(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

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

(10) **FI 951296 A7**

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

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 951296

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07D277/68
C07D417/10

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **20.03.1995**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **20.03.1995**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **23.09.1995**

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

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

22.03.1994 FR 9403299 22.03.1994 FR 9403300

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •**Les Laboratoires Servier,** 1, rue Carle Hébert, 92415 Courbevcie Cedex, RANSKA, (FR)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •**Ait Mansour, Hamid,** France, RANSKA, (FR)
2 •**Taverne, Thierry,** France, RANSKA, (FR)
3 •**Houssin, Raymond,** France, RANSKA, (FR)
4 •**Lesieur, Isabelle,** France, RANSKA, (FR)
5 •**Depreux, Patrick,** Armentieres, RANSKA, (FR)
6 •**Adam, Gerard,** France, RANSKA, (FR)
7 •**Caignard, Daniel-Henri,** France, RANSKA, (FR)
8 •**Renard, Pierre,** Versailles, RANSKA, (FR)
9 •**Rettori, Marie-Claire,** France, RANSKA, (FR)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Oy Jalo Ant-Wuorinen Ab, Iso Roobertinkatu 4 - 6 A, 00120 Helsinki

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

Uudet aminoalkyylibentsotiatsolinonit, menetelmä niiden valmistamiseksi ja niitä sisältävät farmaseuttiset koostumukset

Nya aminoalkylbensotiazolinoner, förfarande för deras framställning och farmaceutiska kompositioner som innehåller dessa föreningar

Uudet aminoalkyylibentsotiatsolinonit, menetelmä niiden valmistamiseksi ja niitä sisältävät farmaseuttiset koostumukset

Keksintö koskee uusia aminoalkyylibentsotiatsolinoneja, menetelmää niiden valmistamiseksi ja niitä sisältäviä farmaseuttisia koostumuksia.

EP-patenttihakemuksessa 478,446 kuvataan (aminoalkyyli)-bentsotiatsolinoniyhdisteet antipsykoottisina aineina, analgeettisina aineina ja ahdistusta lievittävinä aineina.

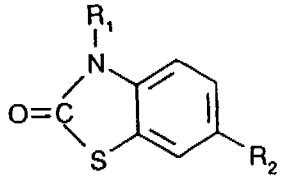
Hakija on nyt keksinyt uusia aminoalkyylibentsotiatsolinoneja, joilla on yllättävästi paljon voimakkaampi affiniteetti sigma(σ) -reseptoreihin kuin EP-patenttihakemuksen 478,446 yhdisteillä.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden hyvin suuri affiniteetti sigmareseptoreihin , joka on huomattavasti suurempi kuin EP-patenttihakemuksen 478,446 yhdisteillä saavutettu, tekee mahdolliseksi niiden käytön tämän tyyppisiin reseptoreihin liittyvien sairauksien ennaltaestossa ja hoidossa, ts. psykiatristen sairauksien, psykoosin, skitsofrenian, depression, stressin, ahdistuneisuuden, aivojen verenkierron tehottomuuden, muistihäiriöiden ja Alzheimerin taudin, samoin kuin immuunityyppisten tulehdussairausten, akuutin niveltulehduksen tai kroonisen niveltulehduksen, ja suolen aaltomaisen liikkeen häiriöiden.

Lisäksi keksinnön mukaisten yhdisteiden suuri selektiivisyys sigmareseptoreille, erityisesti niiden D_2-reseptoreihin kohdistuvan affiniteetin puute, sallii niiden terapeuttisen käytön, samalla kun turvallisuus lisääntyy. Erityisesti ekstrapyramidaalityyppisiä sivuvaikutuksia, joita kohdataan hoidettaessa tuotteilla, joilla on voimakas D_2-komponentti, josta nämä vaikutukset johtuvat, ei ole keksinnön mukaisilla tuotteilla, joilla on keskimäärin 100 - 1 000 kertaa alhaisempi affiniteetti D_2-reseptoreille kuin

EP-patenttihakemuksen 478,446 yhdisteillä. Vastapainona keksinnön mukaisilla tuotteilla on 10 000 - 100 000 kertaa suurempi (sigmareseptoriaffiniteetti):(D_2-reseptoriaffiniteetti)-selektiivisyyssuhde kuin EP-patenttihakemuksen 478,446 yhdisteillä, mikä on täysin odottamatonta EP-patenttihakemuksen 478,446 valossa, parantaen täten niiden käyttöturvallisuutta huomattavasti.

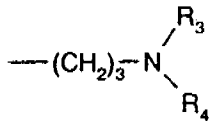
Tarkemmin sanottuna keksintö koskee kaavan I mukaisia yhdisteitä:



(I)

jossa:

- R_1 on vety tai alkyyli- tai substituoitu alkyylitähde,
- ja R_2 on kaavan R_{21} mukainen ryhmä:

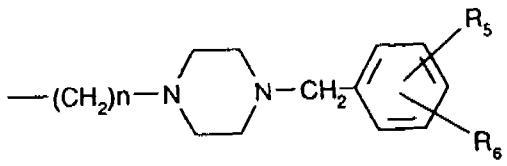


(R_{21})

jossa:

- R_3 ja R_4 ovat, toisistaan riippumatta vetyatomi tai tähde, joka on alkyyli, sykloalkyyli, sykloalkyylialkyyli, alkenyyli, alkynyyli tai $-(CH_2)_m$-aryyli; jolloin m on 0, 1, 2, 3 tai 4 jolloin aryyliryhmä on mahdollisesti substituoimaton tai substituoitu, tai vaihtoehtoisesti R_3 ja R_4 muodostavat yhdessä tyydyttyneen 5- - 9-jäsenisen heterosyklin, joka voi sisältää muita heteroatomeja, joita ovat happi ja rikki, ja joka voi olla substituoimaton tai

substituoitu tai 4-(metoksifenyyli)-piperatsin-1-yyliryhmä,
tai kaavan R_{22} mukainen ryhmä:



(R_{22})

jossa n on 2, 3 tai 4,
ja R_5 ja R_6, jotka ovat identtiset, ovat vety tai halogeeni,
jolloin ymmärretään, että kaavan I kuvauksessa,

- käsite "substituoitu", joka liittyy "aryyli"-tähteeseen, tarkoittaa, että substituutio voidaan tehdä yhdellä tai useammalla tähteellä, joita ovat halogeeni, hydroksyyli, alkyyli, alempi alkoksi ja alkyyli, joka on substituoitu yhdellä tai usealla halogeenilla,
- käsite "substituoitu" -NR_3R_4:n muodostaman heterosyklin yhteydessä tarkoittaa, että substituutio voidaan tehdä yhdellä tai useammalla alkyylitähteellä,
- käsitteet "alkyyli" ja "alkoksi" merkitsevät suoraketjuisia tai haaroittuneita ryhmiä, jotka sisältävät 1 - 6 hiiliatomia,
- käsitteet "alkenyyli" ja "alkynyyli" merkitsevät suoraketjuisia tai haaroittuneita ryhmiä, joissa on 2 - 6 hiiliatomia,
- käsite "aryyli" tarkoittaa fenyyliä tai naftyyliä,
- ja käsite "sykloalkyyli" merkitsee syklistä ryhmää, jossa on 3 - 8 hiiliatomia,

niiden optisia isomeerejä ja niiden additiosuoloja farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon kanssa, tai kun R_1 on vetyatomi, niiden additiosuoloja farmaseuttisesti hyväksyttävän emäksen kanssa.

Keksintö koskee erityisesti kaavan I mukaisia yhdisteitä, jossa R_2 on kaavan R_{21} mukainen ryhmä ja R_3 ja R_4 muodosta-

vat, yhdessä ne kantavan typpiatomin kanssa, ryhmän, joka on morfolino, pyrrolidino, piperidino tai perhydroatsepino, esimerkiksi morfolino.

Erityisesti keksintö koskee kaavan I mukaisia yhdisteitä, jossa R_2 on kaavan R_{22} mukainen ryhmä ja R_5 ja R_6, jotka ovat identtiset, ovat kloori.

