näillä lääkkeillä, yhdiste, joka spesifisesti estää tromboksaani A_2 :n muodostumista jättäen prostasykliinin

biosynteesin ennalleen, olisi arvokkaampi näissä sairaus-tiloissa [Lancet (ii) 1978 780].

Primaaristen kasvainten kyky muodostaa etäispesäkeitä on pääasiallinen syy epäonnistumiseen ihmisessä esiintyvän syövän parantamisessa. On esitetty, että etäispesäkkeiden kasvainsolut voivat muuttaa kriittistä $\text{PGI}_2/\text{TxA}_2$ -tasapainoa verisuonitukoksen suuntaan [Science 212(1981) 1270]. Prostasykliinin on viime aikoina osoitettu olevan tehokas etäispesäkkeiden syntyä estävä aine sen verihiutaleiden aggregaattimuodostusta estävän toiminnan vuoksi. Tämä tulos osoittaa, että TxA_2 :n toimintaa estävä aine voi toimia etäispesäkkeiden syntyä estävänä aineena in vivo [J. Cell. Biol. 87(1980) 64].

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden vaikutusta tromboksaanisyntetaasientsyymiin sekä prostasykliinisyntetaasi- ja syklo-oksigenaasientsyymiin on mitattu seuraavilla entsyymimäärityksillä in vitro:

1. Syklo-oksigenaasi

Pässin siemenrakkulan mikrosomeja [Biochemistry 10 (1971) 2372] inkuboidaan arakidonihapon kanssa ($100 \mu\text{M}$, 1 min, 22°) PGH_2 :n tuottamiseksi, ja yhtä suuret määrät reaktioseosta ruiskutetaan virtaan, jossa on 37° -ista Krebsin bikarbonaattia {sisältäen antagonistien [Nature 218(1978)1135] ja indometasiinin [Brit. J. Pharmacol. 45(1972) 451] seoksen}, joka perfusoi spiraalimaisesti leikattua kaniinin aortan suikaletta [Nature 223(1969) 29].

Yhdisteen kyky estää entsyymin toimintaa mitataan vertaamalla PGH_2 :n koeyhdisteen puuttuessa aiheuttamia isometrisen paineen nousuja ja seuraavaa entsyymin 5 minuutin esi-inkubointia koeyhdisteen kanssa.

2. Prostasykliini (PGI_2)syntetaasi

Sian aortan mikrosomeja [Nature 263(1976) 663] inkuboidaan (30 s, 22°C) l-määrityksen mukaisesti tuotetun PGH_2 :n kanssa, ja yhtä suuret määrät tutkitaan biologisesti niin kuin l-määrityksessäkin. PGI_2 -tuotanto määritetään epäsuorasti mittaamalla PGH_2 :n aiheuttaman paineen

lasku (PGI_2 itse ei supista aorttaa). Tämä lasku voidaan estää täysin esi-inkuboimalla entsyymiä selektiivisen PGI_2 -syntetaasin toimintaa estävän aineen, 15-hydroksiarakidonihapon kanssa [Prostaglandins 12(1976) 715]. Koeyhdistettä inkuboidaan sitten entsyymin kanssa 5 minuuttia, ja sen kyky estää paineen lasku mitataan.

3. Tromboksaani A_2 (TxA_2) -syntetaasi

Indometasiinilla esikäsiteltyjä ihmisen verihiutaleiden mikrosomeja [Science 193(1976) 163] inkuboidaan (2 min., 0°C) PGH_2 :n (tuotettu 1:n mukaan) kanssa, ja yhtä suurilla määrillä reaktioseosta perfusoidaan kahta kaniinin aortan spriaalia, joita erottaa 2 minuutin välijakso. Jälkimmäinen tarvitaan, jotta epästabiilimman tromboksaani A_2 :n annetaan hajota selektiivisesti [Proc. Nat. Acad. Sci. 72(1975) 2994], jolloin on mahdollista mitata erikseen muodostuneen TxA_2 :n ja jääneen PGH_2 :n aiheuttama, kohonnut, isometrisen paine. Koeyhdistettä inkuboidaan entsyymin kanssa 5 minuuttia, ja sen kyky estää tromboksaanisyntetaasientsyymin toimintaa mitataan isometrisen paineen TxA_2 -osatekijän laskuna.

Näin tutkitut keksinnön mukaiset yhdisteet on osoitettu pystyviksi selektiivisesti estämään tromboksaanisyntetaasientsyymin toimintaa.

Edellä esitetyn lisäksi on esitetty eräs in vitro määrittystapa ihmisen verihiutaleiden aggregaattimuodostuksen estämisen mittaamiseksi, ja tämä voi ennakoida tehoa verisuonitukosten ehkäisemisessä kliinisesti [Lancet (ii) 1974 1223, J. Exp. Med. 126(1976) 171]. Kumpikin kliinisesti tehokas aine, aspiriini ja sulfiinipyratsoni, on tässä kokeessa vaikuttanut estävästi erilaisia aggregaatteja muodostavia aineita vastaan in vitro.

Muutamia in vivo -eläinkokeita on myös esitetty mahdollisten verisuonitukoksia ehkäisevien lääkkeiden arvioimiseksi.

