

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 932767 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **932767**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07D403/04

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **16.06.1993**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **16.06.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **17.12.1993**

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

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

16.06.1992 US 899190

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •F. Hoffmann - La Roche AG, 124 Grenzacherstrasse, 4002 Basel, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Hsu, Ming-Chu, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 •Huryn, Donna Mary, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

3 •Tam, Steve Yik-Kai, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Bentsodiatsepiinit

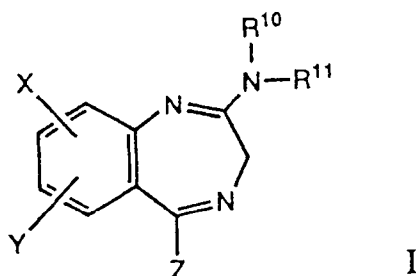
Bensodiazepiner

Bentsodiatsepiinit

Esillä oleva keksintö kohdistuu uusiin yhdisteisiin, joilla on kaava

5

10

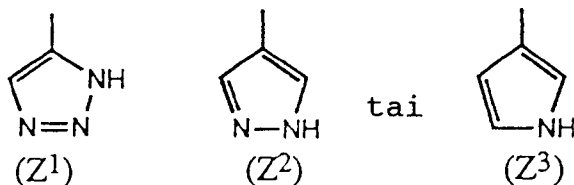


jossa

15

X ja Y ovat toisistaan riippumatta H, halogeeni tai alempi alkyyli; R^{10} ja R^{11} ovat molemmat vetyjä, tai toinen niistä on vety ja toinen on metyyli, tai R^{10} ja R^{11} yhdessä muodostavat ryhmän $-(CH_2)_n-$, jossa $n = 4$ tai 5 ; Z on jokin seuraavista renkaista

20



jolloin yksi tai useampi kyseisen renkaan Z hiiliatomeista voi olla substituoitu fluorilla, kloorilla tai alemmalla alkyylillä;

samoin kuin niiden farmaseuttisesti hyväksyttäviin happo-additiosuoloihin, karbamaatteihin, ureoihin ja amideihin.

Esillä olevan keksinnön kohteina ovat yllä kuvatut yhdisteet sellaisenaan ja käytettäväksi terapeuttisesti aktiivisena aineena, erityisesti hoidettaessa tai ennalta ehkäistessä virusinfektioita, erityisesti retrovirusinfektioita, kuten HIV 1- ja/tai HIV 2-infektioita, tai suojattaessa soluja tällaisia infektioita vastaan;

edelleen menetelmä näiden yhdisteiden valmistamiseksi ja lääkkeet, jotka sisältävät yhtä tällaista yhdis-

tettä ja mahdollisesti toista virusten vastaista ainetta, erityisesti käänteisen transkriptaasin estäjää, kuten ddC, AZT tai ddI, TIBO-johdannaisia, trisyklisiä diatsepinoneja, HIV-proteaasin estäjää, α -, β - ja/tai γ -interferonia, interleukiini-2:a ja/tai GM-CSF:a, ja

näiden yhdisteiden käyttö lääkkeiden, erityisesti virusinfektioiden, ja erityisesti retrovirusinfektioiden, kuten HIV 1- ja/tai HIV 2-infektioiden, hoitoon ja ennalta ehkäisyyn, tai solujen suojaamiseen tällaisia infektioita vastaan tarkoitettujen lääkkeiden valmistamiseen.

Kaikki kaavan I mukaisten yhdisteiden tautomeeriset ja stereoisomeeriset muodot sisältyvät tämän keksinnön piiriin.

Farmaseuttisesti hyväksyttävät happoadditiosuolat voivat olla farmaseuttisesti hyväksyttävien mineraalihappojen, kuten kloorivety- ja rikkihappojen suoloja. Farmaseuttisesti hyväksyttäviä amideja voidaan muodostaa neutralisoimalla keksinnön mukaisia yhdisteitä orgaanisilla hapoilla, kuten maito-, etikka-, maali- tai p-tolueenisulfonihapolla. Farmaseuttisesti hyväksyttäviä karbamaatteja voidaan muodostaa antamalla kaavan I mukaisten yhdisteiden reagoida stökiömetrisessä reaktiossa fosgeenin ja alifaattisen tai aromaattisen alkoholin kanssa syntyneen tuotteen kanssa. Farmaseuttisesti hyväksyttäviä ureoita voidaan muodostaa antamalla keksinnön mukaisten yhdisteiden reagoida stökiömetrisessä reaktiossa fosgeenin ja alifaattisen tai aromaattisen amiinin välillä syntyneen tuotteen kanssa. Kaavan I mukaisten yhdisteiden karbamaatit, ureat ja amidit ovat käyttökelpoisia lääkkeiden esiasteina.

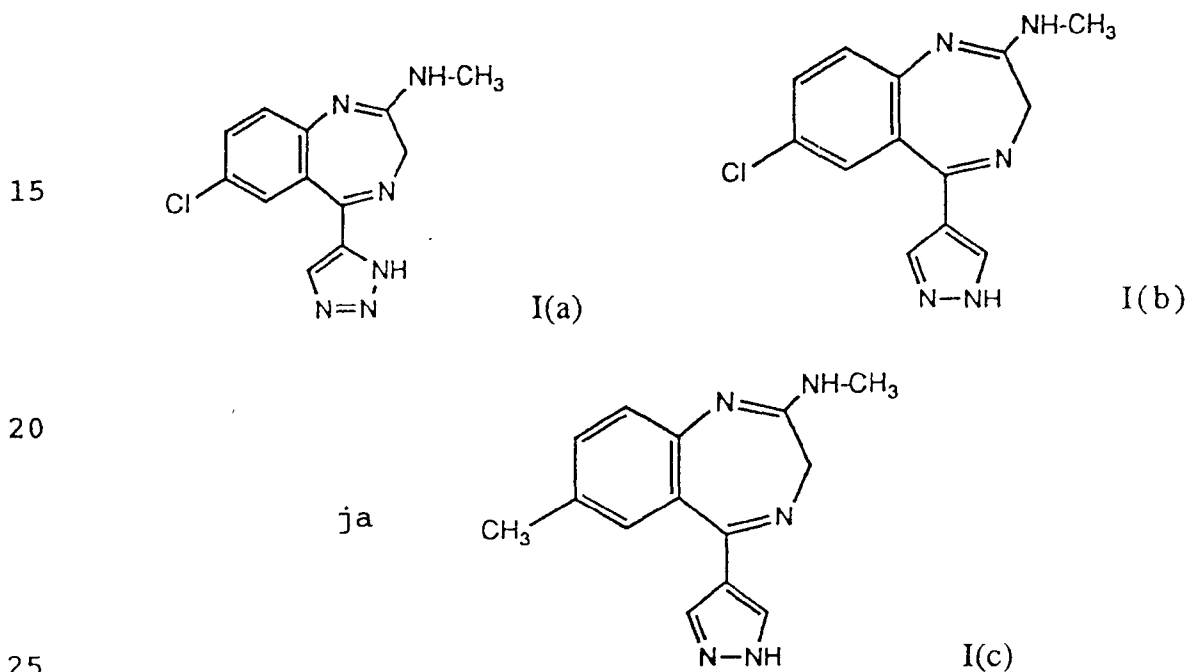
Tässä selityksessä "alempi alkyyli" tarkoittaa radikaalia, joka on johdettu suoraketjuisesta tai haarautuneesta hiiliketjusta, jossa on 1-7, edullisesti 1-4 hiiliatomia, kuten metyyliä, etyyliä, propyyliä ja isopropyyliä. "Asyyli" tarkoittaa orgaanista radikaalia, joka on johdettu orgaanisesta haposta poistamalla hydroksiryhmä.

Edullisiin orgaanisiin happoihin kuuluvat alifaattiset ja aromaattiset hapot, esimerkiksi etikkahappo, sulfonietikkahappo ja bentsoehappo.

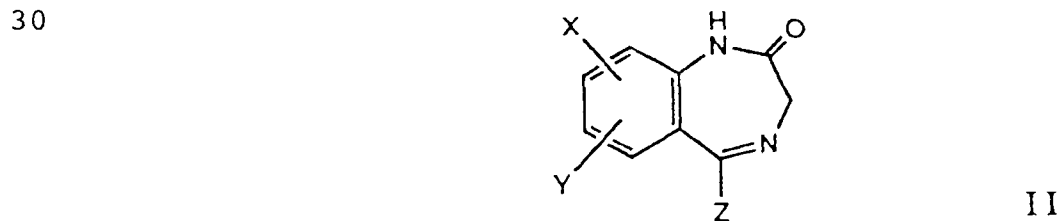
Edullisilla yhdisteillä on kaava I, jossa Y on H ja X on halogeeni tai alempi alkyyli, erityisesti 7-asemassa.

Erityisen edullisia kaavan I mukaisia yhdisteitä ovat ne, joissa R^{10} on metyyli, R^{11} on vety, ja X on kloori tai metyyli, erityisesti 7-asemassa.

