



EESTI VABARIIK

PATENDIAMET

(11) **EE-EP 1 891 006 B1**

(51) Int. Cl.

*C07D 209/14 (2006.01)**A61K 31/404 (2006.01)**A61P 11/00 (2006.01)**A61P 19/00 (2006.01)**A61P 25/00 (2006.01)*(12) **EESTIS KEHTIVA EUROOPA PATENDI  
PATENDIKIRJELDUSE TÕLGE**

(10) Registreeringu number: <b>E005084</b>	(73) Patendiomanik:  <b>Wyeth LLC Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940, US</b>
(11) Patendikirjelduse tõlke number: <b>EE-EP 1 891 006</b>	(72) Leiutise autorid:  <b>MCKEW, John, C. 93 Churchill Avenue, Arlington, MA 02476, US</b>
(30) Prioriteediandmed: <b>27.05.2005 US 685564 P</b>	<b>LEE, Katherine, L. 167 Adams Avenue, Newton, MA 02465, US</b>
(96) Euroopa patenditaotluse esitamise kuupäev: <b>26.05.2006</b>	<b>CHEN, Lihren 82 Hawthorne Road, Wayland, MA 01778, US</b>
(96) Euroopa patendi- taotluse number: <b>06771540.9</b>	<b>VARGAS, Richard 1475 Massachusetts Avenue Apt. No. 219, Lexington, MA 02420, US</b>
(97) Euroopa patendi väljaand- misest teatamise kuupäev: <b>24.11.2010</b>	<b>CLARK, James, D. 2 Brimston Lane, Acton, MA 01720, US</b>
(97) Euroopa patendi number: <b>EP 1 891 006</b>	<b>WILLIAMS, Cara 11 Observatory Road, Methuen, MA 01844, US</b>
Patendikirjelduse tõlke esitamise kuupäev: <b>24.01.2011</b>	<b>CLERIN, Valerie 32 Hardy Avenue, Watertown, MA 02472, US</b>
Patendikirjelduse tõlke avalikustamise kuupäev: <b>15.04.2011</b>	<b>MARUSIC, Suzana 70 Dividence Road, Reading, MA 01867, US</b>
	<b>PONG, Kevin 61 Eldridge Drive, Robbinsville, NJ 08691, US</b>
	(74) Patendivolinik:  <b>Raivo Koitel Patendi- &amp; Kaubamärgibüroo Koitel OÜ Tartu mnt 65, 10115 Tallinn, EE</b>

(54) Tsütosoolse fosfolipaas A<sub>2</sub> inhibiitorid

## TSÜTOSOOLSE FOSFOLIPAAS A<sub>2</sub> INHIBIITORID

### TEHNIKAVALDKOND

Käesolev leiutis käsitleb mitmesuguste fosfolipaas-ensüümide, eriti tsütosoolsete fosfolipaas A<sub>2</sub> ensüümide (cPLA<sub>2</sub>) aktiivsuse keemilisi inhibiitoreid, eriti käsitletakse tsütosoolsete fosfolipaas A<sub>2</sub>-alfa ensüümide (cPLA<sub>2</sub>α) inhibiitoreid.

### TEHNIKA TASE

Leukotrieenid ja prostaglandiinid on tähtsad põletikumediaatorid, millest igaüks soodustab põletikuvastuse teket erineval viisil. Leukotrieenid värbavad põletikurakke nagu neutrofiilid põletikukoldesse, soodustavad nende rakkude ekstravasatsiooni ning stimuleerivad kude kahjustavate superoksiidi ja proteaaside vabanemist. Leukotrieenid mängivad patofüsioloogilist rolli ka astmaatikutel esinevas ülitundlikkuses (vt nt B. Samuelson *et al.*, *Science*, 1987, 237, 1171-76). Prostaglandiinid võimendavad põletikku, suurendades verevoolu ja seega leukotsüütide infiltratsiooni põletikukolletesse. Samuti tugevdavad prostaglandiinid ärritaja poolt indutseeritud valureaktsiooni.

Prostaglandiinid ja leukotrieenid on ebastabiilsed ja ei säilu rakkudes, kuid neid sünteesitakse arahhidoonhapest asemele vastuseks ärritajale (W. L. Smith, *Biochem. J.*, 1989, 259, 315-324). Prostaglandiine produtseeritakse arahhidoonhapest ensüümide COX-1 ja COX-2 toimet. Arahhidoonhape on substraadiks ka erinevatele ensümaatilistele radadele, mis viib leukotrieenide sünteesini.

Arahhidoonhape, mis osaleb nendes kahes erinevas põletikurajas, vabaneb membraani fosfolipiidide *sn*-2 asendist fosfolipaas A<sub>2</sub> ensüümide (allpool PLA<sub>2</sub>) toimet. Reaktsioon, mida katalüüsib PLA<sub>2</sub>, arvatakse olevat kiirust piiravaks staadiumiks lipiidse mediaatori biosünteesiprotsessis, sealhulgas, kuid mitte ainult, põletikku soodustavate prostaglandiinide ja leukotrieenide produktsioonis. Kui PLA<sub>2</sub> fosfolipiidne substraat on pärit fosfatidüülkoliini klassist, millel on

eeterside *sn*-1 asendis, siis on produtseeritud lüsofosfolipiid teise tugeva põletikumediaatori vereliistakuid aktiveeriva faktori (allpool nimetatakse kui PAF) vahetuks eelühendiks (S. I. Wasserman, *Hospital Practice*, 1988, 15, 49-58).

Enamik põletikuvastastest ravidest, kuid mitte kõik, on suunatud kas prostaglandiinide või leukotrieenide produktsiooni inhibeerimisele nendes erinevates radades. Näiteks ibuprofeen, aspiriin ja indometatsiin on kõik MSPVA-d, mis inhibeerivad prostaglandiinide produktsiooni COX-1/COX-2 inhibeerimise teel, kuid neil ei ole otsest toimet leukotrieenide produktsioonile arahhidoonhappes teistes radades. Vastupidi, zileutoon inhibeerib ainult arahhidoonhappe leukotrieenideks muundamise rada, mõjutamata aga otseselt prostaglandiinide produktsiooni. Ükski nendest laialdaselt kasutatavatest põletikuvastastest ainetest ei mõjuta PAF-i produktsiooni.

Niisiis on näidatud, et PLA<sub>2</sub> aktiivsuse otsene inhibeerimine on terapeutilise aine puhul kasulik mehhanism põletikuvastuse mõjutamiseks. (vt nt J. Chang *et al.*, *Biochem. Pharmacol.*, 1987, 36, 2429-2436).

On järjestatud ja kindlaks määratud struktuuriga PLA<sub>2</sub> ensüümide perekond, mida iseloomustab sekretsiooni signaaljärjestuse esinemine ja mis lõpuks sekreteeritakse rakkude poolt. Need sekreteeritud PLA<sub>2</sub>-d on molekulmassiga umbes 14 kD ja sisaldavad seitset disulfiidsidet, mis on vajalikud aktiivsuseks. Neid PLA<sub>2</sub>-sid leidub suurtes kogustes imetaja pankreases, mesilasemürgis ja mitmesuguste madude mürgis (vt nt viiteid 13-15 eespool tsiteeritud Chang *et al.* ja E. A. Dennis, *Drug Devel. Res.*, 1987, 10, 205-220). Siiski arvatakse, et pankrease ensüümid täidavad seedefunktsiooni ja ei peaks seega olema tähtsad põletikumediaatorite produktsioonis, millede produktsioon peab olema rangelt reguleeritud.

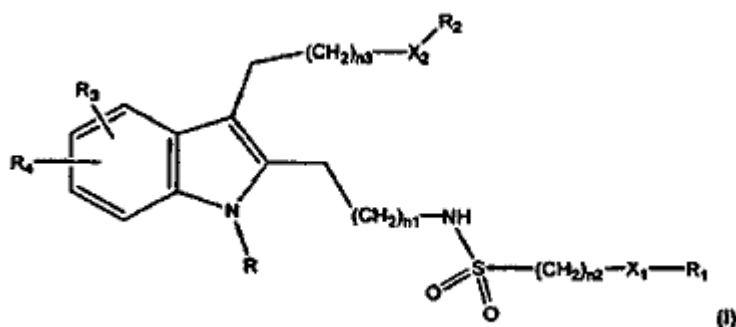
On määratud inimese esimese mitte-pankrease PLA<sub>2</sub> primaarstruktuur. Seda mitte-pankrease PLA<sub>2</sub> leidub vereliistakutes, sünoviaalvedelikus ja põrnas ning see on samuti sekreteeritav ensüüm. See ensüüm on ülamineitud perekonna liige (vt J. J. Seilhamer *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1989, 264, 5335-5338; R. M. Kramer *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1989, 264, 5768-5775; A. Kando *et al.*, *Biochem. Biophys.*

- Res. Comm.*, 1989, 163, 42-48). Siiski on kahtlane, et see ensüüm omab tähtsust prostaglandiinide, leukotrieenide ja PAF-i sünteesis, sest mittepankrease PLA<sub>2</sub> on ekstratsellulaarne valk, mida oleks raske reguleerida, ja järgmised ensüümid nende ühendite biosünteesiradades on intratsellulaarsed valgud. Peale selle on
- 5 tõendeid, et PLA<sub>2</sub> reguleeritakse proteiinkinaas C ja G-valkude poolt (R. Burch, J. Axelrod, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 84, 6374-6378), mis on tsütosoolsed valgud, mis peavad toimima intratsellulaarsetele valkudele. Mitte-pankrease PLA<sub>2</sub> ei saa funktsioneerida tsütosoolis, sest kõrge reduktsioonipotentsiaal redutseeriks disulfiidsidemed ja inaktiveeriks ensüümi.
- 10 Hiire PLA<sub>2</sub> on tuvastatud hiire makrofaagide rakuliinis, mida tähistatakse RAW 264.7. Eriaktiivsus 2 µmooli/min/mg, mis vastupidav redutseerimise tingimustele, on seotud umbes 60 kD molekuliga. Kuid seda valku ei puhastatud homogeense valgu saamiseni (vt C. C. Leslie *et al.*, *Biochem. Biophys. Acta.*, 1988, 963, 476-492).
- 15 On kindlaks tehtud ja kloonitud ka tsütosoolne fosfolipaas A<sub>2</sub>-alfa (allpool cPLA<sub>2</sub>α) (vt US patendid 5 322 776 ja 5 354 677). Nendes patentides kirjeldatud ensüüm on intratsellulaarne PLA<sub>2</sub> ensüüm, mis on puhastatud selle looduslikust allikast või saadud muul viisil puhastatud vormis ja mis funktsioneerib intratsellulaarselt, produktseerides arahhidoonhapet vastuseks põletikustimulaatoritele.
- 20 Arahhidoonhappe bioaktiivseid metaboliite eikosanoide peetakse vereliistakute signaaliülekaneraja tähtsateks modulaatoriteks. Eikosanoide raja inhibiitorid (nt aspiriin) vähendavad tromboksaan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), labiilse ja tugeva vereliistakute agonisti, moodustumist, põhjustades vereliistakute funktsiooni ja trombi moodutumise pärssimist, ning need on osutunud kliiniliselt kasulikeks
- 25 haigestumuse ja suremuse vähendamises.

Vereliistakud mängivad kekset rolli mitmesugustes bioloogilistes protsessides, sealhulgas tromboosi puhul (vt S. P. Jackson, S. M. Schoenwaelder, *Nature Reviews, Drug Discovery*, October 2003, 2, 1-15; D. L. Bhatt, E. J. Topol, *Nature*

Reviews, *Drug Discovery*, January 2003, 2, 15-28). Niisiis on viimasel ajal tehtud pingutusi, et iseloomustada vereliistakute retseptoreid ja signaaliülekanalaid. Lisaks on välja töötatud rida närilismudeleid, mis võimaldavad uurida potentsiaalseid ravimeid tromboosi raviks (vt B. Nieswandt *et al.*, *J. Thrombosis and Haemostasis*, 2005, 3, 1725-1736).

Tsütosoolseid fosfolipaas A<sub>2</sub> inhibiitoreid valemiga (I)



kirjeldatakse US patendis 6 797 708 ja sellega seotud rahvusvahelises publikatsioonis WO 03/048122 A2.

- 10 Nüüd, kui paljud fosfolipaas-ensüümid on kindlaks tehtud, oleks soovitatav kindlaks teha spetsiifiliste fosfolipaas-ensüümide aktiivsuse keemilised inhibiitorid, neid inhibiitoreid võiks kasutada põletikuliste seisundite raviks, eriti seal, kus soovitud tulemuseks oleks prostaglandiinide, leukotrieenide ja PAF-i produktsiooni inhibeerimine. Tehnika tasemes jääb vajadus selliste põletikuvastaste ainete
- 15 kindlakstegemiseks nende terapeutiliseks kasutamiseks mitmesuguste haigusseisundite puhul.

## LEIUTISE OLEMUS

Ühes teostuses esitab leiutis 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(tri-fluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}etüül)sulfo-nüül]fenüül}propaanhappe või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola.

- 5 Käesolev leiutis esitab ka ülalmainitud ühendid prostaglandiinide, leukotrieenide või vereliistakuid aktiveeriva faktori poolt põhjustatud või potentseeritud põletiku ravimiseks imetajal.

- Käesolev leiutis esitab veel ülalmainitud ühendid prostaglandiinide, leukotrieenide või vereliistakuid aktiveeriva faktori poolt põhjustatud või potentseeritud valu  
10 ravimiseks imetajal.

- Käesolev leiutis esitab lisaks ülalmainitud ühendid haiguse või haigusseisundi ravimiseks või vältimiseks imetajal või sellise haiguse või haigusseisundi sümpto-  
mitte progresseerumise vältimiseks imetajal, kusjuures haigus või haigusseisund  
valitakse rühmast, kuhu kuuluvad astma, insult, ateroskleroos, hulgiskleroos,  
15 Parkinsoni tõbi, artriitilised haigused, reumaatilised haigused, insuldist põhjus-  
tatud kesknärvisüsteemi kahjustus, isheemiast põhjustatud kesknärvisüsteemi  
kahjustus, traumast põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustus, prostaglandiinide  
poolt põhjustatud või potentseeritud põletik, leukotrieenide poolt põhjustatud või  
potentseeritud põletik, valu ja vereliistakuid aktiveeriva faktori poolt põhjustatud  
20 või potentseeritud põletik.

Käesolev leiutis esitab ka ülalmainitud ühendid veeni- või arteritromboosi  
ravimiseks või vältimiseks imetajal või tromboosisümptomite progresseerumise  
vältimiseks. Mõnedes teostustes on tromboosiks aterotromboos.

- Ühes teostuses esitab käesolev leiutis ravimkoostise, mis sisaldab 3-{4-[(2-{5-  
25 kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-

1*H*-indool-3-üül}etüül)sulfonüül]fenüül}propaanhapet või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola ja farmatseutiliselt vastuvõetavat kandjat.

## JOONISTE LOETELU

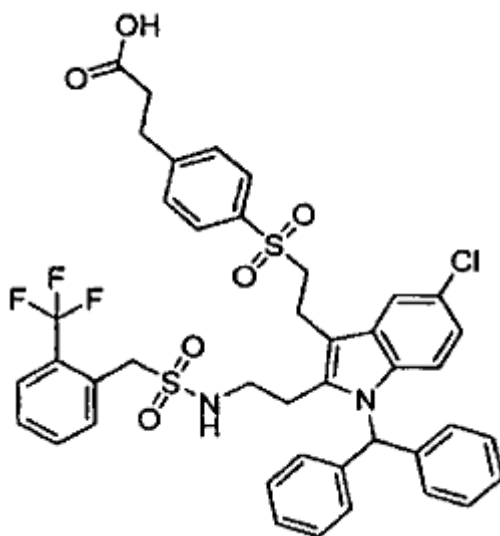
Joonisel fig 1 on näidatud vereliistakute agregatsiooni inhibeerimine *in vitro* inimese veres näite 14 ja 25 ühenditega, määratuna vereliistakute funktsiooni määramise analüsaatoriga (PFA-100®).

Joonisel fig 2 on näidatud paranenud verevool ja trombi moodustumise vähenemine näite 14 ja 15 ühenditega akuutse tromboosi rotimudelil.

Joonisel fig 3 on näidatud tromboksaan B<sub>2</sub> tasemete vähenemine seerumis näite 14 ja 25 ühendite toimet rottidel, kellel indutseeriti raudkloriidiga tromboos.

## LEIUTISE ÜSIKASJALIK KIRJELDUS

Ühes teostuses esitab leiutis 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(tri-fluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}etüül)sulfo-nüül]fenüül}propaanhappe valemiga



või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola.

Järgmises teostuses esitatakse 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-  
5 üül}etüül)sulfonüül]fenüül}propaanhape või selle farmatseutiliselt vastuvõetav sool kasutamiseks ravimina.

Käesolev leiutis esitab ka 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-  
10 üül}etüül)sulfo-  
nüül]fenüül}propaanhape või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola kasutamise ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud prostaglandiinide, leukotrieenide või vereliistakuid aktiveeriva faktori poolt põhjustatud või potentseeritud põletiku ravimiseks imetajal.

Käesolev leiutis esitab veel 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-  
15 üül}etüül)sulfo-  
nüül]fenüül}propaanhape või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola kasutamise ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud prostaglandiinide, leukotrieenide või vereliistakuid aktiveeriva faktori poolt põhjustatud või potentseeritud valu ravimiseks imetajal.

Järgmine teostus esitab 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-  
20 üül}etüül)sulfo-  
nüül]fenüül}propaanhape või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola kasutamise ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud astma ravimiseks imetajal.

Järgmine teostus esitab 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-  
25 üül}etüül)sulfo-  
nüül]fenüül}propaanhape või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola kasutamise ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud artriitiliste või reumaatiliste haiguste ravimiseks imetajal. Ühes teostuses on haiguseks reumatoidartriit.



Järgmises teostuses on haiguseks osteoartriit. Järgmises teostuses on haiguseks juveniilne artriit.

Lisaks esitab käesolev leiutis 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({[2-(trifluorometüül)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}etüül)sulfo-  
 5 nüül]fenüül}propaanhappe või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola kasutamise ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud haiguse või haigusseisundi ravimiseks või vältimiseks imetajal või sellise haiguse või haigusseisundi sümptomite progresseerumise vältimiseks imetajal, kusjuures haigus või haigusseisund valitakse rühmast, kuhu kuuluvad insult, ateroskleroos, hulgiskleroos, Parkinsoni tõbi, insuldist põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustus, isheemiast põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustus ja traumast põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustus.

Käesolev leiutis esitab veel 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({[2-(trifluorometüül)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-  
 15 üül}etüül)sulfonüül]fenüül}propaanhappe või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola kasutamise ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud veeni- või arteritromboosi ravimiseks või vältimiseks imetajal või tromboosisümptomite progresseerumise vältimiseks. Mõnedes teostustes on tromboosiks aterotromboos.

Käesolev leiutis esitab ka ravimkoostise, mis sisaldab 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({[2-(trifluorometüül)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-  
 20 indool-3-üül}etüül)sulfonüül]fenüül}propaanhapet või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola ja farmatseutiliselt vastuvõetavat kandjat. Käesoleva leiutise kohaseid ühendeid võib kasutada ravimkoostises kombinatsioonis farmatseutiliselt vastuvõetava kandjaga. Selline koostis võib sisaldada (lisaks käesoleva leiutise kohasele ühendile või ühenditele ja kandjale) lahjendeid, täiteaineid, sooli, puhvreid, stabilisaatoreid, solubilisaatoreid ja teisi tehnika tasemest hästi tuntud aineid. Termin "farmatseutiliselt vastuvõetav" tähendab mittetoksilist ainet, mis ei mõjuta toimeaine(te) bioloogilise toime efektiivsust. Kandja parameetrid sõltuvad  
 25 manustamisviisist. Ravimkoostis võib lisaks sisaldada teisi põletikuvastaseid  
 30

aineid. Selliseid täiendavaid faktoreid ja/või aineid võib viia ravimkoostisesse selleks, et saada sünergistlikku toimet käesoleva leiutise kohase ühendiga või minimeerida käesoleva leiutise kohaste ühendite poolt põhjustatud kõrvaltoimeid.

Leiutisekohased ravimkoostised võivad olla liposoomi või mitselli vormis, milles  
5 käesoleva leiutise kohased üendid on kombineeritud, lisaks teistele farmatseutiliselt vastuvõetavatele kandjatele, amfipaatsete ainetega nagu lipiidid, mis eksisteerivad agregeerunud vormis mitsellidena, lahustumatute monokihtidena, vedelkristallidena või lamellaarsete kihtidena vesilahuses. Sobivad lipiidid liposoompreparaatide puhul hõlmavad, kuid mitte ainult, monoglütseriide, diglütse-  
10 riide, sulfatiide, lüsoletsitiini, fosfolipiide, saponiini, sapphappeid jms. Selliste liposoompreparaatide valmistamine on vastava ala asjatundjate võimetes, nagu on avaldatud näiteks US patentides 4 235 871, 4 501 728, 4 837 028 ja 4 737 323.

Siin kasutatuna tähendavad terminid "farmatseutiliselt efektiivne kogus" või "terapeutiliselt efektiivne kogus" iga ravimkoostises või meetodis kasutatava  
15 toimeaine üldkogust, mis on piisav patsiendile märkimisväärse kasuliku toime saamiseks, s.t füsioloogilise vastuse või seisundi, nagu põletikuseisund või valu, ravimist, tervendamist, vältimist, inhibeerimist või leevendamist, või selliste haigusseisundite ravi-, tervendamis-, vältimis-, inhibeerimis- või leevendamis-  
20 kiiruse suurenemist. Kui seda kasutatakse üksiku toimeaine kohta, mida manustatakse üksi, siis hõlmab termin ainult seda toimeainet üksi. Kui seda kasutatakse kombinatsiooni kohta, siis hõlmab termin toimeainete kombineeritud koguseid, mis annavad terapeutilise toime, kui manustatakse kombinatsioon, järjestikku või samaaegselt.

Käesoleva leiutise kohase ühendi või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola  
25 farmatseutiliselt või terapeutiliselt efektiivse koguse võib manustada imetajale ühe või enama siin kirjeldatud haiguse või haigusseisundi ravimiseks. Käesoleva leiutise kohaseid ühendeid võib manustada kas üksi või kombinatsioonis teiste ravidega, nagu ravid, milles kasutatakse teisi põletikuvastaseid aineid, tsütokiine, lümfokiine või teisi hematopoeetilisi faktoreid. Kui manustatakse koos ühe või  
30 enama teise põletikuvastase aine, tsütokiini, lümfokiini või teise hematopoeetilise

faktoriga, võib käesoleva leiutise kohaseid ühendeid manustada kas samaaegselt teis(t)e põletikuvastas(t)e aine(te), tsütokiini(de), lümfokiini(de), teis(t)e hematopoeetilis(t)e faktori(te), trombolüütiliste või tromboosivastaste faktoritega või järjestikku. Kui manustatakse järjestikku, määrab raviarst käesoleva leiutise  
5 kohaste ühendite sobiva manustamisjärjekorra kombinatsioonis teis(t)e põletiku-  
vastas(t)e aine(te), tsütokiini(de), lümfokiini(de), teis(t)e hematopoeetilis(t)e  
faktori(te), trombolüütiliste või tromboosivastaste faktoritega.

Käesoleva leiutise kohases ravimkoostises kasutatavate käesoleva leiutise  
kohaste ühendite manustamine võib toimuda mitmesuguste tavaliste viisidega,  
10 nagu suu kaudu allaneelamisega, inhalatsiooni teel või kutaanselt, subkutaanselt  
või intravenoosse süstimisega.

Kui käesoleva leiutise kohaste ühendite terapeutiliselt efektiivne kogus manus-  
tatakse suukaudselt, on käesoleva leiutise kohased ühendid tableti, kapsli, pulbri,  
lahuse või eliksiiri vormis. Kui manustatakse tabletina, võib leiutisekohane ravim-  
15 koostis sisaldada täiendavalt tahket kandjat nagu želatiin või adjuvant. Tablett,  
kapsel ja pulber sisaldavad käesoleva leiutise kohast ühendit umbes 5-95% ja  
eelistatavalt sisaldavad käesoleva leiutise kohast ühendit umbes 10-90%. Kui  
manustatakse vedelikuna, võib lisada vedela kandja, nagu vesi, toorõli, loomse  
või taimse päritoluga õli nagu maapähkliõli, mineraalõlid, fosfolipiidid, Tweenid,  
20 triglütseriidid, sealhulgas keskmise ahelaga triglütseriidid, sojaõli või seesamiõli  
või sünteetilised õlid. Vedelal kujul ravimkoostis võib sisaldada lisaks füsioloogilist  
soolalahust, dekstroosi- või teiste sahhariidide lahust või glükoole, nagu etüleen-  
glükool, propüleenglükool või polüetüleenglükool. Kui manustatakse vedelal kujul,  
sisaldab ravimkoostis käesoleva leiutise kohast ühendit umbes 0,5-90% (massi  
25 järgi) ja eelistatavalt sisaldab käesoleva leiutise kohast ühendit umbes 1-50%.

Kui käesoleva leiutise kohaste ühendite terapeutiliselt efektiivne kogus manus-  
tatakse intravenoosse, kutaanse või subkutaanse süstimise teel, on käesoleva  
leiutise kohased ühendid apürogeense, parenteraalselt vastuvõetava vesilahuse  
kujul. Vastava ala asjatundjad oskavad valmistada selliseid parenteraalselt  
30 vastuvõetavaid valgulahuseid, millel on sobiv pH, isotoonilisus, stabiilsus jms.

Eelistatav ravimkoostis intravenoosseks, kutaaneks või subkutaaneks süstimiseks peab sisaldama, lisaks käesoleva leiutise kohastele ühenditele, isotoonilist vehiiklit, nagu naatriumkloriidi süstelahus, Ringeri süstelahus, dekstroosi süstelahus, dekstroosi ja naatriumkloriidi süstelahus, Ringeri-laktaadi süstelahus või teised tehnika tasemest tuntud vehiiklid. Käesoleva leiutise kohane ravimkoostis võib sisaldada ka stabilisaatoreid, konservante, puhvreid, antioksidante või teisi vastava ala asjatundjatele tuntud lisaaineid

Käesoleva leiutise kohas(t)e ühendi(te) kogus käesoleva leiutise kohases ravimkoostises sõltub ravitava haigusseisundi olemusest ja tõsidusest ja varasemate ravide, mida patsient on saanud, olemusest. Lõplikult otsustab raviarst, millise käesoleva leiutise kohase ühendi kogusega igat üksikut patsienti ravida. Esiialgu manustab raviarst käesoleva leiutise kohast ühendit väikestes annustes ja jälgib patsiendi ravivastust. Käesoleva leiutise kohaste ühendite suuremaid annuseid võib manustada seni, kuni patsiendil saadakse optimaalne terapeutiline toime ja alates sellest momendist annust enam ei suurendata. Ollakse arvamusel, et erinevad ravimkoostised, mida kasutatakse leiutisekohase meetodi praktilisel kasutamisel, peaksid sisaldama käesoleva leiutise kohast ühendit umbes 0,1 µg kuni umbes 100 mg (eelistatavalt umbes 0,1-50 mg, eelistatavamalt umbes 1-2 mg) ühe kilogrammi kehamassi kohta.

Intravenoosse ravi kestus käesoleva leiutise kohase ravimkoostise kasutamisega varieerub sõltuvalt ravitava haiguse tõsidusest ja iga üksiku patsiendi seisundist ning võimalikust idiosünkraatselt vastusest. Ollakse arvamusel, et käesoleva leiutise kohaste ühendite iga manustamise kestus on püsiinfusiooni teel manustamise korral vahemikus 12-24 tundi. Lõpuks otsustab raviarst intravenoosse ravi sobiva kestuse üle käesoleva leiutise kohase ravimkoostisega.

Leiutisekohane lipiidil põhinev suukaudne preparaat on valmistatud 50% Phosal.RTM. 53 MCT (American Lecithin Company), 5% polüsorbaat 80, 15% Labrasol.RTM. kaprülokaproüül-makrogool 8 glütseriidide (Gattefosse Corp.), 15% propüleénkarbonaadi ja 15% aktiivset cPLA<sub>2</sub> inhibeeriva(te) leiutisekohas(t)e ühendi(te) segamisega, kusjuures kõik loetletud protsendid on massiprotsendid.

Leiutisekohase ühendi farmatseutiliselt vastuvõetavad soolad võib valmistada orgaanilistest ja anorgaanilistest alustest. Sobivad soolad alustega hõlmavad näiteks metallisooli, nagu leelismetalli või leelismuldmetalli soolad, näiteks naatriumi-, kaaliumi- või magneesiumisooli, või ammooniumi- või orgaaniliste  
5 amiinide sooli, nagu morfoliini-, tiomorfoliini-, piperidiini-, pürrolidiini-, mono-, di- või tri-madalama alküülamiinisoolad, näiteks etüül-*tert*-butüül-, dietüül-, diisopropüül-, trietüül-, tributüül- või dimetüülpropüülamiini või mono-, di- või trihüdroksü-madalamat alküülamiini, näiteks mono-, di- või trietanoolamiini.

Käesoleva leiutise kohased ühendid võivad sisaldada asümmeetrilist aatomit  
10 (nimetatakse ka kiraalseks tsentriks) ja mõned ühendid võivad sisaldada ühte või enam asümmeetrilist aatomit või tsentrit, seega võivad nad esineda optiliste isomeeride (enantiomeeride) ja diastereomeeridena. Käesolev leiutis hõlmab selliseid optilisi isomeere (enantiomeere) ja diastereomeere (geomeetrilisi isomeere), samuti nende ratseemilisi ja lahutatud enantiomeerselt puhtaid *R*- ja  
15 *S*-stereoisomeere, samuti *R*- ja *S*-stereoisomeeride ja nende farmatseutiliselt vastuvõetavate soolade teisi segusid. Optilisi isomeere võib saada puhtas vormis vastava ala asjatundjatele tuntud standardsete meetoditega ja need hõlmavad, kuid mitte ainult, diastereomeerse soola moodustamist, kineetilist lahutamist ja asümmeetrilist sünteesi. Samuti on arusaadav, et see leiutis hõlmab kõiki  
20 võimalikke regioisomeere ja nende segusid, mida võib saada puhtas vormis vastava ala asjatundjatele tuntud standardsete eraldamismeetoditega ning need hõlmavad, kuid mitte ainult, kolonnkromatograafiat, planaarkromatograafiat ja kõrgefektiivset vedelikkromatograafiat.

Käesoleva leiutise kohaseid ühendeid võib valmistada mitmesuguste orgaanilise  
25 sünteesi asjatundjatele tuntud meetoditega. Käesoleva leiutise kohaseid ühendeid võib sünteesida siin allpool kirjeldatud meetoditega, samuti orgaanilise sünteesi keemia tehnika tasemest tuntud sünteesimeetoditega või nende vastava ala asjatundjatele tuntud variatsioonidega.

Käesoleva leiutise kohaseid ühendeid võib sobivalt valmistada allpool skeemidel  
30 toodud meetoditega kaubanduslikult saadavatest lähteainetest, kirjanduse põhjal

tuntud ühenditest või kergesti valmistatavatest vaheühenditest standardsete sünteesimeetodite ja menetlustega, mis on vastava ala asjatundjatele tuntud. Standardsed sünteesimeetodeid ja menetlusi orgaaniliste molekulide valmistamiseks ja funktsionaalsete rühmade muundamiseks ning nendega manipuleerimiseks võib kergesti leida asjakohasest teaduslikust kirjandusest või selle valdkonna standardsetest käsiraamatutest. On arusaadav, et kus on toodud tüüpilised või eelistatavad reaktsiooniprotsessi tingimused (nt reaktsioonitemperatuurid, ajad, reagentide moolide vahekorrad, lahustid, rõhk jms), võib kasutada ka teisi reaktsiooniprotsessi tingimusi, kui ei ole teisiti öeldud. Optimaalsed reaktsioonitingimused võivad varieeruda sõltuvalt konkreetsetest kasutatavatest reagentidest või lahustitest, kuid selliseid tingimusi võib iga vastava ala asjatundja määrata rutiinsete optimeerimismeetoditega. Orgaanilise sünteesi ala asjatundjad teavad, et esitatud sünteesietappide olemust ja järjekorda võib leiutisekohaste ühendite valmistamise optimeerimise eesmärgil varieerida.

Siin kirjeldatavaid reaktsiooniprotsesse võib jälgida mis tahes tehnika tasemest tuntud sobiva meetodiga. Produkti moodustumist võib jälgida näiteks spektroskoopiliste vahenditega, nagu tuumamagnetresonantspektroskoopia (nt  $^1\text{H}$  või  $^{13}\text{C}$ ), infrapun-spektroskoopia, spektrofotomeetria (nt UV-nähtav) või massispektromeetriaga või kromatograafiaga, nagu kõrgefektiivne vedelik-kromatograafia (HPLC) või planaarkromatograafia.

Ühendite valmistamine võib hõlmata mitmesuguste keemiliste rühmade kaitsmist kaitserühmadega ja kaitserühmade eemaldamist. Kaitserühmadega kaitsmise ja kaitserühmade eemaldamise vajadus ning sobivate kaitserühmade valimine on vastava ala asjatundjate poolt kergesti teostatav. Kaitserühmade keemiat võib leida näiteks raamatust Greene *et al.*, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2<sup>nd</sup> ed., Wiley & Sons, 1991.

Siin kirjeldatavad reaktsiooniprotsessid võib teostada sobivates lahustites, mis on orgaanilise sünteesi asjatundjate poolt kergesti valitavad. Sobivateks lahustiteks võivad olla sellised, mis reaktsiooni toimumise temperatuuridel, st temperatuuridel vahemikus lahusti külmumistemperatuurist kuni lahusti keemistemperatuurini, ei

reageeri praktiliselt lähteainete (reagentide), vaheühendite või produktidega. Antud reaktsiooni võib teostada ühes lahustis või rohkem kui ühe lahusti segus. Sõltuvalt konkreetsest reaktsioonietapist võib valida konkreetse reaktsioonietapi jaoks sobivad lahustid.

- 5 Soovimata olla piiratud mis tahes allikaga on publikatsioonid ja kirjandus, nagu WO 200044723, Li, J. P., Newlander, K. A., Yellin, T. O. *Synthesis*, 1988, 73-76, Gilchrist, T. L., Roberts, T. G. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.*, 1983, 1, 1283-1292, kasulikud ja tunnustatud viited orgaanilise sünteesi kohta, mis on vastava ala asjatundjatele tuntud.
- 10 Leiutisekohased ühendid valmistatakse tavaliste orgaanilise sünteesi asjatundjatele tuntud meetoditega. Leiutisekohaste ühendite valmistamiseks kasutatavad lähteained on tuntud, valmistatud tuntud meetoditega või kaubanduslikult saadavad.

- 15 Orgaanilise sünteesi ala asjatundjad teavad, et esitatud sünteesietappide olemust ja järjekorda võib leiutisekohaste ühendite valmistamise optimeerimise eesmärgil varieerida.