Patronon et al. menetelmää on sovellettu TxB_2 :n kehittymisen tutkimiseen kokoverinäytteissä, jotka on otettu

eläimistä ennen lääkehoitoa ja sen jälkeen. Lyhyesti esitettyinä, verinäytteet otetaan lasiputkiin ja niiden annetaan hyytyä 37°C:ssa. Seerumi erotetaan sentrifugoimalla ja näytteet pidetään -40°C:ssa TxB₂-määrityksiin saakka, jolloin näytteet, joista valkuaisaineet on poistettu soveltuvilla etanolilaimennuksilla, analysoidaan RIA-menetelmällä. Tätä tekniikkaa käytetään tutkittaessa koeyhdisteitä niiden laskimon sisäisen vaikutuksen määrittämiseksi nukutetuissa kaniineissa:

10 Nukutetut kaniinit

Urospuoliset, valkoiset, Uuden Seelannin kaniinit, (2,6 - 5,6 kg) nukutetaan käyttäen natriumpentobarbitonia (30 mg/kg laskimon sisäisesti) ja sen jälkeen uretaania (500 mg/kg vatsakalvon sisäisesti). Henkitorven kanyloinnin jälkeen kaulavaltimo katetroidaan verinäytteiden keräämistä varten. Katetri pidetään avoimena hitaalla steriilillä, fysiologisen suolaliuoksen virtauksella (2 ml/minuutti). Kaulavaltimon vertailuverinäytteet otetaan 30 ja 5 minuuttia ennen koeyhdisteen tai väliaineen antamista (0,9 % w/v NaCl, 0,2 ml/kg) korvan pintalaskimon kautta. Käytetään kolmea kaniiniryhmää. Ensimmäinen ryhmä saa 0,03 mg/kg koeyhdistettä ja tuntia myöhemmin vielä 0,1 mg/kg. Samoin toinen ryhmä saa 0,3 mg/kg ja myöhemmin 1 mg/kg. Kolmas ryhmä saa väliainetta ja tuntia myöhemmin vielä toisen väliaineruiskeen. Kaulavaltimon verinäytteet otetaan 15 ja 45 minuuttia kunkin annoksen jälkeen. Kullakin kerralla otetaan 1 ml:n verinäyte lasiseen koeputkeen, jossa ei ole hyytymistä estävää ainetta, TxB₂:n määrittystä varten. Määrittystä varten verinäytteen annetaan hyytyä kahden tunnin inkuboinnin aikana 37°C:ssa (joka esikokeissa oli osoittautunut suurimpaan TxB₂-tuotantoon johtavaksi) ja seerumi erotettiin sentrifugoimalla. Sen jälkeen kun valkuaisaineet oli poistettu etanolilla ja suoritettu laimennus Isogel Tris -puskurilla, seeruminäytteistä tutkittiin TxB₂ RIA-menetelmällä.

Laskimon sisäinen arakidonihapporuiske johtaa kaniinien kuolemaan aiheuttamalla verihiutaleiden yhteenliittymisen ja keuhkoveritulpan. Jälleen sekä kliinisesti tehokas aspiriini (Agents and Actions 1977, n:o 1, 481)
 5 että sulfiinipyratsoni Pharmacology 14(1976) 522 suojaa kaniinia ruiskeen tappavalta vaikutukselta. Sulfiinipyratsonin on myös osoitettu estävän verihiutaleiden aggregaattimuodostusta rottien vatsa-aortan, ruumiin ulkopuolisessa mutkassa in vivo Throm. Diathes. Haem. 30(1973)
 10 138 .

Yhdisteet voidaan antaa suun kautta tabletteina tai kapsелеina, jotka sisältävät yksikköannoksen yhdistetty sellaisiin täyteaineisiin, kuin maissitärkkelys, kalsiumkarbonaatti, dikalsiumfosfaatti, algiinihappo, laktoosi, magnesiumstearaatti, "Primogel" (kauppanimi) tai talkki, yhdistettynä. Tabletit valmistetaan tyypillisesti rakeistamalla aineosat yhdessä ja puristamalla saatu seos halutun kokoisiksi tableteiksi. Kapselit valmistetaan tyypillisesti rakeistamalla aineosat yhdessä ja täyttämällä niillä sopivan
 15 kokoiset, kovat gelatiinikapselit siten, että niissä on haluttu annostus.
 20

Yhdisteet voidaan antaa myös parenteraalisesti, esimerkiksi lihas-, laskimon sisäisin- tai ihonalaisin ruiskein. Parenteraalisesti annettaessa niitä on parasta käyttää
 25 steriilien vesiliuosten muodossa, jotka voivat sisältää muitakin liuenneita aineita, kuten vahvistavia lääkkeitä ja pH:n säätöaineita. Yhdisteet voidaan lisätä tislattuun veteen, ja säätää pH 3 - 6:een käyttäen happoa, sellaista kuin stiruuna-, maito- tai suolahappo. Riittävä määrä liukenevia aineita, kuten rypälesokeria tai suolaa, voidaan
 30 lisätä liuoksen tekemiseksi isotoniseksi. Saatu liuos voidaan sitten steriloida ja täyttää sopivan kokoiisiin, steriileihin lasisiin lääkepulloihin, jotka sisältävät halutun tilavuuden liuosta. Keksinnön mukaiset yhdisteet
 35 voidaan antaa myös edellä kuvatun kaltaisena parenteraalisena formulana laskimoon.

Suun kautta ihmispotilaille annettaessa oletetaan kaavan (I) mukaisen yhdisteen päivittäisannostustason olevan 0,1 - 20 mg/kg päivässä tyypillisen aikuispotilaan (70 kg) ollessa kyseessä. Parenteraalisesti annettaessa oletetaan kaavan (I) mukaisen yhdisteen päivittäisen annostustason olevan 0,01 - 0,5 mg/kg päivässä tyypillisen aikuispotilaan ollessa kyseessä. Siten tabletit tai kapselit voisivat tavallisesti sisältää 5 - 150 mg aktiivista yhdistettä suun kautta annettaessa, korkeintaan kolmesti päivässä. Yksikköannostukset parenteraalisesti annettaessa voisivat sisältää 0,5 - 35 mg aktiivista yhdistettä. Tyypillinen lääkepullo voisi olla 10 ml:n pullo, joka sisältää 5 mg aktiivista yhdistettä 6 - 10 ml:ssa liuosta.

On käsitettävää, että lääkäri määrää varsinaisen annoksen, joka parhaiten soveltuu yksilölle, ja se vaihtelee potilaan iän, painon ja vasteen mukaan.