Farmaseuttisesti hyväksyttävistä hapoista, joita voidaan käyttää additiosuolan muodostukseen keksinnön mukaisten yhdisteiden kanssa, mainittavia ei-rajoittavia esimerkkejä ovat suolahappo, rikkihappo, fosforihappo, viinihappo, omenahappo, maleiinihappo, fumaarihappo, oksaalihappo, metaanisulfonihappo, etaanisulfonihappo, kamferihappo ja sitruunahappo.

Farmaseuttisesti hyväksyttävistä emäksistä, joita voidaan käyttää additiosuolan muodostukseen keksinnön mukaisten yhdisteiden kanssa, mainittavia ei-rajoittavia esimerkkejä ovat natriumhydroksidi, kaliumhydroksidi, kalsiumhydroksidi ja alumiinihydroksidi, alkalimetalli- ja maa-alkalimetallikarbonaatit, ja orgaaniset emäkset kuten trietyyliamiini, bentsyyliamiini, dietanoliamiini, tert-butyyliamiini, disykloheksyyliamiini ja arginiini.

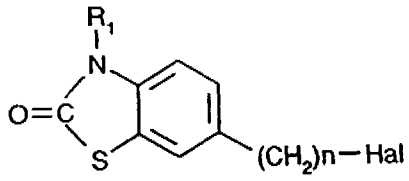
Kaavassa I läsnä olevia alkyyliradikaaleja voivat erityisesti olla metyyli, etyyli, n-propyyli, isopropyyli, n-butyyli, isobutyyli, sec-butyyli, tert-butyyli, pentyyli tai heksyyli.

Kaavassa I läsnä olevia alkoksitähteitä voivat olla metoksi, etoksi, n-propoksi, isopropoksi, n-butoksi, isobutoksi, sec-butoksi, tert-butoksi, pentyylioksi ja heksyylioksi.

Kaavassa I läsnä olevia halogeeneja voivat olla bromi, kloori, fluori ja jodi.

Kaavan I substituenteissa läsnä olevia sykloalkyylejä voivat olla syklopropyyli, syklobutyyli, syklopentyyli, sykloheksyyli, sykloheptyyli ja syklo-oktyyli.

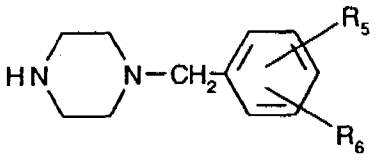
Keksintö kattaa myös menetelmän kaavan I mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi, jossa lisätään sopivaan liuokseen kaavan II mukaista yhdistettä:



(II)

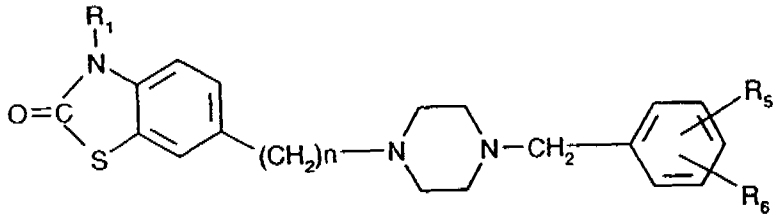
jossa R_1 ja n tarkoittavat samaa kuin kaavassa I ja Hal on halogeeniatomi, joka yhdiste kondensoidaan:

- joko kaavan III/a mukaisen yhdisteen kanssa:



(III/a)

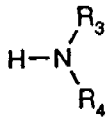
jossa R_5 ja R_6 ovat kaavassa I määritellyt,
jolloin saadaan kaavan I/a mukainen yhdiste:



(I/a)

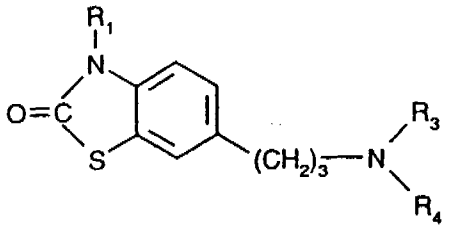
jossa R_1, R_5, R_6 ja n ovat edellä määritellyt,

- tai, kun n on 3, kaavan III/b mukaisen yhdisteen kanssa:



(III/b)

jossa R_3 ja R_4 ovat kaavassa I määritellyt,
jolloin saadaan kaavan I/b mukainen yhdiste:



(I/b)

jossa R_1, R_3 ja R_4 ovat edellä määritellyt,

kaavojen I/a ja I/b mukaisten yhdisteiden muodostaessa yhdessä kaavan I mukaiset yhdisteet, jotka erotetaan halutaessa eri optisiksi isomeereikseen tai muodostetaan suoloikseen farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon kanssa, tai jos R_1 on vetyatomi, muodostetaan suoloikseen farmaseuttisesti hyväksyttävän emäksen kanssa.

Edellä kuvatussa menetelmässä käytetyt lähtöaineet ovat joko kaupallisia tai ovat kirjallisuuden hyvin tuntemilla menetelmillä ammattimiesten helposti saatavissa. Kaavan II mukaisten yhdisteiden suhteen viitataan erityisemmin EP-patenttihakemuksen 430,800 kuvaukseen.

Kaavan I mukaisilla yhdisteillä on edullisia farmakologisia ominaisuuksia.

Keksinnön mukaisten yhdisteiden hyvin suuri affiniteetti sigmareseptoreihin tekee ne hyvin käyttökelpoisiksi hoitamaan motorisia häiriöitä, lihasjänteyshäiriötä (Walker,

J.M.: Drug specifity of pharmacology dystonia, Pharmacol. Biochem. Behav. 1990, 36, 151), tardiivia dyskinesiaa (Lindstrom, L.H.: Acta Psychiatr. Scand. 1988, 77, 1122), psykoottisia häiriöitä (Chouinard, F., Annable, L., Psychopharmacology 1984, 84, 282), ääreis- tai aivojen iskemiaan liittyvää häiriötä, aivojen verenkierron tehottomuutta, muistihäiriöitä ja shokkitiloja (Pontecorvo, M.J., Brain Res. Bull. 1991, 26, 461). Lisäksi ne ovat hyvin käyttökelpoisia immuuni-ilmiöiden säätelyssä (Carroll, F.I., Med. Chem. Res. 1992 2, 3), kokaiiniriippuvuuden hoidossa (Abou - Gharbia, M., Academic. Press. Inc. Bristol. J. Ed. Publisher, 1993, 28, 1), kasvainten diagnosoinnissa ja paikantamisessa (Hudzik, T.K., Psychopharmacology, 1992, 108, 115; Abou - Gharbia, M., Academic. Press. Inc. Bristol. J. Ed. Publisher, 1993, 28, 1) ja oksetuksessa (Hudzik, T.J., Eur. J. Pharmacol. 1993, 236, 279)) samoin kuin immuuniperäisten tulehdussairausten ja suolen motiliteettihäiriöiden hoidossa.

Keksinnön kohteena ovat myös farmaseuttiset koostumukset, jotka sisältävät kaavan I mukaisia yhdisteitä tai jotakin niiden additiosuoloista farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon tai, mikäli sopivaa, emäksen kanssa, yhdistelmänä yhden tai useamman täyteaineen kanssa.

Keksinnön mukaisista farmaseuttisista koostumuksista voidaan erityisemmin mainita ne, jotka sopivat oraaliseen, parenteraaliseen, nasaaliseen, ihon läpi tai kautta tapahtuvaan, rektaaliseen, kielen kautta tapahtuvaan, okulaariseen tai hengitystiehyeisiin tapahtuvaan antoon, ja erityisesti yksinkertaiset tai sokeripäällysteiset tabletit, kielen alle asetettavat tabletit, lääkepussit, paketit, gelatiinikapselit, glossetit (glossettes), pastillit, peräpuikot, emulsiovoiteet, salvat, ihogeelit ja juotavat tai injisoitavat ampullit.

Annostelu vaihtelee potilaan sukupuolesta, iästä ja painosta, antotavasta, terapeuttisesta hoidonsyystä tai mahdollisesti yhdistelmänä suoritetuista hoidoista riippuen, ja on jaettu asteisiin välillä 0,1 mg ja 1 g otettuna kerran tai kahdesti 24 tunnin aikana, erityisemmin 1 - 100 mg, esimerkiksi 1 - 10 mg.

Seuraavat esimerkit kuvaavat keksintöä.

