

(19)



(10) **LT 5504 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

- (11) Patent numeris: **5504** (51) Int. Cl. (2006): **C07D 417/00**
A61K 31/18
(21) Paraiškos numeris: **2006 066** **A61K 31/33**
A61K 31/381
(22) Paraiškos padavimo data: **2006 08 02** **A61K 31/39**
A61K 31/41
(41) Paraiškos paskelbimo data: **2008 02 25** **A61K 31/433**
(45) Patent paskelbimo data: **2008 06 25**
(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: ____
(86) Tarptautinės paraiškos numeris: ____
(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: ____
(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: ____
(30) Prioritetas: ____
(72) Išradėjas:
Daumantas MATULIS, LT
Virginija DUDUTIENĖ, LT
Jurgita MATULIENĖ, LT
Lina MIŠTINAITĖ, LT
(73) Patent savininkas:
BIOTECHNOLOGIJOS INSTITUTAS, V. Graičiūno g. 8, LT-02241 Vilnius, LT
(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Liudmila GERASIMOVICH, IĮ „Liudmila Gerasimovič, Patentinis patikėtinis”,
Vingrių g. 13-42, LT-01141 Vilnius, LT

- (54) Pavadinimas:
Benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo sulfonamidai - karboanhidrazių slopikliai ir tarpiniai junginiai jiems gauti

- (57) Referatas:

Išradimas yra susijęs su naujais junginiais - benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo sulfonamidais. Šie junginiai gali būti naudojami biomedicinoje kaip vaistinių preparatų veikliosios medžiagos, nes pasižymi ligos progresavime dalyvaujančių fermentų slopinimu. Taip pat išradimas susijęs su naujais tarpiniais junginiais, kurie gali būti panaudoti tikslinių sulfonamidų sintezėje.

Išradimas yra susijęs su naujais aromatiniais ir heterocikliniais junginiais –
 5 sulfonamidų dariniais, kurie gali būti naudojami biomedicinoje kaip vaistinių preparatų
 veikliosios medžiagos, nes pasižymi ligos progresavime dalyvaujančių fermentų slopinimu.
 Taip pat išradimas susijęs su naujais tarpiniais junginiais, reikalingais tikslinių sulfonamidų
 sintezėje.

Šio išradimo aprašyme fermentai apima įvairius metalo (dažniausiai cinko) joną
 10 turinčius baltymus, tokius kaip karboanhidrazės bei metaloproteinazės.

Karboanhidrazės (CA) yra cinką savo struktūroje turintys fermentai, katalizuojantys
 grįžtamą anglies dioksido hidratacijos reakciją. Jie dalyvauja esminiuose fiziologiniuose
 procesuose, susijusiuose su kvėpavimu, CO₂/bikarbonato pernaša tarp plaučių ir
 metabolizuojančių audinių, pH ir CO₂ homeostazėje, elektrolitų sekrecijoje daugelyje
 15 audinių/organų ir kt. Iki šiol žmogaus organizme identifikuota 15 karboanhidrazės izoformų,
 kurioms būdinga skirtinga ląstelinė lokalizacija – 8 citozolinės formos, 4 susijusios su
 membrana, 2 mitochondrinės ir 1 sekretuojama. Žinomos dvi pagrindinės karboanhidrazių
 slopiklių klasės: 1) metalą kompleksuojantys anijonai ir 2) sulfonamido grupę turintys
 aromatiniai ir heterocikliniai slopikliai. Sulfonamidų klasės CA slopikliai plačiai naudojami
 20 kaip terapeutiniai preparatai, gydant įvairias ligas. Taip yra todėl, kad 15 karboanhidrazės
 izoformų apstu daugelyje ląstelių, audinių ir organų, kur jos atlieka svarbias fiziologines
 funkcijas. Kita panaši baltymų klasė, metaloproteinazės, yra proteolitiniai fermentai, kurie
 panašiai kaip ir karboanhidrazės pasižymi per didele ekspresija įvairiose vėžio vystymosi
 stadijose. Sulfonamidiniai slopikliai turi didelį potencialą taip pat ir slopinant šias
 25 metaloproteinazes.

Kadangi karboanhidrazės dalyvauja daugelyje esminių fiziologinių procesų,
 nereguliuojama CA izoformų ekspresija sukelia svarbias patologines pasekmes. Todėl CA
 aktyvumo reguliavimas, slopinant arba aktyvuojant, siūlo įdomias terapeutines perspektyvas.

Nustatyta keletas ligų, kurioms būdingas anglies dioksido ir bikarbonato mainų
 30 proceso sutrikimas, lemiantis pH pokyčius, sutrikdantis jonų transportą, skysčių sekreciją ir
 kt. Klasikinis tokios ligos pavyzdys būtų glaukoma. Ir nors CA slopikliai yra dažniausiai
 naudojami glaukomai gydyti, jų veikimo diapazonas yra kur kas platesnis. Jie gali būti
 naudojami edemai, vandenligei, aukštumų ligai, viršutinio virškinamojo trakto opoms.

chroniškam inkstų nepakankamumui, Parkinsono ligai, epilepsijos priepuoliams, kurių neveikia kiti vaistai, gydyti. Be to buvo pastebėta, kad CA slopikliai yra efektyvūs, gydant kai kurias vėžio rūšis. Pavyzdžiui buvo ištirta, kad CA slopikliai slopina leukemijos, melanomos, plaučių, kiaušidžių, gaubtinės žarnos, inkstų, prostatos, krūties, CNS vėžio ląstelių augimą (C. Supuran et al. (2000), *Eur. J. Med. Chem.* 35, 867-874). Būtent karboanhidrazės IX ir XII tiesiogiai siejamos su vėžio vystymusi; rinkinių CA IX specifinių slopiklių pagrindu panaudojimas yra paminėtas priešvėžinių ir neoplastinių būsenų gydymui ir nustatymui (WO 2004/048544). Taip pat buvo surasta, kad CA inhibitoriai yra naudingi diuretikai, gydant pacientus, kenčiančius nuo edemos ir širdies nepakankamumo. Manoma, kad būtent CA II aktyvumo slopinimas galėtų būti naudingas, mažinant kaulų rezorbciją. Be to parodyta, kad prokariotuose karboanhidrazės yra svarbios kvėpavimui, anglies dioksido pernašai ir fotosintezei. Todėl iškelta idėja, kad karboanhidrazių slopikliai galėtų būti naudojami kaip antibiotikai; etoksazolamidas (etoxazolamide) netgi buvo naudojamas meningito gydymui. Taip pat pastebėta, kad karboanhidrazių slopikliai pasižymi antimaliariniu efektu (Merlin, C. Master, M. et al. (2003), *J. Bacteriol.* 185(21), 6415-24; Pastorekova, S. Parkkila, S. et al. (2004), *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 19(3), 199-229; WO 2005/107470).

Patententinėje literatūroje yra skirta daug dėmesio įvairiems heterocikliniams sulfonamidų dariniams, kurie yra CA slopikliai ir kurių pagrindu gauti vaistiniai preparatai. Iš jų bene daugiausia dėmesio skiriama tiofeno sulfonamido dariniams. Nagrinėjami tiofeno dariniai, kondensuoti su kitais žiedais: pavyzdžiui, tienotipirano dariniai (US 7030250, US 5157129, US 5120757, US 5091409 ir kt.). Vienas iš tienotipirano darinių yra žinomas vaistas dorzolamidas (dorzolamide), naudojamas vienas ar su kitais junginiais glaukomai gydyti (US 6316443, 6248735, LT 3368, kt.). Tienotiazino sulfonamidai - kita tiofeno sulfonamido darinių klasė (pavyzdžiui, US 5646142, US 5424448, US 5093332, US 5538966, kt.), iš kurių vienas yra vaistas glaukomai gydyti (brinzolamidas, brinzolamide). Kiti žinomi kondensuoti tiofeno sulfonamido dariniai - tienotiadiazino dariniai (US 5510347, US 5464831), tienotiofeno dariniai (US 4929549, US 4894390 ir kt.), benzentiofeno dariniai (US 4788192, US 4668697), tienopiridino dariniai (US 4731368), tienofurano dariniai (US 4798831), tienopirolo dariniai (US 4751231). Taip pat nemažai yra užpatentuota, ypač iki 1990 metų, nekondensuotų su kitais žiedais tiofeno sulfonamido darinių (US 5378703, US 5240923, US 4847289, US 4929637 ir kt.). Be tiofeno darinių nemažai yra užpatentuota tiazolosulfonamidų (pavyzdžiui, US 5519040). Daugiausia buvo tyrinėjami benzotiazolsulfonamido dariniai (US 5059613, US 4975447 ir kt.), iš kurių vienas junginys

(etoksazolamidas, ethoxazolamide) yra vaistas glaukomai gydyti. Iš tiadiazolsulfonamidų yra susintetinti du vaistiniai preparatai – acetazolamidas (acetazolamide) ir metazolamidas (methazolamide), šios klasės sulfonamidai yra gan plačiai ir toliau tyrinėjami patentinėje literatūroje (US 2004/0146955, US 5242937, US 5225424, US 5055480, US 5010204 ir kt).

5 Kitų klasių junginiai nėra taip plačiai tyrinėjami.

[vairūs pakeisti nekondensuoti benzensulfonamidai yra žinomi ir plačiai nagrinėti kaip CA slopikliai, nors patentuotų duomenų nėra daug (US 2004/0146955; Mincione, F. Starnotti, M. et al. (2005), *Biorg. Med. Chem. Lett.* **15**, 3821-3827; Poulsen, S.-A. Bornaghi, L. F. Healy, P. C. (2005), *Biorg. Med. Chem. Lett.* **15**, 5429-33; US 4687855). Iš šių junginių tarpo yra kilę keletas vaistinių preparatų, pavyzdžiui, dichlorfenamidas (dichlorophenamide) ir indizulamas (indisulam), kuris yra klinikinių tyrimų antroje fazėje kaip priešvėžinis preparatas.