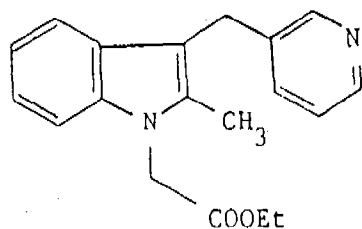
Yllä esitetyt annostukset ovat esimerkkejä keskiarvopotilaan annostuksista, voi tietysti esiintyä yksittäistapauksia, jolloin korkeampi tai alhaisempi annostus on paikallaan.

Edellä esitettyjä menetelmiä käyttäen tutkitut, kaavan (II) mukaiset yhdisteet ovat osoittautuneet kykeneviksi selektiivisesti estämään tromboksaanisyntetaasientsyymin toimintaa.

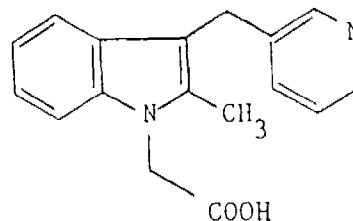
Kaavan (I) mukaisten, uusien yhdisteiden valmistamista valaistaan seuraavin esimerkein:

Esimerkki 1

- A) Etyyli{2-[2-metyyli-3-(3-pyridyyylimetyyli)indol-1-yyli]}-asetaatin
- B) 2-[2-metyyli-3-(3-pyridyyylimetyyli)indol-1-yyli]-etikkahapon 1/4 hydraatin valmistaminen:



(A)



(B)

5
10 A) Natriumhydridiä (50-prosenttinen disperiso öljyssä, 0,53 g) lisättiin vähitellen liuokseen, jossa oli 2-metyyli-3-(3-pyridyyli-metyyli)indolia (2,22 g) vedettömässä DMF:ssä (50 ml) 20^o:ssa, ja saatua seosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa (20^o) 1,5 tuntia. Sen jälkeen lisättiin vähitellen liuos, jossa oli etyylibromiasetaattia (1,8 g)
15 vedettömässä DMF:ssä (25 ml), ja saatua liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa yön yli. Liuotin haihdutettiin sitten alipaineessa, ja jäännökseksi saatu öljy liuotettiin kuumaan tolueeniin, jäähdytettiin ja kiinteä aine erotettiin suodattamalla. Tolueenisuodos haihdutettiin, ja jäännökseksi
20 saatu öljy puhdistettiin kromatografisesti (silikageeli, eluenttina liuos, jossa oli 10 % petrolieetteriä, kp. 40-60^o, CH₂Cl₂:ssa). Tuote kiteytettiin sitten tolueenista, jolloin saatiin otsikossa mainittu esteri, 1,4 g, sp. 84 - 86^o.

Analyysi %:

25 Saatu: C 79,0; H 6,5; N 8,9

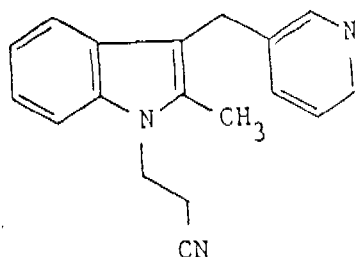
Laskettu C₁₉H₂₀N₂O₂:lle: C 79,0; H 6,55; N 8,9

B) A-kohdan mukainen esteri (1,0 g) lisättiin liuokseen, jossa oli KOH:a (0,3 g) H₂O:ssa (10 ml), ja saatua liuosta kuumennettiin vesihöyryhauteella 4 tuntia. Jäähdytyksen
30 jälkeen liuos tehtiin happamaksi etikkahapolla, ja kiinteä aine erotettiin suodattamalla ja kitetytettiin uudelleen isopropanolista, jolloin saatiin otsikossa mainittu happo, 0,4 g, sp. 223 - 225^o.

Analyysi %:

35 Saatu: C 71,9; H 5,9; N 9,4

Laskettu C₁₇H₁₆N₂O₂·1/4H₂O:lle: C 71,7; H 5,8; N 9,8

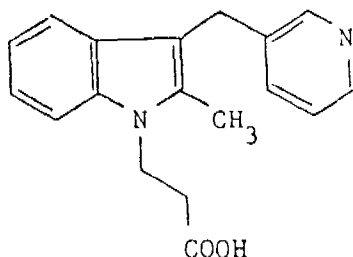
Esimerkki 21-(2-syaanietyyli)-2-metyyli-3-(3-pyridyylimetyyli) indolin valmistaminen

2-metyyli-3-(3-pyridyylimetyyli)indoli (3,2 g) liuotettiin dioksaaniin (50 ml), ja liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa, samalla kun lisättiin vähitellen "Triton B" (kauppanimi) metanolissa (1 ml) ja akryylnitriiliä (0,84 g). Liuosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 2 tuntia, ennen kuin liuotin haihdutettiin pois ja jäännökseen lisättiin vettä (25 ml). Vesiliuosta uutettiin sitten CH_2Cl_2 :lla (3 x 25 ml), ja yhdistetyt orgaaniset faasit pestiin kyllästetyllä NaCl :n vesiliuoksella, kuivattiin (MgSO_4), suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin öljy. Öljy puhdistettiin kromatografisesti (Silikageeli, eluenttina liuos, jossa oli 10 % petrolieetteriä, kp. $60 - 80^\circ$, CH_2Cl_2 :ssa), ja tuote kiteytettiin uudelleen tolueenista, jolloin saatiin otsikossa mainittu yhdiste, 1,2 g, sp. 122° .

Analyysi %:

Saatu: C 78,45; H 6,25; N 15,5

Laskettu $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_3$:lle: C 78,45; H 6,2; N 15,25

Esimerkki 31-(2-karboksietyyli)-2-metyyli-3-(3-pyridyylimetyyli) indolin valmistus

Esimerkin 2 mukainen nitriili (0,9 g) lisättiin KOH:n 10-prosenttiseen vesi-etanoli-liuokseen (8 ml) ja liuosta refluksoitii 5 tuntia. Liuos tehtiin sitten heikosti happamaksi etikkahapolla ja haihdutettiin.

