FI000105029B

(12) **PATENTTIJULKAISU**
PATENTSKRIFT

(10) **FI 105029 B**

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats **31.05.2000**

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

C07D 403/04, 233/38

(21) Patenttihakemus - Patentansökning **930717**

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag **18.02.1993**

(24) Alkupäiva - Löpdag **18.02.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig **23.08.1993**

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

22.02.1992 DE 4205484 P

SUOMI – FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(73) Haltija - Innehavare

1 •Hoechst Aktiengesellschaft, 6230 Frankfurt am Main 80, SAKSA, (DE)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Kampe,Klaus-Dieter, Am Rehsteig 1, 6232 Bad Soden am Taunus, SAKSA, (DE)
2 •Granzer,Ernold, Falkensteiner Strasse 24, 6233 Kelkheim (Taunus), SAKSA, (DE)
3 •Leineweber,Michael, Heimchenweg 74, 6230 Frankfurt am Main, SAKSA, (DE)
4 •Rackur,Gerhard, Weimarer Strasse 17, 6270 Idstein/Taunus, SAKSA, (DE)
5 •Böger,Hans Georg, Eichendorffstrasse 15, 6238 Hofheim am Taunus, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud: Kolster Oy Ab
Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

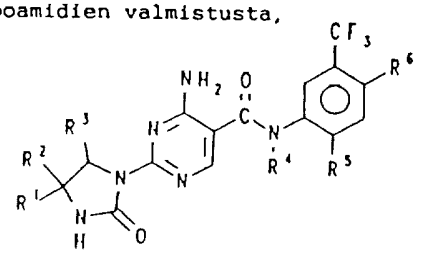
Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten 4-amino-2-ureido-pyrimidiini-5-karboksyylihappoamidien valmistamiseksi, välituotteita ja niiden valmistus
Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara 4-amino-2-ureido-pyrimidin-5-karboxylsyraamider, mellanprodukter och framställning av dessa

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

EP A 206297 (A61K 31/505), EP A 12361 (C07D 403/04)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

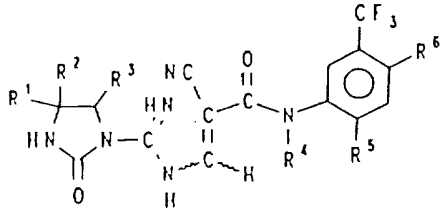
Keksintö koskee kaavan (I) mukaisten 4-amino-2-ureidopyrimidiini-5-karboksyylihappoamidien valmistusta,



(I)

jossa R^1 on vety, alkyyli, alkenyyli tai fenyyli; R^2 ja R^3 merkitsevät vetyä tai alkyyliä tai R^1 ja R^2 tai R^2 ja R^3 merkitsevät yhdessä $-(CH_2)_n-$ketjua, jossa n on 2, 3 tai 4; R^4 on alkyyli, alkenyyli, sykloalkyyli, sykloalkyylimetyyli, 2-metoksietyyli tai 2-propin-1-yyli; R^5 on fluori, kloori tai vety; ja R^6 on fluori, kloori, bromi tai vety. Yhdisteet soveltuvat lipidiaineenvaihdunnan häiriöiden hoitoon, joihin voidaan vaikuttaa edullisesti stimuloimalla maksan LDL-reseptoria.

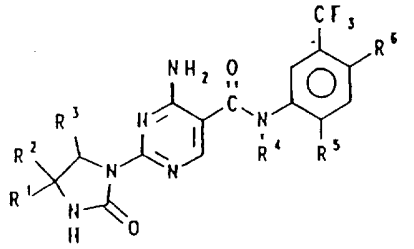
Keksintö koskee myös yhdisteitä (II)



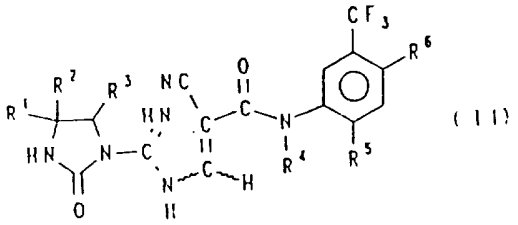
(II)

niiden valmistusta, sekä menetelmää lääkeaineiden valmistamiseksi yhdisteistä (I).

Uppfinningen avser framställning av 4-amino-ureidopyrimidin-5-karbonsyraamider med formeln (I), vari R^1 är väte, alkyl, alkenyl eller fenyl; R^2 och R^3 betecknar väte eller alkyl eller R^1 och R^2 eller R^2 och R^3 betecknar tillsammans en $-(CH_2)_n-$kedja, vari n är 2, 3 eller 4; R^4 är alkyl, alkenyl, cykloalkyl, cykloalkylmetyl, 2-metoxietyl eller 2-propin-1-yl; R^5 är fluor, klor eller väte; och R^6 är fluor, klor, brom eller väte. Föreningarna lämpar sig för behandling av lipidämnesomsättningsrubbningar, vilka kan påverkas gynnsamt av en stimulering av den hepatiska LDL-receptorn. Uppfinningen avser även föreningar (II), framställning av dessa samt ett förfarande för framställning av läkemedel av föreningarna (I).



(I)



(II)

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten 4-amino-2-ureido-pyrimidiini-5-karboksyylihappoamidien valmistamiseksi, välituotteita ja niiden valmistus

Keksintö koskee terapeuttisesti käyttökelpoisten 4-amino-2-ureido-pyrimidiini-5-karboksyylihapon tertiääristen amidien ja niiden happoadditiosuolojen valmistusta, välituotteita sekä näiden valmistusta.

Aikaisemmin on esitetty, että 4-amino-2-ureido-pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-fenyyli-amideja) voidaan käyttää liikalihavuuden ja lipidiaineenvaihdunnan häiriöiden hoitoon [vrt. EP-patenttijulkaisu 0 012 361 = US-patentti nro 4 285 946]. Tämän lisäksi on kuvattu näiden yhdisteiden niiden rakenteen suhteen spesifistä ryhmää, nimittäin vastaavia N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amideja, joita käytetään tromboosien ennaltaehkäisyyn ja hoitoon [vrt. EP-patenttijulkaisu 0 206 297 = US-patentti nro 4 705 792].

Lääkeaineiksi ehdotettujen N-fenyyliamidien, nimittäin monosubstituoitujen, sekundääristen amidien siedettävyys ei kuitenkaan ole täysin tyydyttävä. Nämä sekundääriset amidit estävät liian suurena annostuksena tietyssä määrin joidenkin solulajien proliferaatiota. Tällainen sivuvaikutus ei ole toivottava käytettäessä niitä terapeuttisina aineina lipidiaineenvaihdunnan häiriöiden hoidossa.

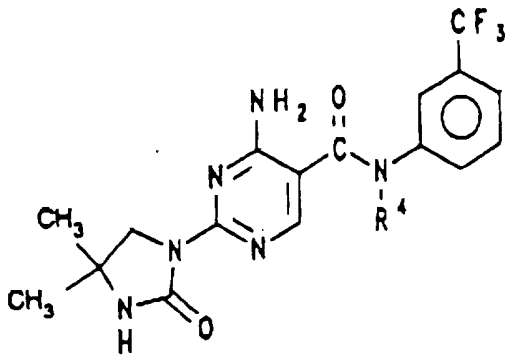
Keksinnön tehtävänä oli saada aikaan yhdisteitä, joilla hyvän siedettävyyden ohella on terapeuttisesti arvokas hypolipideeminen eli veren rasva-arvoja alentava vaikutus. Tässä yhteydessä tehtävänä oli erityisesti myös löytää yhdisteitä, joilla riittävän hypolipideemisen vaikutuksen ohella havaittaisiin ainoastaan voimakkaasti vähentyneessä määrässä solujen proliferaatiota eli uudiskasvua estäviä ominaisuuksia tai niitä ei havaittaisi enää

ollenkaan verrattuna EP-patenttijulkaisussa 0 012 361 kuvattuihin yhdisteisiin.

Jo lääkeaineiksi ehdotettujen, EP-patenttijulkaisussa 0 012 361 kuvattujen sekundääristen N-fenyyliamidien toisena epäedullisena ominaisuutena on pidettävä niiden vaikealiukoisuutta - sekä emäksenä että myös happoadditiosuolana - veteen sekä fysiologisesti siedettäviin liuottimiin tai liuotinseoksiin, mukaan lukien tällaisten liuottimien seokset veden kanssa.

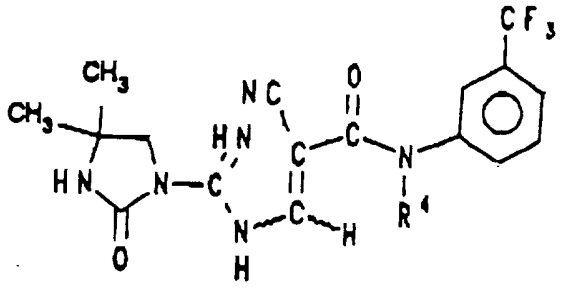
Nyt on havaittu, että tertiäärisillä 4-amino-2-ureido-pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-fenyyliamideilla), joiden amidityppiatomi on disubstituoitu substituoidulla fenyyliryhmällä ja toisella hiilivetyryhmällä, on hyvä lipidiarvoja alentava vaikutus, jolloin määrättyjen solujen kasvua estävä komponentti on amidityppiatomiin monosubstituoituihin yhdisteisiin verrattuna, tuskin enää havaittavissa tai ainoastaan hyvin heikosti.

Esillä oleva keksintö koskee kaavan I mukaisten amino-2-ureidopyrimidiini-5-karboksyylihappoamidien ja niiden hyvin vesiliukoisten, fysiologisesti käytettävien happoadditiosuolojen valmistusta,



(I)

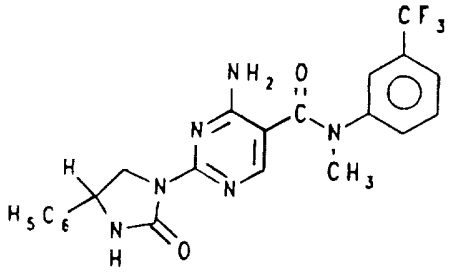
jossa kaavassa R^4 on C_{2-3}-alkyyli, allyyli tai syklopropyylimetyyli. Nämä yhdisteet valmistetaan keksinnön mukaan siten, että jonka kaava on



(II)

jossa

R^4 merkitsee samaa kuin kaavassa I, tai kaavan II mukaisen yhdisteen suola tai suolaseos syklisoidaan 0 - 240 °C:n lämpötilassa lisäämällä liuotinta tai ilman liuotinlisäystä kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi tai kaavan I mukaisen yhdisteen suolaksi tai suolaseokseksi, saatu kaavan I mukainen yhdiste mahdollisesti muutetaan veteen hyvin liukenevaksi suolaksi tai saatu suola tai suolaseos muutetaan mahdollisesti veteen hyvin liukenevaksi suolaksi.



D

Kaavan I mukainen yhdisteryhmä käsittää myös - jos se on rakenteellisesti mahdollista - stereoisomeerit ja - jos esiintyy kiraalisia yhdisteitä - optisesti aktiiviset enantiomeerit.

EP-patenteissa 0 012 361 ja 0 206 297 on kuvattu kaavan I mukaisia yhdisteitä, joissa R^4 on (C_{1-3})alkyyli tai (C_{3-4})alkenyyli, mutta näitä ei ole spesifisesti kuvattu.

Edelleen on havaittu, että kaavan I mukaiset tertiääriset 4-amino-2-ureido-pyrimidiini-5-karboksyyli-

happoamidit liukenevat yllättäen hyvin veteen määrättyjen keskivahvojen tai vahvojen happojen kanssa muodostettuina suoloina. Veteen hyvin liukenevilla yhdisteillä (suoloilla) tarkoitetaan veteen helposti liukenevia, liukoisia ja niukkaliukoisia yhdisteitä julkaisussa: "Deutsches Arzneibuch" (9. Ausgabe 1986, Amtliche Ausgabe, Deutscher Apotheker-Verlag Stuttgart) sivulla 19 ilmoitetun määritelmän mukaisesti.

Tämä erittäin edullinen ominaisuus, edellä mainittujen kaavan I mukaisten yhdisteiden suolojen hyvä liukoisuus veteen, on erittäin yllättävää, koska sekä vastaavan rakenteen omaavien yhdisteiden, jotka eivät sisällä fenyyliryhmän ohella mitään ylimääräistä hiilivetyryhmää amidityppiatomissa, suolat että myös vapaat emäkset liukenevat erittäin huonosti veteen. Niinpä esimerkiksi 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-imidatsolidin-2-on-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-[N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidin] hydrokloridista vedessä voidaan valmistaa 23 °C:ssa vain yksi $0,93 \times 10^{-3}$ molaarinen liuos, mikä merkitsee, että 1 massaosa tätä yhdistettä liukenee 2 500 osaan vettä ja on siis hyvin vaikealiukoinen. Vapaina emäksinä olevat yhdisteet I liukenevat kuten myös 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-imidatsolidin-2-on-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-[N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi vapaana emäksenä samoin erittäin huonosti veteen.

Näiden ominaisuuksien ja yleisesti EP-patenttijulkaisussa 0 012 361 kuvattujen yhdisteiden kohdalla todettavan sekä vapaiden emästen että myös suolojen huonon veteen liukenemisen johdosta, ei ollut missään tapauksessa odotettavissa, että kaavan I mukaisten yhdisteiden suolat liukenevat hyvin veteen.

Myös julkaisun: "Deutsches Arzneibuch" mukaan "niukkaliukoiseksi" esitetty luokittelu tarkoittaa EP-patenttijulkaisussa 0 012 361 kuvattuihin sekundäärisiin

amideihin verrattuna yllättävän suurta parannusta liukoisuudessa veteen.

Huomattava parannus kaavan I mukaisten yhdisteiden suolojen liukoisuudessa veteen oli yllättävää myös sikäli, että yhdisteiden I rakenteellinen erikoisuus, nimittäin vetyatomin korvaaminen amidi-typpiatomissa hiilivetyryhmällä R^4:lle ilmoitetuissa merkityksissä, tarkoittaa vetyä kohtaan lipofiilisen ryhmän liittämistä. Tämän vaihdon johdosta - vety vaihdetaan hiileen - häviää rakenteessa potentiaalinen vetysiltasidos. Kaavan I mukaisten yhdisteiden rakenteen pitäisi tämän johdosta tulla vähemmän polaariseksi. Tämän ei puolestaan pitäisi missään tapauksessa johtaa suolojen parempaan liukoisuuteen veteen. Sekundäärisillä amidiryhmillä (joissa on rakenneyksikkö HN-CO) on tunnetusti suuri taipumus muodostaa vetysiltasidoksia, jotka yleensä johtavat polaarisempiin ja tämän johdosta hydrofiilisempiin aineisiin. Kaavan I mukaisilla yhdisteillä on sekundäärisen amidiryhmän sisältäviin analogisiin yhdisteisiin verrattuna yllättäen päinvastainen vaikutus siten, että tertiäärisen amidiryhmän sisältävissä yhdisteissä I syntyy suolanmuodostuksen yhteydessä selvästi hydrofiilisiä aineita.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden suolojen hyvä liukoisuus veteen tuo keksinnön mukaisille yhdisteille I muutamia merkittäviä etuja käytettäessä niitä lääkeaineina.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden hyvin veteen liukevat suolat vaikuttavat näiden ominaisuuksien johdosta edullisesti näiden vaikuttavien aineiden imeytymiseen hoidettavan potilaan elimistöön. Tämän johdosta tuloksena on myös edullinen vaikutus vaikuttavan aineen biologiseen hyväksikäytettävyyteen kyseessä olevassa elimistössä.

Hyvä liukoisuus veteen tuo etuja erityisesti myös näiden vaikuttavien aineiden galeenisille valmisteille. Vaikuttavat aineet, jotka muodostavat hyvin vesiliukoisia suoloja ovat tunnetusti galeenisesti yksinkertaisempia ja

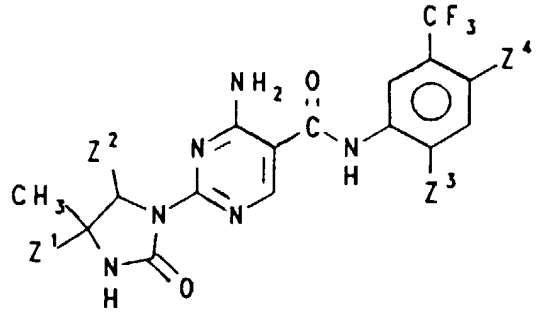
varmempia käsitellä tai työstää kuin veteen huonosti liukenevat tai lähes veteenliukenemattomat yhdisteet. Kokonaisuuden kannalta katsottuna yksinkertaistuvat monet ongelmat, jotka koskevat kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistusta ja käyttöä lääkeaineina. Tämän lisäksi vesiliukoinen lääkeaine, kuten kaavan I mukaisten yhdisteiden kokonaan veteen liukenevat suolat ovat helpompia ja varmempia käyttää myös esimerkiksi annostuksen kannalta.

Seuraavassa taulukossa 1 on esitetty vertailun vuoksi rakenteellisesti vastaavien sekundääristen amidien suolojen liukoisuudet veteen. Kuten taulukosta 1 käy ilmi, esitettyjen sekundääristen amidien kohdalla (nro 1 - 11), joilla on eri substituutiomallit fenyyliryhmässä, on kyse niukasti veteen liukenevasta yhdisteestä nro 6 aina peräti veteen huonosti liukeneviin ja hyvin huonosti liukeneviin suoloihin.

Taulukossa 2 on esitetty esimerkkinä keksinnön mukaisten yhdisteiden I veteen sitä vastoin liukenevien ja helposti liukenevien suolojen liukoisuudet.