Pastaraisiais metais susidomėta benzensulfonamidais, kurie yra CA ir COX-2 (ciklooksigenazės 2) slopikliai (pavyzdžiui, US 2005/0222251, WO 2004/014352, WO 03/013655 ir kt.). Šiems benzensulfonamidams priklauso ir COX-2 slopikliai, naudojami kaip vaistinių preparatų veikliosios medžiagos – celekoksibas (celecoxib), valdekoksibas (valdecoxib), derakoksibas (deracoxib). Šie preparatai priklauso nesteroidinių prieš uždegiminių vaistų grupei ir naudojami artritams gydyti ir skausmui slopinti. Celekoksibo tipo pakeistų pirazolilbenzensulfonamidų yra gan plačiai tyrinėtas prieš uždegiminis poveikis (WO 95/15316).

Heterociklinės sistemos - benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo sulfonamidiniai dariniai yra naujos klasės sulfonamidai, kur sulfonamidinė grupė yra prijungta prie šios kondensuotos trižiedės sistemos benzeno žiedo. Kiek yra žinoma šio išradimo autoriams, trižiedžių kondensuotų heterociklinių sistemų, kuriose sulfonamidinė grupė būtų prijungta prie benzeno žiedo, ir tokie junginiai pasižymėtų CA slopinimu, literatūroje nėra paminėta.

Literatūroje yra aprašytos kondensuotos heterociklinės trižiedės sistemos, turinčios sulfonamidinę grupę ir pasižyminčios CA slopinimu, tačiau sulfonamidinė grupė jose yra prijungta prie heterociklinio žiedo (US 5681834, US 5334591, US 5308842, US 5235059, US 5175284 ir kt.).

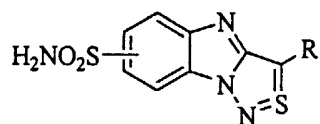
30 Nežiūrint to, kad buvo susintetinta daug įvairių sulfonamidų, esami farmaciniai preparatai jų pagrindu turi daug trūkumų. Vienas iš svarbiausių trūkumų yra tai, kad slopinamos karboanhidrazės visame organizme ir, naudojant sulfonamidinius slopiklius, pasireiškia įvairūs nelaukti pašaliniai poveikiai, dažniausiai dėl to, kad jie veikia nespecifiškai visas CA izoformas, bei yra toksiški.

Šiuo metu klinikiniam tikslams naudojami CA slopikliai, veikdami nespecifiškai, sukelia įvairius pašalinius poveikius. Ypač toksiniu poveikiu pasižymi sisteminiai slopikliai. Jie sukelia elektrolitų išsibalansavimą, mieguistumą, galvos skausmą, depresiją, apatiją, nerimą, irzlumą, nervingumą, nuovargį, galvos svaigimą, virškinamojo trakto dirglumą, anoreksiją, pykinimą, troškulį, vidurių užkietėjimą, raumenų silpnumą, tremorą, hiper- ir hipoglikemiją, inkstų skausmus, dizuriją, kaulų čiulpų išretėjimą, metabolinę acidozę ir t.t.

Todėl skirtingoms izoformoms specifinių arba atskiriems organams selektyvių sulfonamidinių slopiklių sukūrimas vis dar lieka labai aktualia ir svarbia užduotimi.

10

Šiame išradime aprašomi nauji sulfonamidai, kurių bendroji struktūrinė formulė (I)



(I)

kur R yra H, Cl, SCH₃, SO₂CH₃, morfolinas, tiofenilas, N(CH₃)₂, piperidinas, N-metil-piperazinas, pirolidinas ir kur sulfonamidinė grupė H₂NO₂S- yra 7 padėtyje arba 5, 6, 8 padėtyse.

Išradimo objektas yra taip pat sulfonamidų, kurių bendroji formulė (I) netoksiškos, farmaciniu požiūriu priimtinos druskos. Tai yra visos druskos, kurios nepraranda aktyvumo lyginant su pagrindiniais junginiais ir neigama žalingų ir nepageidaujamų poveikių. Tokios druskos gaunamos iš junginių, turinčių bendrą struktūrinę formulę I ir bazinį azotą, sumaišius jų tirpalą su farmakologiškai priimtinomis netoksinėmis organinėmis ir neorganinėmis rūgštimis, tokiomis kaip vandenilio chloridas, butano dirūgštis, citrinų rūgštis, vyno rūgštis, fosforo rūgštis, sieros rūgštis ir kt.

Išradimo įgyvendinimo pavyzdys yra minėti sulfonamidai, kuriuose grupė H₂NO₂S- yra 7 padėtyje.

Konkrečių išradimo junginių pavyzdžiais yra junginiai, pasirinkti iš grupės, apimančios:

3-chlorbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą;

3-morfolinobenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą;

3-fenilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą;

3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą;

benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą; ir

3-metilsulfonilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą.

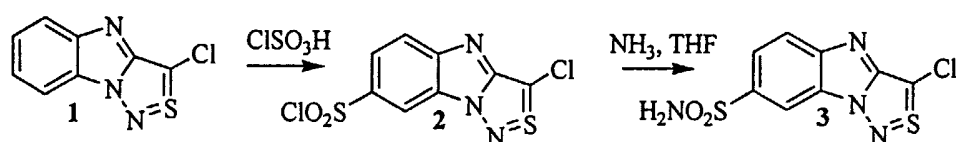
30

pasižymintys karboanhidrazių slopinimu.

Išradimo objektu taip pat yra žemiau aprašyti nauji tarpiniai junginiai, kurie gali būti naudojami bendrosios formulės (I) sulfonamidams gauti.

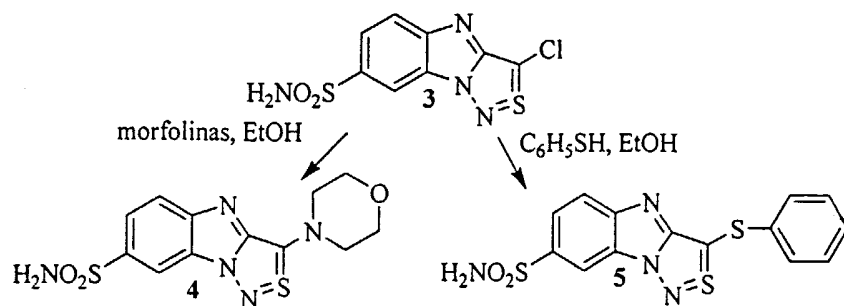
- 5 Nauji išradimo junginiai yra gaunami pagal žemiau atvaizduotas bendras sintezės schemas A-G:

A) 3-chlorbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (junginys 3) gavimo schema.



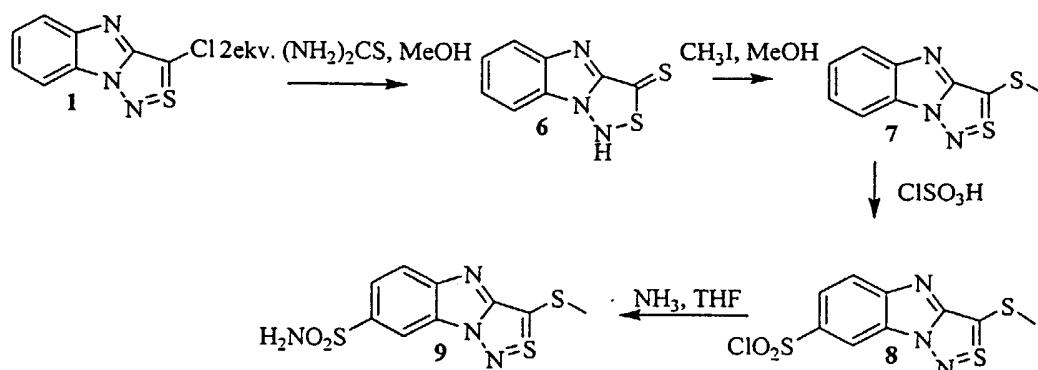
- 10 Pradinės medžiagos (junginio 1) sintezė aprašyta: Tumkevicius, S. Labanauskas, L. Bucinskaite, V. Brukstus, A. Urbelis, G. (2003), *Tetrahedron Lett.* **44**, 6635-38. Kadangi elektrofilinis pakeitimas tiadiazole 1, vyksta į 7 padėtį, tai veikiant tiadiazolą 1 chlorsulfonine rūgštimi, gaunamas sulfonchloridas 2. Junginio 2 sulfonchloridinės grupės chloro atomas lengvai keičiamas amino grupe, veikiant amoniaku tetrahidrofurane, ir
- 15 gaunamas tikslinis sulfonamidas 3, atitinkantis bendrąją formulę (I).

B) 3-morfolin- ir 3-fenilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidų (junginiai 4, 5) gavimo schema.



