



(12) PATENT

(19) NO

(11) 334659

(13) B1

NORGE

(51) Int Cl.

A61K 31/5575 (2006.01)
C07C 405/00 (2006.01)
C07D 333/56 (2006.01)
C07D 333/62 (2006.01)
C07D 409/08 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20053715	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2004.02.06 PCT/US2004/03433
(22)	Inng.dag	2005.08.01	(85)	Videreføringssdag	2005.08.01
(24)	Løpedag	2004.02.06	(30)	Prioritet	2003.02.11, US, 365369 2004.02.04, US, 772720
(41)	Alm.tilgj	2005.10.27			
(45)	Meddelt	2014.05.12			
(73)	Innehaver	Allergan Inc, P O Box 19534, US-CA92612 IRVINE, USA			
(72)	Oppfinner	Yariv Donde, 24386 Antilles Way, US-CA92629 DANA POINT, USA Jeremiah H Nguyen, 16146 Bamboo Street, US-CA91744 LA PUENTE, USA			
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge			

(54) **Benevnelse** **10,10-dialkylprostanoinnsyre-derivater, fremgangsmåte for fremstilling av slike, farmasøytisk produkt omfattende slike samt anvendelse av slike som midler for å senke intraokulært trykk**

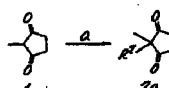
(56) **Anførte publikasjoner**
 PERNET, ANDRE G. ET AL: "Prostaglandin analogs modified at the 10 and 11 positions" TETRAHEDRON LETTERS, (41), 3933-6, 1979
 : PLANTEMA, OTTO G. ET AL: "Synthesis of (+,-)-10,10-dimethylprostaglandin E1 methyl ester and its 15-epimer" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1: ORGANIC AND BIO-ORGANIC CHEMISTRY (1972-1999), (3), 304-8, 1978
 PLANTEMA, O. G. ET AL: "Synthesis of 10,10-dimethylprostaglandin E1" TETRAHEDRON LETTERS, (51), 4595-8, 1975
 HAMON A ET AL: "SYNTHESIS OF (+,-)- AND 15-EPI(+,-)-10,10-DIMETHYLPROSTAGLANDIN E1" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, no. 3, January 1976 (1976-01), pages 211-214
 JP 63002972 A
 JP 59101458 A
 US 4117014 A

(57) **Sammendrag**

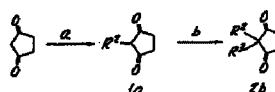
Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en fremgangsmåte for behandling av okulær hypertensjon eller glaukom, som omfatter å administrere til et dyr som har okulær hypertensjon eller glaukom en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse representert ved den generelle formel (I); hvor den stiplede linjen indikerer nærvær eller fravær av en binding, den skraverte kilen indikerer a- (ned) konfigurasjonen, og det fylte triangelet indikerer β- (opp) konfigurasjonen; B er en enkel, dobbel eller trippel kovalent binding; n er 0-6; X er CH₂, S eller O; Y er et hvilket som helst farmasøytisk akseptabelt salt av CO₂H, eller CO₂R, CONR₂, CONHCH₂CH₂OH, CON(CH₂CH₂OH)₂, CH₂OR, P(O)(OR)₂, CONRSO₂R, SONR₂, eller formel (Ia) R er H, C₁₋₆-alkyl eller C₂₋₆-alkenyl; R² og R³ er lineært C₁₋₆-alkyl som kan være like eller forskjellige, og kan være bundet til hverandre slik at de danner en ring som innlemmer karbonatomet som de i fellesskap er festet til.

(SKJEMA 1)

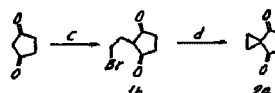
LIGNING 1



LIGNING 1



LIGNING 1



Oppfinnelsens område.

Foreliggende oppfinnelse vedrører 10,10-dialkylprostanoinisyre-derivater, fremgangsmåte for fremstilling av slike, farmasøytisk produkt omfattende slike samt anvendelse av slike som midler for å senke intraokulært trykk og spesielt som kraftige okulære hypotensiver egnet for behandling av glaukom.

Bakgrunn for oppfinnelsen.

Beskrivelse av beslektet fagkunnskap.

5 Okulære hypotensive midler er nyttige ved behandling av flere forskjellige okulære hypertensive tilstander, så som post-kirurgisk og post-laser-trabekulektomi ved okulære hypertensive tilfeller, glaukom, og som pre-kirurgiske hjelpemidler.

10 Glaukom er en sykdom i øyet som er kjennetegnet ved økt intraokulært trykk. På basis av dens etiologi er glaukom blitt klassifisert som primær eller sekundær. For eksempel kan primært glaukom hos voksne (medfødt glaukom) være enten åpenvinkelglaukom eller akutt eller kronisk vinkelblokadeglaukom. Sekundært glaukom er et resultat av forhåndseksisterende okulære sykdommer, så som uveitt, intraokulær tumor, eller en forstørret katarakt.

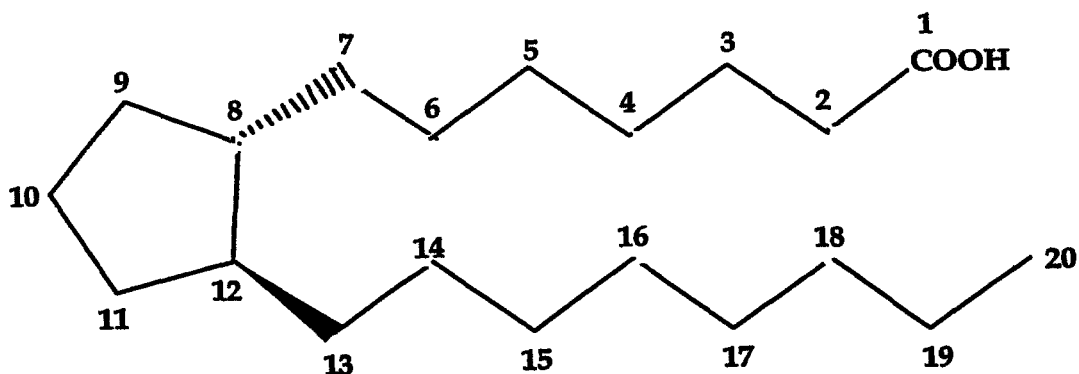
15 De underliggende årsakene til primært glaukom er ennå ikke kjent. Den økte intraokulære spenning skyldes obstruksjon av kammervann-utstrømming. Ved kronisk åpenvinkelglaukom synes fremre kammer og dets anatomiske strukturer normale, men drenering av kammervannet er hindret. Ved akutt eller kronisk vinkelblokadeglaukom er fremre kammer grunt, filtreringsvinkelen er
20 innsnevret og iris kan tilstoppe det trabekulære nettverk ved inngangen til Schlemms kanal. Utvidelse av pupillen kan skyve irisroten fremover mot vinkelen, og kan produsere pupilleblokkering og således skape et akutt anfall. Øyne med snevre fremre kammervinkler er predisponert for akutt vinkelblokadeglaukom-anfall med forskjellig alvorlighetsgrad.

25 Sekundært glaukom er forårsaket av en forstyrrelse av strømmen av kammervann fra bakre kammer til fremre kammer, og deretter til Schlemms kanal. Inflammatorisk sykdom i fremre segment kan forhindre at vann unnslipper, ved å forårsake fullstendig bakre syneki i irisbombé, og kan tilstoppe dreneringskanalen

med eksudater. Andre vanlige årsaker er intraokulære tumorer, forstørrede katarakter, sentral retinavene-okklusjon, traume mot øyet, operative prosedyrer og intraokulær blødning.

Hvis alle typer sees under ett, opptrer glaukom hos omtrent 2% av alle personer over en alder på 40, og kan være asymptomatisk i år før det utvikler seg til hurtig synstap. I tilfeller hvor kirurgi ikke er indikert, har topiske b-adrenoreseptor-antagonister tradisjonelt vært medikamentene valgt for behandling av glaukom.

Visse eikosanoider og deres derivater er blitt rapportert å være i besittelse av okulær hypotensiv aktivitet, og er blitt anbefalt for anvendelse ved behandling av glaukom. Eikosanoider og derivater innbefatter tallrike biologisk viktige forbindelser, så som prostaglandiner og deres derivater. Prostaglandiner kan beskrives som derivater av prostanoinsyre, som har følgende strukturformel:



15

Forskjellige typer av prostaglandiner er kjent, avhengig av strukturen og substituentene på den alicykliske ringen på prostanoinsyre-skjelettet. Videre klassifisering er basert på antallet umettede bindinger i sidekjeden, indikert ved indekserte tall etter den generiske type av prostaglandin [for eksempel prostaglandin E₁ (PGE₁), prostaglandin E₂ (PGE₂)], og på konfigurasjonen av substituentene på den alicykliske ring indikert med α eller β [for eksempel prostaglandin F_{2 α} (PGF_{2 β})].

Prostaglandiner ble tidligere ansett som kraftige okulære hypertensiver, men fakta oppsamlet det siste tiåret viser at noen prostaglandiner er meget effektive okulære hypotensive midler, og er ideelt egnet for langvarig medisinsk behandling av glaukom (se for eksempel Bito, L.Z., Biological Protection with

25

Prostaglandins, Cohen, M.M., redaktør Boca Raton, Fla, CRC Press Inc., 1985, s. 231-252, og Bito, L.Z., Applied Pharmacology in the Medical Treatment of Glaucomas, Drance, S.M. og Neufeld, A.H., redaktører, New York, Grune & Stratton, 1984, s. 477-505. Slike prostaglandiner innbefatter $\text{PGF}_{2\alpha}$, $\text{PGF}_{1\alpha}$,
 5 PGE_2 , og visse lipidløselige estere, så som C_1 - til C_2 -alkylestere, for eksempel 1-isopropylester, av slike forbindelser.

Selv om den nøyaktige mekanisme ennå ikke er kjent, indikerer forsøksresultater at den prostaglandin-induserte reduksjon av intraokulært trykk er et resultat av økt uveoskleral utstrømming [Nilsson et. al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. (suppl), 284 (1987)].
 10

Isopropylesteren av $\text{PGF}_{2\alpha}$ er blitt vist å ha signifikant høyere hypotensiv effekt enn stamforbindelsen, formodentlig som et resultat av dens mer effektive gjennomtrengning av hornhinnen. I 1987 ble denne forbindelsen beskrevet som "det kraftigste okulære hypotensive middel som noen gang er blitt omtalt" [se for
 15 eksempel Bito, L.Z., Arch. Ophthalmol. 105, 1036 (1987), og Siebold et al., Prodrug 5 3 (1989)].

Mens prostaglandiner synes å være blottet for betydelige intraokulære bivirkninger, er okulær overflate- (bindehinne) hyperemi og fremmedlegemefølelse konsekvent blitt forbundet med den topiske okulære anvendelse av slike
 20 forbindelser, særlig $\text{PGF}_{2\alpha}$ og dets promedikamenter, for eksempel dets 1-isopropylester, hos mennesker. Det kliniske potensiale for prostaglandiner for behandling av tilstander forbundet med økt okulært trykk, for eksempel glaukom, er sterkt begrenset på grunn av disse bivirkningene.

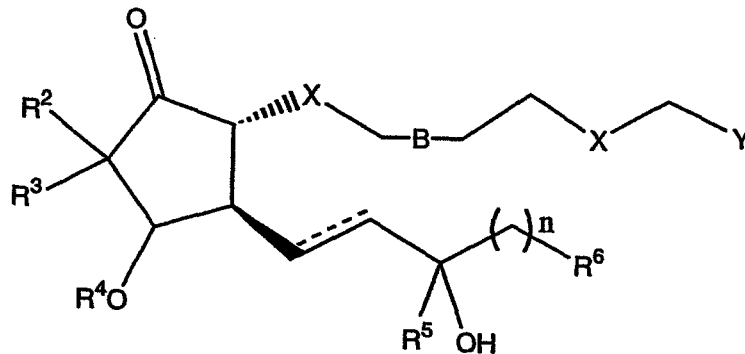
I en serie av samtidig verserende US-patentsøknader overdratt til Allergan, Inc., er prostaglandinestere med økt okulær hypotensiv aktivitet som ikke følges
 25 av noen, eller i det vesentlige reduserte, bivirkninger, beskrevet. Samtidig verserende USSN 596,430 (innlevert 10. oktober 1990, nå US-patent nr. 5.446.041), vedrører visse 11-acyl-prostaglandiner, så som 11-pivaloyl, 11-acetyl, 11-isobutyryl, 11-valeryl og 11-isovaleryl- $\text{PGF}_{2\alpha}$. Intraokulært trykk som reduserer
 30 15-acyl-prostaglandiner er beskrevet i samtidig verserende søknad USSN 175,476 (innlevert 29. desember 1993). Likeledes er 11,15-, 9,15- og 9,11-diestere av prostaglandiner, for eksempel 11,15-dipivaloyl- $\text{PGF}_{2\alpha}$, kjent for å ha okulær hypotensiv aktivitet. Se samtidig verserende patentsøknader USSN nr. 385,645

(innlevert 7. juli 1989, nå US-patent nr. 4.994.274), 584,370 (innlevert 18. september 1990, nå US-patent nr. 5.028,624) og 585,284 (innlevert 18. september 1990, nå US-patent nr. 5.034.413). Nylig har vi også vist at 17-naftyl- og benzotienyl-prostaglandinforbindelser også har okulær hypotensiv aktivitet
 5 (USSN 859,770, innlevert 17. mai 2001 Visse 15,15-dimetyl-prostaglandiner med antihypertensive, magesyre-sekresjonshemmende og glatt muskel-stimulerende egenskaper, er kjent for å ha forbedret metabolsk stabilitet. Disse er beskrevet av Pernet et al i US-patent nr. 4.117.014 (innlevert 23. desember 1976).