^{1}H-NMR-spektrit saatiin käyttämällä TMS:ää (tetrametyylisilaani) sisäisenä vertailuna. Kemialliset siirtymät ilmaistaan yksikössä ppm. IR-spektrit saatiin kaliumbromidipastillien muodossa, jotka sisälsivät noin 1 % analysoitavaa tuotetta.

Valmistukset eivät muodosta keksinnön osaa, mutta ne ovat käyttökelpoisia keksinnön mukaisten yhdisteiden synteesin suorituksessa.

Valmistus 1: 6-(3-klooripropionyyli)bentsotiatsolinoni

Reaktantit:

Bentsotiatsolinoni:	0,05 mol (7,55 g)
3-klooripropionyylikloridi:	0,05 mol (4,77 cm^3)
Alumiinikloridi:	0,40 mol (52,50 g)
Vedetön dimetyyliformamidi:	0,12 mol (9,20 cm^3)

Menettelytapa:

0,40 mol alumiinikloridia lisätään hioskaulaiseen kolviin, joka on varustettu vedenkondensoijalla, minkä jälkeen lisätään tipoittain 0,12 mol vedetöntä dimetyyliformamidia sekoittaen magneettisekoittimella.

Lisätään 0,05 mol bentsotiatsolinonia, ja lämpötila stabiloidaan 70 °C:seen. Väliaine homogenisoidaan läpikotaisin, ja lisätään hitaasti 0,05 mol 3-klooripropionyylikloridia.

Lisäyksen jälkeen seos jätetään sekoittumaan 1 tunniksi 70 °C:seen. Väliaine kaadetaan murskatulle jäälle ja suodatetaan, ja muodostunutta sakkaa pestään vedellä, kunnes pesuvedet ovat neutraaleja, sitten se kuivataan ja uudelleenkiteytetään.

Molekyylimassa: 241,69 $g \cdot mol^{-1}$ $C_{10}H_8ClNO_2S$:lle
Sulamispiste: 174 - 177 °C (hajoaa)
Saanto: 55 %
Uudelleenkiteytysliuotin: absoluuttinen etanoli

Valmistus 2: 6-(3-klooripropyyli)bentsotiatsolinoni

Reaktantit:

6-(3-klooripropionyyli)bentsotiatsolinoni:	0,10 mol (24,16 g)
Trifluorietikkahappo:	0,80 mol (61,60 cm^3)
Trietyylisilaani:	0,20 mol (32,00 cm^3)

Menettelytapa:

0,1 mol 6-(3-klooripropionyyli)bentsotiatsolinonia liuotetaan 0,8 mooliin trifluorietikkahappoa hioskaulaisessa kolvissa, jonka tilavuus on 250 cm^3. Lisätään tipoittain 0,2 mol trietyylisilaania tiputussuppilolla, samalla magneettisekoittimella sekoittaen.

Varustetaan kalsiumkloridisuojaputki, ja sekoittamista jatketaan vaaditun ajan huoneenlämpötilassa.

Reaktioseos kaadetaan 500 cm^3:iin jäävettä.

Saatu sakka suodatetaan, pestään vedellä kunnes pesuvedet ovat neutraaleja, ja kiteytetään sitten uudelleen.

Reaktioaika: 50 tuntia
Molekyylimassa: 227,71 g·mol^{-1} $C_{10}H_{10}ClNOS$:lle
Sulamispiste: 131 - 133 °C
Saanto: 86 %
Uudelleenkiteytysliuotin: tolueeni

Valmistus 3: 3-metyyli-6-(3-klooripropionyyli)bentsotiatsolinoni

Reaktantit:
3-metyylibentsotiatsolinoni: 0,05 mol (8,25 g)
3-klooripropionyylikloridi: 0,06 mol (5,72 cm^3)
Alumiinikloridi: 0,40 mol (52,50 g)
Dimetyyliformamidi: 0,20 mol (9,20 cm^3)

Menettelytapa:
Menettelytapa on identtinen menettelytavalle, jota käytettiin 6-(3-klooripropionyyli)bentsotiatsolinonin saamiseen, korvaten bentsotiatsolinoni 3-metyyli-bentsotiatsolinonilla.

Molekyylimassa: 237,27 g·mol^{-1} $C_{11}H_{10}ClNO_2S$:lle
Sulamispiste: 174 - 177 °C
Saanto: 60 %
Uudelleenkiteytysliuotin: absoluuttinen etanoli

Valmistus 4: 3-metyyli-6-(3-klooripropyyli)bentsotiatsolinoni

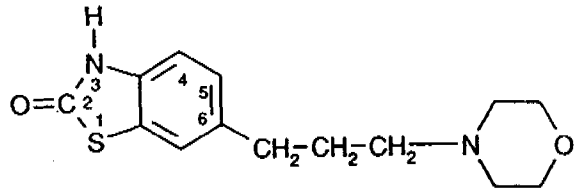
Reaktantit:
3-metyyli-6-(3-klooripropionyyli)-bentsotiatsolinoni: 0,1 mol (23,72 g)
Trifluorietikkahappo: 0,8 mol (61,60 cm^3)
Trietyylisilaani: 0,2 mol (32,00 cm^3)

Menettelytapa:

Menettelytapa on identtinen menettelytavalle, jota käytettiin 6-(3-klooripropyyli)bentsotiatsolinonin saamiseen korvaten 6-(3-klooripropionyyli)bentsotiatsolinoni 3-metyyli-6-(3-klooripropionyyli)bentsotiatsolinonilla.

Reaktioaika:	72 tuntia
Molekyylimassa:	241,73 $g \cdot mol^{-1}$ $C_{11}H_{12}ClNOS$:lle
Sulamispiste:	41 - 43 °C
Saanto:	84 %
Uudelleenkiteytysliuotin:	sykloheksaani

Esimerkki 1: 6-(3-morfolinopropyyli)bentsotiatsolinoni



(Esimerkki 1)

0,02 mol (4,55 g) 6-(3-klooripropyyli)bentsotiatsolinonia, 0,03 mol (2,60 cm^3) morfoliinia ja 0,03 mol (4,20 cm^3) trietyyliamiinia lisätään 80 cm^3:iin absoluuttista alkoholia, joka on hioskaulaisessa kolvissa, jonka tilavuus on 250 cm^3 ja joka on varustettu kondensoijalla.

Seosta kuumennetaan refluksoiden 30 tunnin ajan. Trietyyliamiinihydrokloridisakka suodatetaan pois, ja sitten suodos haihdutetaan alennetussa paineessa vesihauteella. Jäännös otetaan 1 N suolahapon vesiliuokseen ja uutetaan eetterillä.

Vesipohjaisen faasin pH säädetään emäksiseen pH-arvoon 10-%:isella natriumhydroksidin vesiliuoksella. Se uutetaan kahdesti eetterillä, ja eetterifaasit yhdistetään, kuivataan kalsiumkloridilla, suodatetaan ja haihdutetaan alennetussa paineessa.

Jäännös otetaan vedettömään eetteriin, ja kuplitetaan kloorivetykaasulla, ja muodostunut sakka suodatetaan ja uudelleenkiteytetään. Otsikkoyhdiste saadaan hydrokloridin muodossa.

Molekyylimassa: 314,83 $g \cdot mol^{-1}$ $C_{14}H_{19}ClN_2O_2S$:lle

Saanto:	62 %
Sulamispiste:	239 - 241 °C
Uudelleenkiteytysliuotin:	absoluuttinen alkoholi

Alkuaineanalyysi:

	% C	% H	% N
Laskettu:	54,40	6,08	8,89
Saatu:	54,33	5,86	8,72

IR-spektrometria:

2920	cm^{-1} ν CH (alkyylit)
2660 - 2450	cm^{-1} ν NH^+ (hydrokloridi)
1690	cm^{-1} ν CO (NCOS)
1600	cm^{-1} ν C=C (aromaattiset)

NMR-spektrometria (80 MHz; DMSO-d_6):

δ = 2,20	ppm (multipletti, 2H) CH_2-$\underline{CH_2}$-CH_2
δ = 2,70	ppm (tripletti, 2H) bentsotiatsolinoni-$\underline{CH_2}$
δ = 7,00	ppm (singletti, 2H) $H_{4,5}$ (bentsotiatsolinoni)
δ = 7,40	ppm (singletti, 1H) H_7 (bentsotiatsolinoni)
δ = 11,80	ppm (huippu, 2H) NH,NH^+, vaihdettavissa D_2O:ssa

Esimerkki 2: 3-metyyli-6-(3-morfolinopropyyli)bentsotiatsolinoni

Reaktantit:

3-metyyli-6-(3-klooripropyyli)-bentsotiatsolinoni:	0,02 mol (4,83 g)
Morfoliini:	0,03 mol (2,60 cm^3)
Trietyyliamiini:	0,03 mol (4,20 g)
Vedetön asetoni:	60 cm^3

Menettelytapa:

Menettelytapa on identtinen esimerkissä 1 käytetylle, korvaten 6-(3-klooripropyyli)bentsotiatsolinoni 3-metyyli-6-(3-klooripropyyli)bentsotiatsolinonilla.