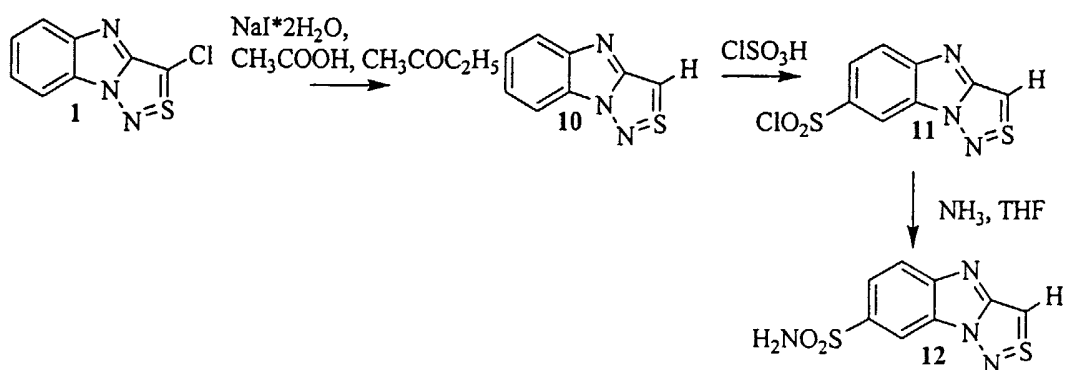
- 20 Sulfonamidai 4 ir 5 gaunami iš junginio 3, veikiant jį su morfolinu ir tiofenoliu etanolyje. Tokiu pat būdu gali būti gauti junginiai, kurių bendroji formulė yra (I), turintys pakaitu R N(CH₃)₂, piperidino, N-metilpiperazino, pirolidino grupes.

C) 3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (junginys 9) gavimo schema.



Pirmiausia tiadiazolą (junginį 1) tiokarbamido poveikyje paverčia tionu 6. Tiono 6
 5 sintezė aprašyta - Tumkevicius, S. Labanauskas, L. Bucinskaite, V. Brukstus, A. Urbelis, G.
 (2003), *Tetrahedron Lett.* **44**, 6635-38, tačiau junginio 6 gavimas panaudojant tiokarbamidą
 yra neaprašytas šiame straipsnyje. Gautas tionas 6 reaguoja su metiljodidu ir gaunamas
 metilintas darinys 7. Veikiant tiadiazolą 7 chloresulfonine rūgštimi, gaunamas sulfonchloridas
 8. Junginio 8 sulfonchloridinės grupės chloro atomas lengvai keičiamas amino grupe,
 10 veikiant amoniaku tetrahidrofurane, ir gaunamas sulfonamidas 9, atitinkantis bendrąją
 formulę (I).

D) Benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (junginys 12) gavimo schema.



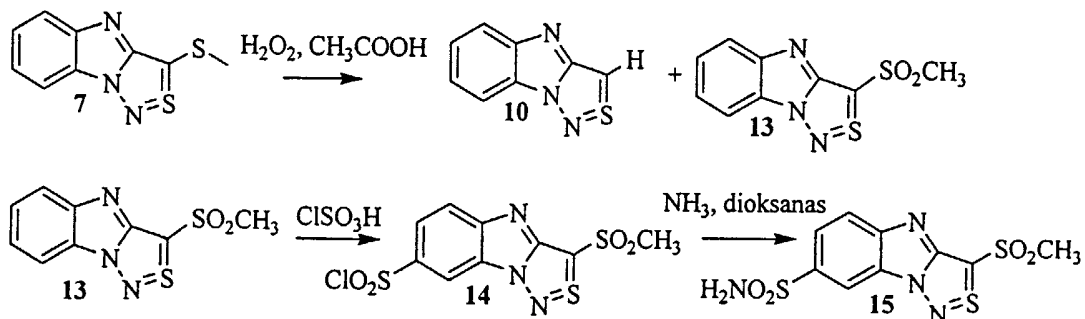
15

Pirmiausia tiadiazolas 1 veikiamas vandeniniu natrio jodidu ir acto rūgštimi 2-butanone.
 Reakcijos metu gaunamas tiadiazolas 10, kuris reaguoja su chloresulfonine rūgštimi,
 sudarydamas sulfonchloridą 11. Junginio 11 sulfonchloridinės grupės chloro atomas lengvai
 keičiamas amino grupe, veikiant amoniaku tetrahidrofurane, ir gaunamas sulfonamidas 12.

20

atitinkantis bendrąją formulę (I).

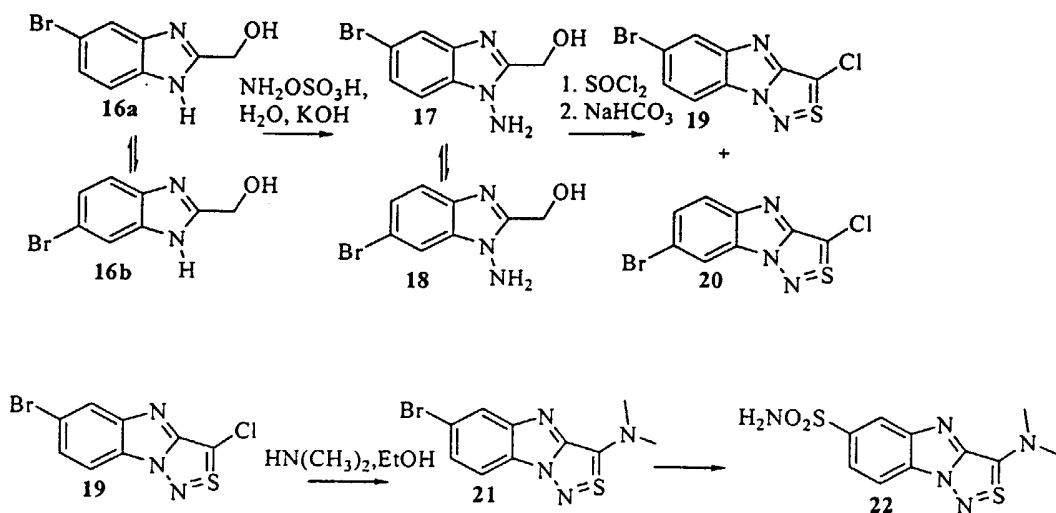
E) 3-metilsulfonilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (junginys 15) gavimo schema.



- 5 Pirmiausia tiadiazolas 7 oksiduojamas acto perrūgštinti ir gaunamas junginių 10 ir 13 mišinys. Junginių 10 ir 13 mišinys atskiriamas chromatografiniu būdu. Tiadiazolas 13 reaguoja su chloresulfonine rūgštimi, sudarydamas sulfonchloridą 14. Junginio 14 sulfonchloridinės grupės chloro atomas lengvai keičiamas amino grupe, veikiant amoniaku dioksane, ir gaunamas sulfonamidas 15, atitinkantis bendrąją formulę (I).

10

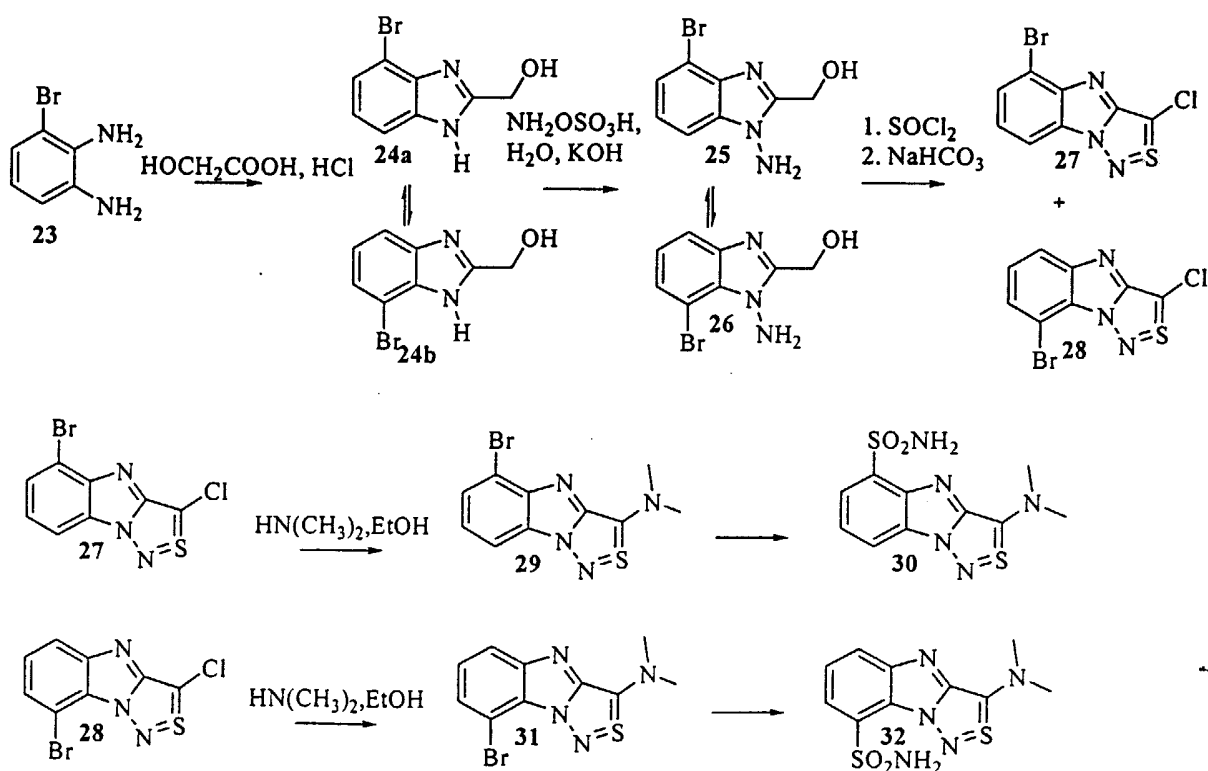
F) 3-dimetilaminobenzenimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-6-sulfonamido (junginys 22) gavimo schema.