10

Oppsummering av oppfinnelsen.

Foreliggende oppfinnelse vedrører forbindelser representert ved Formel I:



Formel I

15 hvor den stiplede linjen indikerer en binding, de skraverte kilene indikerer α - (ned) konfigurasjonen, og de fylte trianglene indikerer β - (opp) konfigurasjonen;

B er en enkel, dobbel eller trippel kovalent binding;

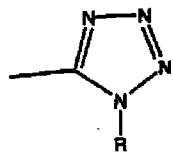
n er 0-6;

X er CH₂, S eller O hvor begge X-grupper er identiske;

Y er et hvilket som helst farmasøytisk akseptabelt salt av CO₂H, CO₂R, CONHR,

20

CONHCH₂CH₂OH eller



R er H eller C₁₋₆ alkyl;

R² og R³ C₁₋₆ alkyl;

R⁴ og R⁵ er hydrogen;

R⁶ er H, fenyl, benzotien-2-yl eller 3-klorbenzotien-2-yl.

25

I et annet aspekt vedrører foreliggende oppfinnelse et farmasøytisk produkt som omfatter en beholder tilpasset til å tømme ut sitt innhold på oppmålt måte; og en oftalmisk løsning deri, som definert ovenfor.

I et annet aspekt er visse av forbindelsene representert ved ovennevnte formel, beskrevet nedenfor og anvendt i fremgangsmåten ifølge foreliggende oppfinnelse, nye og ikke nærliggende.

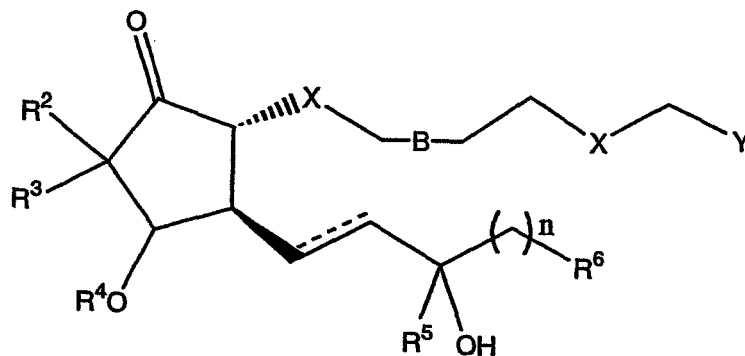
I et ytterligere aspekt er visse elementer av fremgangsmåtene for fremstilling av forbindelsene representert ved formelen ovenfor, og beskrevet her, nye og ikke nærliggende.

Kort beskrivelse av de tegnede figurene.

Skjemaer 1-8 illustrerer mulige måter å fremstille forbindelsene ifølge oppfinnelsen på.

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen.

Foreliggende oppfinnelse vedrører forbindelse representert ved Formel I:

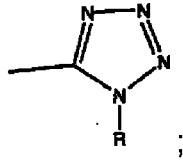


Formel I

- 20 hvor den stiplede linjen indikerer en binding, de skraverte kilene indikerer α - (ned) konfigurasjonen, og de fylte trianglene indikerer β - (opp) konfigurasjonen; B er en enkel, dobbel eller trippel kovalent binding; n er 0-6; X er CH₂, S eller O hvor begge X-grupper er identiske;

6

Y er et hvilket som helst farmasøytisk akseptabelt salt av CO_2H , CO_2R , CONHR ,



$\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ eller

R er H eller C_{1-6} alkyl;

R^2 og R^3 C_{1-6} alkyl;

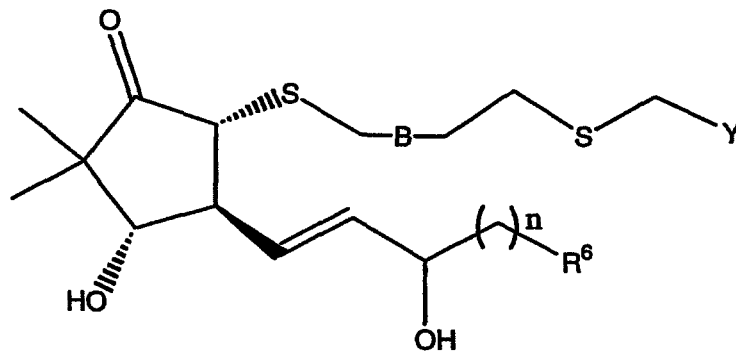
5 R^4 og R^5 er hydrogen;

R^6 er H, fenyl, benzotien-2-yl eller 3-klorbenzotien-2-yl.

Som anvendt her, refererer symbolene "Me" og "Et" til enhetene vanlig referert til som "metyl" og "etyl" av dem med alminnelig kunnskap på fagområdet.

10

En annen foretrukket gruppe innbefatter forbindelser med formel III:



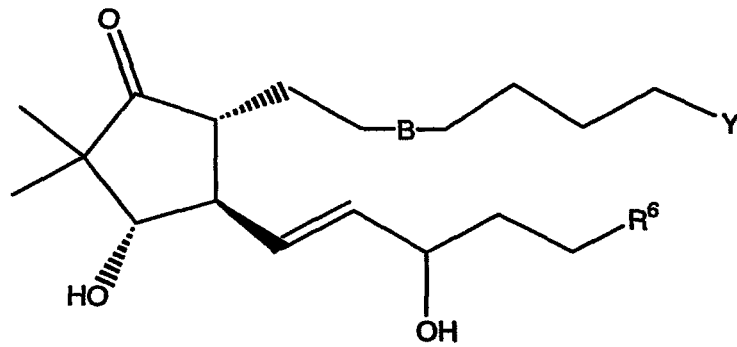
15

Formel III

hvor Y er CO_2R , eller et hvilket som helst farmasøytisk akseptabelt salt av CO_2H .

En annen foretrukket gruppe innbefatter forbindelser med formel IV:

7



Formel IV

hvor Y er CO_2R eller hvilket som helst farmasøytisk akseptabelt salt av CO_2H ; og R^6 er fenyl.

5

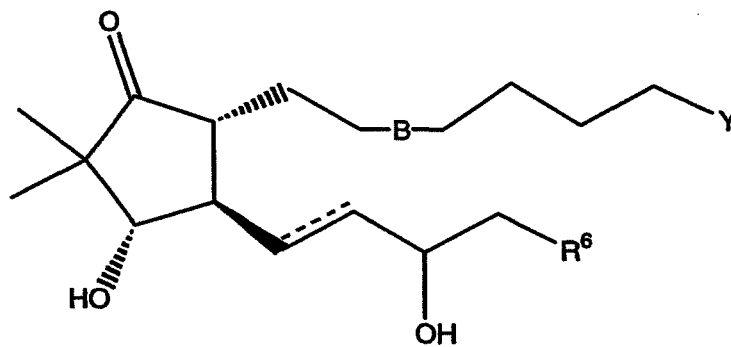
I ovennevnte formler er substituentene og symbolene som definert ovenfor. I formlene ovenfor:

er Y fortrinnsvis et hvilket som helst farmasøytisk akseptabelt salt av CO_2H eller CO_2R . Mer foretrukket er Y CO_2H eller CO_2Me .

10

n er fortrinnsvis 2.

En annen foretrukket gruppe innbefatter forbindelser med formel XIII:



15

Formel XIII

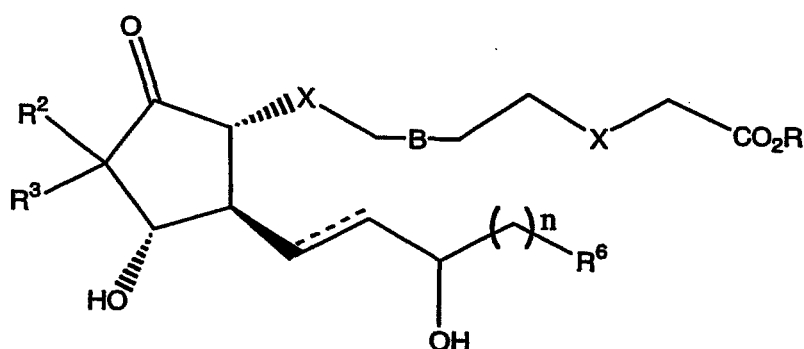
hvor B representerer en enkelt- eller dobbeltbinding; og R^6 er fenyl.

20

I et annet aspekt av denne oppfinnelsen er visse elementer i fremgangsmåten for fremstilling av forbindelsene ifølge oppfinnelsen nye og ikke nærliggende

Fremstilling av 2,2-dialkylcyklopentan-1,3-dioner er velkjent på fagområdet. Én bekvem måte som et stort utvalg av disse forbindelsene kan fremstilles på, er ved base-mediert alkylering av karbon-2 i cyklopentan-1,3-dion ved anvendelse av et alkylhalogenid eller tilsvarende forbindelse. Denne typen omsetning er velkjent på fagområdet. Fremstillingen av tre generelle typer av 2,2-dialkylcyklopentan-1,3-dioner ved anvendelse av denne alkyleringsreaksjonen er illustrert i skjema 1. Forbindelser hvor én av alkylgruppene er metyl kan fremstilles ved en enkel alkyleringsreaksjon fra kommersielt tilgjengelig 2-metylcyklopentan-1,3-dion 1 (ligning 1). I det tilfelle at ingen av alkylgruppene i 2,2-dialkylcyklopentan-1,3-dionet er metyl (forbindelse 2b), kan disse forbindelsene bli fremstilt av cyklopentan-1,3-dion ved to påfølgende alkyleringsreaksjoner (ligning 2). I det tilfelle hvor de to alkylgruppene i 2,2-dialkylcyklopentan-1,3-dionet er de samme, kan disse alkyleringsreaksjonene utføres i en ett-kar-prosedyre. I det tilfelle hvor de to alkylgruppene som skal danne en cyklisk forbindelse som innlemmer C₂ i cyklopentanonet i ringen, ellers kjent som et spiroketon, kan disse forbindelsene bli fremstilt ved anvendelse av et dihalogenalkan eller ekvivalent forbindelse for å utføre en intermolekylær alkylering, fulgt av en intermolekylær alkylering (ligning 3), som kunne bli utført i en ett- eller to-kar-prosess. De med kunnskap på fagområdet vil vite at det finnes mange måter å fremstille 2,2-dialkylcyklopentan-1,3-dioner på, og reaksjonene i skjema 1 er tatt med for å illustrere at disse forbindelsene lett kan fremstilles eller oppnås av dem med kunnskap på fagområdet, og er ikke ment å begrense rammen for oppfinnelsen på noen måte.

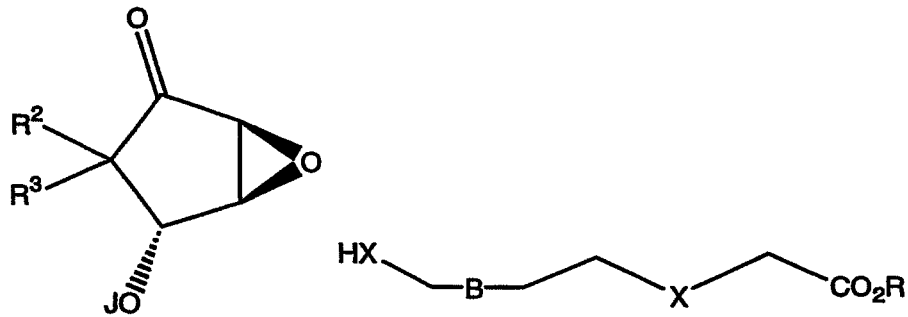
I et annet nytt og ikke nærliggende aspekt ved denne oppfinnelsen, blir forbindelser ifølge oppfinnelsen, representert ved formel VIII, fremstilt ved hjelp av en fremgangsmåte som omfatter følgende trinn:



Formel VIII

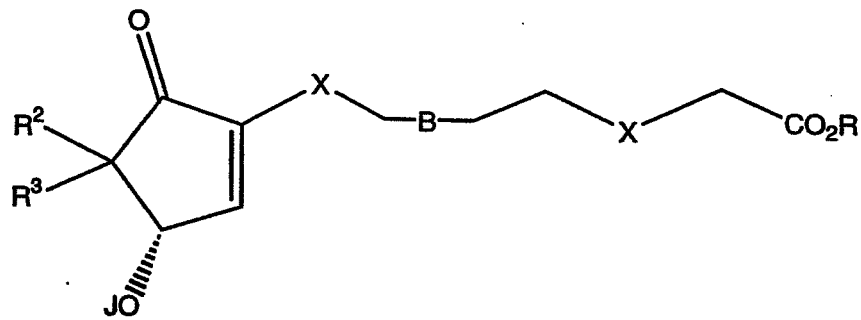
- i) å omsette en forbindelse med formel IX med en forbindelse med formel X i nærvær av en egnet base, hvilket gir en forbindelse med formel XI;

5



Formel IX

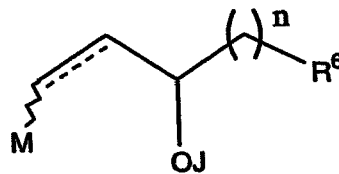
Formel X



Formel XI

10

- ii) å koble en forbindelse med formel XI med en forbindelse med formel XII; og



Formel XII

15

- iii) å fjerne beskyttelsesgruppene og skille diastereomerene, hvilket gir de ønskede produkter;

hvor de skraverte kilene indikerer α - (ned) konfigurasjonen, de fylte trianglene indikerer β - (opp) konfigurasjonen, og de bølgede linjene indikerer enten cis- (Z) eller trans- (z) konformasjonen;

n er 0-6;

20

B er en enkel, dobbel, eller trippel kovalent binding;

J er en beskyttelsesgruppe som lett kan fjernes, hvilket gir den respektive hydroksydgruppen uten å påvirke resten av molekylet;