### Näited

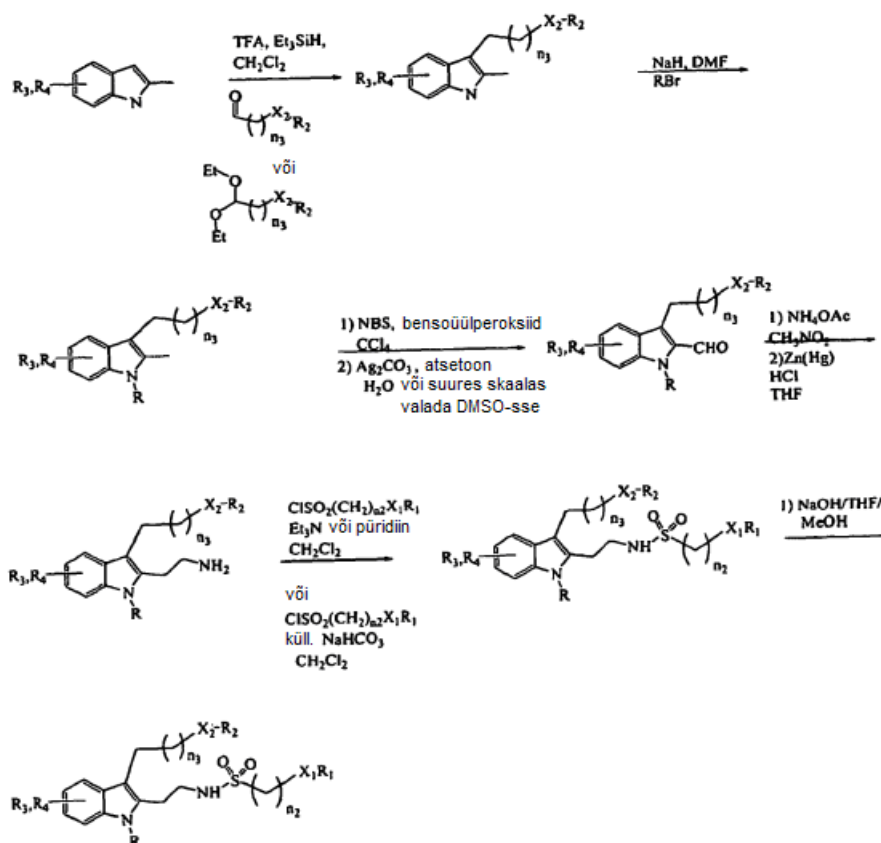
- Järgnev kirjeldab üksikasjalikumalt 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-  
 20 üül}etüül)sulfonüül]fenüül}propanhappe valmistamist ja etalonnäiteid. Järgnevaid näiteid pakutakse illustreerimise eesmärgil ja need ei ole mõeldud leiutist mingil viisil piiravatena. Vastava ala asjatundjad tunnustavad kergesti mitmeid mittekriitilisi parameetreid, mida võib muuta või modifitseerida, saamaks sisuliselt sama tulemust.
- 25 Massispektri andmed esitatakse massi : laengu suhtena,  $m/z$ , ja kõrge lahutuvuse puhul esitatakse massispektri andmed, arvutatud ja eksperimentaalselt leitud

massid,  $[M + H]^+$ , neutraalsete valemite puhul M. Tuuma magnetresonantsi andmed esitatakse miljondikes  $\delta$  (ppm) standardi, tetrametüülsilaani, suhtes koos lahusti, tuuma ja väljatugevuse parameetritega. Spin-spin homonukleaarsed sidestuskonstandid esitatakse  $J$  väärtustena hertsides ja multiplitsused esitatakse kui s, singlett, d, duplett, t, triplett, q, kvartett, kvintett või br, laienuvad.

## Üldine sünteesiskeem (üldised sünteesiskeemid) ühendite valmistamiseks

Leiutisekohaseid ühendeid võib valmistada allpool näidatud meetoditega A-E.

### Meetod A



10 Nagu eespool meetodis A näidatud võib lähte-indooli alküülida C3 asendis (indoolrühma 3-asendis olev süsinikuaatom) aldehüüdidega või vastavate atsetaalidega Lewisi või Bronstedi happe, nagu boortrifluorideteraat või



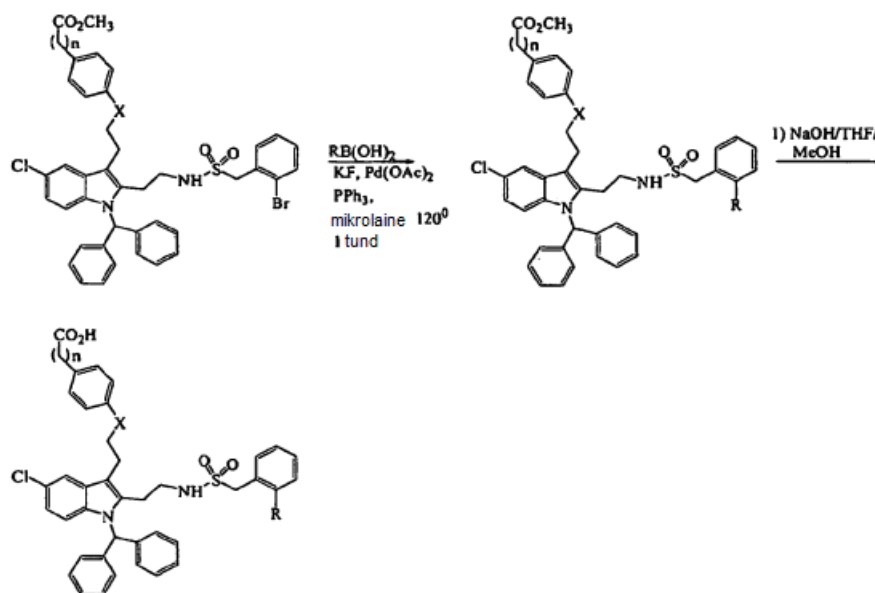
trifluoroäädikhape, manulusel. Indooli lämmastikuaatomi võib sel juhul alküülida töötlemisel tugeva alusega, nagu naatriumbis(trimetüülsilüül)amiid, *n*-BuLi, naatriumhüdriid või kaaliumhüdriid, lahustis, nagu DMF, DMSO või THF, seejärel töödeldes sobiva alküülhalogeniidiga. Saadud produkti võib töödelda

5 süsiniktetrabromiidiga süsiniktetrakloriidis ja katalüütilise koguse bensoöülperoksiidiga, saamaks C2 metüülrühma dibroomimist. Dibromiidi võib seejärel kas segada hõbekarbonaadiga atsetooni/vee segus või valada DMSO-sse ja segada. Mõlema nende meetodiga saab aldehyüdi, millega seejärel teostatakse nitroaldoolreaktsioon nitrometaani ja ammoniumatsetaadiga tagasijooksu-

10 temperatuuril. Saadud vinüülnitro-vaheühend redutseeritakse amiiniks töötlemisel tsink-elavhõbe amalgaamiga THF ja kontsentreeritud HCl segus tagasijooksutemperatuuril. Seejärel võib saadud amiini töödelda vajaliku sulfonüülkloriidiga kahefaasilistes tingimustes, naatriumvesinikkarbonaadi vesilahuse/diklorometaani segus või organilises lahustis, lisades mahukat

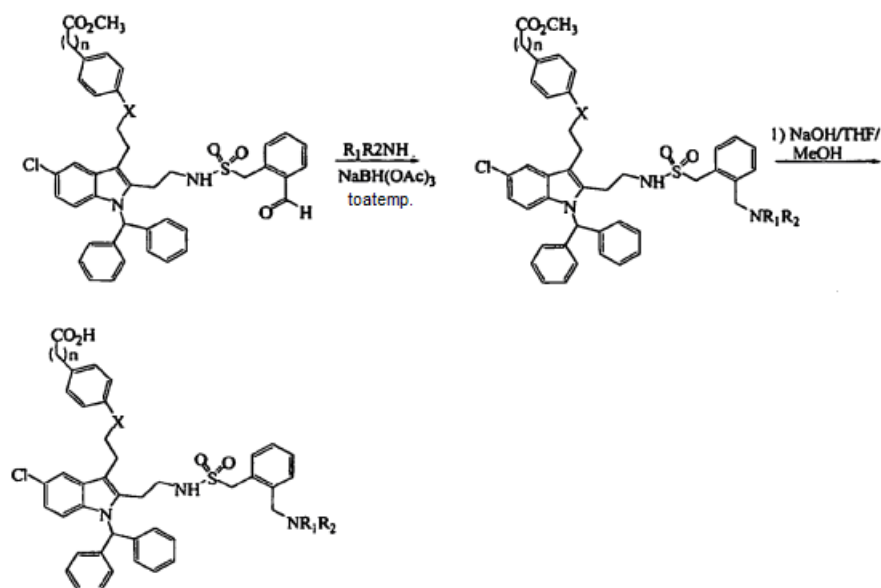
15 orgaanilist amiin-alust. Lõpliku hüdrolüüsi võib teostada aluselistes tingimustes naatriumhüdroksoid vees ja metanoolis ja THF-s toatemperatuuril või kõrgemal temperatuuril. Alternatiivselt võib selle lõhustada töötlemisel naatriumtio- metoksiidiga lahustis, nagu THF või DMF kõrgematel temperatuuridel (50 °C kuni 100 °C).

## Meetod B: Suzuki meetod



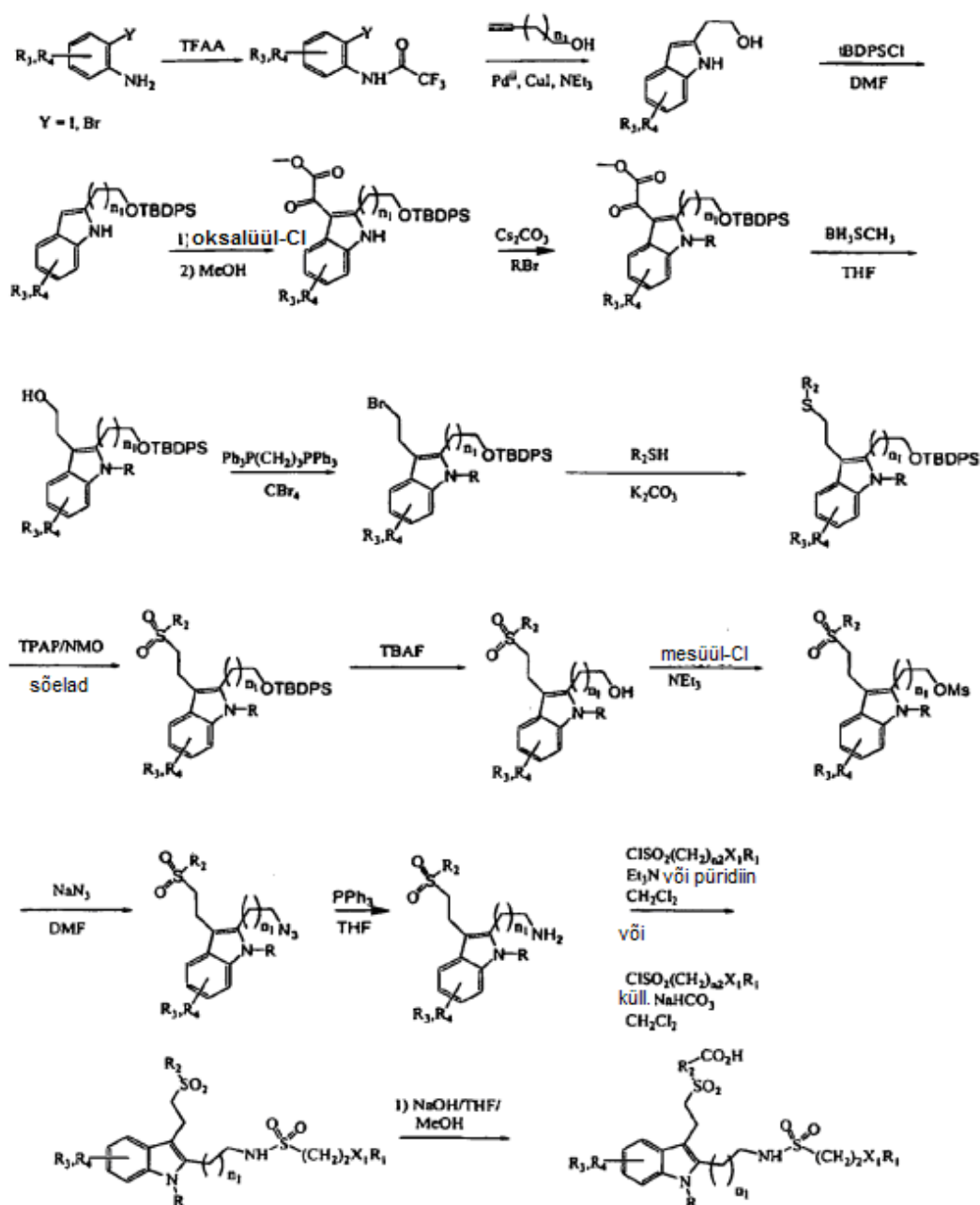
- Nagu eespool meetodis B on näidatud, viiakse halogeniid reaktsiooninõusse koos boorhappe, aluse (näiteks KF), pallaadiumiühendi (näiteks Pd(OAc)<sub>2</sub>), ligandi (näiteks PPh<sub>3</sub>) ja sobiva degaseeritud lahustiga, näiteks DMF, MeOH, vesi või nende kombinatsioon. Seejärel segu kuumutatakse kas termiliselt või mikrolainereaktoris. Standardse eraldamisega saadakse kaitstud (ester) produkt, mis seejärel hüdrolüüsitakse aluselises keskkonnas, saadakse produktiks vaba hape.

### Meetod C: redutseeriva amiinimise meetod



- Nagu eespool meetodis C on näidatud, töödeldakse formüülrühma sisaldavat ühendit amiiniga vajadusel happelises keskkonnas ja sobiva redutseeriva reagenti nagu  $\text{NaBH(OAc)}_3$  manulusel. Reaktsioonisegu jäetakse segama 5 toatemperatuurile või võib seda vajadusel kuumutada. Standardisel eraldamisel saadakse kaitstud (ester) produkt, mis seejärel hüdrolüüsitakse aluselises keskkonnas, saamaks produktiks vaba hape.

## Meetod D



Nagu eespool meetodis D on näidatud, viiakse sobivalt asendatud haloamiin reaktsiooni trifluoroatsetanhüdriidiga, saamaks vaheühendit, mida võib töödelda Pd(II) katalüsaatoriga aluse nagu trietüülamiin, CuI ja sobiva alküüni manulusel kuumutamisel, saamaks soovitud indool-vaheühendit. Primaarne alkohol kaits-  
 5 takse silüüleetrina, kasutades silüülkloriidi nagu *tert*-butüüldifenüülsilüülkloriid ja alust nagu imidasool. Seejärel kaitstud indooli töödeldakse oksalüülkloriidiga,

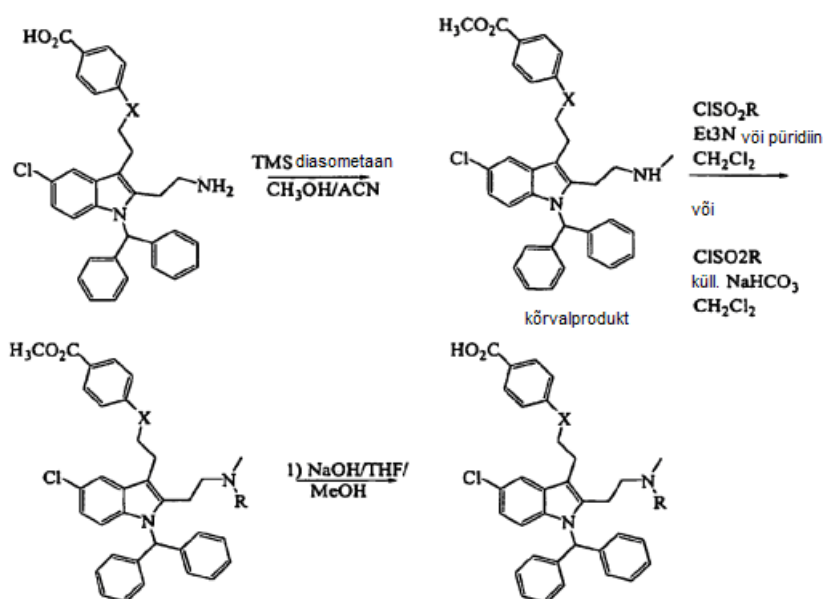
seejärel metanooliga, millega saadakse soovitud oksalaatester, mille indooli lämmastikuaatomi võib alküülida, kasutades sobivat alust nagu tseesium-karbonaat tagasijooksutemperatuuril atsetonitriilis ja halogeniidis. Oksalaadi võib seejärel redutseerida, toimides sobiva redutseeriva reagentiga nagu boraan.

5 Saadud primaarne alkohol muudetakse halogeniidiks kasutades, näiteks  $\text{CBr}_4$  ja fosfiini, mille võib seejärel asendada nukleofiiliga nagu tiofenool. Saadud tioetri võib oksüdeerida mitmete oksüdeerivate reagentidega, sealhulgas oksooni ja TPAP/NMO-ga. Saadud sulfooni kaitserühma võib eemaldada, toimides fluoriidühendiga, nagu TBAF, CsF või HF. Saadud alkoholi võib muuta haloge-

10 niidiks või mesülaadiks, näiteks kasutades metaansulfonüülkloriidi ja orgaanilist alust, mille seejärel võib asendada naatriumasiidiga DMF-s. Saadud alküülasiidi võib redutseerida, toimides trifenüülfosfiini ja niiske THF-ga. Amiini võib sulfonüülida, toimides sulfonüülkloriidiga kas kahefaasilistes Schotten-Baumanni reaktsiooni tingimustes (vesilahus, vesinikkarbonaat ja diklorometaan) või

15 veevabades tingimustes, mis koosnevad diklorometaanist ja orgaanilisest alusest nagu Hunigi alus. Saadud ester-vaheühend hüdrolüüsitakse, kasutades alust, nagu NaOH, KOH või LiOH, ja lahustite segus, sealhulgas alkoholne lahusti, vesi ja tetrahüdrofuraan.

### Meetod E:



Nagu eespool meetodis E on näidatud, lähte-aminohape esterdatakse ja *N*-alküülitakse ühe-poti sünteesina (kasutades näiteks diasoreagenti või trimetüül-silüüldiasoreagenti). Seejärel saadud *N*-alküülester sulfonüülitakse sulfonüül-kloriidiga, kasutades kas Schotten-Baumanni reaktsiooni tingimusi või organilises lahustis ja organiliste aluste manulusel. Lõpuks *N*-alküülester hüdrolüüsitakse soovitud produktiks, kasutades alust nagu NaOH ja sobivat lahustisüsteemi, nagu THF ja alkohol.

Järgnevad ühendid valmistati vastavalt eespool toodud meetoditele A-E.

### Näide 1 [etalonnäide]

#### 10 **4-{2-[2-[2-({[2-(bensüüloksü)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-5-kloro-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]etoksü}bensoehape**

Etapp 1. 4-hüdroksübensoehappe metüülestrile (1,0 ekv) DMF-s (0,83 M) lisati K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,0 ekv), seejärel 2-bromo-1,1-dietoksüetaan ja reaktsioonisegu segati temperatuuril 110 °C 2 päeva. TLC analüüs näitas uut laiku. Reaktsioonisegu lahjendati etüülatsetaadiga, pesti 1 N NaOH, vee ja soolalahusega, kuivatati naatriumsulfaadiga ning lahusti eraldati, saadi soovitud produkt 84% saagisega. Saadud ainet kasutati järgmises etapis edasise puhastamiseta.

Etapp 2. Eespool saadud produktile (1,0 ekv) ja 5-kloro-2-metüülindoolile (1,0 ekv) CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (0,12 M) lisati trietüülsilaan (3,0 ekv), seejärel trifluoro-äädikhape (3,0 ekv). Pärast segamist toatemperatuuril üleöö lisati reaktsioonisegule vesi ja trifluoroäädikhape (1,0 ekv), seejärel segati toatemperatuuril kaks päeva, lahjendati CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga, pesti 1 N NaOH, vee ja soolalahusega ning kuivatati naatriumsulfaadiga. Ainet tritureeriti CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s ja heksaanides, saadi C3-alküülitud indool 92% saagisega.

25 Etapp 3. Eespool saadud indoolile (1,0 ekv) DMF-s (0,36 M) lisati temperatuuril 25 °C NaH (1,2 ekv, 60% dispersioon õlis). Pruuni lahust segati temperatuuril

0 °C kuni -5 °C 1 tund ja seejärel lisati bromodife nüülmetaan (1,1 ekv). Reaktsioonisegu segati üleöö ja seejärel reaktsioon peatati veega, lahjendati etüülatsetaadiga, pesti vee ja soolalahusega, kuivatati naatriumsulfaadiga ja puhastati kolonnkromatograafiliselt, saadi 72% soovitud produkti.

5 Etapp 4. Eespool saadud *N*-alküülitud indoolile (1,0 ekv) CCl<sub>4</sub>-s (0,2 M) lisati *N*-bromosuktsiinimiid (2,0 ekv) ja katalüütiline kogus bensoüülperoksiidi. Lahust kuumutati tagasijooksutemperatuuril 3 tundi, jahutati temperatuurini 25 °C, filtriti ja tahket ainet pesti CCl<sub>4</sub>-ga. Filtraat kontsentreeriti vahuks, mida kuivatati vaakumis. Vaht lahustati atsetoonis ja lisati Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,1 ekv), seejärel vesi ning  
10 reaktsioonisegu segati toatemperatuuril üleöö ja seejärel filtriti ning pesti atsetooniga. Filtraat kontsentreeriti, saadi jääk, millele lisati vesi. Saadud segu ekstraheeriti etüülatsetaadiga, pesti soolalahusega ja kuivatati naatriumsulfaadiga. Jäägi kromatograafilisel puhastamisel saadi soovitud produkt 85% saagisega.

15 Etapp 5. Eespool saadud aldehüüdile (1,0 ekv) CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>-s (0,2 M) lisati ammooniumatsetaat (4 ekv) ja saadud segu kuumutati tagasijooksutemperatuuril 4 tundi. Seejärel reaktsioonisegu lahjendati EtOAc-ga ja pesti soolalahusega. Veekihti ekstraheeriti EtOAc-ga. Ühendatud orgaanilist ekstrakti pesti soolalahusega, kuivatati naatriumsulfaadiga ja kontsentreeriti, kuni sadestus oranž  
20 kristalne tahke aine. Segu hoiti külmkapis üleöö ja nitroolefiin (76% saagis) koguti filtrimisega. Lahusekihi aurustamisel ja jäägi puhastamisel kolonnkromatograafiliselt (gradientelueerimine 100% tolueni → 1% EtOAc/tolueni segu), saadi lisakogus nitroolefiini (23% saagis).

Etapp 6. Tsingitolm (20 ekv) suspendeeriti 5% HCl vesilahuses (8 M Zn/5% HCl).  
25 Saadud segule lisati HgCl<sub>2</sub> (0,28 ekv). Segu loksutati 10 minutit, veekiht dekanteeriti ja asendati värskelt 5% HCl-ga ja uuesti loksutati segu 5 minutit ning veekiht eraldati. Selliselt regenereeritud tsink-elavhõbe amalgaam lisati seejärel nitroolefiini (1,0 ekv) ja kontsentreeritud HCl (80 ekv) segule THF-s (0,04 M nitroolefiin/THF). Segu hoiti kergel keemisel tagasijooksutemperatuuril 1 tund.  
30 Seejärel analüüsiti moodustunud produkti TLC analüüsi abil. Segu jahutati toa-

temperatuurini ja tahke aine eraldati filtrimisega läbi tseliidikihi. Lahusele lisati kontsentreeritud  $\text{NH}_4\text{OH}$  ja segu kontsentreeriti rotaatoraurustiga. Jääk lahustati  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -s ja kontsentreeritud  $\text{NH}_4\text{OH}$ -s. Veekihti ekstraheeriti  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -ga ja orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati naatriumsulfaadiga ja kontsentreeriti. Puhastamisega kolonnkromatograafiliselt saadi soovitud produkt (65% saagis).

Etapp 7. Naatriumsulfit (4,2 g) lisati segatavale 1-bensüüloksü-2-bromometüül-benseeni (8,9 g), tetrabutüülammooniumjodiidi (59 mg) ja vee (150 ml) segule. Segu kuumutati tagasijooksutemperatuuril üleöö. Seejärel segu jahutati temperatuurini  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , hapestati 6 N HCl-ga. Teostati ekstraheerimine etüülatsetaadiga (100 ml x 6) (mõningane jääk veekihis). Ühendatud orgaaniline kiht kuivatati  $\text{MgSO}_4$ -ga. Filtraat kontsentreeriti vaakumis. Produkti tritureeriti etüüleetris, saadi (2-bensüüloksüfenüül)metaansulfoonhape (678 mg, 8%).

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 3,82 (s, 2H), 5,09 (s, 2H), 6,86 (t,  $J = 7,45$  Hz, 1H), 6,96 (d,  $J = 8,08$  Hz, 1H), 7,14 (t,  $J = 7,83$  Hz, 1H), 7,32 (d,  $J = 7,33$  Hz, 1H), 7,38 (t,  $J = 7,33$  Hz, 2H), 7,46 (d,  $J = 9,09$  Hz, 1H), 7,52 (d,  $J = 7,07$  Hz, 2H).

Etapp 8. Tetrahüdrofuraan (10 ml), (2-bensüüloksüfenüül)metaansulfoonhape (138 mg) ja *N,N*-dimetüülformamiid (2 tilka) jahutati temperatuurini  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  ja lisati aeglaselt oksalüülkloriid (315 mg). Reaktsioonisegu segati 3 tundi temperatuurivahemikus  $-78$  kuni  $0\text{ }^\circ\text{C}$ . Reaktsioonisegu filtriti selgeks. Filtraati pesti jääkülma vee ja heptaaniga ning kuivatati, saadi (2-bensüüloksüfenüül)metaansulfoonüülkloriid (114 mg, 77%).

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5,06 (s, 2H), 5,15 (s, 2H), 7,04 (m, 2H), 7,42 (m, 7H).

Etapp 9. Metüül-4-{2-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]etoksü}bensoadi (1,0 ekv, etapp 6) ja küllastunud  $\text{NaHCO}_3$  lahusele (0,14 M)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -s (0,07 M) lisati (2-bensüüloksüfenüül)metaansulfoonüülkloriid (1,0 ekv,



etapp 8). 16 tunni pärast segu valati küllastunud naatriumvesinikkarbonaadi lahusesse ja ekstraheeriti CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga. Ühendatud orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati naatriumsulfaadiga ja puhastati kolonnkromatograafiliselt, saadi 77% soovitud produkti.

- 5 Etapp 10. Saadud ester hüdrolüüsiti segamisel 1 N NaOH-ga (5 ekv) THF-s (0,07 M) ja lisati piisav kogus MeOH selge lahuse saamiseks. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) lähteaine kadumise analüüsimiseks. Kui reaktsioon oli toimunud, segu kontsentreeriti, lahjendati H<sub>2</sub>O-ga ja hapestati pH väärtuseni 2-4, kasutades 1 M HCl. Veekihti ekstraheeriti EtOAc-ga ja orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati naatriumsulfaadiga ja kontsentreeriti, saadi nimiühend-
- 10 hape 97% saagisega.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,86 (d, *J* = 14,40 Hz, 2H), 2,92-3,04 (m, 2H) 3,13 (t, *J* = 6,69 Hz, 2H), 4,12-4,23 (m, 2H) 4,28 (s, 2H), 4,34-4,45 (m, 1H), 4,90 (s, 2H), 6,47 (d, *J* = 8,84 Hz, 1H), 6,73-6,93 (m, 6H), 6,95-7,08 (m, 4H), 7,16-7,36 (m, 13H), 7,53 (d, *J* = 1,77 Hz, 1H), 7,92-8,04 (m, 2H).

15

HRMS [C<sub>46</sub>H<sub>41</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S + H] jaoks arvutatud: 783,2301, määratud: 783,2292, puhtus H<sub>2</sub>O/MeOH puhul 97%, H<sub>2</sub>O/MeCN puhul 95%.

## Näide 2 [etalonnäide]

20 **4-{2-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2-{{(2-hüdroksübensüül)sulfonüül}amino}etüül)-1*H*-indool-3-üül]etoksü}bensoehape**

Etapp 1. 4-{2-[2-[2-{{(2-(bensüüloksü)bensüül)sulfonüül}amino}etüül]-5-kloro-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]etoksü}bensoehappele (etapp 9, näide 1, 109 mg, 0,14 mmooli) lisati THF ja MeOH, seejärel lisati 10% Pd/C (11 mg). Segu segati toatemperatuuril H<sub>2</sub>-atmosfääris (1 atm) üleöö ja filtriti läbi tseliidikihi, kontsentreeriti ja puhastati kolonnkromatograafiliselt (35% EtOAc/heksaan), saadi

25

4-(2-{1-benshüdrüül-5-kloro-2-[2-(2-hüdrosüfenüülmetaansulfonüülamino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}etoksü)bensoehappe metüülester (74 mg, 76%) määrdunudvalge tahke ainena.

5 Etapp 2. Ester-vaheühend hüdrolüüsiti vastavalt etappis 10 näites 1 kirjeldatule, saadi nimiühend-hape 85% saagisega.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,87-3,01 (m, 2H), 3,00-3,11 (m, 2H), 3,18 (t, *J* = 6,57 Hz, 2H), 4,17 (s, 2H), 4,19-4,30 (m, 2H), 4,52 (t, *J* = 5,81 Hz, 1H), 6,52 (d, *J* = 8,84 Hz, 1H), 6,75-6,90 (m, 6H), 6,99 (dd, *J* = 7,45, 1,64 Hz, 1H), 7,01-7,13 (m, 4H), 7,13-7,22 (m, 1H), 7,27-7,37 (m, 6H), 7,53 (d, *J* = 2,02 Hz, 1H), 7,91-8,04  
10 (m, 2H).

HRMS [C<sub>39</sub>H<sub>35</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>,S + H] jaoks arvutatud: 695,1977, määratud: 695,1984.

### Näide 3 [etalonnäide]

#### **4-{2-[5-kloro-2-(2-[(2,6-dibromobensüül)sulfonüül]amino)etüül]-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül}etoksü}bensoehape**

15 Etapp 1. 2,6-dibromotolueeni (5,38 g, 21,53 mmooli) lahusele benseenis (1,54 M) lisati *N*-bromosuktsiinimiid (4,21 g, 23,68 mmooli) ja bensoüülperoksiid (0,52 g, 2,15 mmooli). Seejärel segu kuumutati tagasijooksul üleöö. Segu jahutati toatemperatuurini, lahjendati H<sub>2</sub>O-ga ja ekstraheeriti EtOAc-ga. Ühendatud orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati MgSO<sub>4</sub>-ga ja kontsentreeriti, saadi  
20 7,65 g bensüülbromiidi pruuni tahke ainena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 4,83 (s, 2H), 7,01 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H).

Etapp 2. 2,6-dibromobensüülbromiidi (1,0 ekv, etapp 1) lahusele DMF-s (1,30 M) lisati kaaliumtioatsetaat (1,2 ekv) ja segu jäeti segama toatemperatuurile 3-4

tunniks. Reaktsioonil jälgiti LC/MS analüüsiga lähteaine kadumist. Segu lahjendati H<sub>2</sub>O-ga ja ekstraheeriti EtOAc-ga. Ühendatud orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati MgSO<sub>4</sub>-ga ja kontsentreeriti, saadi 6,70 g (89%) bensüültioatsetaati pruuni õlina.

- 5 Etapp 3. Tioatsetaadi (1,0 ekv, 6,70 g, 20,7 mmooli) lahusele AcOH-s (0,19 M) ja H<sub>2</sub>O-s (0,91 M) lisati naatriumatsetaat (6,7 ekv). Seejärel juhiti energiliselt läbi reaktsioonisegu kloori 30-45 minutit. Seejärel segu kontsentreeriti, lahjendati etüüleetriga, pesti H<sub>2</sub>O ja soolalahusega, kuivatati MgSO<sub>4</sub>-ga ja kontsentreeriti, saadi 5,30 g (74%) soovitud 2,6-dibromofenüülmetaansulfonüülkloriidi pruuni  
10 tahke ainenä.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5,55 (s, 2H), 7,17 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,67 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H).

- Etapp 4. 4-{2-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-  
15 üül]etoksü}bensoehappe metüülester (näide 1, etapp 6, 126 mg, 0,23 mmooli) viidi reaktsiooni 2,6-dibromofenüülmetaansulfonüülkloriidiga (etapp 3) vastavalt näites 1, etapis 9 kirjeldatud meetodile, saadi 203 mg soovitud sulfoonamiidi valge tahke ainenä kvantitatiivse saagisega.

- Etapp 5. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolyüsiti sulfoonamiidester (175 mg, 0,206 mmooli), saadi 146 mg (85%) nimiühendit valge tahke  
20 ainenä.

- <sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,87-3,03 (m, 2H), 3,06-3,14 (m, 2H), 3,22 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 4,23 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 4,53 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 4,72 (s, 2H), 6,51 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,82 (dd, *J* = 9,0, 2,1 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,92 (s, 1H), 6,97 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,05-7,12 (m, *J* = 6,2, 2,9 Hz, 4H), 7,29-7,34 (m, 6H),  
25 7,49 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,54 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 8,00 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H).

**Näide 4 [etalonnäide]****4-(2-{1-benshüdrüül-5-kloro-2-[2-metüül-6-nitrofenüülmetaansulfonüülamino)etüül-1-*H*-indool-3-üül}etoksü)bensoehape**

5 Etapp 1. 2-metüül-6-nitrofenüülbensoehappe (3,02 g, 16,67 mmooli) lahusele tionüülkloriidis (0,56 M) lisati DMF (katalüütiline kogus) ja segu kuumutati tagasijooksutemperatuuril 5,5 tundi. Seejärel segu jahutati toatemperatuurini ja kontsentreeriti. Seejärel lisati jäägile THF (30 ml) ja lisati aeglaselt 20 minuti jooksul NaBH<sub>4</sub> suspensioonile THF-s (30 ml), mis oli eelnevalt jahutatud temperatuurini 0° C. Segu segati toatemperatuuril 2 tundi ja seejärel reaktsioon peatati H<sub>2</sub>O, seejärel 4 M HCl lisamisega. Segu ekstraheeriti EtOAc-ga. Ühendatud orgaanilist kihti pesti küllastunud NaHCO<sub>3</sub> vesilahuse ja soolalahusega, kuivatati MgSO<sub>4</sub>-ga ning kontsentreeriti, saadi 2,52 g (90%) bensüülalkoholi oranži tahke ainena.

15 <sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,55 (s, 3H), 4,70 (s, 2H), 7,35 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,70 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H).