Molekyylimassa: 328,86 $g \cdot mol^{-1}$ $C_{15}H_{21}ClN_2O_2S$:lle
Saanto: 67 %
Sulamispiste (hydrokloridi): 210 - 212 °C
Uudelleenkiteytysliuotin: absoluuttinen alkoholi

Alkuaineanalyysi:

	% C	% H	% N
Laskettu:	54,78	6,43	8,52
Saatu:	54,76	6,70	8,70

IR-spektrometria:

2900	cm^{-1} ν CH (alkyylit)
2660 - 2450	cm^{-1} ν NH^+ (hydrokloridi)
1670	cm^{-1} ν CO (NCOS)
1600	cm^{-1} ν C=C (aromaattiset)

NMR-spektrometria (80 MHz; DMSO-d_6):

δ = 2,10	ppm (multipletti, 2H) CH_2-$\underline{CH_2}$-CH_2
δ = 2,75	ppm (tripletti, 2H) bentsotiatsolinoni-$\underline{CH_2}$
δ = 3,40	ppm (singletti, 3H) NCH_3
δ = 3,90	ppm (multipletti, 4H) $\underline{CH_2}$-O-$\underline{CH_2}$
δ = 7,35	ppm (multipletti, 3H) $H_{4,5,7}$ (bentsotiatsolinoni)
δ = 11,20	ppm (huippu, 1H) NH^+,

vaihdettavissa D_2O:ssa

Esimerkki 3: 6-[3-(3,5-dimetyyli)morfolinopropyyli]bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini 3,5-dimetyylimorfoliinilla.

Esimerkki 4: 3-metyyli-6-[3-(3,5-dimetyyli)morfolinopropyyli]bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini 3,5-dimetyylimorfoliinilla.

Esimerkki 5: 6-(3-piperid-1-yyli-propyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini piperidiinillä.

Esimerkki 6: 3-metyyli-6-(3-piperid-1-yyli-propyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini piperidiinillä.

Esimerkki 7: 6-(3-pyrrolidin-1-yyli-propyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini pyrrolidiinilla.

Esimerkki 8: 3-metyyli-6-(3-pyrrolidin-1-yyli-propyyli)-bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini pyrrolidiinilla.

Esimerkki 9: 6-(3-N,N-dipropyyliaminopropyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini N,N-dipropyyliamiinilla.

Esimerkki 10: 3-metyyli-6-(3-N,N-dipropyyliaminopropyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini N,N-dipropyyliamiinilla.

Esimerkki 11: 6-(3-N-sykloheksyyliaminopropyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini sykloheksyyliamiinilla.

Esimerkki 12: 3-metyyli-6-(3-N-sykloheksyyliaminopropyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini sykloheksyyliamiinilla.

Esimerkki 13: 6-(3-bentsyyliaminopropyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini bentsyyliamiinilla.

Esimerkki 14: 3-metyyli-6-(3-bentsyyliaminopropyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini bentsyyliamiinilla.

Esimerkki 15: 6-[3-(4-metoksibentsyyli)aminopropyyli]bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini 4-metoksibentsyyliamiinilla.

Esimerkki 16: 3-metyyli-6-[3-(4-metoksibentsyyli)aminopropyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini 4-metoksibentsyyliamiinilla.

Esimerkki 17: 6-{3-[1-(naft-1-yyli)etyyliamino]propyyli}-bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini 1-(1-naftyyli)etyyliamiinilla.

Esimerkki 18: 3-metyyli-6-{3-[1-(naft-1-yyli)etyyliamino]-propyyli}bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini 1-(1-naftyyli)etyyliamiinilla.

Esimerkki 19: 6-[3-(4-metyylibentsyyli)aminopropyyli]bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini 4-metyylibentsyyliamiinilla.

Esimerkki 20: 3-metyyli-6-[3-(4-metyylibentsyyli)aminopropyyli]bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini 4-metyylibentsyyliamiinilla.

Esimerkki 21: 6-[3-(4-trifluorimetyylibentsyyli)aminopropyyli]bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini 4-trifluorimetyylibentsyyliamiinilla.

Esimerkki 22: 3-metyyli-6-[3-(4-trifluorimetyylibentsyyli)aminopropyyli]bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini 4-trifluorimetyylibentsyyliamiinilla.

Esimerkki 23: 6-[3-(3,4-diklooribentsyyli)aminopropyyli]-bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini 3,4-diklooribentsyyliamiinilla.

Esimerkki 24: 3-metyyli-6-[3-(3,4-diklooribentsyyli)amino-propyyli]bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini 3,4-dikloori-bentsyyliamiinilla.

Esimerkki 25: 6-(3-tiomorfolinopropyyli)bentsotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 1, mutta korvaten morfoliini tiomorfoliinilla.

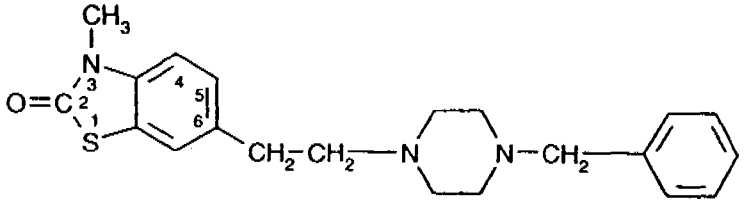
Esimerkki 26: 3-metyyli-6-(3-tiomorfolinopropyyli)bent-sotiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini tiomorfoliinilla.

Esimerkki 27: 3-metyyli-6-(3-allyyliaminopropyyli)bentso-tiatsolinoni

Otsikkoyhdiste saadaan toimimalla samalla tavalla kuin esimerkissä 2, mutta korvaten morfoliini allyyliamiinilla.

Esimerkki 28: 3-metyyli-6-[2-(4-bentsyylipiperatsin-1-yy-li)etyyli]bentsotiatsolinoni



(Esimerkki 28)

Reaktantit:

3-metyyli-6-(2-bromietyyli)-bentsotiatsolinoni:	0,0074 mol (2 g)
4-bentsyylipiperatsiini:	0,0074 mol (1,30 cm^3)
Kaliumkarbonaatti:	0,029 mol (4 g)
Vedetön dimetyyliformamidi:	50 cm^3

Menettelytapa:

0,0074 mol 4-bentsyylipiperatsiinia ja 0,029 mol kaliumkarbonaattia lisätään 30 cm^3:iin vedetöntä dimetyyliformamidia, joka on hioskaulaisessa kolvissa, jonka tilavuus on 250 cm^3 ja joka on varustettu kondensoijalla. Seosta kuumennetaan refluksoiden 30 min ajan, minkä jälkeen lisätään 0,0074 mol 3-metyyli-6-(2-bromietyyli)bentsotiatsolinonia liuotettuna 20 cm^3:iin dimetyyliformamidia.

Reaktioseosta kuumennetaan 12 tunnin ajan. Sen annetaan jäähtyä, ja epäorgaaninen sakka suodatetaan pois. Suodos kaadetaan 30 cm^3:iin tislattua vettä ja säädetään happamaan pH-arvoon. Tämä seos jätetään sekoittumaan 30 minuutiksi, ja uutetaan sitten etyyliasetaatilla lähtöainejäännöksen poistamiseksi. Vesifaasin pH säädetään välittömästi emäksiseen pH-arvoon.

Orgaaninen faasi uutetaan etyyliasetaatilla. Orgaaniset fraktiot yhdistetään ja kuivataan täysin, suodatetaan, ja haihdutetaan sitten vesihauteella alennetussa paineessa.