R er C₁₋₆-alkyl;

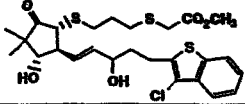
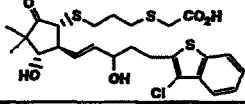
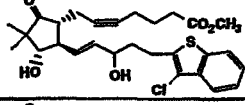
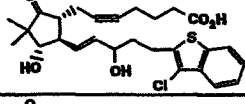
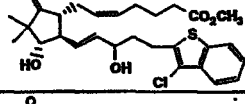
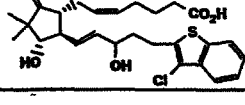
R² og R³ er C₁₋₆-alkyl;

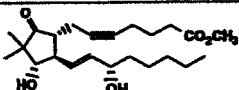
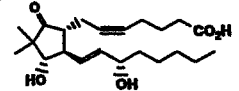
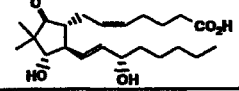
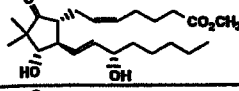
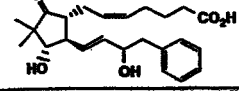
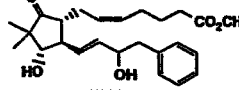
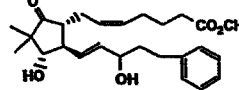
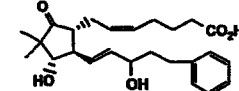
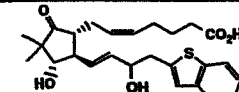
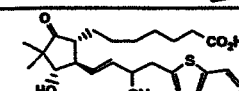
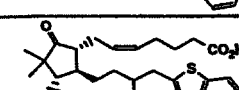
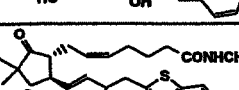
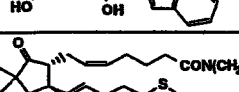
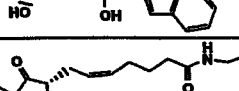
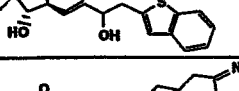
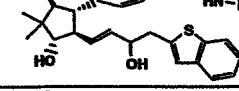
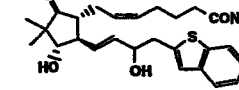
5 X er S eller O hvor begge X-grupper er identisk; og

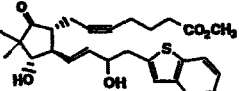
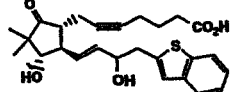
M er en gruppe som omfatter ett eller flere metallatomer.

Alle forbindelsene omfattet av denne oppfinnelsen kan fremstilles ved anvendelse av fremgangsmåtene beskrevet ovenfor, supplert med fremgangsmåter kjent for dem med kunnskap på fagområdet. Syntesen av flere 10 forbindelser ifølge oppfinnelsen er illustrert på skjemaer 2-7. Disse skjemaene som er innbefattet her. Selv om det finnes flere måter, kan reduksjonen av forbindelsene med formel VI til formel VII bli innlemmet i syntesen av disse forbindelsene, og én bekvem måte å utføre dette på er vist på skjema 2. Imidlertid vil de med kunnskap på fagområdet vite at det finnes mange måter som 15 reduksjonen kan anvendes på for å fremstille forbindelsene ifølge denne oppfinnelsen.

Tabell 1

Struktur	Lav Rf-dia- stereomer	Høy Rf-dia- stereomer
	21	22
	23	24
	34	35
	36	37
	38	39
	40	41

	42	
	43	
	44	
	45	
	46	47
	48	49
	50	51
	52	53
	54	55
	56	57
	58	59
	60	61
	62	63
	64	65
	66	67
	68	69
	70	71

	72	73
	74	75

Forbindelsene navngitt nedenfor, og illustrert i tabell 1, er særlig foretrukne representanter for forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse:

(3-((1R,4S,5S)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentylsulfanyl)propylsulfanyl)eddiksyre-metylester (21,22),

(3-((1R,4S,5S)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentylsulfanyl)propylsulfanyl)eddiksyre (23,24),

(Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ynsyre-metylester (34, 35),

(Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ynsyre (36, 37),

(Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre-metylester (38, 39),

(Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre (40, 41),

7-((1R,4S,5R)-4-hydroksy-5-((E)-(S)-3-hydroksy-okt-1-enyl)-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ynsyre-metylester (42),

7-((1R,4S,5R)-4-hydroksy-5-((E)-(S)-3-hydroksy-okt-1-enyl)-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ynsyre (43),

(Z)-7-((1R,4S,5R)-4-hydroksy-5-((E)-(S)-3-hydroksy-okt-1-enyl)-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre (44),

(Z)-7-((1R,4S,5R)-4-hydroksy-5-((E)-(S)-3-hydroksy-okt-1-enyl)-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre-metylester (45),

(Z)-7-((1R,4S,5R)-4-hydroksy-5-((E)-3-hydroksy-4-fenylbut-1-enyl)-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre (46,47),

(Z)-7-((1R,4S,5R)-4-hydroksy-5-((E)-3-hydroksy-4-fenylbut-1-enyl)-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre-metylester (48,49),

- (Z)-7-[(1R,4S,5R)-4-hydroksy-5-((E)-3-hydroksy-5-fenylpent-1-enyl)-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre-metylester (50, 51),
- (Z)-7-[(1R,4S,5R)-4-hydroksy-5-((E)-3-hydroksy-5-fenylpent-1-enyl)-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre (52, 53),
- 5 (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybut-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre (54, 55),
- 7-[(1R,4S,5R)-5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybut-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]heptansyre (56, 57),
- (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-(4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybutyl)-4-hydroksy-3,3-
- 10 dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre (58, 59),
- (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybut-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre-etylamid (60, 61),
- (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybut-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre-dietylamid (62, 63),
- 15 (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybut-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre (2-hydroksyetyl)amid (64, 65),
- (3S,4R,5R)-4-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybut-1-enyl)-3-hydroksy-2,2-dimetyl-5-[(Z)-6-(1-H-tetrazol-5-yl)heks-2-enyl]cyklopentanon (66, 67),
- (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybut-1-enyl)-4-hydroksy-
- 20 3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre-amid (68, 69),
- (Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybut-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre-metylester (70, 71),
- 7-[(1R,4S,5R)-5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybut-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-
- dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre-metylester (72, 73),
- 25 7-[(1R,4S,5R)-5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hydroksybut-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre (74, 75).

Farmasøytiske preparater kan fremstilles ved å kombinere en terapeutisk effektiv mengde av minst én forbindelse i henhold til foreliggende oppfinnelse, eller et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt derav, som en aktiv ingrediens,

30 med konvensjonelle, oftalmisk akseptable farmasøytiske eksipienter, og ved fremstilling av enhetsdoseformer som er egnet for topisk okulær anvendelse. Den terapeutisk effektive mengden er typisk mellom omtrent 0,0001 og omtrent 5% (vekt/volum), fortrinnsvis omtrent 0,001 til omtrent 1,0% (vekt/volum) i flytende formuleringer.

For oftalmisk anvendelse blir det fortrinnsvis fremstilt løsninger ved anvendelse av en fysiologisk saltvannsoppløsning som hovedvehikkel. pH i slike oftalmiske løsninger bør fortrinnsvis holdes mellom 6,5 og 7,2, med et passende buffersystem. Formuleringene kan også inneholde konvensjonelle, farmasøytisk akseptable konserveringsmidler, stabiliseringsmidler og overflateaktive midler.

Foretrukne konserveringsmidler som kan anvendes i de farmasøytiske preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse innbefatter benzalkoniumklorid, klorbutanol, timerosal, fenylkvikksølvacetat og fenylkvikksølvnitrat. Et foretrukket overflateaktivt middel er for eksempel Tween 80. Likeledes kan forskjellige foretrukne vehikler anvendes i de oftalmiske preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse. Disse vehiklene innbefatter polyvinylalkohol, povidon, hydroksypropyl-metylcellulose, poloksamerer, karboksymetylcellulose, hydroksyetylcellulose og rensset vann.

Tonisitetsjusterende midler kan tilsettes om nødvendig eller passende. De innbefatter salter, særlig natriumklorid, kaliumklorid, mannitol og glycerol, eller et hvilket som helst annet egnet, oftalmisk akseptabelt tonisistetsjusterende middel.

Forskjellige buffere og måter å justere pH på kan anvendes, så lenge det resulterende preparatet er oftalmisk akseptabelt. Følgelig innbefatter buffere acetatbuffere, citratbuffere, fosfatbuffere og boratbuffere. Syrer eller baser kan anvendes til å justere pH i disse formuleringene etter behov.

På lignende måte innbefatter en oftalmisk akseptabel antioksydant for anvendelse i foreliggende oppfinnelse natrium-metabisulfitt, natriumtiosulfat, acetylcystein, butylert hydroksyanisol og butylert hydroksytoluen.

Andre eksipient-bestanddeler som kan innbefattes i de oftalmiske preparatene, er chelateringsmidler. Det foretrukne chelateringsmiddel er edentat-dinatrium, selv om andre chelateringsmidler også kan anvendes istedenfor eller sammen med det.

Ingrediensene anvendes vanligvis i følgende mengder:

	<u>Ingrediens</u>	<u>Mengde (% vekt/volum)</u>
	Aktiv ingrediens	Omtrent 0,001-5
	Konserveringsmiddel	0-0,10
	Vehikkel	0-40
5	Tonisitetsjusterende middel	1-10
	Buffer	0,01-10
	pH-justerende middel	opp til pH 4,5-7,5
	Antioksydant	Etter behov
	Overflateaktivt middel	Etter behov
10	Renset vann	Etter behov blandet opp til 100%

Den faktiske dose av de aktive forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse avhenger av den spesifikke forbindelsen, og av tilstanden som skal behandles; utvelgelsen av den passende dose ligger godt innenfor kunnskapen til fagpersonen på området.

De oftalmiske formuleringene ifølge foreliggende oppfinnelse blir passende pakket i former som er egnet for oppmålt anvendelse, så som i beholdere utstyrt med en dråpeteller ("dropper"), for å lette påføringen på øyet. Beholdere egnet for dråpevis påføring er vanligvis laget av egnet, inert, ikke-toksisk plastmateriale, og inneholder generelt mellom omtrent 0,5 og omtrent 15 ml løsning.

Syntetiske eksempler.

Fremgangsmåtene for fremstilling av forbindelser ifølge denne oppfinnelsen er videre illustrert med de følgende, eksempler, som er oppsummert i reaksjonsskjemaene på fig. 1-7, hvor forbindelsene er identifisert ved hjelp av samme designator både i eksemplene og på figurene.

2-alkylcyklopentan-1,3-dion (1a). En blanding av 1,3-cyklopentandion (89,4 mmol, Aldrich), I-R² (96,4 mmol, Aldrich) og KOH (5,097 g, 90,8 mmol) i H₂O (25 ml)/dioksan (75 ml) blir oppvarmet ved tilbakeløp. Etter 5 timer blir en løsning av KOH (2 g) og I-R² (2 mmol) i H₂O (5 ml)/dioksan (15 ml) tilsatt, og etter enda 3 timer ved tilbakeløp får løsningen omrøres ved romtemperatur over natten. Om morgenen blir reaksjonen fortsatt ved tilsetning av en løsning av KOH (2 g) og I-R² (2,4 mmol) i H₂O (5 ml)/dioksan (15 ml) og oppvarmet ved tilbakeløp. Etter 4 timer

får blandingen avkjøles til romtemperatur og blir ekstrahert med eter (1 x 100 ml, 3 x 75 ml). De kombinerte eterekstrakter blir avdampet, residuet blir slått sammen med HCl (50 ml 10%), og den resulterende blandingen blir plassert i et 120°C oljebad inntil koking blir observert (ca. 15 min.). Blandingens får deretter avkjøles
5 til romtemperatur, blir nøytralisert ved tilsetning av NaHCO₃-løsning (150 ml, mettet), og den resulterende blandingen blir deretter ekstrahert med CH₂Cl₂ (4 x 75 ml). Den sammenslåtte CH₂Cl₂-løsningen blir tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet, hvilket etterlater en brun olje som blir anvendt direkte i neste trinn.

10 2-alkyl-2-metylcyklopentan-1,3-dion (2a). En blanding av 2-metyl-1,3-cyklopentandion (10,025 g, 89,4 mmol, Aldrich), I-R² (96,4 mmol, Aldrich) og KOH (5,097 g, 90,8 mmol) i H₂O (25 ml)/dioksan (75 ml) blir oppvarmet ved tilbakeløp. Etter 5 timer blir en løsning av KOH (2 g) og I-R² (2 mmol) i H₂O (5 ml)/dioksan (15 ml) tilsatt, og etter enda 3 timer ved tilbakeløp får løsningen omrøres ved
15 romtemperatur over natten. Om morgenen blir reaksjonen fortsatt ved tilsetning av en løsning av KOH (2 g) og I-R² (2,4 mmol) i H₂O (5 ml)/dioksan (15 ml) og oppvarming ved tilbakeløp. Etter 4 timer får blandingen avkjøles til romtemperatur og blir ekstrahert med eter (1 x 100 ml, 3 x 75 ml). De sammenslåtte eterekstrakter blir avdampet, residuet slått sammen med HCl (50 ml 10%), og den
20 resulterende blandingen blir plassert i et 120°C oljebad inntil koking blir observert (ca. 15 min.). Blandingens får deretter avkjøles til romtemperatur, blir nøytralisert ved tilsetning av NaHCO₃-løsning (150 ml, mettet), og den resulterende blandingen blir deretter ekstrahert med CH₂Cl₂ (4 x 75 ml). Den sammenslåtte CH₂Cl₂-løsningen blir tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet, hvilket etterlater en
25 brun olje som blir anvendt direkte i neste trinn.