Taulukko 1

Joidenkin EP-patenttijulkaisuissa 0 012 361 ja 0 206 297 kuvattujen tai mainittujen, yhdisteisiin I nähden N-H-analogisten yhdisteiden liukoisuudet veteen



Nro	Z^1	Z^2	Z^3	Z^4	Suola	Lämpötila [°C]	Molaarisuus x 10^{-3}	Konsentraatio paino-%:na	1 massaosa liukenee ... osaan H_2O:ta
1	CH_3	H	H	H	*	25,0	0,93	0,04	2500
2	CH_3	H	H	H	#	23,0	0,90	0,08	1250
3	CH_3	H	H	F	*	26,2	3,17	0,14	703
4	CH_3	H	Cl	H	*	25,1	9,91	0,46	217
5	CH_3	H	H	Cl	*	25,2	2,03	0,10	1055

Taulukko 1 (jatkoa)

Nro	Z^1	Z^2	Z^3	Z^4	Suola	Lämpötila [°C]	Molaarisuus x 10^{-3}	Konsentraatio paino-%:na	1 massaosa liukenee... osaan H_2O:ta
6	CH_3	H	OCH_3	H	*	24,1	28,94	1,32	75
7	CH_3	H	H	OCH_3	*	24,5	3,92	0,18	554
8	C_3H_7	H	Cl	H	*	24,2	2,59	0,13	781
9	C_3H_7	H	H	Cl	*	24,2	2,80	0,13	725
10	C_3H_7	H	H	H	*	25,7	8,54	0,39	255
11	H	CH_3	H	H	*	25,8	8,38	0,36	277

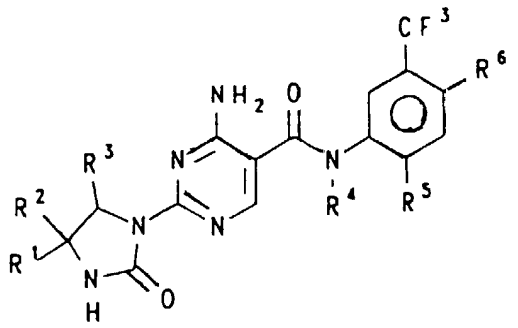
* = hydrokloridi

= sulfaatti

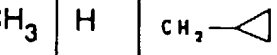
105029

Taulukko 2

Keksinnön mukaisten yhdisteiden I suolojen liukoisuus veteen



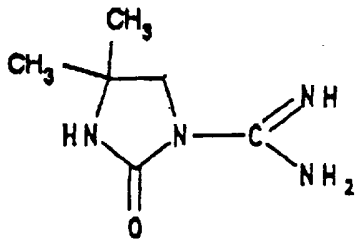
I

Nro	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	Suola	Lämpötila [°C]	Konsentraatio paino-%:na	1 massaosa liukenee ... osaan H_2O:ta
1	CH_3	CH_3	H	C_2H_5	H	H	*	25,5	6,89	13,5
2	CH_3	CH_3	H	C_3H_7	H	H	*	23,0	4,20	22,8
3	CH_3	CH_3	H	$CH(CH_3)_2$	H	H	*	22,4	3,89	24,7
7	CH_3	CH_3	H	$CH_2CH=CH_2$	H	H	*	25,5	7,66	12,1
9	CH_3	CH_3	H		H	H	*	25,5	7,11	13,1

* = Hydrokloridi

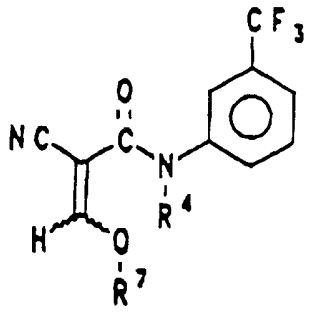
Kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistuksessa käytettävät kaavan II mukaiset guanidiini-johdannaiset ovat uusia yhdisteitä. Keksintö koskee tämän johdosta myös kaavan II mukaisia yhdisteitä molempina mahdollisina stereoisomeerisinä muotoina, E- ja Z-muotona, sekä niiden happoadditiosuoloja.

Keksintö koskee edelleen menetelmää kaavan II mukaisten yhdisteiden ja niiden suolojen valmistamiseksi. Menetelmälle on tunnusomaista, että yhdiste, jolla on kaava III



(III)

tai sen suola saatetaan reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava IV



(IV)

jossa R^4 merkitsee samaa kuin kaavassa II ja R^7 on (C_{1-4})-alkyyli, orgaanisen liuottimen tai laimennusaineen läsnä ollessa, jolloin muodostuu kaavan II mukainen yhdiste tai sen suola, ja saatu kaavan II mukainen yhdiste muutetaan mahdollisesti suolaksi tai saatu suola muutetaan mahdollisesti kaavan II mukaiseksi yhdisteeksi.

Siinä tapauksessa, että yhdistettä III käytetään suolan muodossa, käytetään lisäksi edullisesti ekvimolaa-

rista määrää emäksistä yhdistettä kaavan III mukaisen yhdisteen kanssa tapahtuvassa reaktiossa.

Yhdisteet II muodostuvat yleensä stereoisomeeriseoksena (E ja Z). Mutta ne voivat muodostua myös puhtaina stereoisomeereinä (E- tai Z-muoto). Yhdisteet II tai niiden suolat toimivat lähtötuotteina kaavan I mukaisten yhdisteiden tai niiden hyvin vesiliukoisten suolojen valmistuksessa. Yhdisteet II muodostavat yksihappoisina emäksinä happoadditiosuoloja. Niiden muodostukseen soveltuvat periaatteessa kaikki protonihapot; suolanmuodostukseen käytetään edullisesti vahvoja - keskivahvoja happoja. Esimerkkeinä mainittakoon seuraavat: kloori-, bromi-, fluori- tai jodivetyhappo, rikki-, fosfori-, typpi- tai perkloorihappo, (C_{1-4})alkaanifosfonihapot, sulfonihapot, kuten metaani-, bentseeni-, tolueeni- tai trifluorimetaani-sulfonihappo, sulfamiinihappo, metyylirikkihappo, etikka-, kloorietikka-, dikloorietikka-, trikloorietikka- tai trifluorietikkahappo, muurahais-, propioni-, oksaali-, maloni-, maleiini-, meripihka-, glutaari-, omena-, viini-, sitruuna-, fumaari-, maito-, glykoli- tai palorypälehappo, bentsoehappo tai fenyyliryhmään substituoidut bentsoehapot, kuten toluyylihappo tai p-nitro-bentsoehappo tai salisyylihappo, furaanikarboksyyli- ja/tai mantelihappo.

Lähtöaineina kaavan II mukaisten yhdisteiden valmistuksessa tarvittavat yhdisteet III ovat tunnettuja tai niitä voidaan valmistaa kuvattujen menetelmien mukaisesti (DE-patenttijulkaisu 2 853 221).

Kaavan IV mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa tälle enolieetteri-tyypille tunnettujen menetelmien mukaisesti lähtien vastaavista N-syanasetyyli-N-(syklo)alkyyli-N-(substituoiduista)fenyyli-amiineista (vrt. esim. Angew. Chemie Suppl. 1982, 1213 sekä EP-patenttijulkaisu 0 012 361). Lähtöaineina kaavan IV mukaisten yhdisteiden valmistuksessa tarvittavia N-syanasetyyli-N-(syklo)alkyyli- tai -alkenyyli-N-(substituoituja)fenyyli-amiineja val-

mistetaan tunnettujen menetelmien mukaisesti (vrt. esim. GB-patenttijulkaisu nro 930 808). Näiden syanasetyyliyhdisteiden valmistuksessa tarvittavat N-(syklo)alkyyli- tai -alkenyyli-aniliinit ovat tunnettuja tai niitä voidaan valmistaa tunnettujen menetelmien mukaisesti, kuten esimerkiksi aniliini-N:n pelkistävällä alkyloinnilla tai pelkistämällä vastaavat karboksyyliamidit $LiAlH_4$:llä.

Kaavan III mukaisen yhdisteen suolalla tarkoitetaan epäorgaanisten sekä orgaanisten happojen kanssa muodostettavia happoadditiosuoloja. Edullisena pidettyjä kaavan III mukaisten yhdisteiden suoloja ovat hydrobromidit, hydrokloridit tai sulfaatit. Keksinnön mukaiseen menetelmään soveltuvat erityisesti hydrobromidit ja/tai -kloridit.

Kaavan III mukaisen amidino-imidatsolidinonin reaktio kaavan IV mukaisen yhdisteen kanssa voi tapahtua mitä erilaisimmissa olosuhteissa. Tämä koskee sekä reaktiolämpötilaa että myös mahdollisesti käytettäviä liuottimia tai laimennusaineita. Niinpä kaavan III mukaisen yhdisteen keksinnön mukainen reaktio kaavan IV mukaisen yhdisteen kanssa voi tapahtua -100 °C:n ja +200 °C:n välisessä lämpötilassa lisäämällä liuotinta tai laimennusainetta tai ilman niiden lisäystä. Reaktio suoritetaan tarkoituksenmukaisesti -30 °C:n ja +100 °C:n välisessä lämpötilassa, edullisesti +10 °C:ssa - +35 °C:ssa liuottimen tai laimennusaineen läsnä ollessa.

Liuottimena tai laimennusaineena voidaan käyttää periaatteessa kaikkia yhdisteitä III ja IV kohtaan (jatkuvasti) inerttejä liuottimia, mukaan lukien vesi. Edullisesti käytetään C_{1-5}-alkoholeja, tetrahydrofuraania, dioksaania, alempia alifaattisia eettereitä, kuten dietyyli-, metyyli-t.-butyyli- sekä di-isopropyylieetteriä, asetonitriiliä, N,N-dimetyyliformamidia, N,N-dimetyyliasetamidia, alempia glykoli- ja diglykoli-di- ja -monoeettereitä, kuten 1,2-dimetoksietaania, metyyliglykolia, etyyliglykolia, diglykolidimetyyli- ja monometyylieettereitä, etyyliase-

taattia, metyyliasetaattia, tolueenia, pyridiiniä, asetonia, kloroformia ja/tai dikloorimetaania liuottimina tai laimennusaineina.

Edullisena pidettyjä liuottimia tai laimennusaineita ovat C_{2-4}-alkoholit, tetrahydrofuraani, dioksaani, 1,2-dimetoksietaani, metyyli-t.-butyylieetteri ja/tai asetonitriili. Voidaan myös käyttää esitettyjen liuottimien seoksia, kuten myös esitettyjen liuottimien seoksia muiden liuottimien kanssa.

Kaavan III mukaisen yhdisteen keksinnön mukaisessa reaktiossa kaavan IV mukaisen yhdisteen kanssa voivat (stökiometriset) määräsuhteet, joissa näitä yhdisteitä käytetään, vaihdella suuresti. Yhdisteen III ja yhdisteen IV voidaan antaa reagoida keskenään ekvivalenttisissa tai ei-ekvivalenttisissa määrissä. Viimeksi mainittu tarkoittaa, että jompaa kumpaa yhdistettä voidaan käyttää stökiometrisenä ylimääränä. Edullisesti annetaan kaavan III mukaisen yhdisteen reagoida emäksenä kaavan IV mukaisen yhdisteen kanssa ekvivalenttisissa määrissä tai suhteessa, jolloin yhdiste IV on stökiometrisenä ylimääränä. Jos yhdistettä III käytetään happoadditiosuolana, niin silloin myös sitä voidaan käyttää stökiometrisenä ylimääränä yhdisteeseen IV nähden.

Vaadittavat reaktioajat ovat riippuvaisia lämpötilasta, jossa reaktio suoritetaan. Ne voivat vaihdella suuresti. Jos käytetään +10 °C:n ja +60 °C:n välistä lämpötilaa, niin reaktioajat ovat yleensä 0,3 - 10 tuntia, jolloin reaktioajat ovat - kuten tunnettua - päinvastaisessa suhteessa lämpötilaan nähden.

Jos kaavan III mukaista yhdistettä käytetään suolana, niin keksinnön mukaisessa reaktiossa lisätään - tarkoituksenmukaisesti ekvimolaarisena määränä - emäksistä yhdistettä tai emäksisestä yhdisteestä III poistetaan, ennen kuin yhdisteen IV lisäys tapahtuu, emäksisellä yhdisteellä sen suola osittain tai täydellisesti. Tähän tarkoi-

tukseen käytetyn emäksisen yhdisteen annetaan edullisesti vaikuttaa ennen kaavan IV mukaisen yhdisteen lisäystä käytettyyn amidino-imidatsolidinonin III suolaan. Keksinnön mukainen reaktio voidaan täten suorittaa myös tässä suoritusmuodossa "yksivaihereaktiona". Emäksisinä lisäaineina voidaan käyttää epäorgaanisia ja/tai orgaanisia emäksisiä yhdisteitä. Esimerkkeinä mainittakoon: alempien alkoholien alkali- tai maa-alkalialkoholaatit, alkali- tai maa-alkalihydroksidit tai -hydridit, puhtaasti orgaanisina emäksinä tertiääriset amiinit, kuten alemmat trialkyyliamiinit ja/tai N,N-dimetyylianiliini, diatsabisykloundekeeni (DBU) sekä analogiset sykliset (trisubstituoidut) amidiinit, tetra-alkyyliammoniumhydroksidit, 2- tai 4-dialkyyliaminopyridiinit ja/tai diatsabisyklo-[2.2.2]-oktaani (DABCO).

Emäksisinä lisäaineina käytetään edullisesti (C_{1-3})-alkoholien alkalialkoholaatteja, natriumhydridiä, DBU:ta ja DBU-analogisia amidiineja tai tetrametyyli-ammoniumhydroksidia, jolloin natrium- tai kaliummetylaatti ja/tai -etylaatti soveltuvat erityisen hyvin.

Keksinnön mukaisen menetelmän edullinen suoritusmuoto koostuu siitä, että liuenneessa muodossa olevan kaavan III mukaisen yhdisteen annetaan reagoida 10 - 35 °C:ssa kaavan IV mukaisen yhdisteen kanssa, jossa R^5, R^6 ja R^7 merkitsevät samaa kuin edellä, jolloin R^7 on edullisesti metyyli tai etyyli. Sen jälkeen, kun reaktio on kestänyt 0,3 - 8 tuntia, muodostunut, yleensä vaikealiukoisena kiteytymänä erottunut kaavan II mukainen yhdiste eristetään suodattamalla erilleen ja kuivataan 10 °C:n ja 35 °C:n välisessä lämpötilassa, tarkoituksenmukaisesti vakuumissa.

Sen perusteella, mitä tiedetään jo aluksi siteeratuista patenttijulkaisuista, oli yllättävää, että kaavan III mukaisen yhdisteen reaktiossa kaavan IV mukaisen yhdisteen kanssa voidaan kulloisetkin yhdisteet II eristää

kiteisenä kiinteänä aineena, saantojen ja puhtausasteen ollessa hyvät.

EP-patenttijulkaisussa 0 012 361 kuvattujen yhdisteiden valmistuksessa ei ole havaittu kaavan II mukaisen yhdisteen tyyppiä olevia yhdisteitä. Erityisesti kaavan II mukaisten yhdisteiden stabiilius on yllättävää. Se mahdollistaa näiden keksinnön mukaisessa menetelmässä lähtöaineena käytettävien yhdisteiden miellyttävän eristämisen saantojen ollessa hyvät.

Muodostuneiden kaavan II mukaisten yhdisteiden eristäminen on helposti mahdollista näiden yhdisteiden yleisen vaikealiukoisuuden johdosta, koska nämä yhdisteet liukenevat huonosti erityisesti keksinnön mukaiseen menetelmään soveltuviin liuottimiin.

Koska kaavan II mukaisten yhdisteiden annetaan esillä olevassa keksinnössä reagoida kaavan I mukaiseksi lopputuotteeksi tai näiden kaavan I mukaisten yhdisteiden hyvin liukoisiksi suoloiksi, ei ole aivan välttämätöntä eristää yhdisteitä II tai niiden suoloja puhtaassa muodossa. Pikemminkin voidaan suorittaa syklisointi muuttaen reaktio-olosuhteet yksivaihereaktioksi.

Kaavan II mukaisten yhdisteiden syklisointi emäksenä voi tapahtua lisäämällä liuotinta tai laimennusainetta tai ilman niiden lisäystä. Liuottimien tai laimennusaineiden läsnä ollessa tapahtuva syklisointi suoritetaan 0 °C:n ja 130 °C:n välisessä lämpötilassa, edullisesti 40 - 95 °C:ssa. Ilman liuotin- tai laimennusainelisäystä tapahtuva syklisointi suoritetaan 60 °C:n ja 240 °C:n välisessä lämpötilassa, edullisesti 160 - 200 °C:ssa.

Jos kaavan II mukainen yhdiste syklisoidaan emäksenä kaavan I mukaisen yhdisteen muodostuessa, niin tällöin suoritusmuoto koostuu siitä, että tarkoituksenmukaisesti kuivaa kaavan II mukaista yhdistettä kuumennetaan 160 - 200 °C:n välisessä lämpötilassa 3 - 27 minuutin ajan, edullisesti 10 - 20 minuutin ajan ja tämän jälkeen

jäähdytetään heti huoneenlämpötilaan. Lopuksi termisessä syklisoinnissa yhdisteestä II muodostunut yhdiste I eristetään. Tämä käsittää yleensä kahden havaittavissa määrissä myös muodostuneen sivutuotteen, 3-(syklo)alkyyli- tai alkenyyli-aminobentsotrifluoridin (kaava V reaktiokaaviossa I) ja kaavan VI mukaisen yhdisteen (vrt. kaavio I) erottamisen. Yhdiste VI voidaan helposti erottaa tislaten yhdisteestä I sen laimennettuihin vesipitoisiin emäksiin liukoisuuden johdosta ja kaavan V mukainen yhdiste suurelta osin sen suuremman haihtuvuuden johdosta. Yhdisteen V täydellinen erottaminen yhdisteestä I on yksinkertaisesti mahdollista uudelleenkiteyttämällä ja/tai pesemällä kiteinen yhdiste I sellaisilla liuottimilla, jotka liuottavat yhdisteen I huonosti ja yhdisteen V helposti.

Kaavan II mukaisen yhdisteen syklisointi happoadditiosuolana suoritetaan edullisesti käyttämällä liuottimia tai laimennusaineita 0 °C:n ja 150 °C:n välisessä lämpötilassa, edullisesti 45 - 95 °C:ssa. Tämä kaavan II mukaisen yhdisteen suolan syklisointi voidaan myö suorittaa lisäämättä liuotinta tai laimennusainetta 60 °C:n lämpötilassa, edullisesti 160 - 240 °C:ssa, edullisesti 200 °C:ssa.