Etapp 2. Bensüülalkoholi (2,52 g, 15,07 mmooli) lahusele CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (0,12 M) jahutatuna temperatuurini -78 °C ja argooniatmosfääris lisati aeglaselt BBr<sub>3</sub>, 1,0 M CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (23 ml, 22,6 mmooli). Segu segati toatemperatuuril üleöö ja seejärel lahjendati H<sub>2</sub>O-ga (150 ml). Kihid eraldati ja orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati MgSO<sub>4</sub>-ga ja kontsentreeriti, saadi 2,97 g (86%) 2-metüül-6-nitrobensüülbromiidi pruuni tahke ainena.

20 <sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,53 (s, 3H), 4,72 (s, 2H), 7,36 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,46 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,75 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H).

Etapp 3. 2-metüül-6-nitrobensüülbromiid (etapp 2, 1,5 g, 6,5 mmooli) viidi reaktsiooni kaaliumtioatsetaadiga vastavalt näites 3 etapis 2 kirjeldatud meetodile, saadi 1,44 g bensüültioatsetaati pruuni õlina.

Etapp 4. Järgides näites 3 etapis 3 kirjeldatud meetodit oksüdeeriti 5 bensüültioatsetaat (1,44 g, 6,39 mmooli), saadi 1,35 g (84%) (2-metüül-6-nitrofenüül)metaansulfonüülkloriidi oranži tahke ainena.

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,62-2,65 (m, 3H), 5,68 (s, 2H), lai, 7,54 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,58-7,60 (m, 1H), 7,91 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H).

Etapp 5. Kasutades näites 1 etapis 9 kirjeldatud meetodit viidi 4-{2-[2-(2-10 aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]etoksü}bensoehappe metüül-ester (näide 1, etapp 6, 255 mg, 0,47 mmooli) reaktsiooni etapis 4 saadud sulfoonüülkloriidiga, saadi 318 mg sulfoonamiidi kollase tahke ainena 90% saagisega.

Etapp 6. Sulfoonamiidester (101 mg, 0,13 mmooli) hüdrolüüsiti vastavalt näites 1 etapis 10 kirjeldatule, saadi 87 mg (91%) nimiühendit valge tahke ainena.

15  $^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,48 (s, 3H), 2,87-2,99 (m, 2H), 3,03-3,10 (m, 2H), 3,22 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H), 4,23 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H), 4,33 (t,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 4,77 (s, 2H), 6,51 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 6,82 (dd,  $J = 8,8, 2,0$  Hz, 1H), 6,88 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H), 6,91 (s, 1H), 7,04-7,12 (m, 4H), 7,29-7,35 (m, 7H), 7,42 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 7,54 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H), 7,66 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,99 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H).

**Näide 5 [etalonnäide]****4-(2-(5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-((2-(trifluorometüül)bensüül)sulfonüül)amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül)etoksü)bensoehape**

5 Etapp 1. 2-(trifluorometüül)bensüülbromiidi (25 g, 0,14 mooli), naatriumsulfiti (19,1 g, 0,15 mooli), tetrabutüülammooniumjodiidi (0,224 g, 0,6 mmooli) ja H<sub>2</sub>O (930 ml) segu kuumutati tagasijooksutemperatuuril 2 päeva. Segu jahutati toatemperatuurini ja veekiht dekanteeriti õliselt jäägilt ning kontsentreeriti rotaatoraurustiga kuivaks, saadi soovitud naatriumisool (22,2 g, 60%) valge tahke  
10 ainena, mida kasutati edasise puhastamiseta.

Etapp 2. (2-trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe naatriumisool (22,2 g, 84 mmooli) suspendeeriti MeOH-s (950 ml) ja jahutati temperatuurini -20 °C. Sellel temperatuuril juhiti pidevalt läbi segu jahutatud HCl (gaasiline) 5 minutit. Saadud valget suspensiooni segati toatemperatuuril 1,5 tundi, seejärel jahutati  
15 jäävannis. Saadud suspensioon filtriti ja kogutud tahke aine jäeti kuivama õhu kätte üleöö, saadi (2-trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhape (20,3 g, ~100%) valge tahke ainena, mida kasutati edasise puhastamiseta.

Etapp 3. (2-trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe (20,3 g, 84 mmooli) suspensioonile THF-s (1,9 l) ja DMF-s (5,0 ml) lisati aeglaselt tilkhaaval 1 tunni  
20 jooksul temperatuuril -20 °C oksalüülkloriid (44,7 ml, 0,5 mooli). Vanni temperatuuri hoiti alla 0 °C 4 tundi, seejärel reaktsioonisegu aurustati mahuni ~250 ml ja lahjendati 500 ml etüülatsetaadiga. Saadud lahust pesti jaotuslehtis soolalahusega ja kuivatati magneesiumsulfaadiga. Seejärel lahus aurustati, saadi pruun õli. Saadud õlile lisati 500 ml petrooleetrit (30-50°) ja kuumutati, kuni õli  
25 lahustus. Seejärel asetati lahus kuiva jää/atsetooni vanni, et saavutada valge kristalse aine moodustumine. Saadud aine koguti filtrimisega ja kuivatati, saadi 19 g (85%) (2-trifluorometüülfenüül)metaansulfonüülkloriidi valge tahke ainena.

Etapp 4. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{2-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]etoksü}bensoaat (etapp 9, näide 1, 0,15 g, 0,28 mmooli) reaktsiooni 2-(trifluorometüülfenüül)metaansulfonüülkloriidiga (0,145 g, 0,50 mmooli), saadi 0,220 g sulfoonamiidi valge vahuna 75% saagisega.

5 <sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,73-2,88 (m, 2H), 2,96-3,09 (m, 2H), 3,16 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 3,88 (s, 3H), 4,19 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 4,23 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,34 (s, 2H), 6,51 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,77-6,84 (m, 3H), 6,86 (s, 1H), 6,98-7,12 (m, 4H), 7,27-7,35 (m, 6H), 7,36-7,47 (m, 2H), 7,53 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 7,59-7,69 (m, 2H), 7,95 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H).

10 Etapp 5. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti sulfoonamiidester (137 mg, 0,18 mmooli), saadi 86 mg (64%) nimiühendit valge pulbrina.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 3,04 (s, 4H), 3,18 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 4,23 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H), 4,42 (s, 2H), 6,48 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,81 (dd, *J* = 9,0, 2,1 Hz, 1H), 6,98 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 7,03-7,18 (m, 5H), 7,29-7,42 (m, 6H), 7,48-7,62 (m, 3H),  
15 7,66 (d, *J* = 2,0 Hz, 2H), 7,72 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 12,49 (s, 1H).

HRMS C<sub>40</sub>H<sub>34</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 747,19018, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 747,1886, HPLC puhtus H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN puhul 96,2%, H<sub>2</sub>O/MeOH puhul 95,4%.

**Näide 6 [etalonnäide]****4-(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({[2-fluoro-6-(trifluorometüül)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}etoksü)bensoehape**

- 5 Etapp 1. Kasutades näites 5 etapis 1 kirjeldatud meetodit 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)bensüülbromiidist (15 g, 61 mmooli) saadi 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe naatriumisool (15 g, 89%) valge tahke ainaena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 4,02 (s, 2H), 7,26-7,66 (m, 3H).

- 10 Etapp 2. Kasutades näites 5 etapis 2 kirjeldatud meetodit 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe naatriumsoolast (15 g, 53 mmooli) saadi 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhape (15 g) kahvatuoranži õlina, mida kasutati edasise puhastamiseta.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 4,12 (s, 2H), 7,39-7,73 (m, 3H).

- 15 Etapp 3. Kasutades näites 5 etapis 3 kirjeldatud meetodit 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhapest (15 g, 53 mmooli) saadi 11 g toorprodukti, mis puhastati madalatemperatuurse kristallimisega heksaanides, saadi 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfonüülkloriid (9,0 g, 62%).

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5,31 (s, 2H), 7,38-7,51 (m, 1H), 7,58-7,68 (m, 2H).

- 20 Etapp 4. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{2-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]etoksü}bensoaat (etapp 6, näide 1, 0,12 g, 0,22 mmooli) reaktsiooni 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfonüülkloriidiga (0,074 g, 0,27 mmooli), saadi 0,164 g sulfoonamiidi valge vahuna 95% saagisega.



<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ: 2,83-3,03 (m, 2H), 3,07-3,17 (m, 2H), 3,21 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 3,88 (s, 3H), 4,22 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 4,31 (t, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,43 (s, 2H), 6,52 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,76-6,89 (m, 3H), 6,92 (s, 1H), 7,07 (dd, *J* = 6,1, 4,3 Hz, 4H), 7,23 (t, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,28-7,34 (m, 5H), 7,38-7,52 (m, 2H), 7,54  
5 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H).

Etapp 5. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti sulfoonamiidester (136 mg, 0,17 mmooli), saadi 130 mg (97%) nimiühendit valge pulbrina.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 3,00-3,15 (m, 4H), 3,17 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 4,22  
10 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 4,45 (s, 2H), 6,46 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,79 (dd, *J* = 8,8, 2,3 Hz, 1H), 6,97 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 7,03-7,13 (m, 5H), 7,16-7,41 (m, 6H), 7,48-7,70 (m, 4H), 7,74-7,90 (m, 3H), 12,56 (s, 1H).

HRMS C<sub>40</sub>H<sub>33</sub>ClF<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 765,18076, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 765,1814. HPLC puhtus H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN puhul 96,6%, H<sub>2</sub>O/MeOH puhul  
15 97,9%.

### Näide 7 [etalonnäide]

#### 4-{3-[5-kloro-2-(2-[(2,6-dibromobensüül)sulfonüül]amino)etüül)-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape

Etapp 1. Metüül-4-jodobensoaadi (5,3 g, 20,2 mmooli), allüülalkoholi (1,78 g, 30,3 mmooli), NaHCO<sub>3</sub> (4,24 g, 50,5 mmooli), Pd(OAc)<sub>2</sub> (0,14 g, 0,60 mmooli), (*n*-Bu)<sub>4</sub>NBr (6,55 g, 20,2 mmooli) ja 4 Å molekulaarsölge (4,1 g) segu veevabas DMF-s (69 ml) segati toatemperatuuril 4 päeva. Reaktsioonisegu filtriti läbi tseliidikihi ja filtraat valati vette ning ekstraheeriti EtOAc-ga. Orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ja kontsentreeriti vaakumis. Puhastamisel  
25 kiirkromatograafiliselt (silikageel, 10-20% EtOAc/heksaanid), saadi 2,11 g (85%

tagasisaadud lähteaine põhjal) soovitud 4-(3-oksopropüül)bensoehappe metüülestri selge õlina.

Etapp 2. 5-kloro-2-metüülindooli (0,86 g, 5,2 mmooli) ja 4-(3-oksopropüül)bensoehappe metüülestri (1,0 g, 5,2 mmooli) lahusele diklorometannis (50 ml) lisati TFA (1,78 g, 15,6 mmooli), seejärel trietüülsilaan (1,81 g, 15,6 mmooli). Reaktsiooni-  
5 segu segati üleöö, reaktsioon peatati küllastunud NaHCO<sub>3</sub> lahusega (50 ml) ning orgaanilist kihti pesti küllastunud NaHCO<sub>3</sub> lahuse, vee, soolalahusega ja kuivatati (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Lahusti eraldati madalamal rõhul ja jääk puhastati kiirkolonn-  
10 kromatograafiliselt, elueerides 10-20% EtOAc/heksaanide seguga, saadi soovitud produkt (1,67 g) 94% saagisega.

Etapp 3. Etapis 2 saadud produkti (1,66 g, 4,86 mmooli) lahusele DMF-s (20 ml) lisati N<sub>2</sub>-atmosfääris NaH (60% mineraalõlis, 0,24 g, 5,83 mmooli). Segu segati toatemperatuuril 1 tund, seejärel lisati tilkhaaval benschüdrüülbromiid (1,8 g, 7,29 mmooli) DMF-s (5 ml). Saadud reaktsioonisegu segati toatemperatuuril  
15 üleöö. Lisati vesi (500 ml) ja segu ekstraheeriti EtOAc-ga, pesti soolalahusega, kuivatati (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ja kontsentreeriti madalamal rõhul pruuniks siirupiks, mida puhastati kromatograafiliselt silikageelil, kasutades eluendina 10% EtOAc/heksaanide segu, eraldati *N*-benschüdrüülindool valge tahke aine (1,47 g) 59% saagisega.

20 Etapp 4. Eespool saadud produkt (1,46 g, 2,87 mmooli) lahustati CCl<sub>4</sub>-s (14,5 ml), seejärel lisati NBS (1,02 g, 5,73 mmooli) ja bensoüülperoksiid (2 mg). Reaktsioonisegu kuumutati tagasijooksutemperatuuril 1 tund (kuni TLC analüüsi järgi oli lähteaine kadunud). Saadud segu jahutati toatemperatuurini, filtriti ja tahket ainet pesti CCl<sub>4</sub>-ga. Filtraat aurustati, saadi pruun jääk, mis lahustati  
25 atsetoonis (40 ml) ja vees (4 ml). Seejärel lisati saadud lahusele Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,75 g, 3,16 mmooli) ja pärast segamist toatemperatuuril üleöö, filtriti segu läbi tseliidikihi, lahusti aurustati madalamal rõhul ja jäägile lisati vett. Segu ekstraheeriti EtOAc-ga, pesti soolalahusega, kuivatati (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ja aurustati siirupiks, mida puhastati 10% EtOAc/heksaanide seguga, eraldati 2-formüülindool (1,13 g) 75%  
30 saagisega.

Etapp 5. Eespool saadud 2-formüülindooli (0,52 g, 1 mmooli) lahusele CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>-s (6,2 ml) lisati NH<sub>4</sub>OAc (0,077 g, 1 mmooli), segu kuumutati tagasijooksu-temperatuuril 1 tund. Seejärel lisati NH<sub>4</sub>OAc (0,077 g, 1 mmooli), kuumutamist tagasijooksutemperatuuril jätkati veel 1 tund. Lisati uuesti NH<sub>4</sub>OAc (0,077 g, 5 1 mmooli) ja kuumutamist jätkati veel 1 tund. Reaktsioonisegu jäeti jahtuma toatemperatuurini ja lisati EtOAc (50 ml), seejärel vesi (100 ml). Veekihti ekstraheeriti EtOAc-ga ja ühendatud orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ja aurustati, saadi kollane vaht, mis puhastati kromatograafiliselt, kasutades eluendina 10% EtOAc/heksaanide segu, saadi nitroolefiin kollase 10 vahuna (0,38 g) 68% saagisega.

Etapp 6. Zn(Hg) valmistati HgCl<sub>2</sub> (3,4 g, 7,2 mmooli) lisamisel Zn-tolmu (34,7 g, 530,4 mmooli) ja 5% HCl (38 ml) segule 100-ml reaktsioonikolvis. Segu segati energiliselt 10 minutit. Veekiht dekanteeriti, Zn(Hg)-le lisati 38 ml 5% HCl ja segu segati 10 minutit. Veekiht dekanteeriti. Tahke Zn(Hg) lisati etapis 5 saadud 15 vinüülnitroühendile (15 g, 26,57 mmooli) THF-s (660 ml) ja kontsentreeritud HCl-s (64,5 ml). Saadud segu segati toatemperatuuril 1 tund, seejärel kuumutati tagasijooksutemperatuuril 15 minutit. Reaktsioonisegu jahutati toatemperatuurini ja filtriti läbi tseliidikihi. Filtraadile lisati NH<sub>4</sub>OH vesilahus (200 ml), saadud segu segati 15 minutit ja segu kontsentreeriti THF eraldamiseks. Veekihti ekstraheeriti 20 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga ja ühendatud orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ja kontsentreeriti, saadi pruun vaht, mida puhastati kolonnkromatograafiliselt, elueerides esmalt kolonni CHCl<sub>3</sub>-ga mittepolaarsete lisandite eraldamiseks, seejärel 2% MeOH/CHCl<sub>3</sub> seguga, saadi soovitud amiin 46% saagisega (6,1 g).

Etapp 7. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-25 benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (etapp 6, 128 mg, 0,24 mmooli) reaktsiooni 2,6-dibromofenüülmetaansulfonüülkloriidiga (näide 3, etapp 3), saadi 203 mg sulfoonamiidi punakaspruuni tahke aineina 100% saagisega.

Etapp 8. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti sulfoonamiidester (175 mg, 0,206 mmooli), saadi 133 mg (77%) nimiühendit kollase tahke ainenä.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,91-2,02 (m, 2H), 2,75 (t, *J* = 8,1 Hz, 4H), 2,86-2,94 (m, 2H), 2,94-3,03 (m, 2H), 4,46-4,54 (m, 1H), 4,70 (s, 2H), 6,49 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,79 (dd, *J* = 9,0, 1,9 Hz, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,96 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,04-7,11 (m, *J* = 6,2, 2,4 Hz, 4H), 7,25-7,34 (m, 8H), 7,40 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 8,00 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H).

### Näide 8 [etalonnäide]

10 **4-{3-[5-kloro-2-(2-{{(2,6-diklorobensüül)sulfonüül}amino}etüül)-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape**

Etapp 1. Kasutades näites 3 etapis 1 kirjeldatud tingimusi viidi 2,6-diklorobensüül-bromiid (3,32 g, 13,84 mmooli) reaktsiooni kaaliumtioatsetaadiga, saadi 2,92 g (90%) bensüültioatsetaati.

15 Etapp 2. Kasutades näites 3 etapis 2 kirjeldatud meetodit oksüdeeriti bensüültioatsetaat (2,90 g, 12,33 mmooli), saadi 1,7 g (53%) sulfonüülkloriidi valge tahke ainenä.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5,43 (s, 2H), 7,32-7,39 (m, 1H), 7,43-7,50 (m, 2H).

20 Etapp 3. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 7, etapp 6, 149 mg, 0,28 mmooli) reaktsiooni 2,6-diklorofenüülmetaansulfonüülkloriidiga, saadi 170 mg sulfoonamiidi kollase tahke ainenä 80% saagisega.

Etapp 4. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti sulfoonamiidester (145 mg, 0,19 mmooli), saadi 140 mg (99%) nimiühendit punakaspruuni tahke ainena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,89-2,01 (m, 2H), 2,71-2,80 (m, 4H), 2,84-2,92 (m, 2H), 2,95-3,03 (m, 2H), 4,31 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 4,60 (s, 2H), 6,49 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,80 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 6,87 (s, 1H), 7,01-7,10 (m, 4H), 7,12-7,19 (m, 1H), 7,25-7,34 (m, 10 H), 7,41 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 8,00 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H).

### Näide 9 [etalonnäide]

10 **4-(3-{1-benshüdrüül-5-kloro-2-[2-(2-metüül-6-nitrofenüülmetaansulfonüülamino)etüül-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehape**

15 Etapp 1. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 7, etapp 6, 255 mg, 0,47 mmooli) reaktsiooni 2-metüül-6-nitrofenüülmetaansulfonüülkloriidiga (näide 4, etapp 4), saadi 180 mg sulfoonamiidi kollase tahke ainena 51% saagisega.

Etapp 2. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti sulfoonamiidester (60 mg, 0,080 mmooli), saadi 48 mg (81%) nimiühendit valge tahke ainena.

20 <sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,89-2,01 (m, 2H), 2,49 (s, 3H), 2,75 (q, *J* = 7,2 Hz, 4H), 2,82-2,89 (m, 2H), 2,90-2,98 (m, 2H), 4,10-4,18 (m, 2H), 4,76 (s, 2H), lai, 6,48 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,79 (dd, *J* = 8,8, 2,3 Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 7,02-7,11 (m, *J* = 6,6, 2,5 Hz, 4H), 7,27-7,35 (m, 8H), 7,38-7,47 (m, 2H), 7,67 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 8,00 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H).

### Näide 10 [etalonnäide]

#### 4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehape

5 Etapp 1. 4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-  
 10 üül]propüül}bensoehape (valmistati, nagu on kirjeldatud US patendis 6797708 B2) (10,0 g, 19 mmooli) suspensioonile CH<sub>3</sub>CN-s (100 ml) ja MeOH-s (25 ml) lisati (trimetüülsilüül)diasmetaan (2,0 M lahus heksaanides, 9,6 ml, 19 mmooli). 16 tunni pärast segu filtriti ja kontsentreeriti, saadi metüülester (8,8 g, umbes 86%) oranži vahuna, mida kasutati puhastamiseta.

Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 1, etapp 1, 9,1 g, 17 mmooli) reaktsiooni (2-trifluorometüülfenüül)metaansulfonüülkloriidiga (näide 5, etapp 3, 4,8 g, 17 mmooli), saadi 6,1 sulfoonamiidi valge vahuna 47%  
 15 saagisega.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,88-2,00 (m, 2H), 2,64-2,77 (m, 6H), 2,83-2,95 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 4,05 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 4,33 (s, 2H), 6,49 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,70-6,88 (m, 2H), 7,04 (dd, *J* = 6,4, 2,7 Hz, 4H), 7,24 (s, 1H), 7,28-7,35 (m, 7H), 7,36-7,49 (m, 3H), 7,55-7,71 (m, 2H), 7,95 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H).

20 Lisaks saadi *N*-metüülsulfoonamiid kõrvalprodukt (0,70 g, 5%) kahvatukollase vahuna.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,82-2,02 (m, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,63-2,78 (m, 4H), 2,79-2,89 (m, 2H), 2,89-3,01 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 4,29 (s, 2H), 6,42 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,77 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,98-7,11 (m, 4H), 7,21-7,28  
 25 (m, 2H), 7,28-7,35 (m, 6H), 7,37-7,51 (m, 3H), 7,63 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,70 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H).

Etapp 3. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti metüül-ester (2,6 g, 3,4 mmooli), saadi 2,25 g (88%) nimiühendit kollase tahke ainaena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1,81-1,97 (m, 2H), 2,66-2,79 (m, 4H), 2,95 (s, 4H), 4,41 (s, 2H), 6,45 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,78 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 7,01-7,14 (m, 5H), 7,24-7,42 (m, 8H), 7,46 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,50-7,66 (m, 4H), 7,73 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 12,77 (s, 1H).

HRMS C<sub>41</sub>H<sub>36</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 745,21092, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 745,2132.

Analüüs: C<sub>41</sub>H<sub>36</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S jaoks arvutatud: C, 66,08, H, 4,87, N, 3,76, määratud: C, 66,07, H, 4,57, N, 3,67.

### Näide 11 [etalonnäide]

#### 4(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-(metüül-{2-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehape

15 Etapp 1: Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti *N*-Me-sulfoonamiidester, mis oli näites 10 etapis 2 saadud kõrvalprodukt (0,66 g, 0,85 mmooli), saadi 0,30 g (46%) nimiühendit kahvatukollase pulbrina.

20 <sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1,76-1,93 (m, 2H), 2,63-2,81 (m, 9H), 3,31 (s, 2H), 4,46 (s, 2H), 6,46 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,78 (dd, *J* = 8,8, 2,3 Hz, 1H), 6,98-7,13 (m, 5H), 7,23-7,43 (m, 8H), 7,46 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,51-7,66 (m, 3H), 7,72 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,86 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 12,75 (br s, 1H).

HRMS: C<sub>42</sub>H<sub>38</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 759,22657, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 759,2269, HPLC puhtus H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN puhul: 96,2%, H<sub>2</sub>O/MeOH puhul: 95,7%.

**Näide 12 [etalonnäide]****4-{3-[2-[2-({[2,6-bis(trifluorometüül)bensüül]sulfonüül)amino)etüül]-5-kloro-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape**

Etapp 1. 2,6-bis(trifluorometüül)bensoüülfluoriid.

- 5 Kasutades publikatsioonis W. Dmowski and K. Piasecka-Maciejewska, *Tetrahedron Lett.* 1998, 54, 6781-6792, kirjeldatud meetodit muudeti 7,0 g 2,6-bis(trifluorometüül)bensoehapet happefluoriidiks (7,0 g, 100%), saadi oranž tahke aine.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8,17 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,40 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H).

- 10 Etapp 2. 2,6-bis(trifluorometüülfenüül)bensüül alkohol.

Kasutades publikatsioonis W. Dmowski, K. Piasecka-Maciejewska, *Tetrahedron Lett.* 1998, 54, 6781-6792, kirjeldatud meetodit muudeti 7,0 g 2,6-bis(trifluorometüül)bensoüülfluoriidi alkoholiks (6,6 g, 100%), saadi kahvatukollane õli.

- 15 <sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 4,95 (s, 2H), 7,59 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,94 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H).

Etapp 3. 2,6-bis(trifluorometüülfenüül)bensüülbromiid.

- 2,6-bis(trifluorometüülfenüül)bensüülalkoholi (6,6 g, 28 mmooli) ja 1,3-bis(difenüülfosfino)propaani (6,9 g, 17 mmooli) lahusele CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (50 ml) lisati aeglaselt temperatuuril 0 °C süsiniktetrabromiid (11 g, 33 mmooli). Segu segati toatemperatuuril üleöö, seejärel lisati pipetiga 200 ml Et<sub>2</sub>O. Segu filtriti läbi tseliidikihi ja kontsentreeriti. Kollane õli suspendeeriti 2% EtOAc/heksaani segus ja filtriti läbi SiO<sub>2</sub>-kihi, saadi bromiid (7,2 g, 84%) värvitu õlina.



$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4,78 (s, 2H), 7,59 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H), 7,92 (d,  $J = 7,9$  Hz, 2H).

Etapp 4. 2,6-bis(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe naatriumisool.

Bis(trifluorometüülfenüül)bensüülbromiidi (7,2 g, 23 mmooli), naatriumsulfiti (3,1 g, 25 mmooli), tetrabutüülammooniumjodiidi (0,043 g, 0,1 mmooli) ja  $\text{H}_2\text{O}$  (20 ml) segu kuumutati tagasijooksutemperatuuril 2 päeva. Segu jahutati toatemperatuurini ja veekiht dekanteeriti õliselt jäägilt ning kontsentreeriti rotaatoraurustiga kuivaks, saadi 2,6-bis(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe naatriumsoolvesinikbromiid (3,2 g, 32%) valge tahke ainena, mida kasutati puhastamiseta.

Etapp 5. 2,6-bis(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe.

2,6-bis(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe naatriumisool (0,19 g, 0,44 mmooli) suspendeeriti MeOH-s (5 ml) ja jahutati temperatuuril  $-20$  °C, juhtides samal ajal läbi segu HCl 5 minutit. Saadud valget suspensiooni segati toatemperatuuril 1,5 tundi, filtriti läbi tseliidikihi ja kontsentreeriti, saadi 2,6-bis(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe (0,14 g, 100%) oranži tahke ainena, mida kasutati edasise puhastamiseta.

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 4,25 (s, 2H), 7,64 (t,  $J = 8,5$  Hz, 1H), 7,96 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H).

Etapp 6. 2,6-bis(trifluorometüülfenüül)metaansulfonüülkloriid.

2,6-bis(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe (0,14 g, 0,44 mmooli) suspensioonile THF-s (10 ml) ja DMF-s (0,05 ml) lisati aeglaselt tilkhaaval temperatuuril  $-20$  °C oksalüülkloriid (0,24 ml, 2,7 mmooli). Vanni temperatuuri hoiti alla  $0$  °C 4 tundi, seejärel reaktsioonisegu filtriti läbi tseliidikihi ja pesti THF-ga (10 ml) ning kontsentreeriti kogumahuni umbes 5 ml. Segu jahutati temperatuurini

-40 °C ja lisati aeglaselt H<sub>2</sub>O (0,3 ml). Segu ekstraheeriti EtOAc-ga (2 x 10 ml), pesti küllastunud NaHCO<sub>3</sub> (20 ml), H<sub>2</sub>O (20 ml) ja soolalahusega (20 ml), kuivatati (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ja kontsentreeriti, saadi 99 mg toorprodukti, mis puhastati madala-temperatuurse kristallimisega heksaanides, saadi 2,6-bis(trifluorometüül-  
5 fenüül)metaansulfonüülkloriidi (33 mg, 23%) valge pulbrina. Emalahuste kontsentreerimisel saadi lisaks produkti (57 mg, 40%).

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5,56 (s, 2H), 7,70 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,97 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H).

Etapp 7. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-  
10 benschüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 5, etapp 6, 148 mg, 0,27 mmooli) reaktsiooni 2,6-bis(trifluorometüülphenüül)metaansulfonüülkloriidiga (90 mg, 0,27 mmooli), saadi 137 mg sulfoonamiidi kahvatukollase vahuna 60% saagisega.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,83-2,03 (m, 2H), 2,68-2,78 (m, 4H), 2,79-2,91 (m,  
15 2H), 2,92-3,03 (m, 2H), 3,89 (s, 3H), 4,21 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,66 (s, 2H), 6,51 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,81 (dd, *J* = 8,7, 2,1 Hz, 1H), 6,87 (s, 1H), 7,00-7,11 (m, 4H), 7,21-7,28 (m, 4H), 7,28-7,35 (m, 4H), 7,41 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 7,59 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,89 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,95 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H).

Etapp 8. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti sulfoon-  
20 amiidester (119 mg, 0,14 mmooli), saadi 97 mg (83%) nimiühendit kollase tahke ainaena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 1,75-1,95 (m, 2H), 2,73 (q, *J* = 7,5 Hz, 4H), 2,97 (s, 4H), 4,67 (s, 2H), 6,45 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,79 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 7,04 (s, 1H), 7,06-7,16 (m, 4H), 7,27-7,43 (m, 8H), 7,47 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,75 (t, *J* =  
25 5,2 Hz, 1H), 7,77-7,91 (m, 3H), 8,10 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 12,78 (s, 1H).

HRMS:  $C_{42}H_{35}ClF_6N_2O_4S + H^+$  jaoks arvutatud: 813,19830, määratud: (ESI-FTMS,  $[M + H]^{1+}$ ), 813,1965, HPLC puhtus  $H_2O/CH_3CN$  puhul: 95,5%,  $H_2O/MeOH$  puhul: 96,8%.

### Näide 13 [etalonnäide]

5 **4-(3-(5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-((2-(metoksükarbonüül)bensüül)sulfonüül)amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül)propüül)bensoehape**

Etapp 1. Metüül-2-metüülbensoaadi (5,0 g, 0,033 mmooli) ja *N*-bromosuktsiinimiidi (5,9 g, 0,033 mmooli) segule  $CCl_4$ -s (50 ml) lisati bensoüülperoksiid  
10 (0,04 g, 0,00016 mmooli). Segu kuumutati tagasijooksutemperatuuril 1,5 tundi, jahutati toatemperatuurini, filtriti läbi tseliidikihi ja kontsentreeriti, saadi metüül-2-(bromometüül)bensoaat (7,2 g, umbes 94% saadud massi järgi), mis sisaldas umbes 14% reageerimata lähteainet, ja kasutati puhastamiseta.

Etapp 2. Etapis 1 saadud toor-bromiidi (7,2 g, 0,031 mmooli) ja tiourea (2,6 g, 35  
15 mmooli) segu  $MeOH$ -s (40 ml) kuumutati tagasijooksutemperatuuril 4 tundi, jahutati toatemperatuurini ja kontsentreeriti, saadi metüül-2-((amino(imino)metüül)tio)metüül)bensoaatvesinikbromiid (10 g, umbes 100%), mida kasutati puhastamiseta.

Etapp 3. Etapis 2 saadud isotiourooniumisool (10 g, 0,031 mmooli) suspendeeriti  
20  $H_2O$ -s (100 ml) ja jahutati temperatuurini 0 °C. Segus se juhiti gaasilist kloori 30 minutit. Jäävann eemaldati ja reaktsioonisegu valati jaotuslehtrisse ning lahjendati  $EtOAc$ -ga (250 ml). Orgaaniline kiht eraldati ja pesti küllastunud  $NaHCO_3$  (100 ml),  $H_2O$  (100 ml) ja soolalahusega (100 ml), kuivatati ( $MgSO_4$ ) ja kontsentreeriti, saadi oranž tahke aine (6,48 g). Toorprodukt rekristalliti 20%  
25  $EtOAc$ /heksaanide segus temperatuuril -78 °C, saadi 3,63 g (47%) metüül-2-[(klorosulfonüül)metüül]bensoaati kahvatukollaste kristallidena.

Etapp 4. 4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-  
 üül]propüül}bensoehappe (0,40 g, 0,76 mmooli) suspensioonile CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (5 ml)  
 lisati bis(trimetüülsilüül)trifluoroatseetamiid (0,30 ml, 0,29 g, 1,1 mmooli). Segu  
 kuumutati tagasijooksutemperatuuril 30 minutit, seejärel jahutati temperatuurini  
 5 35 °C. Lisati püridiin (0,16 ml, 0,15 g, 2,0 mmooli), seejärel etapis 3 saadud  
 metüül-2-[(klorosulfonüül)metüül]bensoaadi (0,29 g, 1,1 mmooli) lahus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s  
 (2 ml). 5 tunni pärast segu jahutati toatemperatuurini. Lisati kontsentreeritud HCl  
 (0,17 ml) lahus H<sub>2</sub>O-s (5 ml) ja segu segati 45 minutit. Veekiht eraldati ja  
 ekstraheeriti CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga (50 ml). Ühendatud orgaanilist ekstrakti pesti H<sub>2</sub>O (25 ml)  
 10 ja soolalahusega (25 ml), kuivatati (MgSO<sub>4</sub>) ja kontsentreeriti, saadi kuldne vaht  
 (0,40 g). Puhastati preparatiivse HPLC abil, saadi nimiühend (70 mg, 12%)  
 kahvatukollase vahuna.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1,87-2,10 (m, 2H), 2,85 (t, *J* = 6,6 Hz, 4H), 3,03  
 (s, 2H), 3,48 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 4,94 (s, 2H), 6,57 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,92 (dd,  
 15 *J* = 8,8, 2,3 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,17-7,29 (m, 4H), 7,43-7,57 (m, 10 H), 7,57-  
 7,69 (m, 3H), 7,90-7,97 (m, 1H), 8,00 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 12,93 (s, 1H).

HRMS: [C<sub>42</sub>H<sub>39</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>1</sub> - H]<sup>1-</sup> jaoks arvutatud: 733,2144, määratud: (ESI-FTMS,  
 [M - H]<sup>1-</sup>), 733,2141, HPLC puhtus H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN puhul: 95,3%, H<sub>2</sub>O/MeOH puhul:  
 100%.

20

#### Näide 14 [etalonnäide]

#### 4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({[2-fluoro-6- (trifluorometüül)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3- üül}propüül}bensoehape

Etapp 1. Kasutades näites 5 etapis 1 kirjeldatud meetodit saadi 2-fluoro-6-(tri-  
 25 fluorometüülfenüül)bensüülbromiidist (15 g, 61 mmooli) 2-fluoro-6-(trifluorometüül-  
 fenüül)metaansulfoonhappe naatriumisool (15 g, 89%) valge tahke aine.

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 4,02 (s, 2H), 7,26-7,66 (m, 3H).

Etapp 2. Kasutades näites 5 etapis 2 kirjeldatud meetodit saadi 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhappe naatriumisoolast (15 g, 53 mmooli) 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhape (15 g) kahvatuoranži õlina, mida kasutati edasise puhastamiseta.