Kaikkein edullisimmilla keksinnön mukaisilla yhdisteillä on kaavat I(a), I(b) ja I(c):



Kaavan (I) mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa antamalla 3H-1,4-bentsodiatsepin-2-(1 H)-onin, jolla on kaava:



reagoida ensin P_2S_5 :n ja sitten $HN(R^{10}, R^{11})$:n kanssa tavanomaisilla tavoilla, tai muuntamalla kaavan II mukaista amidia erilaisilla alalla tunnetuilla menetelmillä. Esimerkiksi kaavan II mukaista yhdistettä voidaan sekoittaa kaavan $HN(R^{10}, R^{11})$ mukaisen amiinin kanssa sopivassa reaktiolle inertissä liuottimessa sopivan Lewis-hapon läsnäollessa esimerkiksi US-patentissa 3 644 335 kuvatulla tavalla. Esimerkkejä sopivista reaktiolle inerteistä liuottimista ovat, näihin kuitenkin rajoittumatta, tetrahydrofuraani, tolueeni ja dioksaani. Esimerkkejä sopivista Lewis-hapoista ovat, näihin kuitenkin rajoittumatta, titaanitetrakloridi, stannikloridi ja vastaavat.

Kaavan II mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa sinänsä tunnetulla tavalla, esim. kuten on kuvattu US-patenteissa 3 405 122, 3 398 159, 3 407 211 ja 3 400 128; julkaisuissa J. Org. Chem. 41, 1976, 2720; 35, 1970, 2455 ja 46, 1981, 839; Acta Chem. Scan. B 31, 1977. 701; J. Heterocyclic Chem. 12, 1975, 49 ja 25, 1988, 1293; Synthesis 1988, 767; Syn. Commun. 15, 1985, 1271 ja J.A.C.S. 100, 1978, 4842, ja kuten on kuvattu yksityiskohtaisesti esimerkeissä 1-3 tuonnempana.

Niinpä kaavan II mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa syklisoimalla esimerkiksi kaavan 6 mukainen yhdiste esimerkissä 1 happokatalyyysillä. Tämä syklisointi voidaan suorittaa kuumentamalla yhdistettä 6 hapon, kuten pivaalihapon kanssa, liuottimessa, kuten tolueenissa ja THF:ssa, tai n-butanolissa, lämpötilassa aina palautusjäähdytyslämpötilaan saakka. Amiineja, kuten kaavan 6 mukaista, voidaan valmistaa vastaavan bromidin, kuten on jäljempänä kuvattu kaavassa 5, 10, 10" tai 17, kautta lähtien ketonista, jolla on kaava 4, 9 tai 15.

Keksinnön mukaisilla yhdisteillä on hyödyllinen virusten, erityisesti retrovirusten vastainen vaikutus, erityisesti HIV-virusta vastaan, virusta, joka on mukana AIDSin ja siihen verrattavien sairauksien kuten ARCin

(AIDSiin verrattava kompleksi) kehittyemisessä. Nämä yhdisteet myös estävät HIV:n monistumista estämällä tärkeitä HIV-viruksen toimintoja kuten TAT (transaktivoivaa transkriptionaalista) aktiivisuutta. TAT:n tuotanto infektoituneessa solussa aktivoi merkittävästi HIV:n monistumista infektoituneella potilaalla. Estämällä TAT-aktiivisuutta keksinnön mukaiset yhdisteet vähentävät dramaattisesti HIV:n monistumista ja näin lievittävät HIV:n tuhoavia vaikutuksia ihmispotilaalla.

10 Kaavan I mukaisten yhdisteiden anti-HIV-TAT-aktiivisuus testattiin kokeessa, joka on kuvattu US-patentissa 5 070 010, ja siihen sisältyvät seuraavat vaiheet:

(a) pannaan sekä näkymättömän alkaalisen fosfataasi(SeAP)geenin ilmentymä ja virustransaktivaattori TAT geeni HIV:n jouduttaman LTR:n kontrollissa alttiiksi HIV transaktivaattori TAT:n vaikutukselle;

20 (b) siirretään viljeltyjä nisäkkään soluja, joissa on plasmideja, jotka sisältävät yllä kuvatun (a):n geenikonstruktioita ja jotka aikaansaavat transaktivoivan tekijän TAT ja SeAP:n solutuotantoa:

(c) lisätään testattavaa yhdistettä, tässä kaavan I mukaisia yhdisteitä; ja määritetään tuotetun SeAP:n määrä mittaamalla SeAP:n entsyymaattinen aktiivisuus, jolloin SeAP:n tuotannon estyminen korreloi anti-TAT estovaikutuksen kanssa.

Tässä testissä SeAP:n esto korreloi positiivisesti anti-TAT aktiivisuuden kanssa. Mitä suurempi aineen kyky estää SeAP:a, sen suurempi on sen anti-TAT aktiivisuus.

30 Erityisesti mitä tulee alla kuvattuihin tuloksiin, anti-HIV-TAT-testi suoritettiin seuraavasti:

24 tuntia transfektion jälkeen 1, 10 ja 50 μ M kaavan I mukaista testattavaa yhdistettä lisättiin viljelyalustaan, joka sisälsi COS-soluja, joihin oli siirretty kahta plasmidia, joista toinen sisälsi reportterigeenin, 35 joka koodaa SeAP:a HIV-LTR:n valvonnassa, ja toinen si-

sälsi HIV-TAT-geenin myös HIV-LTR:n valvonnassa. Väliaineen alkaalisen fosfataasin aktiivisuus määritettiin 48 tuntia testattavan yhdisteen lisäämisen jälkeen kolorimetrisessä testissä käyttäen p-nitrofenyylifosfaattia substrattina. Anti-TAT-aktiivisuus mitataan SeAP-geeni-ilmentymän estona prosentteina HIV-LTR:n valvonnassa verrattuna RSV-LTR:n, joka ei vastaa TAT:iin, alaisena olevan SeAP-geenin estoon prosentteina.

Tulokset taulukossa alla osoittavat, että kaavan I mukaiset yhdisteet ovat spesifisiä inhibiittoreita HIV-TAT:n säätelemälle geeni-ilmentymälle ilman ei-spesifisiä sytotoksia vaikutuksia.

Kaavan I mukaisten yhdisteiden spesifisyys TAT-inhibiittoreina osoitettiin paralleelitestissä, jossa SeAP-geeni-ilmentymä saatetaan Rousin sarkoomaviruksen (RSV)-LTR, joka ei vastaa TAT:iin, alaiseksi. Täten tämä testi eliminoi sen mahdollisuuden, että kaavan I mukaiset yhdisteet ovat joko yleisesti sytotoksisia aineita tai inhiboivat SeAP:n aktiivisuutta.

Testattavien yhdisteiden anti-HIV-TAT-aktiivisuudet määritettiin mittaamalla alkaalisen fosfataasin määrä soluviljelmien, joissa SeAP-geeni-ilmentymä oli HIV-LTR-promootorin valvonnassa, kelluvasta väliaineesta. Spesifiset estoaktiivisuudet testattaville yhdisteille laskettiin seuraavan kaavan mukaan:

$$100 [(1-A/B) - (1-C/D)]$$

jossa A ja B ovat alkaalisen fosfataasin aktiivisuudet HIV-LTR/SeAP:n tuottamana testattavan yhdisteen läsnäollessa ja ilman sitä vastaavasti, ja C ja D ovat alkaalisen fosfataasin aktiivisuudet RSV-LTR/SeAP:n tuottamana testattavan yhdisteen läsnäollessa ja ilman sitä vastaavasti. Testattavat konsentraatiot vaihtelivat välillä 1 - 50 μ M. Saadut tulokset ovat vähintään kolmen testin keskiarvoja.

Tässä taulukossa määritelmät "korkea" ja "keskinkertainen" merkitsevät aktiivisuutta seuraavasti: Korkea on 60 %:n esto; keskinkertainen on 60-40 %:n esto; alhainen olisi 40-20 %:n esto. Testiyhdiste lisättiin 24 tunnin kuluttua siitä, kun solut oli transfektoitu plasmideilla, kun SeAP:lle spesifistä mRNA:a ja proteiinia oli jo läsnä ja proteiini oli hyvin stabiilia. Tästä syystä 100 %:sta estoa ei olisi voitu havaita tässä koemenetelmässä.

TAULUKKO

Tuote esi- merkistä no	Anti-HIV-TAT -aktiivisuus
1	korkea
2	korkea/keskinkertainen
3	korkea/keskinkertainen

Koska keksinnön mukaiset yhdisteet tehokkaasti inhiboivat TAT-proteiinia, niin että vaikutuksen alaiset virukset eivät voi monistaa itseään isäntäsoluissa, yhdisteet ovat tehokkaita hoidettaessa AIDSia. Tosiasiassa keksinnön mukaisten yhdisteiden on havaittu suojelevan CD4+-lymfosyyttejä viljelmässä HIV:n sytopaattisilta vaikutuksilta. Lisäksi koska TAT:lle läheistä sukua olevia proteiineja on löydetty muista retroviruksista, kuten HTLV-I:stä, keksinnön mukaiset yhdisteet voivat vastaavasti inhiboida näiden TAT:lle sukua olevien proteiinien aktiivisuutta, ja näin ne voivat olla käyttökelpoisia hoidettaessa näitä muita retroviruksen aiheuttamia infektioita. Niinpä esillä oleva keksintö tarjoaa menetelmän, lievittää retroviruksen aiheuttaman sairauden, HIV mukaanlukien. tuhoisia vaikutuksia ihmispotilaalla, jonka menetelmän mukaisesti potilasta hoidetaan sellaisella määrällä keksinnön mukaista yhdistettä tai sen biologisesti aktiivista metaboliittia, että se on riittävä estämään retrovirusinfektion eteneminen. Tämä keksintö pitää sisällään potilai-

den, joilla on HIV-infektio, mukaanlukien AIDS- tai ARC-potilaat ja potilaat, joilla on symptomaattinen tai asymp-tomaattinen HIV-infektio, hoidon tai terapian. Tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan annostella parenteraa-
 5 lisesti tai suun kautta yhtenä tai useampina annoksina erilaisina aikaväleinä päivittäin, edullisesti suun kautta kerran päivässä. On huomattava, että potilailla, joilla on maksa- tai munuaisongelmia, annos ja annostelumuodot täy-
 10 tyy sovittoa mukautumaan näihin olosuhteisiin. Mitä tulee ihmispotilaaseen, tehokas viruksen vastainen määrä keksinnön mukaista yhdistettä, mikä annostellaan esim. suun kautta, vaihtelee välillä noin 0,5 - 40 mg/painokilo päi-
 vässä, edullisesti noin 1-15 mg/kg, erittäin edullisesti noin 4-10 mg/kg päivässä. Yksikköannosmuodossa, esim.
 15 suun kautta otettavana yksikköannosmuotona, 70 kg paina-
 valle potilaalle tämä olisi noin 35-2800 mg päivässä, edullisesti noin 210-350 mg päivässä.