Tälle kaavan II mukaisten yhdisteiden syklisointilajille lisäten liuottimia tai ilman liuotinlisäystä voidaan käyttää määriteltyjä, erikseen yhdisteestä II valmistettuja happoadditiosuoloja sekä myös seoksia, jotka koostuvat yhdisteestä II ja yhdestä tai useammasta haposta. Tällaisiin seoksiin voidaan käyttää kaikkia koostumuksia, alkaen pienimmistä määristä happoekvivalentteja, esim. alle 10^{-4} ekvivalenttia - aina 2 happoekvivalenttiin tai jopa sen yli; edullisesti käytetään 0,8 - 1,6 happoekvivalenttia. Äärimmäisessä tapauksessa voidaan kaavan II mukaisen yhdisteen syklisointi suorittaa hapossa, joka toimii samanaikaisesti liuottimena tai laimennusaineena. Tätä suoritusmuotoa pidetään edullisena, jos happoina ja laimennusaineena käytetään muurahais-, etikka- ja/tai propio-

nihappoa. Kaavan II mukaisten yhdisteiden happoadditiosuolojen syklisoinnissa, kaavan I mukaisen yhdisteen muodostuessa, ei siis välttämättä tarvitse käyttää määrättyjä, erikseen valmistettuja suoloja.

Kaavan II mukaisen yhdisteen syklisointi käyttäen yhtä tai useampaa happoa liuottimien tai laimennusaineiden läsnä ollessa, on keksinnön mukaiseen menetelmään hyvin soveltuva suoritusmuoto.

Edullisena pidetty suoritusmuoto kaavan II mukaisen yhdisteen suolojen syklisoinnissa tai kaavan II mukaisen yhdisteen syklisoinnissa lisäten yhtä tai useampaa happoa, tapahtuu siten, että yhdistettä II lämmitetään lisäten 0,2 - 2,5 tai enemmän, edullisesti 1 - 1,5 happoekvivalenttia liuottimen tai laimennusaineen läsnä ollessa 25 °C:n ja 120 °C:n välisessä lämpötilassa, edullisesti 45 - 95 °C:ssa. Reaktion kesto on tällöin lämpötilasta riippuen 0,5 - 9 tuntia. Lopuksi lisäämällä sopivia liuottimia, joihin muodostuneen yhdisteen I vastaava suola liukenee huonosti, voidaan tämä erottaa kiteisenä. Tällä tavalla onnistuu muodostuneen yhdisteen I yksinkertainen ja tehokas erottaminen muodostuneista sivutuotteista (vrt. reaktiokaavio I).

Edellä kuvatussa kaavan II mukaisten yhdisteiden syklisoinnissa voidaan käyttää periaatteessa kaikkia protonihappoja. Esimerkkinä mainittakoon seuraavat: kloori-, bromi-, fluori- tai jodivetyhappo, rikki-, fosfori-, typpi- tai perkloorihappo, (C_{1-4})alkaanifosfonihapot, sulfonihapot, kuten metaani-, bentseeni-, tolueeni- tai trifluorimetaani-sulfonihappo, sulfamiinihappo, metyylirikkihappo, etikka-, syanetikka-, kloorietikka-, dikloorietikka-, trikloorietikka- tai trifluorietikkahappo, muurahais-, propioni-, oksaali-, maloni-, maleiini-, meripihka-, glutaari-, omena-, viini-, sitruuna-, fumaari-, maito-, glykoli- tai palorypälehappo, bentsoehappo tai fenyyliryhmään substituoidut bentsoehapot, kuten toluyylihappo tai p-nit-

ro-bentsoehappo tai salisyylihappo, furaanikarboksyyli- ja/tai mantelihappo.

Edullisesti käytetään etikka-, oksaali-, viini-, muurahais-, sitruuna-, omena-, fumaari-, dikloorietikka- trikloorietikka- ja/tai propionihappoa.

Erityisen hyvin tarkoitukseen soveltuvia ovat etikka-, oksaali-, viini-, muurahais- ja/tai sitruunahappo.

Liuottimiksi tai laimennusaineiksi soveltuvat tässä kaavan II mukaisen yhdisteen syklisoinnissa suoloina tai suolaseoksina periaatteessa kaikki yhdisteitä II kohtaan inertit orgaaniset liuottimet ja/tai vesi. Edullisesti käytetään C_{1-4}-alkoholeja, tetrahydrofuraania, dioksaania, metyyli-t.-butyylieetteriä, asetonitriiliä, N,N-dimetyyli-formamidia ja/tai asetamidia, alempia glykoli-di- ja -monoeettereitä, kuten 1,2-dimetoksietaania, metyyli- ja/tai etyyliglykolia, ja/tai metyyliasetaattia, etyyliasetaattia, asetonia, kloroformia, dikloorimetaania, muurahaishappoa ja/tai etikkahappoa.

Keksinnön mukaisen menetelmän edullisena pidetty suoritusmuoto koostuu siitä, että yhdistettä II lämmitetään jääetikan ja/tai muurahaishapon läsnä ollessa, joko lisäten yhtä tai useampaa keskivahvaa - vahvaa happoa tai ilman lisäystä 25 °C:n ja 120 °C:n välisessä lämpötilassa, edullisesti 45 - 95 °C:ssa.

Jääetikka ja/tai muurahaishappo toimivat tällöin samalla liuottimena ja niitä käytetään kulloisenkin yhdisteen II määrään nähden stökiometrisenä ylimääränä. Mahdollisesti käytettävistä keskivahvoista - vahvoista hapoista mainittakoon esimerkkinä oksaali-, sitrakoni-, viini-, sitruuna-, trifluorietikka-, syanetikka-, kloorietikka-, dikloorietikka- ja/tai trikloorietikka- ja/tai polyfosforihappo.

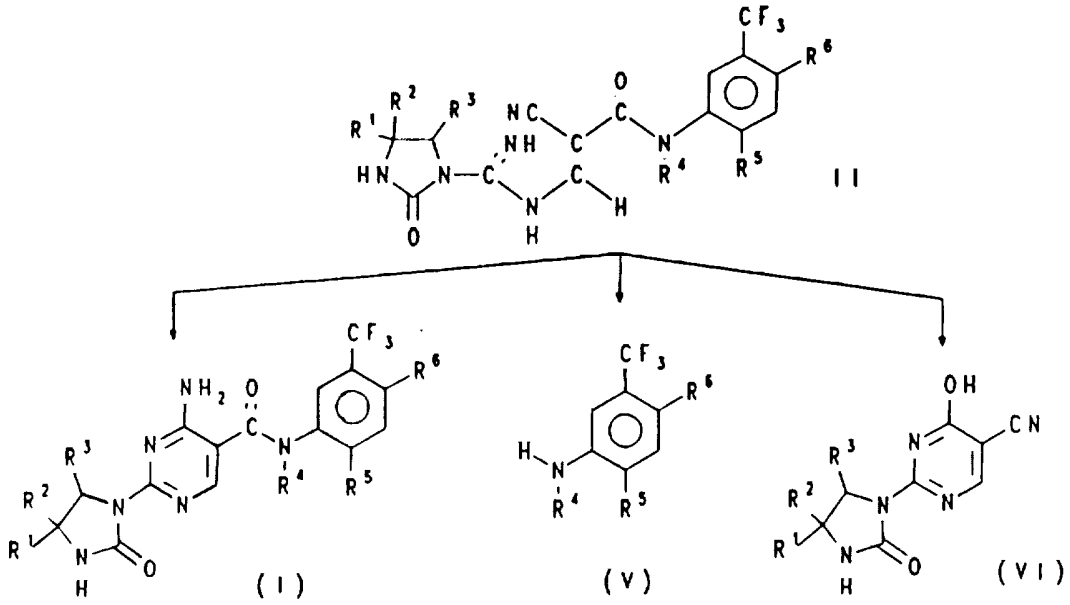
Tarpeen vaatiessa kaavan I mukaisesta yhdisteestä poistetaan eristetty suola yleisesti tunnetulla tavalla,

jollaista käytetään tällaisessa emästen muodostuksessa ja mahdollisesti lisäämällä vastaavaa happoa muutetaan (toiseksi) veteen hyvin liukenevaksi suolaksi.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden suolanmuodostuksen yhteydessä mainitut "happoekvivalentit" tarkoittavat kaavan I mukaisia yhdisteitä yksihappoisina emäksinä.

Keksinnön mukaista menetelmää kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi selvennetään seuraavalla kaaviolla, jossa R^1 ja R^2 tarkoittavat metyyliä ja R^3, R^5 ja R^6 tarkoittavat vetyä.

Kaavio I



Kaavan II mukaisen yhdisteen syklisoinnissa sivutuotteena muodostunut 3-(syklo)alkyyli- tai alkenyyli-amino-bentsotrifluoridi V voidaan eristää ja johtaa takaisin vastaavan yhdisteen IV valmistusprosessiin.

Kaavan I mukaisilla yhdisteillä ja näiden yhdisteiden veteen hyvin liukenevilla suoloilla on arvokkaita farmakologisia ominaisuuksia ja niitä voidaan tämän johdosta käyttää lääkeaineina. Niillä on esimerkiksi hypolipideemisiä eli veren rasva-arvoja alentavia ominaisuuksia.

Yllättäen todettiin, että kaavan I mukaiset yhdisteet ja näiden yhdisteiden veteen hyvin liukenevat suolat kohottavat LDL-reseptori-tasoa. Kaavan I mukaiset yhdisteet ja niiden veteen hyvin liukenevat suolat soveltuvat tämän johdosta lipidiaineenvaihdunnan häiriöiden hoitoon, joihin voidaan vaikuttaa edullisesti stimuloimalla maksan LDL-reseptoria.

Keksintö koskee tämän johdosta myös kaavan I mukaisten yhdisteiden ja niiden veteen hyvin liukenevien suolojen käyttöä mainittujen lipidiaineenvaihdunnan häiriöiden hoidossa.

Vaikutus perustuu LDL-reseptorin (apob/E reseptori) nopeaan suoraan stimulaatioon maksassa. Kaavan I mukaiset yhdisteet ja niiden veteen hyvin liukenevat suolat alentavat luonnollisen kolesteroli-kataboliatien stimuloinnin kautta aterogeenista eli rasvakerrostumia valtimoiden seinämiin muodostavaa LDL:ää ja VLDL:ää. HMG-CoA-reduktaasin inhibiittorit tai ioninvaihtohartsit sitä vastoin stimuloivat epäsuorasti LDL-reseptorien ilmentymistä maksasolussa alentamalla solunsisäistä kolesterolitasoa tai lisäämällä kolesterolin tarvetta sappihappojen biosynteesissä. Täten ei ole odotettavissa sivuvaikutuksia, jollaisia on havaittavissa statiineilla, johtuen niiden nopeasta HMG-CoA-reduktaasin estosta myös muissa elimissä kuin maksassa (esim. ubikinonin muodostukseen kohdistuva vaikutus). Tällaisia sivuvaikutuksia ei ole myöskään tähän mennessä havaittu. Myöskään ioninvaihtohartsien kohdalla havaittuja hoitomyönteisyysongelmia, joita vaadittavat suuret päivittäiset 15 - 30 g:n suuruiset annokset aiheuttavat, ei ole pelättävissä.

Rasvakerrostumien muodostumisessa valtimoiden seinämiin erityisen vaarallisia ovat määrätyt kolesterolia kuljettavat lipoproteiinifraktiot, kuten partikkelikooltaan pienet LDL-fraktiot. Suurin osan LDL:n kataboliasta (75 %) tapahtuu LDL-reseptorin vaikutuksesta maksassa.

Maksasoluissa kolesteroli metaboloituu sitten osittain sappihapoiksi ja erittyy sapen muodossa, osittain tapahtuu myös kolesterolin suoraa erittymistä sapen kautta. Täten on periaatteessa jo tunnettua ja terapeuttisesti epäsuorasti vaikuttavien aineiden (kuten statiinien) avulla jo todistettu, että LDL-reseptori on ihanteellinen kohde veren rasva-arvoja alentavalle, valtimonkovetustautia ehkäisevälle aineelle ihmisellä.

Kaavan I mukaiset yhdisteet ja niiden veteen hyvin liukenevat suolat kohottavat LDL-reseptori-tasoa. Lisääntynyt LDL- (IDL-, kylomikronijäänne-) partikkelien pääsy maksasoluihin, johtuen näin kohonneesta LDL-reseptori-tasosta solun ulkopinnalla, johtaa sitten LDL-kolesterolin voimistuneeseen hajoamiseen maksassa. HDL-tasoihin ei vaikuteta.

Kaavan I mukaiset yhdisteet ja niiden veteen hyvin liukenevat suolat ovat täten ihanteellinen antiateroskleroottisesti vaikuttava periaate. Seuraavat löydökset vahvistavat todetun vaikutusmekanismin, mikä osoittaa, että kuvatut yhdisteet soveltuvat erinomaisen hyvin alentuneesta LDL-reseptori-aktiviteetista johtuvien hyperlipidemioiden hoitoon (tila, joissa veren rasva-arvot ovat koholla).

1a. Kaikkialla mallina tunnetussa humaanissa hepatosytooma-solulinjassa HepG2 LDL-reseptorin lähetti-RNA-tasot kohoavat kaavan I mukaisten yhdisteiden vaikutuksesta (taulukko I).

1b. Myös rottien maksoissa kohoavat muutamien tuntien sisällä LDL-reseptorin lähetti-RNA-tasot kaavan I mukaisten yhdisteiden vaikutuksesta (taulukko II).

Stimulointi on alueella: 170 - 350 % kontrolleihin nähden (kontrolli = 100 %).

Lähetti-RNA:n preparointi suoritettiin julkaisussa: "Chomczynski, P. und Sacchi, N., Anal. Biochem. 162, 156 - 159 (1987)" kuvatun menetelmän mukaisesti. Elimissä (kuten esim. maksassa) kuivajäässä oleva syväjäädytetty kudos ho-

mogenoitiin ensiksi huhmareessa ja lähetti-RNA rikastettiin edelleen Oligo dt:n avulla standardimenetelmien mukaisesti (vrt. Sambrook, J., Fritsch, E. F. und Maniatis, T., Molecular Cloning, zweite Auflage, Gold Spring Harbor (1989); tästä menetelmäkokoelmasta löytyvät myös kaikkien muiden tässä käytettyjen relevanttien molekyylibiologian standardimenetelmien kuvaukset). 5 - 20 µm näin saatua liuennutta lähetti-RNA:ta denaturoitiin standardimenetelmien mukaisesti ja erotettiin 1-prosenttisissa horisontaalisissa agaroosigeeleissä. Lähetti-RNA siirrettiin kapillaariveren avulla Hybond N membraaneihin (Amersham). Spesifisenä hybridisointinäytteenä toimi osittainen LDL-reseptorin cDNA-klooni ja sisäisenä standardina plasmidi, joka sisälsi ß-aktiini-geenin. Molemmat plasmidit merkattiin Amersham'in random Primer-kitin avulla, kunnes spesifinen aktiviteetti oli 5 x 10^9 cpm/µg. Esihybridisointi, hybridisointi ja suodattamien pesu tapahtuivat standardimenetelmien mukaisesti. Suodattimet asetettiin lopuksi Cronex 4 -kalvoille (Dupont) yön ajaksi 14 päivään saakka vahvistuskalvon läsnä ollessa -70 °C:een ja hybridisointisignaalit määritettiin kalvonmustumisintensiteetin avulla kaupallisella laser-tiheysmittarilla. Lopuksi LDL-reseptoribandien intensiteetin ja aktiinibandien intensiteetin osamäärä määritettiin sisäisenä standardina saantovaihtoehtojen korjaamiseksi.

Taulukko 1 ilmoittaa LDL-reseptorin lähetti-RNA:n (mRNA:n) ilmentymisen stimuloinnin HepG2-soluissa valittujen kaavan I mukaisten yhdisteiden vaikutuksesta kokoseerumissa (yhdisteiden loppukonsentraatio 10^{-6} M) 16 tunnin inkuboinnin jälkeen. HepG2-soluja inkuboitiin RPMI 1640 standardiväliaineessa vasikan sikiön seerumin kanssa (loppukonsentraatio 10 %). Induktiokontrollina toimi seerumivapaa RPMI-väliaine. Lopuksi preparoitiin koko lähetti-RNA ja Northern-Blot-tekniikan avulla määritettiin relevantit LDL-reseptorin mRNA- ja ß-aktiinin mRNA-tasot. LDL-resep-

torin mRNA-signaalin ja kontrollin ß-aktiinin mRNA-signaalin (ilman ainelisäystä) osamäärä asetettiin 100 %:ksi ja yhdisteiden vaikutuksella saavutettu LDL-reseptorin lähetti-RNA-tason stimuloituminen ilmaistiin prosentteina kontrolliin nähden.

Taulukko I

Yhdisteet esimerkistä:	Konsentraatio	LDL-reseptorin mRNA
2	2 x 10^{-6} M	175 %
4	2 x 10^{-6} M	205 %
12	2 x 10^{-6} M	170 %
33	2 x 10^{-6} M	205 %
40	2 x 10^{-6} M	180 %
42	2 x 10^{-6} M	180 %

Lähetti- eli messenger-RNA = mRNA

Taulukko II osoittaa LDL-reseptorin lähetti-RNA:n ilmentymisen stimuloinnin rottien maksoissa 6 tunnin kuluttua valikoitujen kaavan I mukaisten yhdisteiden annostelusta (annos 30 mg/kg). Maksakudokset otettiin pois ja shokkijäädytettiin nestemäisessä typessä.

Lopuksi lähetti-RNA eristettiin edellä kuvatulla tavalla ja suhteelliset LDL-reseptorin lähetti-RNA-tasot määritettiin Northern-Blot-tekniikan avulla. Käsittelemättömien kontrollieläinten lähetti-RNA-tasot asetettiin 100-%:iksi ja LDL-reseptorin lähetti-RNA:n stimuloituminen laskettiin prosentteina kontrolliin nähden.

Taulukko II

Yhdisteet esimerkistä:	Konsentraatio	LDL-reseptorin mRNA
2	30 mg/kg	300 %
4	30 mg/kg	221 %
33	30 mg/kg	350 %
40	30 mg/kg	340 %

Lähetti- eli messenger-RNA = mRNA

2. HMG-CoA-reduktaasin määrityksessä in vitro, joka on suoritettu rottien maksasta saadulla osittain puhdistetulla HMG-CoA-reduktaasilla (vrt. Avigan J. Bathena, S.J., und Schreiner, M.E., J. Lipid Res. 16, 151 (1975) und Philippi, B.W., und Shapiro, D.J., J. Lipid Res. 20, 588 (1977)) eivät kaavan I mukaisten yhdisteiden hydrokloridit vaikuta entsyymiaktiviteettiin (hajonta 10 %) lisäyksen ollessa 10^{-5} M (loppukonsentraatio) kontrolli-inkubointeihin verrattuna, lovastatiini-Na:n (avattu laktonirengas) IC_{50} on tässä kokeessa 3 x 10^{-9} M.