30 2,2-dialkylmetyl-cyklopentan-1,3-dion (2b). En blanding av 2-alkyl-1,3-cyklopentandion 1a (89,4 mmol, Aldrich), I-R³ (96,4 mmol, Aldrich) og KOH (5,097 g, 90,8 mmol) i H₂O (25 ml)/dioksan (75 ml) blir oppvarmet ved tilbakeløp. Etter 5 timer blir en løsning av KOH (2 g) og I-R³ (2 mmol) i H₂O (5 ml)/dioksan (15 ml) tilsatt, og etter enda 3 timer ved tilbakeløp får løsningen omrøres ved romtemperatur over natten. Om morgenen blir reaksjonen fortsatt ved tilsetning av en løsning av KOH (2 g) og I-R³ (2,4 mmol) i H₂O (5 ml)/dioksan (15 ml) og

oppvarming ved tilbakeløp. Etter 4 timer får blandingen avkjøles til romtemperatur og blir ekstrahert med eter (1 x 100 ml, 3 x 75 ml). De sammenslåtte eterekstrakter blir avdampet, residuet slått sammen med HCl (50 ml 10%), og den resulterende blandingen blir plassert i et 120°C oljebad inntil koking blir observert (ca. 15 min.). Blandingens får deretter avkjøles til romtemperatur, blir nøytralisert ved tilsetning av NaHCO₃-løsning (150 ml, mettet), og den resulterende blandingen blir deretter ekstrahert med CH₂Cl₂ (4 x 75 ml). Den sammenslåtte CH₂Cl₂-løsningen blir tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet, hvilket etterlater en brun olje som blir anvendt direkte i neste trinn.

10

Spiro[2.4]heptan-4,7-dion (2c). En blanding av 2-alkyl-1,3-cyklopentandion 1a (89,4 mmol, Aldrich), 1,2-dibrometan (120 mmol, Aldrich) og KOH (5,097 g, 90,8 mmol) i H₂O (25 ml)/dioksan (75 ml) blir oppvarmet ved tilbakeløp i 24 timer. Blandingens får avkjøles, og råproduktet blir ekstrahert med eter (1 x 100 ml, 3 x 75 ml). De sammenslåtte eterekstrakter blir avdampet, residuet slått sammen med HCl (50 ml 10%), og den resulterende blandingen blir plassert i et 120°C oljebad inntil koking blir observert (ca. 15 min.). Blandingens får deretter avkjøles til romtemperatur, blir nøytralisert ved tilsetning av NaHCO₃-løsning (150 ml, mettet), og den resulterende blandingen blir deretter ekstrahert med CH₂Cl₂ (4 x 75 ml). Den sammenslåtte CH₂Cl₂-løsningen blir tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet, hvilket etterlater en brun olje som blir anvendt direkte i neste trinn.

15

20

2,2-dimetyl-cyklopentan-1,3-dion (2). Den publiserte prosedyren ble fulgt. (Agosta, W. C.; Smith, A.B., J. Org. Chem. 1970, 35, 3856). En blanding av 2-metyl-1,3-cyklopentandion (10,025 g, 89,4 mmol, Aldrich), metyljodid (6,0 ml, 96,4 mmol, Aldrich) og KOH (5,097 g, 90,8 mmol) i H₂O (25 ml)/dioksan (75 ml) ble oppvarmet ved tilbakeløp. Etter 5 timer ble en løsning av KOH (2 g) og MeI (2,4 ml) i H₂O (5 ml)/dioksan (15 ml) tilsatt, og etter enda 3 timer ved tilbakeløp fikk løsningen omrøres ved romtemperatur over natten. Om morgenen ble reaksjonen fortsatt ved tilsetning av en løsning av KOH (2 g) og MeI (2,4 ml) i H₂O (5 ml)/dioksan (15 ml) og oppvarming ved tilbakeløp. Etter 4 timer fikk blandingen avkjøles til romtemperatur og ble ekstrahert med eter (1 x 100 ml, 3 x 75 ml). De sammenslåtte eterekstrakter ble avdampet, residuet slått sammen med HCl (50

25

30

ml 10%), og den resulterende blandingen ble plassert i et 120°C oljebad inntil koking ble observert (ca. 15 min.). Blandingen fikk deretter avkjøles til romtemperatur, ble nøytralisert ved tilsetning av NaHCO₃-løsning (150 ml, mettet), og den resulterende blandingen ble deretter ekstrahert med CH₂Cl₂ (4 x 75 ml).
5 Den sammenslåtte CH₂Cl₂-løsningen ble tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet, hvilket etterlater en brun olje (10,474 g, 83 mmol, 93%) som ble anvendt direkte i neste trinn.

(S)-3-hydroksy-2,2-dimetylcyklopentanon (3). Den publiserte prosedyren ble fulgt. (Brooks, D.W.; Hormoz, M.; Grothaus, P.G., J. Org. Chem. 1987, 52, 3223). En 35°C (indre temperatur) løsning av D-glukose (106,73 g, 592 mmol, Aldrich) i H₂O (690 ml) i en 4 liter Erlenmeyer ble behandlet med Bakers-gjær (71,065 g, Fleischmann's). Blandingen fikk fermentere i 2 timer, deretter ble 2,2-dimetylcyklopentan-1,3-dion (2) (7,316 g, 58 mmol) tilsatt.

15 Blandingen ble omrørt i 48 timer og deretter filtrert gjennom celitt, idet det ble vasket med omtrent 1 liter CH₂Cl₂. Filtreringen var vanskelig på grunn av den tykke konsistensen på gjæren, og det hjalp å kontinuerlig tilsette CH₂Cl₂ til blandingen og skrape toppen av celittlaget med en spatel. Filtratet ble overført til en skilletrakt, og 100 ml saltoppløsning ble tilsatt og lagene ble skilt.
20 Saltoppløsning (400 ml) ble tilsatt til det vandige laget og den resulterende løsningen ekstrahert videre med CH₂Cl₂ (3 x 500 ml). Den sammenslåtte CH₂Cl₂-løsningen ble tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet, hvilket etterlot en gul olje. Flash-kromatografi (11 x 5 cm, 20% EtOAc/heks → 25% → 30% → 40% → 50%) ga alkohol 3 (2,435 g, 19 mmol, 33%).

25 Det enantiomere overskuddet av 3 ble analysert ved hjelp av ¹H NMR av den tilsvarende Mosher's ester som ble fremstilt ved behandling av alkohol 3 (11 mg, 0,09 mmol) i dikloretan (0,3 ml, Aldrich) med pyridin (27 µl, 0,33 mmol, Aldrich) og (R)-α-metoksy-α-trifluormetylphenyl-eddiksyreklorid (58 µl, 0,31 mmol, Fluka). Blandingen ble omrørt over natten og deretter fordelt mellom vann (10 ml) og eter (10 ml). Eterlaget ble vasket med 1M HCl (10 ml) og mettet NaHCO₃-løsning, og ble deretter tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet. ¹H NMR-analyse ble
30 gjort på den rå esteren.

(S)-3-(tert)butyldimetyl-silanyloksy-2,2-dimetyl-cyklopentanon (4). En løsning av alcohol 3 (520 mg, 4,1 mmol) og 2,6-lutidin (0,56 ml, 4,8 mmol, Aldrich) i CH₂Cl₂ (8,0 ml, Aldrich) ble behandlet med TBSOTf (1,0 ml, 4,3 mmol, Aldrich). Etter 5,5 time ble mettet NaHCO₃-løsning (20 ml) tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med CH₂Cl₂ (20 ml). CH₂Cl₂-løsningen ble vasket med 20 ml hver av 1M HCl, mettet NaHCO₃-løsning og saltoppløsning, og ble deretter tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet. Flash-kromatografi (5 x 5 cm, 10% Et₂O/pentan) ga TBS-eter 4 (698 mg, 2,9 mmol, 70%).

(S)-3-(tert)butyldimetyl-silanyloksy-2,2-dimetyl-5-fenylselenyl-cyklopentanon (5). En løsning av TBS-eter 4 (1,496 g, 6,2 mmol) i THF (2 ml, Aldrich) ble dråpevis tilsatt til en -78°C løsning av LDA (4,9 ml, 7,3 mmol, 1,5M/cykloheksan, Aldrich) i THF (22 ml, Aldrich), idet det ble skyllet med 2 ml THF. Etter 15 min. ble en løsning av PhSeCl (1,424 g, 7,4 mmol, Aldrich) i THF (2 ml) raskt tilsatt ved hjelp av kanyle, idet det ble skyllet med 2 ml THF. Løsningen ble omrørt i 10 min., og deretter fordelt mellom 50 ml 0,5M HCl og 75 ml eter. Eterlaget ble vasket med 30 ml hver av vann, mettet NaHCO₃-løsning og saltoppløsning, og ble deretter tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet. Flash-kromatografi (2% EtOAc/heks → 4%) ga fenylselenid 5 (1,641 g, 4,1 mmol, 67%) sammen med 476 mg av blandede fraksjoner inneholdende en lavere R_f-forurensning.

(S)-4-(tert)butyldimetyl-silanyloksy-5,5-dimetylcyklopent-2-enon (6). En løsning av selenid 5 (1,641 g, 4,1 mmol) og pyridin (0,62 ml, 7,7 mmol, Aldrich) i CH₂Cl₂ (13 ml, Aldrich) ble behandlet med H₂O (1 ml) og 30% H₂O₂ (1,1 ml, Aldrich). Blandingen ble omrørt i 30 min., og ble deretter fordelt mellom 25 ml CH₂Cl₂ og 25 ml mettet NaHCO₃-løsning. Det vandige laget ble ekstrahert med 25 ml CH₂Cl₂ og den sammenslåtte CH₂Cl₂-løsningen vasket med 1M HCl (2 x 25 ml) og saltoppløsning (50 ml). Løsningen ble deretter tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet, hvilket etterlater en oransje olje. Flash-kromatografi (6 x 4 cm, 10% eter/pentan) ga enon 6 (572 mg, 2,4 mmol, 59%).

(3-merkpto-propylsulfanyl)eddiksyre-metylester (8). En iskald løsning av 1,3-ditian (2,0 ml, 19,9 mmol) i THF (40 ml) ble behandlet med NaH (819 mg, 20,5

mmol). Etter 30 min. ble metylbromacetat (1,9 ml, 20,0 mmol) tilsatt og blandingen omrørt i 3,5 time ved romtemperatur. Reaksjonen ble stanset ved tilsetning av MeOH og deretter 50 ml 1M HCl. Blandingen ble ekstrahert med eter (2 x 50 ml) og den sammenslåtte eterløsningen vasket med mettet
 5 natriumbikarbonatløsning (50 ml) og saltoppløsning (50 ml), og ble deretter tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (10-15% etylacetat/heksaner) ga 971 mg (5,38 mmol, 27%) av tiolen.

{3-[(S)-3-(tert)butyldimetyl-silanyloksy)-4,4-dimetyl-5-okso-cyklopent-1-enylsulfanyl]propylsulfanyl}eddiksyre-metylester (10). En løsning av enon 6 (156 mg, 0,65 mmol) i MeOH (4,3 ml) ble behandlet med 30% H₂O₂ (0,21 ml) og 1M NaOH (32 µl). Etter 4 timer ble 20 ml mettet ammoniumkloridløsning tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med diklormetan (3 x 10 ml). Den sammenslåtte diklormetanløsningen ble tørket (Na₂SO₄), filtrert og avdampet under vakuum.

15 En løsning av tiol 8 (110 mg, 0,61 mmol) i diklormetan (3 ml) ble tilsatt til det rå epoksydet (9) med kanyle, idet det ble skyllet med 1,2 ml. Basisk aluminiumoksyd (628 mg) ble tilsatt og blandingen omrørt i 16 timer. Løsningsmidlet ble avdampet og rensing av residuet med flash-kromatografi på silikagel (15% etylacetat/heksaner) ga 129 mg (0,31 mmol, 48%) av det koblede
 20 enon (10).

(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)metanol (12). Til en iskald løsning av 10,0 g (47,0 mmol) 3-klorbenzo[b]tiofen-2-karboksytsyre (11) i 200 ml THF ble det tilsatt 47 ml LiAlH₄ (47 mmol, 1M/THF). Etter 3 timer ble reaksjonen stanset ved tilsetning av
 25 MeOH (ca. 40 ml). De flyktige stoffene ble avdampet, og residuet ble behandlet med 50 ml 1M HCl. Etter omrøring i 10 min. ble blandingen ekstrahert med CH₂Cl₂ (3 x 150 ml). Den sammenslåtte CH₂Cl₂-løsningen ble tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (10-20% etylacetat/heksan) ga 4,32 g (21,6 mmol, 46%) av alkoholen (12).

30 3-klorbenzo[b]tiofen-2-karbaldehyd (13). En løsning av alkohol 12 (4,32 g, 21,6 mmol) i 40 ml CH₂Cl₂ ble behandlet med 4A molekylsikker, NMO (3,81 g, 32,5 mmol) og TPAP (381 mg, 1,08 mmol). Reaksjonen ble omrørt i 10 min., og ble

deretter avdampet til tørrhet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (2% etylacetat/heksan) ga 3,52 g (18,3 mmol, 84%) av aldehydet (13).