- 5 Lisättiin vettä ja erottunut kiinteä aine suodatettiin liuoksesta ja kiteytettiin uudelleen EtOH:n vesiliuoksesta, jolloin saatiin otsikossa mainittu yhdiste, 0,3 g, sp. 180 - 181°.

Analyysi %:

- 10 Saatu: C 7,29; H 6,2; N 9,6

Laskettu $C_{18}H_{18}N_2O_2$:lle: C 73,45; H 6,15; 9,5

Esimerkit 4 - 7

- 15 Keksinnön mukaiset yhdisteet, jotka valmistettiin käsittelemällä pyridyylialkyyliindolia akryyli- tai metakryylinitriilillä esimerkin 2 kaltaisella menetelmällä ja hydrolysoimalla sen jälkeen saatu nitriili esimerkin 3 mukaista menetelmää käyttäen, on lueteltu taulukossa 1:

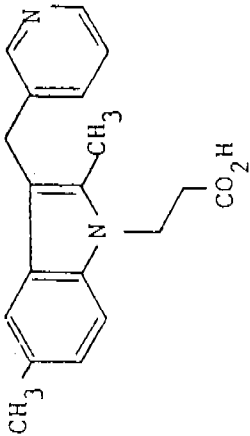
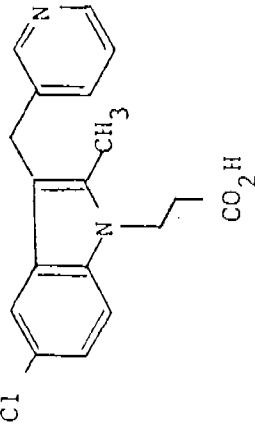
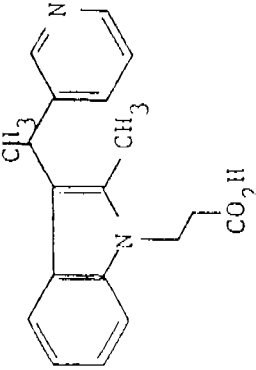
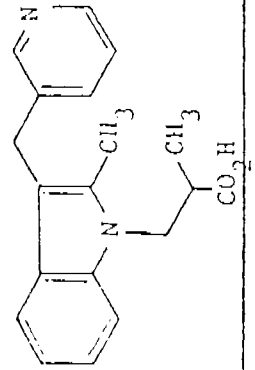
20

25

30

35

TAULUKKO 1

Esimerkki n:o	Yhdiste	sp. °C	Analyysi %
4		209-210	Saatu: C, 73.65; H, 6.53; N, 9.08. $C_{19}H_{20}N_2O_2$ Vaadittu: C, 74.00; H, 6.54; N, 9.09%
5		197-198	Saatu: C, 65.79; H, 5.30; N, 8.58. $C_{18}H_{17}ClN_2O_2$ Vaadittu: C, 65.75; H, 5.21; N, 8.52%
6		164-165	Saatu: C, 73.98; H, 6.55; N, 9.13. $C_{19}H_{20}N_2O_2$ Vaadittu: C, 74.00; H, 6.54; N, 9.09%
7		164-166	Saatu: C, 73.58; H, 6.54; N, 8.84. $C_{19}H_{20}N_2O_2$ Vaadittu: C, 74.00; H, 6.54; N, 9.09%

Esimerkki 81-(2-karbometoksietyyli)-2-syklopropyyli-3-(3-pyridyyli-
limetyyli)-indoli

Seosta, jossa oli 2-syklopropyyli-3-(3-pyridyyli-
 5 metyyliakrylaattia (2,06 g) ja "Triton B":n metanoliliuosta (0,5 ml) tetrahydrofuraanissa (50 ml), refluksoitettiin 4 tuntia, ja sitten haihdutettiin se. Jäännös liuotettiin etyyli-asetattiin, ja liuos pestiin vedellä ja kuivatettiin (Na_2SO_4). Haihduttamalla liuotin
 10 saatiin öljy, joka puhdistettiin kromatografisesti, adsorbenttina silikageeli. Eluoimalla kloroformin ja petroli-
 eetterin (kp. 40 - 60°) seoksella (3:1) saatiin 1-(2-
 karbometoksietyyli)-2-syklopropyyli-3-(3-pyridyyli-
 indoli öljynä (1,20 g).

15 Analyysi %:

Saatu: C 74,82; H 6,63; N 8,14; $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$

Vaadittu: C 75,42; H 6,63; N 8,38

Esimerkki 920 1-(2-karboksietyyli)-2-syklopropyyli-3-(3-pyridyyli-
metyyli)indoli

Seosta, jossa oli 1-(2-karbometoksietyyli)-2-syklopro-
 pyyli-3-(3-pyridyyli-
 metyyli)indolia (1,0 g), NaOH:a (0,18 g),
 metanolia (1 ml) ja vettä (10 ml), refluksoitettiin kuusi tun-
 tia. Saatu liuos haihdutettiin kuiviin, ja jäännös liuotet-
 25 tiin pieneen määrään vettä. Tehäessä happamaksi etikkahapol-
 la erottui kiinteätä ainetta, joka suodatettiin pois,
 pestiin vedellä, kuivatettiin ja kiteytettiin isopropanoli/
 petrolieetteri (kp. 60 - 80°)-seoksesta, jolloin saatiin
 1-(2-karboksietyyli)-2-syklopropyyli-3-(3-pyridyyli-
 30 indoli (0,55 g), sp. 159 - 160°.