- 15 (5(6)-Brom-1*H*-benzimidazol-2-il)metanolis (16a, b) susintetintas pagal literatūroje aprašytas metodiką: Khan, M. K. Mohammady, A. Fauzia, A. Y. (1972), *J. Sci. and Ind. Res.* 15, 11-12. (5(6)-Brom-1*H*-benzimidazol-2-il)metanolis (16a, b) buvo aminintas O-hidroksilaminsulfonrūgštinti pagal vandenyje tirpiems benzimidazolams taikomą metodiką:

- Пожарский, А. Ф. Кузьменко, В. В.; Бумбер, А. А. Петров, Э. С. Терехова, М. И. Чикина, Н. Л. Нанавян, И. М. (1989), *XГС*, 2, 221. Amininimo metu susidarė dviejų brom-pakeistų izomerų 17, 18 mišinys. Junginių 17, 18 nepavyko atskirti, kadangi jų tirpumai bei R_f yra vienodi. Veikiant sulfinilchloridu (1-amino-5-brom- ir 1-amino-6-brom-1H-benzimidazol-2-il)metanolių (17, 18) mišinį, buvo gautas brompakeistų tiadiazolo darinių 19, 20 mišinys, kuris buvo atskirtas chromatografiniu būdu. Tiadiazolas 22 gali būti gautas iš junginio 21 pagal metodikas, aprašančias aromatinių sulfonilo chloridų ir sulfonamidų gavimą iš jų halidų (Pandya, R.Murashima, T.Tedeschi, L.Barrett, A.G.M. (2003), *J.Org.Chem.*, 68,8274-8276; Graham, S.L.Scholz, T.H. (1986), *Synthesis*, 1031-1032; Hamada, T.Yonemitsu, O.(1986), *Synthesis*, 852-854).

G) 3-dimetilaminobenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-5- ir 8-sulfonamidų (junginiai 30, 32) gavimo schema.



15

- Analogišku 3-dimetilaminobenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-6-sulfonamido (22) gavimui būdu gali būti gaunami tiadiazolo dariniai, turintys sulfonamidinę grupę 5 bei 8 padėtyse. Šiuo atveju pradiniu junginiu naudojamas 3-brombenzen-1,2-diaminas (23). gaunamas pagal literatūroje aprašytą metodiką: Sunder, S. Peet, N.P. (1979), *J.Heterocycl.*

Chem., 16, 33-37. 3-Brombenzen-1,2-diaminas (23) gali būti kondensuojamas su glikolio rūgštimi, susidarant 4(7)-brom-1*H*-benzimidazol-2-il)metanoliui (24a, b) analogiškoms 4(7)-brom-2-metil-1*H*-benzimidazolo gavimui sąlygomis (Dandegaonker, Recanker, (1961), *J. Karnatak. Univ.* 6, 25, 29, 30). Sekančios stadijos atliekamos taip pat kaip ir gaunant 3-dimetilaminobenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-6-sulfonamidą (22) ir gali būti gaunami sulfonamidai 30 ir 32, atitinkantys bendrąją formulę (I).

Gautų junginių savybių iliustravimui šiame aprašyme pateikiamos :

Fig. 1, kurioje pavaizduoti jaučio II karboanhidrazės jungimosi su pentafluorbenzensulfonamidu (A) ir išradimo junginiu (B) tyrimo izoterminio titravimo kalorimetrijos metodu būdingi rezultatai;

Fig. 2, vaizduojanti jaučio II karboanhidrazės (b-CAII) stabilizavimą esant skirtingoms išradimo junginio koncentracijoms, tiriant fluorescenciniu metodu;

Fig. 3, kurioje parodytas jaučio II karboanhidrazės (b-CAII) lydimosi temperatūros (T_m) kitimas priklausomai nuo išradimo junginio koncentracijos (L_t), tiriant fluorescenciniu metodu.

Žemiau pateikiami konkretūs išradimo junginių gavimo pavyzdžiai, tarp jų ir reikalingų išradimo junginiams susintetinti tarpinių junginių (kurių aprašymas literatūroje nerastas), konkretūs gavimo pavyzdžiai. Šie pavyzdžiai pateikti išradimo esmės iliustravimui, neapribojant išradimo apimties.

1 pavyzdys. Tarpinio junginio 3-chlorbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchlorido (junginys 2) gavimas.

I atšaldytus iki -5°C 3ml ClSO_3H , maišant, dalimis sudeda 0,3g (1,43mmol) 3-chlorbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolo (1), gauto pagal žinomą metodiką. Tuomet reakcijos mišinį maišo kambario temperatūroje 24h ir išpila ant ledo. Ekstrahuoja chloroformu, chloroformo sluoksnį plauna H_2O ir džiovina Na_2SO_4 . Chloroformą nugarina rotaciniu garintuvu. Gautas junginys yra kristalinis, ryškiai geltonos spalvos.

Išiga: 0,38g (86%), lyd. t. $184-185^{\circ}\text{C}$.

^1H BMR spektras (300 MHz, CDCl_3): 8,1 (1H, d, $J=9\text{Hz}$, 5-H), 8,23 (1H, dd, $J=2$ ir 9 Hz, 6-H), 8,94 (1H, d, $J=2\text{Hz}$, 8-H).

Gauta medžiaga negryninta naudojama sekančioje stadijoje.

2 pavyzdys. 3-chlorbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (junginys 3) gavimas.

Į 0,04g (0,13mmol) 3-chlorbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchlorido (junginys 2 pagal ankstesnį pavyzdį) ir 2ml tetrahidrofurano tirpalą, maišant, sulašina 0,1ml
5 25% NH₃ vandeninio tirpalo. Reakcijos mišinį maišo 15min, susidariusius kristalus filtruoja, plauna NaHCO₃ vandeniniu tirpalu ir H₂O, kristalina iš acto rūgšties. Gautas junginys yra kristalinis, oranžinės spalvos.

Išeiga: 0,03g (80%), lyd. t. 242-243°C.

¹H BMR spektras (300 MHz, DMSO-D₆): 7,49 (2H, s, NH₂), 8,01 (2H, s, 5-H ir 6-H),
10 8,62 (1H, s, 8-H).

¹³C BMR spektras (75 MHz, CDCl₃): 112,00, 121,59, 125,77, 127,34, 127,37, 136,18, 154,13, 154,83.

Masių spektras (m/z, %): M⁺ 288, 100 %, M⁺ 290, 50 %.

C₈H₅ClN₄O₂S₂. Apskaičiuota: C 33,28%, H 1,75%, N 19,40%. Rasta: C 33,39%, H
15 1,8%, N 19,63%.

3 pavyzdys. 3-morfolinobenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (junginys 4) gavimas.

0,02 g (0,069 mmol) 3-chlorbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido
20 (junginys 3 pagal ankstesnį pavyzdį), 0,012g (0,14mmol) morfolino ir 20 ml etanolio mišinį virina 1,5 h, po to ataušina iki kambario temperatūros. Susidariusius kristalus filtruoja, plauna šaltu H₂O ir kristalina iš acto rūgšties. Gautas junginys yra kristalinis, oranžinės spalvos.

Išeiga: 0,02g (85%), lyd.t. 253-254°C.

¹H BMR spektras (300 MHz, DMSO-D₆): 3,9 (8H, s, (CH₂)₄), 7,41 (2H, s, NH₂), 7,88
25 (2H, s, 5-H ir 6-H), 8,44 (1H, s, 8-H).

¹³C BMR spektras (75 MHz, CDCl₃): 50,38, 65,79, 111,6, 121,27, 124, 126,4, 135,15, 146,94, 151,7, 154,23.

C₁₂H₁₄N₅O₃S₂. Apskaičiuota: C 42,47%, H 3,86%, N 20,63%. Rasta: C 42,56%, H
30 3,94%, N 20,47%.

4 pavyzdys. 3-fenilsulfanilbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (junginys 5) gavimas.

0,1g (0,35mmol) 3-chlorbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (junginys 3 pagal 2 pavyzdį), 0,039 g (0,35 mmol) tiofenolio ir 50 ml etanolio mišinį virina 1,5h, po to ataušina. Etanolį nugarina rotaciniu garintuvu, gautus kristalus plauna NaHCO_3 vandeniniu tirpalu ir H_2O , kristalina iš acto rūgšties. Gautas junginys yra kristalinis, oranžinės spalvos.

5 Išeiga: 0,02g (85%), lyd.t. 225-226°C.

^1H BMR spektras (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 7,3-7,6 (5H, m, SC_6H_5), 7,65 (2H, s, NH_2), 7,96 (2H, s, 5-H ir 6-H), 8,59 (1H, s, 8-H).

^{13}C BMR spektras (75 MHz, CDCl_3): 112, 121,54, 125,43, 127,13, 129,9, 130,9, 131,39, 131,97, 132,51, 136,15, 154,76, 155,7.

10 $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_3$. Apskaičiuota: C 46,39%, H 2,78%, N 15,46%. Rasta: C 46,26%, H 2,87%, N 15,37%.

5 pavyzdys. Tarpinio junginio benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-3-tiono (junginys 6) gavimas.

15 0,5g (2,38mmol) 3-chlorbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo (1), gauto pagal žinomą metodiką, 0,4g (5,26mmol) tiokarbamido ir 20ml metanolio mišinį virina 0,5h. Po to reakcijos mišinį ataušina iki kambario temperatūros, susidariusius kristalus filtruoja, plauna šaltu metanolium. Gautus kristalus ištirpina 0,2M NaOH, tirpalą nufiltruoja ir parūgština acto rūgštimi iki ~pH 5; susidariusius kristalus filtruoja ir kristalina iš dioksano. Gautas junginys
20 yra kristalinis, ryškiai oranžinės spalvos.

Išeiga: 0,34g (69%), lyd. t. 236-237°C.

