

(19) **KG** (11) **143** (13) **C2**

ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ к патенту Кыргызской Республики

- (10) 1574176
(21) 4355476/SU
(22) 01.04.1988
(31) А 820/87
(32) 03.04.1987
(33) АТ
(46) 01.10.1996, Бюл. №2, 1997
(71) Хафслунд Никомед Фарма Акционгезельшафт, АТ
(72) Дитер Биндер, Франц Ровенцки, Хуберт Петер Фербер, АТ
(73) Хемиш Фармацойтише Форшунгсгезельшафт мбХ, АТ
(56) Бюлер К., Пирсон Д. Органические синтезы, ч. 2. - М.: Мир, 1973. - С. 239
(54) **Способ получения производных 2-тиенилоксикусной кислоты или их фармацевтически приемлемых солей**
(57) Изобретение касается производных 2-тиенилоксикусной кислоты, в частности получения 5-[2-(бензолсульфониламино) этил] - или 5-[2-(4-хлорбензолсульфониламино) этил]-2-тиенилоксикусных кислот, которые могут быть использованы в медицине для лечения тромботических заболеваний. Цель - создание новых более активных веществ указанного класса. Синтез ведут окислением, например, амида N-[2-[2-(5-(2-гидрокси)-этокси)-тиенил]-этил]-бензолсульфоновой кислоты окисью серебра в водно-щелочной среде. Растворяют амид в 0.5-4 н. преимущественно в 2 н., растворе KOH или NaOH, окисляют 2-16 эквивалентами окиси серебра при 75-85°C в течение 2-3 ч. Исходную окись серебра предварительно получают растворением AgNO₃ в дистиллированной воде с добавлением эквимолярных количеств NaOH. Целевой продукт выделяют в свободном виде или в виде фармацевтически приемлемой соли. Новые соединения малотоксичны и в 4 раза активнее, чем дазоксибен, при этом начало антитромбического действия наблюдается при 1 мг/кг и достигает максимума при 5 мг/кг против 20 мг/кг. 3 з.п. ф-лы, 2 табл.

Изобретение относится к способу получения новых производных 2-тиенилоксикусной кислоты или их солей, которые могут быть использованы в медицине для лечения тромботических заболеваний.

Целью изобретения является разработка способа получения новых производных 2-

тиенилоксикусной кислоты, которые бы обладали более высокой антитромботической активностью, чем известное производное, например, дазоксибен - гидрохлорид 4-[2-(1Н-имидаэозол-1-ил)-этокси]-бензойной кислоты.

Пример 1. 5-[2-(Бензолсульфониламино)-этил]-2-тиенилоксикусная кислота.

19.3 г (0.1136 моль) нитрата серебра растворяют в 120 мл дистиллированной воды и медленно при перемешивании при капывают раствор 4.54 г (0.1136 моль) гидроокиси натрия в 50 мл дистиллированной воды. Образовавшуюся суспензию окиси серебра перемешивают еще 10 мин. Осадок отфильтровывают и промывают многократно дистиллированной водой.

9.3 г (0.028 моль) амида N-{2-[2-(5-(2-окси)-этокси)-тиенил]-этил}бензолсульфокислоты (I) растворяют в 90 мл водного раствора гидроокиси натрия, добавляют еще влажную окись серебра и при механическом перемешивании нагревают до 80°C. Спустя 3 ч при этой температуре охлаждают и суспензию фильтруют через HYELO. Прозрачный раствор гидроокиси натрия подкисляют с помощью примерно 6 мл концентрированной соляной кислоты и экстрагируют трижды по 100 мл эфира. Эфирные фазы встряхивают трижды по 100 мл с насыщенным раствором бикарбоната натрия, промывают их 50 мл эфира и подкисляют концентрированной соляной кислотой. Водную фазу экстрагируют дважды с помощью 150 мл эфира, объединенные эфирные фазы сушат над сульфатом натрия, отфильтровывают и выпаривают. Кристаллический осадок настаивают с 30 мл дизопропилового эфира и отфильтровывают.

Выход 2.6 г бесцветных кристаллов (26.4 % от теории), т.пл. 110-113°C [эфир/дизопропиловый эфир].