Jäännös otetaan 50 cm^3:iin absoluuttista alkoholia ja kuplitetaan kloorivetykaasulla, ja muodostunut sakka suodatetaan ja uudelleenkiteytetään. Otsikkoyhdiste saadaan dihydrokloridin muodossa.

Molekyylimassa:	440,36 $g \cdot mol^{-1}$ $C_{21}H_{27}Cl_2N_3OS$:lle
Saanto:	45 %
Sulamispiste:	>270 °C
Uudelleenkiteytysliuotin:	absoluuttinen alkoholi

Alkuaineanalyysi:

	% C	% H	% N
Laskettu:	57,27	6,18	9,54
Saatu:	57,31	6,15	9,50

IR-spektrometria:

2900	cm^{-1} ν CH (alkyylit)
2340	cm^{-1} ν NH^+ (hydrokloridi)
1690	cm^{-1} ν CO (NCOS)
1600	cm^{-1} ν C=C (aromaattiset)

NMR-spektrometria (80 MHz; DMSO-d_6):

δ = 2,80 - 3,14	ppm (multipletti, 12H) etyyli ja piperatsiini
δ = 3,40	ppm (singletti, 3H) NCH_3
δ = 4,10	ppm (singletti, 2H) $\underline{CH_2}$-C_6H_5
δ = 7,20 - 7,70	ppm (multipletti, 8H) arom. H
δ = 11,00	ppm (huippu, 2H), $2NH^+$, vaihdettavissa D_2O:ssa

Esimerkki 29: 3-metyyli-6-[4-(4-bentsyylipiperatsin-1-yyli)butyyli]bentsotiatsolinoni

Reaktantit:

3-metyyli-6-(4-bromibutyyli)-bentsotiatsolinoni:	0,01 mol (3 g)
4-bentsyylipiperatsiini:	0,01 mol (1,80 cm^3)
Kaliumkarbonaatti:	0,04 mol (5,5 g)
Vedetön dimetyyliformamidi:	45 cm^3

Menettelytapa:

Menettelytapa on identtinen esimerkissä 28 käytetyn kanssa, korvaten 3-metyyli-6-(2-bromietyyli)bentsotiatsolinoni 3-metyyli-6-(4-bromibutyyli)bentsotiatsolinonilla.

Dihydrokloridin fysikokemialliset tiedot:

Molekyylimassa: 468,42 $g \cdot mol^{-1}$ $C_{23}H_{31}Cl_2N_3OS$:lle

Saanto: 55 %

Sulamispiste: >250 °C

Uudelleenkiteytysliuotin: absoluuttinen alkoholi

Alkuaineanalyysi:

	% C	% H	% N
Laskettu:	58,97	6,67	8,97
Saatu:	58,59	6,72	8,96

IR-spektrometria:

3400 - 2320 cm^{-1} ν NH^+ (hydrokloridi)

3040 - 2840 cm^{-1} ν CH (alkyylit)

1670 cm^{-1} ν CO (NCOS)

1600 cm^{-1} ν C=C (aromaattiset)

NMR-spektrometria (80 MHz; DMSO-d_6):

δ = 1,70 ppm (multipletti, 4H) CH_2-$\underline{CH_2}$-$\underline{CH_2}$-CH_2

δ = 2,00 - 2,75 ppm (multipletti, 4H) $\underline{CH_2}$-CH_2-CH_2-$\underline{CH_2}$

δ = 3,20 - 3,70 ppm (multipletti, 11H) NCH_3 ja piperatsiini

δ = 6,90 - 7,40 ppm (multipletti, 8H) arom. H

Esimerkki 30: 3-metyyli-6-{2-[4-(2,4-diklooribentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}bentsotiatsolinoni

Reaktantit:

3-metyyli-6-(2-bromietyyli)-bentsotiatsolinoni:	0,0073 mol (2 g)
2,4-diklooribentsyylipiperatsiinihydrokloridi:	0,0073 mol (2,3 g)
Trietyyliamiini:	0,0150 mol (2 cm^3)
Vedetön asetoni:	70 cm^3

Menettelytapa:

Menettelytapa on identtinen esimerkissä 28 käytetyn kanssa, korvaten 1-bentsyylipiperatsiini 1-(2,4-diklooribentsyyli)-piperatsiinilla.

Dihydrokloridin fysikokemialliset tiedot:

Molekyylimassa: 509,26 $g \cdot mol^{-1}$ $C_{21}H_{25}Cl_4N_3OS$:lle
Saanto: 60 %
Sulamispiste: 189 - 191 °C
Uudelleenkiteytysliuotin: absoluuttinen alkoholi

Alkuaineanalyysi:

	% C	% H	% N
Laskettu:	49,52	4,94	8,25
Saatu:	49,37	5,05	8,27

IR-spektrometria:

2940 cm^{-1} ν CH (alkyylit)
2620 - 2180 cm^{-1} ν NH^+ (hydrokloridi)
1700 cm^{-1} ν CO (NCOS)
1580 cm^{-1} ν C=C (aromaattiset)

NMR-spektrometria (80 MHz; DMSO-d_6):

δ = 3,60 ppm (multipletti, 2H) $\underline{CH_2}$-C_6H_3-Cl_2
δ = 3,70 ppm (singletti, 3H) NCH_3
δ = 7,20 - 7,70 ppm (multipletti, 6H) arom. H
δ = 8,70 ppm (huippu, 1H) NH+, vaihdettavissa D_2O:ssa
δ = 10,85 ppm (huippu, 1H) NH+, vaihdettavissa D_2O:ssa

Esimerkki 31: 3-metyyli-6-{4-[4-(2,4-diklooribentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}bentsotiatsolinoni

Reaktantit:

3-metyyli-6-(4-bromibutyyli)-bentsotiatsolinoni: 0,0066 mol (2 g)

2,4-diklooribentsyylipiperatsiinidihydrokloridi: 0,0066 mol (2,1 g)
Trietyyliamiini: 0,0132 mol (1,80 cm^3)
Vedetön asetoni: 50 cm^3

Menettelytapa:
Menettelytapa on identtinen esimerkissä 29 käytetyn kanssa, korvaten 1-bentsyylipiperatsiini 1-(2,4-diklooribentsyyli)piperatsiinilla.

Fysikokemialliset tiedot (dihydrokloridi):
Molekyylimassa: 537,31 $g \cdot mol^{-1}$ $C_{23}H_{29}Cl_4N_3OS$:lle
Saanto: 42 %
Sulamispiste: 257 - 259 °C
Uudelleenkiteytysliuotin: absoluuttinen alkoholi

Alkuaineanalyysi:

	% C	% H	% N
Laskettu:	51,41	5,44	7,82
Saatu:	51,27	5,36	7,78

IR-spektrometria:
3400 - 2360 cm^{-1} ν NH^+ (hydrokloridi)
3040 - 2840 cm^{-1} ν CH (alkyylit)
1680 cm^{-1} ν CO (NCOS)
1580 cm^{-1} ν C=C (aromaattiset)

NMR-spektrometria (80 MHz; DMSO-d_6):
δ = 4,25 ppm (singletti, 2H) $\underline{CH_2}$-C_6H_3-Cl_2
δ = 7,00 - 8,00 ppm (multipletti, 6H) arom. H
δ = 11,50 ppm (huippu, 2H) 2NH+, vaihdettavissa D_2O:ssa

Esimerkki 32: 3-metyyli-6-{2-[4-(3,4-diklooribentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}bentsotiatsolinoni

Reaktantit:

3-metyyli-6-(2-bromietyyli)-bentsotiatsolinoni:	0,0073 mol (2 g)
3,4-diklooribentsyylipiperatsiinidihydrokloridi:	0,0073 mol (2,1 g)
Kaliumkarbonaatti:	0,029 mol (4 g)
Vedetön asetoni:	50 cm^3

Menettelytapa:

Menettelytapa on identtinen esimerkissä 29 käytetyn kanssa, korvaten 1-bentsyylipiperatsiini 1-(3,4-diklooribentsyyli)-piperatsiinilla.