6 pavyzdys. Tarpinio junginio 3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo (junginys 7) gavimas

25 0,2g (0,96mmol) benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-3-tiono (junginys 6 pagal ankstesnį pavyzdį), 40ml metanolio ir 0,2g (1,4mmol) jodmetano mišinį virina 0,5h. Tirpiklį nugarina rotaciniu garintuvu, susidariusius kristalus plauna NaHCO_3 vandeniniu tirpalu ir H_2O , kristalina iš H_2O /etanolio (2:1) mišinio. Gautas junginys yra kristalinis, oranžinės spalvos.

30 Išeiga: 0,18g (86%), lyd. t. 120-121°C.

^1H BMR spektras (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6/\text{CCl}_4$): 2,97 (3H, s, SCH_3), 7,26 (1H, t, $J=8\text{Hz}$, 7-H), 7,51 (1H, t, $J=8\text{Hz}$, 6-H), 7,77 (1H, d, $J=8\text{Hz}$, 5-H), 8,09 (1H, d, $J=8\text{Hz}$, 8-H).

^{13}C BMR spektras (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6/\text{CCl}_4$): 18,49, 113,25, 120,33, 121,18, 127,66, 128,21, 134,79, 153,04, 153,63.

$C_9H_7N_3S_2$. Apskaičiuota: C 48,85%, H 3,19%, N 18,99%. Rasta: C 48,93%, H 2,96%, N 18,89%.

5 7 pavyzdys. Tarpinio junginio 3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchlorido (junginys 8) gavimas.

I atšaldytą iki -5°C 1ml ClSO_3H , maišant, dalimis sudeda 0,1g (0,45mmol) 3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo (junginys 7 pagal ankstesnį pavyzdį). Tuomet reakcijos mišinį maišo kambario temperatūroje 24h ir išpila ant ledo. Ekstrahuoja chloroformu, chloroformo sluoksnį plauna H_2O ir džiovina Na_2SO_4 . Chloroformą nugarina rotaciniu garintuvu. Gautas junginys yra kristalinis, ryškiai geltonos spalvos.

Išeiga: 0,12g (86%), skyla nuo 190°C .

^1H BMR spektras (300 MHz, CDCl_3): 2,99 (1H, s, SCH_3), 8,05 (1H, dd, $J = 0,6$ ir 9 Hz, 5-H), 8,17 (1H, dd, $J = 2$ ir 9 Hz, 6-H), 8,90 (1H, dd, $J = 0,6$ ir 2 Hz, 8-H).

Gauta medžiaga negryninta naudojama sekančioje stadijoje.

15

8 pavyzdys. 3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (junginys 9) gavimas.

I 0,04g (0,125mmol) 3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchlorido (junginys 8 pagal ankstesnį pavyzdį) ir 2ml tetrahidrofurano tirpalą, maišant, sulašina 0,1ml 25% NH_3 vandeninio tirpalo. Reakcijos mišinį maišo 15min, susidariusius kristalus filtruoja, plauna NaHCO_3 vandeniniu tirpalu ir H_2O , kristalina iš acto rūgšties. Gautas junginys yra kristalinis, oranžinės spalvos.

Išeiga: 0,02g (53%), lyd. t. $260-261^{\circ}\text{C}$.

^1H BMR spektras (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 2,99 (1H, s, SCH_3), 7,47 (2H, s, NH_2), 8,00 (2H, s, 5-H ir 6-H), 8,58 (1H, s, 8-H).

^{13}C BMR spektras (75 MHz, DMSO): 18,58, 112,00, 121,47, 125,04, 126,69, 135,95, 138,72, 154,00, 154,98.

$C_9H_8N_4O_2S_3$. Apskaičiuota: C 35,99%, H 2,68%, N 18,65%. Rasta: C 36,16%, H 2,62%, N 18,80%.

30

9 pavyzdys. Tarpinio junginio benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo (junginys 10) gavimas

0,2g (0,95mmol) 3-chlorbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo (1), gauto pagal žinomą metodiką 0,9g (4,7mmol) $\text{NaI} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10ml acto rūgšties ir 50ml 2-butanono mišinį virina 5h.

LT 5504 B

Tuomet tirpiklį nugarina rotaciniu garintuvu, gautą masę supila į $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ vandeninį tirpalą ir gerai išmaišo. Gautus kristalus perkristalina iš H_2O ir etanolio (10:1) mišinio. Gautas junginys yra kristalinis, oranžinės spalvos.

Išeiga: 0,06g (38%), lyd. t. 158-160°C.

- 5 ^1H BMR spektras (300 MHz, CDCl_3): 7,34 (1H, t, $J = 8\text{Hz}$, 7-H), 7,6 (1H, t, $J = 8\text{Hz}$, 6-H), 7,94 (1H, d, $J = 8\text{Hz}$, 5-H), 8,2 (1H, d, $J = 8\text{Hz}$, 8-H), 8,47 (1H, s, 3-H).

^{13}C BMR spektras (75 MHz, CDCl_3): 113,29, 116,76, 120,47, 121,15, 127,71, 128,28, 154,98, 155,38.

Masių spektras (m/z, %): M^+ 175, 93%, $\text{M}^+ - \text{S}$ 146, 77%, $\text{M}^+ - \text{S}$, CH, N 120, 57%.

- 10 $\text{C}_8\text{H}_5\text{N}_3\text{S}$. Apskaičiuota: C 54,84%, H 2,88%, N 23,98%. Rasta: C 54,65%, H 2,37%, N 23,60%.

10 pavyzdys. Tarpinio junginio benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchlorido (junginys 11) gavimas.

- 15 Į atšaldytus iki -5°C 0,6ml ClSO_3H , maišant, dalimis sudeda 0,06g (0,34mmol) benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo (junginys 10 pagal ankstesnį pavyzdį). Tuomet reakcijos mišinį maišo kambario temperatūroje 24h ir išpila ant ledu. Ekstrahuoja chloroformu, chloroformo sluoksnį plauna H_2O ir džiovina Na_2SO_4 , po to chloroformą nugarina rotaciniu garintuvu. Gautas junginys yra kristalinis, ryškiai geltonos spalvos.

- 20 Išeiga: 0,06g (64%), lyd. t. 188-189°C.

^1H BMR spektras (300 MHz, CDCl_3): 8,1 (1H, dd, $J = 0,6$ ir 9Hz , 5-H), 8,24 (1H, dd, $J = 2$ ir 9Hz , 6-H), 8,74 (1H, s, 3-H), 9 (1H, dd, $J = 0,6$ ir 2Hz , 8-H).

Gauta medžiaga negryninta naudojama sekančioje stadijoje.

- 25 11 pavyzdys. Benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (junginys 12) gavimas.

- Į 0,06g (0,22mmol) benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchlorido (junginys 11 pagal ankstesnį pasvyzdį) ir 2ml tetrahidrofurano tirpalą, maišant, sulašina 0,15ml 25% NH_3 vandeninio tirpalo. Reakcijos mišinį maišo 15min, susidariusius kristalus filtruoja, plauna 30 NaHCO_3 vandeniniu tirpalu ir H_2O , kristalina iš acto rūgšties. Gautas junginys yra kristalinis, geltonos spalvos.

Išeiga: 0,039g (70%), lyd. t. 245-246°C.

^1H BMR spektras (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 7,46 (2H, s, NH_2), 7,98 (2H, s, 5-H ir 6-H), 8,63 (1H, s, 8-H), 9,3 (1H, s, 3-H).

^{13}C BMR spektras (75 MHz, DMSO): 112,08, 121,22, 122,69, 125,18, 125,94, 135,37, 155,3, 157,75.

$\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$. Apskaičiuota: C 37,79 %, H 2,38%, N 22,03 %. Rasta: C 37,86 %, H 2,41 %, N 22,18 %.

5

12 pavyzdys. Tarpinio junginio 3-metilsulfonilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo (13) gavimas.

Į 0,3g (1,36mmol) 3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo (junginys 7 pagal 6 pavyzdį) ir 7ml acto rūgšties tirpalą supila 0,65g H_2O_2 35% ir išlaiko penkias paras kambario temperatūroje. Tuomet tirpiklį nugarina rotaciniu garintuvu, gautą masę supila į NaHCO_3 vandeninį tirpalą ir gerai išmaišo. Gauna junginių 10 ir 13 mišinį santykiu 1:3. Produktų mišinį skirsto „flash“ chromatografijos būdu, naudojant 15cm aukščio ir 1cm skersmens kolonėlę. Naudoja silikagelį Silica gel 60 (0,04-0,063mm), Merck. Eliuentu naudoja etilacetatą. Gautas junginys 13 yra kristalinis, tašniai raudonos spalvos.

15 Junginys 10: Išeiga: 0,03g (1%), lyd. t. 158-160°C.

R_f 0,13 (etilacetatas).

3-metilsulfonilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo (junginys 13) išeiga: 0,19g (56%), lyd. t. 186-187°C.

R_f 0,73 (etilacetatas).

20 ^1H BMR spektras (300 MHz, CDCl_3): 3,64 (3H, s, SO_2CH_3), 7,47 (1H, t, $J = 8\text{Hz}$, 7-H), 7,71 (1H, t, $J = 8\text{Hz}$, 6-H), 8,03 (1H, d, $J = 8\text{Hz}$, 5-H), 8,24 (1H, d, $J = 8\text{Hz}$, 8-H).

^{13}C BMR spektras (75 MHz, CDCl_3): 44,82, 113,39, 121,68, 122,2, 128,35, 129,86, 141,86, 149,59, 155,6.

25 $\text{C}_9\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$. Apskaičiuota: C 42,67%, H 2,79%, N 16,59%. Rasta: C 42,86%, H 2,75%, N 16,48%.

13 pavyzdys. Tarpinio junginio 3-metilsulfonilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchlorido (junginys 14) gavimas.