Analyysi %:

Saatu: C 75,21; H 6,38; N 8,44; $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$

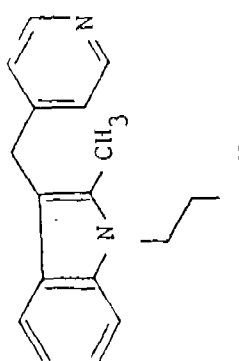
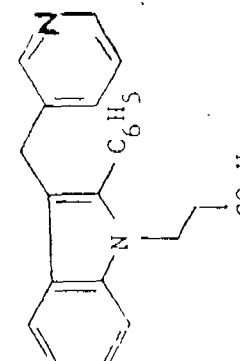
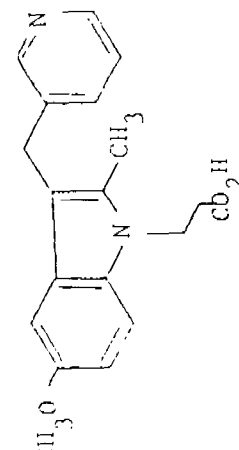
Vaadittu: C 74,97; H 6,29; N 8,74

Esimerkit 10 - 12

35 Keksinnön mukaiset yhdisteet, jotka valmistettiin kä-
 sittelemällä pyridyyli-
 metyyliakrylaatilla

esimerkin 8 kaltaisella menetelmällä ja hydrolysoimalla sen jälkeen saatu esteri esimerkin 9 mukaista menetelmää käyttäen, on lueteltu taulukossa 2:

TAULUKKO 2

Esimerkki n:o	Yhdiste	sp. °C	Analyysi %
10		194-195	Saatu: C, 73.27; H, 6.37; N, 9.42. $C_{18}H_{18}N_2O_2$ Vaadittu: C, 73.45; H, 6.16; N, 9.52%
11		194-195	Saatu: C, 77.18; H, 5.72; N, 8.02. $C_{23}H_{20}N_2O_2$ Vaadittu: C, 77.50; H, 5.66; N, 7.86%
12		181-183	Saatu: C, 70.60; H, 6.40; N, 8.47. $C_{19}H_{20}N_2O_2$ Vaadittu: C, 70.35; H, 6.22; N, 8.64%

Esimerkki 13

1-(2-karbamoyylietyyli)-2-metyyli-3-(3-pyridyylime-
tyyli)indoli

- 5 1-(2-syaanietyyli)-2-metyyli-3-(3-pyridyylimetyyli)in-
doli (1,0 g) liuotettiin väkevään suolahappoon (10 ml),
ja liuoksen annettiin seistä huoneen lämpötilassa 24 tuntia.
Liuos tehtiin varovasti emäksiseksi lisäämällä laimeata
KOH-liuosta samalla jäädyttäen, jolloin saatiin öljyä, joka
vähitellen muuttui kiinteäksi. Kiinteä aine erotettiin
10 suodattamalla, pestiin vedellä ja kiteytettiin isopropanoli/
vesi-seoksesta, jolloin saatiin 1-(2-karbamoyylietyyli)-2-
metyyli-3-(3-pyridyylimetyyli)indoli (0,44 g), sp. 145 - 147°.

Analyysi %

- Saatu: C 73,46; H 6,58; N 14,05; C₁₈H₁₉N₃O
15 Vaadittu: C 73,69; H 6,53; N 14,32

Esimerkki 14

1-[2-(5-tetratsolyyli)etyyli]-2-metyyli-3-(3-pyridyy-
limetyyli)indoli

- 20 Seosta, jossa oli 1-(2-syaanietyyli)-2-metyyli-3-(3-
pyridyylimetyyli)indolia (0,8 g), natriumatsidia (0,95 g),
ammoniumkloridia (0,78 g) ja vedetöntä dimetyyliformamidia
(12 ml), kuumennettiin sekoittaen 125°C:ssa 20 tuntia, ja
sitten haihdutettiin se. Lisättiin jäännökseen vettä (25 ml)
epäorgaanisen aineen liuottamiseksi. Liukenematon osa kitey-
25 tetettiin metanoli/etyyliasettaatti-seoksesta, jolloin saatiin
1-[2-(5-tetratsolyyli)etyyli]-2-metyyli-3-(3-pyridyylime-
tyyli)indoli (0,20 g), sp. 173°.

Analyysi %:

- Saatu: C 67,45; H 5,79; N 27,06; C₁₈H₁₈N₆
30 Vaadittu: C 67,90; H 5,70; N 26,40

Esimerkki 15

1-(4-karbetoksibentsyyli)-2-metyyli-3-(3-pyridyyli-
metyyli)indoli

- 35 Natriumhydridiä (0,24 g 50-prosenttista dispersiota
mineraaliöljyssä) lisättiin vähitellen sekoittaen liuokseen,

jossa oli 2-metyyli-3(3-pyridyyli-metyyli)indolia (1,0 g) vedettömässä dimetyyli-formamidissa (15 ml), ja seosta sekoitettiin 30 minuuttia. Lisättiin sitten etyyli(4-bromimetyyli)bentsoaattia (1,10 g), ja seosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa 2,5 tuntia, ja sitten se haihdutettiin. Jäännös liuotettiin etyyliasetattiin, ja liuos pestiin hyvin vedellä ja kuivattiin (Na_2SO_4). Haihduttamalla liuosta saatiin öljy, joka puhdistettiin kromatografisesti, adsorbenttina silikageeli. Eluoitaessa kloroformilla saatiin ensin mineraaliöljy, ja sen jälkeen puhdas tuote öljynä (1,3 g).

Osa öljystä liuotettiin pieneen määrään eetteriä, ja lisättiin ylimäärin suolahapon eetteriliuosta. Kiinteä aine erotettiin suodattamalla ja kitetytettiin metanoli/etyyliasetatti-seoksesta, jolloin saatiin 1-(4-karbetoksibentsyyli)-2-metyyli-3-(3-pyridyyli-metyyli)indoli-hydrokloridi, sp. 176 - 179°C.