5 (E)-3-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)akrylsyre-metylester (14). En løsnings av 3,52 g (18,3 mmol) av 13 i 50 ml toluen ble behandlet med metyl(trifenylfosfor- anyliden)acetat (7,48 g, 21,9 mmol). Etter 4 timer ble en mettet NaHCO₃-løsning (50 ml) tilsatt og blandingen ekstrahert med etylacetat (2 x 75 ml). Den sammenslåtte etylacetatløsningen ble vasket med saltoppløsning (50 ml), tørket (Na₂SO₄), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (5% etylacetat/heksan) ga 3,60 g (14,6 mmol, 80%) av enoatet (14).
10

3-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)propionsyre-metylester (15). En løsnings av 3,60 g (14,6 mmol) av 14 i 50 ml THF ble behandlet med Wilkinsons katalysator (3,35 g, 3,62 mmol). Blandingen omrørt under 1 atm. H₂ i 18 timer, og ble deretter
15 filtrert gjennom celitt. Løsningsmidlet ble avdampet og residuet renset ved flash-kromatografi på silikagel (0-2% etylacetat/heksan), hvilket gir 3,63 g (14,3 mmol, 99%) av den mettede esteren (15).

3-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)propan-1-ol (16). En iskald løsnings av 3,63 g (14,3 mmol) av 15 i 60 ml eter ble behandlet med LiBH₄ (621 mg, 28,5 mmol) og metanol (2 ml). Etter 30 min. ble 30 ml 0,5M NaOH-løsning tilsatt. Blandingens ble ekstrahert med etylacetat (2 x 25 ml), og den sammenslåtte etylacetatløsningen vasket med saltoppløsning (50 ml), tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet. Residuet ble renset ved flash-kromatografi på silikagel (5-20% etylacetat/heksan), hvilket gir
25 2,57 g (11,3 mmol, 79%) av alkoholen (16).

3-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)propionaldehyd (17). En -78°C løsnings av oksalyklorid (1,73 g, 13,6 mmol) i diklormetan (20 ml) ble behandlet med DMSO (20 ml). Etter 5 min. ble en løsnings av alkohol 16 (2,57 g, 11,3 mmol) i
30 diklormetan (20 ml) tilsatt. Etter ytterligere 15 min. ble trietylamin (7,1 ml, 50,6 mmol) tilsatt. Reaksjonsblandingen ble omrørt ved -78°C i 5 min., og fikk deretter oppvarmes til romtemperatur. Etter 30 min. ble 100 ml vann tilsatt og blandingen ekstrahert med diklormetan (3 x 60 ml). Den sammenslåtte diklormetanløsningen

ble tørket (Na_2SO_4), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (10% etylacetat/heksan) ga 2,11 g (9,4 mmol, 83%) av aldehydet (17).

5 5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)pent-1-yn-3-ol (18). En løsning av aldehyd 17 (2,11 g, 9,4 mmol) i 15 ml THF ble tilsatt til en løsning av etynylmagnesiumbromid (28,2 ml, 14,1 mmol, 0,5M THF) ved 0°C. Etter 1,5 time ble mettet NH_4Cl -løsning (75 ml) tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med etylacetat (3 x 50 ml). Den sammenslåtte etylacetatløsningen ble vasket med saltopløsning (50 ml), og ble deretter tørket (Na_2SO_4), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi (5-10 20% etylacetat/heksan) ga 2,20 g (8,78 mmol, 93%) av alkoholen (18).

Tert-butyl{1-[2-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)etyl]prop-2-ynyloksy}dimetylsilan (19). En løsning av alkohol 18 (2,20 g, 8,78 mmol) i diklormetan (15 ml) ble behandlet med DMAP (215 mg, 1,8 mmol), TBSCl (1,59 g, 10,5 mmol) og 15 trietylamin (1,8 ml, 13,2 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 24 timer, og deretter ble mettet natriumbikarbonatløsning (50 ml) tilsatt. Blandingens ble ekstrahert med diklormetan (2 x 50 ml), og den sammenslåtte diklormetanløsningen tørket (Na_2SO_4), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi (4% etylacetat/heksan) ga 3,06 g (6,4 mmol, 73%) av den beskyttede 20 alkoholen (19).

3-((1R,4S,5S)-4-(tert-butyl(dimetyl)silanyloksy)-5-[(E)-3-(tert-butyl(dimetyl)silanyloksy)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)pent-1-enyl]-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentylsulfanyl)propylsulfanyl)eddiksyre-metylester (20). En løsning av alkyn 19 25 (105 mg, 0,28 mmol) i THF (1,2 ml) ble behandlet med bis(cyklopentadienyl)-zirkoniumklorid-hydrid (91 mg, 0,35 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 30 min., ble deretter avkjølt til -78°C og behandlet med metyllitium (0,46 ml, 0,64 mmol, 1,4M i eter). Etter 10 min. ble en forhåndsavkjølt (-78°C) løsning av litium-2-tienylcyanokuprat (1,3 ml, 0,33 mmol, 0,25M i THF) tilsatt med kanyle. 30 Reaksjonsblandingen ble omrørt i 45 min., og deretter ble enonet 10 (61 mg, 0,15 mmol) i 0,2 ml THF tilsatt med kanyle, idet det ble skyllet med 0,2 ml THF. Etter 1 time ble reaksjonen stanset med tilsetning av 20 ml 1:1 mettet ammoniumkloridløsning/konsentrert ammoniumhydroksyd. Blandingens ble omrørt

i 45 min., og ble deretter ekstrahert med etylacetat (3 x 20 ml). Den sammenslåtte etylacetatløsningen ble tørket (Na_2SO_4), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (10% etylacetat/heksaner) ga 51 mg (0,064 mmol, 43%) av det koblede produktet (20).

5

(3-{(1R,4S,5S)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl}-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentylsulfanyl}propylsulfanyl)eddiksyre-metylester (21, 22). En løsning av 20 (51 mg, 0,064 mmol) i CH_3CN (1,6 ml) ble behandlet med HF-pyridin (0,26 ml). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 24 timer, og ble deretter stanset ved tilsetning av 15 ml mettet natriumbikarbonatløsning. Blandingen ble ekstrahert med diklormetan (3 x 10 ml), og den sammenslåtte diklormetanløsningen ble tørket (Na_2SO_4), filtrert og avdampet. Rensing ved preparativ tynnsjiktskromatografi på silikagel (40% etylacetat/heksaner) ga 12 mg (0,023 mmol, 71%) av hver diastereomer.

15

(3-{(1R,4S,5S)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl}-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentylsulfanyl}propylsulfanyl)eddiksyre (23, 24) Kaninlever-esterase (9 mg) ble tilsatt til en løsning av den lavere R_f -esteren 21 (11 mg, 0,021 mmol) i fosfatbuffer med pH 7,2 (0,5 ml)/ CH_3CN (0,1 ml). Blandingen ble omrørt natten over, og deretter ble 10 ml 0,5M HCl tilsatt sammen med noen få ml saltoppløsning. Blandingen ble ekstrahert med etylacetat (3 x 10 ml), og den sammenslåtte etylacetatløsningen tørket (Na_2SO_4), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (3-5% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) ga 4 mg (0,0078 mmol, 37%) av syren (23). 300 MHz ^1H NMR (CDCl_3 , ppm) δ 7,73 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,4-7,3 (2H, m), 5,9-5,8 (1H, m), 5,8-5,7 (1H, m), 4,4-4,3 (1H, m), 3,63 (1H, d, $J = 9,7$ Hz), 3,21 (2H, s), 3,1-2,4 (11H, overlapper m), 2,1-1,7 (4H, overlapper m), 1,12 (3H, s), 1,03 (3H, s).

20

25

Den høyere R_f -esteren ble hydrolysert på samme måte, med unntak av at en løsning av kaninlever-esterase (10 mg) i 0,5 ml fosfatbuffer med pH 7,2 ble tilsatt til en løsning av esteren (10 mg, 0,019 mmol) i CH_3CN (0,2 ml).

30

Reaksjonsblandingen ble omrørt i 22 timer, og deretter opparbeidet og rensset som ovenfor. Dette ga 7 mg (0,013 mmol, 71%) av syren (24). 300 MHz ^1H NMR (CDCl_3 , ppm) δ 7,73 (2H, d, $J = 8,8$ Hz), 7,44-7,31 (2H, m), 5,9-5,8 (1H, m), 5,8-

5,7 (1H, m), 4,4-4,3 (1H, m), 3,64 (1H, d, J = 9,7 Hz), 3,3-2,3 (13H, overlapper m), 2,1-1,7 (4H, overlapper m), 1,12 (3H, s), 1,03 (3H, s).

Tert-betylheks-5-ynyløksy-dimetylsilan (26).

5 7-(tert-betyltrimetyl-silanyløksy)hept-2-yn-1-ol (27).

Eddiksyre-7-(tert-betyltrimetyl-silanyløksy)hept-2-ynylester (28). En løsningsmidlet av 7-(tert-betyltrimetyl-silanyløksy)hept-2-yn-1-ol 27 (4,507 g, 21 mmol) i pyridin (20 ml) ble behandlet med eddiksyreanhydrid (3,0 ml, 31,8 mmol). Etter 18 timer ble løsningsmidlet avdampet og residuet avdampet samtidig med toluen.

10 Residuet ble anvendt direkte i neste trinn.

7-acetøksy-hept-5-ynsyre (29). En løsningsmidlet av rå 28 i aceton (100 ml) ble behandlet med Jones Reagent (18,0 ml, 41,4 mmol, 2,3M). Blandingen ble varm og ble derfor avkjølt med et isbad. Etter 1 time ved romtemperatur ble 10 ml isopropylalkohol tilsatt og blandingen omrørt videre i 15 min. Blandingen hadde fremdeles en brun farge, så ytterligere 10 ml isopropylalkohol ble tilsatt. Etter ytterligere 15 min. hadde fargen ikke endret seg, så blandingen ble filtrert gjennom celitt og filtratet avdampet under vakuum. Residuet ble fordelt mellom 100 ml eter og 100 ml mettet ammoniumkloridløsningsmidlet. Det vandige laget ble ekstrahert med 100 ml eter og den sammenslåtte eterløsningsmidlet vasket med saltoppløsningsmidlet, og ble deretter tørket (MgSO₄), filtrert og avdampet, hvilket etterlater en gul olje (6,333 g) som ble anvendt direkte i neste trinn.

25 7-hydroksy-hept-5-ynsyre-metylester (30). Den rå syren 29 (6,333 g) ble behandlet med en 1% løsningsmidlet av acetylklorid i metanol (60 ml). Etter 16 timer ble natriumbikarbonat (1,966 g, 23,4 mmol) tilsatt. Blandingen ble tørket (MgSO₄), filtrert gjennom celitt og avdampet under vakuum. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (30-40% etylacetat/heksaner) ga 7-hydroksy-hept-5-ynsyre-metylester 30 (3,022 g, 19,3 mmol, 92% fra 7-(tert-betyltrimetyl-silanyløksy)hept-2-yn-1-ol (27).

30

7-jod-hept-5-ynsyre-metylester (31). En løsningsmidlet av 30 (1,347 g, 8,6 mmol) i 5 ml diklormetan ble tilsatt til en blanding av trifenylofosfin (2,725 g, 10,4 mmol), imidazol (726 mg, 10,7 mmol) og jod (2,602 g, 10,3 mmol) i 34 ml diklormetan,

idet det ble skyllet med 5 ml diklormetan. Etter 40 min. ble diklormetanet avdampet under vakuum til noen få ml og den resulterende blandingen filtrert gjennom basisk aluminiumoksyd, idet det ble vasket med 10% etylacetat/heksaner. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (10% etylacetat/heksaner) ga 1,878 g (7,1 mmol, 83%) av propargyljodidet.

Tert-butyl-[(E)-1-[2-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)etyl]-3-jodallyloksy]dimethylsilan (32). En løsning av alkyn 19 (5,547 g, 15,2 mmol) i diklormetan (50 ml) ble behandlet med Cp_2ZrHCl (5,794 g, 22,5 mmol). Reaksjonsblandingen ble omrørt i 45 min., og deretter ble N-jodsuksinimid (4,966 g, 22,1 mmol) tilsatt. Etter 15 min. ble mettet natriumbikarbonatløsning (200 ml) tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med diklormetan (2 x 100 ml). Den sammenslåtte diklormetanløsningen ble tørket (MgSO_4), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (0-5% etylacetat/heksaner) ga 6,608 g (13,1 mmol, 86%) av vinyljodidet (32).

7-[(1R,4S,5R)-4-(tert-butyl-dimethyl-silanyloksy)-5-[(E)-3-(tert-butyl-dimethyl-silanyloksy)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)pent-1-enyl]-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ynsyre-metylester (33). En -78°C løsning av jodid 32 (675 mg, 1,34 mmol) i THF (2,0 ml) ble behandlet med tert-butyllitium (1,73 ml, 2,94 ml, 1,7M/-pentan). Den mørkerøde blandingen ble omrørt i 25 min., og deretter ble dimetylsink (0,80 ml, 1,6 mmol, 2M/toluen) tilsatt. Løsningen ble omrørt ved 0°C i 15 min., og deretter igjen avkjølt til -78°C . På dette tidspunkt ble en løsning av enon 6 (208 mg, 0,87 mmol) i THF (1,0 ml) tilsatt i løpet av 2 timer med sprøytepumpe, idet det ble skyllet med 0,5 ml THF. Etter 30 min. ble HMPA (1,34 ml, destillert fra CaH_2) tilsatt, fulgt av en løsning av propargyljodid 31 (1,286 g, 4,83 mmol) i THF (1,0 ml). Løsningen ble omrørt i et -40°C bad over natten, og deretter ble 20 ml mettet ammoniumkloridløsning og 10 ml vann tilsatt. Blandingene ble ekstrahert med diklormetan (20 ml) og etylacetat (2 x 20 ml). De sammenslåtte organiske ekstrakter ble tørket (MgSO_4), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (5-10% etylacetat/heksaner) ga 198 mg (0,27 mmol, 31%) av 33.

(Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ynsyre-metylester (34, 35).