Dihydrokloridin fysikokemialliset tiedot:

Molekyylimassa:	509,26 $g \cdot mol^{-1}$ $C_{21}H_{25}Cl_4N_3OS$:lle
Saanto:	56 %
Sulamispiste:	>250 °C
Uudelleenkiteytysliuotin:	absoluuttinen alkoholi

Alkuaineanalyysi:

	% C	% H	% N
Laskettu:	49,52	4,94	8,25
Saatu:	49,37	5,05	8,27

IR-spektrometria:

2900	cm^{-1} ν CH (alkyylit)
2300	cm^{-1} ν NH^+ (hydrokloridi)
1700	cm^{-1} ν CO (NCOS)
1590 - 1570	cm^{-1} ν C=C (aromaattiset)

NMR-spektrometria (80 MHz; DMSO-d_6):

δ = 2,80 - 3,15	ppm	(multipletti, 12H) etyylipiperatsiini
δ = 3,40	ppm	(singletti, 3H) NCH_3
δ = 4,10	ppm	(singletti, 2H) $\underline{CH_2}$-C_6H_3-Cl_2
δ = 7,20 - 7,70	ppm	(multipletti, 6H) arom. H
δ = 11,00	ppm	(huippu, 2H) 2NH+, vaihdettavissa D_2O:ssa

Esimerkki 33: 3-metyyli-6-{4-[4-(3,4-diklooribentsyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}bentsotiatsolinoni

Reaktantit:

3-metyyli-6-(4-bromibutyyli)-bentsotiatsolinoni:	0,0033 mol (1 g)
3,4-diklooribentsyylipiperatsiinidihydrokloridi:	0,0033 mol (1 g)
Kaliumkarbonaatti:	0,0132 mol (1,8 g)
Vedetön asetoni:	40 cm^3

Menettelytapa:

Menettelytapa on identtinen esimerkissä 29 käytetyn kanssa, korvaten 1-bentsyylipiperatsiini 1-(3,4-diklooribentsyyli)-piperatsiinilla.

Dihydrokloridin fysikokemialliset tiedot:

Molekyylimassa:	537,31 $g \cdot mol^{-1}$ $C_{23}H_{29}Cl_4N_3OS$:lle
Saanto:	45 %
Sulamispiste:	>250 °C
Uudelleenkiteytysliuotin:	absoluuttinen alkoholi

Alkuaineanalyysi:

	% C	% H	% N
Laskettu:	51,41	5,44	7,82
Saatu:	51,30	5,43	7,75

IR-spektrometria:

3400 - 2360	cm^{-1}	ν NH^+ (hydrokloridi)
3040 - 2960	cm^{-1}	ν CH (alkyylit)
1670	cm^{-1}	ν CO (NCOS)
1600	cm^{-1}	ν C=C (aromaattiset)

NMR-spektrometria (80 MHz; DMSO-d_6):

δ = 1,40 - 1,80	ppm	(multipletti, 4H) CH_2-$\underline{CH_2}$-$\underline{CH_2}$-CH_2
δ = 4,20	ppm	(singletti, 2H) $\underline{CH_2}$-C_6H_3-Cl_2
δ = 7,00 - 8,00	ppm	(multipletti, 6H) arom. H
δ = 11,25	ppm	(huippu, 2H) 2NH+ vaihdettavissa D_2O:ssa

Esimerkki 34: 6-{3-[4-(2-metoksifenyyli)piperatsin-1-yyli]propyyli}bentsotiatsolinoni

Sulamispiste (hydrokloridi): 224 - 225 °C

Esimerkki 35: 3-metyyli-6-{3-[4-(2-metoksifenyyli)piperatsin-1-yyli]butyyli}bentsotiatsolinoni

Sulamispiste (hydrokloridi): 205 - 207 °C

Keksinnön mukaisten johdannaisten farmakologinen tutkiminen

Esimerkki A: Akuutin toksisuuden tutkiminen

Akuutti toksisuus arvioitiin, kun 8 hiiren ryhmille (26 g ± 2 g) oli annettu oraalisesti annos 100 $mg \cdot kg^{-1}$ keksinnön mukaisia yhdisteitä. Eläimiä tarkkailtiin säännöllisin välein ensimmäisen päivän aikana ja päivittäin käsittelyä seuraavan kahden viikon ajan.

Keksinnön mukaiset yhdisteet vaikuttavat täysin ei-toksisilta. Ne eivät aiheuta kuolemaa annettaessa annoksella 100 $mg \cdot kg^{-1}$, eikä tämän annoksen annon jälkeen havaita häiriöitä.

Esimerkki B: *In vitro*-reseptoriaffiniteettianalyysi

Tuotteet testataan kullakin reseptorilla 5 eri konsentraatiolla (10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M) kolminkertaisin rinnakkaismäärityksin. Kun sitoutumisvakio IC_{50} on alle konsentraation 10^{-6} M, Ki mitataan käyttämällä tuotteen 12 konsentraatiota.

Alla olevassa taulukossa esitetään reseptorit, joiden affiniteetti keksinnön mukaisille yhdisteille määritettiin, valittu kudos, epäspesifisen sitoutumisen määritykseen valittu konsentraatio ja reseptorin leimaamiseen käytetty radioligandi.

Reseptori tai kohta	Radioligandi	Epäspesifinen sitoutuminen	Kudos
$5\text{-}HT_{1A}$	[^{3}H]8-OH-DPAT	10^{-5} M Buspironi	naudan aivoturso + frontaalinen kuori
$5\text{-}HT_{1B}$	[^{3}H]-syaanipindololi tai -5-OH-tryptamiini tai propanololi	10^{-5} M kylmä serotoniini	rotan aivo + frontaalinen kuori + aivojuovio
$5\text{-}HT_{1C}$	N-metyylimesulergiini	10^{-5} M Mianseriini	porsaan suonikudos
$5\text{-}HT_2$	[^{3}H]-ketaaniseriini	10^{-5} M Spiperoni	naudan frontaalinen kuori
$5\text{-}HT_3$	[^{3}H]-kipatsiini tai BRL 43694	10^{-5} M ICS 255930	NG 108-15-solut
α_1	[^{3}H]-pratsosiini	10^{-5} M Fentolamiini	rotan aivo
α_2	[^{3}H]-rauwolfiini	10^{-5} M Johimbiini	rotan aivo
D_1	[^{3}H]-SCH 23390	10^{-6} M Butaklamoli	naudan aivojuovio
D_2	[^{3}H]-raklopridi	10^{-6} M spiperoni tai (10^{-6} M haloperidoli	naudan aivojuovio
M_1	[^{3}H]-telentsepiini	10^{-5} M Atropiini	rotan aivokuori
H_1	[^{3}H]-pyrilamiini	10^{-6} M Kloorifeniramiini	vasikan aivokuori
σ	[^{3}H]-DTG	10^{-6} M 3-PPP	vasikan aivoturso

Testin tulokset osoittivat, että keksinnön mukaiset yhdisteet ovat sigmareseptorien tehokkaita ja selektiivisiä ligandeja. Vertailun vuoksi, keksinnön mukaisilla yhdisteillä on sigmareseptoria kohtaan 100 - 1 000 kertaa voimakkaampi affiniteetti kuin EP-patenttihakemuksen 478,446 yhdisteillä, ja erityisemmin tuon patenttihakemuksen esimerkeillä 28 - 32 ja 172, jotka ovat rakenteellisesti eniten samanlaisia kuin tämän keksinnön yhdisteet.

Lisäksi keksinnön mukaiset yhdisteet ovat myös paljon selektiivisempiä kuin EP-patenttihakemuksen 478,446 yhdisteet. Erityisesti niillä on 100 - 1 000 kertaa pienempi affiniteetti D_2-reseptoreja kohtaan kuin EP-patenttihakemuksen 478,446 yhdisteillä.

Esimerkki C: Amfetamiinin aiheuttaman hypermotiliteetin antagonia

4 $mg \cdot kg^{-1}$ d-amfetamiinia injisoidaan vatsaontelonsisäisesti (IP) 10 NMRI-CERJ-hiiren ryhmiin välittömästi testattavan yhdisteen IP-injektion jälkeen, ja hiiret sijoitetaan 30 minuutiksi aktimetriin.

Lasketaan valosähköisten kennojen keskeytysten lukumäärä, samoin kuin stereotyypitetty käyttäytyminen.