Analyysi %:

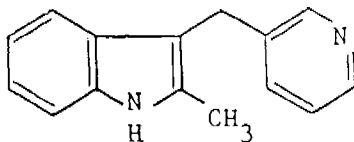
Saatu: C 71,09; H 6,06; N 6,68; $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$

Vaadittu: C 71,33; H 5,99; N 6,65

Seuraavassa valaistaan tiettyjen, edellisissä esimerkeissä käytettyjen lähtöaineiden valmistamista. Kaikki lämpötilat ovat °C:ina:

Valmistus 1

2-metyyli-3-(3-pyridyyli-metyyli)indolin valmistus



30

3-pyridyyli-metanolia (27,25 g) lisättiin KOH:n (2,24 g) ksyleenisuspensioon (200 ml), ja seosta refluksoitiin veden poistamiseksi käyttäen Deanin ja Starkin laitteita. Jäähdytyksen jälkeen lisättiin 2-metyyli-indolia (16,4 g), ja seosta refluksoitiin 3 tuntia. Lisättiin

sitten "Raneyn lejeerinkiä" (1,0 g) kuumaan liuokseen, ja refluksointia jatkettiin yön yli. Jäähdytyksen jälkeen metallinen jäännös erotettiin suodattamalla ja pestiin eetterillä (25 ml). Orgaaniset suodokset yhdistettiin, ja niitä uutettiin H₂O:lla (2 x 100 ml), ja orgaaninen kerros erotettiin ja jäähdytettiin 0°C:een, jolloin saostui kiinteätä ainetta, joka erotettiin suodattamalla. Kiteytettäessä kiinteä aine tolueenista saatiin puhdas otsikon mukainen yhdiste, 14,6 g, sp. 207 - 210°.

10 Analyysi %:

Saatu: C 81,05; H 6,35; N 12,6

Laskettu $C_{15}H_{14}N_2$:lle: C 80,6; H 6,3; N 12,15

Valmistus 2

2-metyyli-3-(4-pyridyylimetyyli)indoli

15 Metyylijodidi (32,0 g) kuivassa eetterissä (100 ml)
lisättiin vähitellen, sekoittaen, magnesiumin ja kuivan
eetterin (50 ml) seokseen siten, ettei reaktio ollut liian
kiiwas. Sen jälkeen kun lisäys oli saatu loppuun, seosta
refluksoitiin 30 minuuttia ja sitten jäähdytettiin 0^o:een.
20 Lisättiin vähitellen, sekoittaen liuos, jossa oli 2-metyyli-
indolia (16,9 g) kuivassa eetterissä (100 ml) ja saatua
seosta refluksoitiin sitten 1,5 tuntia. Sitten se jäähdy-
tettiin 0^o:een ja lisättiin vähitellen, sekoittaen
4-kloorimetyylipyridiinihydrokloridia (10,5 g). Seosta
25 refluksoitiin sekoittaen 3 tuntia ja sitten se jäähdytettiin.
Lisättiin vähitellen, sekoittaen liuos, jossa oli ammonium-
kloridia (30 g) vedessä (200 ml), ja sen jälkeen kerrokset
erotettiin. Eetterikerros kuivattiin (Na₂SO₄) ja haihdu-
tettiin, jolloin saatiin öljy, joka puhdistettiin kromato-
30 grafisesti, adsorbenttina silikageeli. Eluoitaessa kloro-
formilla saatiin aluksi vähän epäpuhtautta sekä lähtöainee-
na käytettyä indolia. Edelleen eluoitaessa saatiin 2-
metyyli-3-(4-pyridyylimetyyli)indolia (8,0 g), sp. 126 -
127^o (eetterissä).

35 Analyysi %:

Saatu: C 81,32; H 6,39; N 12,45; $C_{15}H_{14}N_2$

Vaadittu: C 81,05; H 6,35; N 12,60

Muita lähtöaineita, jotka valmistettiin samalla tavalla käyttäen 3-kloorimetyylipyridiinihydrokloridia ja soveltuvaa indolia, on lueteltu taulukossa A:

5

10

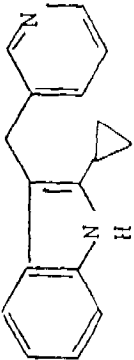
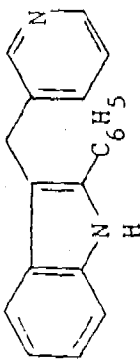
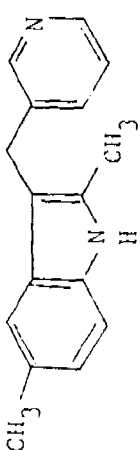
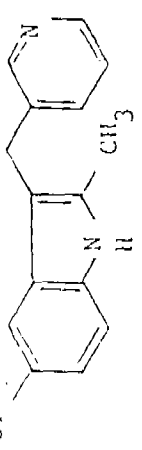
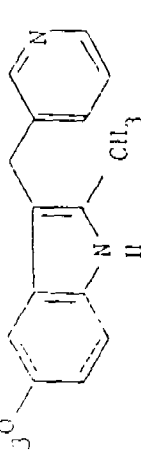
15

20

25

30

35

Yhdiste	sp. °C	Analyysi %
	188-189	Saatu: C, 81.73; H, 6.54; N, 11.07. $C_{17}H_{16}N_2$ Vaadittu: C, 82.22; H, 6.50; N, 11.28%
a 	184-185	Saatu: C, 84.59; H, 5.56; N, 9.69. $C_{20}H_{16}N_2$ Vaadittu: C, 84.48; H, 5.67; N, 9.85%
	168-171	Saatu: C, 81.20; H, 6.87; N, 11.45. $C_{16}H_{16}N_2$ Vaadittu: C, 81.32; H, 6.83; N, 11.86%
a 	171-173	Saatu: C, 70.29; H, 5.14; N, 10.59. $C_{15}H_{13}ClN_2$ Vaadittu: C, 70.17; H, 5.11; N, 10.9%
		Tämä välituote puhdistettiin osittain ja käytettiin sitten suoraan tunnistamatta

A: VEDETTÖMÄÄN TETRAHYDROFURAANIIN LIUOTETUT" LÄHTÖAINEENA KÄYTETYT INDOLIT

Valmistus 32-metyyli-3-[1-(3-pyridyyli)etyyli]indoli

1-(2-metyyli-3-indolyyli)-1-(3-pyridyyli)etyleenin

(valmistettu J. Het. Chem. 9(1972) 833:n mukaisesti, 9,37

5 g) etanoliliuosta (200 ml) hydrogenoitiin 2,5atm:n painees-
sa 10-prosenttisen palladium/hiili-katalysaattorin ollessa
läsnä. Liuos suodatettiin ja haihdutettiin, ja jäännös

10 kiteytettiin etyyliasetaatti/petrolieetteri (kp. 60 - 80^o)
-seoksesta, jolloin saatiin 2-metyyli-3-[1-(3-pyridyyli)etyy-
li]indolia (5,74 g), sp. 139 - 141^oC.