Lisäksi, koska useamman kuin yhden aktiivisen ai-
 neen käyttö voi tarjota paremman terapeuttisen koostumuk-
 20 sen, ja tämä on erityisesti totta, kun eri aineet vaikut-
 tavat erilaisilla mekanismeilla, esillä oleva keksintö
 pitää myös sisällään virusten vastaiset valmisteet, jotka
 sisältävät esillä olevan keksinnön mukaista yhdistettä yh-
 dessä yhden tai useamman muun virusten vastaisen aineen
 25 kanssa, jollaisia ovat esimerkiksi ddC, AZT, 2',3'-dideok-
 si-inosiini (ddI), tetrahydroimidatsobentsodiatsepiinioni
 (TIBO) johdannaiset, HIV-proteaasin estäjät ja trisykliset
 diatsepinonit, HIV-integraasi ja RNase H-inhibiittorit,
 samoin kuin biologisen vasteen säätäjät, joihin kuuluvat
 30 esimerkiksi alfa-, beeta- tai gammainterferoni, interleu-
 kiini-2 ja granulosyytti-makrofaagi-yhdyskuntaa stimuloiva
 tekijä (GM-CSF) ja vastaavat.

Mitä tulee ihmispotilaisiin, tämän keksinnön mukai-
 sia yhdisteitä voidaan annostella tavanomaisina annosmuo-
 35 toina, kuten seuraavassa esitettyinä. Joko yhdisteet, val-

misteet tai niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät happoaditiosuolat, karbamaatit, ureat tai amidit ovat sopivia.

Keksinnön mukaisia yhdisteitä annostellaan annoksina, jollaisia seuraavassa on esitetty, kunnes potilaan
 5 tila on parantunut ja/tai virustauti on lievittynyt. Yhdisteitä voidaan myös annostella muiden virusten vastaisen ja/tai biologisen vasteen säätäjien, kuten yllä on mainittu, kanssa. ddC:n ja AZT:n annokset, joita käytetään AIDS- tai ARC-potilailla, on julkaistu. Annettaessa yhdistettynä terapiana muita anti-HIV-yhdisteitä voidaan antaa
 10 samaan aikaan kuin keksinnön mukaista yhdistettä, tai annos voidaan porrastaa halutulla tavalla. Kaksi (tai useampi) lääkeainetta voidaan myös yhdistää valmisteeksi. Kunkin lääkeaineen annokset voivat olla pienemmät, kun niitä
 15 käytetään yhdistelmänä, kuin jos niitä käytettäisiin ainoana aineena.

Tämä keksintö kohdistuu myös valmisteisiin, jotka sisältävät terapeuttisesti tehokkaan määrän keksinnön mukaista yhdistettä farmaseuttisesti hyväksyttävässä kantajassa. On mahdollista, että keksinnön mukaisia yhdisteitä
 20 annostellaan yksin liuoksessa. On kuitenkin suositeltavaa, että aktiiviset aineet annostellaan farmaseuttisena valmisteena. Tämän keksinnön yhteydessä valmisteella tarkoitetaan koostumusta. Nämä valmisteet sisältävät ainakin yhtä keksinnön mukaista aktiivista ainetta yhdessä yhden tai
 25 useamman farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan tai täyteaineen kanssa, ja ne voivat mahdollisesti sisältää muita terapeuttisia aineita, esimerkiksi HIV-RT- tai HIV-proteasasiestäjää. Tämän keksinnön yhteydessä määritelmä "hyväksyttävä" tarkoittaa muiden valmisteen ainesosien kanssa sekoitettavaa ja ei vahingollista käsiteltävälle organismille tai isäntäsolulle. Näihin kantajiin kuuluvat alan ammattilaisten hyvin tuntemat, jotka sopivat annosteltavaksi
 30 suun kautta, peräsuoleen, nenän kautta, paikallisesti, poskeen, kielen alle, emättimeen tai parenteraalisesti
 35

(sisältäen ihonalaisen, lihaksensisäisen, suonensisäisen ja ihonsisäisen annostelun). Koostumukset ovat käytännöllisesti yksikköannosmuodossa, ja ne valmistetaan farmaseuttisella alalla hyvin tunnetuilla menetelmillä. Tällai-

5 siin menetelmiin sisältyy aktiivisen aineen valmistaminen kantajaan, joka voi sisältää muita lääkkeinä aktiivisia aineita, esimerkiksi ddC:a, AZT:a, ddI:a, interferonia, IL-2:a tai HIV-proteaasin estäjää.

Esimerkkejä keksinnön mukaisista koostumuksista

10 ovat liuokset, jotka sisältävät aktiivista ainetta (aktiivisia aineita) esim. vedessä tai suolaliuoksessa; kapselit, esim. pehmeät gelatiinikapselit; pussit tai tabletit, joista kukin sisältää ennalta määrätyn määrän aktiivista ainetta, esim. rakeet; liuokset tai suspensiot vesipitoi-

15 ssa nesteessä tai öljy-vedessä- tai vesi-öljyssä-emulsiossa. Tabletit voivat sisältää yhtä tai useampaa seuraavista: laktoosi, mikrokiteinen selluloosa, kolloidinen piidioksidi, magnesiumstearaatti, steariinihappo ja muut täyteaineet, väriaineet ja farmaseuttisesti hyväksyttävät

20 kantajat. Valmisteisiin, jotka soveltuvat suun kautta annosteltaviksi, kuuluvat pastillit, jotka sisältävät aktiivista ainetta makuaineessa, tavallisesti sakkaroosissa ja akaasiassa tai traganttikumissa; pastillit, jotka sisältävät aktiivista ainetta inertissä pohjassa, kuten gelatiinissa ja glyseriinissä, tai sakkaroosissa ja akaasiassa;

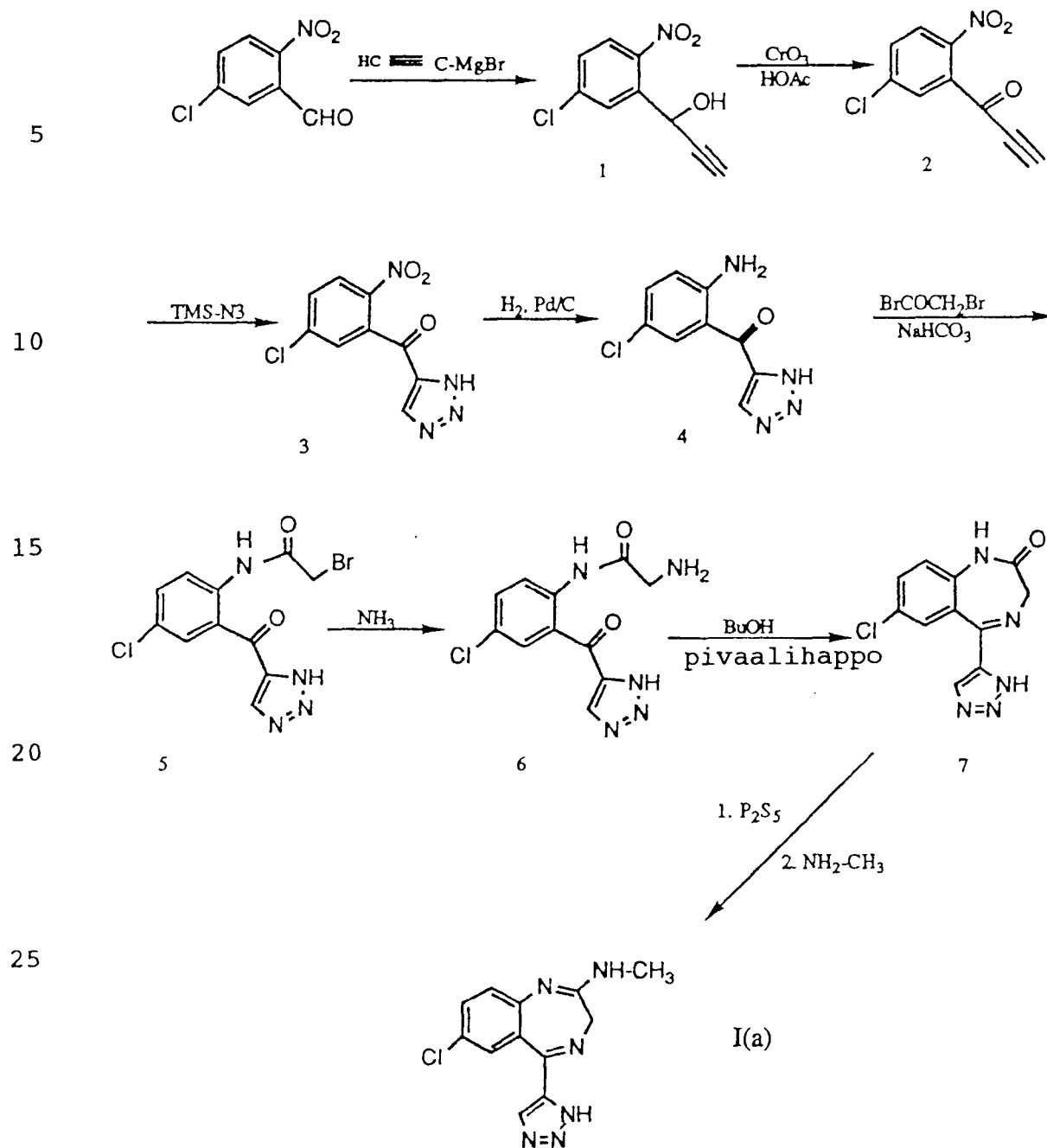
25 ja suuvedet, jotka sisältävät aktiivista ainetta sopivassa nestemäisessä kantajassa. Peräsuolen kautta annosteltaviksi tarkoitetut valmisteet voivat olla peräpuikkona sopivassa perustassa, joka sisältää kaakaovoita tai salisylaattia. Emättimen kautta annosteltaviksi tarkoitetut valmis-