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 4,12 (s, 2H), 7,39-7,73 (m, 3H).

Etapp 3. Kasutades näites 5 etapis 3 kirjeldatud meetodit saadi 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfoonhapest (15 g, 53 mmooli) 11 g toorprodukti, mida puhastati madalatemperatuurse kristallimisega heksaanides, saadi 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfonüülkloriid (9,0 g, 62%).

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5,31 (s, 2H), 7,38-7,51 (m, 1H), 7,58-7,68 (m, 2H).

Etapp 4. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 7, etapp 6, 0,12 g, 0,22 mmooli) reaktsiooni 2-fluoro-6-(trifluorometüülfenüül)metaansulfonüülkloriidiga (0,074 g, 0,27 mmooli), saadi 0,127 g sulfoonamiidi kahvatukollase vahuna 73% saagisega.

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1,79-2,02 (m, 2H), 2,74 (t,  $J = 8,0$  Hz, 4H), 2,82-2,92 (m, 2H), 2,92-3,02 (m, 2H), 3,89 (s, 3H), 4,15 (t,  $J = 5,8$  Hz, 1H), 4,42 (d, 2H), 6,50 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 6,80 (dd,  $J = 8,8, 2,0$  Hz, 1H), 6,87 (s, 1H), 7,07 (dd,  $J = 6,4, 2,7$  Hz, 4H), 7,19-7,28 (m, 5H), 7,29-7,35 (m, 5H), 7,39-7,56 (m, 2H), 7,95 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H).

Etapp 4. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti sulfoonamiidester (115 mg, 0,15 mmooli), saadi 101 mg (89%) nimiühendit kahvatukollase pulbrina.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1,80-1,95 (m, 2H), 2,63-2,78 (m, 4H), 2,88-3,14 (m, 4H), 4,45 (s, 2H), 6,43 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,76 (dd, *J* = 8,8, 2,3 Hz, 1H), 6,96-7,15 (m, 5H), 7,20-7,41 (m, 8H), 7,45 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,50-7,59 (m, 1H), 7,59-7,66 (m, 2H), 7,71 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 7,83 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 12,73 (s, 1H).

- 5 HRMS: C<sub>41</sub>H<sub>35</sub>ClF<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 763,20149, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 763,1998, HPLC puhtus H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN puhul: 95,4%, H<sub>2</sub>O/MeOH puhul: 96,4%.

### Näide 15 [etalonnäide]

10 **4-[3-(5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-{2-[(2-[2-(trifluorometüül)fenüül]etüül)sulfonüül]amino]etüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül]bensoehape**

Etapp 1. 2-(trifluorometüül)fenetüülalkoholile (5,0 g, 26 mmooli) lisati CBr<sub>4</sub>, nagu näites 12 etapis 3 kirjeldatud, saadi bromiid (6,6 g, 100%), mida kasutati puhastamiseta.

- 15 Etapp 2. Etapis 1 saadud bromiidile (1,5 g, 5,9 mmooli) lisati tiouurea, nagu näites 13 etapis 2 kirjeldatud, saadi isotiourooniumsool (2,2 g) niiske valge tahke aina, mida kasutati puhastamiseta.

- 20 Etapp 3. Etapis 2 saadud isotiourooniumsool (2,2 g, ~5,9 mmooli) suspendeeriti H<sub>2</sub>O-s ja lisati gaasilist Cl<sub>2</sub>, nagu näites 13 etapis 3 kirjeldatud, ja saadi oranž õli (1,15 g). Toorproduktile lisati heksaanid (75 ml) ja segu kuumutati temperatuuril 60 °C 4 tundi. Heksaanides lahustunud fraktsioon de kanteeriti ja jahutati temperatuurini -78 °C, saadi valge tahke aine (0,13 g, umbes 7% saagisega, 2 etappi), mida kasutati puhastamiseta.

- 25 Etapp 4. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül]bensoaat (näide 7, etapp 6, 98 mg,

0,18 mmooli) reaktsiooni etapis 3 saadud (2-trifluorometüülfenüül)etaansulfonüülkloriidiga (75 mg, 0,28 mmooli), saadi 70 mg sulfoonamiidi valge vahuna 50% saagisega.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,88-2,03 (m, 2H), 2,70-2,83 (m, 4H), 2,88-3,07 (m, 6H), 3,07-3,23 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 4,07 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,72-6,86 (m, 1H), 6,90 (s, 1H), 7,07 (d, *J* = 6,8 Hz, 4H), 7,17-7,32 (m, 9H), 7,35 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,41 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,48 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H), 7,63 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H).

Etapp 5. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsi sulfoonamiidester (70 mg, 0,09 mmooli), saadi 54 mg (78%) nimiühendit valge pulbrina.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1,82-2,22 (m, 2H), 2,68-2,90 (m, 4H), 2,99-3,24 (m, 8H), 6,50 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,83 (dd, *J* = 8,8, 2,3 Hz, 1H), 7,15 (nähtav d, *J* = 6,8 Hz, 5H), 7,32-7,44 (m, 8H), 7,45-7,55 (m, 3H), 7,59 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 7,65 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,75 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,83-7,98 (m, *J* = 8,3 Hz, 2H), 12,83 (s, 1H).

HRMS: C<sub>42</sub>H<sub>38</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 759,22657, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 759,2277, HPLC puhtus H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN puhul: 96,0%, H<sub>2</sub>O/MeOH puhul: 98,0%.

20

### Näide 16 [etalonnäide]

#### 4-{3-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2-[(2-formüülbensüül)sulfonüül]amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape

Etapp 1. α-bromo-*o*-tolunitriilile (10 g, 51 mmooli) CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s lisati temperatuuril 0 °C DIBAL-H (1 M heksaanis, 55 ml, 55 mmooli) ja reaktsioonisegu segati samal

- temperatuuril 3,5 tundi, seejärel valati külma 5% HBr lahusesse temperatuuril 0 °C. Segu segati 15 minutit, seejärel kihid eraldati ja veekihti ekstraheeriti CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga ning ühendatud orgaanilist kihti pesti NaHCO<sub>3</sub> ja veega, kuivatati MgSO<sub>4</sub>-ga ja aurustati, saadi tume vedelik (9,4 g). Ainet kasutati vahetult
- 5 järgmises etapis edasise puhastamiseta

Etapp 2. (2-formüülfenüül)metaansulfoonhappe naatriumisool.

Kasutades näites 5 etapis 1 kirjeldatud meetodit saadi 2-bromometüülbensaldehüüdist (1,58 g, 7,94 mooli) (2-formüülfenüül)metaansulfoonhappe naatriumisool (1,40 g, 80%) määratudvalge tahke aine.

- 10 Etapp 3. (2-formüülfenüül)metaansulfoonhappe.

Kasutades näites 5 etapis 3 kirjeldatud meetodit saadi (2-formüülfenüül)metaansulfoonhappe naatriumisoolast (1,40 g, 6,30 mmooli) (2-formüülfenüül)metaansulfoonhappe (418 mg, 33%) kahvatukollase tahke aine.

Etapp 4. (2-formüülfenüül)metaansulfonüülkloriid.

- 15 Kasutades näites 5 etapis 4 kirjeldatud meetodit saadi (2-formüülfenüül)metaansulfoonhapest (418 mg, 2,09 mmooli) (2-formüülfenüül)metaansulfonüülkloriid (367 mg, 80%).

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 10,15 (s, 1H), 7,92 (dd, 1H), 7,74-7,61 (m, 3H), 5,67 (s, 2H).

- 20 Etapp 5. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 7, etapp 6, 63 mg, 0,12 mmooli) reaktsiooni (2-formüülfenüül)metaansulfonüülkloriidiga (36 mg, 0,16 mmooli), saadi 34 mg (40%) sulfoonamiidi kollase tahke aine.



Etapp 6. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsi sulfoonamiidester (28 mg, 0,039 mmooli), saadi 17 mg (62%) nimiühendit valge tahke aienena.

### Näide 17 [etalonnäide]

5 **4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(morfoliin-4-  
 10 üülmetüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-  
 15 üül}propüül)bensoehape**

Etapp 1. Metüül-4-{3-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2-{{2-formüül-  
 10 bensüül)sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül}bensoaadile (näide 16,  
 etapp 5, 58 mg, 0,081 mmooli) DCE-s (2 ml) lisati temperatuuril 0 °C morfoliin  
 (0,0092 ml, 0,105 mmooli) ja NaBH(OAc)<sub>3</sub> (27 mg, 0,13 mmooli) ning  
 reaktsioonisegu jäeti soojenema toatemperatuurini üleöö. Reaktsioon peatati  
 küllastunud NaHCO<sub>3</sub> lahusega, ekstraheeriti EtOAc-ga ja kuivatati MgSO<sub>4</sub>-ga.  
 15 Puhastati kromatograafiliselt silikageelil (35% kuni 50% EtOAc/heksaanide segu),  
 saadi soovitud produkt valge tahke aienena (41 mg, 64%).

Etapp 2. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsi sulfoonamiidester (18 mg, 0,039 mmooli), saadi 15 mg (83%) nimiühendit valge tahke aienena.

### Näide 18 [etalonnäide]

20 **4-{3-[5-kloro-2-{2-[[2-  
 25 [(dietüülamino)metüül]bensüül}sulfonüül]amino]etüül]-1-(difenüülmetüül)-  
 1*H*-indool-3-üül}propüül}bensoehape**

Etapp 1. Nagu näites 17 etapis 1 esitatud viidi metüül-4-{3-[5-kloro-1-  
 (difenüülmetüül)-2-(2-{{2-formüülbensüül)sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-  
 25 üül}propüül}bensoaat (näide 16, etapp 5, 58 mg, 0,081 mmooli) reaktsiooni

HNEt<sub>2</sub>-ga (0,022 ml, 0,21 mmooli) ja NaBH(OAc)<sub>3</sub>-ga (56 mg, 0,26 mmooli) DCE-s (2 ml), saadi metüül-4-{3-[5-kloro-2-{2-[(2-[(dietüülamino)metüül]bensüül]sulfonüül)amino]etüül}-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (26 mg, 41%) ja kõrvalprodukt metüül-4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(hüdrosümetüül)bensüül]sulfonüül)amino]etüül}-1*H*-indool-3-üül]propüül)bensoaat (8,6 mg, 15%), mõlemad valgete tahkete ainetena.

Etapp 2. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti metüül-4-{3-[5-kloro-2-{2-[(2-[(dietüülamino)metüül]bensüül]sulfonüül)amino]etüül}-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (20 mg, 0,026 mmooli), saadi 13 mg (66%) nimiühendit valge tahke ainenena.

### Näide 19 [etalonnäide]

#### 4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(hüdrosümetüül)bensüül]sulfonüül)amino]etüül}-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehape

Etapp 1. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti näites 18 etapis 1 saadud kõrvalprodukt metüül-4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(hüdrosümetüül)bensüül]sulfonüül)amino]etüül}-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoaat (8,4 mg, 0,0012 mmooli), saadi 5,0 mg (61%) nimiühendit valge tahke ainenena.

**Näide 20 [etalonnäide]**

**4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(piperasiin-1-  
 üülmetüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-  
 üül}propüül)bensoehape ja Näide 21 4-{3-[2-{2-({2-[(4-atsetüül)piperasiin-1-  
 5 üül)metüül]bensüül}sulfonüül}amino]etüül}-5-kloro-1-(difenüülmetüül)-1*H*-  
 indool-3-üül}propüül)bensoehape**

Etapp 1. Nagu näites 17 etapis 1 esitatud viidi metüül-4-{3-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2-({2-formüülbensüül}sulfonüül}amino)etüül)-1*H*-indool-3-  
 10 üül}propüül)bensoaat (näide 16, etapp 5, 45 mg, 0,063 mmooli) reaktsiooni 1-atsetüülpiperasiini (28 mg, 0,22 mmooli) ja NaBH(OAc)<sub>3</sub>-ga (26 mg, 0,12 mmooli) DCE-s (3 ml), saadi sulfoonamiid (39 mg, 75%) valge vahuna.

Etapp 2. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsi sulfoonamiid (37 mg, 0,045 mmooli), saadi pärast preparatiivset HPLC eraldamist  
 15 üülmetüül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoaat (7,4 mg, 21%) ja metüül-4-{3-[2-{2-({2-[(4-atsetüül)piperasiin-1-  
 üül)metüül]bensüül}sulfonüül}amino]etüül}-5-kloro-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-  
 üül}propüül)bensoaat (7,7 mg, 21%) mõlemad tahkete ainetena.

**Näide 22 [etalonnäide]**

**20 4-[3-(5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-[(4-metüül)piperasiin-1-  
 üül)metüül]bensüül}sulfonüül}amino]etüül)-1*H*-indool-3-  
 üül}propüül)bensoehape**

Etapp 1. Nagu näites 17 etapis 1 esitatud viidi metüül-4-{3-[5-kloro-1-(difenüül-  
 25 üül)metüül]-2-(2-({2-formüülbensüül}sulfonüül}amino)etüül)-1*H*-indool-3-  
 üül}propüül)bensoaat (näide 16, etapp 5, 44 mg, 0,061 mmooli) reaktsiooni

1-metüülpiperasiini (0,026 ml, 0,23 mmooli) ja NaBH(OAc)<sub>3</sub>-ga (34 mg, 0,16 mmooli) DCE-s (3 ml), saadi sulfoonamiid (41 mg, 84%) valge tahke aine.

Etapp 2. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsi sulfoonamiid (39 mg, 0,026 mmooli), saadi 27 mg (69%) nimiühendit valge tahke  
5 aine.

### Näide 23 [etalonnäide]

#### 4-[3-(5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-{2-[(1-[2-(trifluorometüül)fenüül]etüül)sulfonüül]amino]etüül}-1*H*-indool-3- 10 üül)propüül]bensoehape

Etapp 1. α-metüül-2-triflourometüülbensüülbromiidile (10,0 g, 39,5 mmooli) DMF-s (50 ml) lisati kaaliumtioatsetaat (8,1 g, 71,1 mmooli) vastavalt näites 3 etapis 2 esitatud meetodile. Saadi tioatsetaat oranži õlina (10,49 g, 91%).

Etapp 2. Etapis 1 saadud tioatsetaat (10,49 g, 36,1 mmooli) ja naatriumatsetaat (21,5 g, 155,4 mmooli) lahustati äädikhappe (137 ml) ja vee (31 ml) segus ning  
15 segusse juhiti gaasilist kloori vastavalt näites 3 etapis 3 kirjeldatud meetodile. Kontsentreerimise ja madalatemperatuurse rekristallimisega heksaanides saadi määratudvalge tahke aine, mis hiljem sulas kahvatuoranžiks õliks (4,9 g, 47%).

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,01 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 5,32 (q, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,56 (t, *J* = 6,7 Hz, 1H), 7,67 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,77 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,91 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H).  
20

Etapp 3. Kasutades näites 1 etapis 9 kirjeldatud meetodit viidi 4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehappe metüülester (näide 7, etapp 6, 0,123 g, 0,23 mmooli) reaktsiooni 1-(2-trifluorometüül-fenüül)etaansulfonüülkloriidiga (0,79 g, 0,29 mmooli), saadi 0,042 g sulfoonamiidide ratseemilist segu 24% saagisega.  
25

Etapp 4. Sulfoonamiidester (0,042 g, 0,054 mmooli) hüdrolüüsiti vastavalt näites 1, etapis 10 kirjeldatud meetodile, saadi 0,035 g (85%) nimiühendit kahvatuoranži tahke ainenä.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,68 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 1,93 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H),  
5 2,02-2,08 (m, 1H), 2,63-2,77 (m, 6H), 2,86 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 6,47 (d, *J* = 8,8 Hz,  
1H), 7,01-7,07 (m, 4H), 7,24-7,40 (m, 12H), 7,44 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,60 (d, *J* =  
7,6 Hz, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,00 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H).

#### Näide 24 [etalonnäide]

10 **4-{3-[2-(2-[(2-bromobensüül)sulfonüül]amino)etüül]-5-kloro-1-  
(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape**

Etapp 1. Kasutades näites 1 etapis 9 kirjeldatud meetodit viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 7, etapp 6, 1,51 g, 2,81 mmooli) reaktsiooni 2-bromofenüülmetaansulfonüülkloriidiga, saadi 1,06 g sulfoonamiidi valge tahke ainenä 49% saagisega.

15 Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti sulfoonamiidester (90 mg, 0,117 mmooli), saadi 81 mg (91%) nimiühendit valge tahke ainenä.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,89-2,02 (m, 2H), 2,68-2,78 (m, 4H), 2,78-2,87 (m,  
2H), 2,89-2,97 (m, 2H), 4,21 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 4,37 (s, 2H), 6,48 (d, *J* = 8,8 Hz,  
1H), 6,79 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 6,84 (s, 1H), 7,00-7,08 (m, 4H), 7,09-7,17 (m,  
20 1H), 7,17-7,24 (m, 1H), 7,25-7,34 (m, 8H), 7,36-7,45 (m, 2H), 7,49 (dd, *J* = 8,1,  
1,3 Hz, 1H), 8,01 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H).

HRMS: C<sub>40</sub>H<sub>36</sub>BrClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud 755,13404, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 755,1341.

**Näide 25 [etalonnäide]****4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({[2-(trifluorometoksü)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehape**

- 5 Etapp 1. Kasutades näites 1 etapis 9 kirjeldatud meetodit viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 7, etapp 6, 164 mg, 0,305 mmooli) reaktsiooni 2-trifluorometoksüfenüülmetaan-sulfonüülkloriidiga, saadi 109 mg sulfoonamiidi valge tahke aineina 46% saagisega.
- 10 Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti sulfoonamiidester (83 mg, 0,107 mmooli), saadi 80 mg (98%) nimiühendit valge tahke aineina.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,86-2,03 (m, 2H), 2,74 (q, *J* = 7,6 Hz, 4H), 2,76-2,86 (m, 2H), 2,90-3,00 (m, 2H), 4,12 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 4,19 (s, 1H), 6,49 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,80 (dd, *J* = 8,8, 2,3 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 7,00-7,11 (m, 4H), 7,16-15 7,23 (m, 2H), 7,24-7,28 (m, 2H), 7,28-7,37 (m, 8H), 7,39-7,44 (m, 2H), 8,00 (d, 2H).

HRMS: C<sub>41</sub>H<sub>36</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 761,20583, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 761,2057.

**Näide 26 [etalonnäide]****4-{3-[5-kloro-2-(2-[(3-kloro-6-fluoro-2-metüülbensüül)sulfonüül]amino)etüül]-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape**

- 5 Etapp 1. 2,6-difluoro-*N*-(2-hüdroksü-1,1-dimetüületüül)bensamiid.

Temperatuurini 0 °C jahutatud 2-amino-2-metüülpropa nooli (10,1 g, 113,3 mmooli) lahusele CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (75 ml) lämmastikuaatmosfääris lisati tilkhaaval 2,6-difluorobensoöükloriidi (10,0 g, 56,6 mmooli) lahus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (50 ml). Seejärel soojendati reaktsioonisegu toatemperatuurini ja segati üleöö. Reaktsioonisegu  
10 lahjendati H<sub>2</sub>O-ga ja veekihti ekstraheeriti CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga, kuivatati (MgSO<sub>4</sub>) ja kontsentreeriti. Puhastati tritureerimisega heksaanides, saadi 12,05 g (93%) amiidi valge tahke ainena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,41 (s, 6H), 3,66-3,75 (m, 2H), 3,77-3,87 (m, 1H), 5,94 (s, 1H), 6,90-6,99 (m, 2H), 7,31-7,41 (m, 1H).

- 15 Etapp 2. 2-(2,6-difluorofenüül)-4,4-dimetüül-4,5-dihüdrooksasool.

Temperatuurini 0 °C jahutatud etapis 1 saadud amiidi (11,9 g, 51,9 mmooli) lahusele CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (50 ml) lisati tionüülkloriid (6,4 ml, 88,3 mmooli). Reaktsioonisegu jäeti soojenema toatemperatuurini. 4 tunni pärast reaktsioonisegu kontsentreeriti ja tritureeriti Et<sub>2</sub>O-s. Jäägile lisati H<sub>2</sub>O, leelistati 6 N NaOH-ga ja  
20 ekstraheeriti EtOAc-ga. Ühendatud orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati (MgSO<sub>4</sub>) ja kontsentreeriti, saadi 9,42g (86%) dihydrooksasooli valge tahke ainena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,42 (s, 6H), 4,13 (s, 2H), 6,90-7,02 (m, 2H), 7,32-7,44 (m, 1H).

Etapp 3. 2-(2-fluoro-6-metüülfenüül)-4,4-dimetüül-4,5-dihüdrooksasool.

Temperatuurini 0 °C jahutatud etapis 2 saadud dihidrooksasooli (9,18 g, 43,5 mmooli) lahusele THF-s (140 ml) lisati tilkhaaval argooniatmosfääris metüülmagneesiumkloriid (3,0 M lahus THF-s, 43,5 ml, 130 mmooli). 2 tunni pärast  
5 jäävann eemaldati ja segu segati toatemperatuuril üleöö. Reaktsioon peatati küllastunud NH<sub>4</sub>Cl vesilahusega ja ekstraheeriti EtOAc-ga. Ühendatud orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati (MgSO<sub>4</sub>) ja kontsentreeriti, saadi 8,64 g (96%) dihidrooksasooli selge värvitu õlina.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,42 (s, 6H), 2,40 (s, 3H), 4,11 (s, 2H), 6,92 (t, *J* =  
10 9,0 Hz, 1H), 6,99 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,21-7,30 (m, 1H).

Etapp 4. 2-fluoro-6-metüül-bensoehape.

Etapis 3 saadud dihidrooksasooli (8,43 g, 40,7 mmooli) lahusele CH<sub>3</sub>CN-s (70 ml) lisati metüüljodiid (9,2 ml, 146 mmooli) ja segu kuumutati tagasijooksu-  
temperatuuril 6 tundi. Seejärel reaktsioonisegu jahutati toatemperatuurini ja segati  
15 üleöö. Reaktsioonisegu kontsentreeriti ja jääki tritureeriti Et<sub>2</sub>O-s. Jäägile lisati võrdsetes kogustes 20% NaOH ja metanooli ning kuumutati tagasijooksul 6 tundi. Reaktsioonisegu jahutati toatemperatuurini ja kontsentreeriti orgaaniliste lahustite eraldamiseks. Veekihti pesti mitu korda EtOAc-ga ja hapestati pH väärtuseni 1. Veekihti ekstraheeriti EtOAc-ga. Ühendatud orgaanilist kihti pesti soolalahusega,  
20 kuivatati (MgSO<sub>4</sub>) ja kontsentreeriti, saadi 3,67 g (58%) bensoehapet valge tahke aina.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,52 (s, 3H), 6,99 (t, *J* = 9,09 Hz, 1H), 7,05 (d, *J* = 7,83 Hz, 1H), 7,31-7,41 (m, 1H).

Etapp 5. Etapis 4 saadud happe (3,60 g, 23,4 mmooli) lahusele tionüülkloriidis  
25 (40 ml) lisati DMF (0,42 ml) ja segu kuumutati tagasijooksutemperatuuril 5,5 tundi. Segu jahutati toatemperatuurini ja kontsentreeriti. Jäägile lisati THF (40 ml) ja



seejärel lisati 20 minuti jooksul temperatuurini 0 °C jahutatud NaBH<sub>4</sub> (3,53 g, 93,4 mmooli) suspensioonile THF-s (40 ml). Segu segati toatemperatuuril 2 tundi ja seejärel reaktsioon peatati H<sub>2</sub>O ja 4 M HCl lisamisega ning ekstraheeriti EtOAc-ga. Ühendatud orgaanilist kihti pesti küllastunud NaHCO<sub>3</sub> ja soolalahusega, kuivatati (MgSO<sub>4</sub>) ja kontsentreeriti, saadi 2,67 g (~75%) bensüülalkoholi kahvatukollase tahke aienena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,42 (s, 3H), 4,72 (s, 2H), 6,88 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,96 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,07-7,20 (m, 1H).

Etapp 6. Etapis 5 saadud bensüülalkoholi (2,65 g, 18,9 mmooli) lahusele CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (15 ml) lisati 1,3-bis(difenüülfosfino)propaan (4,7 g, 11 mmooli). Segu jahutati temperatuurini 0 °C ja lisati aeglaselt CBr<sub>4</sub> (7,4 g, 22 mmooli). Segu segati toatemperatuuril üleöö. Segu lahjendati CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga (50 ml) ja valati Et<sub>2</sub>O-sse (75 ml). Segu filtriti ja lahusekiht kontsentreeriti. Saadud produkt lahustati uuesti CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (75 ml) ja valati Et<sub>2</sub>O-sse (100 ml). Filtriti ja kontsentreeriti, saadi 3,27 g (85%) bromiidi oranži õlina.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,42 (s, 3H), 4,56 (d, *J* = 1,5 Hz, 2H), 6,91 (t, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,97 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,08-7,24 (m, 1H).

Etapp 7. Kasutades näites 3 etapis 2 kirjeldatud meetodit viidi etapis 6 saadud bensüülbromiid (3,27 g, 16,1 mmooli) reaktsiooni kaaliumtioatsetaadiga, saadi 3,17 g (98%) bensüültioatsetaati pruuni õlina.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,35 (s, 6H), 4,22 (d, *J* = 1,5 Hz, 2H), 6,88 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,95 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,06-7,21 (m, 1H).

Etapp 8. Kasutades näites 3 etapis 3 kirjeldatud meetodit oksüdeeriti bensüültioatsetaat (3,17 g, 16,0 mmooli), saadi 3,30 g (80%) (3-kloro-6-fluoro-2-metüülfenüül)metaansulfonüülkloriidi punakaspruuni tahke aienena.

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,52 (s, 3H), 5,10 (d,  $J = 1,3$  Hz, 2H), 7,02 (t,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 7,48 (dd,  $J = 9,1, 5,3$  Hz, 1H).

Etapp 9. Kasutades näites 1 etapis 9 kirjeldatud meetodit viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 7, 5 etapp 6, 163 mg, 0,303 mmooli) reaktsiooni etapis 8 saadud (3-kloro-6-fluoro-2-metüülfenüül)metaansulfonüülkloriidiga, saadi 102 mg sulfoonamiidi valge tahke ainenena 44% saagisega.

Etapp 10: Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti sulfoonamiidester (74 mg, 0,097 mmooli), saadi 65 mg (90%) nimiühendit, valge tahke ainenena.

10  $^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1,89-2,05 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,75 (q,  $J = 7,6$  Hz, 4H), 2,83,- 2,93 (m, 2H), 2,92-3,02 (m, 2H), 4,21-4,31 (m, 3H), 6,49 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 6,72-6,83 (m, 2H), 6,87 (s, 1H), 7,01-7,13 (m, 4H), 7,24-7,35 (m, 9H), 7,41 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H), 8,00 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H).

15 HRMS:  $\text{C}_{41}\text{H}_{37}\text{Cl}_2\text{FN}_2\text{O}_4\text{S} + \text{H}^+$  jaoks arvutatud: 743,19079, määratud: (ESI-FTMS,  $[\text{M} + \text{H}]^{1+}$ ), 743,1907.

### Näide 27 [etalonnäide]

#### 4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-nitro-6-(trifluorometüül)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehape

20 Etapp 1. 2-bromometüül-1-nitro-3-trifluorometüülbenseen.

2-metüül-1-nitro-3-trifluorometüülbenseeni (5,0 g, 24,4 mmooli) lahusele  $\text{CCl}_4$ -s (300 ml) lisati *N*-bromosuktsiinimiid (4,35 g, 24,4 mmooli) ja bensoüülperoksiid (0,11 g, 0,45 mmooli). Segu kuumutati tagasijooksutemperatuuril ja kiiritati valgusega (300 W) 20 tundi. Segu jahutati toatemperatuurini, filtriti ja

kontsentreeriti. Puhastati kolonnkromatograafiliselt (EtOAc/heksaanid), saadi 3,03 g (44%) bensüülbromiidi kollase õlina.

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4,93 (s, 2H), 7,63 (t,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 7,94 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 8,06 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H).

- 5 Etapp 2. Kasutades näites 3 etapis 2 kirjeldatud meetodit viidi etapis 1 saadud bensüülbromiid (3,02 g, 10,6 mmooli) reaktsiooni kaaliumtioatsetaadiga, saadi 2,71 g (91%) bensüültioatsetaati pruuni õlina.

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2,34 (s, 3H), 4,55 (s, 2H), 7,58 (t,  $J = 7,7$  Hz, 1H), 7,93 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,98 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H).

- 10 Etapp 3. (2-nitro-6-trifluorometüülfenüül)metaansulfonüülkloriid.

Kasutades näites 3 etapis 3 kirjeldatud meetodit oksüdeeriti bensüültioatsetaat (2,71 g, 9,70 mmooli), saadi 2,42 g (82%) nimiühendit pruuni õlina.

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5,82 (s, 2H), lai, 7,84 (t,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 8,11 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 8,27 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H).

- 15 Etapp 4. Kasutades näites 1 etapis 9 kirjeldatud meetodit viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 7, etapp 6, 164 mg, 0,305 mmooli) reaktsiooni etapis 3 saadud (2-nitro-6-trifluorometüülfenüül)metaansulfonüülkloriidiga, saadi 119 mg sulfoonamiidi kollase tahke ainenäidena 49% saagisega.

- 20 Etapp 5. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti sulfoonamiidester (94 mg, 0,117 mmooli), saadi 90 mg (92%) nimiühendit valge tahke ainenäidena.

$^1\text{H-TMR}$  (400 MHz,  $\text{COCl}_2$ )  $\delta$ : 1,90-2,04 (m, 2H), 2,76 (q,  $J = 7,5$  Hz, 4H), 2,80-2,90 (m, 2H), 2,93-3,01 (m, 2H), 4,24 (t,  $J = 6,2$  Hz, 1H), 4,87 (s, 2H), lai, 6,51 (d,

$J = 8,8$  Hz, 1H), 6,81 (dd,  $J = 9,0, 2,1$  Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 7,08 (dd,  $J = 6,8, 2,5$  Hz, 4H), 7,23-7,36 (m, 9H), 7,42 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H), 7,61 (t,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 7,89-8,09 (m, 3H).

HRMS:  $C_{41}H_{35}ClF_3N_3O_6S + H^+$  jaoks arvutatud: 790,19599, määratud: (ESI-  
5 FTMS,  $[M + H]^{1+}$ ), 790,1944.

### Näide 28 [etalonnäide]

#### 4-{3-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2- fluorobensüül)sulfonüül]amino}etüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape

Etapp 1. Kasutades näites 1 etapis 9 kirjeldatud meetodit viidi metüül-4-{3-[2-(2-  
10 aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 7, etapp 6, 163 mg, 0,303 mmooli) reaktsiooni (2-nitro-6-trifluorometüül-fenüül)metaansulfonüülkloriidiga, saadi 15 mg sulfoonamiidi valge tahke ainega 7% saagisega

Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti sulfoonamiidester  
15 (14 mg, 0,020 mmooli), saadi 12 mg (88%) nimiühendit valge tahke ainega.

$^1H$ -TMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1,88-2,03 (m, 2H), 2,66-2,78 (m, 4H), 2,81-2,90 (m, 2H), 2,90-3,00 (m, 2H), 4,12-4,20 (m, 3H), 6,49 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 6,80 (dd,  $J = 8,8, 2,3$  Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,94-7,01 (m, 1H), 7,02-7,12 (m, 5H), 7,23-7,36 (m, 10 H), 7,40 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H), 8,00 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H).

20 HRMS:  $C_{40}H_{36}ClFN_2O_4S + H^+$  jaoks arvutatud: 695,21411, määratud: (ESI-FTMS,  $[M + H]^{1+}$ ), 695,2128.

**Näide 29 [etalonnäide]****4-{3-[2-(2-[[bifenüül-2-üülmetüül]sulfonüül]amino)etüül]-5-kloro-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape**

Etapp 1. Näites 24 etapis 1 saadud bromiid (83 mg, 0,108 mmooli) viidi mikrolaine reaktsooninõusse koos fenüülboorhappe (19,8 mg, 0,162 mmooli), KF (9,4 mg, 0,162 mmooli), Pd(OAc)<sub>2</sub> (3,4 mg, 0,015 mmooli) ja PPh<sub>3</sub>-ga (11,8 mg, 0,045 mmooli). Reaktsooninõusse lisati DME (0,12 M), MeOH (0,42 M), H<sub>2</sub>O (0,42 M) ja segu degaseeriti argoonivoolus, reaktsooninõu suleti ja kuumutati *Smith Creator* mikrolaineahjus temperatuuril 120 °C 1 tund. Reaktsoonisegu jahutati toatemperatuurini, filtriti läbi tseliidikihi (pesti EtOAc-ga) ja lahjendati H<sub>2</sub>O-ga. Veekihti ekstraheeriti EtOAc-ga. Ühendatud orgaanilist kihti pesti H<sub>2</sub>O ja soolalahusega, kuivatati MgSO<sub>4</sub> ja kontsentreeriti. Toorprodukt puhastati kolonnkromatograafiliselt (EtOAc/heksaan), saadi 75 mg (91%) Suzuki reaktsiooni produkti kollase tahke ainenä.

15 Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti ester (70 mg, 0,091 mmooli), saadi 46 mg (67%) nimiühendit valge tahke ainenä.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,85-1,98 (m, 2H), 2,45-2,55 (m, 2H), 2,64-2,78 (m, 4H), 2,82-2,90 (m, 2H), 3,99 (t, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,18 (s, 2H), 6,47 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,71-6,84 (m, 2H), 6,97-7,08 (m, 4H), 7,15-7,24 (m, 3H), 7,25-7,28 (m, 4H), 7,28-7,36 (m, 9H), 7,40 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,47 (dd, *J* = 7,7, 1,1 Hz, 1H), 8,01 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H).

HRMS: C<sub>46</sub>H<sub>41</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 753,25483, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 753,253.

**Näide 30 [etalonnäide]****4-{3-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2-[(2-püridiin-4-  
üülbensüül)sulfonüül]amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape**

Etapp 1. Näites 24 etapis 1 saadud bromiid (77 mg, 0,10 mmooli) viidi reaktsiooni  
5 püridiin-4-boorhappega vastavalt näites 29 etapis 1 kirjeldatud meetodile, saadi  
33 mg (43%) Suzuki reaktsiooni produkti valge tahke ainenä.

Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti ester (33 mg,  
0,043 mmooli), saadi 30 mg (91%) nimiühendit valge tahke ainenä.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,90-2,01 (m, 2H), 2,62-2,78 (m, 6H), 2,90 (t, *J* =  
10 7,5 Hz, 2H), 4,02 (s, 2H), 4,56 (s, 1H), lai, 6,48 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,79 (dd, *J* =  
8,8, 2,0 Hz, 1H), 6,83 (s, 1H), 6,99-7,10 (m, 4H), 7,19 (dd, *J* = 7,6, 1,3 Hz, 1H),  
7,22 (dd, *J* = 4,5, 1,5 Hz, 2H), 7,24-7,28 (m, 2H), 7,28-7,34 (m, 7H), 7,36-7,46 (m,  
3H), 7,98 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 8,55 (d, *J* = 5,8 Hz, 2H).