Analyysi %:

Saatu: C 81,56; H 7,11; N 11,65 ; C₁₆H₁₆N₂

Vaadittu: C 81,32; H 6,83; N 11,86

15

20

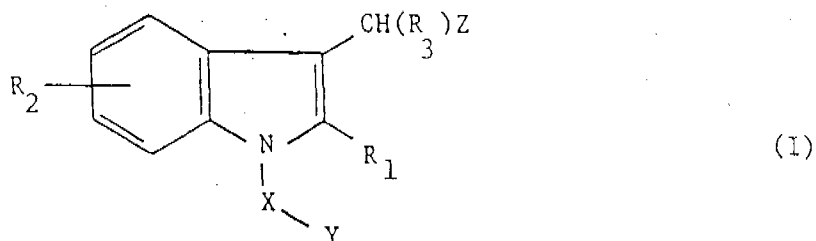
25

30

35

Patenttivaatimukset.

1. Menetelmä kaavan



10 jossa

R_1 on vety, C_{1-4} -alkyyli- C_{3-7} -sykloalkyyli tai fenyylili;

R_2 on vety, C_{1-4} -alkyyli- C_{1-4} -alkoksyylili tai halogeeni;

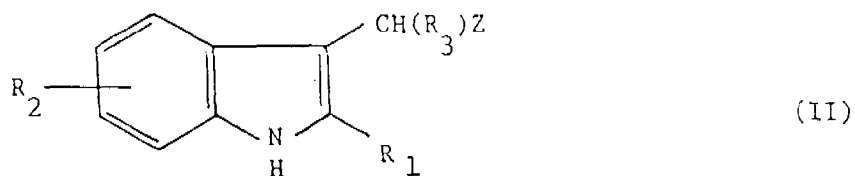
R_3 on vety tai C_{1-4} -alkyyli;

15 X on $-(CH_2)_n-$, jossa n on 1, 2 tai 3, $-CH_2CH(CH_3)-$ tai $-CH_2-$;
Y on $-COOH$, $-COO(C_{1-4}\text{-alkyyli})$, $-CONH_2$, $-CN$ tai 5-tetratsolyyli;

ja Z on 3- tai 4-pyridyyli,

mukaisen yhdisteen tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävän

20 suolan valmistamiseksi, tunnettu siitä, että kaavan



25 mukainen yhdiste, jossa R_1 , R_2 , R_3 ja Z ovat kaavassa (I) määritellyjä, reagoi soveltuvalla tavalla ja emäksen ollessa läsnä kaavan

30 Hal-X-Y (III)

tai

$CH_2 = C(R_4)Y_1$ (IV)

joissa X ja Y ovat kaavassa (I) määritellyjä, "Hal" on Cl, Br tai I, R_4 on H tai CH_3 ja Y_1 on $-CN$ tai $-COO(C_{1-4}\text{-alkyyli})$, mukaisen alkyloivan aineen kanssa, jota seuraa yksi tai useampi seuraavista reaktioista:

- 7
—) (a) kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa Y on
-COO(C₁₋₄-alkyyli), muuttaminen hydrolysoimalla kaavan (I)
mukaiseksi yhdisteeksi, jossa Y on -COOH;
- 5 (b) kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa Y on -COOH,
muuttaminen kaavan (I) mukaiseksi yhdisteeksi, jossa Y on
-CONH₂, muodostamalla hydrohalogenidi tai imidatsolidi ja
sitä seuraavalla reaktiolla ammoniakin kanssa;
- 10 (c) kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa Y on -COOH, muut-
taminen kaavan (I) mukaiseksi yhdisteeksi, jossa Y on
-COO(C₁₋₄-alkyyli), esteröimällä;
- 3 —> 143 (d) kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa Y on -CN, muut-
taminen kaavan (I) mukaiseksi yhdisteeksi, jossa Y on
-CONH₂ tai -COOH, heikolla tai vahvalla hydrolyysillä,
vastaavasti;
- 15 (e) kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa Y on -CN, muut-
14 taminen kaavan (I) mukaiseksi yhdisteeksi, jossa Y on
5-tetratsolyyli, reaktiolla natriumatsidin ja ammonium-
kloridin kanssa;
- 20 (f) kaavan (I) mukaisen yhdisteen, jossa Y on -COO(C₁₋₄-
alkyyli), muuttaminen kaavan (I) mukaiseksi yhdisteeksi,
jossa Y on -CONH₂, reaktiolla ammoniakin kanssa; ja
- (g) kaavan (I) mukaisen yhdisteen muodostaminen sen
farmaseuttisesti hyväksyttäväksi suolaksi tavanomaisella
menetelmällä.
- 25 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että alkyloivalla aineella on
patenttivaatimuksessa 1 määritelty kaava (III) ja siitä,
että emäs on natriumhydridi.
- 30 3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että alkyloivalla aineella on
patenttivaatimuksessa 1 määritelty kaava (IV), ja siitä,
että emäs on bentsyyli-*trimetyyli*ammoniumhydroksidi.
- 35 4. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että 2-[2-metyyli-3-(3-pyridyyli-
metyyli)indol-1-yyli]-etikkahappo valmistetaan antamalla
2-metyyli-3-(3-pyridyyli)metyyli)indolin reagoida etyyli-

bromiasetaatin kanssa natriumhydridin ollessa läsnä, jota seuraa saadun esterin alkalinen hydrolyysi, jolloin saadaan haluttu etikkahappojohdannainen.