30 teet voivat olla pessaareina, tamponeina, voiteina, geeleinä, pastoina, vaahtoina tai suihkeina. Parenteraalisesti annosteltaviin valmisteisiin sisältyvät vesipitoiset ja vedettömät, isotooniset steriilit injektio-liuokset, jotka

35 voivat sisältää antioksidantteja, puskureita, bakterio-

staattisia aineita ja liuotettuja aineita, jotka tekevät valmisteen isotoniseksi aiotun saajan veren kanssa; ja vesipitoiset ja vedettömät steriilit suspensiot, jotka voivat sisältää suspendoivia aineita ja paksunnosaineita.

5 Valmisteet voivat olla yhtenä tai useampana annoksena, jotka on suljettu tiiviisti säiliöihin, esimerkiksi ampulleihin ja ruiskuihin, ja niitä voidaan varastoida lyofii-
lisessa tilassa, jolloin tarvitaan ainoastaan steriilin nestemäisen kantajan, esimerkiksi veden injektioihin, li-
10 sääminen juuri ennen käyttöä. Hetkessä valmiita injektio-
liuoksia ja -suspensioita voidaan valmistaa edellä kuva-
tuista steriileistä jauheista, rakeista ja tableteista.

Esimerkki 1

a) Asetyleenin annettiin kuplia 75 ml:aan THF:a. EtMgBr:a (50 ml) lisättiin THF/asetyleeniseokseen 1 tunnin aikana niin, ettei reaktioseoksen lämpötila koskaan nouse 40 °C:een. Tämän lisäyksen aikana asetyleenin annettiin jatkuvasti kuplia seoksen läpi. Seosta sekoitettiin

vielä 30 minuuttia huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen asetyleenin virtaus katkaistiin ja seos jäähdytettiin 0°C:een. Liuos, joka sisälsi 5-kloori-2-nitrobentsaldehydiä (13,2 g) 70 ml:ssa THF:a, lisättiin tipoittain seokseen. Reaktioseoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan yön aikana, sitten se tukahdutettiin kyllästetyllä NH_4Cl -liuoksella ja uutettiin EtOAc:lla. Kuivaamisen, suodattamisen ja haihduttamisen jälkeen jäännös puhdistettiin nopeasti pylväässä kromatografioimalla (10 % EtOAc/heksaani), jolloin saatiin 12,26 g 5-kloori-alfa-etynyyli-2-nitrobentseenimetanolia, $\text{IR}(\text{KBr})$ 3290, 2120, 1525, 1338 cm^{-1} .

b) Liuos, joka sisälsi 5-kloori-alfa-etynyyli-2-nitrobentseenimetanolia (1,54 g) 60 ml:ssa jäätikkaa, kuumennettiin 40 °C:seen, ja sitten sitä käsiteltiin 1,44 g:lla CrO_3 :a. Sekoituksen jälkeen liuos jäähdytettiin huoneen lämpötilaan ja sitten uutettiin CH_2Cl_2 :lla. Orgaanista kerrosta uutettiin vedellä ja kyllästetyllä NaHCO_3 :lla, sitten kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Pylväskromatografia, jossa käytettiin gradienttieluointia (9 % EtOAc/heksaani, 17 % EtOAc/heksaani), antoi 0,94 g 1-(5-kloori-2-nitrofenyyli)-2-propyn-1-onia, MS lask. 208.9880; saatu 208.9872.

c) 1-(5-kloori-2-nitrofenyyli)-2-propyn-1-oni (0,03 g) sekoitettiin atsidotrimetyylisilaanin (0,02 ml) ja CH_3CN :n (5 ml) kanssa, ja seosta kuumennettiin 100 °C:ssa argonvirrassa kolme tuntia. Sitten liuos haihdutettiin, ja välittömästi puhdistettiin salamapylväskromatografialla käyttäen gradienttieluointia (5 % EtOAc/heksaani, 20 % EtOAc/heksaani, 50 % EtOAc/heksaani), jolloin saatiin 0,03 g (5-kloori-2-nitrofenyyli)-(1H-1,2,3-triatsol-5-yyli)-metanonia, MS 252 (M^+).

d) Seosta, joka sisälsi (2-nitro-5-kloorifenyyli)-(1H-1,2,3-triatsol-5-yyli)metanonia (2,53 g), EtOH:a (100 ml) ja 10 % Pd:a hiilellä (50 mg), hydrattiin 40 psin vetytypaineessa 16 tuntia. Sitten liuos suodatettiin, haihdu-

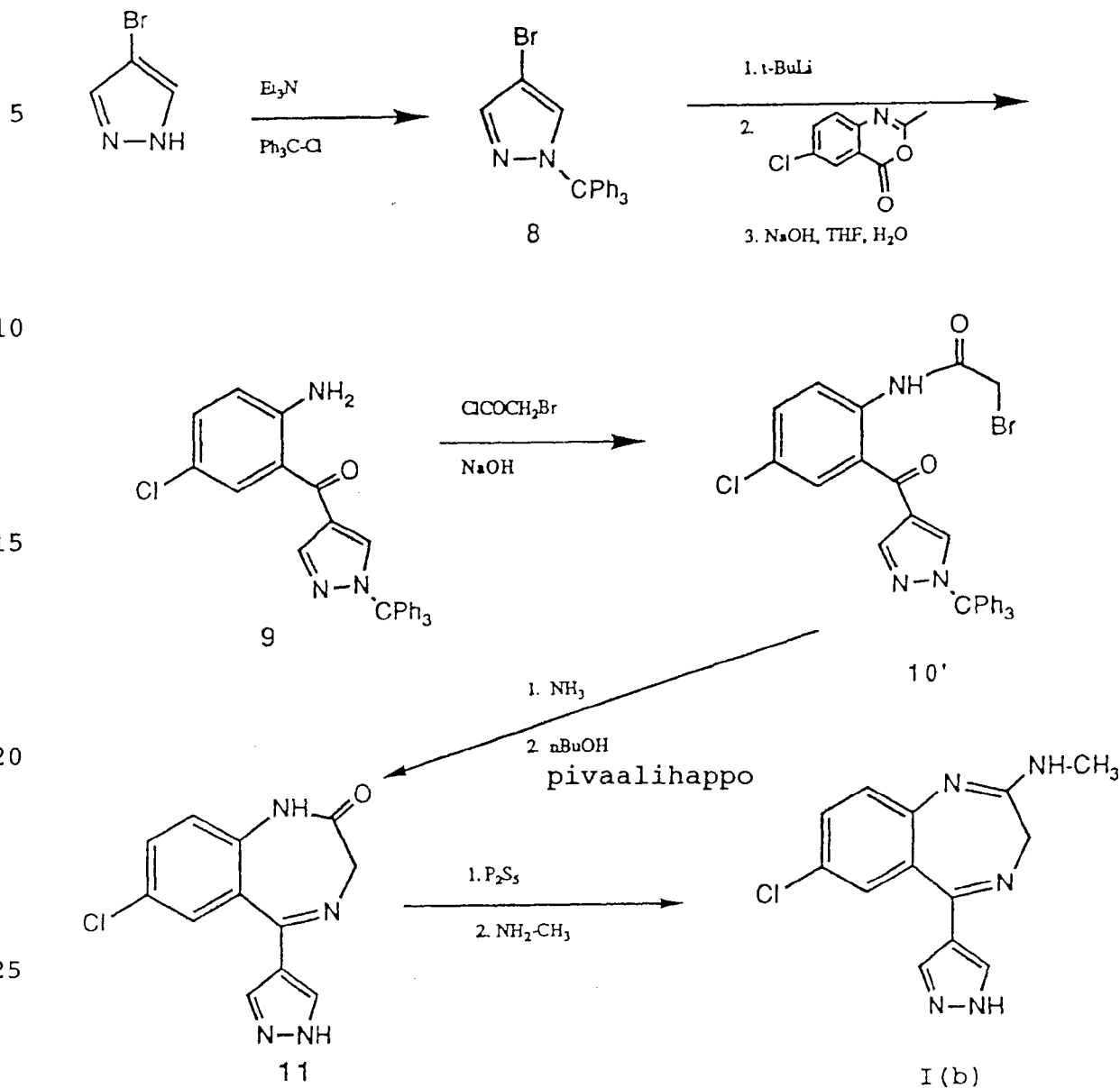
tettiin ja lietettiin CH_2Cl_2 :n kanssa. Saatu kiinteä aine otettiin talteen, jolloin saatiin 1,64 g (2-amino-5-kloorifenyyli)-(1H-1,2,3-triatsol-5-yyli)-metanonia. Emäliuokset puhdistettiin kromatografioimalla pylväässä käyttäen gradienttieluointia (9 % EtOAc/heksaani, 20 % EtOAc/heksaani), jolloin saatiin vielä 0,48 g tuotetta, sul. piste 148-150 °C;