HRMS: C<sub>45</sub>H<sub>40</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvatud: 754,25008, määratud: (ESI-FTMS,  
15 [M + H]<sup>1+</sup>), 754,2505.

**Näide 31 [etalonnäide]****4-{3-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2-[(2-püridiin-3-  
üülbensüül)sulfonüül]amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape**

Etapp 1. Näites 24 etapis 1 saadud bromiid (77 mg, 0,10 mmooli) viidi reaktsiooni  
20 püridiin-3-boorhappega vastavalt näites 29 etapis 1 kirjeldatud meetodile, saadi  
59 mg (77%) Suzuki reaktsiooni produkti kollase tahke ainenä.

Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti ester (54 mg, 0,070  
mmooli), saadi 44 mg (83%) nimiühendit valge tahke ainenä.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,80-1,93 (m, 2H), 2,53-2,62 (m, 2H), 2,67 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 2,82 (s, 2H), lai, 2,95-3,03 (m, 2H), 4,09 (s, 2H), 5,61 (dd, *J* = 4,9, 3,4 Hz, 1H), 6,41 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,76 (dd, *J* = 9,0, 2,1 Hz, 1H), 6,89 (s, 1H), 7,01-7,12 (m, 5H), 7,22-7,36 (m, 9H), 7,36-7,47 (m, 3H), 7,55-7,62 (m, 1H), 7,68-7,74 (m, 1H), 7,89 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 8,60 (dd, *J* = 5,1, 1,5 Hz, 1H), 8,90 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H).

HRMS: C<sub>45</sub>H<sub>40</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvatud: 754,25008, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 754,2505.

### Näide 32 [etalonnäide]

10

#### 4-(3-(5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(3-tienüül)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehape

15

Etapp 1. Näites 24 etapis 1 saadud bromiid (77 mg, 0,10 mmooli) viidi reaktsiooni tiofeen-3-boorhappega vastavalt näites 29 etapis 1 kirjeldatud meetodile, saadi 67 mg (87%) Suzuki reaktsiooni produkti kollase tahke ainena.

Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti ester (62 mg, 0,080 mmooli), saadi 51 mg (83%) nimiühendit valge tahke ainena.

20

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,88-2,00 (m, 2H), 2,54-2,64 (m, 2H), 2,68-2,81 (m, 4H), 2,88-2,99 (m, 2H), 4,11 (t, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,20 (s, 2H), 6,49 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,80 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 6,82 (s, 1H), 7,00 (dd, *J* = 4,9, 1,4 Hz, 1H), 7,05 (dd, *J* = 6,7, 2,4 Hz, 4H), 7,13 (dd, *J* = 3,0, 1,3 Hz, 1H), 7,20-7,28 (m, 4H), 7,28-7,34 (m, 8H), 7,38-7,44 (m, 2H), 7,97-8,04 (m, 2H).

HRMS: C<sub>44</sub>H<sub>39</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> + H<sup>+</sup> jaoks arvatud: 759,21125, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 759,2099.

**Näide 33 [etalonnäide]****4-{3-[5-kloro-2-[2-({2-(3,5-dimetüülisooksasool-4-  
üül)bensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-  
üül]propüül}bensoehape**

- 5 Etapp 1. Näites 24 etapis 1 saadud bromiid (77 mg, 0,10 mmooli) viidi reaktsiooni 3,5-dimetüülisooksasool-4-boorhappega vastavalt näites 29 etapis 1 kirjeldatud meetodile, saadi 36 mg (46%) Suzuki reaktsiooni produkti kollase tahke ainenä.

Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti ester (36 mg, 0,046 mmooli), saadi 32 mg (90%) nimiühendit valge tahke ainenä.

- 10 <sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,88-2,04 (m, 5H), 2,14 (s, 3H), 2,68-2,78 (m, 4H), 2,78-2,85 (m, 2H), 2,96 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 3,82-3,97 (m, 2H), 4,18-4,27 (m, 1H), 6,49 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,80 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 6,83 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 7,06 (dd, *J* = 3,7, 1,6 Hz, 4H), 7,12 (dd, *J* = 7,5, 1,1 Hz, 1H), 7,26-7,34 (m, 10 H), 7,34-7,40 (m, 1H), 7,41 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,99 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H).
- 15 HRMS: C<sub>45</sub>H<sub>42</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 772,26065, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 772,2595.

**Näide 34 [etalonnäide]****4-{3-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2-{{2-kinoliin-8-  
üülbensüül}sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape**

- 20 Etapp 1. Näites 24 etapis 1 saadud bromiid (77 mg, 0,10 mmooli) viidi reaktsiooni 8-kinoliinboorhappega vastavalt näites 29 etapis 1 kirjeldatud meetodile, saadi 67 mg (82%) Suzuki reaktsiooni produkti valge tahke ainenä.



Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdroolüüsiti ester (60 mg, 0,073 mmooli), saadi 42 mg (72%) nimiühendit kollase tahke aienena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,68-1,85 (m, 1H), 1,99-2,13 (m, 1H), 2,23-2,37 (m, 1H), 2,43-2,53 (m, 3H), 2,56-2,85 (m, 4H), 3,91 (d, *J* = 14,1 Hz, 1H), 4,28 (d, *J* = 14,1 Hz, 1H), 4,83 (t, *J* = 4,7 Hz, 1H), 6,39 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,72-6,80 (m, 2H), 6,94-7,01 (m, 2H), 7,01-7,09 (m, 2H), 7,19-7,27 (m, 4H), 7,27-7,31 (m, 4H), 7,32-7,37 (m, 1H), 7,37-7,44 (m, 4H), 7,47-7,56 (m, 3H), 7,75-7,91 (m, 3H), 8,22 (dd, *J* = 8,3, 1,8 Hz, 1H), 8,94 (dd, *J* = 4,3, 1,8 Hz, 1H).

HRMS: C<sub>49</sub>H<sub>42</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 804,26573, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 804,2641.

### Näide 35 [etalonnäide]

#### 4-{3-[5-kloro-2-{2-[[4'-(dimetüülamino)bifenüül-2-üül]metüül}sulfonüül)amino]etüül}-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape

Etapp 1. Näites 24 etapis 1 saadud bromiid (77 mg, 0,10 mmooli) viidi reaktsiooni 4-(dimetüülamino)fenüülboorhappega vastavalt näites 29 etapis 1 kirjeldatud meetodile, saadi 51 mg (umbes 52%) Suzuki reaktsiooni produkti valge tahke aienena.

Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdroolüüsiti ester (51 mg, 0,063 mmooli), saadi 17 mg (umbes 41%) nimiühendit, valge tahke aienena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,87-1,98 (m, 2H), 2,44-2,53 (m, 2H), 2,64-2,70 (m, 2H), 2,70-2,77 (m, 2H), 2,79-2,89 (m, 8H), 4,01-4,07 (m, 1H), 4,28 (s, 2H), 6,46 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,59 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,76-6,81 (m, 2H), 6,99-7,07 (m, 6H), 7,16-7,23 (m, 2H), 7,25-7,33 (m, 9H), 7,39 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,44-7,49 (m, 1H), 8,00 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H).

HRMS: (C<sub>48</sub>H<sub>46</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S + 2 H<sup>+</sup>)/2, jaoks arvutatud: 398,65215, määratud: (ESI-FTMS, [M+2H]<sup>2+</sup>), 398,6504.

### Näide 36 [etalonnäide]

5 **4-[3-(5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-{2-[[2'-(trifluorometoksü)bifenüül-2-üül]metüül]sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül]propüül]bensoehape**

Etapp 1. Näites 24 etapis 1 saadud bromiid (77 mg, 0,10 mmooli) viidi reaktsiooni 2-(trifluorometoksü)fenüülboorhappega vastavalt näites 29 etapis 1 kirjeldatud meetodile, saadi 36 mg (umbes 36%) Suzuki reaktsiooni produkti valge tahke ainenä.

10 Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti ester (36 mg, 0,042 mmooli), saadi 23 mg (umbes 75%) nimiühendit valge tahke ainenä.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,80-1,91 (m, 2H), 2,54 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,59-2,70 (m, 4H), 2,78-2,87 (m, 2H), 3,90 (q, *J* = 14,1 Hz, 2H), 4,05-4,11 (m, 1H), 6,40 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,67-6,76 (m, 2H), 6,92-7,02 (m, 4H), 7,07-7,16 (m, 3H), 7,16-15 7,30 (m, 12H), 7,31-7,36 (m, 2H), 7,93 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H).

HRMS: C<sub>47</sub>H<sub>40</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvutatud: 837,23713, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 837,2375.

### Näide 37 [etalonnäide]

20 **4-{3-[5-kloro-2-[2-[[2'-tsüanobifenüül-2-üül]metüül]sulfonüül}amino)etüül]-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape**

Etapp 1. Näites 24 etapis 1 saadud bromiid (73 mg, 0,095 mmooli) viidi reaktsiooni 2-tsüanofenüülboorhappega, saadi 23 mg (30%) Suzuki reaktsiooni produkti kollase tahke ainenä.

Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud hüdrolüüsiti ester (19 mg, 0,024 mmooli), saadi 10 mg (53%) nimiühendit valge tahke aine.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,87-2,01 (m, 2H), 2,62-2,79 (m, 6H), 2,92 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 3,91-4,14 (m, 3H), 6,47 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,75-6,85 (m, 2H), 7,01-  
5 7,08 (m, 4H), 7,22-7,28 (m, 3H), 7,28-7,36 (m, 8H), 7,36-7,44 (m, 4H), 7,49-7,59 (m, 1H), 7,63-7,69 (m, 1H), 8,00 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H).

HRMS: C<sub>47</sub>H<sub>40</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvatud: 778,25008, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 778,2489.

### Näide 38

10

#### **3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül)amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}etüül)sulfonüül]fenüül}propaanhape**

15

Etapp 1. 2-bromo-4-kloroaniliin (1,0 ekv) lahustati CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (0,25 M), seejärel lisati trietüülamiin ja trifluoroatsetüülanhüdriid (1,1 ekv kumbagi). Saadud segu segati toatemperatuuril 1 tund. Lahusti aurustati ja jääk puhastati kiirkromatograafiliselt, elueerides CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga, saadi amiid 97% saagisega.

*m/z* (M - H)<sup>-</sup> 300,0.

20

Etapp 2. *N*-(2-bromo-4-klorofenüül)-2,2,2-trifluoroatsetamiid (etapp 1, 1,0 ekv) segati 3-butüün-1-ooli (2,0 ekv), diklorobis(trifenüülfosfiin)pallaadium(II) (2,5% ekv), trietüülamiini (3,0 ekv), CuI-ga (5% ekv) DMF-s (0,2 M) suletud reaktsiooninõus N<sub>2</sub>-atmosfääris ja kuumutati temperatuuril 120 °C 4 tundi. Seejärel reaktsioonisegu lahjendati etüülatsetaadiga, pesti soolalahusega ja kuivatati Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ga. Puhastati kiirkolonnkromatograafiliselt, elueerides 2% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seguga, saadi alküün 67% saagisega.

$m/z$  (M - H)<sup>-</sup> 194,09.

Etapp 3. 2-(5-kloro-1*H*-indool-2-üül)etanool (etapp 2, 1,0 ekv) ja imidasool (2,0 ekv) lahustati DMF-s (0,3 M) segamisel toatemperatuuril, seejärel lisati *tert*-butüülklorodifenüülsilaan (1,2 ekv). Saadud segu segati toatemperatuuril  
5 üleöö, seejärel reaktsioon peatati küllastunud naatriumvesinikkarbonaadi vesilahusega ja ekstraheeriti etüülatsetaadiga. Orgaanilist kihti pesti vee ja soolalahusega ning kuivatati Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ga. Puhastati kiirkromatograafiliselt, elueerides CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga, saadi silüüleeter pruuni kummina 90% saagisega.

$m/z$  (M - H)<sup>-</sup> 433,0.

10 Etapp 4. 2-({*tert*-butüül(difenüül)silüül}oksü)etüül)-5-kloro-1*H*-indool (etapp 3, 1,0 ekv) lahustati etüületris (0,4 M) ja lahus jahutati temperatuurini 0 °C. Oksalüülkloriid (1,2 ekv) lisati energilisel segamisel eespool saadud külmale lahusele. Reaktsioonisegu segati temperatuuril 0 °C 1 tundi, seejärel lisati EtOH, seejärel NEt<sub>3</sub>. Seejärel saadud segu lahjendati veel EtOH-ga, seejärel valati vette ja  
15 ekstraheeriti EtOAc-ga. Orgaanilist kihti pesti soolalahusega, kuivatati Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ga ja kontsentreeriti, saadi ketoester kollase tahke ainaena 70% saagisega.

$m/z$  (M - H)<sup>-</sup> 533,0.

Etapp 5: Etüül-[2-({*tert*-butüül(difenüül)silüül}oksü)etüül)-5-kloro-1*H*-indool-3-  
20 üül](okso)atsetaat (etapp 4, 1 ekv), Ph<sub>2</sub>CHBr (1,5 ekv) ja Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,5 ekv) segati veevabas atsetonitrilis (0,1 M). Segu kuumutati tagasijooksutemperatuuril 2 tundi. Reaktsioonisegu jahutati toatemperatuurini, lahjendati veega ja ekstraheeriti EtOAc-ga. Orgaaniline kiht kontsentreeriti ja jääki puhastati kromatograafiliselt, elueerides CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga, saadi *N*-benshüdrüülindool oranži kummina 45%  
25 saagisega.

$m/z$  (M + H)<sup>+</sup> 701,3.

Etapp 6. Etüül-[1-benshüdrüül-2-({*tert*-butüül(difenüül)silüül]oksü)etüül)-5-kloro-1*H*-indool-3-üül](okso)atsetaadi (etapp 5, 1 ekv) lahusele THF-s (0,1 M) lisati BH<sub>3</sub>Me<sub>2</sub>S (2 M THF-s) (2 ekv). Saadud segu kuumutati tagasijooksutemperatuuril N<sub>2</sub>-atmosfääris üleöö. Reaktsioonisegu jahutati toatemperatuurini, seejärel reaktioon peatati aeglase 1 N NaOH lisamisega, ekstraheeriti EtOAc-ga ja pesti soolalahusega. Kontsentreerimisega saadi alkohol 65% saagisega.

m/z (M + H)<sup>+</sup> 645,0.

Etapp 7. 2-[1-benshüdrüül-2-({*tert*-butüül(difenüül)silüül]oksü)etüül)-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]etanooli (etapp 6, 1 ekv) lahusele CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (0,08 M) lisati 1,3-bis(difenüülfosfino)propan (DPPP, 0,75 ekv). Lahus jahutati N<sub>2</sub>-atmosfääris temperatuurini 0 °C, seejärel lisati CBr<sub>4</sub> (1,25 ekv). Reaktsioonisegu temperatuuril lasti tõusta toatemperatuurini 2 tunni jooksul. Lahusti aurustati ja jääk puhastati, kasutades lühikest silikageelikoloni, elueerides CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga, saadi bromiid kvantitatiivse saagisega.

m/z (M + H)<sup>+</sup> 708,0.

Etapp 8. 1-benshüdrüül-3-(2-bromoetüül)-2-({*tert*-butüül(difenüül)silüül]oksü)etüül)-5-kloro-1*H*-indool (etapp 7, 1 ekv) segati metüül-3-(4-merkaptofenüül)propanaadi (1,5 ekv) ja K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-ga (1,5 ekv) DMF-s (0,1 M). Saadud segu segati N<sub>2</sub>-atmosfääris toatemperatuuril 2 tundi, seejärel lahjendati veega ja ekstraheeriti EtOAc-ga. Orgaanilist ekstrakti pesti soolalahusega, kontsentreeriti ja puhastati kiirkromatograafiliselt (eluendina CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), saadi tioeeter pruunika kummina 80% saagisega.

m/z (M + H) 823,0.

Etapp 9. Metüül-3-[4-({2-[1-benshüdrüül-2-({*tert*-butüül(difenüül)silüül]oksü)etüül)-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]etüül)sulfanüül]fenüül]propanaat (etapp 8, 1 ekv) lahustati atsetonitriilis (0,1 M), seejärel lisati N<sub>2</sub>-atmosfääris molekulaarsõelad (pulber, 4 Å)

ja 4-metüülmorfoliin-*N*-oksiid (NMO) (4 ekv). 5 minuti pärast lisati *n*-Pr<sub>4</sub>NRuP<sub>4</sub> (TPAP) (5% ekv). Saadud segu kuumutati temperatuuril 40 °C 1,5 tundi. Segu kontsentreeriti ja jääk puhastati kiirkromatograafiliselt, elueerides CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga, seejärel 1% EtOAc/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seguga, saadi sulfoon valge vahuna 44% saagisega.

5 m/z (M + H)<sup>+</sup> 855,1.

Etapp 10. Metüül-3-(4-{2-[1-benshüdrüül-2-({*tert*-butüül(difenüül)silüül]oksü}etüül)-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]etoksü}fenüül)propanaat (etapp 9, 1 ekv) lahustati THF-s (0,1 M) ja jahutati temperatuurini 0 °C, seejärel lisati *n*-Bu<sub>4</sub>NF (1 M THF-s) (1,2 ekv). Saadud segu segati temperatuuril 0 °C 10 5 minutit, seejärel soojendati toatemperatuurini ja segati 30 minutit. Lahusti aurustati ja jääk puhastati kiirkromatograafiliselt, elueerides EtOAc/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seguga (1 : 9 kuni 1 : 4), saadi alkohol valge vahuna 90% saagisega.

m/z (M + H)<sup>+</sup> 616,20.

Etapp 11. Metüül-3-[4-{2-[1-benshüdrüül-5-kloro-2-(hüdrosüetüül)-1*H*-indool-3-15 üül]etüül}sulfonüül}fenüül]propanoaadile (etapp 10, 1 ekv) CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-s (0,02 M) lisati temperatuuril 0 °C MeSO<sub>2</sub>Cl (2,0 ekv) ja Et<sub>3</sub>N (2,5 ekv) ning segati 1 tund. Jäävann eemaldati ja reaktsioonisegu segati toatemperatuuril 1 tund, seejärel reaktsioonisegu lahjendati CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ga, pesti NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, soolalahusega ja kuivatati Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ga. Lahusti aurustati, saadi mesülaat kvantitatiivse saagisega.

20 m/z (M + H)<sup>+</sup> 695,0.

Etapp 12. Metüül-3-(4-{2-(1-benshüdrüül-5-kloro-2-{2-[(metüül-sulfonüül)oksü]etüül)-1*H*-indool-3-üül]etüül}sulfonüül}fenüül)propanoaat (etapp 11, 1,0 ekv) lahustati DMF-s (0,03 M) ja lisati NaN<sub>3</sub> (3,0 ekv). Saadud segu kuumutati temperatuurini 60 °C ja segati 2 tundi, seejärel jahutati toa-25 temperatuurini, lahjendati veega, ekstraheeriti etüülatsetaadiga, pesti soola-

lahusega ja kuivatati Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ga. Lahusti aurustati, saadi asiid kvantitatiivse saagisega.

m/z (M + H)<sup>+</sup> 641,1.

5 Etapp 13. Metüül-3-[4-({2-[2-(2-asidoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-  
üül]etüül}sulfonüül)fenüül]propanoaat (etapp 12, 1 ekv) lahustati THF-s (0,1 M) ja  
lisati trifenüülfosfiin (1,1 ekv). 2 päeva pärast lisati vesi ja segu segati üleöö,  
kontsentreeriti ja puhastati kiirkromatograafiliselt, elueerides 4% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>  
seguga, saadi amiin 71% saagisega.

m/z (M + H)<sup>+</sup> 615,2.

10 Etapp 14. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi etüül-3-[4-({2-[2-(2-aminoetüül)-1-  
benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]etüül}sulfonüül)fenüül]propanoaat (etapp 13,  
200 mg, 0,32 mmooli) reaktsiooni (2-trifluorometüülfenüül)metaansulfonüül-  
kloriidiga (näide 5, etapp 3, 110 mg, 0,42 mmooli), saadi 250 mg sulfoonamiidi  
kahvatukollase vahuna 93% saagisega.

15 <sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,23 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 2,62-2,71 (m, 2H), 2,76-  
2,93 (m, 4H), 2,98-3,17 (m, 4H), 3,27-3,38 (m, 2H), 4,11 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 4,35  
(s, 2H), 4,57 (t, *J* = 5,3 Hz, 1H), 6,43 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,77 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz,  
1H), 6,81 (s, 1H), 7,18 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,24-7,35 (m, 10 H), 7,41 (d, *J* = 8,6  
Hz, 3H), 7,49 (t, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,60-7,77 (m, 2H), 7,88 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H).

20 Etapp 15. Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti sulfoon-  
amiidester (220 mg, 0,26 mmooli), saadi 200 mg (92%) nimiühendit valge vahuna.

25 <sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 2,65 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,91-3,13 (m, 8H), 3,60  
(dd, *J* = 9,7, 5,4 Hz, 2H), 4,46 (s, 2H), 6,48 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,83 (dd, *J* = 8,7,  
2,1 Hz, 1H), 7,05-7,16 (m, 5H), 7,19 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,33-7,47 (m, 6H), 7,53-  
7,72 (m, 6H), 7,80 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 12,26 (s, 1H).

HRMS:  $C_{42}H_{38}ClF_3N_2O_6S_2 + H^+$  jaoks arvutatud: 823,18847, määratud: (ESI-FTMS,  $[M + H]^{1+}$ ), 823,1887, HPLC puhtus  $H_2O/CH_3CN$  puhul: 100%,  $H_2O/MeOH$  puhul: 100%.

### Näide 39 [etalonnäide]

5 **3-(4-{{2-(5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-{{2-{{1-{{2-(trifluorometüül)fenüül}etüül}sulfonüül)amino}etüül}-1*H*-indool-3-üül}etüül}sulfonüül}fenüül)propaanhape**

Etapp 1. Kasutades näites 1 etapis 9 kirjeldatud meetodit viidi etüül-3-[4-{{2-{{2-(2-aminoetüül)-5-kloro-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül}etüül}sulfo-  
10 nüül)fenüül]propanoaat (näide 38, etapp 14) reaktsiooni 1-(2-trifluorometüül-fenüül)etaansulfonüülkloriidiga (0,13 g, 0,46 mmooli), saadi 3-{{4-{{2-(1-benshüdrüül-5-kloro-2-{{2-{{1-(2-trifluorometüül)fenüül)etaansulfonüülamino}etüül}-1*H*-indool-3-üül)etaansulfonüül}fenüül}propaanhape etülester (0,110 g, 40%).

Etapp 2. Sulfoonamiidester (0,11 g, 0,13 mmooli) hüdrolüüsiti vastavalt näites 1  
15 etapis 10 kirjeldatule, saadi 0,068 g (64%) nimiühendit valge tahke aina.

$^1H$ -TMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1,67 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H), 2,57-2,72 (m, 4H), 2,80 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H), 2,84-2,94 (m, 2H), 3,03 (t,  $J = 6,4$  Hz, 2H), 3,20-3,31 (m, 2H), 5,82-5,88 (m, 1H), 6,37 (s, 1H), 6,73-6,81 (m, 2H), 6,98 (d,  $J = 4,4$  Hz, 2H), 7,05 (d,  $J = 5,4$  Hz, 2H), 7,24-7,49 (m, 11H), 7,63 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,80 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,88 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H).  
20



**Näide 40 [etalonnäide]****4-{3-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2-[(2-hüdroksübensüül)sulfonüül]amino)etüül]-1H-indool-3-üül]propüül}bensoehape**

5 Etapp 1. Kasutades näites 5 etapis 1 kirjeldatud meetodit 2-bensüüloksübensüülbromiidist (viide R. V. Somu *et al.*, *J. Med. Chem.* 2006, 49, 31-34,) (32,2 g, 116 mmooli) saadi (2-bensüüloksüfenüül)metaansulfoonhappe naatriumisool (30 g, 86%) valge tahke aienena.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 3,82 (s, 2H), 5,09 (s, 2H), 6,81-6,91 (m, 1H),  
10 6,96 (d, *J* = 7,58 Hz, 1H), 7,08-7,18 (m, 1H), 7,26-7,34 (m, 1H), 7,34-7,41 (m, 2H), 7,45 (dd, *J* = 1,77 Hz, 1H), 7,52 (d, *J* = 7,07 Hz, 2H).

Etapp 2. Kasutades näites 5 etapis 2 kirjeldatud meetodit (2-bensüüloksüfenüül)metaansulfoonhappe naatriumisoolast (30 g, 99 mmooli) saadi (2-bensüüloksüfenüül)metaansulfoonhape (15 g) valge tahke aienena, mida  
15 kasutati edasise puhastamiseta.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 3,81 (s, 2H), 5,08 (s, 2H), 6,80-6,92 (m, 1H), 6,95 (d, *J* = 7,83 Hz, 1H), 7,07-7,17 (m, 1H), 7,31 (d, *J* = 6,82 Hz, 1H), 7,34-7,42 (m, 2H), 7,45 (dd, 1H), 7,52 (d, *J* = 7,33 Hz, 2H).

Etapp 3. Kasutades näites 5 etapis 3 kirjeldatud meetodit (2-bensüüloksüfenüül)metaansulfoonhapest (7 g, 25,15 mmooli) saadi (2-bensüüloksüfenüül)metaansulfonüülkloriid (2,6 g, 35%).  
20

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5,06 (s, 2H), 5,15 (s, 2H), 7,00-7,10 (m, 2H), 7,30-7,50 (m, 7H).

Etapp 4. Nagu näites 1 etapis 9 esitatud viidi metüül-4-{3-[2-(2-aminoetüül)-1-benshüdrüül-5-kloro-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (näide 7, etapp 6, 3,92 g, 7,3 mmooli) reaktsiooni (2-bensüüloksüfenüül)metaansulfonüülkloriidiga (2,6 g, 8,76 mmooli), saadi 4,1 g metüül-4-{3-[2-[2-({[2-(bensüül-  
5 oksü)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-5-kloro-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-  
üül]propüül}bensoaati valge vahuna 59% saagisega.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,80-1,99 (m, 2H), 2,49-2,78 (m, 6H), 2,85 (t, *J* = 8,84 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,96-4,05 (m, 1H), 4,26 (s, 2H), 4,90 (s, 2H), 6,45 (d, *J* = 8,84 Hz, 1H), 6,73-6,82 (m, 2H), 6,83-6,93 (m, 2H), 6,94-7,08 (m, 4H), 7,16-  
10 7,34 (m, 15H), 7,39 (d, *J* = 2,02 Hz, 1H), 7,85-7,98 (m, 2H).

Etapp 5. Metüül-4-{3-[2-[2-({[2-(bensüüloksü)bensüül]sulfonüül}amino)etüül]-5-kloro-1-(difenüülmetüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaat (5,1g, 6,4 mmooli) viidi reaktsiooni vesinikuga pallaadium/söel (0,5 g) manulusel, saadi metüül-4-{3-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2-({[2-hüdroksübensüül]sulfonüül}amino)etüül)-1*H*-  
15 indool-3-üül]propüül}bensoaadi ja metüül-4-{3-[1-(difenüülmetüül)-2-(2-({[2-hüdroksübensüül]sulfonüül}amino)etüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoaadi (3 : 1) segu valge vahuna 74% üldsaagisega.

Etapp 6: Kasutades näites 1 etapis 10 kirjeldatud meetodit hüdrolüüsiti sulfoonamiidestrite segu (3,35 g) ja puhastati preparatiivse HPLC abil, saadi  
20 1,18 g (36%) nimiühendit valge tahke aina.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1,89-2,01 (m, 2H), 2,64-2,96 (m, 8 H) 4,16 (s, 2H), 4,17-4,25 (m, 1H), 6,50 (d, *J* = 8,84 Hz, 1H), 6,74-6,89 (m, 4H), 6,95 (dd, *J* = 1,64 Hz, 1H), 7,01-7,13 (m, 4H), 7,11-7,23 (m, 1H), 7,23-7,38 (m, 8 H) 7,41 (d, *J* = 2,02 Hz, 1H), 7,90-8,04 (m, 2H).

25 HRMS: C<sub>40</sub>H<sub>37</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvatud 693,21845, määratud: (ESI-FTMS, [M + H]<sup>1+</sup>), 693,21709, HPLC puhtus (CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O) puhul: 7,24 minutit, 100,0%, HPLC puhtus (MeOH-H<sub>2</sub>O) puhul: 8,12 minutit, 100,0%.

### Näide 41 [etalonnäide]

#### 4-{3-[5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-(2-[(2-kinoliin-5- üülbensüül)sulfonüül]amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehape

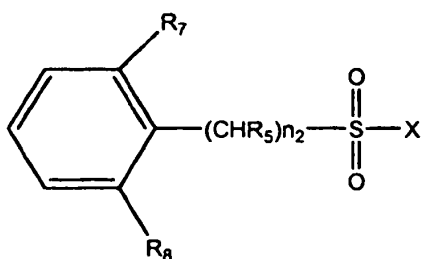
Etapp 1. Näites 24 etapis 1 saadud bromiid viidi reaktsiooni 5-kinoliinboorhappega  
5 vastavalt näites 29 etapis 1 kirjeldatud meetodile, saadi Suzuki reaktsiooni  
produkt.

Etapp 2. Nagu näites 1 etapis 10 on kirjeldatud ester hüdrolüüsi ja produkt  
puhastati preparatiivse HPLC abil, saadi nimiühend valge tahke aine.

<sup>1</sup>H-TMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,77-1,91 (m, 2H), 2,35-2,70 (m, 6H), 2,76 (t, *J* =  
10 7,2 Hz, 2H), 3,65 (d, *J* = 13,9 Hz, 1H), 3,89 (d, *J* = 13,9 Hz, 1H), 4,00 (t, *J* = 5,3  
Hz, 1H), 6,39 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 6,63-6,79 (m, 2H), 6,86-7,04 (m, 4H), 7,08-7,24  
(m, 10 H), 7,24-7,40 (m, 4H), 7,43-7,51 (m, 1H), 7,55 (dd, *J* = 8,6, 7,1 Hz, 1H),  
7,62 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,84-7,94 (m, 2H), 8,05 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 8,83 (dd, *J* =  
4,3, 1,8 Hz, 1H).

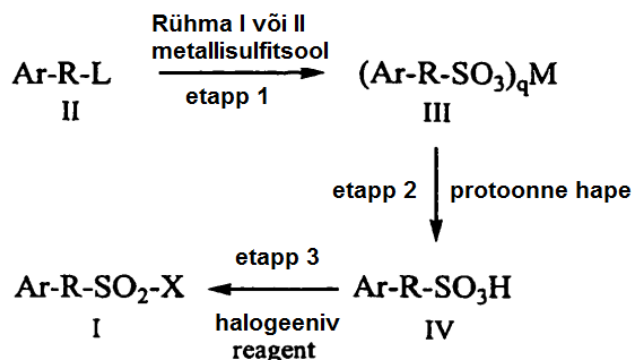
15 HRMS: C<sub>49</sub>H<sub>42</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S + H<sup>+</sup> jaoks arvatud: 804,26573, määratud: (ESI-FTMS,  
[M + H]<sup>1+</sup>), 804,2663.

Alternatiivne meetod vaheühendite üldvalemiga



20 milles X halogeeniaatom, eelistatavalt klooriaatom, valmistamiseks on avaldatud  
US patenditaotluses 2005/0187408 A1. Lühidalt hõlmab meetod sulfoonhape

moodustamist enne sulfonüülhaliidiks moodustamist vastavalt allpool toodud üldskeemile



milles L on lahkuv rühm, Ar tähendab 2,6-diasendatud fenüülrühma, R tähendab  
 5 (CHR<sub>5</sub>)<sub>n2</sub>-rühma ja M on rühma I või rühma II metalliioon. Vastavalt skeemile võib  
 sulfoonhapped valemiga IV muuta sulfonüülhaliidideks reaktsioonil halogeen-  
 asendus reagenti abil (s.o reagent, mis võib muuta mitte-halogeense asendaja,  
 nagu näiteks H või OH, halogeenasendajaks, s.o muuta sulfoonhapperühma  
 sulfonüülhaliidrühmaks), näiteks SOCl<sub>2</sub>, POCl<sub>3</sub>, CCl<sub>4</sub>/trifenüülfosfiini, oksalüül-  
 10 kloriidi või oksalüülbromiidiga, eelistatavalt oksalüükloriidiga. Halogeen-asendus  
 reagenti kasutatakse eelistatavalt liias, eriti kui esineb lahusti jääke lähteaines,  
 lahuses või mõlemas. Kui oksalüükloriidi kasutatakse halogeen-asendus  
 reagentina, võib seda kasutada vahemikus umbes 1-6 ekvivalenti, umbes 2-4  
 ekvivalenti või umbes 3-3,5 ekvivalenti sulfoonhappe reagenti koguse kohta  
 15 (ühend valemiga IV). Vastava ala asjatundjad tunnustavad, et kasutatava  
 halogeen-asendus reagenti kogus sõltub, *inter alia*, lähteaine või lahustis  
 esinevast vee kogusest ning lähteaine ja lahustite loomusest ja reaktsiooni-  
 võimest.

Sobivateks lahustiteks halogeen-asendusreaktsioonis (eespool skeemil etapp 3)  
 20 on mis tahes orgaaniline lahusti, mis võib vähemalt osaliselt lahustada ühendit  
 valemiga IV. Eelistatavateks lahustiteks on mittepolaarsed või nõrgalt polaarsed  
 lahustid, sealhulgas atsetonitriil, aromaatsed süsivesinikud, nagu benseen ja  
 toluen ning halogeenitud lahustid, nagu 1,2-dikloroetaan ja diklorometaan.

Eelistatavamad lahustid on eetrid. Sobivateks eetriteks on tetrahüdrofuraan, dioksaan, dietüleeter, dibutüleeter, diisopropüleeter või nende segud jms. Eelistatavam eeter on tetrahüdrofuraan.

Halogeen-asendusreaktsiooni võib läbi viia mis tahes sobival temperatuuril, näiteks temperatuuril umbes  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  kuni toatemperatuur, eelistatavalt umbes alla  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Sulfonüülhaliidi moodustamise etapi (eespool skeemil etapp 3) võib samuti läbi viia atsüül-ülekandekatalüsaatori, nagu tertsaarne amiid (nt dimetüülformamiid) manulusel. Atsüül-ülekandekatalüsaatorit võib kasutada koguses, mis on piisav reaktsioonikiiruse suurendamiseks. Atsüül-ülekandekatalüsaatorit on vähem kui umbes üks ekvivalent sulfoonhappereagendi koguse kohta, eelistatavalt koguses umbes 0,01-0,5 ekvivalenti, eelistatavamalt umbes 0,1-0,2 ekvivalenti sulfoonhappereagendi koguse kohta.