3. In vivo kohonnut LDL-reseptori-aktiviteetti heijastuu jälleen koe-eläimillä LDL-reseptorien vaikutuksesta (apoB/E-reseptori) metabolisoituvien lipoproteiinifraktioiden alenemisena, s.o. havaitaan LDL- ja VLDL-tasojen lasku. Tätä tarkoitusta varten suoritettiin seuraava testi.

Normaali-rasva-arvot omaavien uros-rottien seerumin lipoproteiineihin kohdistuva vaikutus melkein pitkäaikaisessa kokeessa

Ryhmät, jotka käsittivät kulloinkin 10 uros-rottaa, jotka olivat kantaa: HOE:WISKf(SPF 71) ja, joiden lähtöpaino oli yli 180 g, saivat kerran päivässä (aamuisin) testivalmistetta tai vertailuvalmistetta 1-prosenttisessa vesipitoisessa [R]tyloosi MH 300-liuoksessa mahaletkun avulla

(0,5 ml/100 mg painokilo); kukin kontrolliryhmä sai ainoastaan välitysainetta. Viimeinen (7.) annostelu tapahtui 24 tuntia ennen verinäytteiden ottoa ja eläinten tappamista. Ruokaa ja vettä eläimet saivat vapaasti koko kokeen ajan. 24 tuntia ennen verinäytteiden ottoa ruoka otettiin pois.

Seerumin lipoproteiinien analysoimiseksi sekoitettiin ryhmän kaikkien 10 rotan seerumi yhteen. Seerumin lipoproteiinit erotettiin preparatiivisella ultrasentrifugilla (KONTRON TGA 65, Rotor BECKMAN 50.4 Ti).

VLDL:n ja LDL:n erottamiseen käytettiin seuraavia ehtoja: Koga, S., Horwitz, D.L., und Scanu, A.M., Journal of lipid Research 10, 577 (1969) und Havel, R.J., Eder, H.A. und Bragdon, H.H., J. Clin. Invest. 34, 1345 (1955).

1.	VLDL	tiheys < 1,006	16 tuntia 40 000 rpm
2.	LDL	tiheys < 1,006 - 1,04	16 tuntia 40 000 rpm

Kolesteroli- ja triglyseridi-arvojen entsymaattiseen määritykseen erotetuissa lipoproteiinifraktioissa käytettiin seuraavia testikombinaatioita: BOEHRINGER/Mannheim (vrt. Siedel, J. Schlumberger, H., Klose, S., Ziegenhorn, J. und Wahlefeld, A.W., Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 838 (1981) und Wahlefeld, A.W.: H.O. Bermeier: Methoden der enzymatischen Analyse, 2. Auflage, Band II, Verlag Chemie 1974, S. 1878). Proteiinit määritettiin Lowry':n mukaan (Lowry, O.H., Roseborough, N.H., Farr, A.L. und Randell, R.J., J. Biol. Chem. 193, 265 (1951)).

Tulokset ovat yhteenkoottuina taulukossa III. Vertailuvalmisteena käytettiin klofibraattia.

Taulukko III

Seerumi

% muutos kontrolliin nähden hoidon päättyessä

Yhdiste esimerkistä	annos mg/kg/päivä	kolesteroli VLDL	kolesteroli LDL	proteiini VLDL	proteiini LDL	triglyseridit VLDL
2	30	-96	-75	-40	-73	-81
	10	-41	-32	-28	-28	-26
	3	-30	-40	-7	-28	-40
	1	-22	-28		-44	
4	30	-70	-68	-13	-53	-29
	10	+2	-39	-18	-33	
12	30	-80	-66	-51	-30	-29
	10	-63	-46	-34	-18	-51
	3	-6	-26	-8	-5	-4
33	30	-95	-67	-33	-44	-100
	10	-48	-47	-29	-33	-73
40	30	-57	-58	-52	-52	-41
	10	-40	-53	-41	-38	-2
	3	-19	-22	-11	-18	

4. Vertailevat solujen proliferaatiota estävät tutkimukset:

Eksponentiaalisesti kasvavia kasvainsoluja (hiiren leukemia-soluja L 1210: keuhkoputken syöpäsoluja A 549; paksusuolen syöpäsoluja HT29) viljellään konsentraationa: 5×10^3 solua/ml RPMI-standardi-väliaineessa 96-kuoppa-mikrotiitterilevyillä. Inkubointi testiaine-konsentraatiosarjoilla tapahtuu 72 tunnin aikana 37 °C:ssa 5-prosenttisessa CO_2-atmosfäärissä suhteellisen ilmankosteuden ollessa 95 %. Jokainen yhdistekonsentraatio tai kontrolli testataan tällöin neljällä rinnakkaisella inkuboinnilla. 65 tunnin kuluttua lisätään 50 µl MTT:tä [3-(4,5-dimetyyli-2-tiatsolyyli)-2,5-difenyyli-2H-tetratsolium-bromidia] 2,5 mg:ssa/ml PBS:ää. Koskemattomissa soluissa MTT pelkistyy punaiseksi liukenemattomaksi väriaineeksi. Käytetystä solulinjasta riippuen poistetaan edelleen 7 - 24 tunnin inkuboinnin jälkeen jäännös. Muodostunut liukenematon väriaine liuotetaan 100 µl:aan DMSO:ta ravistellen varovasti ja ekstinktio mitataan Multiskan fotometri 340 CC:llä (firma Flow) allonpituudella 492 nm.

Tulokset lasketaan määritettyjen testiaineiden ekstinktioarvojen ja kontrolliarvojen osamäärinä. Määritettyjen yksittäisten arvojen poikkeamat vertailuarvojen sisällä ovat alle 15 %. Annos-vaikutusdiagrammeista luetaan annetuille yhdisteille IC_{50}-arvo.

Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan käyttää niiden farmaseuttisesti hyväksyttävinä happoadditiosuoloina - tätä käyttömuotoa pidetään edullisena - tai vapaana emäksenä niiden farmakologisten ominaisuuksien johdosta lääkeaineina, jolloin ne annostellaan joko yksinään tai sekoitettuna sopivien kantaja-aineiden ja/tai sopivien laimennusaineiden ja mahdollisesti vielä myös muiden lisäaineiden kanssa.

Farmaseuttiset valmisteet sisältävät ei-toksisten, inerttien, farmaseuttisesti sopivien kantaja-aineiden

ohella yhtä tai useampaa kaavan I mukaista vaikuttavaa ainetta tai koostuvat yhdestä tai useammasta kaavan I mukaisesta vaikuttavasta aineesta.

Ei-toksisilla, inerteillä, farmaseuttisesti sopivilla kantaja-aineilla tarkoitetaan kaikenlaisia farmaseuttisesti hyväksyttäviä kiinteitä, puolikiinteitä tai nestemäisiä laimennusaineita, täyteaineita ja formulointiapuaineita, jotka vaikuttavaan aineeseen sekoittamisen jälkeen saattavat tämän annosteluun soveltuvaan muotoon.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden sopivina käyttömuotoina tulevat kyseeseen esimerkiksi tabletit, lääkerakeet, kapselit, pillerit, vesipitoiset liuokset, suspensiot tai emulsiot, mahdollisesti steriilit injisoitavat liuokset, ei-vesipitoiset emulsiot, suspensiot ja liuokset, sprayt sekä valmistemuodot, joissa vaikuttavan aineen vapautuminen on hidastettua.

Terapeuttisesti vaikuttavia yhdisteitä tulee olla edellä esitetyissä farmaseuttisissa valmisteissa tarkoituksenmukaisesti konsentraatiossa: noin 0,1, edullisesti 0,5 - 99,0, edullisesti 70,0 painoprosenttia kokonaisseoksesta.

Liuosten sekä spray-muodossa olevien aerosolien käyttökonsentraatiot ovat yleensä 0,1 - 20, edullisesti 0,5 - 5 painoprosenttia.

Edellä esitetyt farmaseuttiset valmisteet voivat sisältää kaavan I mukaisten vaikuttavien aineiden lisäksi myös muita farmaseuttisia vaikuttavia aineita.

Edellä esitettyjen farmaseuttisten valmisteiden valmistus tapahtuu tavanomaisella tavalla tunnettujen menetelmien mukaisesti, esim. sekoittamalla vaikuttavaan aineeseen tai vaikuttaviin aineisiin kantaja-ainetta tai kantaja-aineita. Esimerkeissä (123 ja 124) on kuvattu sopivia tablettikoostumuksia.

Vaikuttavia aineita tai farmaseuttisia valmisteita voidaan annostella suun kautta, parenteraalisesti, intraperitoneaalisesti ja/tai peräsuolen kautta.

Esim. veren rasva-arvoja alentavina aineina käytettäviä kaavan I keksinnön mukaisia yhdisteitä, edullisesti niiden suoloja, voidaan käyttää valmistettaessa farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät vaikuttavan määrän aktiivista ainetta yhdessä kantaja-aineiden kanssa ja, jotka soveltuvat enteraaliseen ja parenteraaliseen annosteluun. Edullisesti käytetään tabletteja tai kapseleita (gelatiinikapseleita), jotka sisältävät vaikuttavaa ainetta yhdessä laimennusaineiden tai kantaja-aineiden, esim. laktoosin, dekstroosin, ruokosokerin, mannitolin, sorbitolin, selluloosan, eri tärkkelyslajien ja/tai glyserolin kanssa, ja liukuaineiden, kuten piimaan, talkin, stearii-nihapon tai sen suolojen, kuten magnesium- tai kalsiumstearaatin ja/tai polyetyleeniglykolin kanssa. Tabletit sisältävät samoin sideaineita, kuten magnesiumkarbonaattia, magmesiumaluminiumsilikaattia, tärkkelystä, gelatiinia, traganttia, metyyliselluloosaa, natriumkarboksimetyyliselluloosaa ja/tai polyvinyylipyrrolidonia ja tarvittaessa väriaineita, makua parantavia aineita ja makeutusaineita. Injisoitavat liuokset ovat edullisesti isotonisia vesipitoisia liuoksia tai suspensioita, jotka voivat olla steriloituja ja voivat sisältää apuaineita, kuten säilöntä-, stabilointi-, kostutus- ja/tai emulgointiaineita, liukenemista välittäviä aineita, suoloja osmoottisen paineen säätelemiseksi ja/tai puskuriaineita. Farmaseuttisia valmisteita, jotka voivat haluttaessa sisältää muita farmakologisesti vaikuttavia aineita, valmistetaan esim. tavanomaisten sekoitus-rakeistus- ja drageerausmenetelmien avulla ja ne sisältävät 0,1 - edullisesti 80 %, edullisesti noin 5 - noin 65 % vaikuttavaa ainetta.

Annostelu suun kautta tapahtuu farmaseuttisesti tavanomaisina valmisteina, esimerkiksi tabletteina, lääke-

rakeina tai kapseleina, jotka sisältävät esim. päivittäistä annosta kohti 5 - 1 000 mg, edullisesti 20 - 200 mg vaikuttavaa ainetta seoksena tavanomaisen kantaja-aineen ja/tai täyteaineen kanssa, jolloin 5 - 200 mg:n suuruiset kerta-annokset voidaan annostella edullisesti 1 - 3 kertaa päivässä.

Voi kuitenkin olla tarpeellista poiketa mainituista annostuksista ja nimittäin riippuen potilaasta ja hänen painostaan, sairauden lajista ja vaikeusasteesta, valmisteen lajista ja lääkeaineen annostelutavasta sekä ajankohdasta tai aikavälistä, jonka aikana annostelu tapahtuu. Niinpä voi joissakin tapauksissa riittää, että käytetään pienempää annosta vaikuttavaa ainetta kuin mitä edellä mainittu määrä on, kun taas toisissa tapauksissa täytyy edellä mainittu vaikutusainemäärä ylittää. Vaikuttavien aineiden kulloinkin tarpeellisen optimaalisen annostuksen ja annostelutavan voi jokainen asiantuntija helposti määrittää asiantuntemuksensa perusteella.

Seuraavat esimerkit valaisevat keksintöä. Esimerkit 5-10, 13-17, 19-24, 26-32, 34-39, 41-43, 45-58, 60-64, 66, 70-77, 79-81, 83, 84, 89, 91-98 ja 100-122 eivät kuulu patenttivaatimusten määrittelemän keksinnön piiriin.

Lämpötilat on ilmoitettu °C:na.

Seuraavissa esimerkeissä ilmoitetut sulamis- tai hajoamispisteet ovat korjaamattomia.

Ohutkerroskromatografiat suoritettiin DC-valmislevyillä, silikageeli 60, F-254, firma Riedel-de Haen AG, ja mikäli esimerkeissä ei ole ilmoitettu mitään muuta eluointiainetta, käytettiin eluointiaineena CH_2Cl_2/C_2H_5OH:ta 10:1 (v/v).

Esimerkki 1

Suspensiota, jossa oli 1,267 g (3 mmol) yhdistettä II, jossa R^1 ja R^2 merkitsevät CH_3:a, R^3, R^5 ja R^6 merkitsevät vetyä ja R^4 on C_2H_5, 3 ml:ssa jääetikkaa, sekoitettiin 5 tuntia 50 °C:ssa ja lopuksi haihdutettiin vakuumis-

sa. Jäljelle jäävä jäännös liuotettiin H_2O/CH_2Cl_2:een. Vesipitoisen faasin pH saatettiin 2N NaOH:lla arvoon 9. Faasien erottamisen jälkeen vesipitoinen faasi uutettiin kaksi kertaa CH_2Cl_2:lla. Yhdistetyt CH_2Cl_2-uutteet pestiin H_2O:lla, kuivattiin $MgSO_4$:llä, suodatettiin ja haihdutettiin vakuumissa. Jäännös (1,07 g) liuotettiin eetteriin, minkä jälkeen tapahtui kiteytyminen. Kiteinen massa imusuodatettiin, pestiin eetterillä ja kuivattiin 15 tunnin ajan 100 °C:ssa vakuumissa (6 mbar). Saatiin 0,86 g (67,9 %:n saanto) DC-puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 186 - 187 °C.

$C_{19}H_{21}F_3N_6O_2$ (422,43)

Laskettu:	C 54,02	H 5,01	F 13,49	N 19,90 %
Löydetty:	C 53,5	H 5,2	F 12,9	N 19,7 %

Esimerkki 2

Liuokseen, jossa oli 3,80 g (9 mmol) esimerkin 1 mukaan valmistettua 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia) 20 ml:ssa asetonia, tiputettiin huoneenlämpötilassa 1,52 ml 6,6 molaarista HCl-liuosta eetterissä ja muodostunutta suspensiota sekoitettiin 20 minuutin ajan jäällä jäähdyttäen. Tämän jälkeen kiteet imusuodatettiin, pestiin asetonilla ja eetterillä ja kuivattiin 10 tuntia vakuumissa (6 - 7 mbar) 100 °C:ssa. Saatiin 3,83 g (= 92,7 %:n saanto) 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)-amidi)hydrokloridia, jonka jp. on 264 - 265 °C (hajoten).

$C_{19}H_{22}ClF_3N_6O_2$ (458,89)

Laskettu:	C 49,73	H 4,83	Cl 7,73	F 12,42	N 18,32 %
Löydetty	C 48,9	H 5,0	Cl 7,6	F 12,3	N 17,8 %

Esimerkki 3

Suspensiota, jossa oli 1,746 g (4 mmol) yhdistettä II, jossa R^1 ja R^2 merkitsevät CH_3:a, R^3, R^5 ja R^6 merkitsevät vetyä ja R^4 on isopropyyli, 4 ml:ssa jääetikkaa, sekoitettiin 3 tuntia 50 °C:ssa ja lopuksi haihdutettiin vakuumissa. Jäljelle jäävä jäännös liuotettiin 5 ml:aan 2N suolahappoa ja 10 ml:aan eetteriä. Faasien erottamisen jälkeen suolahappoinen, vesipitoinen faasi uutettiin useita kertoja eetterillä, lopuksi pH saatettiin 6N natronlipeällä arvoon 9 - 10 ja sitten uutettiin useita kertoja CH_2Cl_2:lla. Yhdistetyt CH_2Cl_2-uutteet pestiin muutamalla ml:lla vettä ja kuivattiin Na_2SO_4:llä. Suodattamisen jälkeen CH_2Cl_2 poistettiin tislaamalla vakuumissa ja jäljelle jäävä jäännös liuotettiin 5 - 6 ml:aan eetteriä. Eetteriliuoksesta tapahtui kiteytyminen. Kiteinen aine imusuodatettiin, pestiin eetterillä ja kuivattiin 16 tunnin ajan 100 °C:ssa. Saatiin 1,14 g (65,3 %:n saanto) DC-puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-isopropyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 202 - 203 °C.

$C_{20}H_{23}F_3N_6O_2$ (436,45)

Laskettu:	C 55,04	H 5,31	F 13,06	N 19,26 %
Löydetty:	C 55,0	H 5,5	F 12,4	N 19,1 %

Esimerkki 4

Liuokseen, jossa oli 6,55 g (15 mmol) esimerkin 3 mukaan valmistettua 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-isopropyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia) 35 ml:ssa asetonia, tiputettiin huoneenlämpötilassa 2,5 ml 6,6 molaarista HCl-liuosta eetterissä ja muodostunutta suspensiota sekoitettiin 2 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Tämän jälkeen kiteet imusuodatettiin, pestiin asetonilla ja kuivattiin 10 tuntia vakuumissa 100 °C:ssa. Saatiin 6,84 g (= 96,5 %:n saanto) 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-iso-

propyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jonka jp. on 279 - 280 °C (hajoten).