Testattujen yhdisteiden aktiivisuus ilmaistaan amfetamiinin aiheuttaman liika-aktiivisuuden antagonian %-määränä. Keksinnön mukaiset yhdisteet ovat amfetamiinin aiheuttaman liika-aktiivisuuden tehokkaita antagonisteja, mikä tekee mahdolliseksi saavuttaa keksinnön mukaisilla tuotteilla aktiivisuus keskushermoston häiriöissä.

Esimerkki D: Katalepsigeenisen vaikutuksen tutkiminen

Katalepsigeeninen vaikutus tutkitaan rotilla vatsaontelonsisäistä reittiä. Tämä testi ennustaa ekstrapyramidaali-

tyyppisten sivuvaikutusten esiintymisen. Kuusi Wistar-rottien ryhmää sai keksinnön mukaisten yhdisteiden injektion, ja sitten testattiin niiden kataleptinen aktiivisuus 30 minuutin jakson jälkeen. Vertailuna käytetään haloperidolia.

Tulokset osoittavat, että keksinnön mukaisilla yhdisteillä on hyvin alhainen kataleptinen teho verrattaessa haloperidoliin, joka tuottaa samoissa tutkimusolosuhteissa annoksella 2 $mg \cdot kg^{-1}$ kataleptisen vaikutuksen 95 %. Tämä tulos varmistaa keksinnön tuotteiden ekstrapyramidaalityyppisten sivuvaikutusten puuttumisen, joka voitiin päätellä reseptoriinsitoutumistuloksista (esimerkki B).

Esimerkki E: Keksinnön mukaisten yhdisteiden masennusta estävän aktiivisuuden tutkiminen

Periaate:

Tuotetutkimus perustuu "acquired refusal" -malliin, joka sisältää kontrolloimattomien vastenmielisten tapahtumien sarjan avulla tapahtuvan puutteen indusoimisen eläimessä seuraavien välttämistehtävien aikana.

Protokolla:

Tämän testin kehittivät Sherman A.D., Sacquitne J.L. ja Petty F. (Pharmacol. Biochem. Behav., 1982, 16, 449-454). Käytämme koiraspuolisia Wistar-rottia, joiden paino on välillä 180 ja 200 g. Eläimiä pidetään eläintalossa yksi viikko ennen testiä, muovilaatikoissa kymmenen ryhmissä ympäristön lämpötilassa 21 °C ± 1 °C vapaalla veden ja ruoan saannilla.

Sitten eläimet eristetään pieniin laatikoihin ja alistetaan 60:lle sähköiskulle, joita eläin ei voi välttää (0,8 mA

joka minuutti ± 15 s) Kontrollirottaryhmä ei saa sähköiskuja.

Eläinten välttämisenoppimiskapasiteetti (kulku osastosta toiseen sähköiskujen välttämiseksi) arvioidaan 48 tuntia myöhemmin ja kolmen peräkkäisen päivän ajan. Oppimisjaksojen aikana eläimillä tehdään 2 testiä/min 15 min ajan. Kunkin rotan kohdalla merkitään muistiin välttämisepäonnistumisten lukumäärä. Eläimet käsitellään (ip.: 0,5 cm^3/100 g) tyhjään mahaan 6 tuntia ennen sähköiskuja, joita ei voida välttää, ja 4 peräkkäisen päivän ajan, aamulla 30 min ennen oppimisjaksoa ja illalla klo 18 ja 19 välillä. Testituotteet liuotetaan tislattuun veteen. Testituotteita annetaan annoksilla 0,05 $mg \cdot kg^{-1}$/päivä.

Tulokset:

Testi todistaa, että keksinnön mukaiset tuotteet vähentävät merkittävästi välttämisepäonnistumisten lukumäärää, mikä heijastaa, tietyillä keksinnön mukaisilla tuotteilla voimakasta depressionestotyyppistä aktiivisuutta.

Esimerkki F: Ahdistusta lievittävän aktiivisuuden tutkiminen - nk. valoisa/pimeä-häkkitesti hiirillä

Periaate:

Tutkittiin keksinnön mukaisten yhdisteiden ahdistusta lievittäviä vaikutuksia käyttämällä valoisa/pimeä -häkkitestiä hiirillä.

Protokolla:

Testin kehitti, sitten modifioi ja osoitti käyttäytymyksellisesti hyväksi Crawley et al. (1981, Pharmacol. Biochem. Behav.).

Testissä käytetään kahta täsmälleen samankokoista (20 x 20 x 14 cm), PVC:stä tehtyä häkkiä. Toinen valaistaan kirkkaaksi 100-W lampulla ("kylmä" valo), toinen on pimennetty. Nämä kaksi häkkiä on erotettu toisistaan pienellä valoalä-
5 päisemättömällä tunnelilla (5 x 7 cm). Hiiret lisätään yksitellen tummaan häkkiin, ja aika, jonka eläimet käyttävät valaistussa häkissä, samoin kuin pimeän häkin ja valaistun häkin välisten siirtymisten lukumäärä merkitään muistiin tietokoneeseen yhdistetyn näppäimistön avulla 5
10 min ajalta.

Kukin koeryhmä käsittää ainakin 15 eläintä.

Tulokset:

15

Tiettyjen keksinnön mukaisten tuotteiden vatsaontelonsisäinen anto antaa tulokseksi hiirten valaistussa häkissä käyttämän ajan ja pimeän häkin ja valaistun häkin välisten siirtymisten lukumäärän kasvun.

20

Tämä kahden tutkitun parametrin merkittävä kasvu osoittaa tiettyjen keksinnön mukaisten yhdisteiden merkittävän ahdistusta lievittävän aktiivisuuden.

25 **Esimerkki G: Tyypiltään niveltulehduksen vastaisen aktiivisuuden tutkiminen rotissa**

Käytetään viiden koiraspuolisen tai naaraspuolisen, 130 - 150 g painavan Lewis-rotan ryhmiä. Oikean takakäpälän jal-
30 kapohjanalaiselle alueelle annetaan päivänä 1 suspensiota, jossa on 0,3 mg tapettua *Mycobacterium tuberculosis'ta* 0,1 cm^3:ssa mineraaliöljyä (Freundin täydellinen adjuvantti, CFA). Takakäpälien tilavuudet mitataan veden syrjäytyksellä päivinä 0, 1, 5, 14 ja 18. Rotat punnitaan päivinä 0 ja 18.
35 Testattavat tuotteet suspendoidaan karboksimetyyliselluloosaan ja annetaan oraalisesti 5 peräkkäisen päivän ajan, päivästä 1 päivään 5.

Rinnalla käytetään kontrolliryhmää eläinten käsittelystä johtuvien seikkojen eliminoimiseksi. Vertailutuotteella käsitelty ryhmä sallii testin oikeaksi osoittamisen.

Keksinnön mukaisilla tuotteilla on tässä mallissa voimakas estovaikutus, mikä tekee ne hyvin edullisiksi ehdokkaiksi niveltulehduksen hoitoon.

Annoksella 10 $mg \cdot kg^{-1}$ keksinnön tuotteet sallivat käpälän tilavuuden kasvun eston tulehduksen myöhäisvaiheessa (päivät 14 - 18).

Esimerkki H: **Farmaseuttinen koostumus, joka on tarkoitettu keskushermoston häiriöiden hoitoon**

Tabletit, jotka sisältävät annoksen 0,1 mg 3-metyyli-6-[2-(4-bentsyylipiperid-1-yyli)etyyli]bentsotiatsolinonia.

Koostumus 10 000 tablettia varten:

- 3-metyyli-6-[2-(4-bentsyylipiperid-1-yyli)-tyyli]bentsotiatsolinoni	1 g
- Vehnätärkkelys	75 g
- Maissitärkkelys	75 g
- Laktoosi	325 g
- Magnesiumstearaatti	10 g
- Piidioksidi	5 g
- Hydroksipropyyliselluloosa	10 g

Esimerkki I: **Farmaseuttinen koostumus**

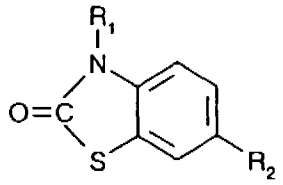
Tabletit, jotka sisältävät annoksen 0,1 mg 6-(3-morfolinopropyyli)bentsotiatsolinonia.