Ühendid valemiga I võib eraldada reaktsioonisegust sadestamise ja filtrimisega. Võib kasutada mis tahes sadestamist indutseerivat meetodit paljude hästituntud meetodite hulgast. Mõnes eelistatavas teostuses võib reaktsioonisegule sadestamise indutseerimiseks lisada anti-lahustit nagu vesi või lahustit, mis sisaldab vett. Vee kasutamine anti-lahustina võib alandada sulfonüülhaliidprodukti lagunemise kiirust vaadeldava lagunemise kiiruse suhtes, kui kasutatakse orgaanilist lahustit nagu heptaan, et saada paremaid saagiseid. Sadestamist võib hõlbustada reaktsioonisegu temperatuuri alandamisega, näiteks umbes alla  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Nagu eespool skeemil on näidatud, võib sulfoonhappeid valemiga IV valmistada sulfoonhappesoolade (sulfonaatsoolade) valemiga III reaktsiooni viimisel protoonse happega. Sobivad protoonsed happed on piisava tugevusega, et olla võimelised muutma sulfonaatsoola selle vastavaks happeks vastavalt leiutisekohastele meetoditele. Näiteks võib protoonseks happeks olla tugev anorgaaniline hape, nagu HCl, HBr,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  jms. Alternatiivselt võib protoonseks happeks olla orgaaniline hape, nagu sipelghape, metaansulfoonhape, *p*-tolueensulfoonhape, benseensulfoonhape, trifluoroäädikhape ja teised

tugevad orgaanilised happed. Protoonseid happeid võib kasutada gaasilistena. Eelistatavalt on anorgaaniliseks happeks HCl, eelistatavamalt gaasiline HCl, mida lisatakse reaktsioonilahusele, mis sisaldab sulfonaatsoola. Protoonset hapet kasutatakse soovitatavalt liias molaarekvivalenti sulfoonhappesoola valemiga III

5 suhtes.

Sulfoonhappe ühendi valemiga IV moodustamise võib läbi viia mis tahes sobivas lahustis. Näiteks on sobivad orgaanilised lahustid, milles ühend valemiga III on vähemalt osaliselt lahustuv. Lahusti võib valida selliselt, et see lahustab halvasti metallihaliidsooli, nagu NaCl või KCl, seeläbi termodünaamiliselt nihutades

10 reaktsiooni metallihaliidsoolade sadestumise suunas. Lahusti võib sisaldada alkoholi, nagu metanool, etanool, propaan-2-ool jms, või nende segu, eelistatavalt metanool. Lahusti võib samuti sisaldada vett. Reaktsiooni temperatuuri võivad hõlpsalt määrata vastava ala asjatundjad. Näiteks võib reaktsiooni läbi viia temperatuuril alla toatemperatuuri nagu umbes  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  kuni  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ , eelistatavalt

15 temperatuuril umbes  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  või alla umbes  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Sulfoonhappeühendi valemiga IV võib eraldada vastavalt rutiinsetele meetoditele nagu produkti sadestamine reaktsioonisegust.

Sulfoonhappesoola (sulfonaatsoola) ühendi valemiga III võib valmistada ühendi valemiga II: Ar-R-L (milles Ar, R ja L on, nagu espool on määratletud) reaktsiooni

20 viimisel rühma I või II metallisulfitsoolaga vajadusel faasiülekandekatalüsaatori manulusel, nagu on näidatud eespool skeemil etapis 1. Mis tahes rühma I või II metallisulfitsool on sobiv, näiteks  $\text{Li}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{MgSO}_3$ ,  $\text{CaSO}_3$  jms. Rühma I või II metallisulfitsooli võib kasutada molaarses liias, näiteks umbes 2 ekv, umbes 1 ekv, ühendi valemiga II koguse kohta. Sobivateks metallisooladeks

25 on  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_3$  ja  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ .

Sulfonaatsoola ühendite valemiga III moodustamise võib läbi viia faasiülekandekatalüsaatori, näiteks kvaternaarse ammooniumhaliidi nagu tetrabutüül-ammooniumjodiid manulusel. Faasiülekandekatalüsaatorit võib kasutada

koguses, mis on sobiv reaktsioonikiiruse suurendamiseks, näiteks umbes 0,1-2% või eelistatavamalt 0,5-1% massi järgi.

Võib kasutada mis tahes sobivat lahustit, nagu lahusti, mis vähemalt osalisest lahustab rühma I või II metallisulfitsooli, nagu vesi koguses umbes 50%,  
5 eelistatavamalt umbes 75%, kõige eelistatavamalt rohkem kui umbes 90%,  
veelgi eelistatavamalt rohkem kui umbes 95% ja veelgi kõige eelistatavamalt rohkem kui umbes 99% vett. Reaktsiooni võib samuti läbi viia mis tahes sobival temperatuuril, eelistatavalt kõrgemal temperatuuril, näiteks umbes 100 °C.

Ühendi valemiga III eraldamise reaktsioonisegust võib läbi viia mis tahes rutiinse  
10 meetodiga, nagu reaktsioonisegust sadestamine, näiteks reaktsioonisegule  
veeslahustuva anorgaanilise soola, nagu NaCl või KCl, eelistatavamalt NaCl  
lisamisel. Ühendi valemiga III eraldamist võib hõlbustada reaktsioonisegule  
orgaanilise lahusti, mis ei ole veega oluliselt segunev, nagu etüülatsetaat, eetrid  
(nt etüüleeter jms), alkaanid (nt heksaanid, petrooleeter jne), aromaatsed lahustid  
15 (nt benseen, toluen, ksüleen jne) jms, etüülatsetaat on kõige eelistatavam,  
lisamisega. Reaktsioonisegu võib samuti jahutada (nt temperatuurini umbes alla  
10 °C), et abistada sadestumise indutseerimist.

## **BIOLOOGILISED TESTIMISMEETODID**

### **GLU mitselli test**

20 Test teostati 96 süvendiga formaadis, kasutades fluorestsentsplaadi lugejat  
ekstsitatsioonifiltri lainepikkusel 355 nm ja emissioonifiltri lainepikkusel 460 nm  
(Lab Systems Fluoroscanner II, Helsinki, Soome). Testimispuhver sisaldas 940 µM  
Triton X-100, 50 mM HEPES-t (pH 7,4), 0,3 mM EDTA-d, 1 mM CaCl<sub>2</sub> ja 300 mM  
KCl. Katsepäeval lisati DTPC-d (1,2-O-tetradetsüül-*sn*-glütsero-3-fosfokoliin,  
25 Avanti) lõppkontsentratsiooniga 120 µM ja vahetult enne igat määramist lisati  
GLU-d (7-hüdroksükumarinüül-γ-linolenaat, Biomol Research Lab, Inc.) lõpp-  
kontsentratsiooniga 90 µM.

- DMSO-s lahustatud ühendid (10 µl) viidi musta 96 süvendiga plaadi süvenditesse kahes korduses. Positiivsete ja negatiivsete kontrollide süvendid sisaldasid DMSO-d ilma inhibiitoriteta. Vahetult enne katset lisati testimisplaadi igasse süvendisse 200 µl testimispuhvrit, mis sisaldas 90 µM GLU-d ja 120 µM DTPC-d.
- 5 Negatiivse kontrolli süvenditesse lisati testimispuhvrit (50 µl) ja kõikidesse teistesse süvenditesse lisati reaktsiooni käivitamiseks 50 µl cPLA<sub>2</sub>α lahust (5 mg/ml testimispuhvris). Ensüümi lõppkontsentratsioon oli 1 µg/ml. Iga süvendi sisu segati ensüümi lisamise ajal tasakesi ja plaat viidi kiiresti fluorestsentsplaadi lugejasse. Fluorestsentsi suurenemine määrati iga 4 minuti järel 84 minuti jooksul.
- 10 Määrati saadud joone tõus ja inhibeerimine arvutati järgmise võrrandi järgi:

$$\text{Inhibeerimine (\%)} = \frac{[1 - (\text{tõus inhibiitoriga} - \text{tõus negatiivse kontrolliga})]}{(\text{tõus positiivse kontrolliga} - \text{tõus negatiivse kontrolliga})} \times 100$$

### Roti täisvere test

- Isaste Sprague-Dawley rottide värske veri koguti hepariniseeritud katsutitesse südame punkteerimisega. Vere alikvoote (0,6 ml) inkubeeriti 15 minutes
- 15 temperatuuril 37 °C kas 6 µl lahusti (DMSO) või 6 µl testitavate ühenditega erinevates kontsentratsioonides. Seejärel inkubeeriti verd 10 minutit temperatuuril 37 °C 6 µl DMSO-ga lahjendatud kaltsium-ionofooriga A23187 (Sigma C-7522). A23187 lõppkontsentratsioon oli 5 µM. Stimuleerimata kontrollidele lisati DMSO-d (6 µl). Reaktsioonid peatati segamisega 60 µl külma EDTA-ga, saades lõpp-
- 20 kontsentratsiooniks 20 mM. Verd tsentrifugeeriti plasma saamiseks kiirusega 6500 p/min 10 minutit mikrotsentrifugis. 70 µl plasma alikvoodid segati valgu sadestamiseks 400 µl külma metanooliga. Pärast inkubeerimist temperatuuril -80 °C 30 minutit saadi supernatant tsentrifugeerimisega kiirusega 6500 p/min 10
- 25 minutit ja seda testiti TXB<sub>2</sub> suhtes tootja meetodi kohaselt (Assay Designs, Inc. ELISA komplekt #900-002).

Allpool tabelis 1 on toodud tulemused, mis saadi leiutisekohaste ühendite ning võrdlusnäidete ühenditega GLU mitselli testis ja roti täisvere testis.



Näide nr	GLU mitselli IC <sub>50</sub> (μM)	Roti täisvere TXB <sub>2</sub> IC <sub>50</sub> (μM)
1	0,26	0,14
2	0,19	0,12
3	0,054	0,06
4	0,054	0,02
5	0,026	0,02
6	0,092	0,08
7	0,018	0,03
8	0,024	0,02
9	0,022	0,02
10	0,009	0,02
11	0,28	0,38
12	0,021	0,04
13	0,026	0,03
14	0,03	0,02
15	0,068	0,12
16	0,023	0,05
17	0,01	0,02
18	0,025	0,04
19	0,022	0,03
20	0,014	0,17
21	0,0059	0,03
22	0,021	0,08
23	0,105	0,04
24	0,008	0,03

Näide nr	GLU mitselli IC <sub>50</sub> (μM)	Roti täisvere TXB <sub>2</sub> IC <sub>50</sub> (μM)
25	0,013	0,03
26	0,022	0,03
27	0,038	0,03
28	0,03	0,03
29	0,018	0,05
30	0,021	0,06
31	0,016	0,04
32	0,013	0,05
33	0,022	0,02
34	0,016	0,03
35	0,027	0,05
36	0,031	0,07
37	0,025	0,03
38	0,007	0,01
39	0,068	0,02
40	0,072	0,06
41	0,022	-

### **cPLA<sub>2</sub> inhibiitori toime tromboosimudelites**

cPLA<sub>2</sub> inhibiitorite manustamise toime tromboosimudelis määrati järgnevate meetoditega.

## Vereliistakute funktsiooni uurimine analüsaatoriga (PFA-100<sup>®</sup>)

- Inimese vereliistakute agregatsiooni uuriti vereliistakute funktsiooni määramise analüsaatoriga (PFA-100<sup>®</sup>). Inimveri koguti vabatahtlikelt, kellel ei lubatud kasutada kahe eelneva nädala jooksul mingeid vereliistakuid inhibeerivaid ravimeid. Veri koguti 3,2% naatriumtsitraati sisaldavasse Vacutainer katsutitesse (Becton Dickinson). Katsuteid pöörati 5 korda üles-alla ja veri viidi 15 ml koonilistesse polüpropüleenkatsutitesse. Inimvere 1 ml alikvootidele lisati 5 µl 100% DMSO-s lahustatud vastavat inhibiitorit (näite 14 ühend 4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-fluoro-6-(trifluorometüül)bensüül}sulfonüül)amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehape, näite 25 ühend 4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometoksü)bensüül}sulfonüül)amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehape, ühend C 4-{3-[1-benshüdrüül-5-kloro-2-(2-{{(3,4-dikloro-bensüül)sulfonüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül}bensoehape), saades vastava inhibiitori kontsentratsiooniks ja DMSO lõppkontsentratsiooniks 0,5%.
- Katsuteid pöörati segamiseks 10 korda üles-alla ja jäeti enne määramist analüsaatoriga PFA-100 10 minutiks toatemperatuurile seisma. PFA-100 puhul järgiti tootjate eeskirja, kasutades kollageeni/epinefriini padruneid (0,5% DMSO üksi andis täisvere puhul sulgumisajaks  $125 \pm 13,9$  sekundit). Maksimaalne sulgumisaeg on 300 sekundit, nagu on ette nähtud tootja poolt.
- Tulemused on toodud joonisel fig 1. Ühendit C või näite 14 ühendit või näite 25 ühendit inkubeeriti inimese täisverega enne määramist analüsaatoriga PFA-100. Kõik ühendid olid vereliistakute funktsiooni määramise testis efektiivsed. Ühend C ja näite 14 ühend suurendas sulgumisaega kontsentratsioonis 1,25 µg/ml, kuid näite 25 ühend oli efektiivne nii väikeses kontsentratsioonis kui 0,3 µg/ml. Need andmed näitavad, et need kolm ühendit inhibeerivad vereliistakute agregatsiooni inimveres *in vitro*.

### **FeCl<sub>3</sub>-indutseeritud arteritromboosi mudel**

Kaks tundi enne veresoone kahjustuse tekitamist manustati Sprague Dawley autbriiding rottidele (kehamassiga 80-100 grammi) suukaudselt sondiga 4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({[2-fluoro-6-(trifluorometüül)bensüül]sulfo-  
5 nüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehapet (näide 14) või 4-(3-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({[2-(trifluorometoksü)bensüül]sulfo-  
nüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}propüül)bensoehapet (näide 25) annuses 25 mg/kg. Sondi kogumaht oli 0,5 ml. Kontrollgrupi loomadele manustati ainult vehiiklit. Viisteist minutit enne veresoone vigastuse tekitamist anesteseeriti rotid  
10 ketamiini/ksülasiini segu intramuskulaarse süstimisega. Pärast anesteseerimist lõigati vasak unearter lahti ja paljastati edasiste mõõtmiste tegemiseks. Protrombootilise kahjustuse indutseerimiseks pandi paljastatud veresoone seinale 10% FeCl<sub>3</sub> lahuses immutatud ümmagune filterpaberi tükk (diameetriga 2 mm). Viie minuti pärast filterpaber eemaldati ja unearteri ümber kinnitati 1 PRB  
15 perivaskulaarne Doppleri verevoolu andur (Transonic Systems Inc.), et määrata verevoolu arteris. Verevool registreeriti kokku 30-minutilise perioodi jooksul, kasutades Transonicu verevoolu mõõtjat (mudel TS420, Transonic Systems Inc.) ja Windaq andmehõive tarkvara.

Joonisel fig 2 toodud tulemused näitavad, et mõlemad ühendid on efektiivsed rotid raudkloriidiga indutseeritud tromboosimudelid, kui neid manustati suukaudselt  
20 annuses 25 mg/kg.

### **Tromboksaan B<sub>2</sub> tase FeCl<sub>3</sub>-indutseeritud tromboosiga rottidel**

Veri võeti rottidelt, kellele manustati vehiiklit, näite 14 ühendit või näite 25 ühendit ja indutseeriti raudkloriidiga ülalkirjeldatud eeskirja järgi veresoone kahjustus. Veri  
25 võeti õõnesveenist ja sellel lasti hüübida 1 tund temperatuuril 37 °C. Seejärel eraldati seerum ja tromboksaan B<sub>2</sub> tase seerumis määrati ELISA-ga.

Tulemused on toodud joonisel fig 3. Need andmed näitavad, et mõlemad ühendid vähendasid tromboksaan B<sub>2</sub> taset seerumis.

### **cPLA<sub>2</sub> inhibiitori toime hulgiskleroosi loomudelisel**

5 cPLA<sub>2</sub> inhibiitori manustamise toimet hulgiskleroosi loomudelisel hinnati järgmise meetodiga.

Kuus gruppi B6 hiiri immuniseeriti MOG/CFA-ga ja süstiti läkaköha toksiini, et kutsuda esile eksperimentaalne autoimmuunne entsefalomüeliit (EAE), mis on hulgiskleroosi loomudeliks. Kolme grupi hiirtele manustati alates immuni-  
seerimise päevast vehiiklit, 4-{3-[1-benshüdrüül-5-kloro-2-(2-{{(2,6-dimetüül-  
10 bensüül)sulfonüül]amino}etüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehapet (ühendit A)  
või 4-{2-[1-benshüdrüül-5-kloro-2-(2-{{(3,4-diklorobensüül)sulfonüül]amino}etüül)-  
1*H*-indool-3-üül]etoksü}bensoehapet (ühendit B) (suukaudselt, 100 mg/kg, kaks  
korda päevas). Ülejäänud kolme grupi hiirtele manustati alates EAE tekkimise  
päevast (15. päev) vehiiklit, ühendit A või ühendit B (suukaudselt, 100 mg/kg,  
15 kaks korda päevas). Sellel päeval oli rohkem kui 20% loomadest tekkinud  
esimesed EAE kliinilised nähud ja kõikide nende gruppide loomadel alustati  
raviga. Tulemused on toodud allpool tabelis, milles keskmine kliiniline skoor on  
iga looma kliinilise hindamise keskmine sellel konkreetsel päeval. Loomade  
skoorid olid järgmised:

- 20 0 – EAE kliinilisi nähte ei esine (halvatust ei ole),  
1 – saba halvatus,  
2 – saba halvatus ja tagajäsemete osaline halvatus,  
3 – saba halvatus ja tagajäsemete täielik halvatus,  
4 – saba halvatus ja tagajäsemete täielik halvatus ning esijäsemete osaline  
25 halvatus,  
5 – loomade suremine (kõik neli jäset on halvatud, reaktsioon puudub, need hiired  
surmati kohe).

<b>Päev pärast immuni-seerimist</b>	<b>Vehiikel-kontroll päev 1</b>	<b>Ühend A päev 1</b>	<b>Ühend B päev 1</b>	<b>Vehiikel-kontroll haiguse algus</b>	<b>Ühend A haiguse algus</b>	<b>Ühend B haiguse algus</b>
<b>11</b>	0	0	0	0	0	0
<b>12</b>	0	0	0	0	0	0
<b>13</b>	0	0	0	0	0	0
<b>14</b>	0	0	0	0	0	0
<b>15</b>	0,23	0	0	0,37	0,33	0,10
<b>16</b>	0,50	0	0	0,97	0,60	0,45
<b>17</b>	0,63	0	0,06	1,30	0,80	0,80
<b>18</b>	0,93	0	0,06	1,63	1,03	1,05
<b>19</b>	1,03	0	0,11	1,63	1,13	1,10
<b>20</b>	1,47	0	0,39	2,23	1,50	1,00
<b>21</b>	1,63	0,06	0,44	2,40	1,57	1,20
<b>22</b>	2,13	0,09	0,50	2,43	1,60	1,10
<b>23</b>	2,53	0,16	0,67	2,47	1,37	1,40
<b>24</b>	2,73	0,19	0,56	2,47	1,43	1,35
<b>25</b>	2,67	0,25	0,56	2,30	1,23	1,25
<b>26</b>	2,73	0,28	0,56	2,17	0,87	1,40
<b>27</b>	2,63	0,38	0,72	2,17	0,87	1,55

Peale selle leiti, et näidete 14 ja 25 ühendid on samuti efektiivsed hulgiskleroosi hiiremudelis, st eksperimentaalse autoimmuuse entsefalomüeliidi (EAE) mudelis. Nagu allpool tabelis toodud andmetest näha, põhjustasid need ühendid haiguse alguse edasilükkumist ja vähendasid haiguse raskusastet, kui neid manustati suukaudselt nii väikese annuses kui 2,5 mg/kg.

<b>Päev pärast immuniseerimist</b>	<b>Vehiikel-kontroll</b>	<b>Näite 14 ühend 2,5 mg/kg päev 1</b>	<b>Näite 25 ühend 2,5 mg/kg päev 1</b>
<b>11</b>	0	0	0
<b>12</b>	0,08	0	0
<b>13</b>	0,50	0	0
<b>14</b>	1,13	0	0,14
<b>15</b>	1,48	0,14	0,20
<b>16</b>	2,00	0,32	0,55
<b>17</b>	2,00	0,50	0,55
<b>18</b>	2,19	0,55	0,55
<b>19</b>	3,31	1,32	0,84
<b>20</b>	3,48	1,41	1,27
<b>21</b>	3,60	1,77	1,68
<b>22</b>	3,60	1,89	1,89
<b>23</b>	3,58	2,00	1,93
<b>24</b>	3,60	2,05	2,00
<b>25</b>	3,71	1,90	1,98
<b>26</b>	3,71	1,89	1,95
<b>27</b>	3,71	1,89	1,93

Need tulemused näitavad, et hiirte ravimine cPLA<sub>2</sub> inhibiitorite näidetest 14 ja 25 ning ühendiga A ja ühendiga B võib vältida EAE algust, kui neid manustada alates immuniseerimise päevast ja vähendada EAE kliinilist raskusastet hiirtel, kellel on juba arenenud EAE või on tekkimas haiguse kliinilised nähud.

## cPLA<sub>2</sub> inhibiitori toime ateroskleroosile

cPLA<sub>2</sub> inhibiitori manustamise toimet ateroskleroosi apolipoproteiin E (ApoE) *knock-out* hiire mudelis hinnati järgmiste meetoditega.

### ApoE KO hiire mudel

- 5 Apolipoproteiin E (ApoE) *knock-out* hiir loodi loote tüvirakkude suunatud geenisiirdega, et katkestada ApoE geen. ApoE on glükoproteiin, mis vastutab külomikronite ja VLDL-i partiklite transportimise eest maksa, vältides seeläbi kolesteroolirikaste jääkide kuhjumist vereringesse. ApoE geeni homosügootse inaktivatsiooni tulemusena on ApoE KO hiirtel kõrge kolesterooli tase, mis
- 10 omakorda soodustab aterosklerootiliste naastude moodustumist erilistes kohtades piki arteriaalset puud, eriti aordi siinuses, kus domineerivad suured hemodünaamikahäired, ja aordi hargnemiskohtades.

### cPLA<sub>2</sub> roll ateroskleroosis

- Tsütosoolne fosfolipaas A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) vahendab eeskätt arahhidoonhappe vabanemist rakkude aktiveerumisel. On teada, et arahhidoonhappe metaboliidid eikosanoidid on põletikuprotsesside tähtsad modulaatorid. On näidatud, et põletikueelsete eikosanoidide vähenenud biosüntees inhibeerib aterosklerootilise kahjustuse progresseerumist inimestel ja hiirtelt, mis kinnitab cPLA<sub>2</sub> võimalikku rolli ateroskleroosis (vt Ranke *et al.*, *Circulation*, 1993, 87 (6), 1873-1879; Paul *et al.*, *Life Sciences*, 2000, 68 (4), 457-465; Cyrus *et al.*, *Circulation*, 2002, 106 (10), 1282-1287; Praticò *et al.*, *PNAS*, 2001, 98 (6), 3358-3363; Burleigh *et al.*, *Circulation*, 2002, 105 (15), 1816-1823; Cayatte *et al.*, *ATVB*, 2000, 20 (7), 1724-1728; Aiello *et al.*, *ATVB*, 2002, 22 (3), 443-449; Subbanagounder *et al.*, *Circ. Res.*, 1999, 85 (4), 311-318). Peale selle on cPLA<sub>2</sub> ekspressiooni täheldatud
- 25 inimese aterosklerootilistes arterites, kuid mitte normaalse terve inimese arterites (vt Schäfer Elinder *et al.*, *ATVB*, 1997, 17 (10), 2257-2263).



## cPLA<sub>2</sub> inhibiitori toime ateroskleroosile hiirtel

Kuuenädalastele isastele ApoE KO hiirtele manustati 4-{3-[1-benshüdrüül-5-kloro-2-(2-{{(3,4-diklorobensüül)sulfonüül}amino}etüül)-1*H*-indool-3-üül]propüül}bensoehapet (ühendit C). Hiiri toideti 20 nädalat tavalise loomatoiduga, millele oli lisatud ühendit C 1,3 mg/g ja 3,3 mg/g (saades ravimi maksimaalseks ekspositsiooniks vastavalt ~ 250 ng/ml ja ~ 500 ng/ml) või vehiiklit. Pärast 9- ja 20-nädalast ravi olid tromboksaan B<sub>2</sub> tasemed seerumis oluliselt vähenenud võrreldes kontrollgrupi loomadega, nagu on näidatud allpool tabelis.

### 10 Tromboksaan B<sub>2</sub> tasemed seerumis

Vähene mine (%) võrreldes kontrolliga	Ühend C (1,3 mg/g)	Ühend C (3,3 mg/g)
pärast 9-nädalast ravi	52,5	61,2
pärast 20-nädalast ravi	36,6	49,5

Peale selle vähenes loomadel, kellele manustati ühendit vastavalt 1,3 mg/g ja 3,3 mg/g, aterosklerootiliste naastude hulk aordi siinuses 32,7% (349 582 ± 132 685 vs 519 220 ± 100 694 μm<sup>2</sup>, p < 0,05) ja 45,6% (282 697 ± 46 462 vs 519 220 ± 100 694 μm<sup>2</sup>, p < 0,001) võrreldes kontrollgrupi loomadega. Peale selle, nagu on näidatud allpool tabelis, oli kahjustatud piirkonna vähenemine protsentides piki aorti mitteoluline (NS), mis näitab selle cPLA<sub>2</sub> inhibiitori rolli haiguse mõjutamises, eriti kõige suuremate hemodünaamikahäiretega piirkondades.

### Aterosklerootilised kahjustused piki aorti

	Ühend C (1,3 mg/g)	Ühend C (3,3 mg/g)
Vähene mine (%) võrreldes kontrolliga	32,4 (NS)	35,2 (NS)

Nagu on näidatud allpool tabelis, vähenes aterosklerootilise kahjustuse raskus loomadel, keda raviti ühendiga C võrreldes kontrollgrupi loomadega, nagu tehti

5 kindlaks varase staadiumi kahjustuste suurenenud esinemissageduse ja kaugelearenenud staadiumi kahjustuste vähenenud esinemissageduse järgi aordi siinuses. Tabelis on näidatud loomade arv protsentides, kellel oli 1. staadium (fibroadipoossne kahjustus), 2. staadium (varased fibroossed naastud), 3. staadium (kaugelearenenud fibroossed naastud), 4. staadium (püsiv

10 komplitseerunud kahjustus) ja 5. staadium (ebastabiilne komplitseerunud kahjustus) ja kellele manustati vehiiklit, ühendit C annuses 1,3 mg/g ja ühendit C annuses 3,3 mg/g.

### Aterosklerootilise kahjustuse raskus

	1. staadium	2. staadium	3. staadium	4. staadium	5. staadium
<b>Vehiikel</b>			11%	56%	33%
<b>Ühend C 1,3 mg/g</b>			33%	56%	11%
<b>Ühend C 3,3 mg/g</b>	9%	18%	37%	27%	9%

### 15 Tromboksaan B<sub>2</sub> tasemed ateroskleroosi ApoE KO hiire mudelis

ApoE KO hiiri toideti tavalise loomatoiduga, millele oli lisatud ühendit C või näite

10 ühendit annuses 3,3 mg/g loomatoidu või vehiikli kohta kaks korda päevas. Veri võeti retroorbitaalse siinuse kaudu ja see jäeti 1 tunniks hüübima temperatuurile 37 °C. Seejärel eraldati ja tromboksaan B<sub>2</sub> tase määrati ELISA-ga.

Tromboksaani kontsentratsioon (ng/ml) leiti olevat järgmine: vehiikel  $76,1 \pm 17,3$ , ühend C (3,3 mg/g)  $33,5 \pm 11,6$ , näite 10 ühend (3,3 mg)  $1,4 \pm 0,7$ .

Eraldi katses manustati ApoE KO hiirtele suukaudselt sondiga vehiiklit või näite 25 ühendit annuses 10 mg/kg. Veri võeti retroorbitaalse siinuse kaudu ja see jäeti 1  
5 tunniks hüübima temperatuurile 37 °C. Seejärel eraldi seerum ja tromboksaan B<sub>2</sub> tase määrati ELISA-ga. Tromboksaani kontsentratsioon (ng/ml) leiti olevat järgmine: vehiikel  $267,9 \pm 34,3$ , näite 25 ühend  $9,4 \pm 5,0$ .

### **cPLA<sub>2</sub> inhibiitori toime insuldimudelites**

cPLA<sub>2</sub> inhibiitori manustamise toimet insuldimudelites hinnati järgnevate  
10 meetoditega.

### **Väikeaju granulaarrakkude primaarkultuurid**

Väikeaju primaarsed granulaarrakud saadi 5.-8.-päevastel (P5-8) rotipoegadelt. Lühidalt, väikeajud koguti ja pandi kokku jääkülma fosfaatpuhverdatud soolalahusesse (PBS), mis ei sisaldanud Ca<sup>2+</sup> ega Mg<sup>2+</sup>. Kude tükeldati peeneks ja viidi  
15 ensümaatilise dissotsiatsiooni söötmesse, mis sisaldab 20 RÜ/ml papaiini Earle tasakaalustatud soolalahuses (Worthington Biochemical, Freehold, NJ) ja inkubeeriti 30 minutit temperatuuril 37 °C. Pärast ensümaatilist dissotsiatsiooni aspireeriti papaiinilahus ja kude tritureeriti mehhaaniliselt leegis poleeritud Pasteuri pipetiga täielikus söötmes [Neurobasal sööde, mis sisaldab B-27 lisandit (Gibco,  
20 Grand Island, NY), penitsilliini/streptomütsiini, afidikoliini, glutamaati, kaaliumkloriidi], mis sisaldab 2000 RÜ/ml DNAasi ja 10 mg/ml ovomukoidi proteaasi inhibiitorit. Üksikute rakkude suspensioonid täielikus söötmes külvati polü-L-ornitiini/laminiiniga kaetud 24 süvendiga plaatidele (Becton-Dickinson, Bedford, MA) tihedusega  $5,0 \times 10^5$  rakku/süvendis. Rakke hoiti 2 nädalat enne katse  
25 läbiviimist.

### Hapniku-glükoosi deprivatsioon (OGD) kultiveeritud neuronites

Kultuure töödeldi ühendiga A mitmesugustes kontsentratsioonides 60 minutit enne OGD. Anaeroobses kambris (gaasisegu 80% lämmastikust, 10% vesinikust, 10% süsinikdioksiidist) asuvale koelt eemaldati sööde ja asendati deoksügeenitud 5 puhvriga. Kultuuridele lisati värsket ühendit A, näite 34 ühendit või näite 41 ühendit ja hoiti anaeroobses kambris 2 tundi. Inkubatsiooni lõpus värsket sööde vahetati ja lisati värsket ühendit A. Kultuure hoiti veel 24 tundi normoksilises inkubaatoris. Rakusurma hinnati laktaadi dehüdrogenaasi sötmesse vabanemise määramisega 24 tundi hiljem (Roche Biochemicals). Allpool tabelis on toodud 10 kontrolli, OGD, ühendi C mitmesuguste kontsentratsioonide ja positiivse kontrollina kasutatud NMDA-retseptori antagonisti MK801-ga saadud väärtused.

### Neuroproteksioon cPLA2 inhibiitoritega OGD puhul

	Kontroll	OGD	0,1 µM	0,3 µM	1 µM	3 µM
Kontroll						
Keskmine	14	51				
Standard hälve	3	5				
Ühend A						
Keskmine			38	31	27	20
Standardhälve			2	5	4	2
Näite 34 ühend						
Keskmine			35	28	21	18
Standardhälve			4	3	3	2

	Kontroll	OGD	0,1 µM	0,3 µM	1 µM	3 µM
Näite 41 ühend						
Keskmine			40	33	30	24
Standardhälve			6	4	5	4

Nendest andmetest on näha, et ühendi A, näite 34 ühendi või näite 41 ühendi manustamine oli efektiivne neuronite kaitsmisel OGD-indutseeritud rakusurma eest. Nii väikeste kontsentratsioonidega nagu 0,1 µM oli nende ühenditega 5 täheldatud rakusurma vähenemine protsentides statistiliselt oluline.

### **cPLA<sub>2</sub> inhibiitori toime Parkinsoni tõve mudelites**

cPLA<sub>2</sub> inhibiitori manustamise toimet Parkinsoni tõve mudelites hinnati järgnevate meetoditega.

### **Dopamiinergiliste neuronite kultuurid**

- 10 Primaarsed dopamiinergilised neuronid eraldati roti E15 embrüotest, nagu on kirjeldanud Pong K. *et al.* ajakirjas *J. Neurochem.*, 1997, 69, 986-994. Lühidalt, keskaju ventraalne osa eraldati ja kude viidi jääkülma fosfaatpuhverdatud soolalahusesse (PBS), mis ei sisaldanud Ca<sup>2+</sup> ega Mg<sup>2+</sup>. Kude viidi ensümaatilise dissotsiatsiooni söötmesse, mis sisaldab 20 RÜ/ml papaiini Earle tasakaalustatud
- 15 soolalahuses (Worthington Biochemical, Freehold, NJ) ja inkubeeriti 30 minutit temperatuuril 37 °C. Pärast ensümaatilist dissotsiatsiooni aspireeriti papaiinilahus ja kude tritureeriti mehhaaniliselt leegis poleeritud Pasteuri pipetiga täielikus söötmes [Neurobasal sööde, mis sisaldas B-27 lisandit (Gibco, Grand Island, NY), penitsilliini/streptomütsiini, afidikoliini, glutamaati, kaaliumkloriidi], mis sisaldab
- 20 2000 RÜ/ml DNAasi ja 10 mg/ml ovomukoidi proteaasi inhibiitorit. Üksikrakkude suspensioonid täielikus söötmes külvati polü-L-ornitiini/laminiiniga kaetud 24

süvendiga plaatidele (Becton-Dickinson, Bedford, MA) tihedusega  $5,0 \times 10^5$  rakku/süvendis. Rakke hoiti enne katse läbiviimist 1 nädal.

### MPP<sup>+</sup> toime dopamiinergilistele neuronitele

Kultuure töödeldi ühendi A, ühendi B, ühendi C ja GDNF (gliiarakkudest pärit neurotroofne faktor, positiivne kontroll) mitmesuguste kontsentratsioonidega mitu tundi enne nende töötlemist neurotoksiini MPP<sup>+</sup>-ga, mis on MPTP toksiline metaboliit. Kultuure töödeldi 10 µM MPP<sup>+</sup> 60 minuti jooksul. Pärast töötlemist värsket sööde vahetati ja lisati värsket ühendit. Dopamiinergiliste neuronite elulemus määrati 24 tundi hiljem, mõõtes <sup>3</sup>H-dopamiini haaret, nagu on iirjeldanud Pong *et al.*, 1997 (eespool). Tulemused on toodud allpool tabelis 4.