$C_{20}H_{24}ClF_3N_6O_2$ (472,92)

Laskettu: Cl^- 7,50 %

Löydetty Cl^- 7,6 %

Esimerkki 5

Suspensiota, jossa oli 16,70 g (37 mmol) yhdistettä II, jossa R^1 ja R^2 merkitsevät CH_3:a, R^3, R^5 ja R^6 merkitsevät vetyä ja R^4 on n-butyyli, 41 ml:ssa jääetikkaa, sekoitettiin 4 tuntia 60 °C:ssa, jolloin muodostui liuos. Tämä haihdutettiin vakuumissa. Jäännös liuotettiin 300 ml:aan CH_2Cl_2:ta ja tätä liuosta ravisteltiin kolme kertaa kulloinkin 40 ml:n kanssa 2N NaOH:ta ja kaksi kertaa kulloinkin 50 ml:n kanssa vettä. Kuivaamisen ja suodattamisen jälkeen CH_2Cl_2-liuos haihdutettiin vakuumissa. Jäljelle jäävä öljyinen jäännös (16,5 g) liuotettiin 15 ml:aan etyyliasetaattia ja lisättiin eetteriä, kunnes samentuminen alkoi, minkä jälkeen kiteet saostuivat. Sen jälkeen, kun oli sekoitettu 2 tuntia jäähauteessa, kiinteä aine imusuodatettiin, pestiin eetterillä ja kuivattiin 20 tuntia 100 °C:ssa. Saatiin 9,48 g (56,8 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-butyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 154 - 155 °C.

$C_{21}H_{25}F_3N_6O_2$ (450,48)

Laskettu:	C 55,99	H 5,59	F 12,65	N 18,66 %
Löydetty:	C 55,3	H 5,6	F 12,5	N 18,4 %

Esimerkki 6

Liuokseen, jossa oli 4,96 g (11 mmol) edellä olevan esimerkin mukaan valmistettua yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = n-C_4H_9) 25 ml:ssa asetonia, lisättiin huoneenlämpötilassa 1,9 ml 6,17 molaarista HCl-liuosta eetterissä. Muodostuvaa suspensiota sekoitettiin 2 tuntia jäällä jäähdyttäen. Tämän jälkeen kiteet imusuodatettiin, pestiin asetonilla eetterissä ja kuivattiin 15 tuntia

100 °C:ssa vakuumissa (6 mbar). Saatiin 5,44 g (~ 100 %) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-butyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 266 - 267 °C (hajoten).

$C_{21}H_{26}ClF_3N_6O_2$ (486,94)

Laskettu: Cl^- 7,28 %

Löydetty Cl^- 7,3 %

Esimerkki 7

Esimerkissä 5 kuvatun työskentelytavan mukaisesti 14,76 g (32,8 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = sek.-C_4H_9) ja 36 ml jääetikkaa sekoitettiin 4 tunnin ajan 60 °C:ssa. Tämän jälkeen käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5 kuvattiin. Saatiin 9,17 g (62 %:n saanto) DC-puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-sek.-butyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 149 - 150 °C (hajoten).

$C_{21}H_{25}F_3N_6O_2$ (450,48)

Laskettu:	C 55,99	H 5,59	F 12,65	N 18,66 %
Löydetty:	C 55,8	H 5,5	F 12,3	N 18,6 %

Esimerkki 8

Esimerkissä 6 kuvatun työskentelytavan mukaisesti 4,51 g (10 mmol) esimerkin 7 mukaan valmistettua yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = sek.-C_4H_9) muutettiin hydrokloridiksi. Saatiin 4,81 g (= 98,8 %) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-sek.-butyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 282 - 283 °C (hajoten).

$C_{21}H_{26}ClF_3N_6O_2$ (486,94)

Laskettu: Cl^- 7,28 %

Löydetty Cl^- 7,35 %.

Esimerkki 9

Seosta, jossa oli 13,57 g (26,9 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH(CH_3)-CH_2CH_2-CH=C(CH_3)_2$) ja 30 ml jääetikkaa sekoitettiin 4 tunnin ajan 50 - 55 °C:ssa, jolloin 15 minuutin kuluttua oli muodostunut liuos. Tämän jälkeen haihdutettiin vakuumissa. Jäljelle jäävä jäännös (11,3 g) kromatografioitiin (28 mm Ø x 400 mm(H))-silikageeli/CH_2Cl_2-pylväällä. Sen jälkeen, kun oli eluoitu 900 ml:lla CH_2Cl_2:ta, eristettiin 1,5 g esivyöhykkeitä. Tämän jälkeen eluoitiin CH_2Cl_2/C_2H_5OH:lla 100:1 - 10:1 (käyttäen koko ajan kohoavaa C_2H_5OH-pitoisuutta) 7 fraktiona (kulloinkin 400 ml) 8,7 g melkein puhdasta - puhdasta tuotetta öljymäisessä muodossa. Tämän jälkeen saatiin kiteyttämällä isopropyylieetteri/isoheksaanista 7,1 g puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-(2-metyyli-hept-2-en-6-yyli)-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jonka jp. oli 106 - 107 °C. Emäliuosjäännös (1,06 g) oli samoin lähes puhdasta yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH(CH_3)-CH_2CH_2-CH=C(CH_3)_2$), joten yhteensä saatiin 8,16 g (= 60 %:n saanto) tätä yhdistettä.

$C_{25}H_{31}F_3N_6O_2$ (504,57)

Laskettu:	C 59,51	H 6,19	F 11,30	N 16,66 %
Löydetty:	C 59,5	H 6,2	F 11,0	N 16,4 %

Esimerkki 10

Vastaavasti, kuten esimerkissä 6 saatiin lähtien 3,46 g:sta (6,86 mmol) edellä olevan esimerkin 9 mukaan saatua, 20 ml:aan etyyliasetaattia liuotettua yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH(CH_3)-CH_2CH_2-CH=C(CH_3)_2$) ja 1,06 ml:sta 6,6 molaarista HCl-liuosta eetterissä, 3,50 g (saanto = 94 %) puhdasta, kiteistä 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-(2-metyyli-hept-2-en-6-yyli)-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 248 - 249 °C.

$C_{25}H_{32}ClF_3N_6O_2$ (541,04)
Laskettu: Cl^- 6,55 %
Löydetty Cl^- 6,5 %.

Esimerkki 11

Esimerkissä 5 kuvatun työskentelytavan mukaisesti 10,0 g (22,3 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = syklopropyylimetyyli) ja 24,6 ml jääetikkaa sekoitettiin 4 tunnin ajan 60 °C:ssa (sen jälkeen, kun oli sekoitettu 20 min. ajan, muodostui liuos) ja lopuksi käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5 kuvattiin. Saatiin 6,67 g (66,7 %:n saanto) DC-puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-syklopropyylimetyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 193 - 194 °C.

$C_{21}H_{23}F_3N_6O_2$ (448,46)

Laskettu:	C 56,24	H 5,17	F 12,71	N 18,74 %
Löydetty:	C 55,9	H 5,1	F 12,1	N 18,9 %

Esimerkki 12

Esimerkissä 6 kuvatun työskentelytavan mukaisesti 5,67 g (12,64 mmol) esimerkin 11 mukaan valmistettua yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = syklopropyylimetyyli) muutettiin hydrokloridiksi. Saatiin 5,84 g (= 95,3 %) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-syklopropyylimetyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)-amidi)hydrokloridia, jp.: 265 - 266 °C.

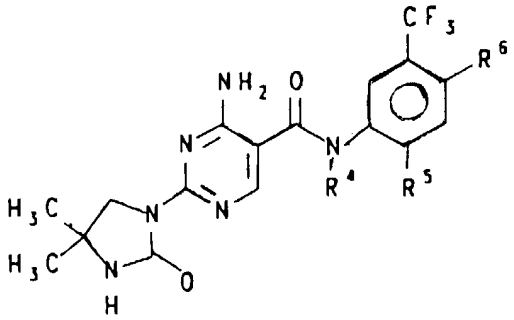
$C_{21}H_{24}ClF_3N_6O_2$ (484,93)
Laskettu: Cl^- 7,31 %
Löydetty Cl^- 7,5 %.

Esimerkissä 5 kuvatun työskentelytavan mukaisesti valmistettiin seuraavan taulukon 3 esimerkeissä 13 - 27 esitettyjä yhdisteitä I (R^1, R^2 = CH_3, R^3 = H, vertaa seuraava kaava).

Taulukossa 3 esitetyistä yhdisteistä (esimerkit 13 - 27) valmistettiin esimerkissä 6 kuvatun työskentelytavan mukaisesti hydroklorideja (esimerkit 28 - 42), jotka ovat yhteenkoottuina seuraavassa taulukossa 4.

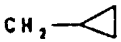
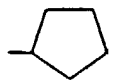
Taulukko 3

Esimerkit 13 - 27



Esim. nro	R^4	R^5	R^6	Fp. [°C]	Lask. C	H	F	N	Löyd. C	H	F	N	Saanto [%]
13	CH_3	F	H	168-69	50,70	4,26	17,82	19,71	50,1	4,4	17,1	19,4	53,2
14	CH_3	Cl	H	269-70	48,82	4,10	12,87	18,98					45,0
15	CH_3	H	Br	233	44,37	3,72	11,70	17,25					37,6
16	C_2H_5	Cl	H	145	49,95	4,41	12,48	18,40					44,8
17	C_2H_5	F	H	200-01	51,82	4,58	17,26	19,08	51,8	4,5	16,2	19,2	55,4
18	n-C_3H_7	H	H	114	55,04	5,31	13,06	19,26					31,0
19	n-C_3H_7	Cl	H	238	51,02	4,71	12,10	17,85					46,7

Taulukko 3 (jatkoa)

Esim. nro	R^4	R^5	R^6	Jp. [°C]	Lask. C	H	F	N	Löyd. C	H	F	N	Saanto [%]
20	i-C_3H_7	H	F	218-19	52,86	4,88	16,72	18,49	52,9	4,5	16,6	18,1	77,3
21	$CH_2CH(CH_3)_2$	H	H	126	55,99	5,59	12,65	18,66					4,62
22	$CH_2C(CH_3)_3$	H	H	219-20	56,89	5,86	12,27	18,09	56,9	5,8	11,8	18,1	62,4
23	$CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$	H	H	199-200	57,73	6,11	11,91	17,56	57,9	6,3	11,8	17,6	66,2
24	$CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$	H	F	195-96	55,64	5,68	15,31	16,93	54,2	5,5	15,2	16,5	73,2
25	$CH_2CH=CH_2$	H	H	189-90	55,29	4,87	13,12	19,35	55,2	5,1	12,6	19,3	68,3
26		F	H	209-10	54,07	4,75	16,29	18,02	54,2	4,7	16,0	18,1	66,4
27		H	H	135-40	57,13	5,45	12,32	18,17	57,3	5,3	11,9	18,3	66,8

Taulukko 4 Esimerkit 28 - 42

Taulukossa 3 esimerkeissä 13 - 27 esitettyjen yhdisteiden I hydrokloridit

Esim. no.	Seuraavan esimerkin mukaisen yhdisteen hydrokloridi	Jp. [°C]	Laskettu Cl	Löydetty Cl
28	13	269-70	7,66	7,4
29	14	271-73	14,79	14,3
30	15	250	6,78	6,6
31	16	288	14,37	14,0
32	17	278-79	7,44	7,4
33	18	251	7,50	7,3
34	19	293	13,98	13,7
35	20	284-85	7,22	7,2
36	21	264	7,28	7,1
37	22	285-86	7,08	6,8
38	23	274-75	6,88	6,8
39	24	281-82	6,65	6,7
40	25	268-69	7,53	7,5
41	26	282-83	7,05	6,6
42	27	270-72	7,11	7,2

Esimerkki 43

Seosta, jossa oli 2,86 g (7 mmol) yhdistettä II (R^1 = CH_3, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), 5 ml jääetikkaa ja 0,70 ml 6,17 molaarista HCl-liuosta eetterissä, sekoitettiin 2 tunnin ajan 70 °C:ssa (7 minuutin kuluttua oli muodostunut liuos) ja sitten haihdutettiin vakuumissa.

Jäännös liuotettiin 80 ml:aan CH_2Cl_2:ta, liuosta ravisteltiin kolme kertaa kulloinkin 15 ml:n kanssa N NaOH:ta ja kaksi kertaa kulloinkin 7 ml:n kanssa vettä, CH_2Cl_2-liuos kuivattiin Na_2SO_4:llä ja suodattamisen jälkeen tämä liuos haihdutettiin vakuumissa. Jäljelle jäävä jäännös liuotettiin 2 ml:aan etyyliasetaattia. Eetterin lisäyksen jälkeen tapahtui kiteytyminen. Sen jälkeen, kun oli sekoitettu 1 tunnin ajan jäähauteessa, kiteet imusuodatettiin, pestiin eetterillä ja kuivattiin 15 tuhnin ajan 100 °C:ssa vakuumissa (5 - 8 mbar). Saatiin 1,88 g (= 65,7 %:n saanto) DC-puhdasta 4-amino-2-(4-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 207 - 208 °C (vrt. esimerkit 56 ja 57).

Esimerkki 44

Seosta, jossa oli 2,53 g (6 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2, = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), 360 mg (4 mmol) oksaalihappoa ja 5 ml propionihappoa sekoitettiin 2 tunnin ajan 70°C:ssa (10 minuutin kuluttua oli muodostunut liuos) ja tämän jälkeen haihdutettiin vakuumissa. Jäljelle jäänyttä jäännöstä käsitelttiin edelleen, kuten esimerkissä 43 kuvattiin. Saatiin 1,72 g (= 68 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 186 - 187 °C (vrt. esimerkki 1).

Esimerkki 45

Seosta, jossa oli 4,645 g (10 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2, = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = n-C_5H_{11}), 300 mg vedetöntä oksaalihappoa ja 8,33 ml vedetöntä muurahaishappoa sekoitettiin 3 tunnin ajan 50 °C:ssa, jolloin 10 minuutin kuluttua muodostui liuos. Tämän jälkeen seos haihdutettiin vakuumissa ja jäännös liuotettiin 100 ml:aan etyyliasetaattia. Tähän liuokseen lisättiin 20 ml 2 N NaOH:ta ja sitä ravisteltiin 5 minuutin ajan läpikotaisin. Faasien erottamisen jälkeen orgaanista liuosta ravisteltiin kolme

kertaa kulloinkin 2 ml:n kanssa 2 N NaOH:ta ja kaksi kertaa kulloinkin 10 ml:n kanssa vettä, kuivattiin $MgSO_4$:llä, suodatettiin ja haihdutettiin vakuumissa. Jännöstä liuotettiin eetteriin, minkä jälkeen tapahtui kiteytyminen. Kiteinen aine eristettiin imusuodattamalla ja kuivattiin 17 tunnin ajan 100 °C:ssa vakuumissa. Saatiin 2,88 g (= 62 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-pentyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 167 - 168 °C

$C_{22}H_{27}F_3N_6O_2$ (464,51)

Laskettu:	C 56,89	H 5,86	F 12,27	N 18,09 %
Löydetty:	C 56,7	H 6,1	F 12,0	N 18,1 %

Esimerkki 46

Seosta, jossa oli 4,645 g (10 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2, = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = n-C_5H_{11}), 300 mg vedetöntä oksaalihappoa ja 9 ml jääetikkaa sekoitettiin 3 tunnin ajan 60°C:ssa, ja sitten työstettiin vastaavalla tavalla, kuin edellä olevassa esimerkissä 45 kuvattiin. Saatiin 3,13 g (= 67,5 %:n saanto) samaa yhdistettä I, kuin esimerkissä 45 kuvattiin, jp.: 167 - 168 °C.

Esimerkki 47

Esimerkissä 6 kuvatun työskentelytavan mukaisesti 5,11 g (11 mmol) esimerkkien 45 ja 46 mukaan valmistettua yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = n-C_5H_{11}) muutettiin hydrokloridiksi. Saatiin 5,35 g (= 97,1 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-pentyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 246 - 247 °C.

$C_{22}H_{28}ClF_3N_6O_2$ (500,97)

Laskettu: C 52,75 H 5,63 Cl^- 7,08 F 11,38 N 16,78 %

Löydetty: C 52,8 H 5,4 Cl^- 6,6 F 10,9 N 16,8 %

Esimerkki 48

Seosta, jossa oli 3,944 g (10 mmol) yhdistettä II (R^1 = CH_3, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_3), 300 mg vedetöntä oksaalihappoa ja 8,7 ml jääetikkaa sekoitettiin 3 tunnin ajan 60 °C:ssa, jolloin noin 30 minuutin kuluttua muodostui liuos. Tämä haihdutettiin vakuumissa ja jäännös liuotettiin 100 ml:aan CH_2Cl_2:ta. Muodostunutta seosta sekoitettiin perusteellisesti 20 ml:n kanssa 2 N NaOH:ta. Faasien erottamisen jälkeen orgaanista faasia ravisteltiin peräkkäin kaksi kertaa kulloinkin 6 ml:n kanssa N NaOH:ta ja kaksi kertaa kulloinkin 10 ml:n kanssa vettä, kuivattiin $MgSO_4$:llä, suodatettiin ja haihdutettiin vakuumissa. Jäljelle jäänyt jäännös liuotettiin 15 ml:aan eetteriä, minkä jälkeen tapahtui heti kiteytyminen. Kiteinen aine eristettiin imusuodattamalla ja kuivattiin 15 tunnin ajan 100 °C:ssa vakuumissa (6 mbar). Saatiin 2,80 g (= 71 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(4-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-metyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 237 - 238°C.

$C_{17}H_{17}F_3N_6O_2$ (394,37)

Laskettu: C 51,78 H 4,35 F 14,45 N 21,31 %

Löydetty: C 51,5 H 4,4 F 14,5 N 21,0 %.

Esimerkki 49

Esimerkissä 48 kuvatun työskentelytavan mukaisesti käyttäen samansuuruista seosta syklisoitiin sama yhdiste II 360 mg:n oksaalihappoa läsnä ollessa (esimerkin 48 300 mg:n sijasta). Tällöin saatiin 2,77 g (= 70,2 %:n saanto) yhdistettä I (R^1 = CH_3, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_3) esimerkin 48 mukaisesti. Jp.: 237 - 238 °C.

Esimerkki 50

Esimerkin 6 mukaisesti muutettiin 4,34 g (11 mmol) esimerkkien 48 ja 49 mukaan valmistettua yhdistettä I (R^1 =

CH_3, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_3) hydrokloridiksi. Saatiin 4,71 g (= 99,4 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(4-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-metyyli-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 190 - 192 °C.