30 Į atšaldytus iki -5°C 0,6ml ClSO_3H , maišant, dalimis sudeda 0,05g (0,2mmol) 3-metilsulfonilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo (junginys 13 pagal ankstesnį pavyzdį). Tuomet reakcijos mišinį maišo kambario temperatūroje 24h ir ištapa ant ledo. Susidariusius kristalus nufiltruoja. Gautas junginys yra kristalinis, oranžinės spalvos.

Išeiga: 0,05g (72%), skyla nuo 210°C.

^1H BMR spektras (300 MHz, DMSO): 3,73(3H, s, SO_2CH_3), 8,1 (1H, d, 9Hz, 5-H), 8 (1H, dd, $J=2$ ir 9 Hz, 6-H), 8,42 (1H, s, 8-H).

Gauta medžiaga negryninta naudojama sekančioje stadijoje.

- 5 14 pavyzdys. 3-Metilsulfonilbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (15) gavimas.

10 Į 0,032g (0,09mmol) 3-metilsulfonilbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchlorido (junginys 14 pagal ankstesnį pavyzdį) ir 20ml dioksano tirpalą, maišant, sulašina 0,1ml 25% NH_3 vandeninio tirpalo. Reakcijos mišinį maišo 0,5h, susidariusius kristalus nufiltruoja, plauna NaHCO_3 vandeniniu tirpalu ir H_2O , kristalina iš acto rūgšties. Gautas junginys yra kristalinis, oranžinės spalvos.

Išeiga: 0,018g (60%), lyd. t. 249-250°C.

^1H BMR spektras (300 MHz, DMSO-D_6): 3,69 (3H, s, SO_2CH_3), 7,56 (2H, s, NH_2), 8,1 (2H, s, 5-H ir 6-H), 8,7 (1H, s, 8-H).

- 15 ^{13}C BMR spektras (75 MHz, DMSO): 44,96, 112,13, 121,7, 126,44, 126,95, 132,96, 137,24, 152,79, 155,73.

$\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_3$. Apskaičiuota: C 32,52%, H 2,43%, N 16,86%. Rasta: C 32,61%, H 2,44%, N 16,75%.

- 20 15 pavyzdys. Tarpinių junginių (1-amino-5-brom-1*H*-benzimidazol-2-il)metanolio (junginys 17) ir (1-amino-6-brom-1*H*-benzimidazol-2-il)metanolio (junginys 18) gavimas

25 Į pašildytą iki 40°C temperatūros 5,2g (22,7mmol) (5(6)-brom-1*H*-benzimidazol-2-il)metanolio (junginys 16a,b), gauto pagal žinomą metodiką, 4,8g (72,8mmol) KOH tirpalą 40ml H_2O maišant supila 6g (50mmol) $\text{NH}_2\text{OSO}_3\text{H}$ tirpalą 15ml H_2O , neutralizuotą NaHCO_3 , neleidžiant temperatūrai pakilti virš 40°C. Pasibaigus egzoterminei reakcijai, mišinį dar šildo 40-50°C temperatūroje 0,5h ir ataušina iki kambario temperatūros. Gautus kristalus filtruoja ir kristalina iš H_2O . Gauna 17 ir 18 junginių mišinį santykiu 1:1 (iš ^1H BMR spektro). Gautas junginių mišinys yra kristalinis, baltos spalvos.

- 30 Bendra išeiga: 3,7g (67%).

^1H BMR spektras (300 MHz, DMSO-D_6): 4,73 (4H, s, 2CH_2), 5,43 (1H, s, OH), 5,45 (1H, s, OH), 6,01 (2H, s, NH_2), 6,03 (2H, s, NH_2), 7,31 (1H, d, $J=9\text{Hz}$, ArH), 7,39 (1H, d, $J=9\text{Hz}$, ArH), 7,46 (1H, d, $J=9\text{Hz}$, ArH), 7,53 (1H, d, $J=9\text{Hz}$, ArH), 7,67 (1H, s, ArH), 7,73 (1H, s, ArH).

^{13}C BMR spektras (75 MHz, DMSO- D_6): 55,81, 55,81, 112,48, 113,46, 114,15, 114,98, 121,46, 122,01, 124,93, 125,36, 135,73, 137,78, 139,62, 141,88, 156,17, 156,48.

IR spektras (ν , cm^{-1}): 3350, 3313, 3184, 3120 NH_2 .

$\text{C}_8\text{H}_8\text{BrN}_3\text{O}$. Apskaičiuota: C 39,67%, H 3,31 %, N 17,36%. Rasta: C 39,88%, H 3,52%, N 17,46%.

16 pavyzdys. Tarpinių junginių 3-chlor-6-brombenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolo (junginys 19) ir 3-chlor-7-brombenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolo (junginys 20) gavimas

10 Mišinį iš 0,5g (2,1mmol) (1-amino-5-brom-1*H*-benzimidazol-2-il)metanolio (junginys 17 pagal ankstesnį pavyzdį) ir (1-amino-6-brom-1*H*-benzimidazol-2-il)metanolio (junginys 18 pagal ankstesnį pavyzdį) virina su 5ml SOCl_2 0,5h. Tuomet SOCl_2 perteklių nugarina rotaciniu garintuvu, gautus kristalus plauna NaHCO_3 vandeniniu tirpalu ir H_2O . Gauna 19 ir 20 junginių mišinį santykiu 1:1. Produktų mišinį skirstyto vakuuminės chromatografijos būdu. 7cm aukščio ir 2,5cm skersmens filtrą vakuumuojant ir suslegiant užpildo 5cm aukščio silikagelio sluoksniu. Atskirinėjamą medžiagą ištirpina lakiame tirpiklyje, prideda silikagelio tiek pat, kiek chromatografuojamos medžiagos, ir tirpiklį nugarina rotaciniu garintuvu. Sausą silikagelį su medžiaga lygiu sluoksniu paskirsto ant paruoštos kolonėlės ir suslegia, prijungus vakuumą. Tada, prijungus vakuumą, pila eliuento ir renka frakcijos po 10ml. Frakcijų grynumą tikrina plonasluoksne chromatografija. Tirpiklį nugarina rotaciniu garintuvu. Naudoja silikagelį Silica gel 60, Fluka. Eliuentu naudoja benzeno ir etilacetato mišinį, laipsniškai didindami etilacetato kiekį. Iš pradžių naudoja benzeną, o vėliau prideda po 2% etilacetato.

Bendra išeiga: 0,36 g (60%) (kristalina iš metanolio).

25 20: Išeiga: 0,15g (25%), lyd. t. 193-194°C.

R_f = 0,47 (etilacetatas: benzenas = 1:1).

^1H BMR spektras (300 MHz, DMSO- D_6): 7,7 (1H, dd, J = 2 ir 9Hz, 6-H), 7,79 (1H, dd, J = 0,5Hz ir 9Hz, 5-H), 8,46 (1H, dd, J = 0,5 ir 2Hz, 8-H).

30 ^{13}C BMR spektras (75 MHz, DMSO- D_6): 112,76, 116,24, 123,03, 126,61, 129,36, 131,66, 151,72, 152,49.

$\text{C}_8\text{H}_3\text{BrClN}_3\text{S}$. Apskaičiuota: C 33,30%, H 1,05 %, N 14,56%. Rasta: C 33,56%, H 1,15%, N 14,63%.

3-chlor-6-brombenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolo (junginys 19) išeiga: 0,15g (25%), lyd. t. 153-154°C.

$R_f = 0,52$ (etilacetatas: benzenas = 1:1).

^1H BMR spektras (300 MHz, DMSO- D_6): 7,45 (1H, dd, $J = 2$ ir 9 Hz, 7-H), 8,07 (1H, d, $J = 2$ Hz, 5-H), 8,19 (1H, d, $J = 9$ Hz, 8-H).

^{13}C BMR spektras (75 MHz, DMSO- D_6): 115,36, 121,57, 123,38, 123,77, 127,76,
5 129,38, 152,77, 154,55.

$\text{C}_8\text{H}_3\text{BrClN}_3\text{S}$. Apskaičiuota: C 33,30 %, H 1,05 %, N 14,56 %. Rasta: C 33,01 %, H 1,33 %, N 14,36 %).

10 17 pavyzdys. 6-brom-3-dimetilaminbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolo (junginys 21) gavimas.

2g (6,9mmol) 3-chlorbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolo (junginys 19 pagal ankstesnį pavyzdį), 0,94g 33 % vandeninio dimetilamino 100ml etanolio mišinį virina 3h, po to tirpiklį nugarina rotaciniu garintuvu. Gautus kristalus filtruoja, plauna šaltu H_2O ir kristalina iš metanolio. Gautas junginys yra kristalinis, oranžinės spalvos.

15 Išeiga: 1,6g (78%).

18 pavyzdys. 3-dimetilaminbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-6-sulfonamido (junginys 22) gavimas.

I atšaldytą -70°C 2g (6,7mmol) 6-brom-3-dimetilaminbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolo (junginys 21 pagal ankstesnį pavyzdį) ir 10ml tetrahidrofurano tirpalą supila 3ml (7,37mmol) 2,5M n-butilličio tirpalą heksane. Mišinį maišo 6h -70°C , tuomet SO_2 dujas leidžia į mišinį tol, kol tirpalas rodo bazinę terpę. Tuomet tirpalą 1h maišo kambario temperatūroje, įpila heksano 10ml ir gauna ličio sulfinatą, kurį nufiltruoja. Į negrynintos 1g (3,5mmol) druskos suspensiją 15ml bevandenio heksano 0°C dalimis supila
25 0,47g (3,5mmol) sulfonilchlorido tirpalą 7ml bevandenio heksano, gautus kristalus nufiltruoja. Gautus kristalus plauna NaHCO_3 tirpalu ir ekstrahuoja chloroformu. Chloroforminį sluoksnį džioviną Na_2SO_4 ir chloroformą nugarina rotaciniu garintuvu. Negrynintą sulfonilchloridą tirpina nedideliame kiekyje tetrahidrofurano ir į jį maišant, sulašina 0,2ml 25% NH_3 vandeninio tirpalo. Reakcijos mišinį maišo 15min, susidariusius
30 kristalus filtruoja, plauna NaHCO_3 vandeniniu tirpalu ir H_2O , kristalina iš acto rūgšties. Gautas junginys yra kristalinis, oranžinės spalvos.