¹H-ЯМР (DMCO), δ (ppm): 169.1 (синглет, уширенный, 1Н, -COOH); 7.67-7.88 (мультиплет, 2Н, B-H₂, B-H₆); 7.47-7.55 (мультиплет, 3Н, B-H₃, B-H₄, B-H₅); 7.27; 7.33; 7.47 (триплет, 1Н, -NH-); 6.02; 6.06; 6.33; 6.38 (AB, 2Н, Th-H₃, Th-H₄, J_{3,4}=3.7 Гц); 4.51 (синглет, 2Н, O-CH₂-CO); 2.57-2.99 (мультиплет, 4Н, -CH₂CH₂-).

¹³C-ЯМР (DMCO), δ (ppm): 169.1 (синглет, -COOH); 162.0 (синглет, Th-C₂); 140.3 (синглет, B-C₁); 131.8 (синглет, B-C₄); 128.5. (дублет, B-C₃, B-C₅); 127.7 (синглет Th-C₅); 126.3 (дублет, B-C₂, B-C₆); 122.0 (дублет, Th-C₄); 105.3 (дублет, Th-C₃); 69.5 (триплет, O-CH₂-CO); 43.8 (триплет, -NH-CH₂-); 30.2 (триплет, Th-CH₂-).

Исходный продукт можно получать следующим образом:

2-(2-Тиенилокси)-этанол.

К 1600 мл абсолютного этиленгликоля добавляют 323.7 мл 5.4 М раствора метилата натрия (1.75 моль). Реакционную смесь нагревают, и образующийся метанол отгоняют путем пропускания азота через обратный холодильник до тех пор, пока температура в нижней части не повысится до 130°C. По окончании удаления метанола добавляют 187.5 г (1.15 моль) 2-бромтиофена, 55.5 г тонко измельченной окиси меди и 5.6 г иодида натрия, аппаратуру еще короткое время промывают азотом, закрывают баллон и перемешивают 175 ч при 80°C. Затем реакционную смесь охлаждают и отсасывают через HYFLO. Фильтрат разбавляют 800 мл воды и слегка подкисляют концентрированной соляной кислотой.

Экстрагируют четыре раза по 400 мл метиленхлоридом (в целом 1600 мл). Объединенные органические фазы встряхивают один раз с 200 мл воды, сушат над сульфатом натрия, отфильтровывают и выпаривают. Остаток перегоняют.

Выход 102.7 г бесцветного масла (62 % от теории), т. кип. 90-95°C (0.6 мбар).

Амид N-{2-[2-(5-(2-окси)-этокси)-тиенил]-этил}-бензолсульфокислоты.

30 г (0.208 моль) 2-(2-тиенилокси)-этанола помещают в 300 мл абсолютного тетрагидроурана и растворяют в этом растворе 50 мг n-толуол сульфокислоты. К раствору добавляют 18.37 г (0.218 моль) 3,4-дигидропирана и перемешивают 8 ч.

Охлаждают до -20°C и при перемешивании при капывают 83.2 мл (0.208 моль) 2.5 М раствора n-бутиллития в n-гексане так, чтобы температура не превышала -10°C. Оставляют нагреваться до комнатной температуры и перемешивают в течение часа.

Реакционную смесь охлаждают до 10°C и в течение 30 мин прикапывают раствор 19.05 г (0.104 моль) N-бензолсульфонилазиридина в 100 мл абсолютного ТГФ при 10-15°C. Все нагревается до комнатной температуры и перемешивается еще 2 ч.

Смесь выливают на 200 мл 2 н. водного раствора HCl и экстрагируют трижды по 120 мл метиленхлоридом. Объединенные органические фазы сушат над сульфатом натрия, отфильтровывают и выпаривают. Остаток обрабатывают 300 мл абсолютного метанола, смешивают с 2 мл 30 %-ной метанольной соляной кислоты, и перемешивают 10 мин при комнатной температуре. После добавки 2 г карбоната натрия выпаривают в вакууме.