$C_{17}H_{18}ClF_3N_6O_2$ (430,84)

Laskettu: Cl^- 8,23 %

Löydetty Cl^- 8,1 %.

Esimerkki 51

Esimerkissä 5 kuvatun työskentelytavan mukaisesti 0,54 g (1,2 mmol) yhdistettä II (R^1 = CH_3, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = syklopentyyli) ja 1,32 ml jääetikkaa sekoitettiin 4 tunnin ajan 60 °C:ssa ja lopuksi käsiteltiin edelleen. Saatiin 0,32 g (59,3 %:n saanto) DC-puhdasta 4-amino-2-(4-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-syklopentyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 219 - 220 °C (etyyliasetaatista < < eetteristä).

$C_{21}H_{23}F_3N_6O_2$ (448,46)

Laskettu:	C 56,24	H 5,17	F 12,71	N 18,74 %
Löydetty:	C 56,0	H 5,1	F 12,6	N 18,5 %.

Esimerkki 52

Esimerkin 6 mukaisesti muutettiin 126 mg (0,28 mmol) esimerkin 51 mukaan valmistettua yhdistettä I (R^1 = CH_3, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = syklopentyyli) hydrokloridiksi. Saatiin 135 mg (= 99,4 %) puhdasta 4-amino-2-(4-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-syklopentyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 270 - 271 °C.

$C_{21}H_{24}ClF_3N_6O_2$ (484,93)

Laskettu: Cl^- 7,31 %

Löydetty Cl^- 7,2 %.

Esimerkki 53

Esimerkin 51 mukaisesti sekoitettiin 1,80 g (4,26 mmol) 1-syano-1-[N-butyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)-

karbamoyyli]-2-[(imino-(2-okso-imidatsolidin-1-yyli)metyyli)amino]eteeniä (yhdiste II, R^1, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = n-C_4H_9) ja 4,7 ml jääetikkaa 4 tunnin ajan 60 °C:ssa ja lopuksi käsiteltiin edelleen. Saatiin 0,85 g (= 47,3 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(2-okso-imidatsolidin-1-yyli)-pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-butyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 234 - 235 °C.

$C_{19}H_{21}F_3N_6O_2$ (422,43)

Laskettu:	C 54,02	H 5,01	F 13,49	N 19,90 %
Löydetty:	C 54,1	H 4,9	F 12,8	N 20,0 %

Esimerkki 54

Seosta, jossa oli 1,32 g (3,12 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = n-C_4H_9), 94 mg (1,04 mmol) vedetöntä oksaalihappoa ja 2,81 ml jääetikkaa, sekoitettiin 3 tunnin ajan 60 °C:ssa ja tämän jälkeen käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5 kuvattiin. Saatu jäännös (1,08 g) kiteytettiin eetteristä. Saatiin 0,91 g (= 69 %:n saanto) puhdasta yhdistettä I,jossa R^1, R^2, R^3, R^5 ja R^6 merkitsevät vetyä ja R^4 on n-C_4H_9 (vrt. esimerkki 53), jp.: 234 - 235 °C.

Esimerkki 55

Esimerkin 6 mukaisesti muutettiin 1,65 g (3,9 mmol) esimerkkien 53 ja 54 mukaan saatua yhdistettä I hydrokloridiksi. Tällöin saatiin 1,74 g (97,2 %) 4-amino-2-(2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-butyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 212 - 213 °C.

$C_{19}H_{22}ClF_3N_6O_2$ (458,89)

Laskettu: Cl^- 7,73 %

Löydetty Cl^- 7,7 %.

Esimerkki 56

Seosta, jossa oli 4,084 g (10 mmol) yhdistettä II (R^1 =CH_3; R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), 360 mg (4 mmol) vedetöntä oksaalihappoa ja 9 ml jääetikkaa sekoitettiin 3 tunnin ajan 60 °C:ssa ja tämän jälkeen käsiteltiin edel-

leen, kuten esimerkissä 5 kuvattiin. Saatiin (kiteyttämällä eetteristä) kuivaamisen jälkeen 2,83 g (69,3 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(4-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 208 - 209 °C.

$C_{18}H_{19}F_3N_6O_2$ (408,40)

Laskettu:	C 52,94	H 4,69	F 13,96	N 20,58 %
Löydetty:	C 52,5	H 4,5	F 12,4	N 20,8 %.

Esimerkki 57

Vastaavaa seosmäärää (10 mmol) käyttäen sekoitettiin samaa yhdistettä II kuin esimerkissä 56 ja 540 mg vedetöntä oksaalihappoa (6 mmol) ja 8,5 ml jääetikkaa 3 tunnin ajan 60 °C:ssa. Sen jälkeen, kun oli käsitelty edelleen vastaavasti, kuten esimerkissä 5 kuvattiin, saatiin 2,86 g (70 %:n saanto) yhdistettä I (R^1 = CH_3, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), jp.: 208 - 209 °C.

Esimerkki 58

Esimerkin 6 mukaisesti saatiin lähtien 4,49 g:sta (11 mmol) esimerkkien 56 ja 57 mukaan valmistettua yhdistettä I 4,57 g (93,4 %:n saanto) 4-amino-2-(4-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 242 - 243 °C.

$C_{18}H_{20}ClF_3N_6O_2$ (444,86)

Laskettu: Cl^- 7,97 %

Löydetty Cl^- 8,2 %.

Esimerkki 59

a) Seosta, jossa oli 6,34 g (15 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), 450 mg vedetöntä oksaalihappoa ja 13 ml jääetikkaa sekoitettiin 3 tunnin ajan 65 °C:ssa ja lopuksi käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5 kuvattiin. Kiteyttämällä eetteristä saatiin 4,52 g (= 71,3 %:n saanto) yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), jp.: 186 - 187 °C.

b) Vastaavalla tavalla sekoitettiin seosta, jossa oli 5,07 g (12 mmol) samaa yhdistettä II, 360 mg vedetöntä oksaalihappoa ja 10,4 ml vedetöntä muurahaishappoa 3 tunnin ajan 65 °C:ssa ja lopuksi käsiteltiin edelleen. Saatiin 3,04 g (= 60 %:n saanto) yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), jp.: 186 - 187 °C.

Esimerkki 60

Suspensioon, jossa oli 881 mg (2 mmol) 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(2-fluori-5-trifluorimetyylifenyyli)amidia) (esimerkin 17 mukaista yhdistettä I) 13,3 ml:ssa etyyliasetaattia, lisättiin huoneenlämpötilassa 2,05 ml molaarista HNO_3-liuosta etyyliasetaatissa. Tällöin muodostui lyhyen ajan sisällä liuos, josta kiteinen aine erottui. Tämä imusuodatettiin sen jälkeen, kun oli sekoitettu 1 tunnin ajan (jäähauteessa), pestiin etyyliasetaatilla ja eetterillä ja kuivattiin 15 tunnin ajan 80 °C:ssa vakuumissa (6 - 8 mbar). Saatiin 1,02 g 4-amino-2-(4,4-di-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(2-fluori-5-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi-nitraattia, jp.: 235 - 236 °C. Tämä nitraatti liukenee veteen konsentraation ollessa 1,7 paino-%, s.o. 1 osa liukenee 57,5 osaan vettä.

$C_{19}H_{21}F_4N_7O_5$ (503,43)

Laskettu:	C 45,33	H 4,20	F 15,10	N 19,48 %
Löydetty:	C 44,8	H 4,5	F 14,6	N 19,1 %

Esimerkki 61

Liuokseen, jossa oli 933 mg (2 mmol) 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-syklopropyylimetyyli-N-(2-fluori-5-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia) (esimerkin 26 mukaista yhdistettä I) 6 ml:ssa asetonia, lisättiin huoneenlämpötilassa 0,38 ml 33-%:ista HBr-liuosta jääetikassa. Tämän jälkeen kiteinen aine saostui. Sen jälkeen, kun oli sekoitettu 2 tuntia jäähauteessa, kiinteä aine imusuodatettiin,

pestiin eetterillä ja kuivattiin 16 tunnin ajan vakuumissa (6 - 7 mbar). Saatiin 1,06 g käytetyn yhdisteen I (esimerkki 26) hydrobromidia (= 96,8 %:n saanto), jp.: 296. Tämä hydrobromidi liukenee veteen konsentraation ollessa 1,5 paino-%, s.o. 1 osa liukenee 65,8 osaan vettä.

$C_{21}H_{23}BrF_4N_6O_2$ (547,37)

Laskettu:	C 46,08	H 4,24	Br 14,60	N 15,35 %
Löydetty	C 45,9	H 3,9	Br 14,7	N 15,5 %.

Esimerkki 62

Seosta, jossa oli 2,66 g (7 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_3), 0,72 g (8 mmol) vedetöntä oksaalihappoa ja 4,5 ml jääetikkaa sekoitettiin 1 tunti 85 °C:ssa ja lopuksi käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5 kuvattiin. Saatiin 1,58 g (= 59,4 %:n saanto) DC-puhdasta 4-amino-2-(2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-metyyli-N-(3-trifluorimetyylifenyyli)amidia), jp.: 249 - 250 °C.

$C_{16}H_{15}F_3N_6O_2$ (380,35)

Laskettu:	C 50,53	H 3,98	F 14,99	N 22,10 %
Löydetty:	C 50,3	H 3,9	F 14,7	N 22,0 %.

Esimerkki 63

Seosta, jossa oli 2,17 g (5,7 mmol) samaa yhdistettä II kuin esimerkissä 62 ja 600 mg polyfosforihappoa (firma Riedel-de-Haen) ja 5,7 ml jääetikkaa, sekoitettiin 2 tuntia 70 °C:ssa ja lopuksi käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5 kuvattiin. Tämän jälkeen saatiin 0,89 g (= 41 %:n saanto) esimerkin 62 mukaan valmistettua yhdistettä I (R^1, R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_3), jp.: 249 - 250 °C.

Esimerkki 64

2,853 g (7,5 mmol) esimerkkien 62 ja 63 mukaan valmistettua yhdistettä I muutettiin esimerkin 6 mukaisesti hydrokloridiksi. Saatiin 3,12 g 4-amino-2-(2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-metyy-

li-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 201 - 202 °C.

$C_{16}H_{16}ClF_3N_6O_2$ (416,81)

Laskettu: Cl^- 8,51 %

Löydetty: Cl^- 8,1 %.

Esimerkki 65

Seosta, jossa oli 2,535 g (6 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), 841 mg (4 mmol) sitruunahappomonohydraattia ja 4,25 ml jääetikkaa, sekoitettiin 2 tuntia 70 °C:ssa ja lopuksi käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5. Saatiin 1,86 g (= 73,4 %:n saanto) puhdasta yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), jp.: 186 - 187 °C.

Esimerkki 66

Seoksella, jossa oli 2,775 g (6 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = syklopentyyli), 645 mg (5 mmol) dikloorietikkahappoa ja 4,25 ml jääetikkaa, meneteltiin samoin kuin esimerkissä 65 kuvattiin. Saatiin 1,45 g (= 52,3 %:n saanto) 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-syklopentyyli-N-(trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 135 - 139 °C.

Esimerkki 67

Seoksella, jossa oli 2,535 g (6 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), 820 mg (5 mmol) trikloorietikkahappoa ja 4,25 ml jääetikkaa, meneteltiin samoin kuin esimerkissä 65 kuvattiin. Saatiin 1,97 g (77,7 %:n saanto) DC-puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia.

Esimerkki 68

Seoksella, jossa oli 3,04 g (7 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH_2CH{=}CH_2$), 665 mg (5,83 mmol) trikloorietikkahappoa ja 5 ml jääetikkaa, meneteltiin samoin kuin esimerkissä 65 kuvattiin. Saatiin 2,00 g

(65,8 %:n saanto) 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-allyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 187 - 188 °C.

Esimerkki 69

Seosta, jossa oli 3,04 g (7 mmol) samaa yhdistettä II, kuin esimerkissä 68 ja 515 mg (4,44 mmol) fumaarihappoa ja 6 ml jääetikkaa, sekoitettiin 1 tunti 85 °C:ssa ja lopuksi työstettiin esimerkissä 5 kuvatulla tavalla. Saatiin 2,08 g (68,4 %:n saanto) samaa yhdistettä I, kuin esimerkissä 68, jp.: 188 - 189 °C.

Esimerkki 70

Seosta, jossa oli 2,84 g (7 mmol) yhdistettä II (R^1 = CH = CH_2; R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_3), 486 mg (5,5 mmol) syanetikkahappoa ja 5 ml jääetikkaa, sekoitettiin 1,5 tuntia 75 °C:ssa ja lopuksi työstettiin esimerkissä 5 kuvatulla tavalla. Eetteristä kiteyttämisen jälkeen saatiin 1,75 g (= 61,6 %:n saanto) 4-amino-2-(4-vinyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-metyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 203 -204 °C.

$C_{18}H_{17}F_3N_6O_2$ (406,38)

Laskettu:	C 53,20	H 4,22	F 14,03	N 20,68 %
Löydetty:	C 53,3	H 4,3	F 14,0	N 20,4 %.

Esimerkki 71

Seosta, jossa oli 2,84 g (7 mmol) samaa yhdistettä II, kuin esimerkissä 70, 5 ml jääetikkaa ja 0,90 ml 6,17 molaarista HCl-liuosta eetterissä, sekoitettiin 2 tuntia 70 °C:ssa ja lopuksi työstettiin esimerkissä 5 kuvatulla tavalla. Saatiin 2,0 g (70,4 %:n saanto) samaa yhdistettä I, kuin esimerkissä 70, jp.: 203 - 204 °C.

Esimerkki 72

4,07 g (10 mmol) esimerkkien 70 ja 71 mukaan valmistettua yhdistettä I muutettiin esimerkin 6 mukaisesti hydrokloridiksi. Saatiin 4,10 g (92,6 %:n saanto) 4-amino-2-(4-vinyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-

karboksyylihappo-(N-metyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 210 - 211 °C.

$C_{18}H_{18}ClF_3N_6O_2$ (442,85)

Laskettu: Cl^- 8,01 %

Löydetty Cl^- 7,7 %.

Esimerkki 73

Seosta, jossa oli 2,84 g (7 mmol) samaa yhdistettä II kuin esimerkissä 70, 1,05 g p-tolueenisulfonihappo-monohydraattia ja 5 ml jääetikkaa, sekoitettiin 2 tuntia 70 °C:ssa ja tämän jälkeen käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5. Saatiin 2,03 g (= 71,5 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(4-vinyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-metyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 203 - 204 °C.

Esimerkki 74

Seosta, jossa oli 3,06 g (7 mmol) yhdistettä II (R^1 = CH_3; R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH_2CH(CH_3)_2$), 1,0 ml 33-%:ista HBr-liuosta jääetikassa (~ 5,6 mmol) ja 5 ml jääetikkaa, sekoitettiin 1,5 tuntia 75 °C:ssa ja sitten käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5. Saatiin 1,37 g (44,8 %:n saanto) 4-amino-2-(4-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)-pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-isobutyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia) (yhdistettä I, R^4 = $CH_2CH(CH_3)_2$), jp.: 202 - 203 °C.

$C_{20}H_{23}F_3N_6O_2$ (436,45)

Laskettu:	C 55,04	H 5,31	F 13,06	N 19,26 %
Löydetty:	C 55,1	H 5,2	F 12,5	N 18,9 %.

Esimerkki 75

Samalla tavalla ja samalla yhdisteellä II, kuin esimerkissä 74, suoritettiin syklisointireaktio saman yhdisteen I muodostuessa (kuten esimerkissä 74) käyttäen seosta, joka koostui 3,06 g:sta (7 mmol) mainittua yhdistettä II, 1,2 ml:sta 33-%:ista HBr/CH_3COOH-liuosta (~ 6,7 mmol) ja 5,0 ml:sta muurahaishappoa. Saatiin 0,98 g

(32 %:n saanto) yhdistettä I (R^1 = CH_3; R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH_2CH(CH_3)_2$), jp.: 202 - 203 °C

Esimerkki 76

Seosta, jossa oli 2,62 g (6 mmol) samaa yhdistettä II, kuin esimerkissä 74 ja 6,6 ml propionihappoa, sekoitettiin 2 tuntia 70 °C:ssa ja tämän jälkeen käsiteltiin edelleen esimerkissä 5 kuvatulla tavalla. Saatiin 1,65 g (63 %:n saanto) samaa yhdistettä I (R^1 = CH_3; R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH_2CH(CH_3)_2$) kuin esimerkissä 74, jp.: 202 - 203 °C.

Esimerkki 77

Seosta, jossa oli 2,78 g (6 mmol) yhdistettä II (R^1 = $CH{=}CH_2$; R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = n-C_5H_{11}), 5 ml propionihappoa ja 270 mg oksaalihappoa, sekoitettiin 3 tuntia 60 °C:ssa ja sitten käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5. Saatiin 1,86 g (67 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(4-vinyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-pentyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)-amidia) (yhdistettä I, R^1 = $CH{=}CH_2$; R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = n-C_5H_{11}), jp.: 133 - 134 °C.

$C_{22}H_{25}F_3N_6O_2$ (462,49)

Laskettu:	C 57,13	H 5,45	F 12,32	N 18,17 %
Löydetty:	C 56,6	H 5,1	F 11,6	N 18,1 %.

Esimerkki 78

Seosta, jossa oli 3,04 g (7 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH_2CH{=}CH_2$), 0,45 ml (~ 5,8 mmol) trifluorietikkahappoa ja 5,0 ml jääetikkaa, sekoitettiin 2 tuntia 70 °C:ssa ja sitten käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5 kuvattiin. Saatiin 2,00 g (65,8 %:n saanto) yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH_2CH{=}CH_2$), jp.: 189 °C.

Esimerkki 79

Seosta, jossa oli 2,63 g (6 mmol) yhdistettä II (R^1 = $CH{=}CH_2$; R^2, R^3, R^6 = H; R^4 = C_2H_5; R^5 = F), 304 mg (4 mmol) glykolihappoa ja 5,2 ml jääetikkaa, sekoitettiin

3 tuntia 60 °C:ssa ja tämän jälkeen käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5. Saatiin 1,69 g (64,3 %:n saanto) puhdasta 4-amino-2-(4-vinyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(2-fluori-5-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia) (yhdistettä I, R^1 = $CH=CH_2$; R^2, R^3, R^6 = H; R^4 = C_2H_5; R^5 = F), jp.: 240 - 241 °C.