e) Tämän jälkeen liuokseen, joka sisälsi 1,0 g (2-amino-5-kloorifenyyli)-(1H-1,2,3-triatsol-5-yyli)metanonia 150 ml:ssa CH_2Cl_2 :a ja 60 ml:ssa THF:a, lisättiin 50 ml jäävettä ja 2,0 g natriumbikarbonaattia. Sekoitettuun kaksifaasiseseen seokseen lisättiin 0,98 ml bromiasetyyli-bromidia. Reaktioseosta sekoitettiin 0,5 tuntia. Kerrokset erotettiin, ja vesipitoista osaa uutettiin CH_2Cl_2 :lla. Orgaaniset uutteen pestiin vedellä ja sitten suolaliuoksella, sitten kuivattiin ja haihdutettiin. Jäännös puhdistettiin suodattamalla käyttäen etyyliasetaatte-heksaania eluentina, jolloin saatiin 1,2 g 2-bromi-4'-kloori-2'-[(1H-1,2,3-triatsol-5-yyli)-karbonyyli]asetanilidia, sul. piste = 173-171 °C.

f) 100 ml:aan nesteytettyä ammoniakkaa kuivassa jäähauteessa lisättiin liuos, joka sisälsi 1,2 g 2-bromi-4'-kloori-2'-[(1H-1,2,3-triatsol-5-yyli)karbonyyli]asetanilidia 25 ml:ssa THF:a. Reaktioseosta sekoitettiin yön yli ja ammoniakin annettiin haihtua. Jäljelle jäänyt THF haihdutettiin, ja yhdistettyjä jäännöksiä sekoitettiin 100 ml:n 10 % metanoli-etyyliasetaatte ja 20 ml:n vettä kanssa. Vesipitoista osaa uutettiin 10 %:lla metanoli-etyyliasetaatilla. Orgaaniset uutteen pestiin suolaliuoksella, kuivattiin ja haihdutettiin. Jäännöstä kuumennettiin palautusjähdyttämällä 60 ml:ssa n-butanolia, jossa oli 100 mg pivaalihappoa, 16 tunnin ajan. Butanoli haihdutettiin ja jäännös pumpattiin kuiviin korkeassa vakuuissa. Jäännöksen fraktiokiteytys 8 %:sta metanoli-dikloorimetaanista antoi 705 mg 7-kloori-5-(1H-1,2,3-triatsol-5-yyli)-1,3-

dihydro-2H-1,4-bentsodiatsepin-2-onia, sul. piste 246-249 °C hiilellä käsittelyn ja metanolist uudelleenkiteytyksen jälkeen.

5 g) Seosta, joka sisälsi 7-kloori-1,3-dihydro-5-(1H-1,2,3-triatsol-5-yyli)2H-1,4-bentsodiatsepin-2-onia (200 mg). P₂S₂:a (222 mg) ja THF:a (25 ml), sonikoitiin 20-40 °C:ssa 2 tuntia. Liuotin haihdutettiin, ja jäännöstä sekoitettiin EtOAc:n (200 ml) ja veden (100 ml) seoksessa. Liukenematon keltainen kiinteä aines otettiin talteen ja 10 kuivattiin. Tämä aine liuotettiin THF:iin (15 ml), ja lisättiin sitten -70 °C:een THF-liuokseen (20 ml), jonka läpi oli johdettu NH₂CH₂:a 10 minuutin ajan. Liuosta sekoitettiin -70 °C:ssa, minkä jälkeen sen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan. Saostuneet kiinteät ainekset otettiin 15 talteen ja yhdistettiin veden kanssa ja kuumennettiin höyryhauteella. Jäähdytyksen jälkeen kiinteät aineet kerättiin ja uudelleenkiteytettiin metanolista, jolloin saatiin 89 mg 7-kloori-N-metyyli-5-(1H-1,2,3-triatsol-5-yyli)-3H-1,4-bentsodiatsepin-2-amiinia, sul. piste = 232-235 °C.

Esimerkki 2

30 a) Seosta, joka sisälsi 4-bromi-(1H)-pyratsolia
(50,8 g), 1300 ml CH₂Cl₂:a, trifenyylimetyylikloridia (99,5
g) ja Et₃N:a (35,3 g), sekoitettiin huoneen lämpötilassa 24
tuntia. Sitten liuosta uutettiin vedellä, kuivatettiin, suo-
datettiin ja haihdutettiin. Kiteyttämällä jäännös CH₂Cl₂/
35 heksaanista saatiin valkoisia kiteitä: sul. piste 190-192

°C. Toisen erän kanssa saatiin yhteensä 117,3 g 4-bromi-1-(trifenyyylimetyyli)-1H-pyratsolia.

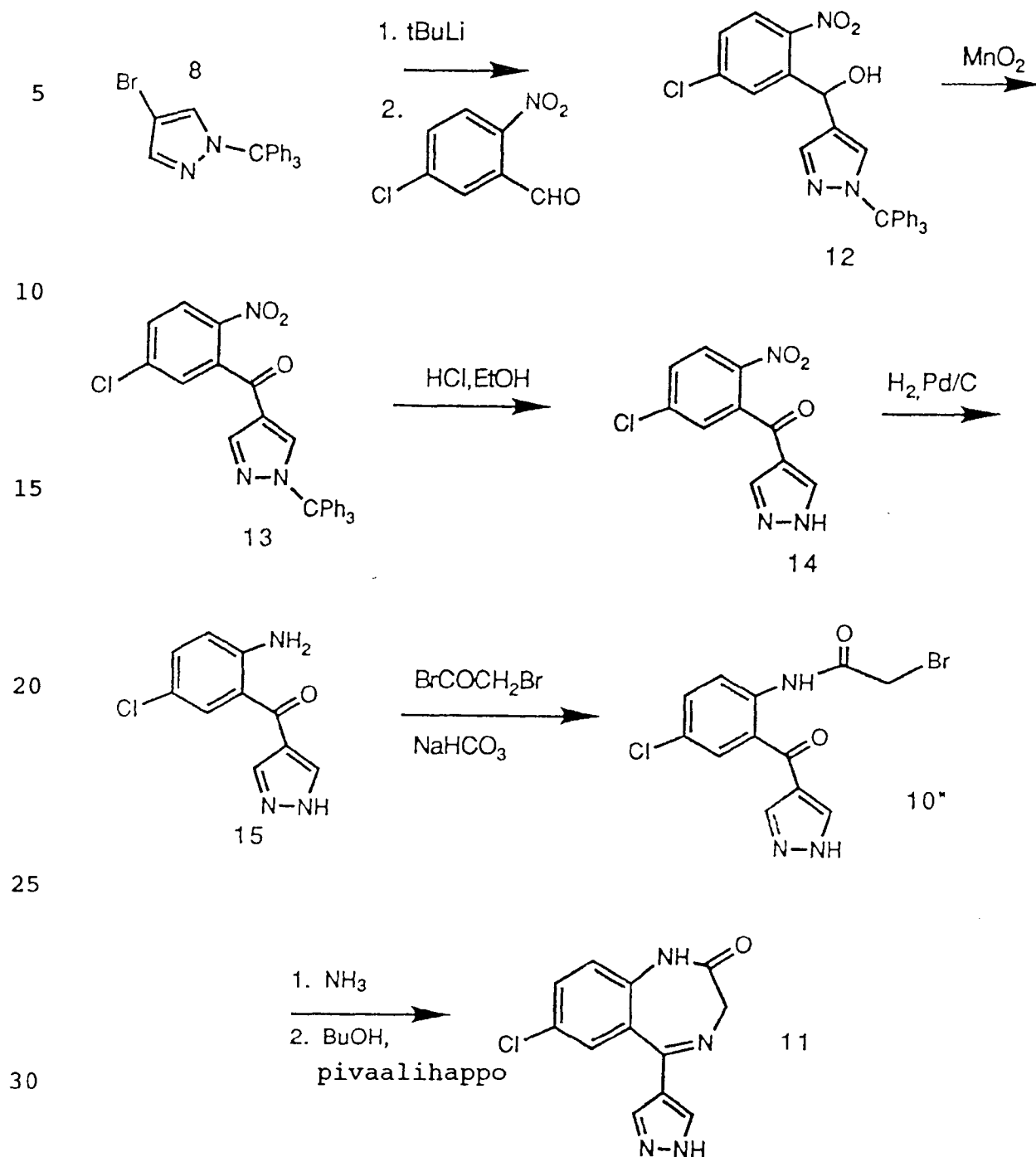
b) Seosta, joka sisälsi 4-bromi-1-(trifenyyylimetyyli)-1H-pyratsolia (48 g), Et₂O:a (100 ml) ja THF:a (500 ml), sekoitettiin samalla jäähdyttäen -78 °C:een argonvirrassa. Seokseen lisättiin t-BuLi:a (160 ml), ja saatua punaista liuosta sekoitettiin 2,5 tuntia -78 °C:ssa. Sit-
 5 ten liuokseen lisättiin liuos, joka sisälsi 2-metyyli-6-kloori-4H-3,1-bentsoksatsin-4-onia (21 g) THF:ssa (500 ml) ja joka oli jäähdytetty -78 °C:een. Seoksen annettiin läm-
 10 metä huoneen lämpötilaan yön aikana, jonka jälkeen se tu-
 kahdutettiin kyllästetyllä NH₄Cl-liuoksella. EtOAc:lla lai-
 mennuksen jälkeen kerrokset erotettiin, ja orgaaninen ker-
 ros pestiin kyllästetyllä NaCl-liuoksella, kuivattiin,
 15 suodatettiin ja haihdutettiin. Saatu kiinteä aine yhdis-
 tettiin THF:n (400 ml). MeOH:n (350 ml), H₂O:n (250 ml) ja
 10n NaOH:n (300 ml) kanssa, ja sekoitettiin palautusjääh-
 dytyslämpötilassa 3 tuntia. Huoneen lämpötilaan jäähdyttä-
 misen jälkeen orgaaninen kerros ja vesikerros erotettiin.
 20 Vesikerrosta uutettiin Et₂O:lla, ja orgaaniset jakeet kui-
 vattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Saatu vaahto se-
 koitettiin CH₂Cl₂:een ja sekoitettiin yön yli. Suodatuksen
 jälkeen suodos haihdutettiin, jolloin saatiin 49 g yhdis-
 tettä [9] öljynä.