Остаток распределяют между 250 мл 1 н. водного раствора гидроксида натрия и 200 мл эфира, и эфирную фазу дополнительно промывают один раз 50 мл 1 н. раствора гидроксида натрия. Объединенные водные фазы промывают дважды по 10 мл эфиром, подкисляют примерно 25 мл концентрированной соляной кислоты и экстрагируют трехкратно, смотря по обстоятельствам, 150 мл метиленхлорида. Метиленхлоридную фазу сушат над сульфатом натрия, смешивают с 3 г активного угля, отфильтровывают и выпаривают. Выход 33.3 г темно-красного масла (97.8 % от теории), которое используется непосредственно на самой ближайшей стадии.

Пример 2. Растворяют 1 г 5-[2-(бензолсульфониламино)-этил]-2-тиенилоксикусной кислоты (2.93 ммоль) в 20 мл метанола и прикапывают 0.117 г NaOH (2.93 ммоль), растворенных в 10 мл метанола, и перемешивают раствор в течение 1 ч при комнатной температуре. В заключение упаривают досуха, остаток промывают этилацетатом и дизопропиловым эфиром и сушат в вакууме при 50°C.

Выход 0.75 г бесцветных кристаллов (80 % от теории) Na-соли 5-[2-(бензолсульфониламино)-этил]-2-тиенилоксикусной кислоты.

¹H-ЯМР (DMSO), δ (ppm): 8.0 (S, -NH-); 7.82-7.85 (m, 2H, Bz-H₂, Bz-H₆); 7.60-7.70 (m, 3H, Bz-H₃, Bz-H₄, Bz-H₅); 6.40; 6.39; 5.98; 5.97 (AB, 2H, Th-H₃, Th-H₄, J_{3,4}=3.7 Гц); 4.14 (S, 2H, -O-CH₂-CO); 2.71-2.96 (m, 4H, -CH₂CH₂-).

Пример 3. 5-[2-(Бензолсульфониламино)-этил]-2-тиенилоксикусная кислота.

Растворяют 9.51, 19.0, 38.1 и 76.1 г нитрата серебра в указанном в табл. 1 количестве воды и переводят в окись серебра, как описано в примере 1.

Растворяют четыре порции по 9.3 г (0.028 моль) амида N-{2-[2-(5-(2-гидрокси)-этокси)-тиенил]-этил}-бензол сульфоновой кислоты (II) в 90 мл 2 М водной натриевой щелочи каждая, добавляют еще влажную окись серебра и нагревают при перемешивании до 80°C.

Дальнейшая обработка происходит как в примере 1. Все данные сведены в табл. 1.

Пример 4. 5-[2-(4-Хлорбензол-сульфониламино)-этил]-2-тиенилоксикусная кислота.

15 г (0.088 моль) нитрата серебра растворяют в 90 мл дистиллированной воды и при перемешивании медленно прикапывают раствор 3.5 г (0.088 моль) гидроокиси натрия в 45 мл дистиллированной воды. Образовавшуюся суспензию окиси серебра перемешивают еще 10 мин, осадок отфильтровывают и промывают многократно дистиллированной водой.

4.0 г (0.011 моль) амида-4-хлор-N-{2-[2-(5-(2-окиси)-этокси)-тиенил]-этил}-бензолсульфокислоты (II) растворяют в 40 мл 2 н. водного раствора гидроокиси натрия, добавляют еще влажную окись серебра и нагревают до 80°C при механическом перемешивании. Спустя 3.5 ч при этой температуре охлаждают и суспензию отсасывают через HYFLO и дополнительно промывают 2 н. водным раствором гидроокиси натрия. Прозрачный раствор гидроокиси натрия подкисляют с помощью концентрированной соляной кислоты и экстрагируют трижды по 80 мл эфиром.

Эфирные фазы дважды встряхивают с насыщенным раствором бикарбоната натрия, отбирая каждый раз по 50 мл, промывают один раз 50 мл эфира и подкисляют концентрированной соляной кислотой. Водную фазу экстрагируют дважды по 150 мл

эфиром, объединенные эфирные фазы сушат над сульфатом натрия, отфильтровывают и выпаривают. Сырой продукт перекристаллизуют из толуола. Выход 1.3 г бесцветных кристаллов (31.7 % от теории), т. пл. 125-127°C (толуол).