$C_{19}H_{18}F_4N_6O_2$ (438,40)

Laskettu:	C 52,05	H 4,14	F 17,34	N 19,17 %
Löydetty:	C 51,9	H 3,9	F 17,0	N 19,1 %.

Esimerkki 80

Seosta, jossa oli 3,14 g (7 mmol) yhdistettä II (R^1 = $CH=CH_2$; R^2, R^3, R^6 = H; R^4 = $CH_2CH(CH_3)_2$), 5 ml jääetikkaa ja 1,05 g (5,5 mmol) p-tolueenisulfonihappomonohydraattia, sekoitettiin 2,5 tuntia 67 - 69 °C:ssa ja sitten käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5. Saatiin 1,67 g (53,2 %:n saanto) DC-puhdasta 4-amino-2-(4-vinyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-isobutyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 185 -186 °C.

$C_{21}H_{23}F_3N_6O_2$ (448,46)

Laskettu:	C 56,24	H 5,17	F 12,71	N 18,74 %
Löydetty:	C 55,7	H 5,2	F 12,1	N 18,7 %.

Esimerkki 81

Seosta, jossa oli 2,41 g (5 mmol) yhdistettä II (R^1 = CH_3; R^2, R^3, R^5 = H; R^4 = $CH_3CHCH_2CH(CH_3)_2$; R^6 = F), 270 mg (3 mmol) oksaalihappoa ja 4,2 ml propionihappoa, sekoitettiin 2 tuntia 70 °C:ssa ja tämän jälkeen käsiteltiin edelleen, kuten esimerkissä 5. Saatiin 1,50 g (62,3 %:n saanto) yhdistettä I (R^1 = CH_3; R^2, R^3, R^5 = H; R^4 = $CH_3CHCH_2CH(CH_3)_2$; R^6 = F), jp.: 135 - 137 °C.

$C_{22}H_{26}F_4N_6O_2$ (482,50)

Laskettu:	C 54,77	H 5,43	F 15,75	N 17,42 %
Löydetty:	C 54,1	H 5,0	F 15,2	N 17,0 %.

Esimerkki 82

Suspensioon, jossa oli 16,8 g (107,6 mmol) 1-amidino-4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidiiniä (yhdistettä III: R^1, R^2 =CH_3; R^3 = H) 75 ml:ssa vedetöntä asetonitriiliä, tiputettiin sekoittaen 20 °C:ssa liuos, jossa oli 40 g (85 - 90 %:ista) 2-syano-3-etoksi-akryylihappo-[N-allyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia] (yhdistettä IV: R^4 = $CH_2CH=CH_2$, R^5, R^6 = H; R^7 = C_2H_5) 82 ml:ssa vedetöntä asetonitriiliä ja sekoitettiin 2 tuntia 20 °C:ssa ja 3 tuntia 20 - 23 °C:ssa. Tällöin kiinteä aine saostui. Seos laimennettiin 150 ml:lla eetteriä, tämän annettiin seistä 15 tuntia 4 - 6 °C:ssa, tämän jälkeen kiinteä aine imusuodatettiin ja pestiin edelleen eetterillä. Kiinteä aine suspendoitiin 200 ml:aan vettä, sekoitettiin 30 min. ajan huoneenlämpötilassa, imusuodatettiin, pestiin edelleen vedellä ja kuivattiin 48 tunnin ajan huoneenlämpötilassa (20 - 24 °C:ssa) P_4O_{10}:llä vakuumissa (160 - 180 mbar). Saatiin 27,8 g (saanto = 59,5 %) 1-syano-1-[N-allyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)karbamoyyli]-2-[(imino-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)metyyli)amino]eteeniä (yhdistettä II: R^1, R^2 =CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH_2CH=CH_2$), jp.: 184 - 185 °C.

$C_{20}H_{21}F_3N_6O_2$ (434,44)

Laskettu:	C 55,29	H 4,87	F 13,12	N 19,35 %
Löydetty:	C 54,7	H 4,6	F 12,5	N 18,9 %

Esimerkki 83

Suspensioon, jossa oli 5,69 g (40 mmol) 1-amidino-4-metyyli-2-okso-imidatsolidiiniä (yhdistettä III: R^1=CH_3; R^2, R^3 = H) 30 ml:ssa abs. asenitriiliä, tiputettiin sekoittaen 20 °C:ssa liuos, jossa oli 11,93 g (40 mmol) 2-syano-3-etoksi-akryylihappo-[N-metyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia] (yhdistettä IV: R^4 = CH_3; R^5, R^6 = H; R^7 = C_2H_5) 30 ml:ssa abs. asetonitriiliä ja sekoitettiin 3 tuntia 20 °C:ssa. Sitten lisättiin 100 ml eetteriä, sekoitettiin vielä 1 tunnin ajan jäällä jäähdyttäen ja lo-

puksi saostunut kiinteä aine imusuodatettiin. Tämä pestiin pienellä määrällä kylmää asetonitriiliä ja eetterillä, sitten se suspendoitiin 200 ml:aan vettä, sekoitettiin 30 min. ajan huoneenlämpötilassa ja kiinteä aine imusuodatettiin uudelleen ja kuivattiin 50 tunnin ajan P_4O_{10}:llä vakuumissa (6 - 8 mbar). Saatiin 12,2 g (saanto = 77,4 %) DC-puhdasta 1-syano-1-[N-metyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)karbamoyyli]-2-[(imino-(4-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)-metyyli)amino]eteeniä (yhdistettä II: R^1, R^4 = CH_3; R^2, R^3, R^5, R^6 = H), jp.: 195 - 196 °C.

$C_{17}H_{17}F_3N_6O_2$ (394,37)

Laskettu:	C 51,78	H 4,35	F 14,45	N 21,31 %
Löydetty:	C 52,0	H 4,1	F 14,1	N 21,4 %.

Esimerkki 84

Liuos, jossa oli 20 g (noin 86 %:ista = ~ 5,5 mmol) yhdistettä IV (R^4, R^7 = C_2H_5; R^6 = H) 42 ml:ssa abs. asetonitriiliä, tiputettiin esimerkeissä 82 ja 83 kuvatulla tavalla suspensioon, jossa oli 7,82 g (55 mmol) yhdistettä III (R^1 = CH_3; R^2, R^3 = H) 38 ml:ssa absoluuttista asetonitriiliä, sekoitettiin ja lopuksi käsiteltiin edelleen. Saatiin 11,3 g (saanto = 50,4 %) DC-puhdasta 1-syano-1-[N-etyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)karbamoyyli]-2-[(imino-(4-metyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)metyyli)-amino]eteeniä (yhdistettä II: R^1 =CH_3; R^2, R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = C_2H_5), jp.: 180 - 181 °C.

$C_{18}H_{19}F_3N_6O_2$ (408,40)

Laskettu:	C 52,94	H 4,69	F 13,96	N 20,58 %
Löydetty:	C 52,5	H 4,7	F 12,9	N 21,1 %

Esimerkki 85

Suspensioon, jossa oli 11,0 g (70 mmol) 1-amidino-4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidiiniä 45 ml:ssa dimetoksietaania (DME), tiputettiin sekoittaen 18 - 20 °C:ssa liuos, jossa oli 27,5 g (80 - 85 %:ista) 2-syano-3-etoksiakryylihappo-[N-syklopropyylimetyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia] (yhdistettä IV: R^4 = CH_2 -<, R^5, R^6 = H;

R^7 = C_2H_5) 48 ml:ssa abs. DME:tä ja sekoitettiin 3,5 tuntia 20 - 23 °C:ssa. Tämän jälkeen reaktioseos haihdutettiin vakuumissa korkeintaan 25 °C:n haudelämpötilassa. Öljymäinen jäännös liuotettiin 200 ml:aan eetteriä ja ravisteltiin 50 ml:n kanssa 2 N HCl:ää. Tällöin kiteytymä saostui (muodostuneen yhdisteen II hydrokloridi (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_2 -◁)). Tämä imusuodatettiin ja pestiin eetterillä ja vedellä. Tämän jälkeen tämä kiteinen aine suspendoitiin 150 ml:aan vettä ja 10 - 18 °C:ssa tiputettiin 2 N NaOH:ta, kunnes pH oli 8,7 - 8,9. Sitten sekoitettiin 1 tunti jäällä jäähdyttäen, kiinteä aine imusuodatettiin ja pestiin vedellä ja kuivattiin 50 tunnin ajan 22 - 24 °C:ssa P_2O_5:llä vakuumissa (6 - 8 mbar). Saatiin 11,2 g (saanto = 38,3 %) 1-syano-1-[N-syklopropyylimetyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)-karbamoyyli]-2-[(imino-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)metyyli)amino]-eteeniä (yhdistettä II: R^1, R^2 =CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_2 -◁), jp.: 180 - 181 °C (hajoten).

$C_{21}H_{23}F_3N_6O_2$ (448,46)

Laskettu:	C 56,24	H 5,17	F 12,71	N 18,74 %
Löydetty:	C 56,4	H 5,1	F 12,4	N 19,1 %.

Esimerkki 86

Suspensioon, jossa oli 449 mg (1 mmol) esimerkin 85 mukaan saatua yhdistettä II 2,5 ml:ssa vettä, lisättiin huoneenlämpötilassa 0,5 ml 2 N HCl:ää, sekoitettiin 10 minuuttia huoneenlämpötilassa ja 40 minuuttia jäällä jäähdyttäen ja sitten imusuodatettiin. Kiteitä kuivattiin 28 tunnin ajan 23 - 25 °C:ssa P_4O_{10}:llä vakuumissa (6 - 8 mbar). Saatiin 0,46 g (saanto 94,9 %) 1-syano-1-[N-syklopropyylimetyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)karbamoyyli]-2-[(imino-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)-metyyli)amino]eteeni-hydrokloridia, jp.: 179 - 180 °C.

$C_{21}H_{24}ClF_3N_6O_2$ (484,93)

Laskettu: Cl^- 7,31 %

Löydetty Cl^- 7,4 %.

Esimerkki 87

Suspensioon, jossa oli 3,91 g (25 mmol) 1-amidino-4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidiiniä 16 ml:ssa abs. DME:tä, tiputettiin 20 °C:ssa liuos, jossa oli 8,2 g (puhdistamatonta, noin 90 %:ista) 2-syano-3-etoksi-akryylihappo-[N-isopropyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia] (yhdistettä IV: R^4 = $CH(CH_3)_2$; R^5, R^6 = H; R^7 = C_2H_5) 20 ml:ssa abs. DME:tä ja sekoitettiin 4,5 tuntia 22 - 24 °C:ssa. Tämän jälkeen seos haihdutettiin vakuumissa korkeintaan 25 °C:n haudelämpötilassa. Öljymäinen jäännös liuotettiin 250 ml:aan eetteriä ja ravisteltiin kuusi kertaa kulloinkin 25 ml:n kanssa vettä. Tämän jälkeen eetteriliuos kuivattiin $MgSO_4$:llä, suodatettiin ja haihdutettiin vakuumissa (< 26 °C). Jäännös (12,7 g) oli osittain kiteistä. Tämä liuotettiin 40 ml:aan eetteriä, lisättiin 2 ml pentaania, annettiin seistä 2 päivää 4 - 6 °C:ssa ja lopuksi kiteet imusuodatettiin. Sen jälkeen, kun oli kuivattu (48 tuntia, 6 - 8 mbar, 20 - 24 °C, P_4O_{10}) saatiin 5,12 g (saanto = 47 %) DC-puhdasta yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH(CH_3)_2$), jp.: 121 - 122 °C.

$C_{20}H_{23}F_3N_6O_2$ (436,45)

Laskettu:	C 55,04	H 5,31	F 13,06	N 19,26 %
Löydetty:	C 54,9	H 5,6	F 12,4	N 18,5 %.

Esimerkki 88

Vastaavalla tavalla, kuten esimerkissä 86 kuvattiin, muutettiin 1 mmol (437 mg) esimerkin 87 mukaan valmistettua yhdistettä II hydrokloridiksi. Saatiin 400 mg (saanto 84,6 %) 1-syano-1-[N-isopropyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)karbamoyyli]-2-[(imino-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)metyyli)amino]eteeni-hydrokloridia, jp.: 258 - 260 °C.

$C_{20}H_{24}ClF_3N_6O_2$ (472,92)

Laskettu: Cl^- 7,50 %

Löydetty Cl^- 7,4 %.

Esimerkki 89

Vastaavalla tavalla, kuten esimerkissä 86 kuvattiin, muutettiin 1 mmol (479 mg) esimerkin 97 mukaan valmistettua yhdistettä II hydrokloridiksi. Saatiin 1,02 g (99 %) 1-syano-1-[N-(1,3-dimetyyli-1-butyyli)-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)karbamoyyli]-2-[(imino-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)metyyli)amino]eteeni-hydrokloridia, jp.: 255 - 256 °C.

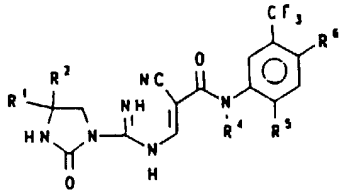
$C_{23}H_{30}ClF_3N_6O_2$ (515,00)

Laskettu: C 53,64 H 5,87 Cl^- 6,88 F 11,07 N 16,32 %

Löydetty: C 53,4 H 5, Cl^- 6,4 F 10,6 N 16,1 %.

Käyttäen esimerkeissä 82 - 84, 85 ja 87 kuvattuja työskentelytapoja, jotka eroavat toisistaan ennen kaikkea työstön suhteen, valmistettiin seuraavassa taulukossa 5 esitettyjä yhdisteitä II (esimerkit 90 - 112). Taulukossa 5 esitettyjen yksittäisten yhdisteiden kohdalla on kulloinkin viitattu esimerkkiin, jonka mukaan tätä yhdistettä II on valmistettu.

Taulukko 5



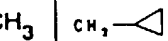
II (R^3 = H)

Esim. nro	R^1	R^2	R^4	R^5	R^6	Jp. [°C]	Laskettu C	H	F	N	Löydetty C	H	F	N	Saatu seuraavien esim. mukaisesti
90	CH_3	CH_3	C_2H_5	H	H	176-77	54,02	5,01	13,49	19,90	54,3	5,0	12,5	20,2	82-84
91	CH_3	CH_3	C_2H_5	F	H	213-14	51,82	4,58	17,26	19,08	51,9	4,9	16,4	19,1	82-84
92	CH_3	CH_3	$CH(CH_3)_2$	H	F	197-98	52,86	4,88	16,72	18,49	53,1	4,6	15,9	18,3	82-84

Taulukko 5 (jatkoa)

Esim nro	R^1	R^2	R^4	R^5	R^6	Jp. [°C]	Laskettu C	H	F	N	Löydetty C	H	F	N	Saatu seuraavien esim. mukaisesti
93	CH_3	CH_3	C_4H_9	H	H	191-92	55,99	5,59	12,65	18,66	56,0	5,5	12,5	18,9	85
94	CH_3	CH_3	$H_3CCHC_2H_5$	H	H	178-80	55,99	5,59	12,65	18,66	56,0	5,4	12,7	18,5	85
95	CH_3	CH_3	C_5H_{11}	H	H	173-74	56,89	5,86	12,27	18,09					82-84
96	CH_3	CH_3	$CH_2C(CH_3)_3$	H	H	124-26	56,89	5,86	12,27	18,09	57,2	5,9	11,8	18,2	82-84
97	CH_3	CH_3	$H_3CCHCH_2CH(CH_3)_2$	H	H	141-43	57,73	6,11	11,91	17,56	56,8	6,0	11,6	17,2	85
98	CH_3	CH_3	$H_3CCHCH_2CH(CH_3)_2$	H	F	156-57	55,64	5,68	15,31	16,93	55,3	5,4	15,6	16,9	85

Taulukko 5 (jatkoa)

Esim. nro	R^1	R^2	R^4	R^5	R^6	Jp. [°C]	Laskettu C	H	F	N	Löydetty C	H	F	N	Saatu seuraavien esim. mukaisesti
99	CH_3	CH_3	$CH_2CH=CH_2$	H	H	184-85	55,29	4,87	13,12	19,35					82-84
100	CH_3	CH_3	$H_3CCH(CH_2)_2CH=C(CH_3)_2$	H	H	116-17	59,51	6,19	11,30	16,66	58,5	6,1	10,8	16,6	85
101	CH_3	CH_3		H	H	185-86	57,13	5,45	12,32	18,17	56,9	5,4	11,3	18,0	87
102	CH_3	CH_3		F	H	210-11	54,07	4,75	16,29	18.02	54,2	4,7	15,9	17,7	82-84
103	H	H	CH_3	H	H	195-96	50,53	3,98	14,99	22,10	50,1	4,0	13,4	23,7	82-84
104	H	H	C_4H_9	H	H	213-14	54,02	5,01	13,49	19,90	53,5	5,0	12,8	19,9	82-84

Taulukko 5 (jatkoa)

Esim. nro	R^1	R^2	R^4	R^5	R^6	Jp. [°C]	Laskettu C	H	F	N	Löydetty C	H	F	N	Saatu seuraavien esim. mukaisesti
105	CH_3	H	CH_3	H	H	195-96	51,78	4,35	14,45	21,31	52,0	4,1	14,1	21,4	82-84
106	CH_3	H	$CH_2CH(CH_3)_2$	H	H	152-53	55,04	5,31	13,06	19,26	54,1	4,9	12,3	18,7	82-85
107	CH_3	H	$H_3CCHCH_2CH(CH_3)_2$	H	F	173-74	54,77	5,43	15,75	17,42					85
108	CH_3	H		H	H	166-67	56,24	5,17	12,71	18,74	54,2	5,0	12,0	17,9	85
109	$CH=CH_2$	H	CH_3	H	H	192-93	53,20	4,22	14,03	20,68	53,4	4,0	13,4	20,3	82-84
110	$CH=CH_2$	H	C_2H_5	F	H	202-03	52,05	4,14	17,34	19,17	51,8	4,3		19,4	82-84

Taulukko 5 (jatkoa)

Esim nro	R^1	R^2	R^4	R^5	R^6	Jp. [°C]	Laskettu C	H	F	N	Löydetty C	H	F	N	Saatu seuraavien esim. mukaisesti
111	$CH=CH_2$	H	$CH_2CH(CH_3)_2$	H	H	175-76	56,24	5,17	12,71	18,74	55,8	5,0		18,9	85
112	$CH=CH_2$	H	C_5H_{11}	H	H	146-47	57,13	5,45	12,32	18,17	57,0	5,7		18,5	82-84

105029

Esimerkki 113

Liuokseen, jossa oli 1,315 g (3 mmol) esimerkin 79 mukaan valmistettua yhdistettä I (R^1 = $CH=CH_2$; R^2, R^3, R^6 = H; R^4 = C_2H_5; R^5 = F) 10 ml:ssa asetonia, lisättiin huoneenlämpötilassa 0,57 ml 6,17 molaarista HCl-liuosta eetterissä. Muodostunutta suspensiota sekoitettiin 1,5 tunnin ajan jäällä jäähdyttäen. Tämän jälkeen kiteet imusuodatettiin, pestiin asetonilla ja eetterillä ja kuivattiin 15 tunnin ajan 100 °C:ssa vakuumissa (5 - 8 mbar). Saatiin 1,40 g (saanto 98,3 %) puhdasta 4-amino-2-(4-vinyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-etyyli-N-(2-fluori-5-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 259 - 260 °C (hajoten).