5 5. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että 2- 2,5-dimetyyli-3-(3-pyri-
dyyylimetyyli)indol-1-yyli etikkahappo valmistetaan antamalla
2,5-dimetyyli-3-(3-pyridyylimetyyli)indolin reagoida etyy-
libromiasetaatin kanssa natriumhydridin ollessa läsnä ,
jota seuraa saadun esterin alkalinen hydrolyysi, jolloin
10 saadaan haluttu etikkahappojohdannainen.

15

20

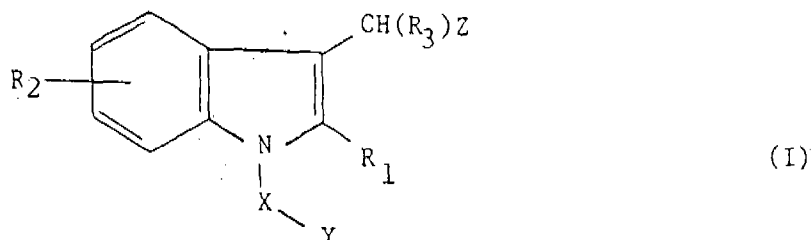
25

30

35

Patentkrav.

1. Förfarande för framställning av en förening med formeln



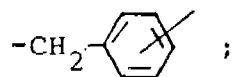
10 vari

R_1 är väte, C_{1-4} -alkyl, C_{3-7} -cykloalkyl eller fenyl;

R_2 är väte, C_{1-4} -alkyl, C_{1-4} -alkoxi eller halogen;

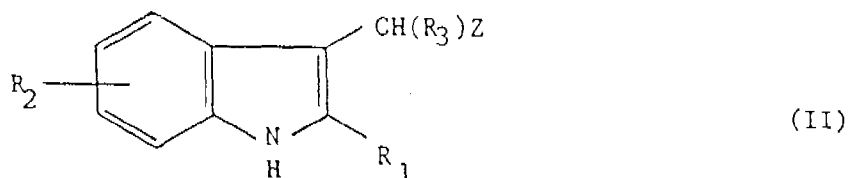
R_3 är väte eller C_{1-4} -alkyl;

15 X är $-(CH_2)_n-$, vari n är 1, 2 eller 3, $-CH_2CH-$ eller



och Z är 3- eller 4-pyridyl;

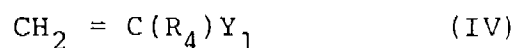
eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav, k ä n n e -
20 t e c k n a t därav, att man efter lämplighet reagerar en
förening med formeln



vari R_1 , R_2 , R_3 och Z är som definierats för formeln (I),
30 i närvaro av en bas med ett alkyleringsmedel med formeln



eller



35 vari X och Y är som definierats för formeln (I), "Hal" är Cl,

Br eller J, R_4 är H eller CH_3 och Y_1 är $-CN$ eller $-COO(C_{1-4}-alkyl)$, varefter man eventuellt utför ett eller flera av stegen

- (a) omvandlar en förening med formeln (I), vari Y är $-COO(C_{1-4}-alkyl)$, till en förening med formeln (I), vari Y är $-COOH$, genom hydrolys;
- (b) omvandlar en förening med formeln (I), vari Y är $-COOH$, till en förening med formeln (I), vari Y är $-CONH_2$, genom bildande av syrahalogeniden eller imidazolid, varefter följer reaktion med ammoniak;
- (c) omvandlar en förening med formeln (I), vari Y är $-COOH$, till en förening med formeln (I), vari Y är $COO(C_{1-4}-alkyl)$, genom förestring;
- (d) omvandlar en förening med formeln (I), vari Y är $-CN$, till en förening med formeln (I), vari Y är $-CONH_2$ eller $-COOH$, genom respektive svag eller stark hydrolys;
- (e) omvandlar en förening med formeln (I), vari Y är $-CN$, till en förening med formeln (I), vari Y är 5-tetrazolyl, genom reaktion med natriumazid och ammoniumklorid;
- (f) omvandlar en förening med formeln (I), vari Y är $-COO(C_{1-4}-alkyl)$, till en förening med formeln (I), vari Y är $-CONH_2$, genom reaktion med ammoniak; och
- (g) omvandlar en förening med formeln (I) till ett farmaceutiskt godtagbart salt därav genom ett konventionellt förfarande.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e - t e c k n a t därav, att alkyleringsmedlet har formeln (III) enligt definitionen i patentkravet 1 och att basen är natriumhydrid.

3. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e - t e c k n a t därav, att alkyleringsmedlet har formeln (IV) enligt definitionen i patentkravet 1 och att basen är bensyltrimetylammoniumhydroxid.

4. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att 2-2-metyl-3-(3-pyridylmetyl)indol-1-yl]ättiksyra framställs genom reagerande av

2-metyl-3-(3-pyridylmetyl)indol med etylbromacetat i när-
varo av natriumhydrid, varefter följer alkalisk hydrolys
av den resulterande estern för erhållande av det önskade
ättiksyraderivatet.

5

5. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2,
k ä n n e t e c k n a t därav, att 2-2,5-dimetyl-3-(3-
pyridylmetyl)indol-1-yl]ättiksyra framställs genom reageran-
de av 2,5-dimetyl-3-(3-pyridylmetyl)indol med etylbromacetat
i närvaro av natriumhydrid, varefter följer alkalisk hydro-
10 lys av den resulterande estern för erhållande av det önskade
ättiksyraderivatet.

15

20

25

30

35

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer, utläggnings- och patentskrifter:

FI

CH

DE

DK

FR

GB P 1260868 (cor d 27/56)

NO

SE

US

EP H 3901 (C07D 403/06)

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Allekirjoitus