En løsning av 33 (198 mg, 0,27 mmol) i CH₃CN (6,5 ml) ble behandlet med HF-pyridin (1,2 ml). Løsningen ble omrørt i 3 timer, og mettet
5 natriumbikarbonatløsning (120 ml) ble tilsatt. Blandingen ble ekstrahert med diklormetan (3 x 50 ml), og den sammenslåtte diklormetanløsningen tørket (Na₂SO₄), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi (50% etylacetat/heksan), fulgt av preparativ TLC (55% etylacetat/heksan), ga 55 mg (0,11 mmol, 41%) av den mindre polare diastereomeren (34) og 51 mg (0,10
10 mmol, 37%) av den mer polare diastereomeren (35).

(Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ynsyre (lav R_f-diastereomer, 36). En løsning av 34 (9 mg, 0,017 mmol) og kaninlever-esterase (1 mg) i fosfatbuffer med pH 7,2 (2 ml)/CH₃CN (0,1 ml) ble omrørt i 17 timer. Blandingen ble deretter avdampet samtidig med CH₃CN for å fjerne vann, og residuet renses ved flash-kromatografi på silikagel (3-7% MeOH/CH₂Cl₂), hvilket gir 8 mg (0,016 mmol, 93%) av syren (36).

(Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ynsyre (høy R_f-diastereomer, 37). En løsning av 35 (12 mg, 0,023 mmol) og kaninlever-esterase (1 mg) i fosfatbuffer med pH 7,2 (2 ml)/CH₃CN (0,1 ml) ble omrørt i 17 timer. TLC viste nærvær av utgangsmateriale, så ytterligere 2 mg av esterasen ble tilsatt. Etter
25 omrøring i enda 24 timer var reaksjonen fullført. Opparbeiding og rensing som ovenfor for 36, ga 8 mg (0,016 mmol, 69%) av syren (37).

(Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre-metylester (lav R_f-diastereomer, 38). Etanol (95%, 2,5 ml) ble tilsatt til NiCl₂ (50 mg, 0,39 mmol) og NaBH₄ (7 mg, 0,19 mmol). Den resulterende, sorte løsningen ble omrørt i 5 min., og deretter ble etylendiamin (41 µl, 0,61 mmol) tilsatt. Etter 15 min. ble en løsning av alkyne 34 (40 mg, 0,077 mmol) i 0,5 ml 95% etanol tilsatt, idet det ble skyllet med 0,5 ml etanol. Kolben ble spylt med H₂ og fikk omrøres under 1 atm. H₂ i 22

timer. Blandingen ble deretter filtrert gjennom celitt og rensset ved flash-kromatografi på silikagel (55% etylacetat/heksaner), hvilket gir 17 mg (0,032 mmol, 43%) av alkenet (38).

5 (Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre-metylester (høy R_f-diastereomer, 39). Den samme prosedyren som for 36 ble fulgt, hvilket gir 17 mg (0,032 mmol, 41%) av 39.

10 (Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre (lav R_f-diastereomer, 40). Den samme prosedyren som ovenfor for 36 ble fulgt, hvilket gir 9 mg (0,018 mmol, 85%) av syre 40. 300 MHz ¹H NMR (CDCl₃, ppm) δ 7,73 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,45-7,30 (2H, m), 5,8-5,6 (2H, m), 5,4-5,3 (2H, m), 4,3-4,1 (1H, m), 3,57
15 (1H, d, J = 9,7 Hz), 3,1-2,9 (2H, m), 2,5-1,9 (10H, m), 1,7-1,6 (2H, m), 1,09 (3H, s), 0,89 (3H, s).

20 (Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-5-(3-klorbenzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksypent-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre (høy R_f-diastereomer, 41). Den samme prosedyren som ovenfor for 36 ble fulgt, hvilket ga 9 mg (0,018 mmol, 85%) av syre 41. 300 MHz ¹H NMR (CDCl₃, ppm) δ 7,73 (2H, d, J = 8,8 Hz), 7,45-7,30 (2H, m), 5,8-5,6 (2H, m), 5,45-5,30 (2H, m), 4,3-4,2 (1H, m), 3,61 (1H, d, J = 9,7 Hz), 3,1-3,0 (2H, m), 2,5-1,9 (10H, m), 1,7-1,6 (2H, m), 1,10 (3H, s), 0,90 (3H, s).

25 (Z)-7-((1R,4S,5R)-5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl)-3-hydroksybut-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl)hept-5-ensyre (2-hydroksyetyl)amid (65). En løsning av syre 55 (fremstilt på samme måte som syre 41, 7 mg, 0,015 mmol) i DMF (0,5 ml) ble behandlet med N-hydroksysuksinimid (6,9 mg, 0,056 mmol).
30 Blandingen ble omrørt i 5 minutter og 1-[3-(dimetylamino)propyl]-3-etylkarbodiimid-hydroklorid (EDCI, 20,7 mg, 0,11 mmol) ble tilsatt. Etter omrøring i 7 timer ble 2-aminoetanol (5 µl, 0,083 mmol) tilsatt, og blandingen omrørt videre i 16 timer. Etylacetat (50 ml) ble tilsatt, og blandingen ble vasket med vann (3 x 50 ml)

og saltoppløsning (50 ml). Det organiske laget ble tørket (Na_2SO_4), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (5% metanol/diklormetan), fulgt av preparativ tynnsjikt-kromatografi (10% metanol/diklormetan) ga amid 65 (5 mg, 0,010 mmol, 65%).

5

(Z)-7-[(1R,4S,5R)-5-[(E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl]-3-hydroksybut-1-enyl]-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]hept-5-ensyre-amid (69). En løsning av syre 55 (9 mg, 0,02 mmol) i diklormetan (0,2 ml) ble behandlet med trietylamin (15 μl , 0,11 mmol). Løsningen ble avkjølt til 0°C og etter 10 minutter ble etylklorformiat (7 μl , 0,073 mmol) tilsatt. Løsningen ble omrørt videre i 1 time ved 0°C , og deretter ble konsentrert, vandig ammoniumhydroksydøsning tilsatt (10 μl , 0,26 mmol). Reaksjonen fikk omrøres ved romtemperatur over natten, og ble deretter stanset ved tilsetning av 0,5M HCl (7 ml). Blandingen ble ekstrahert med etylacetat (3 x 30 ml), og den sammenslåtte etylacetatløsningen ble vasket med mettet NaHCO_3 -løsning (20 ml) og saltoppløsning (20 ml), og ble deretter tørket (Na_2SO_4), filtrert og avdampet. Rensing ved flash-kromatografi på silikagel (2%-6% metanol/diklormetan) ga tittel-amidet (2,6 mg, 28%).

15

Fremgangsmåtene for screening av forbindelsene ifølge denne oppfinnelsen for den ønskede biologisk aktivitet, er illustrert i de følgende, ikke-begrensede eksempler. Resultatene for eksempler på forbindelser ifølge denne oppfinnelsen er tatt med i tabell 2. Disse resultatene er presentert kun for illustrative formål, og er ikke ment å begrense rammen for oppfinnelsen på noen måte.

25

Radioligandbinding.

Celler som stabilt uttrykker EP_{1-} , EP_{2-} , EP_{4-} og FP-reseptorer.

30

HEK-293-celler som stabilt uttrykker human- eller felin-FP-reseptoren, eller EP_{1-} , EP_{2-} eller EP_{4-} -reseptorer, ble vasket med TME-buffer, skrapet fra bunnen av kolben, og homogenisert i 30 sekunder ved anvendelse av et Brinkman PT 10/35 polytron. TME-buffer ble tilsatt for å oppnå et endelig volum på 40 ml i sentrifugeringsrørene (sammensetningen av TME er 100 mM TRIS-base, 20 mM MgCl_2 , 2M EDTA; 10N HCl blir tilsatt for å oppnå en pH på 7,4).

Celle-homogenatet ble sentrifugert ved 19000 r.p.m. i 20 min. ved 4°C ved anvendelse av en Beckman Ti-60-rotor. Den resulterende pelleten ble gjenopp-slemmet i TME-buffer, hvilket gir en endelig 1 mg/ml protein-konsentrasjon, som bestemt ved hjelp av Biorad-måling. Radioligand-bindingskonkurrans-målinger mot [³H]-17-fenyl PGF_{2α} (5 nM) ble utført i et 100 µl volum i 60 min. Bindingsreaksjoner ble startet ved tilsetning av plasmamembranfraksjon. Reaksjonen ble avsluttet ved tilsetning av 4 ml iskald TRIS-HCl-buffer og hurtig filtrering gjennom glassfiber GF/B-filtre ved anvendelse av en Brandel-cellehøster. Filtrene ble vasket 3 ganger med iskald buffer og ovnstørket i én time.

[³H]-PGE₂ (spesifikk aktivitet 180 Ci mmol) ble anvendt som radioligand for EP-reseptorer. [³H]-17-fenyl PGF_{2α} ble anvendt for FP-reseptorbindingsstudier. Bindingsstudier som anvender EP₁-, EP₂-, EP₄- og FP-reseptorer ble utført in duplo i minst tre separate forsøk. Et 200 µl målingsvolum ble anvendt. Inkubasjoner var i 60 min. ved 25°C, og ble avsluttet ved tilsetning av 4 ml iskald 50 mM TRIS-HCl, fulgt av hurtig filtrering gjennom Whatman GF/B-filtre og tre ytterligere 4 ml utvaskinger i en cellehøster (Brandel). Konkurransstudier ble utført ved anvendelse av en endelig konsentrasjon av 5 nM [³H]-PGE₂, eller 5 nM [³H]-17-fenyl PGF_{2α} og ikke-spesifikk binding bestemt ved 10⁻⁵M av umerket PGE₂, eller 17-fenyl PGF_{2α}, i henhold til reseptor-undertypstudier.

Fremgangsmåter for FLIPR™-studier.

(a) Cellekultur.

HEK-293(EBNA)-celler, som stabilt uttrykker én type eller undertype av rekombinante humant prostaglandin-reseptorer (prostaglandin-reseptorer uttrykt: hDP/Gqs5; hEP₁; hEP₂/Gqs5; hEP_{3A}/Gqi5; hEP₄/Gqs5; hFP; hIP; hTP), ble dyrket i 100 mm dyrkningsskåler i høy-glukose DMEM-medium inneholdende 10% føtalt bovint serum, 2 mM l-glutamin, 250 µg/ml geneticin (G418) og 200 µg/ml hygromycin B som utvelgelsesmarkører, og 100 enheter/ml penicillin G, 100 µg/ml streptomycin og 0,25 µg/ml amphotericin B.

(b) Kalsiumsignalstudier på FLIPR™.

Celler ble kimsatt i en tetthet på 5×10^4 celler pr. brønn i Biocoat® Poly-D-lysine-belagte, sortveggede, klarbunnede 96-brønners plater (Becton-Dickinson), og fikk feste seg over natten i en inkubator ved 37°C. Cellene ble deretter vasket
 5 to ganger med HBSS-HEPES-buffer (Hanks Balanced Salt Solution uten bikarbonat og fenol rød, 20 mM HEPES, pH 7,4) ved anvendelse av en Denley Cellwash platevasker (Labsystems). Etter 45 minutter av fargepåsetting i mørke, ved anvendelse av den kalsium-sensitive fargen Fluo-4 AM i en endelig konsentrasjon på 2 µM, ble platene vasket fire ganger med HBSS-HEPES-buffer
 10 for å fjerne overskudd av farge, hvilket etterlater 100 µl i hver brønn. Platene ble gjen-ekvilibrert til 37°C i noen få minutter.

Celler ble eksitert med en Argon-laser ved 488 nm, og emisjon ble målt gjennom et emisjonsfilter (FLIPR™, Molecular Devices, Sunnyvale, CA) med en båndvidde på 510-570 nm. Medikamentløsning ble tilsatt i et 50 µl volum til hver
 15 brønn, hvilket gir den ønskede, endelige konsentrasjon. Toppøkningen i fluorescerende intensitet ble registrert for hver brønn. På én plate tjente fire brønner hver som negative (HBSS-HEPES-buffer) og positive kontroller (standard agonister: BW245C (hDP); PGE₂ (hEP₁; hEP₂/Gqs5; hEP_{3A}/Gqi5; hEP₄/Gqs5); PGF_{2α} (hFP); carbacyclin (hIP); U-46619 (hTP), avhengig av reseptor).
 20 Fluorescens-toppendingen i hver medikamentholdige brønn ble deretter uttrykt i forhold til kontrollene.

Forbindelser ble testet i et høy-gjennomførings- (HTS) eller konsentrasjons-respons- (CoRe) format. I HTS-formatet ble førtifire forbindelser pr. plate undersøkt in duplo ved en konsentrasjon på 10^{-5} M. For å frembringe
 25 konsentrasjons-respons-grafer, ble fire forbindelser pr. plate testet in duplo i et konsentrasjonsområde mellom 10^{-5} og 10^{-11} M. Gjennomsnittet av duplikatverdiene ble utregnet. I begge ble HTS- eller CoRe-format for hver forbindelse testet på minst 3 separate plater ved anvendelse av celler fra forskjellige passasjer, hvilket gir en $n \geq 3$.