### Neuroproteksioon cPLA2 inhibiitoritega MPP<sup>+</sup> puhul

	Kontroll	10 µM MPP	0,3 µM	1 µM	3 µM	10 µM
Keskmine	100	56,6				
Standardhälve	8,2	2,2				
Ühend A						
Keskmine			76,9	83,4	78,8	81,1
Standardhälve			3,4	5,7	3,3	6,4
Ühend B						
Keskmine			74	71,6	78,6	83,2
Standardhälve			3	2	5,5	5,1
Ühend C						

	Kontroll	10 µM MPP	0,3 µM	1 µM	3 µM	10 µM
Keskmine			68,6	70,6	75,9	79,6
Standardhälve			3,8	3,6	2,6	1,3

Nendest andmetest on näha, et nende ühendite manustamine oli efektiivne dopamiinergiliste neuronite elulemuse katsmisel MPP<sup>+</sup> toime eest.

### cPLA<sub>2</sub> inhibiitori toimed osteoartriidi, reumatoidartriidi ja valu mudelites

- 5 Näite 10 ühendiga viidi läbi *in vivo* farmakoloogilised uuringud, et näidata suukaudse manustamise efektiivsust põletiku ja perifeerse valu mudelites, sealhulgas karrageeni indutseeritud käpa turse mudelis (vt Winter, C. A. *et al.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1962, 111, 544-547), kollageeniga indutseeritud artriidi mudelis (vt Trentham, D. E. *et al.*, *J. Exp. Med.*, 146, 828-833) ja Freundi
- 10 täisadjuvandi (CFA) indutseeritud hüperalgeesia mudelis (vt Stein C., *et al.*, *Pharmacology Biochemistry & Behavior.*, 1988, 31, 445-451). Prostaglandiinide ja leukotrieenide inhibeerimine *in vivo* määrati ka CFA-ga indutseeritud käpa turse hüperalgeesia mudelis.

### Karrageeniga indutseeritud käpa turse mudel

- 15 Karrageeniga indutseeritud käpa turse mudel on ägeda põletiku mudel, mis on eriti kasulik prostaglandiinide produktsiooni mõjutavate ühendite hindamiseks *in vivo*. Täpsemalt, MSPVA-d inhibeerivad selles mudelis turset iseloomulikul viisil, st vastus sõltub annusest, ja MSPVA-de toime selles mudelis korreleerub hästi inimesel täheldatud toimega (vt Mukherjee A. *et al.*, *Inflamm. Res.*, 1996, 45,
- 20 531-540). Niisiis testiti näite 10 ühendit karrageeniga indutseeritud käpa turse mudelis. Selles mudelis manustati ühendit suukaudselt 2 tundi enne karrageeni subplantaarset süstimist ja käpa turset hinnati järgneva 3 tunni jooksul. Käpa

turse oli statistiliselt oluliselt vähenenud nii väikese annusega kui 3 mg/kg ja ligikaudne ED<sub>50</sub> (50% maksimaalsest inhibeerimisest) oli 7,5 mg/kg.

Need andmed näitavad, et näite 10 ühend toimib põletiku klassikalises *in vivo* mudelis, mida on kasutatud nii MSPVA-de kui ka COX-2 inhibiitorite efektiivsuse  
5 prognoosimiseks.

### **Näite 10 ühendi toime kollageeni indutseeritud artriidi mudelis**

Näite 10 ühendit testiti hiirtel CIA mudelis, millel on palju immunoloogilisi ja patoloogilisi sarnasusi inimese reumatoidartriidiga (vt Trentham, D. E. *et al.*,  
eespool). Artriit indutseeriti DBA/1LacJ hiirtel veise II tüüpi kollageeni emulsiooni  
10 ja CFA intradermaalse süstimisega, millele järgnes võimendamine Freundi  
mittetäielikus adjuvandis emulgeeritud veise II tüüpi kollageeni intradermaalse  
süstimisega 21 päeva pärast esialgset immuniseerimist. Ühendi efektiivsust  
hinnati poolterapeutilise annustamisskeemi järgi, mida alustati siis, kui 10%  
loomadest olid tekkinud haiguse sümptomid. Sellel momendil jagati loomad  
15 juhuvaliku alusel ravirühmadesse ja neile manustati suukaudselt (p.o.) näite 10  
ühendit (100 mg/kg) kaks korda päevas (bid) 28 päeva jooksul. Kontrollgrupid  
said tselekoksiibi, ainult vehiiklit või neid ei ravitud üldse. Kõiki loomi hinnati iga  
päev pimeviisil silmaga nähtavate haigussümptomite suhtes.

Näite 10 ühendiga ravitud grupi keskmisi skooore võrreldi vehiiklit saanud  
20 kontrollgrupil saadud väärtustega, kasutades Studenti t-testi. Ravi ajal, mis algas  
10. päeval, esines näite 10 ühendiga (100 mg/kg bid) ravitud gruppides haiguse  
raskusastme skooride statistiliselt oluline vähenemine kõikides katsetes ja  
haigussümptomiteta loomade arv oli suurim gruppides, mida raviti näite 10  
ühendiga.

25 Pärast katsete lõpetamist teostati käppade histoloogiline uuring. Kaks  
litsentseeritud veterinaarpatoloogi hindas lõike pimeviisil. Igat käppa hinnati  
numbrilise skoori järgi nii artriidi raskusastme kui ka kahjustatud liigeste üldarvu



järgi. Näite 10 ühendiga (100 mg/kg bid) ravitud hiirtel olid grupi keskmised raskusastme skoorid kõige madalamad ja kahjustamata (0-aste) käppade protsent kõige kõrgem, vehiiklit saanud ja ravimata hiirtel olid grupi keskmised raskusastme skoorid kõige kõrgemad ja kõige kõrgemad ka 3. ja 4. astme kahjustusega käppade protsent kokku. Näite 10 ühendiga (100 mg/kg) ravitud hiirtel oli keskmine raskusastme skoor 0,9/2,1 (patoloog 1/patoloog 2), vehiiklit saanud loomadel aga oli keskmine raskusastme skoor 2,1/3,0. Samasuguseid tulemusi täheldati ka täiendavas katses annusega 100 mg/kg.

### **Näite 10 ühendi toime hüperalgeesia rotimudelil**

10 Perifeersete sensorsete neuronite tundlikkust võib suurendada nii, et need reageerivad nii kahjulikele kui ka mittekahjulikele ärritajatele, põhjustades kroonilist valu (vt Julius, D. *et al.*, *Nature*, 2001, 413, 203; Woolf, C. J. *et al.*, *Science*, 200, 288, 1765). Selle valureaktsiooni tugevnemise eest on osaliselt vastutavad prostaglandiinid ja leukotrieenid põletikukoldes ning koekahjutuse  
15 kohas. Prostaglandiinid soodustavad ion kanalite fosforüülimist, suurendades ärrituvust ja alandades sensorsete neuronite valuläve. Leukotrieen B<sub>4</sub> ja sarnased 12-LO arahhidoonhappe metaboliidid seonduvad analoogselt kapsaitsiinireseptori (või VR<sub>1</sub>-retseptoria) ion kanaliga neuronitel, mis reageerivad soojusele ja madalale pH-le, ning aktiveerivad seda (vt Piomelli D.,  
20 *TRENDS in Pharmacological Sciences*, January 2001, 22 (1), 17-29). Näite 10 ühendi toimet hinnati CFA-indutseeritud hüperalgeesia mudelis ja lipiidse mediaatori produktsioon määrati perifeersetes ja tsentraalsetes kohtades.

Loomadele manustati vehiiklit, näite 10 ühendit, naprokseeni või tselekoksiibi ja seejärel süstiti kohe tagakäpa padjandisse CFA-d. Hüperalgeesia hindamiseks rakendati vasemale tagumisele käpale jõudu aeglaselt ja konstantse kiirusega,  
25 kasutades digitaalset jõutesterit. Mõõtmised toimusid 0 ja 6 tunni pärast. Jõu rakendamine peatati, kui loom tegi häält või hakkas rabelema. Lugemid võeti enne annustamist ja CFA süstimist ning korrati kuus tundi pärast CFA süstimist. Viidi läbi kaks sõltumatut katsetja andmeid analüüsiti eraldi. Näite 10 ühend andis

annusega 25 mg/kg valu statistiliselt olulise vähenemise võrreldes vehiiklit saanud kontrollgrupiga.

Käpad koguti iga katse lõpus (6 tunni pärast) ning eksudaatides määrati PGE<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub> ja TXB<sub>2</sub> tasemed. PGE<sub>2</sub> tase käpas oli oluliselt inhibeeritud näite 10 ühendiga (25 mg/kg) ning kontrollühendite tselekoksiibi ja naprokseeniga. TXB<sub>2</sub> tase oli samuti oluliselt inhibeeritud tselekoksiibiga, kuid inhibeerimine näite 10 ühendi ja naprokseeniga oli suurem kui inhibeerimine tselekoksiibiga, mis näitab COX-1 sõltuva komponendi sünteesile. Nagu arvata oli, inhibeeris näite 10 ühend oluliselt LTB<sub>4</sub> tasemeid, kuid oli tõendeid substraadi suunamisest 5-lipooksügenaasi rajale, sest naprokseeni ja tselekoksiibiga tasemed tegelikult suurenesid.

Kokkuvõttes toimis näite 10 ühend osteoartriidi, reumatoidartriidi ja valu mudelis. Ühend inhibeeris karrageeniga indutseeritud käpa turse mudelis oluliselt turset annuses 3 mg/kg ja 50% maksimaalsest toimest saavutati annusega ~ 7,5 mg/kg. Näite 10 ühendi igapäevane manustamine (100 mg/kg bid) 28 päeva jooksul põhjustas nii kliinilise kui ka histoloogilise hindamise põhjal haiguse olulist vähenemist poolterapeutilises kollageeni indutseeritud artriidi mudelis. Ühend oli efektiivne ka annuses 25 mg/kg hüperalgeesia CFA mudelis.

Näite 10 ühend oli efektiivne ka nii prostaglandiinide kui ka leukotrieenide produktsiooni inhibeerimises kasutatud *in vivo* mudelites. COX-2 sõltuva PGE<sub>2</sub>, COX-1 sõltuva tromboksaani ja 5-LO sõltuva leukotrieen B<sub>4</sub> produktsioon oli käppades, kuhu manustati CFA-d, samuti inhibeeritud.

### **Näite 10 ühendi toime astma närilise- ja lambamudelid**

Astmat on määratletud kui hingamisteede kroonilist põletikulist haigust, mille puhul mängivad rolli paljud rakud ja rakulised elemendid. Vastuvõtlikel inimestel põhjustab see põletik korduvaid või püsivaid hingeldushooge, vilistavat hingamist, pitsitustunnet rinnus ja köha, eriti öösel või varahommikul. Nende hoogudega kaasneb tavaliselt laialt levinud, kuid varieeruv hingamisteede obstruktsioon, mis

sageli laheneb iseenesest või raviga. Põletik põhjustab ka olemasoleva bronhide hüperreaktiivsuse samaaegset suurenemist erinevate ärritajate suhtes. Astma prekliinilised mudelid on aidanud selgitada haiguse patoloogia alusmehhanisme ja on aidanud kaasa astmaravimite väljatöötamisel. Allergilise astmaga seotud  
5 põletikku inhibeerivate ühendite *in vivo* hindamiseks on eriti kasulikud allergeeni indutseeritud kopsupõletiku närilismudelid ja neid kasutatakse laialdaselt glükokortikoidide, leukotrieenireseptori antagonistide, 5-L0 inhibiitorite ja fosfodiesteraas 4 inhibiitorite efektiivsuse hindamiseks (vt Kumar, R. K. *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2003, 307, 349-355; Wu, A.Y. *et al.*, *Clin. Exp. Allergy*,  
10 2003, 33, 359-366; Bell, R. L. *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1997, 280, 1366-1373; Henderson, W. R. Jr. *et al.*, *J. Exp. Med.*, 1996, 184, 1483-1494).

Näite 10 ühendit testiti allergeeni indutseeritud kopsupõletiku nii roti- kui ka hiiremudelid.

Lisaks allergeeni indutseeritud kopsupõletiku mudelitele närilistel, hinnatakse  
15 sageli allergilistel lammastel allergeeni indutseeritud kopsufunktsiooni muutusi. Solkmete suhtes sensibiliseeritud lambal, keda provotseeriti hingamisteede kaudu seasolkmete (*Ascaris suum*) antigeeniga, tekib pöörduv hingamisteede ahenemine ja AHR. Sellel loomudelil teostatud uuringud annavad kindla tõendi, et arahhidoonhappe metaboliitide vabanemine mängib antigeeniga provotseeri-  
20 misel tähtsat rolli brohiaalsete hilisereaktsioonide arenemises (vt Abraham, W. M. *et al.*, *Respiration*, 1989, 56, 48-56). Niisiis hinnati lamba astmamudelid näite 10 ühendi toimet allergeeni indutseeritud kopsufunktsiooni muutustele.

### **Antigeeni indutseeritud kopsupõletiku rotimudel**

Näite 10 ühendi efektiivsust hinnati Brown Norway rottidel mudelis, milles  
25 ovalbumiiniga (OVA) sensibiliseeritud loomi provotseeriti hingamisteede kaudu ovalbumiini (OVA) aerosooliga päeval 1 ja 2. OVA-ga sensibiliseeritud rotte provotseeriti aerosooliga päevadel 1 ja 2. Näite 10 ühendit manustati 2-päevase provokatsiooniperioodi jooksul annuses 30 mg/kg p.o. bid 1 tund enne provokatsiooni ja 10 tundi pärast provokatsiooni. Deksametasooni manustati annuses 3

mg/kg i.p. 1 tund enne provokatsiooni päeval 1 ja 2. Loomad surmati päeval 3 ja teostati bronhoalveolaarne lavaaž rakkude esinemise analüüsimiseks. Suukaudse annuse 30 mg/kg manustamine kaks korda päevas 2-päevase provokatsiooni-perioodi jooksul vähendas statistiliselt oluliselt bronhoalveolaarse lavaaži vedelikus (*bronchoalveolar lavage fluid*, BALF) eosinofiilide hulka 8 sõltumatust uuringust kõigis kaheksas uuringus. Näite 10 ühend vähendas testitud annuses samuti statistiliselt oluliselt põletikurakkude koguarvu BALF-is, kuid ei mõjutanud oluliselt lümfotsüütide või neutrofiilide hulka selles mudelis.

### 10 **Näite 10 ühendi toime antigeeni indutseeritud varase ja hilise faasi bronhokonstriksiooni ning AHR-i lambamudelis**

Allergeeni indutseeritud pöörduv hingamisteede ahenemine ja AHR on allergilise astma kaks peamist tunnust, mida võib uurida *in vivo* astma lambamudelis. Selle loommudeliga teostatud uuringud annavad kindla tõendi, et arahhidoonhappe metaboliitide vabanemine mängib antigeeniga provotseerimisel tähtsat rolli brohiaalsete hilisereaktsioonide arenemises (vt Abraham, W. M. *et al.*, *Respiration*, 1989;56:48-56). Leukotrieenide vabanemine LO raja kaudu ägeda bronhokonstriksiooni ajal pärast seasolkmete antigeeni inhalatsiooni on võtmefaktoriks järgnevate sündmuste, nimelt hilise faasi vastuse ja bronhide hüperreaktiivsuse, käivitumisele. 5-LO inhibiitor zileuton blokeerib selles mudelis antigeeni indutseeritud hingamisteede hilise faasi vastust, põletikku ja AHR, samas selektiivse LTD<sub>4</sub>-retseptori antagonist montelukasti i.v. püsiinfusioon nõrgendab nii astma varase kui ka hilise faasi vastust (vt Abraham, W. M. *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.*, 1992, 217, 119-126; Jones, T. R. *et al.*, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1995, 73, 191-201). Peale selle võib LTD<sub>4</sub>/TXB<sub>2</sub> mõlema inhibiitori suukaudne manustamine inhibeerida nii varase faasi kui ka hilise faasi vastust, samuti AHR-i karbakooli ja histamiini suhtes (vt Abraham, W. M. *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1988, 247, 1004-1011). PAF on samuti seotud hilise faasi vastusega selles mudelis, mis kinnitab veelgi kontseptsiooni, et lipiidse mediaatori täielikum blokaad cPLA<sub>2</sub> antagonistiga võib anda parema kliinilise efektiivsuse võrreldes praeguste antileukotrieenidega (vt Abraham, W. M. *et al.*, *J. Appl. Physiol.*, 1989, 66, 2351-2357).

Näite 10 ühendit manustati annuses 3 mg/kg bid (p.o.) 24 tundi enne provokatsiooni, 2 tundi enne provokatsiooni ja 8 tundi pärast provokatsiooni.

Järgneva 8-tunnise perioodi jooksul määrati 3 individuaalsel lambal hingamisteede resistentsuse keskmine suurenemine protsentides. Täeldati  
5 astma hilise faasi vastuse täielikku blokaadi.

Järgmisel päeval hinnati nendel samadel ravitud lammastel hingamisteede hüperreaktiivsust (*airway hyperresponsiveness*, AHR), määrates karbakooli kumulatiivse kontsentratsiooni, mis suurendas kopsude spetsiifilist resistentsust 400%. Ravi näite 10 ühendiga põhjustas hingamisteede hüperreaktiivsuse  
10 täielikku blokaadi. Laiendatud annustamisskeemi järgi manustati näite 10 ühendit annuses 3 mg/kg p.o. bid 4 päeva enne provokatsiooni, 2 tundi enne provokatsiooni viiendal päeval ja 8 tundi pärast provokatsiooni.

Järgneva 8-tunnise perioodi jooksul määrati 5 individuaalsel lambal hingamisteede resistentsuse keskmine suurenemine protsentides ja selles  
15 laiendatud annustamisskeemi kasutamisel esines astma varase faasi vastuse mõõdukas, kuid statistiliselt oluline inhibeerimine, lisaks esines hilise faasi vastuse täielik blokeerimine ja karbakooliaerosooli toimet tekkinud AHR-i täielik blokeerimine.

Eespool toodud andmed näitavad, et näite 10 ühend on astma loomudelites  
20 allergeeni indutseeritud kopsupõletiku, bronhokonstriktiooni ja AHR-i tugev inhibiitor.

Leiutisekohased ühendid inhibeerivad cPLA<sub>2</sub> aktiivsust, mis on vajalik tsüklooksügenaas-1 või 2 ja 5-lipooksügenaasi varustamiseks arahhidoonhappe substraadiga, ja need omakorda käivitavad vastavalt prostaglandiinide ja  
25 leukotrieenide produktsiooni. Peale selle on cPLA<sub>2</sub> aktiivsus oluline PAF-i eelühendiks olevate lüsofosfolipiidide produktsiooniks. Niisiis on need ühendid kasulikud haigusseisundite ravis ja vältimises, milles osalevad leukotrieenid,

prostaglandiinid või PAF. Peale selle, haiguste puhul, milles mängib rolli rohkem kui üks nendest ainetest, võiks cPLA<sub>2</sub> inhibiitor olla veelgi efektiivsem kui leukotrieeni-, prostaglandiini- või PAF-retseptori antagonistid ja samuti efektiivsem kui tsüklooksügenaasi või 5-lipooksügenaasi inhibiitorid.

- 5 Niisiis on käesoleva leiutise kohased ühendid, ravimkoostised ja annustamis-  
skeemid kasulikud haiguste raviks ja vältimiseks, mida ravitakse tsüklo-  
oksügenaas-2, tsüklooksügenaas-1 ja 5-lipooksügenaasi inhibiitoritega ning  
samuti PAF-, leukotrieeni- või prostaglandiinireseptori antagonistidega.  
Leiutisekohaste ühenditega ravitavad haigused hõlmavad, kuid mitte ainult,  
10 kopsuhaigusi, sealhulgas haigusi, nagu astma, krooniline bronhiit ja sarnased  
hingamisteede obstruktiivsed haigused, allergiaid ja allergilisi reaktsioone, nagu  
allergiline nohu, kontaktdermatiit, allergiline konjunktiviit jms, põletikku, nagu artriit  
või põletikuline soolehaigus, nahahaigusi, nagu psoriaas, atoopiline ekseem,  
akne, UV-kahjustus, põletused ja dermatiit, kardiovaskulaarseid haigusi, nagu  
15 ateroskleroos, stenokardia, müokardiisheemia, hüpertensioon, vereliistakute  
agregatsioon jms ning immunoloogilisel või keemilisel teel tekkinud  
neerupuudulikkust. Ravimitel võib olla ka tsütoprotektiivne toime, mis kaitseb  
seedetrakti limaskestast kahjulike ainete eest. Ühendid on kasulikud ka täiskasvanu  
respiratoorse distressi sündroomi, endotoksilise šoki ja kahjustusest, sealhulgas  
20 müokardi- või ajukahjustusest põhjustatud isheemia ravis.

- Astma ravimise, inhibeerimise, leevendamise või vähendamise meetodid  
hõlmavad neid, mida kasutatakse välistegur-astma (tuntud ka kui allergiline astma  
või atoopiline astma), sisetekkeline astma (tuntud ka kui mitteallergiline astma või  
mitteatoopiline astma) või mõlema kombinatsiooni puhul, mida on nimetatud  
25 segatüüpi astmaks. Meetodid nende puhul, kes kannatavad või põevad välistegur-  
astmat või allergilist astmat, hõlmavad juhte, mis on põhjustatud või seotud  
paljude allergeenidega, nagu õietolmu, eosed, kõrrelised või rohi, lemmiklooma  
kõõm, tolm, lestad jms. Kuna allergeenid ja teised ärritajad esinevad erineval  
määral kogu aasta vältel, nimetatakse seda tüüpi juhte ka sesoonseks astmaks.  
30 Välistegur-astma rühma kuuluvad ka bronhiaalastmad ja allergiline  
bronhopulmonaalne aspergilloos.

Sisetekkelised astmad, mida võib ravida või leevendada ülaltoodud meetoditega, hõlmavad neid, mida põhjustavad nakkustekitajad, nagu külma- ja gripiviirused täidkasvanutel ning respiratoorne süntsütiaalviirus (RSV), rinoviirus ja gripiviirused, mis esinevad sageli lastel. Siia kuuluvad ka astmaseisundid, mis võivad olla põhjustatud mõnedel astmaatikutel koormusest ja/või külmast õhust. Meethodid on kasulikud sisetekkeliste astmate puhul, mis on põhjustatud kokkupuutest tööstulike ja töökeskkonnas esinevate ohtlike teguritega, nagu suits, osoon, kahjulikud gaasid, vääveldioksiid, dilämmastikoksiid, aurud, sealhulgas isotsüanaadiaurud, värvidest, plastidest, polüuretaanidest, lakkidest jms pärit aurud, puidu-, taimede või teised orgaanilised tolmud jne. Meethodid on kasulikud ka astmajuhtudel, mis on seotud toidulisandite, konservantide või farmakoloogiliste ainetega. Sagedasteks seda tüüpi aineteks on toiduvärvid nagu tartrasiin, konservandid, nagu bisulfitid ja metabisulfitid, ning farmakoloogilised ained, nagu aspiriin ja mittesteroidsed põletikuvastased ained (MSPVA-d). Hõlmatakse ka selliste astmatüüpide ravi, inhibeerimise või leevendamise meetodeid, mida nimetatakse varjatud astmaks või kõhana esinevaks astmaks.

Järgmine astma ravimise meetod hõlmab leiutisekohase ühendi, nagu eespool on kirjeldatud, farmatseutiliselt efektiivse koguse ja ühe või enama täiendava astmavastase aine manustamist sellist ravi vajavale.

Astmavastased ained, mis on kasulikud nendes kombinatsioonides, hõlmavad pikaajalist kontrolli võimaldavaid ravimeid, nagu kortikosteroidid (glükokortikoidid), kromolüünnaatrium (dinaatriumkromoglükaat, DSCG), nedokromiil, metüülksantiinid (nagu teofülliin) ja leukotrieni modifitseerijad. Kasulikud leukotrieni modifitseerijad hõlmavad leukotrieenireseptori antagoniste, nagu zafirlukast (Accolate<sup>®</sup>) ja monetlukast (Singulair<sup>®</sup>) ning 5-lipooksügenaasi inhibiitoreid, nagu zileuton (Zyflo<sup>®</sup>). Kasulikud kortikosteroidid hõlmavad inhaleeritavaid preparaate, nagu beklometasoonidipropionaat, budesoniid, flunisoliid, flutikasoon ja triamtsinoloon, samuti nende farmatseutiliselt vastuvõetavaid soolavorme. Kasulikud on ka süsteemse toimega kortikosteroidid, nagu prednisoon, prednisoloon ja metüülprednisoloon.

- Samuti on kasulikud kiiret leevendust andvad astmavastased ravimid, nagu pikatoimelised  $\beta_2$ -agonistid, lühitoimelised  $\beta_2$ -agonistid, antikoliinergilised ained ja süsteemse toimega kortikosteroidid.  $\beta$ -adrenergilised ained, mida võib kasutada, hõlmavad epinefriini, isoproterenooli, metaproterenooli, terbutaliini, isoetariini, albuterooli, bitolterooli ja perbuterooli. Kasulikud antikoliinergilised ained hõlmavad atropiini (ja selle derivaati ipatroopiumbromiidi) ja glükopürrolaati. Leiutisekohaseid ühendeid võib kasutada astma raviks ka koos allergia immunoteraapiaga, mida nimetatakse tehnika tasemes ka hüposensibilisatsioonraviks. Neid ühendeid võib manustada tehnika tasemest tuntud annustes ja skeemide järgi.
- 10 Täiendavad astmavastased ained, mida võib kasutada leiutisekohastes kombinatsioonides, hõlmavad pranlukasti, anakinrat, seratrodasti, olopatadiinvesinikkloriidi, kromoglükaatlisetiili, ramatrobaani, interleukiin-4 retseptorit (Immunex), urodilatiini, kolforsiindaropaati, salbutamooli, LCB-2183, andolasti, tsiklesoniidi, budesoniidi, formoterooli, omalisumabi, tranilasti, saredutanti, CDP-835 (IL-5 vastane monokloonne antikeha), feksofenadiinvesinikkloriidi, *N*-(1-(klorofenüül)-1-metüületüül)-3-(imidasool-1-üül)propüülamiindivesinikkloriidi (BTS-71-321), tsilomilasti, bimosiamoosi, kortikotropiini vabastavat faktorit, klenoliksimabi, tiotropiumbromiidi, 2*H*-1,2-bensoseleensiin, 3,4-dihüdرو-4,4-dimetüül (BXT-51072), atreleutooni, (*R*)-salbutamooli, 8-metoksükinoliin-5-(*N*-(2,5-dikloropüridiin-3-üül))karboksamiidi (D-4418), triamtsinolonatsetoniidi, KW-4490 (KF-19514), LAX-300 (LX-109), IDEC-152 (ST-152, CD23-vastane antikeha), tsütokiini blokaatoreid (*cytokine traps*), anandamiidi, SRL-172, salmeterooli + flutikasooni, KCA-757, 2-püridiinkarboksüülhapet, 6-(2-(3,4-dietoksüfenüül)-4-tiasolüül)-(OPC-6535), PM-56D9, salbutamooli, CT-2820 (PDE4 inhibiitorid), beklometasooni, nepadutanti, ketotifeenfumaraati, DHEAS (PB-005), Pharmaprojects No. 5163, No. 5278 ja No. 5297, salbutamoolsulfaati, EPI-2010 (EpiGenRx), mepolisumabi, bensamiidi, *N*-(5-(3-((4-klorofenüül)sulfonüül)propüül)-2-(1*H*-tetrasool-5-üül-metoksü)fenüül)-3-(4-(1,1-dimetüületüül)-2-tiasolüül)metoksü)bensaniliidi mononaatriumsoola (YM-158), 2-(4-etoksükarbonüülaminobensüül)-6-(3,4-dimetoksüfenüül)-2,3,4,5-tetrahüdرو-püridasiin-3-ooni, Farmaproject No. 5450, Sch-205528, L-826141 (Farmaprojects No. 5477), budesoniidi, duramütsiini, 4,4-bis(4-(kinoliin-
- 15
- 20
- 25
- 30



2-üülmetoksü)fenüül)pentaanhappe naatriumisoola (VML-530), IL-9 inhibiitorit, beklometasoondipropionaati, formoterooli, tsüklo(MePhe-Leu-Asp-Val-D-Arg-D-Arg) (ZD-7349), salbutamooli, 2-(((2-atsetüül-4-((1-oksoheksadetsüül)amino)fenoksü)hüdrosüfosfinüül)oksü)-*N,N,N*-trimetüüleetaanamiiniumi sisesoola (CPR-2015), PD-168787 (CI-1018), katepsiin S inhibiitoreid, SB-240683 (IL-4 vastane monokloonne antikeha), BIIL-284, APC-2059, budesoniidi + formoterooli, Bay-16-9996 (IL-4 antagonist), beklometasooni, GW-328267, VLA-4 antagonist, 4-hüdrosü-1-metüül-3-oktüüloksü-7-sinapinoöülamino-2(1*H*)-kinolinooni (TA-270), CpG-7909 (ProMune), DNK-333A (Farmaprojects No. 6070), AWD-12-281, LM-1507 (LM-1484), formoterooli, MOL-6131, katepsiin S inhibiitoreid, CS-615, ibudilasti, 2-*N*-(4-(4-klorofenüülsulfonüülamino)butüül)-*N*-(3-(2-(4-tsüklobutüültiasool-2-üül)etüül)bensüül)sulfamoüül}bensoehapet (S-36527) ja 2-*N*-(4-(4-klorofenüülsulfonüülamino)butüül)-*N*-(3-((4-isopropüültiasool-2-üül)metüüloksü)bensüül)sulfamoüül}bensoehapet (S-36496).

15 Käesoleva leiutise kohased ühendid ja koostised on kasulikud ka gastroösofagealse reflukshaigusega (GERD), mis võib stimuleerida bronhokonstriksiooni, seotud sisetekkelise astma raviks ja leevendamiseks. GERD koos organismis peetuvate sekreetidega, mahasurutud köha ning kokkupuude allergeenide ja ärritajatega magamistoas võivad soodustada  
20 astmaatilisi seisundeid ja neid nimetatakse ühekoos öiseks astmaks või nokturnaalseks astmaks. GERD-iga seotud astma ravimise, inhibeerimise või leevendamise meetodites võib kasutada leiutisekohaste ühendite farmatseutiliselt efektiivset kogust, nagu siin on kirjeldatud, kombinatsioonis GERD-i ravis kasutatava aine farmatseutiliselt efektiivse kogusega. Need ained hõlmavad, kuid  
25 mitte ainult, prootonpumba inhibiitoreid, nagu Protonix.RTM, mis on toimeainet viivitatult vabastavate pantoprasoolnaatriumi tablettide kaubamärk, Prilosec.RTM, mis on toimeainet viivitatult vabastavate omeprasooli kapslite kaubamärk, Aciphex.RTM, mis on toimeainet viivitatult vabastavate rebepprasoolnaatriumi tablettide kaubamärk, või Prevacid.RTM, mis on toimeainet viivitatult vabastavate  
30 lansoprasooli kapslite kaubamärk.

Leiutisekohaseid ühendeid võib kasutada ka palavikuvastase ainena. Leiutisekohaseid ühendeid võib kasutada valu ravimise meetodites, eriti põletikuga kaasneva valu korral. Konkreetseid meetodeid hõlmavad, kuid mitte ainult, neid, mida kasutatakse tsentraalselt vahendatud valu, perifeerselt vahendatud valu, skeletilihaste valu, nimme-ristluuvalu, struktuurse või pehmekoe kahjustusega seotud valu, progresseeruva haigusega, nagu onkoloogilised ja degeneratiivsed haigused, seotud valu, neuropaatilise valu, mis võib hõlmata nii ägedat valu, nagu ägeda vigastuse või traumaga seotud valu, kirurgiaeelset ja -järgset valu, migreenooset valu, hambavalu jms, kroonilist valu, nagu diabeetilise perifeerse neuropaatiaga seotud neuropaatilise valu seisundid, postherpeetiline neuralgia ja fibromüalgia, kui ka põletikuseisunditega, nagu osteoartriit või reumatoidartriit, seotud valu, ägeda vigastuse või trauma tagajärgedega seotud valu ja vähiga seotud valu raviks.

Leiutisekohaseid ühendeid võib kasutada artriitiliste haiguste, sealhulgas, kuid mitte ainult, reumatoidartriidi, spondüloartropaatiate, podagra, nakkusliku artriidi, osteoartriidi (mis hõlmab erosiivset osteoartriiti ja mis on tuntud ka kui osteoartroos või degeneratiivne liigesehaigus või DJD), süsteemse erütematoosluupuse ja juveniilse artriidi leevendamiseks, pärssimiseks, vähendamiseks ja/või ravimiseks imetajal. Igaüks nendest meetoditest hõlmab leiutisekohase asendatud indooli, nagu siin on kirjeldatud, või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola või estri farmatseutiliselt efektiivse koguse manustamist seda vajavale imetajale.

Peale selle võib leiutisekohaseid ühendeid kasutada spondüliidiga seotud artriitiliste seisundite, sealhulgas anküloseeriva spondüliidi, reaktsiivse artriidi (Reiteri sündroomi), psoriaatilise artriidi, kroonilise põletikulise soolehaigusega seotud artriidi ja AIDS-ga seotud seronegatiivse spondüloartropaatia leevendamiseks, pärssimiseks, vähendamiseks ja/või raviks.

Leiutis esitab ka ülalmainitud ühendid kasutamiseks reumaatiliste haiguse ja haigusseisundite raviks, leevendamiseks või pärssimiseks. Need ühendid on kasulikud süsteemse erütematoosluupuse, süsteemse skleroosi ja sklerodermia-vormide, polümüosiidi, dermatomüosiidi, nekrotiseeriva vaskuliidi ja teiste

vaskulopaatiate, ülitundlikkusest põhjustatud vaskuliidi (sealhulgas Henochi-Schönleini purpuri), Wegeneri granulomatoosi, hiidrakulise arteriidi, mukokutaanse lümfisõlmesündroomi (Kawasaki tõve), Behceti sündroomi, krüoglobulineemia, juveniilse dermatomüosiidi, Sjögreni sündroomi, kattuvate 5 sündroomide (sealhulgas segatüüpi sidekoehaiguse), reumaatilise polümüalgia, sõlmelise erüteemi, relapseeruva polükondriidi, tendoniidi (tenosünoviidi), kakspealihase tendiniidi, bursiidi, küünarnuki bursiidi, õlgade adhesiivse kapsuliidi (külmunud õlg), plõksuva sõrme ja Whipple'i tõve raviks.