$C_{19}H_{19}ClF_4N_6O_2$ (474,87)

Laskettu: Cl^- 7,47 %

Löydetty Cl^- 7,4 %.

Esimerkin 113 tai esimerkin 6 mukaisesti valmistettiin seuraavassa taulukossa 6 (esimerkit 114 - 117) esitettyjä yhdisteiden I hydroklorideja.

Taulukko 6 Esimerkit 114 - 117

Esimerkki no.	Seuraavan esimerkin mukaisen yhdisteen I hydrokloridi	Jp. [°C]	Laskettu Cl^- %	Löydetty Cl^- %
114	74 - 76	276-77	7,50	7,7
115	81	284-85	6,83	6,8
116	80	269-70	7,31	7,5
117	77	247-48	7,11	7,2

Esimerkki 118

Seosta, jossa oli 2,80 g (6,41 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = C_2H_5; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_3), 210 mg vedetöntä oksaalihappoa ja 4,75 ml jääetikkaa, sekoitettiin 2,5 tunnin ajan 70 °C:ssa, jolloin 20 minuutin kuluttua muodostui liuos. Tämän jälkeen haihdutettiin vakuumissa. Jäännös liuotettiin 70 ml:aan CH_2Cl_2:ta ja ravisteltiin peräkkäin kolme kertaa kulloinkin 20 ml:n kanssa n NaOH:ta ja lopuksi kaksi kertaa kulloinkin 20 ml:n kanssa vettä. CH_2Cl_2-liuos kuivattiin $MgSO_4$:llä, suodatettiin ja haihdutettiin vakuumissa. Jäännös liuotettiin noin 15 ml:aan eetteriä, jolloin tapahtui kiteytyminen. Kiteinen tuote imusuodatettiin ja pestiin eetterillä ja kuivattiin 17 tunnin ajan 100 °C:ssa vakuumissa. Saatiin 1,81 g (saanto 64,6 %) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dietyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-metyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 185 - 187 °C

$C_{20}H_{23}F_3N_6O_2$ (436,45)

Laskettu:	C 55,04	H 5,31	N 19,26 %
Löydetty:	C 54,8	H 5,2	N 19,2 %

Esimerkki 119

Esimerkissä 6 kuvatun työskentelytavan mukaisesti muutettiin 3,60 g (8,25 mmol) esimerkin 118 mukaan valmistettua yhdistettä I (R^1, R^2 = C_2H_5; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_3) hydrokloridiksi. Saatiin 3,42 g (saanto 87,7 %) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dietyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-metyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 196 - 197 °C

$C_{20}H_{24}ClF_3N_6O_2$ (472,92)

Laskettu:	C 50,80	H 5,12	Cl^- 7,50	F 12,05	N 17,77 %
Löydetty:	C 50,9	H 4,9	Cl^- 7,4	F 11,6	N 17,7 %.

Esimerkki 120

Käyttäen esimerkeissä 82 - 84 kuvattuja työskentelytapoja saatiin lähtien 6,58 g:sta (24,8 mmol) 1-amidino-4,4-dietyyli-2-okso-imidatsolidiini-hydrobromidia (yhdiste

III: R^1, R^2 = C_2H_5; R^3 = H hydrobromidina) ja 3,87 g:sta (26,1 mmol) diatsabisykloundekeenia (DBU) apuemäksenä ja 7,40 g:sta (24,8 mmol) yhdistettä IV (R^4 = CH_3; R^5, R^6 = H; R^7 = C_2H_5) 3,94 g (saanto 36,4 %) puhdasta 1-syano-1-[N-metyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)karbamoyyli]-2-[(imino-(4,4-dietyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)metyyli)amino]eteeniä (yhdistettä II: R^1, R^2 =C_2H_5; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = CH_3), jp.: 184 - 187 °C.

$C_{20}H_{23}F_3N_6O_2$ (436,45)

Laskettu:	C 55,04	H 5,31	N 19,26 %
Löydetty:	C 55,5	H 4,9	N 19,5 %.

Esimerkki 121

Esimerkin 118 mukaisesti saatiin lähtien 4,52 g:sta (10 mmol) yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH_3OCH_2CH_2$), 360 mg:sta vedetöntä oksaalihappoa ja 7 ml:sta jääetikkaa 2,65 g (saanto 58,6 %) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-(2-metoksi-etyyli-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidia), jp.: 192 - 193 °C

$C_{20}H_{23}F_3N_6O_3$ (452,45)

Laskettu:	C 53,09	H 5,12	N 18,58 %
Löydetty:	C 52,8	H 5,0	N 18,8 %.

Lähtöaineena tarvittavaa yhdistettä II (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH_3OCH_2CH_2$) valmistettiin esimerkeissä 82 - 84 kuvatun työskentelytavan mukaisesti lähtien vastaavista yhdisteistä III (R^1, R^2 = CH_3; R^3 = H) ja IV (R^4 = $CH_3OCH_2CH_2$; R^5, R^6 = H; R^7 = C_2H_5). jp.: 170 - 171 °C.

Esimerkki 122

Esimerkissä 6 kuvatun työskentelytavan mukaisesti, muutettiin 2,51 g (5,6 mmol) esimerkin 121 mukaan valmistettua yhdistettä I (R^1, R^2 = CH_3; R^3, R^5, R^6 = H; R^4 = $CH_3OCH_2CH_2$) hydrokloridiksi. Saatiin 2,70 g (saanto ~ 100 %) puhdasta 4-amino-2-(4,4-dimetyyli-2-okso-imidatsolidin-1-yyli)pyrimidiini-5-karboksyylihappo-(N-(2-metoksi-etyy-

li)-N-(3-trifluorimetyyli-fenyyli)amidi)hydrokloridia, jp.: 181 - 182°C.

$C_{20}H_{24}ClF_3N_6O_3$ (488,92)

Laskettu: C 49,13 H 4,95 Cl^- 7,25 F 11,66 N 17,19 %

Löydetty: C 48,9 H 4,8 Cl^- 7,3 F 11,6 N 17,0 %

Esimerkki 123

Seuraavan koostumuksen omaavan kalvotabletin valmistus

Aineosat/tabletti	Paino (mg)
1. Esimerkin 2 mukainen yhdiste I	100
2. Laktoosi	35
3. Maissitärkkelys	20
4. Mikrokiteinen selluloosa	10
5. Natrium-tärkkelysglykolaatti	8
6. Piidioksidi	5
7. Magnesiumstearaatti	2
8. Kalvolakka	10
Kokonaispaino	190

a) Aineet 1 - 4 sekoitetaan, kompaktoidaan ja viedään Frewitt-seulan läpi (seulan aukko 1,0 mm).

b) Kohdasta a) saadut rakeet puuteroidaan aineilla 5 - 7 ja puristetaan.

c) Kohdasta b) saadut tabletit lakataan vesipitoisella kalvolakalla.

Esimerkki 124

Seuraavan koostumuksen omaavan kalvotabletin valmistus

Aineosat/tabletti	Paino (mg)
1. Esimerkin 12 mukainen yhdiste I	100
2. Laktoosi	11
3. Hydroksipropyylimetyyliselluloosa	60
4. Mikrokiteinen selluloosa	7
5. Magnesiumstearaatti	2
6. Kalvolakka	10
Kokonaispaino	190

a) Aineet 1 - 4 sekoitetaan, kompaktoidaan ja viedään Frewitt-seulan läpi (seulan aukko 1,0 mm).

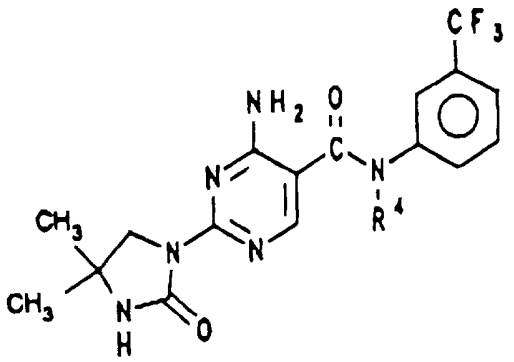
b) Kohdasta a) saadut rakeet puuteroidaan aineella 5 ja puristetaan.

c) Kohdasta b) saadut tabletit lakataan vesipitoisella kalvolakalla.

Tämän tablettilajin kohdalla on kyse valmisteesta, jossa vaikuttavan aineen vapautuminen on hidastettua.

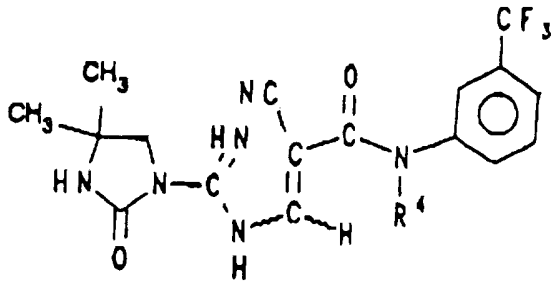
Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten 4-amino-2-ureidopyrimidiini-5-karboksyylihappoamidien valmistamiseksi, joilla on kaava



(I)

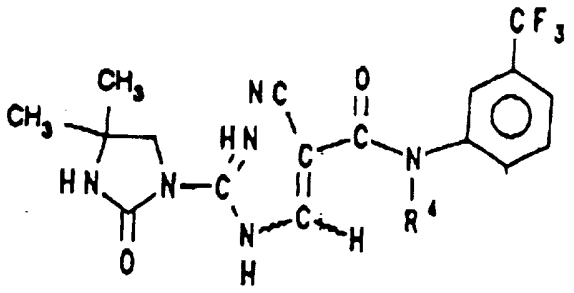
jossa R^4 on C_{2-3}-alkyyli, allyyli tai syklopropyylimetyyli, sekä niiden hyvin vesiliukoisten, fysiologisesti käytettävien happoadditiosuolojen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että yhdiste, jolla on kaava II



(II)

jossa
R^4 merkitsee samaa kuin kaavassa I, tai kaavan II mukaisen yhdisteen suola tai suolaseos syklisoidaan 0 - 240 °C:n lämpötilassa lisäämällä liuotinta tai ilman liuotinlisäystä kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi tai kaavan I mukaisen yhdisteen suolaksi tai suolaseokseksi, saatu kaavan I mukainen yhdiste mahdollisesti muutetaan veteen hyvin liukenevaksi suolaksi tai saatu suola tai suolaseos muutetaan mahdollisesti veteen hyvin liukenevaksi suolaksi.

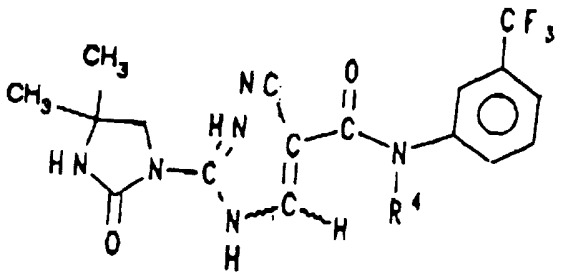
2. Yhdisteet, joilla on kaava II



(II)

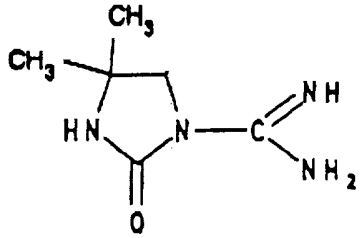
jossa R^4 on C_{2-3}-alkyyli, allyyli tai syklopropyylimetyyli, sekä niiden happoadditiosuolat.

3. Menetelmä yhdisteiden valmistamiseksi, joilla on kaava II



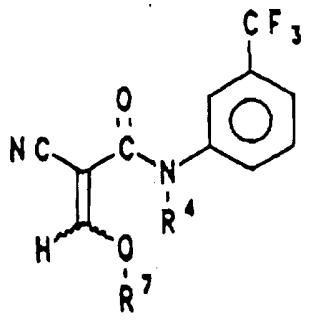
(II)

jossa R^4 on C_{2-3}-alkyyli, allyyli tai syklopropyylimetyyli, sekä niiden happoadditiosuolojen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että yhdiste, jolla on kaava III



(III)

tai sen suola saatetaan reagoimaan yhdisteen kanssa, jolla on kaava IV

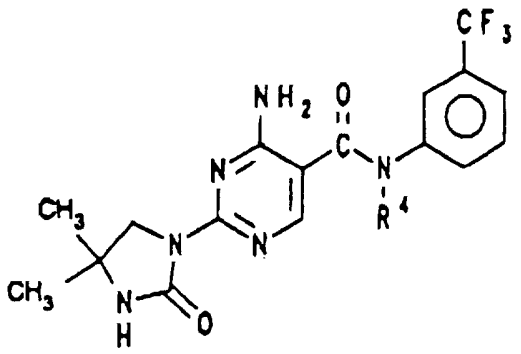


(IV)

jossa R^4 merkitsee samaa kuin kaavassa II ja R^7 on (C_{1-4})alkyyli, orgaanisen liuottimen tai laimennusaineen läsnä ollessa, jolloin muodostuu kaavan II mukainen yhdiste tai sen suola, ja saatu kaavan II mukainen yhdiste muutetaan mahdollisesti suolaksi tai saatu suola muutetaan mahdollisesti kaavan II mukaiseksi yhdisteeksi.

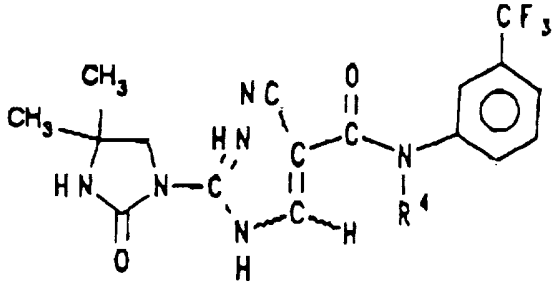
Patentkrav

1. Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara 4-amino-2-ureidopyrimidin-5-karboxylsyraamider med formeln



(I)

där R^4 är C_{2-3}-alkyl, allyl eller cyklopropylmetyl, samt för framställning av välvattenlösliga, fysiologiskt användbara syraadditionssalter därav, k ä n n e t e c k n a t därav, att en förening med formeln II



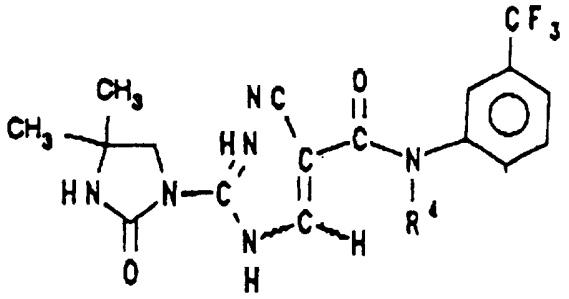
(II)

där

R^4 betecknar samma som i formeln I, eller ett salt eller en saltblandning av föreningen med formeln II cykliseras vid en temperatur av 0 - 240 °C under tillsättning av ett lösningsmedel eller utan lösningsmedel till en förening med formeln I eller ett salt eller en saltblandning av en förening med formeln I, den erhållna föreningen med formeln I omvandlas eventuellt till ett i vatten vällösligt

salt eller ett erhållet salt eller en saltblandning omvandlas eventuellt till ett i vatten vällösligt salt.

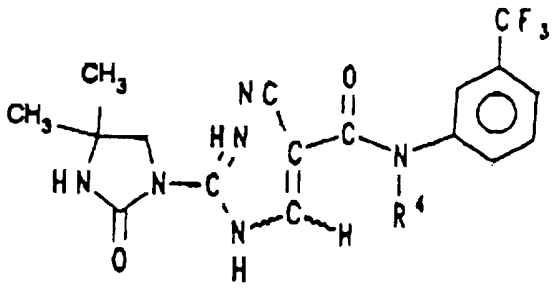
2. Föreningar med formeln II



(II)

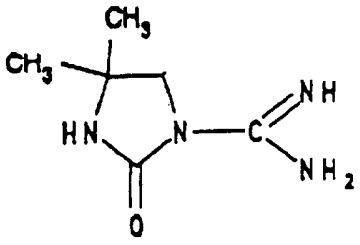
där R^4 är C_{2-3}-alkyl, allyl eller cyklopropylmetyl, samt syraadditionssalter därav.

3. Förfarande för framställning av föreningar med formeln II



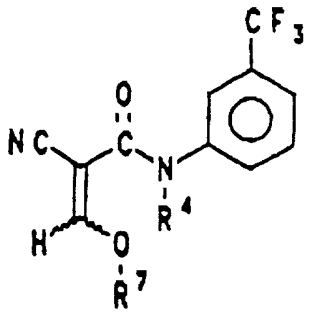
(II)

där R^4 är C_{2-3}-alkyl, allyl eller cyklopropylmetyl, samt för framställning av syraadditionssalter därav, k ä n n e t e c k n a t därav, att en förening med formeln III



(III)

eller ett salt därav omsätts med en förening med formeln IV



(IV)

där R^4 betecknar samma som i formeln II och R^7 är (C_{1-4})-alkyl, i närvaro av ett organiskt lösningsmedel eller utspädningsmedel, varvid bildas en förening med formeln II eller ett salt därav, och en erhållen förening med formeln II omvandlas eventuellt till ett salt eller ett erhållet salt omvandlas eventuellt till en förening med formeln II.