Tabell 2

Forbindelse	hFP	hEP ₁	hEP ₂	hEP _{3D} hEP _{3A}	hEP ₄	hDP	hIP	hTP
21	NA	NA	>10K	NA	98	NA	NA	NA
22	NA	NA	NA	NA	300 30	NA	NA	NA
23	NA	NA	NA	>10K NA	44 0,1	NA	NA	>10K
24	NA	NA	NA	>>10K NA	26 0,1	NA	NA	NA
34	NA		NA	NA	>10K >10K		NA	NA
35	NA			NA	2455		NA	NA
36	NA		NA	NA	200 66		>10K	NA
37	NA		NA	NA	100 32		>10K	NA
38	NA		NA	NA	2700 269		NA	NA
39	NA		NA	NA	2300 141		NA	NA
40	NA		NA	NA	200 0,3		NA	>10K
41	NA		>10K	NA	20		NA	>10K
42	NA	NA	NA	>10 ⁴ 559	>10 ⁴ NA	NA	NA	NA
43	NA	>10 ⁴	NA	1700 11	400 63		3981	18
44	NA	782	1500 944	300 4,6	5,5 0,2	>10K	284	18
45	NA	NA	NA	>10 ⁴ 531	400 51	NA	NA NA	631 NA
46	NA	290	>10K	>10K 589	4 0,4	NA	NA	
47	NA	963	NA	>10K	76		NA	
48			NA		45			
49			NA		1400			
50	NA	638	NA	6607 >10K	2400 3162		NA	>10K
51	NA		NA	NA	700		NA	

52	NA	27	NA	60	72 18		NA	
53	NA	1020	NA	1862	59 6,4		NA	
54	NA	308	NA NA	4700	20 0,3	NA	NA	
55	NA	758	NA NA	>10K	310 38	NA	NA	
60	NA	NA	NA	NA	>10K	NA	NA	NA
61	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
62	NA	NA	NA	NA	832	NA	NA	NA
63	NA	>10K	NA	NA	478	NA	NA	NA
64	NA	NA	NA	NA	4154	NA	NA	NA
65	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
68	NA	NA	NA	NA	678	NA	NA	>10K
69	NA	NA	NA	NA	5000	NA	NA	>10K
70	NA	NA	NA	>10K	219	NA	NA	
71	NA	NA	NA	NA	10000	NA	NA	
72	NA	NA	NA	NA	>10K	NA	NA	NA
73	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
74	NA	2376	NA		256	NA	NA	
75	NA	2050	NA		>10K	NA	NA	>10K

De øverste tallene er radioligandbindingsverdiene (nm).

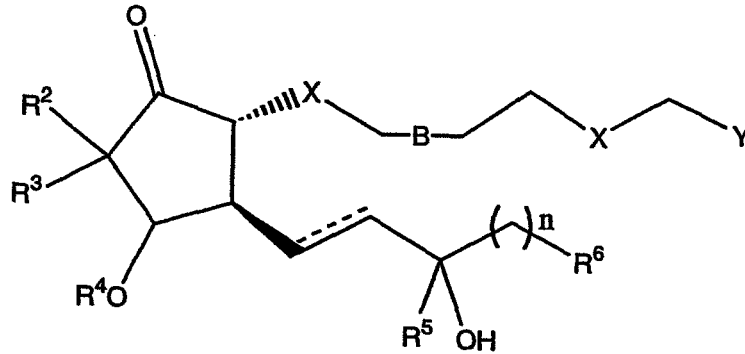
De nederste tallene er de funksjonelle dataene (nm).

5 Foregående beskrivelse angir i detalj spesifikke fremgangsmåter og preparater som kan anvendes til å praktisere foreliggende oppfinnelse, og representerer den beste måten som kan tenkes. Imidlertid er det åpenbart for en med alminnelig kunnskap på fagområdet at ytterligere forbindelser med de 5 ønskede farmakologiske egenskaper kan fremstilles på analog måte, og at de beskrevne forbindelser også kan oppnås av forskjellige utgangsførbindelser via 10 forskjellige kjemiske reaksjoner. Likeledes kan forskjellige farmasøytiske

preparater fremstilles og anvendes med vesentlig det samme resultat.
Beskyttelsesområdet for foreliggende oppfinnelse styres kun av de lovmessig
oppsatte, medfølgende kravene.

Patentkrav

1. Forbindelse representert ved Formel I:



5

Formel I

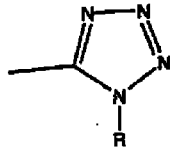
hvor den stiplede linjen indikerer en binding, de skraverte kilene indikerer α - (ned) konfigurasjonen, og de fylte trianglene indikerer β - (opp) konfigurasjonen;

B er en enkel, dobbel eller trippel kovalent binding;

n er 0-6;

10 X er CH₂, S eller O hvor begge X-grupper er identiske;

Y er et hvilket som helst farmasøytisk akseptabelt salt av CO₂H, CO₂R, CONHR,



CONHCH₂CH₂OH eller

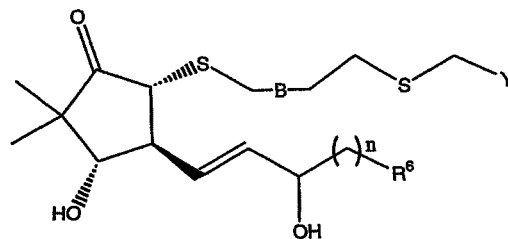
R er H eller C₁₋₆ alkyl;

R² og R³ C₁₋₆ alkyl;

15 R⁴ og R⁵ er hydrogen;

R⁶ er H, fenyl, benzotien-2-yl eller 3-klorbenzotien-2-yl.

2. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen med formel I videre er representert ved formel III



20

Formel III

hvor Y er CO₂R, eller et hvilket som helst farmasøytisk akseptabelt salt av CO₂H.

3. Forbindelse ifølge krav 2, hvor Y er CO₂H eller CO₂Me.

4. Forbindelse ifølge krav 3, hvor R⁶ er 3-klorbenzotien-2-yl.

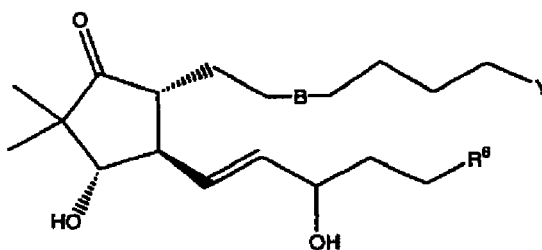
5

5. Forbindelse ifølge krav 4, hvor n er 2.

6. Forbindelse ifølge krav 5, hvor B er en enkeltbinding.

10

7. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen med formel I videre er representert ved Formel IV



Formel IV

15

hvor Y er CO₂R eller hvilket som helst farmasøytisk akseptabelt salt av CO₂H; og R⁶ er fenyl.

8. Forbindelse ifølge krav 7, hvor Y er CO₂H eller CO₂Me.

20

9. Forbindelse ifølge krav 8, hvor B er en dobbeltbinding.

10. Forbindelse ifølge krav 9, hvor R⁶ er 3-klorbenzotien-2-yl.

11. Forbindelse ifølge krav 10, hvor B er en dobbelt- eller trippelbinding.

25

12. Forbindelse ifølge krav 1, hvor nevnte forbindelse er valgt fra gruppen bestående av

(3-((1*R*,4*S*,5*S*)-5-(3-klor-benzo[*b*]tiofen-2-yl)-3-hydroksy-pent-1-enyl)-4-hydroksy-

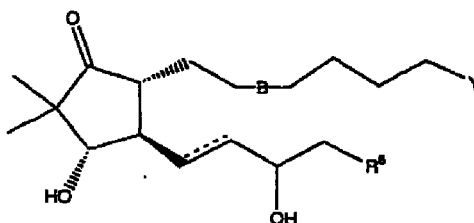
- 3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentylsulfanyl)-propylsulfanyl)-eddiksyre-metylester (**21, 22**);
- (3- $\{(1R,4S,5S)\}$ -5-(3-klor-benzo[b]tiofen-2-yl)-3-hidroksy-pent-1-enyl]-4-hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentylsulfanyl)-propylsulfanyl)-eddiksyre (**23, 24**);
- 5 (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-[(E)-5-(3-klor-benzo[b]tiofen-2-yl)-3-hidroksy-pent-1-enyl]-4-hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ynsyre-metylester (**34, 35**);
- (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-[(E)-5-(3-klor-benzo[b]tiofen-2-yl)-3-hidroksy-pent-1-enyl]-4-hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ynsyre (**36, 37**);
- (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-[(E)-5-(3-klor-benzo[b]tiofen-2-yl)-3-hidroksy-pent-1-enyl]-4-
- 10 hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre-metylester (**38, 39**);
- (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-[(E)-5-(3-klor-benzo[b]tiofen-2-yl)-3-hidroksy-pent-1-enyl]-4-hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre (**40, 41**);
- (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -4-hidroksy-5-((E)-3-hidroksy-5-fenyl-pent-1-enyl)-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre-metylester (**50, 51**)
- 15 (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -4-hidroksy-5-((E)-3-hidroksy-5-fenyl-pent-1-enyl)-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre (**52, 53**)
- (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hidroksy-but-1-enyl)-4-hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre (**54, 55**)
- 7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hidroksy-but-1-enyl)-4-hidroksy-3,3-
- 20 dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-heptansyre (**56, 57**)
- (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-(4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hidroksy-butyl)-4-hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre (**58, 59**)
- (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hidroksy-but-1-enyl)-4-hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre etylamid (**60, 61**)
- 25 (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hidroksy-but-1-enyl)-4-hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre diethylamid (**62, 63**)
- (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hidroksy-but-1-enyl)-4-hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre (2-hidroksy-etyl)-amid (**64, 65**)
- (3S,4R,5R)-4-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hidroksy-but-1-enyl)-3-hidroksy-2,2-
- 30 dimetyl-5-[(Z)-6-(1-H-tetrazol-5-yl)-heks-2-enyl]-cyklopentanon (**66, 67**)
- (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hidroksy-but-1-enyl)-4-hidroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre amid (**68, 69**)
- (Z)-7- $\{(1R,4S,5R)\}$ -5-((E)-4-benzo[b]tiofen-2-yl-3-hidroksy-but-1-enyl)-4-hidroksy-

3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ensyre-metylester (**70,71**)

7-[(1*R*,4*S*,5*R*)-5-((*E*)-4-benzo[*b*]tiofen-2-yl-3-hydroksy-but-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ynsyre-metylester (**72,73**)

5 7-[(1*R*,4*S*,5*R*)-5-((*E*)-4-benzo[*b*]tiofen-2-yl-3-hydroksy-but-1-enyl)-4-hydroksy-3,3-dimetyl-2-okso-cyklopentyl]-hept-5-ynsyre (**74,75**)

13. Forbindelse ifølge krav 1, hvor forbindelsen med formel I videre er representert ved Formel XIII



10

Formel XIII

hvor B representerer en enkelt- eller dobbeltbinding;
og R⁶ er fenyl.

14. Forbindelse ifølge krav 13, hvor B er en dobbeltbinding.

15

15. Forbindelse ifølge krav 13, hvor B er en enkeltbinding.

16. Oftalmisk løsning omfattende en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse som definert i hvilket som helst av de foregående krav.

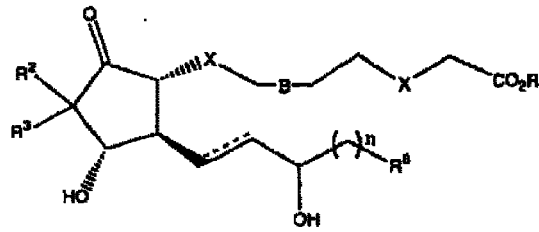
20

17. Farmasøytisk produkt, omfattende en beholder tilpasset dispens-innholdet av nevnte beholder i oppmålt form; og en oftalmisk løsning ifølge krav 16 i nevnte beholder.

25

18. Fremgangsmåte for fremstilling av forbindelser med formel VIII omfattende:

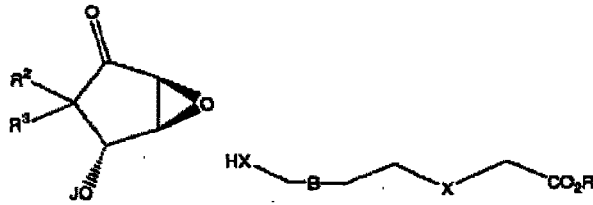
38



Formel VIII

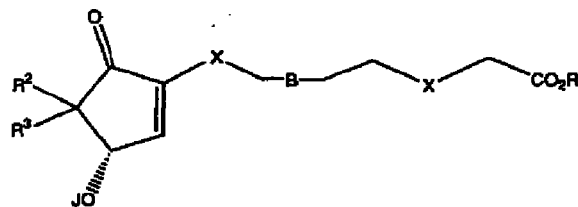
i) omsetning av en forbindelse med formel IX med en forbindelse med formel X i nærvær av en egnet base for å danne en forbindelse med formel XI;

5



Formel IX

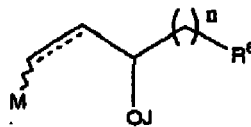
Formel X



Formel XI

ii) kobling en forbindelse med formel XI med en forbindelse med formel XII; og

10



Formel XII

iii) fjerning av beskyttelsesgruppene og separasjon av diastereomerene for å oppnå det ønskede produkt;

hvor de skraverte kilene indikerer α - (ned) konfigurasjonen, og de fylte trianglene indikerer β - (opp) konfigurasjonen; og de bølge linjer enten indikerer cis (Z) eller trans (Z) konformasjon;

5

n er 0-6;

B er en enkel, dobbel eller trippel kovalent binding;

J er en beskyttelsesgruppe som lett kan fjernes for å danne den respektive hydroksid gruppe uten å påvirke resten av molekylet;

10

R er C₁₋₆ alkyl;

R² og R³ er C₁₋₆ alky;

R⁶ er R⁶ er H, fenyl, benzotien-2-yl eller 3-klorbenzotien-2-yl;

X er S eller O hvor begge X-grupper er identisk; og

M er en gruppe som omfatter én eller flere metallatomer.

15

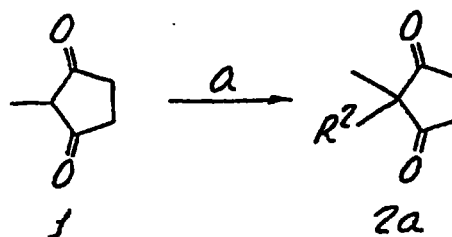
19. Forbindelse som definert i hvilket som helst av kravene 1-15 for anvendelse ved en metode for behandling av okulær hypertensjon eller glaukom hos et pattedyr.