Išeiga: 0,6g (30%).

Karboanhidrazių (taip pat kaip ir visų fermentų) aktyvumo slopinimas yra matuojamas, stebint jų katalizuojamos reakcijos sulėtėjimą. Karboanhidrazės yra cinko metalofermentai, katalizuojantys grįžtamą anglies dioksido hidratacijos reakciją:



- 5 Šios reakcijos slopinimas gali būti stebimas matuojant anglies dioksido suvartojimą, hidrokarbonato susidarymą ir pH kitimus terpėje (Krebs, J.F. and C.A. Fierke, (1993), *J. Biol. Chem.* 268(2), 948-54). Slopikliai, prisijungiantys prie karboanhidrazės aktyvaus centro, konkuruoja su fermento substratu ir slopina katalizuojamą reakciją. Visi sulfonamidai jungiasi aktyviame centre ir slopina šią reakciją. Jų atveju slopinimas yra ekvivalentus jungimuisi (Chakravarty, S. and K.K. Kannan, (1994), *J. Mol. Biol.* 243(2), 298-309; Lindskog, S. (1997), *Pharmacol. Ther.* 74(1), 1-20; Baird, T.T.Jr. et al. (1997), *Biochemistry*, 36(9), 2669-78). Tačiau labai skiriasi jų jungimosi, o tuo pačiu ir slopinimo stiprumas. Taip pat labai skiriasi įvairių sulfonamidų specifiškumas, t.y., kiek skirtingai tas pats sulfonamidas slopina įvairias karboanhidrazes (Di Fiore, A. et al. (2005), *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15(7), 1937-42; Lee, D.A. and E.J. Higginbotham, (2005), *Am. J. Health Syst. Pharm.* 62(7), 691-9; Matulis, D. et al. *Biochemistry*, (2005), 44(13), 5258-66; Ozensoy, O. et al. (2005), *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15(21), 4862-6; Shank, R.P. et al. (2005), *Epilepsy Res.* 63(2-3), 103-12; Simone, G.D. et al. (2005), *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15(9), 2315-20). Sulfonamidų jungimasis su karboanhidraze matuojamas daugeliu standartinių būdų.
- 10 Dažniausiai naudojami yra izoterminio titravimo kalorimetrijos, paviršiaus plazmono rezonanso, ultracentrifugavimo metodais (Myszka, D.G. et al. (2003), *J. Biomol. Tech.* 14(4), 247-69). Specifiškumas nustatomas matuojant jungimąsi su įvairiomis karboanhidrazėmis, bei matuojant „tikrąsias“ jungimosi konstantas (Matulis, D. and M.J. Todd, (2004), *Trends in Biocalorimetry*).

25

19 pavyzdys. CA slopinimo ir jungimosi specifiškumo įvertinimas izoterminio titravimo kalorimetrijos metodu.

- Izoterminio titravimo kalorimetrijos metodu išmatuota karboanhidrazės formų – jaučio II (bCA II) ir žmogaus I (hCA I) jungimosi su išradimo sulfonamidiniais slopikliais 3-chlorbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidu (junginys 3), 3-morfolino-benzimidazo-[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidu (junginys 4), 3-metilsulfanil-benzimidazo[1,2-c][1,2,3]-tiadiazol-7-sulfonamidu (junginys 9) metu išskiriama šiluma ir palyginta su žinomų karboanhidrazių inhibitorių trifluormetansulfonamido (TFMSA),
- 30

acetazolamido (AZM), etoksazolamido (EZA), pentafluorbenzensulfonamido (PFS) jungimusi prie tų pačių baltymų.

Rezultatų iliustravimui Fig. 1 pateikti jaučio II karboanhidrazės jungimosi su pentafluorbenzensulfonamidu (A) ir 3-morfolinobenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (4) (B) tyrimo izoterminio titravimo kalorimetrijos metodu būdingi rezultatai.

Karboanhidrazės – sulfonamidinio ligando jungimosi metu išmatuotos stebimosios jungimosi konstantos visų tirtų junginių atveju gautos gana panašios, ($10^6 - 10^7 \text{ M}^{-1}$) eilės. Pagal gautus rezultatus apskaičiuotos „tikrosios“ jungimosi konstantos, nepriklausančios nuo jungimosi metu vykstančių protonizacijos – deprotonizacijos reakcijų šiluminių efektų. Šie rezultatai rodo, kad tirti ligandai savitai atpažįsta karboanhidrazės aktyvųjų centrą. Pagal „tikrąsias“ karboanhidrazių – sulfonamidinių ligandų jungimosi konstantas, efektyviausiai su karboanhidrazėmis jungiasi aukščiau aprašyti 3, 4, 9 junginiai ($7 \times 10^8 - 6 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$). Tirtų sulfonamidinių karboanhidrazės slopiklių savitumas (specifiškumas) baltymo aktyviajam centrui išsidėsto žemiau išrikiuota tvarka. Skaičiai virš ženklo > rodo kiek kartų didesnis specifiškumas yra kairiau einančio slopiklio:

	1-2x		1-2x		4-10x		3-5x		2x		1-2x	
4	>	3	>	9	>	EZA	>	PFS	>	AZM	>	TFMSA

Kaip matyti iš gautų rezultatų išradimo junginiai, būtent junginiai 3, 4, 9, galėtų būti geri pradiniai junginiai tam tikrų karboanhidrazių izofermentų sulfonamidinių slopiklių kūrimui – jie jungiasi prie karboanhidrazių pakankamai stipriai ($K_{b-steb} \sim 10^6 \text{ M}^{-1}$) ir savitai atpažįsta baltymo aktyviojo centro kišenę („tikroji“ $K_b \sim 10^9 \text{ M}^{-1}$).

20 pavyzdys. CA slopinimo ir jungimosi konstantų įvertinimas fluorescenciniu metodu.

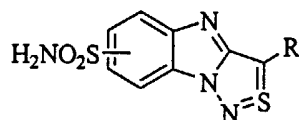
Be izoterminės titravimo kalorimetrijos, slopiklių sąveika su karboanhidrazėmis tirta fluorescenciniu metodu, naudojant fluorescencinę žymę 1-anilino-8-naftaleno sulfonata (ANS), stebint baltymo lydimosi temperatūros padidėjimą, esant prie baltymo besijungiančiam ligandui. Buvo išitra jaučio karboanhidrazės II (bCAII) sąveika su sulfonamidiniais slopikliais pagal išradimą, būtent, 3-chlorbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidu (3), 3-morfolinobenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidu (4), 3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidu (9).

Iliustravimui Fig. 2 ir 3 pateikti būdingi rezultatai - b-CA II lydimasis su 3-morfolino-benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidu (4) ir jungimosi konstantos nustatymas. Fig. 2 atvaizduoja jaučio II karboanhidrazės (b-CAII) stabilizavimą esant

skirtingoms išradimo junginio 3-morfolinobenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (4) koncentracijoms (0 μM , 3,125 μM , 6,25 μM , 12,5 μM , 25 μM 50 μM). Fig. 3 parodytas jaučio II karboanhidrazės (b-CAII) lydimosi temperatūros (T_m) kitimas priklausomai nuo išradimo junginio 3-morfolinobenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido koncentracijos (L_t). Taškai žymi eksperimentinius duomenis per kuriuos nubrėžta teorinė kreivė. 3-morfolinobenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamido (4) jungimosi konstanta $K_b = 4,5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, disociacijos konstanta $K_d = 2,2 \text{ } \mu\text{M}$, denatūravimo entalpija $\Delta_u H_{Tr} = 150 \text{ kcal/mol}$, baltymo koncentracija $P_t = 3.4 \text{ } \mu\text{M}$.

Gauti duomenys leidžia daryti išvadą, kad karboanhidrazės – sulfonamidinio ligando jungimosi metu išmatuotos jungimosi konstantos visų tirtų išradimo junginių atveju buvo gana panašios (10^5 - 10^6 M^{-1}).

Naujai susintetinti sulfonamidai, turintys bendrą struktūrinę formulę (I)

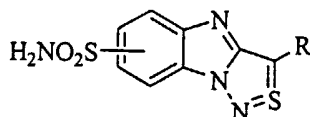


(I)

15 pasižymi ne mažesniu už egzistuojančius karboanhidrazių slopiklius, naudojamus kaip vaistai, efektyvumu, tačiau pasižymi žymiai didesniu specifiskumu, kuris gali padėti išspręsti dabar egzistuojančią nespecifinio inhibavimo problemą.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo sulfonamidai, kurių bendroji formulė (I)



(I)

kurioje R žymi H, Cl, SCH₃, SO₂CH₃, morfoliną, tiofenilą, N(CH₃)₂, piperidiną, N-metilpiperaziną ir kur sulfonamidinė grupė H₂NO₂S- yra 7 padėtyje arba 5, 6, 8 padėtyje, ir jų farmaciniu požiūriu priimtinos druskos.

2. Benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolo sulfonamidai, kurių bendroji formulė (I) pagal 1 punktą, kur R žymi H, Cl, SCH₃, SO₂CH₃, morfoliną arba tiofenilą ir kur sulfonamidinė grupė H₂NO₂S- yra 7 padėtyje, ir jų farmaciniu požiūriu priimtinos druskos.