c) Sekoitettuun seokseen, joka sisälsi yhdistettä
 25 [9], THF:a (450 ml), CH₂Cl₂:a (450 ml) ja 1 N NaOH:a (1400
 ml), lisättiin tipoittain 10,5 ml bromiasetyylikloridia
 huoneen lämpötilassa. Kaksifaasista seosta sekoitettiin
 huoneen lämpötilassa 20 minuuttia. Kerrosten erottamisen
 30 jälkeen vesipitoista kerrosta uutettiin CH₂Cl₂ :lla. Orgaa-
 niset kerrokset kuivattiin ja haihdutettiin kuiviin. Jään-
 nös kiteytettiin THF:sta ja heksaanista, jolloin saatiin
 23,5 g 2-bromi-4'-kloori-2'-[(1-(trifenyyylimetyyli)-1H-
 pyratsol-4-yyli karbonyyli]asetanilidia, sul. piste 197-
 35 200 °C.

d) Yhteen litraan nestemäistä ammoniakkia kuivajäähähteessä lisättiin liuos, joka sisälsi 2-bromi-4'-kloori-2'-[(1-trifenyyylimetyyli)-1H-pyratsol-4-yyli]karbonyyli]-asetanilidia (23,5 g) THF:ssa (200 ml). Reaktioseosta sekoitettiin yön yli ja ammoniakkin annettiin haihtua. Jäljelle jäänyt liuotin tislattiin pois. Jäännöstä sekoitettiin EtOAc:n ja veden kanssa. Tuote pestiin vedellä ja kuivattiin, jolloin saatiin 18,3 g kiinteää ainetta. Tämän aineen suspensiota 1-butanolissa (600 ml), joka sisälsi 300 mg pivaalihappoa, kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilassa 8 tuntia. Lisäannokset pivaalihappoa, 300 mg kumpikin, lisättiin 3 ja 5 tunnin kuluttua. Haihtuvat aineet haihdutettiin ja jäännöstä trituroitiin, jolloin saatiin 6,5 g tuotetta. Tämä liuotettiin metanoliin, käsiteltiin hiilellä, suodatettiin ja väkevöitiin. Saostunut tuote otettiin talteen, jolloin saatiin 5,25 g 7-kloori-1,3-dihydro-5-(1H-pyratsol-4-yyli)-2H-1,4-bentsodiatsepin-2-onia, sul. piste 289-291 °C.

e) Seosta, joka sisälsi 7-kloori-1,3-dihydro-5-(1H-pyratsol-4-yyli)-2H-1,4-bentsodiatsepin-2-onia (295 mg), P₂S₅:a (327 mg) ja THF:a (25 ml), sonikoitiin 20-40 °C:ssa kaksi tuntia. Liuotin haihdutettiin ja jäännöstä sekoitettiin EtOAc:n (200 ml) ja veden (100 ml) seoksessa. Liukenemattomat kiinteät aineet otettiin talteen ja kuivattiin. Tämä aine liuotettiin THF:iin (15 ml), ja lisättiin sitten -70 °C:een THF-liuokseen (25 ml), jonka läpi NH₂CH₃:n oli annettu kuplia 10 minuutin ajan. Liuosta sekoitettiin -70 °C:ssa 15 minuuttia, jonka jälkeen sen annettiin lämmetä. Liuottimen haihduttamisen jälkeen jäännös yhdistettiin veteen ja kuumennettiin höyryhauteella. Saostuneet kiinteät aineet otettiin talteen, liuotettiin EtOAc:iin, kuivattiin ja haihdutettiin. Jäännös puhdistettiin uudelleen kiteyttämällä MeOH-CH₃CN:sta, jolloin saatiin 7-kloori-N-metyyli-5-(1H-pyratsol-4-yyli)-3H-1,4-bentsodiatsepin-2-amiinia (38 mg). sul. piste 287-289 °C.

Yllä kuvatus kohdan d) bentsodiatsepinonivälituote valmistettiin myös seuraavasti:



a) Yhdiste [8] (24 g) yhdistettiin THF:n (400 ml) ja Et₂O:n (100 ml) kanssa ja jäähdytettiin -78 °C:een. tBuLi:a (80 ml) lisättiin tipoitain seokseen, ja saatua pu-

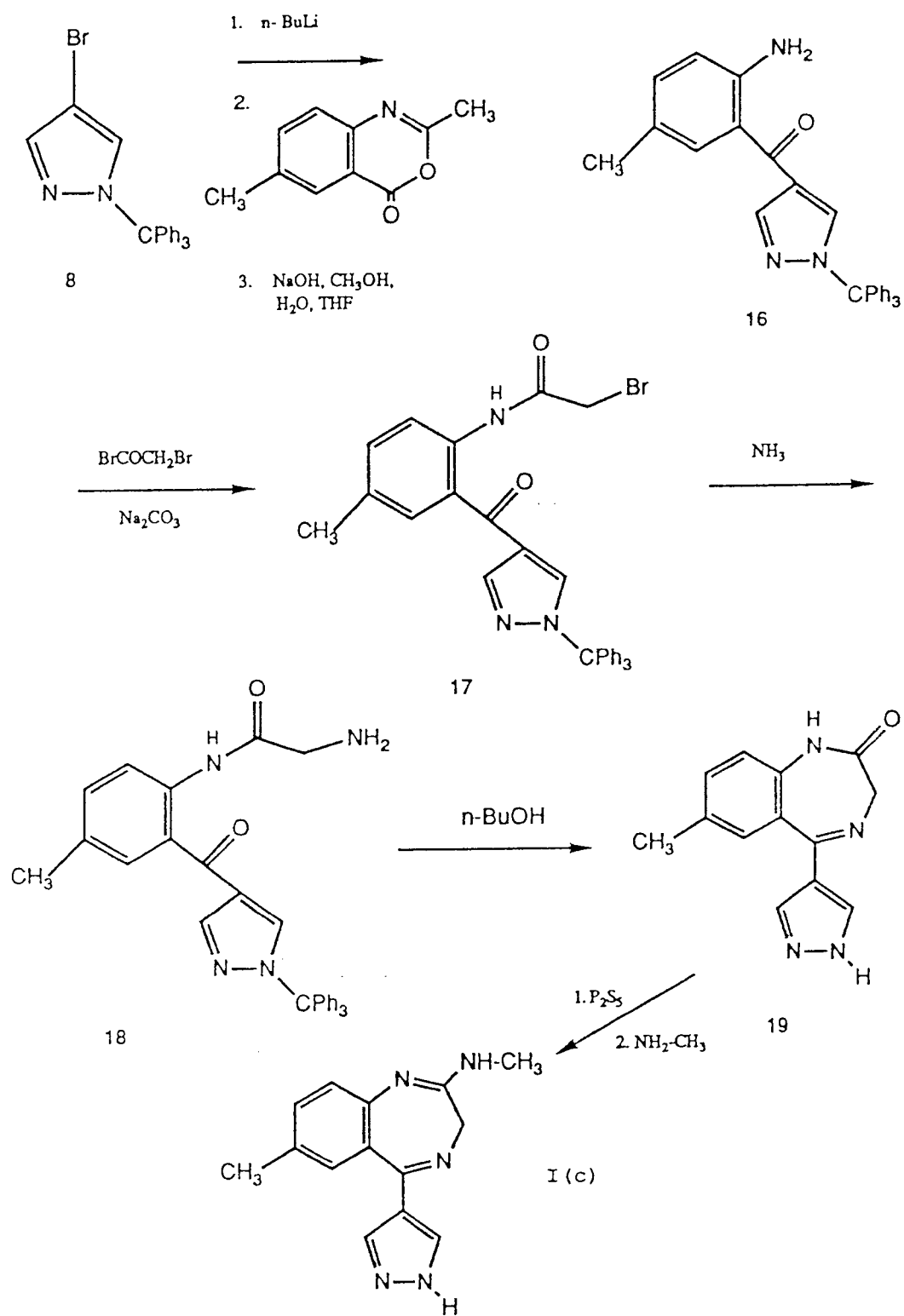
naista liuosta sekoitettiin 2,5 tuntia -78°C :ssa. Liuos, joka sisälsi 5-kloori-2-nitrobentsaldehydiä (11,2 g) THF:ssa (150 ml), lisättiin tipoittain liuokseen, ja saadun seoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan yön aikana. Kyllästetyllä NH_4Cl -liuoksella tukahduttamisen jälkeen seos laimennettiin EtOAc:lla, ja kerrokset erotettiin. Orgaaninen kerros pestiin kyllästetyllä NaCl -liuoksella, kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Salamapylväskromatografiointi käyttäen gradienttieluointia 10 % EtOAc/heksaanista 75 % EtOAc/heksaaniin antoi 20,6 g alfa-(5-kloori-2-nitrofenyyli)-1-(trifenyylimetyyli)-1H-pyratsoli-4-metanolia valkoisena vaahtona. MS 495(M^+).