2005 -10- 27

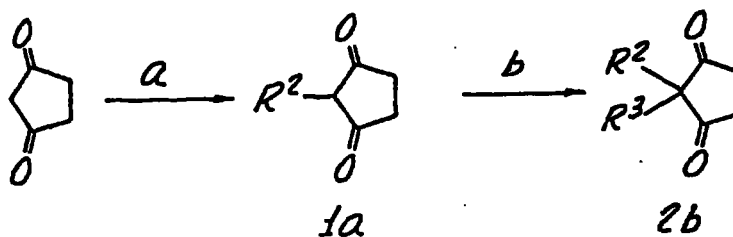
FIG. 1
(SKJEMA 1)

1/5

LIGNING 1



LIGNING 2



LIGNING 3

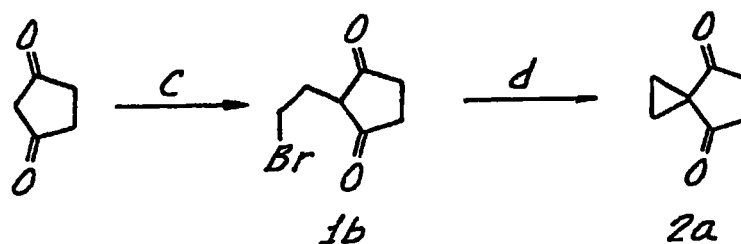
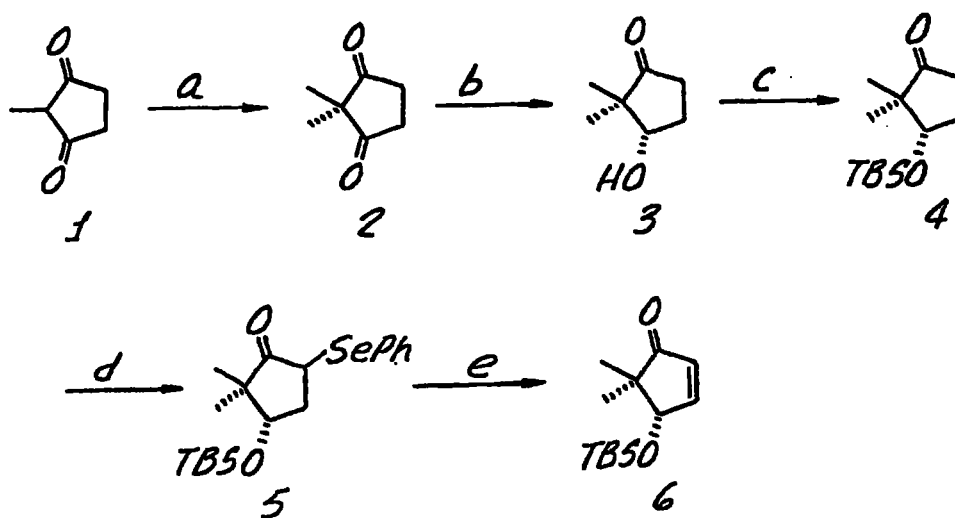


FIG. 2
(SKJEMA 2)



2/5

FIG. 3
(SKJEMA 3)

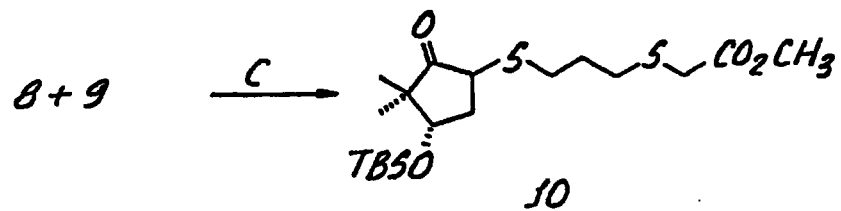
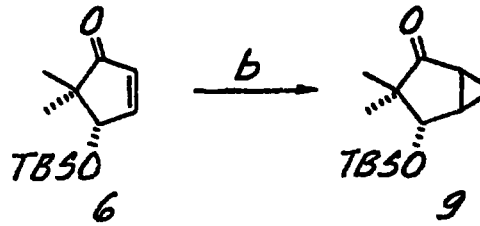
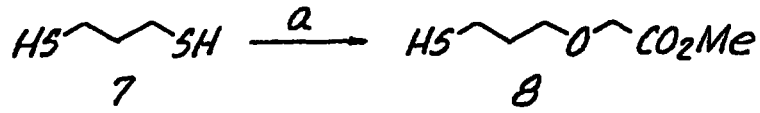
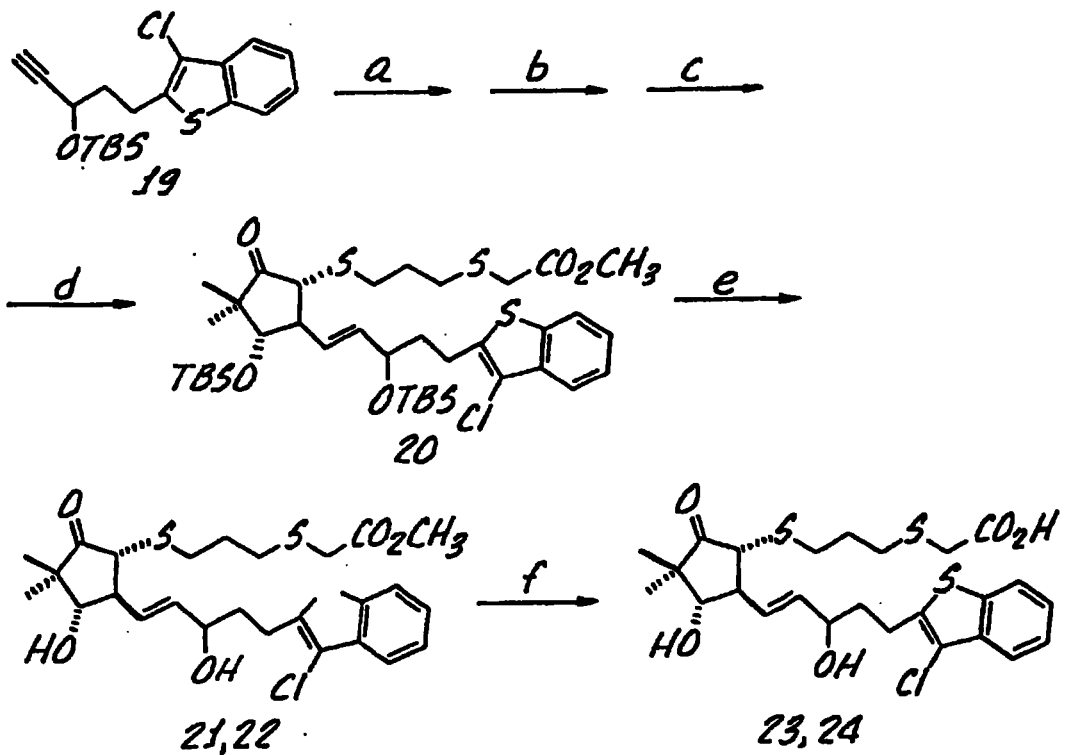


FIG. 5
(SKJEMA 5)



3/5

FIG. 4
(SKJEMA 4)

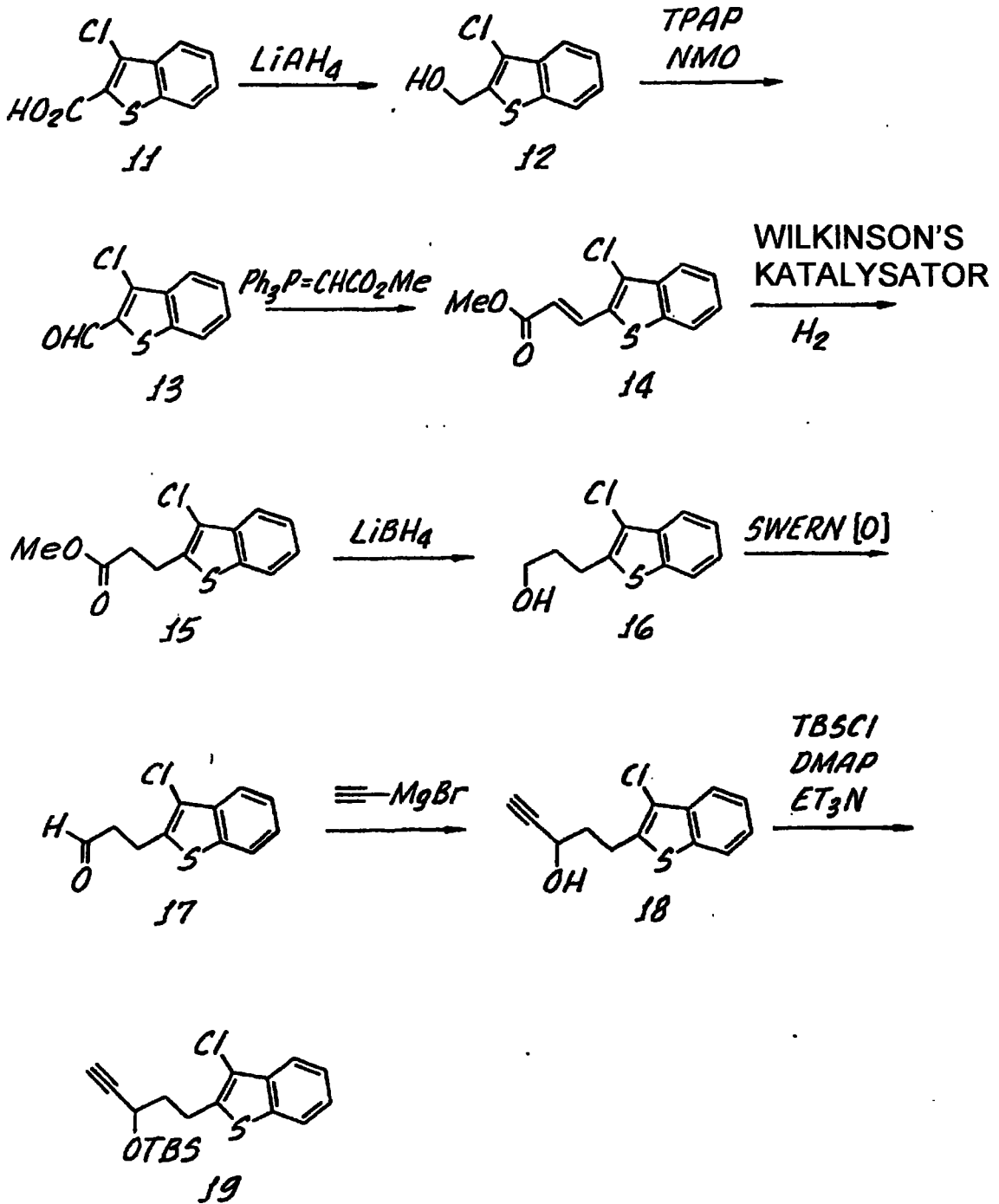


FIG. 6
(SKJEMA 6)

4/5

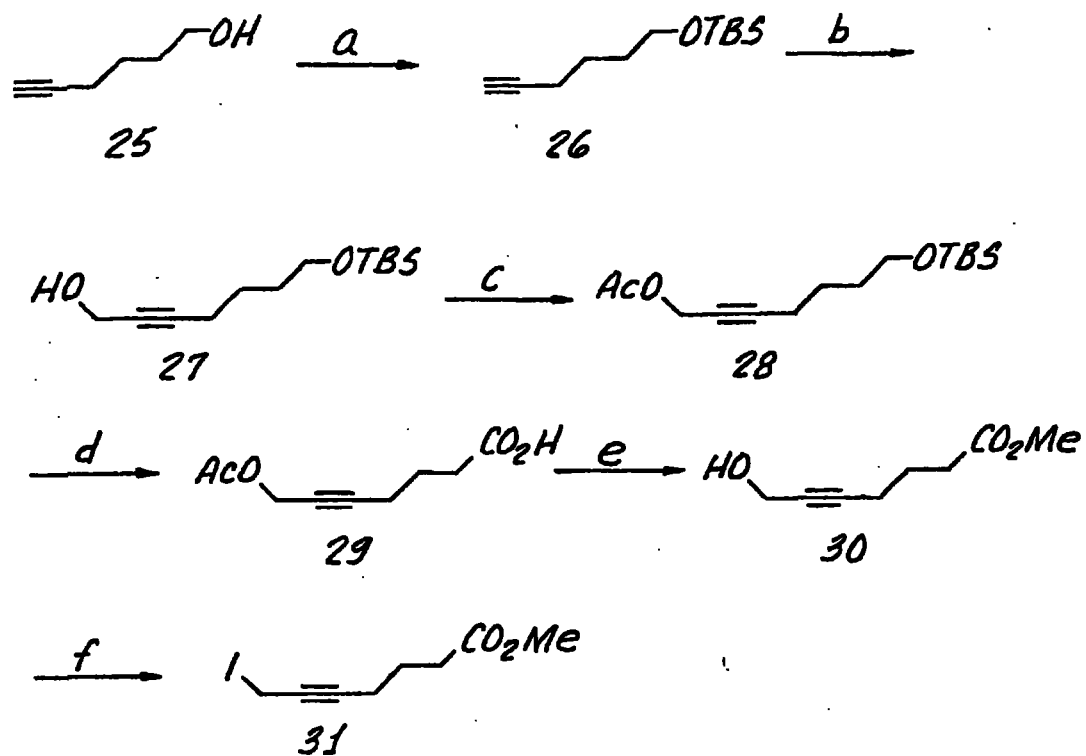


FIG. 8
(SKJEMA 8)