Koostumus 10 000 tablettia varten:

- 6-(3-morfolinopropyyli)bentsotiatsolinoni	1 g
- Vehnätärkkelys	75 g
- Maissitärkkelys	75 g
- Laktoosi	325 g
- Magnesiumstearaatti	10 g
- Piidioksidi	5 g
- Hydroksipropyyliselluloosa	10 g

Patenttivaatimukset

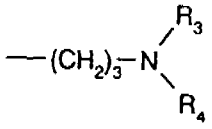
1. Kaavan (I) mukainen yhdiste:



(I)

jossa:

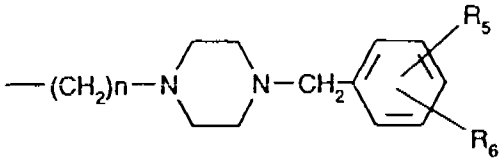
- R_1 on vety tai alkyyli- tai substituoitu alkyyli-tähde,
- ja R_2 on kaavan (R_{21}) mukainen ryhmä:



(R_{21})

jossa:

- R_3 ja R_4 ovat toisistaan riippumatta vetyatomi tai tähde, joka on alkyyli, sykloalkyyli, sykloalkyylialkyyli, alkenyyli, alkynyyli tai $-(CH_2)_m$-aryyli; jolloin m on 0, 1, 2, 3 tai 4 ja jolloin aryyliryhmä on mahdollisesti substituoimaton tai substituoitu,
  tai vaihtoehtoisesti R_3 ja R_4 muodostavat yhdessä tyydyttyneen 5- - 9-jäsenisen heterosyklin, joka voi sisältää muita heteroatomeja, joita ovat happi ja rikki, ja joka voi olla substituoimaton tai substituoitu tai 4-(metoksifenyyli)-piperatsin-1-yyliryhmä,
  tai kaavan (R_{22}) mukainen ryhmä:



(R_{22})

jossa n on 2, 3 tai 4,
ja R_5 ja R_6, jotka ovat identtiset, ovat vety tai halogeeni,
jolloin ymmärretään, että kaavan (I) kuvauksessa

- käsite "substituoitu", joka liittyy "aryyli"-tähteeseen, tarkoittaa, että substituutio voidaan tehdä yhdellä tai useammalla tähteellä, joita ovat halogeeni, hydroksyyli, alkyyli, alempialkoksi ja alkyyli, joka on substituoitu yhdellä tai useammalla halogeenilla,
- käsite "substituoitu" $-NR_3R_4$:n muodostaman heterosyklin yhteydessä tarkoittaa, että substituutio voidaan tehdä yhdellä tai useammalla alkyylitähteellä,
- käsitteet "alkyyli" ja "alkoksi" merkitsevät suoraketjuisia tai haaroittuneita ryhmiä, jotka sisältävät 1 - 6 hiiliatomia,
- käsite "alkenyyli" ja "alkynyyli" merkitsevät suoraketjuisia tai haaroittuneita ryhmiä, joissa on 2 - 6 hiiliatomia,
- käsite "aryyli" tarkoittaa fenyyliä tai naftyyliä,
- ja käsite "sykloalkyyli" merkitsee syklistä ryhmää, jossa on 3 - 8 hiiliatomia,

sen optiset isomeerit ja sen additiosuolat farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon kanssa, tai kun R_1 on vetyatomi, sen additiosuolat farmaseuttisesti hyväksyttävän emäksen kanssa.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on 6-(3-morfolinopropyyli)bentsotiatsolinoni, ja sen additiosuolat farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon kanssa.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on 3-metyyli-6-(3-morfolinopropyyli)bentsotiatsolinoni, ja sen additiosuolat farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon kanssa.

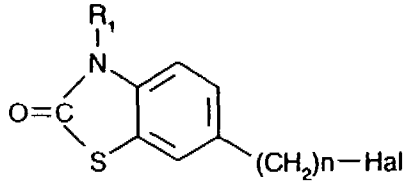
4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on 3-metyyli-6-{2-[4-(2,4-diklooribentsyyli)piperatsin-1-yyli]e-

tyyli}bentsotiatsolinoni, ja sen additiosuolat farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon kanssa.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on 3-metyyli-6-{2-[4-(3,4-diklooribentsyyli)piperatsin-1-yyli]etyyli}bentsotiatsolinoni, ja sen additiosuolat farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon kanssa.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen yhdiste, joka on 3-metyyli-6-[4-(4-bentsyylipiperatsin-1-yyli)butyyli}bentsotiatsolinoni, ja sen additiosuolat farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon kanssa.

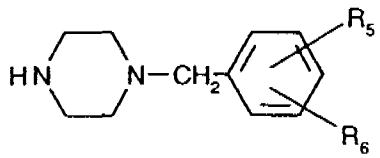
7. Menetelmä jonkin patenttivaatimuksista 1 - 6 kaavan (I) mukaisen yhdisteen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että lisätään sopivaan liuokseen kaavan (II) mukaista yhdistettä:



(II)

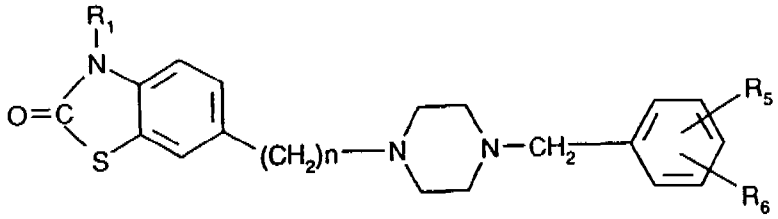
jossa R_1 ja n tarkoittavat samaa kuin patenttivaatimuksessa 1 ja Hal on halogeeniatomi, joka yhdiste kondensoidaan:

- joko kaavan (III/a) mukaisen yhdisteen kanssa:



(III/a)

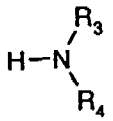
jossa R_5 ja R_6 ovat patenttivaatimuksessa 1 määritellyt, jolloin saadaan kaavan (I/a) mukainen yhdiste:



(I/a)

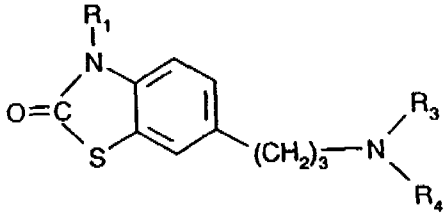
jossa R_1, R_5, R_6 ja n ovat edellä määritellyt,

- tai, kun n on 3, kaavan (III/b) mukaisen yhdisteen kanssa:



(III/b)

jossa R_3 ja R_4 ovat patenttivaatimuksessa 1 määritellyt, jolloin saadaan kaavan (I/b) mukainen yhdiste:



(I/b)

jossa R_1, R_3 ja R_4 ovat edellä määritellyt,

kaavojen (I/a) ja (I/b) mukaisten yhdisteiden muodostaessa yhdessä kaavan (I) mukaiset yhdisteet, jotka erotetaan eri optisiksi isomeereikseen ja muodostetaan suoloikseen farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon kanssa, tai jos R_1 on vetyatomi, muodostetaan suoloikseen farmaseuttisesti hyväksyttävän emäksen kanssa.

8. Farmaseuttinen koostumus, t u n n e t t u siitä, että se sisältää jonkin patenttivaatimuksista 1 - 6 kaavan (I) mukaista yhdistettä tai jotakin niiden additiosuoloista

farmaseuttisesti hyväksyttävän hapon kanssa tai, mikäli soveliasta, farmaseuttisesti hyväksyttävän emäksen kanssa, yhdistelmänä yhden tai usean täyteaineen kanssa.

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen farmaseuttinen koostumus, t u n n e t t u siitä, että se on käyttökelpoinen sigma-reseptoreihin liittyvien sairauksien ennaltaestossa ja hoidossa.

10. Kumman hyvänsä patenttivaatimuksista 8 ja 9 mukainen farmaseuttinen koostumus, t u n n e t t u siitä, että se on käyttökelpoinen psykiatristen sairauksien, masennuksen, ahdistuneisuuden tai akuutin tai kroonisen niveltulehduksen ennaltaestossa ja hoidossa.

11. Jonkin patenttivaatimuksista 8 - 10 mukainen farmaseuttinen koostumus, t u n n e t t u siitä, että se on käyttökelpoinen psykiatristen sairauksien ennaltaestossa ja hoidossa.