b) Seosta, joka sisälsi kohdan a) tuotetta (27,1 g), CHCl_3 :a (250 ml) ja MnO_2 :a (20 g), sekoitettiin palautusjäähdytyslämpötilassa kolme tuntia. Lisäannos MnO_2 :a (5 g) lisättiin, ja seosta sekoitettiin vielä viisi tuntia. Jäähdytyksen jälkeen seos suodatettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 26,9 g (5-kloori-2-nitrofenyyli)[1-(trifenyylimetyyli)-1H-pyratsol-4-yyli]metanonia, MS 493(M^+).

c) Kohdan b) tuote (26,9 g), EtOH (400 ml) ja NH_4Cl (100 ml) yhdistettiin ja saatua seosta sekoitettiin palautusjäähdytyslämpötilassa kolme tuntia. Seos neutraloitiin 30 % NaOH :lla (50 ml) 0°C :ssa, sitten EtOH haihdutettiin ja saatu vesipitoinen faasi uutettiin EtOAc:llä. Orgaaniset jakeet kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Jäännös puhdistettiin suodattamalla silikageelin läpi käyttäen gradienttieluointia 30 % EtOAc/heksaanista 100 % EtOAc:iin, jolloin saatiin (5-kloori-2-nitrofenyyli)(1H-pyratsol-4-yyli)metanonia. Tämä yhdistettiin EtOH:iin (250 ml) ja 10 % Pd-hiileen (100 mg) ja hydrattiin 45 psi:ssä. Salamapylväskromatografiointi antoi 10 g (2-amino-5-kloorifenyyli)-1H-pyratsol-4-yyli metanonia, MS 221 (M^+).

d) Liuokseen, joka sisälsi kohdan c) tuotetta (10,5 g) THF:ssa (300 ml) ja CH_2Cl_2 :ssa (300 ml), lisättiin

NaHCO₃:a (25 g) ja jään ja veden seosta (300 ml). Sekoitettua kahden faasin seosta käsiteltiin 37,2 ml:lla BrCOCH₂Br:a. Faasit erotettiin ja vesipitoista faasia uutettiin CH₂Cl₂:lla Orgaaniset jakeet kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Jäännös liuotettiin THF:iin (100 ml) ja lisättiin nestemäiseen ammoniakkiin (200 ml), joka oli jäädytetty -78 °C:een, ja seosta sekoitettiin yön yli antaen sen samalla lämmetä huoneen lämpötilaan. Haihtuvat aineet haihdutettiin ja jäännös eroteltiin EtOAc:n ja veden välillä. Kerrosten erottamisen jälkeen vesipitoista jaetta uutettiin EtOAc:lla. Orgaaniset jakeet kuivattiin, suodatettiin ja haihdutettiin. Jäännös yhdistettiin 1-BuOH:n (100 ml) ja pivaalihapon (75 mg) kanssa, ja seos kuumennettiin palautusjäädytyslämpötilaan. Liuotin poistettiin haihduttamalla, ja tuote puhdistettiin salamapylväskromatografialla (6,5 % MeOH/CH₂Cl₂), jolloin saatiin 5,5 g haluttua bentsodiatsepinonia.

Esimerkki 3

a) Bromipyratsolia (24,0 g) suspendoitiin kuivaan THF:iin (600 ml) ja jäähdytettiin kuivassa jää-asetonihauteessa sekoittaen argon-ilmakehässä. n-Butyyllilitiumia (2,5 M heksaanissa) lisättiin tipoittein. Kun seosta oli sekoitettu 2 tuntia jäähdyttäen kuivassa jää-asetonihauteessa, se lisättiin 2-metyyli-6-metyyli-4H-3,1-bentsoksatsin-4-oniin (8,76 g) THF:ssa (500 ml), joka oli esijäähdytetty noin -50 °C:een, 10 minuutin aikana. Reaktio tukahdutettiin 20 minuutin sekoituksen jälkeen lisäämällä 15 % ammoniumkloridia vedessä (paino/tilavuus, 300 ml), ja seoksen annettiin lämmitä huoneen lämpötilaan. Reaktioseos laimennettiin EtOAc:lla ja kerrokset erotettiin. Orgaaninen kerros pestiin kyllästetyllä natriumkloridin vesiliuoksella. Vesipitoiset kerrokset pestiin EtOAc:lla. Orgaaniset kerrokset yhdistettiin, kuivattiin, suodatettiin ja väkevöitiin. Saatua kiinteää aine suspendoitiin seokseen, joka sisälsi THF:e (300 ml), metanolia (350 ml), vettä (250 ml) ja 10 N natriumhydroksidia (270 ml), ja saatua seosta kuumennettiin palautusjäähdytyslämpötilassa sekoittaen 6 - 24 tuntia. Saadun seoksen annettiin jäähtyä huoneen lämpötilaan, ja se erotettiin eetterin ja veden välillä. Orgaaniset kerrokset pestiin kyllästetyllä natriumkloridin vesiliuoksella, yhdistettiin, kuivattiin, suodatettiin ja väkevöitiin. Jäännös suspendoitiin CH_2Cl_2 :een ja suodatettiin. Suodoskaku pestiin CH_2Cl_2 :lla. Suodos väkevöitiin ja johdettiin silikageelin läpi käyttäen eluenttina EtOAc- CH_2Cl_2 -seosta (1:9 til./til.). Eluentti yhdistettiin ja väkevöitiin ja saatua jäännös kiteytettiin CH_2Cl_2 -heksaanista, jolloin saatiin 15,18 g (2-amino-5-metyylifenyyli)-[1-(trifenyyylimetyyli)-1H-pyratsol-4-yyli]metanonia, MS laskettu: 443.1997; saatu: 443.1990.

b) Kohdan a) tuote (2,85 g) liuotettiin THF:n (150 ml) ja eetterin (150 ml) seokseen ja jäähdytettiin jää-vesihauteella. Sitten lisättiin kyllästettyä natriumkarbonaatin vesiliuosta (100 ml). Bromiasetylibromidia (4 x

0,67 ml) lisättiin samalla sekoittaen. Neljän tunnin kulluttua reaktioseos laimennettiin vedellä ja uutettiin EtOAc:llä. Muodostunut saostuma otettiin talteen suodattamalla ja liuotettiin CH_2Cl_2 :iin. EtOAc-jae yhdistettiin CH_2Cl_2 -liuokseen ja kuivattiin, suodatettiin, haihdutettiin ja väkevöitiin. Jäännös kiteytettiin CH_2Cl_2 -heksaanista, jolloin saatiin 3,33 g 2-bromi-N-[4-metyyli-2-[[1-(trifenyyylimetyyli)-1H-pyratsol-4-yyli]karbonyyli]fenyyli]asetamidia, MS laskettu: 563.1208; saatu 563.1188.