Leiutisekohased ühendid on kasulikud ka reumaatiliste seisunditega metaboolsete 10 ja endokriinsete haiguste, sealhulgas podagra, pseudopodagra, kondrokaltsinoosi, amüloidoosi, skorbuudi, spetsiifilise ensüümi vaegusseisundite (sealhulgas Fabry tõve, alkaptonuuria, ohronoosi, Leschi-Nyhani sündroomi ja Gaucher' tõve), hüperlipoproteineemiate (II, Ila, IV tüüpi), Ehlersi-Danlosi sündroomi, Marfani sündroomi, pseudoksantoomi-elastoomi (*pseudoxanthoma 15 elasticum*), Wilsoni tõve, raviks, leevendamiseks või pärssimiseks. Käesolevate ühenditega on ravitavad ka endokriinsete haigustega, nagu suhkurdiabeet, akromegaalia, hüperparatüreoidism, progresseeruv luustuv müosiit, hüpermobiilsuse sündroomid, *arthrogryposis multiplex congenita*, ja kilpnäärmehaiguste, nagu türeoidiit, hüpötüreoidism ja hüpertüreoidism, seotud reumaatilised 20 seisundid. Neid ühendeid võib kasutada ka kasvajatega, nagu primaarsed kasvajakasvaja (sünovioom), metastaatilised kasvajakasvaja, hulgimüeloom, leukeemia ja lümfoom, villonodulaarse pigmentsünoviidi, osteokondromatoosi jt seotud reumaatiliste seisundite puhul. Leiutisekohaste ühendite kasutamine hõlmab ka neuropaatiliste haigustega, sealhulgas Charcot' liigese, käte vibratsioonitõve 25 (tuntud ka kui vibratsioonist põhjustatud käte verevarustuse häired ehk „valged sõrmed” või Raynaud' fenomen), korduvate stressisündroomide, reflektorse sümpaatilise düstroofia ja kompressioonneuropaatiate, nagu perifeerne entrapment (sealhulgas karpaalkanali sündroom, pronatorisündroom, rindkereava sündroom ja tarsaalkanalisündroom), radikulopaatia ja 30 spinaalstenoosiga seotud reumaatiliste seisundite leevendamist.

Leiutis esitab veel leiutisekohase ühendi artriitiliste haiguste leevendamiseks, pärssimiseks, vähendamiseks või ravimiseks imetajal.

Kombinatsioonid artriitiliste haiguste raviks võivad sisaldada kaubanduslikult saadavaid antireumaatilisi aineid, nagu, kuid mitte ainult, naprokseen, mis on  
5 kaubanduslikult saadaval EC-Naprosyn.RTM. toimeainet viivitatult vabastavate tablettidena, Naprosyn.RTM., Anaprox.RTM. ja Anaproks.RTM. DS tablettidena ning Naprosyn.RTM. suspensioonina firmast Roche Labs, tselekoksiibi tablettidena tootemargina Celebrex.RTM., rofekoksiibina tootemargina Vioxx.RTM., betametasoonina tootemargina Celestone.RTM., penitsillamiini  
10 kapslitena tootemargina Cupramine.RTM., tiitritavate penitsillamiini tablettidena tootemargina Depen.RTM., metüülprednisoloonatsetaadi süstesuspensioonina tootemargina Depo-Medrol, leflunomiidi tablettidena Arava.TM, toimeainet viivitatult vabastavate sulfasalasiini tablettidena tootemargina Azulfidine EN-tabs.RTM., piroksimaami kapslitena tootemargina Feldene.RTM.,  
15 diklofekankaaliumi tablettidena tootemargina Cataflam.RTM., toimeainet viivitatult vabastavate diklofenaknaatriumi tablettidena tootemargina Voltaren.RTM., toimeainet aeglustatult vabastavate diklofenaknaatriumi tablettidena tootemargina Voltaren.RTM..-XR, etanertsepti preparaadidena Enbrel.RTM. (me peaks lisama teiste bioloogiliste ainete kasutamist RA puhul) ja teisi kaubanduslikult saadavaid  
20 antireumaatilisi aineid.

Kasulikud on ka tsüklosporiini kapslid tootemargina Gengraf.TM, tsüklosporiini kapslid või suukaudne lahus tootemargina Neoral.RTM., asatiopriini tabletid või  
i.v. süstid tootemargina Imuran.RTM., indometatsiini kapslid, suukaudne suspensioon ja suposiidid tootemargina Indocin.RTM., prednisoloon-  
25 naatriumfosfaadi suukaudne lahus Pediaped.RTM., hüdroksüklorokiinsulfaat tootemargina Plaquenil.RTM., prednisolooni siirup tootemargina Prelone.RTM., rekombinantne infliksimab i.v. süstimiseks Remicade.RTM. ja metüül-prednisoloonnaatriumsuktsinaat süstimiseks Solu-Medrol.RTM.

Samuti on kasulikud ülalmainitud kombinatsioonides kullaühendid ja preparaadid, nagu auranofiin või kuldnaatriumtiomalaat süstimiseks Myochrisyine.RTM., mis on kasulikud artriidi ja reumaatiliste seisundite raviks.

Igeühte neist preparaatidest võib manustada tehnika tasemest tuntud farmatseutiliselt efektiivsetes annustes ja skeemide järgi, nagu kirjeldatakse preparaate puhul raamatus *Physicians' Desk Reference*, 55. väljaanne, 2001, avaldatud *Medical Economics Co., Inc., Montvale, N.J.*

Leiutisekohaseid ühendeid võib manustada ka koos analgeetikumide ja põletikuvastaste ainetega, nagu MSPVA-d ja aspiriin ning teised salitsülaadid. Kasulike ainete näited hõlmavad ibuprofeeni (Motrin.RTM, Advil.RTM.), naprokseeni (Naprosyn.RTM.), sulindakki (Clinoril.RTM.), diklofenakki (Voltaren.RTM.), piroksikaami (Feldene.RTM.) ketoprofeeni (Orudis.RTM.), diflunisaali (Dolobid.RTM.), nabumetooni (Relafen.RTM.), etodolakki (Lodine.RTM.), oksaproosiini (Daypro.RTM.), indometatsiini (Indocin.RTM.), meloksikaami (Mobicox.RTM.), valdekoksiibi ja eterokoksiibi. Aspiriin on põletikuvastase toimega, kui seda manustatakse suurtes annustes, muidu on tal ainult valuvaigistav toime nagu atseetaminofeenil (Tylenol.RTM.).

Sobivad tsüklooksügenaas-2 (COX-2) inhibiitorid kasutamiseks leiutise kohaste ühenditena hõlmavad, kuid mitte ainult, 2-(4-etoksüfenüül)-3-(4-metaan-sulfonüülfenüül)pürasolo[1,5-*b*]püridasini, CDC-501, tselekoksiibi, COX-189, 4-(2-okso-3-fenüül-2,3-dihüdooksasool-4-üül)benseensulfoonamiidi, CS-179, CS-502, D-1367, darbufelooni, DFP, DRF-4367, flosuliidi, JTE-522 (4-(4-tsükloheksüül-2-metüül-5-oksasolüül)-2-fluorobenseensulfoonamiidi), L-745337, L-768277, L-776967, L-783003, L-791456, L-804600, meloksikaami, MK663 (etorikoksiibi), nimesuliidi, NS-398, parekoksiibi, 1-metüülsulfonüül-4-(1,1-dimetüül-4-(4-fluorofenüül)tsüklopenta-2,4-dieen-3-üül)benseeni, 4-(1,5-dihüdro-6-fluoro-7-metoksü-3-(trifluorometüül)-(2)-bensotiopürano[4,3-*c*]pürasool-1-üül)benseensulfoonamiidi, 4,4-dimetüül-2-fenüül-3-(4-metüülsulfonüül)fenüül)tsüklobutenooni, 4-amino-*N*-(4-(2-fluoro-5-trifluorometüül)τίαςool-2-üül)benseensulfoonamiidi, 1-(7-*tert*-butüül-2,3-dihüdro-3,3-dimetüül-5-bensofuranüül)-4-tsüklopropüülbutaon-

1-ooni, *Farmaprojects No. 6089* (Kotobuki Pharmaceutical), RS-1 13472, RWJ-63556, S-2474, S-33516, SC-299, SC-5755, valdekoksiibi, UR-8877, UR-8813, UR-8880. Järgmised sobivad COX-2 inhibiitorid kasutamiseks leiutise kohaselt hõlmavad parekoksiibi, MK663, 4-(4-tsükloheksüül-2-metüül-5-oksasolüül)-2-fluorobenseensulfoonamiidi (JTE-522), nimesuliidi, flosuliidi, DFP ja 2-(4-etoksüfenüül)-3-(4-metaansulfonüülfenüül)pürasolo[1,5-*b*]püridasiini ja nende füsioloogiliselt vastuvõetavaid sooli, estreid või solvaate.

Sellised koostised on kasulikud ka menstruatsioonikrampide, enneaegse sünnituse, tendoniidi, bursiidi, allergilise neuriidi, tsütomegaloviirusnakkuse, apoptoosi, sealhulgas HIV-indutseeritud apoptoosi, nimmevalu, maksahaiguse, sealhulgas hepatiidi, ravis.

Järgmised kasutused hõlmavad põletiku ravi selliste haiguste korral, nagu veresoonte haigused, migrenoossed peavalud, sõlmeline periarteriit, türeoidiit, aplastiline aneemia, Hodgkini tõbi, skleroom, reumaatiline palavik, I tüüpi diabeet, neuromuskulaarse sünnipäeva haigus, sealhulgas raskekujuline müasteenia, valgeaine haigus, sealhulgas hulgiskleroos, sarkoidoos, nefrootiline sündroom, Behceti sündroom, polümüosiit, gingiviit, nefriit, ülitundlikkus, vigastusejärgselt tekkiv turse, sealhulgas ajuturse, müokardiisheemia jms. Hõlmatakse ka silmahaigusi, nagu retiniit, konjunktiviit, retinopaatiad, uveiti, silmade fotofoobia ja silmakoe akuutne vigastus. Leiutisekohased ühendid on kasulikud operatsioonijärgse, sealhulgas silmakirurgiajärgse, nagu kae eemaldus või refraktiivne silmakirurgia, põletiku ravis. Hõlmatakse ka kopsu- ja ülemiste hingamisteede põletiku, nagu viirusnakkuste ja tsüstilise fibroosiga kaasnevate, ning luu resorptsiooniga nagu osteoporoos kaasneva põletiku ravi. Need ühendid ja koostised on kasulikud ka kesknärvisüsteemi haiguste, nagu kortikaalsed dementsused, sealhulgas Alzheimeri tõbi, neurodegeneratsioon, ning insuldist, isheemiast ja traumast põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustuste raviks. Leiutisekohased ühendid võivad olla kasulikud ka Parkinsoni tõve ravis.

Valu ravimise meetodid hõlmavad leiutisekohase ühendi farmatseutiliselt efektiivse koguse, üksi või kombinatsioonis ühe või enama täiendava

farmatseutiliselt efektiivse ainega, manustamist sellise valu all kannatavale indiviidile valu või põletiku või nende põhjuseks olevate meditsiiniliste seisundite raviks. Raviainete, mida võib kombineerida leiutisekohaste ühenditega, näited hõlmavad analgeetikume, antiangiogeenseid aineid, kasvajavastaseid aineid.

5 Neid ühendeid võib kombineerida ka valuvaigistava toimega epilepsiavastaste ühenditega, nagu gabapentiin ja pregabaliin.

Üks selline kombineerimise meetod hõlmab leiutisekohase ühendi farmatseutiliselt efektiivse koguse ja mittetoksilise *N*-metüül-*D*-aspartaadi-retseptori (NMDA-retseptori) antagonisti ja/või vähemalt ühte NMDA-retseptori

10 aktivatsiooni peamist intratsellulaarset sündmust blokeeriva aine farmatseutiliselt efektiivse koguse manustamist seda vajavale imetajale. NMDA-retseptori antagonistide, mis on kasulikud nendes meetodites, näited hõlmavad dekstrometorfaani, dekstrorfaani, amantadiini ja memantiini või nende farmatseutiliselt vastuvõetavaid sooli.

15 Järgmine põletiku ja põletikuseisundite ravimise meetod hõlmab indutseeritava lämmastikoksiidi süntaasi inhibiitori ja leiutisekohase ühendi koosmanustamist seda vajavale imetajale. Selle kombinatsiooni manustamine on kasulik profülaktiliseks ja terapeutiliseks manustamiseks imetajale, kellel esineb ebanormaalselt madal lämmastikoksiidi süntaasi (NOS) aktiivsus või kellel on

20 selleks soodumus, eriti neil, kellel on hüpertensioon või pulmonaalse hüpertensiooni kõrge risk, isheemiline insult, müokardiinfarkt, südamepuudulikkus, progresseeruv neeruhaigus, tromboos, reperfusioonikahjustus või närvisüsteemi degeneratiivne haigus nagu Alzheimeri tõbi, või neil, kes pidevalt puutuvad kokku hüpoksiliste seisunditega.

25 Leiutis hõlmab siin ka ühendeid kombinatsioonis valgulise interleukiin-1 inhibiitoriga nagu IL-1 retseptori antagonist (IL-1ra) põletikuliste haiguste vältimiseks või raviks imetajal. Nende meetodite puhul huvipakkuvad ägedad ja kroonilised interleukiin-1 (IL-1) vahendatud põletikulised haigused hõlmavad, kuid mitte ainult, ägedat pankreatiiti, ALS-i, Alzheimeri tõbe, kahheksiat/anoreksiat,

30 astmat, ateroskleroosi, kroonilist väsimussündroomi, palavikku, diabeeti (nt

insuliindiabeeti), glomerulonefriiti, transplantaadi hülgamisreaktsiooni, hemorraagilist šokki, hüperalgeesiat, põletikulist soolehaigust, liigeste põletikulisi haigusseisundeid, sealhulgas osteoartriit, psoriaatilist artriiti ja reumatoidartriiti, isheemilist kahjustust, sealhulgas ajuisheemiat (nt traumast, epilepsia, hemorraagiast või insuldist tingitud ajukahjustust, millest igaüks võib põhjustada neurodegeneratsiooni), kopsuhaigusi (nt ARDS-i), hulgimüeloomi, hulgiskleroosi, müelogeenseid (nt AML ja CML) ja teisi leukeemiaid, müopaatiaid (nt valgumetabolismi häired lihastes, eriti sepsise korral), osteoporoosi, Parkinsoni tõbe, valu, enneaegset sünnitust, psoriaasi, reperfusioonikahjustust, septilist šokki, kiiritusravi kõrvaltoimeid, temporomandibulaaliigese haigust, kasvaja metastaase või venitusest, nikastusest, kõhrekahjustusest, traumast, ortopeedilisest kirurgiast põhjustatud põletikuseisundeid, nakksut või teisi haigusprotsesse.

Tsütosoolne fosfolipaas  $A_2\alpha$  (cPLA $_2\alpha$ ) on kõikjal ekspresseeruv ensüüm, mis vahendab eeskätt arahhidoonhappe vabanemist rakkude aktivatsioonil. Arahhidoonhappe bioaktiivseid metaboliite eikosanoide peetakse vereliistakute signaaliülekanerajaks tähtsateks modulaatoriteks. Eikosanoidide raja inhibiitorid (nt aspiriin) vähendavad tromboksaan  $A_2$  (TXA $_2$ ), labiilse ja tugeva vereliistakute agonisti, moodustumist, põhjustades vereliistakute funktsiooni ja trombi moodutumise pärssimist, ning need on osutunud kliiniliselt kasulikeks haigestumuse ja suremuse vähendamises.

Leiutisekohaseid ühendeid võib kasutada samaväärsetes ravimeetodites ka veterinaarias, eriti põletiku ja valu raviks, pärssimiseks või leevendamiseks veterinaarias. On arusaadav, et need meetodid pakuvad erilist huvi lemmikloomade puhul, nagu koerad ja kassid, ning kasutamiseks farmitoomadel, nagu veised, hobused, muulad, eelsid, kitsed, sead, lambad jms. Neid meetodeid võib kasutada veterinaarmeditsiinis esinevate põletiku- ja valutüüpide raviks, sealhulgas, kuid mitte ainult, artriidi, liigesedefektide, arenguliste liigesedefektide nagu puusaliigese düsplaasia, tendoniidi, arvatava sidemepõletiku, laminiidi, kannamuhu ja bursiidiga kaasnev valu ja põletik või kirurgia, õnnetuse, trauma või haiguse nagu Lyme'i tõbi kaasnev valu või põletik. Neid ühendeid võib kasutada



ka hingamisteede põletiku raviks, nagu astmaatilised seisundid, larüngiit, trahheiit, bronhiit, nohu ja farüngiit.

Igaüks nendest veterinaarsetest meetoditest hõlmab leiutisekohase ühendi või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola farmatseutiliselt efektiivse koguse manustamist seda vajavale imetajale. Leiutisekohaseid ühendeid võib kasutada human- või veterinaarmeditsiini meetodites koos teiste tehnika tasemest tuntud ravimite või toidulisanditega põletiku või valu raviks, pärssimiseks või leevendamiseks. Need võivad hõlmata aspiriini (sealhulgas puhverdatud aspiriini, aspiriini koos Maalox'iga ja enterokattega aspiriini), COX-2 inhibiitoreid, nagu tselekoksiib, mitteatsetüülitud karboksüülhappeid, nagu magneesiumsalitsülaad, salitsüülamiid või naatriumsalitsülaad, äädikhappeid, nagu doklofenak või etodolak, propioonhappeid, nagu ibuprofeen, naprokaseen (saamaval kaubamärgi all Naprosyno.RTM. ja Equiproxen.RTM.), ketoprofeen, Rimadyl.RTM. (karprofeen), fluniksiinmeglumiin, fenaamhappeid, nagu tolfenaamhape, mefenaamhape, meklofenaamhape (Arquel.RTM.) või nifluumhape, enoolhappeid, nagu oksüfenbutasoon, fenüülbutasoon, piroksikaam või dipüroon, või mittehappelisi ühendeid nagu nabumetoon. Samuti kasutatakse veterinaarias dimetüülsulfoksiidi (DMSO), orgoteiini (nagu orgoteiini tootemark Palosein.RTM.), polüsulfaaditud glükoosaminoglükaane või PS-GAG-e (nagu polüsulfaaditud glükoosaminoglükaani tootemark Adequan.RTM.), hüaluroonhapet ning selle looduslikke ja sünteetilisi analooge, ketorolaktrimetamiini (nagu tootemark Toradol.RTM.), Feldene.RTM. (piroksikaam) või Metakam.RTM. (meloksikaam).

Inimestel ja veterinaarias kasutatavad toidulisandid hõlmavad glükoosamiine, kondroitiinsulfaati, metüülsulfonüülmetaani (MSM) ja oomega-3 ravshappeid ning teisi külmaveekalade õlisid. Leiutisekohaseid ühendeid võib inimestel või veterinaarias kasutada ka koos füüsikalise ravi, massaaži, kiropraktika ja akupunktuuraviga ja raviskeemidega. Igaühte neist ravimitest ja toidulisanditest võib manustada kõnealusele imetajale tehnika tasemest tuntud skeemide järgi ja efektiivsetes annustes.

**PATENDINÕUDLUS**

1. 3-{4-[(2-{5-kloro-1-(difenüülmetüül)-2-[2-({2-(trifluorometüül)bensüül]sulfo-  
nüül}amino)etüül]-1*H*-indool-3-üül}etüül)sulfonüül]fenüül}propaanhappe või  
selle farmatseutiliselt vastuvõetav sool.
- 5 2. Ravimkoostis, mis sisaldab nõudluspunktile 1 vastavat ühendit või selle  
farmatseutiliselt vastuvõetavat soola ja farmatseutiliselt vastuvõetavat kandjat.
3. Ravimkoostis vastavalt nõudluspunktile 2, mis sisaldab lisaks põletikuvastast  
ainet.
4. Ühend vastavalt nõudluspunktile 1 või selle farmatseutiliselt vastuvõetav sool  
10 kasutamiseks ravimina.
5. Nõudluspunktile 1 vastava ühendi või selle farmatseutiliselt vastuvõetava  
soola kasutamine ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud põletiku  
ravimiseks, mis on põhjustatud või võimendatud prostaglandiinide,  
leukotrieenide või vereliistakute aktivatsioonifaktori poolt imetajal.
- 15 6. Nõudluspunktile 1 vastava ühendi või selle farmatseutiliselt vastuvõetava  
soola kasutamine ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud valu ravimiseks,  
mis on põhjustatud või võimendatud prostaglandiinide, leukotrieenide või  
vereliistakute aktivatsioonifaktori poolt imetajal.
7. Nõudluspunktile 1 vastava ühendi või selle farmatseutiliselt vastuvõetava  
20 soola kasutamine ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud astma ravimiseks  
imetajal.
8. Nõudluspunktile 1 vastava ühendi või selle farmatseutiliselt vastuvõetava  
soola kasutamine ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud artriitiliste või  
reumaatiliste haiguste ravimiseks imetajal.

9. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 8, milles haiguseks on reumatoidartriit.
10. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 8, milles haiguseks on osteoartriit.
11. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 8, milles haiguseks on juveniilne artriit.
12. Nõudluspunktile 1 vastava ühendi või selle farmatseutiliselt vastuvõetava  
5 soola kasutamine ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud haiguse või  
haigusseisundi ravimiseks või vältimiseks imetajal või sellise haiguse või  
haigusseisundi sümptomite progresseerumise vältimiseks, milles haigus või  
haigusseisund on valitud rühmast, kuhu kuuluvad insult, ateroskleroos,  
hulgiskleroos, Parkinsoni tõbi, insuldist põhjustatud kesknärvisüsteemi  
10 kahjustus, isheemiast põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustus ja traumast  
põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustus.
13. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 12, milles haiguseks või haigus-  
seisundiks on insult.
14. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 12, milles haiguseks või haigus-  
15 seisundiks on ateroskleroos.
15. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 12, milles haiguseks või haigus-  
seisundiks on hulgiskleroos.
16. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 12, milles haiguseks või haigus-  
seisundiks on Parkinsoni tõbi.
- 20 17. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 12, milles haiguseks või haigus-  
seisundiks on insuldist, isheemiast või traumast põhjustatud kesk-  
närvisüsteemi kahjustus.

18. Nõudluspunktile 1 vastava ühendi või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola kasutamine ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud veeni- või arteritromboosi ravimiseks või vältimiseks imetajal või nimetatud tromboosi sümptomite progresseerumise vältimiseks.
- 5 19. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 18, milles tromboosiks on aterotromboos.
20. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 prostaglandiinide, leukotrieenide või vereliistakute aktivatsioonifaktori pool põhjustatud või võimendatud põletiku ravimiseks imetajal.
- 10 21. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 prostaglandiinide, leukotrieenide või vereliistakute aktivatsioonifaktori pool põhjustatud või võimendatud valu ravimiseks imetajal.
22. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 astma ravimiseks imetajal.
23. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 artriitiliste ja reumaatiliste  
15 haiguste ravimiseks imetajal.
24. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 reumatoidartriidi ravimiseks imetajal.
25. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 osteoartriidi ravimiseks imetajal.
- 20 26. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 juveniilse artriidi ravimiseks imetajal.
27. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 haiguse või haigusseisundi ravimiseks või vältimiseks imetajal või sellise haiguse või haigusseisundi

sümptomite progresseerumise vältimiseks, milles haigus või haigusseisund on valitud rühmast, kuhu kuuluvad insult, ateroskleroos, hulgiskleroos, Parkinsoni tõbi, insuldist põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustus, isheemiast põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustus ja traumast põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustus.

5

28. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 haiguse või haigusseisundi ravimiseks või vältimiseks imetajal või sellise haiguse või haigusseisundi sümptomite progresseerumise vältimiseks, milles haiguseks või haigusseisundiks on insult.

10

29. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 haiguse või haigusseisundi ravimiseks või vältimiseks imetajal või sellise haiguse või haigusseisundi sümptomite progresseerumise vältimiseks, milles haiguseks või haigusseisundiks on ateroskleroos.

15

30. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 haiguse või haigusseisundi ravimiseks või vältimiseks imetajal või sellise haiguse või haigusseisundi sümptomite progresseerumise vältimiseks, milles haiguseks või haigusseisundiks on hulgiskleroos.

20

31. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 haiguse või haigusseisundi ravimiseks või vältimiseks imetajal või sellise haiguse või haigusseisundi sümptomite progresseerumise vältimiseks, milles haiguseks või haigusseisundiks on Parkinsoni tõbi.

25

32. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 haiguse või haigusseisundi ravimiseks või vältimiseks imetajal või sellise haiguse või haigusseisundi sümptomite progresseerumise vältimiseks, milles haiguseks või haigusseisundiks on insuldist, isheemiast või traumast põhjustatud kesknärvisüsteemi kahjustus.

33. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 veeni- või arteritromboosi ravimiseks või vältimiseks imetajal või nimetatud tromboosi sümptomite progresseerumise vältimiseks.
34. Ühend või koostis vastavalt nõudluspunktile 1 või 2 veeni- või arteritromboosi ravimiseks või vältimiseks imetajal või nimetatud tromboosi sümptomite progresseerumise vältimiseks, milles tromboosiks on aterotromboos.
- 5
35. Nõudluspunktile 1 vastava ühendi või selle farmatseutiliselt vastuvõetava soola ja lisaks astmavastase aine kasutamine ravimi valmistamiseks, mis on ette nähtud astma ravimiseks.

Sulgumisaeg näite 14 ja 25 ühendi ning ühendi C puhul inimese täisveres

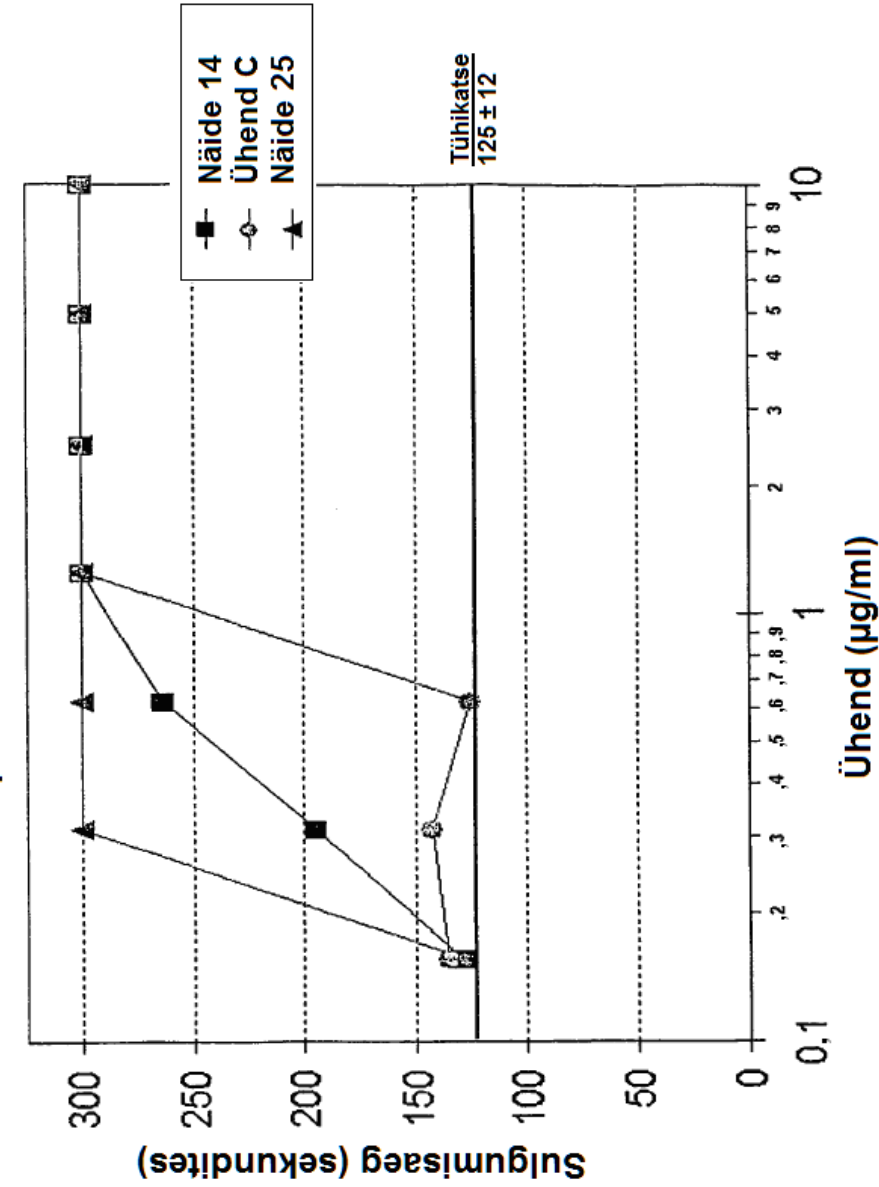


FIG 1

**Reaktsiooni-tingimused:**

- maht 800 µl
- inimese täisveri
- 3,2% Na-tsitraadid
- inkubatsioon 15 minutit
- 0,5% DMSO (vehiikel)
- Ühend (0-10 µg/ml)

**Agonist:**

- Kollageen/EPI testimispadrun

2/3

Näite 14 ja näite 25 ühendite hindamine raudkloriidiga  
indutseeritud arteritromboosi rotimudelil

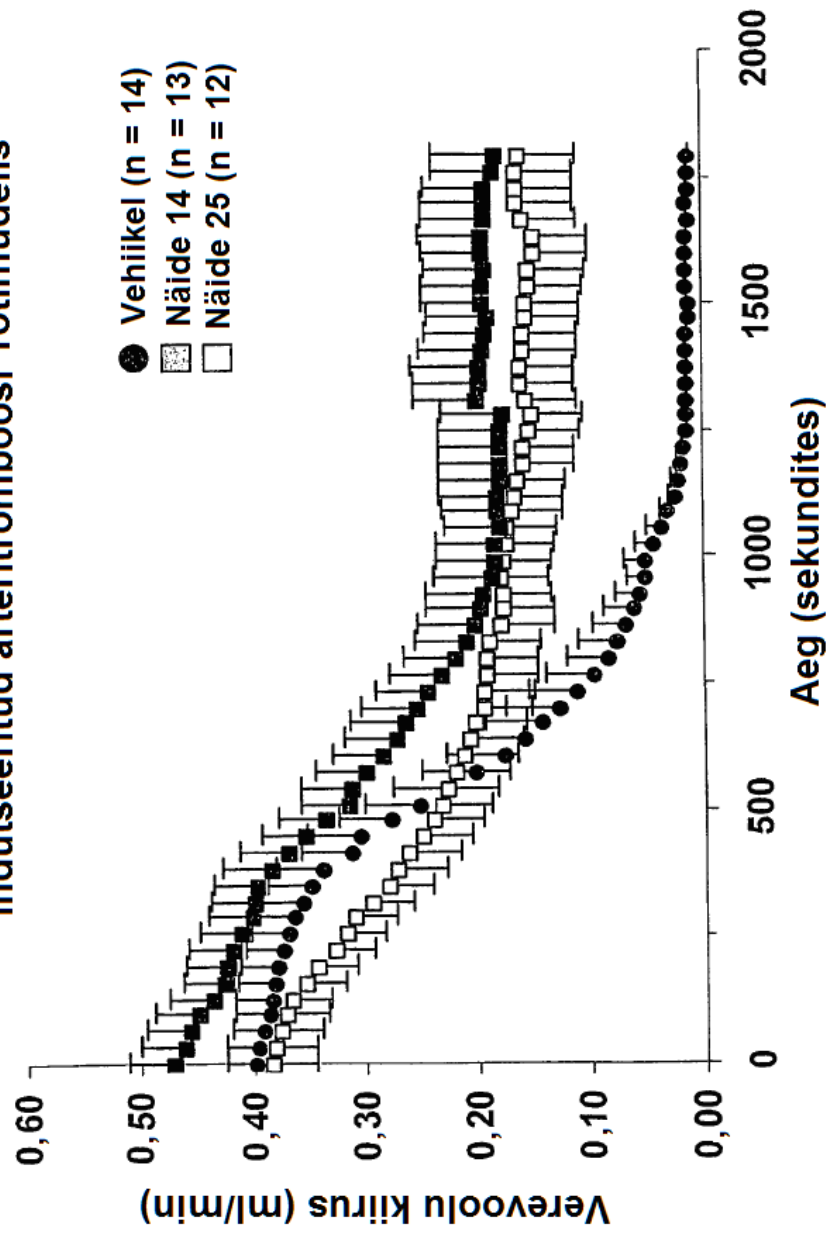


FIG 2



**FeCl<sub>3</sub> indutseeritud tromboos rotil: TXB<sub>2</sub> tasemed**

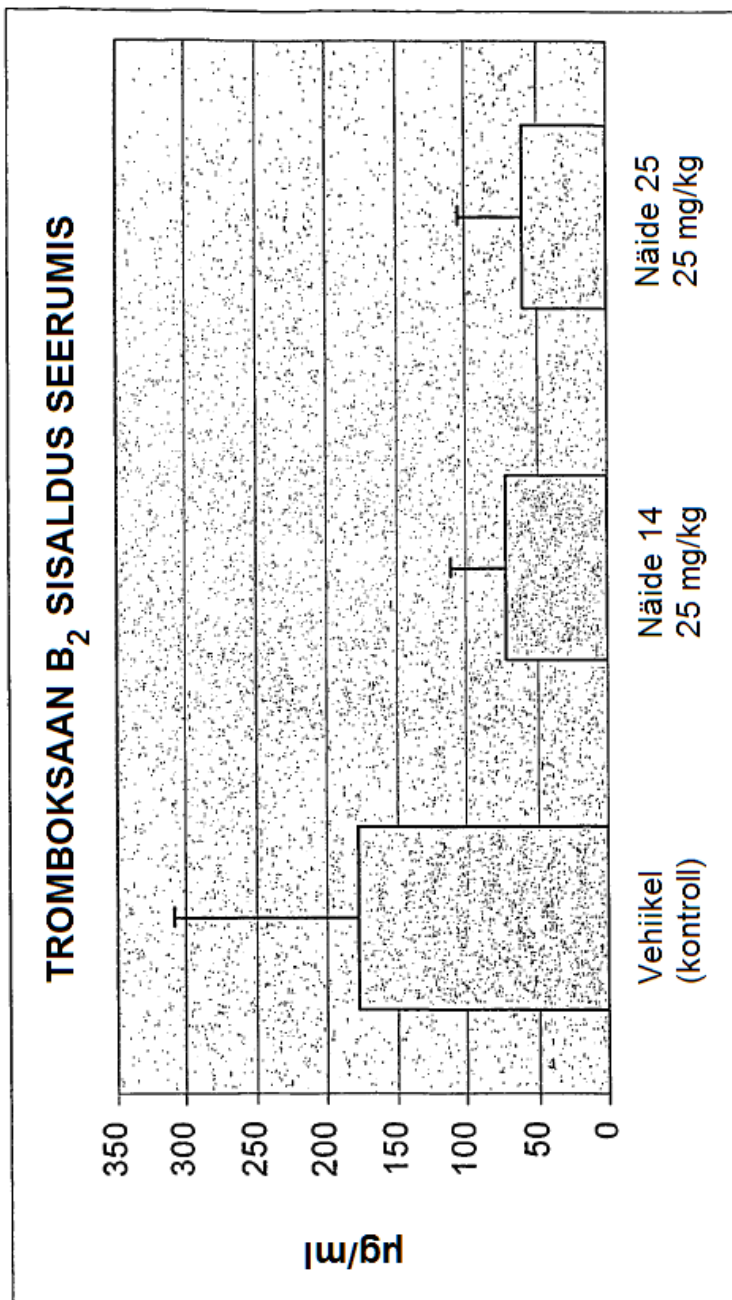


FIG 3