¹H-ЯМР (CDCl₃), δ (ppm): 7.81; 7.71; 7.51; 7.42 (AB, 4H, бензольные H, J=8.0 Гц); 6.39; 6.35; 6.10; 6.06 (AB, 2H, Th-H₃, Th-H₄, J_{AB}=3.8 Гц); 4.85 (триплет 1H, -NH-); 4.61 (синглет, 2H, -O-CH₂-COO-); 3.13 (триплет, 2H, N-CH₂-, J=6 Гц); 2.80 (триплет, 2H, Th-CH₂-, J=6 Гц).

¹³C-ЯМР (DMCO), δ (ppm): 169.0 (синглет, -COOH); 161.9 (синглет, Th-C₂); 139.3 (синглет, бензольный C₁); 137.1 (синглет, бензольный C₄); 129.1 (дублет, бензольный C₃, B-C₅); 128.2 (дублет, бензольный C₂, дублет, бензольный C₆); 127.4 (Th-C₅); 122.4 (дублет, Th-C₄); 105.1 (дублет, Th-C₃); 69.4 (триплет, C-CH₂-CO); 43.8 (триплет, -NH-CH₂-); 29.9 (триплет, Th-CH₂).

Исходный продукт может быть получен следующим образом.

Амид 4-хлор-(2-[2-(5-(2-окси)-этокси)-тиенил]-этил}-бензолсульфокислоты.

18.9 г (0.137 моль) 2-(2-тиенилокси)-этанола помещают в 200 мл абсолютного тетрагидрофурана и растворяют там примерно 50 мг н-толуолсульфокислоты. Добавляют 14.2 г (0.169 моль) 3,4-дигидропирана и перемешивают 8 ч. Охлаждают до -20°C и при перемешивании при капывают 66 мл (0.165 моль) 2.5 М раствора н-бутиллита в н-гексане так, чтобы температура не превышала -15°C. Оставляют медленно нагреваться до комнатной температуры и перемешивают далее 1 ч.

Теперь при -5...0°C при капывают раствор 18 г (0.083 моль) N-(4-хлорбензолсульфонил)-азиридина в 100 мл абсолютного ТГФ. Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры и перемешивают еще 30 мин.

Реакционную смесь выливают на 200 мл 2н. водной HCl и экстрагируют трижды по 250 мл метиленхлоридом. Объединенные органические фазы сушат над сульфатом натрия, отфильтровывают и выпаривают. Остаток обрабатывают 100 мл абсолютного метанола, смешивают с 10 мл 30 %-ной метанольной соляной кислоты, и перемешивают 10 мин при комнатной температуре. Добавляют одну ложку карбоната натрия и метанол отгоняют. Остаток распределяют между 100 мл 1 н. водного раствора гидроксида натрия и 100 мл эфира и эфирную фазу дополнительно промывают один раз 100 мл 1 н. раствора гидроокиси натрия, объединенные водные фазы промывают дважды по 50 мл эфиром подкисляют концентрированной соляной кислотой и экстрагируют трижды, смотря по обстоятельствам, 100 мл метиленхлорида. Затем сушат над сульфатом натрия, смешивают с активным углем, отфильтровывают и выпаривают. Получают 10.15 г вязкого темного масла. Этот сильно загрязненный сырой продукт фильтруют через силикагель 60 (180 г силикагеля, элюирующее средство, этилацетат/петролейный эфир). Выход 4.5 г бесцветных кристаллов (15 % от теории), т.пл. 85-87°C (бензол).

Исследование антитромботической активности.

Самцов крыс Wistar (SPF) массой 200-300 г наркотизируют с помощью пентобарбиталната (60 мг/кг интраперитонеально). После этого животным внутривенно инъектируют вещество примера 1 (вещество А) дазоксибенгидрохлорид 4-[2-(1Н-имидазол-1-ил)-этокси]-бензойной кислоты (вещество В Венолубрыжейки) соответственно. Высвобождают препарированием, укрепляют в скобках на объективе микроскопа и споласкивают с постоянной скоростью 2.5 мл/мин физиологическим раствором хлорида натрия. Лазерный луч когерентности CR 2 суперграфитного ионного лазера (argonовый лазер) в течение 30 мин после инъекции испытуемого вещества направляют через интерференционно-контрастный объектив 50 x микроскопа Leitz Orthoplan с продолжительностью 1/30 с на венолу. Исходная энергия ниже объектива микроскопа составляет 0.18 Вт. Если после первого лазерного пуска не образуется никакой тромбоцитный тромб или если тромб по длине и ширине не соответствует диаметру сосуда, то производят второй запуск лазера, чтобы получить тромб, который по длине и ширине соответствует диаметру сосуда.