10 c) Kohdan b) tuote (2,26 g) liuotettiin kuivaan CH_2Cl_2 :iin (100 ml) ja jäähdytettiin kuivassa jää-asetonihauteessa. Nestemäistä ammoniakkia (50 ml) kondensoitiin reaktioseokseen. Saatua liuosta sekoitettiin, ja sen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan yön aikana. Vettä li-
15 sätettiin, ja jäljelle jäänyt saostuma liukeni. Sekoituksen jälkeen kerrokset erotettiin. Orgaaninen kerros uutettiin kyllästetyllä natriumbikarbonaatin vesiliuoksella. Vesikerrokset pestiin CH_2Cl_2 :lla. CH_2Cl_2 -kerrokset yhdistettiin, kuivattiin, suodatettiin ja väkevöitiin. Jäännös uudelleenkiteytettiin CH_2Cl_2 -heksaanista, jolloin saatiin 1,68 g 2-amino-N-[4-metyyli-2-[[1-(trifenyyylimetyyli)-1H-pyratsol-4-yyli]-karbonyyli]fenyyli]asetamidia, MS laskettu: 501.2291; saatu: 501.2272.

d) Suspensiota, joka sisälsi kohdan c) tuotetta
25 (15,02 g) n-BuOH:ssa (300 ml), kuumennettiin palautusjäähdyttämällä 64 tuntia. Huoneen lämpötilaan jäähdyttämisen jälkeen reaktioseos väkevöitiin kuiviin. Jäännös suspendoitiin THF:iin ja kuumennettiin palautusjäähdyttämällä. Saatu suspensio suodatettiin. Suodoskakku pestiin THF:lla. Suodos pestiin ja sitä kuumennettiin kiehumislämpötilassa ja väkevöitiin. Saadun seoksen annettiin jäähtyä huoneen lämpötilaan sekä annettiin seistä 3 tuntia. Saatu tuote pestiin THF:lla ja kuivattiin, jolloin saatiin 5,50 g 1,3-dihydro-7-metyyli-5-(1H-pyratsol-4-yyli)-2H-1,4-bentso-
35 diatsepin-2-onia, sul. piste 282-289 °C.

e) Fosforipentasulfidia (0,5 g) lisättiin suspensioon, joka sisälsi kohdan d) tuotetta (0,24 g) THF:ssa (50 ml). Seosta pidettiin ultraäänihauteessa tunnin ajan, ja sitten se väkevöitiin kuiviin. Tämä jäännös eroteltiin 5 THF-EtOAc:n (1:2, til./til., 150 ml) ja puoliksi kyllästetyn NaHCO_3 -liuoksen välillä. Orgaaninen kerros pestiin kylästetyllä NaCl -liuoksella (100 ml). Vesikerrokset pestiin THF-EtOAc-seoksella, orgaaniset kerrokset väkevöitiin ja pidettiin vakuumieksikaattorissa yön yli. Jäännös liuotettiin 10 THF:iin ja jäähdytettiin -40°C :een. Metyyliamiinin annettiin kuplia THF-liuokseen 10 minuutin ajan. Hyötypainossa oli 6 g. Seoksen annettiin lämmetä huoneen lämpötilaan, ja sitä sekoitettiin kaksi tuntia. Väkevöinnin jälkeen jäännös liuotettiin THF:n ja EtOAc:n seokseen 15 (1:2, til./til., 100 ml) ja uutettiin kyllästetyllä NaHCO_3 -liuoksella (100 ml) ja kyllästetyllä NaCl -liuoksella (100 ml). Vesikerrokset pestiin THF-EtOAc-seoksella, ja orgaaniset kerrokset kuivatettiin, suodatettiin ja väkevöitiin. Jäännös kromatografioitiin silikageelillä käyttäen $\text{CH}_2\text{OH}-$ 20 CHCl_3 :a (til./til. 1:9) eluenttina, jolloin saatiin, $\text{OH}_2\text{OH}-\text{CHCl}_3$ -heksaanista uudelleenkiteyttämisen jälkeen, N,7-dime-tyyli-5-(1H-pyratsol-4-yyli)-3H-1,4-bentsodiatsepin-2-amiinia (0,22 g). sul. piste $262-270^\circ\text{C}$.

Seuraavat galeeniset valmisteet, jotka sisältävät 25 keksinnön mukaista yhdistettä aktiivisina aineina, kuten yllä on esitetty, voidaan valmistaa sinänsä tunnetulla tavalla:

a) Suun kautta otettava valmiste

	<u>Ainekset</u>	<u>mq/valmiste</u>
30	Aktiivinen aine	20,0 mg
	Metyyliiparaben	20,0 mg
	Sakkarooosi	q.s.
	Makuaine	q.s.
	Sitraattipuskuri	q.s.
35	Puhdistettu vesi q.s.	5,0 ml

b) Tablettivalmiste

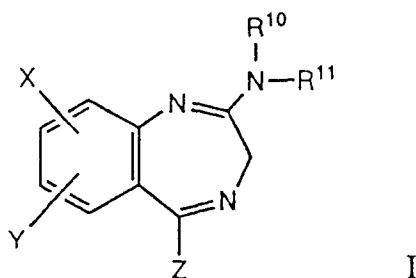
	<u>Ainekset</u>	<u>mq/tabletti</u>
	Aktiivinen aine	20 mg
	Tärkkelys	40 mg
5	Avicel	80 mg
	Laktoosi	274 mg
	Magnesiumstearaatti	<u>2 mg</u>
		416 mg

c) Pehmeä gelatiinikapselivalmiste

	<u>Ainekset</u>	<u>mq/kapseli</u>
	Aktiivinen aine	20 mg
	Etoksiloituja rasvahappoja	500 mg
	PEG 4000	100 mg
10	Kasvisöljyä q.s.	1,0 ml

Patenttivaatimukset

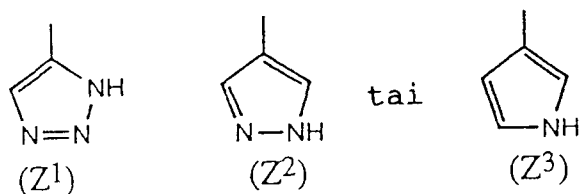
1. Menetelmä seuraavan kaavan mukaisen yhdisteen



10 jossa

X ja Y ovat toisistaan riippumatta H, Halogeeni tai alempi alkyyli; R^{10} ja R^{11} ovat molemmat vetyjä, tai toinen niistä on vety ja toinen metyyli, tai R^{10} ja R^{11} yhdessä muodostavat ryhmän $-(CH_2)_n-$, jossa $n = 4$ tai 5 ;

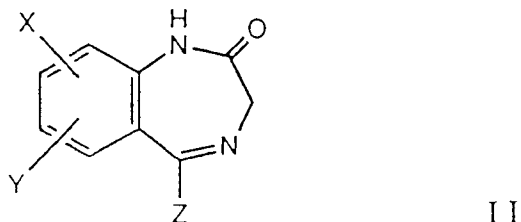
15 Z on jokin seuraavista renkaista



20

jolloin yksi tai useampi kyseisen renkaan Z hiiliatomeista voi olla substituoitu fluorilla, kloorilla tai alemmalla alkyyylillä;

samoin kuin sen farmaseuttisesti hyväksyttävien happoaddi-
 25 tiosuolojen, karbamaattien, ureoiden ja amidien valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että annetaan seuraavan kaavan mukaisen yhdisteen



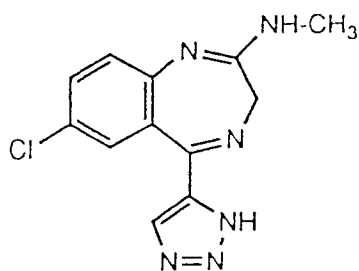
reagoida ensin P_2S_5 :n ja sitten amiinin $HN(R^{10}, R^{11})$ kanssa,
 35 tai antamalla kaavan II mukaisen yhdisteen reagoida amii-

nin $\text{HN}(\text{R}^{10}, \text{R}^{11})$ kanssa reaktiolle inertissä liuottimessa Lewis-hapon läsnäollessa, ja milloin halutaan kaavan I mukaisen yhdisteen amidi, neutraloidaan kaavan I mukainen yhdiste orgaanisella hapolla, ja milloin halutaan karbamaatti tai urea, annetaan kaavan I mukaisen yhdisteen reago-
 5 goida vastaavasti stökiometrisessä reaktiossa fosgeenin ja alifaattisen tai aromaattisen alkoholin, tai alifaattisen tai aromaattisen amiinin välillä syntyneen tuotteen kanssa.

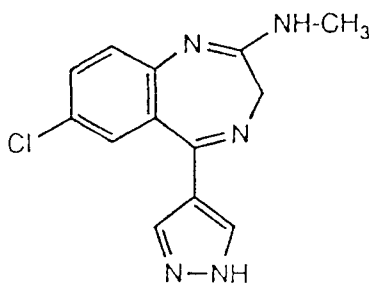
10 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että Y on H ja X on halogeeni tai alempi alkyyli, erityisesti että X on 7-asemassa.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että R^{10} on metyyli, R^{11} on vety ja X on
 15 kloori tai metyyli, erityisesti 7-asemassa.

4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan yhdiste, jolla on kaava I(a), I(b) tai I(c):

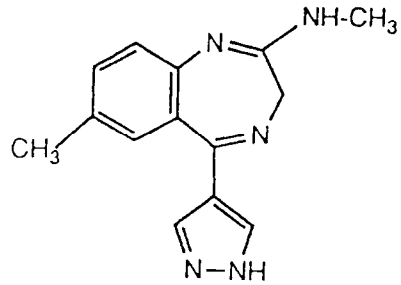


I(a)



I(b)

5



I(c)

10 5. Patenttivaatimuksessa 1 määritellyn yhdisteen
käyttö lääkeaineen, erityisesti virusinfektioiden, ja eri-
tyisesti retrovirusinfektioiden, kuten HIV 1 ja/tai HIV 2
infektioiden hoitoon tai ennaltaehkäisyyn, tai solujen
suojaamiseen tällaisia infektioita vastaan, tai retrovi-
15 russairauden sytopaattisesti tuhoisien vaikutuksien lie-
vittämiseen retroviruksen infektoimalla potilaalla, tar-
koitetun lääkeaineen valmistamiseksi.