15

3. Junginys pagal 2 punktą, pasirinktas iš grupės, apimančios

3-chlorbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą;

3-morfolinobenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą;

3-fenilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą;

3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą;

benzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą; ir

3-metilsulfonilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonamidą,

pasižymintis karboanhidrazių slopinimu.

4. 3-chlorbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchloridas - tarpinis junginys, naudingas sulfonamidams, kurių bendroji formulė (I), gauti.

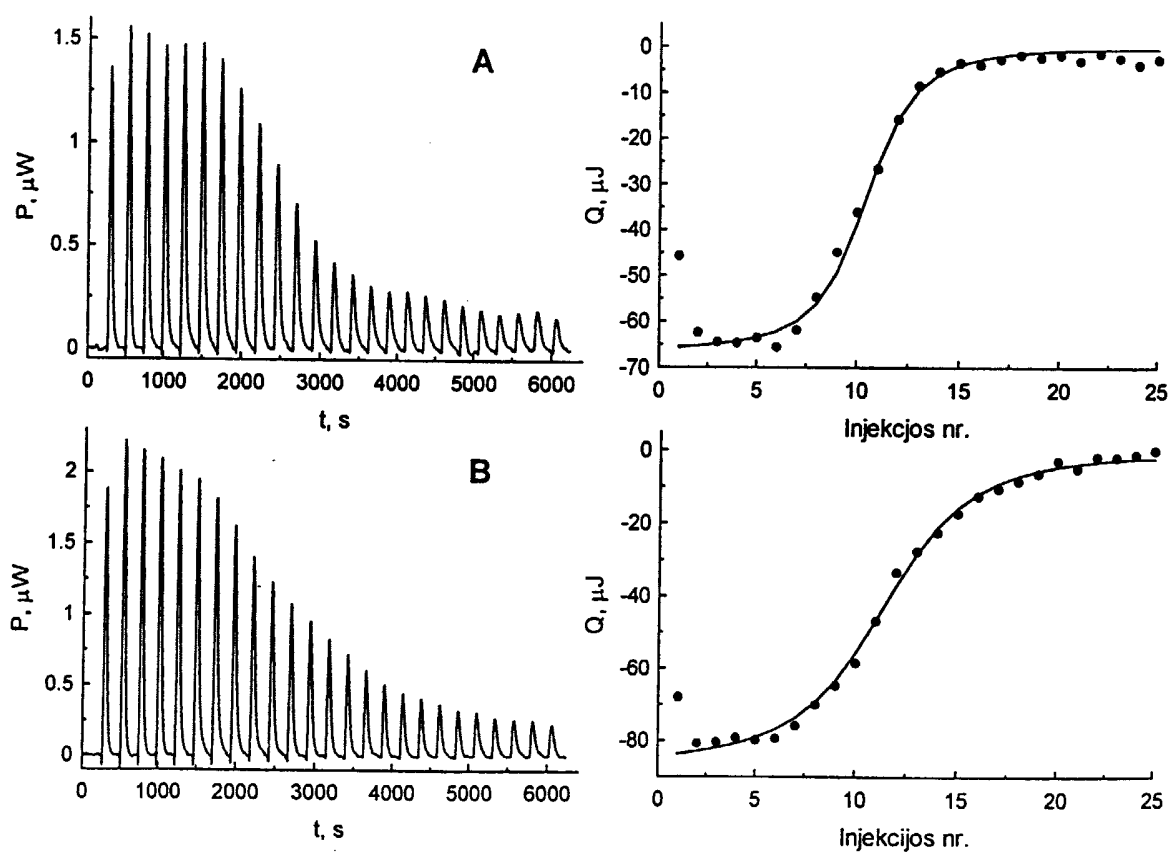
5. 3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolas - tarpinis junginys, naudingas sulfonamidams, kurių bendroji formulė (I), gauti.

30

6. 3-metilsulfanilbenzimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchloridas - tarpinis junginys, naudingas sulfonamidams, kurių bendroji formulė (I), gauti.

7. Benzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolas - tarpinis junginys, naudingas sulfonamidams, kurių bendroji formulė (I), gauti.
- 5 8. Benzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchloridas - tarpinis junginys, naudingas sulfonamidams, kurių bendroji formulė (I), gauti.
9. 3-metilsulfonilbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolas - tarpinis junginys, naudingas sulfonamidams, kurių bendroji formulė (I), gauti.
- 10 10. 3-metilsulfonilbenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazol-7-sulfonchloridas - tarpinis junginys, naudingas sulfonamidams, kurių bendroji formulė (I), gauti.
11. (1-amino-5-brom-1*H*-benzimidazol-2-il)metanolis arba (1-amino-6-brom-1*H*-benzimidazol-2-il)metanolis - tarpiniai junginiai, naudingi sulfonamidams, kurių bendroji formulė (I), gauti.
- 15 12. 3-chlor-6-brombenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolas - tarpinis junginys, naudingas sulfonamidams, kurių bendroji formulė (I), gauti.
- 20 13. 3-chlor-7-brombenzimidazo[1,2-*c*][1,2,3]tiadiazolas - tarpinis junginys, naudingas sulfonamidams, kurių bendroji formulė (I), gauti.
14. Kompozicija, skirta būklėms, kuriose reikalingas karboanhidrazės slopinimas, kontroliuoti, b e s i s k i r i a n t i t u o , kad turi sulfonamido pagal vieną iš 1-3 punktų veiksmingą kiekį.
- 25

5



10

Fig. 1

15

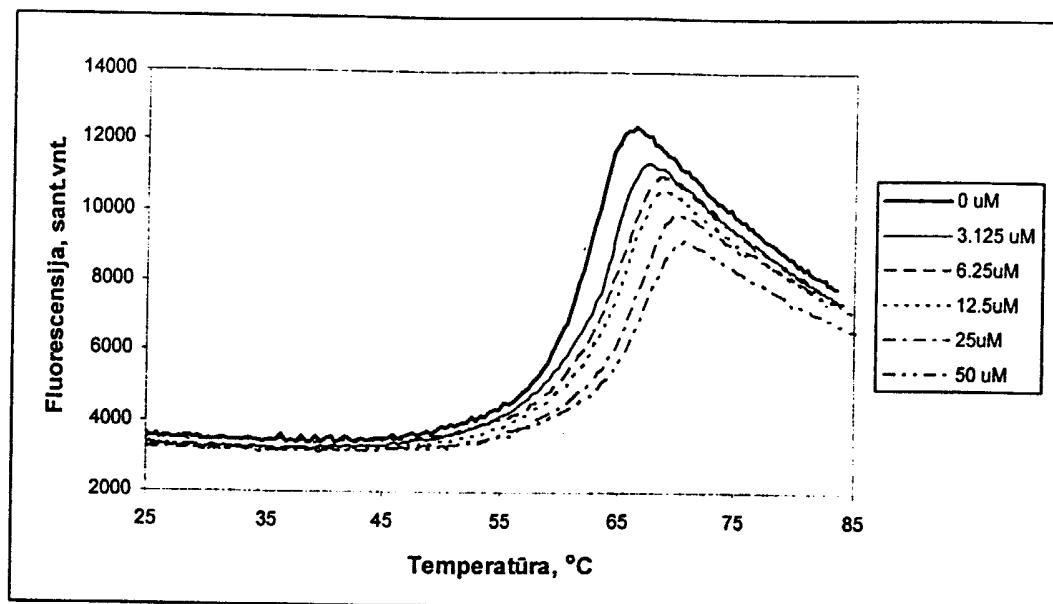


Fig. 2

5

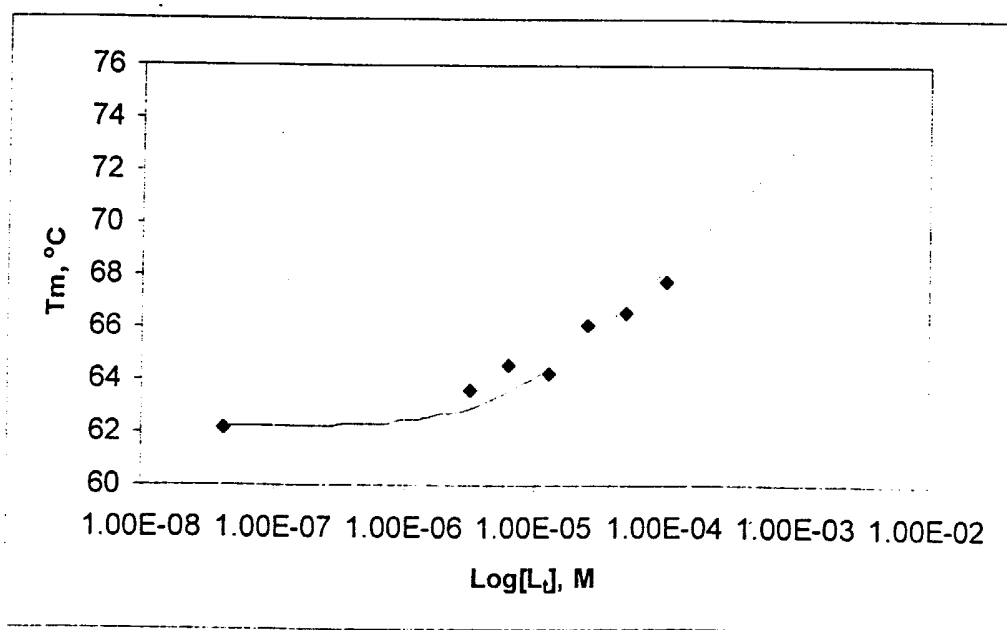


Fig. 3