Число лазерных пусков при этом является мерой антитромботической активности испытуемых веществ: чем больше число лазерных пусков при одинаковом диаметре сосуда, тем сильнее антитромботический эффект.

В качестве контрольных служат животные, которые не получили никаких испытуемых веществ.

Тесты осуществляются по испытуемому веществу и концентрации на 5 животных, причем у животного повреждаются 3 сосуда диаметром 20-30 мм. Статистическая оценка осуществляется по тесту Kruskal Wallis и по Rangsummen тесту по Dunn.

Результаты опытов представлены в табл. 2.

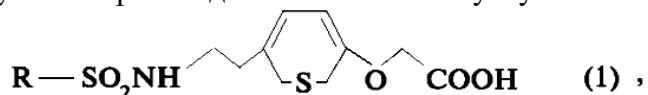
Начало антитромбического действия у вещества А находится при 1 мг/кг массы тела и достигает максимума действия при 5 мг/кг. Дальнейшее увеличение концентрации не приводит ни к какому дальнейшему повышению действия. Для того, чтобы с помощью вещества В достичь сравнимого с максимумом действия вещества А действия, необходима инъекция 20 мг/кг, следовательно 4-кратное количество.

Токсикологические испытания.

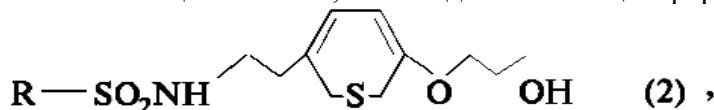
Женским особям крыс давали орально соединение примера 1 в концентрациях 3.0; 6.0; 12.5; 25; 50; 100; 200 и 400 мг/кг массы тела. Каждую концентрацию определяли на двух животных. Подопытных животных исследовали на возможную смертность в течение 7 дней. Так как за все время исследования не умерло ни одно животное, LD₅₀ не смогли определить. Таким образом, новые соединения относятся к группе малотоксичных.

Формула изобретения

1. Способ получения производных 2-тиенилоксикусной кислоты общей формулы



где R-незамещенный или замещенный галогеном фенил, или их фармацевтически приемлемых солей, отличающийся тем, что соединение общей формулы



где R имеет указанные значения, подвергают окислению окисью серебра в водно-щелочной среде с последующим выделением целевого продукта в свободном виде или в виде фармацевтически применимой соли.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что окисление проводят путем растворения соединения 2 в 0.5-4 н. растворе гидроокиси щелочного металла с помощью 2-16 эквивалентов окиси серебра при 75-85°C в течение 2-3 ч.

3. Способ по пп. 1 и 2, отличающийся тем, что растворение соединения 2 проводят в 2 н. растворе гидроокиси калия или натрия.

4. Способ по пп. 1 и 2, отличающийся тем, что окись серебра предварительно получают путем растворения нитрата серебра в дистиллированной воде и добавки эквимолярных количеств раствора гидроокиси натрия.

Таблица 1

X	AgNO ₃		Y, мл	NaOH, г	Z, мл	Выход,
	г	моль				
2	9.514	0.056	60	2.23	25	22.7
4	19.03	0.112	120	4.48	50	26.1
8	38.06	0.224	240	8.96	100	26.3
16	76.11	0.448	480	17.92	200	25.5

Примечание: X - молярное отношение AgNO₃ к соединению (II).

Y - применяемое для растворения AgNO₃ количество воды.

Z - применяемое для растворения NaOH количество воды.

Таблица 2

Концентрация, мг/кг	Лазерные пуски (среднее значение)	
	вещество А	вещество В
0 (контроль)	2.93±0.36	2.93±0.36
1	3.12±0.52	3.07±0.47
5	6.40±0.56	2.89±0.57
10	6.13±0.30	3.14±0.66
15	6.33±0.53	4.46±0.48
20	6.42±0.41	6.35±0.55

Ответственный за выпуск

Ногай С.А.

Кыргызпатент, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41, факс: (312) 68 17 03