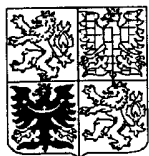


PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

287 136

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1994 - 1247

(22) Přihlášeno: 20.05.1994

(30) Právo přednosti:
27.05.1993 GB 1993/9310965

(40) Zveřejněno: 15.12.1994
(Věstník č. 12/1994)

(47) Uděleno: 20.07.2000

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 13.09.2000
(Věstník č. 9/2000)

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 233/64

C 07 D 403/10

A 61 K 31/4174

A 61 K 31/4178

A 61 P 27/06

(73) Májitel patentu:

U C B S. A., Bruxelles, BE;

(72) Původce vynálezu:

Philippe Michel, Beersel, BE;
Cossement Eric, Bruxelles, BE;
Gobert Jean, Bruxelles, BE;
Wülfert Ernst, Bruxelles, BE;

(74) Zástupce:

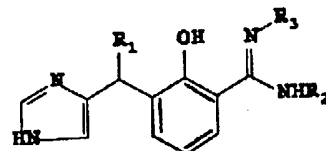
Koreček Ivan JUDr. Advokátní a patentová kancelář,
Na baště sv. Jiří 9, Praha 6, 16000;

(54) Název vynálezu:

Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy, způsob jejich přípravy, farmaceutické kompozice s jejich obsahem a jejich použití

(57) Anotace:

Řešení se týká substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů, jejich adičních solí s netoxickými a oftalmologicky přijatelnými kyselinami a způsobu jejich přípravy a jejich použití pro výrobu léčiva k prevenci a léčbě glaukomu. Zahrnuje rovněž farmaceutické kompozice s obsahem těchto sloučenin. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy odpovídají obecnému vzorci I, kde R_1 značí atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, R_2 značí atom vodíku, hydroxylovou skupinu, aminovou skupinu nebo alkylovou skupinu mající 1 až 4 atomy uhlíku, R_3 značí atom vodíku nebo R_2 a R_3 dohromady značí skupinu $-CH_2-CH_2-$. Účinné látky navrhovaných farmaceutických kompozic mají stimulační vlastnosti vůči α_2 -m presynaptickým receptorům, jsou schopné snižovat nitrooční napětí a jsou prosté výraznějších vedlejších účinků.



(I)

CZ 287136 B6

Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy, způsob jejich přípravy, farmaceutické kompozice s jejich obsahem a jejich použití

5 Oblast techniky

Vynález se týká nových substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů, jejich adičních solí s netoxickými a oftalmologicky přijatelnými kyselinami, způsobu jejich přípravy, farmaceutické kompozice s jejich obsahem a jejich použití v prevenci a léčbě glaukomu.

Dosavadní stav techniky

15 V evropské patentové přihlášce č. 269 599 stejného přihlašovatele jsou popsány substituované 1H-imidazoly, z nichž nejrepresentativnější jsou 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenmetanoly. Tyto 1H-imidazoly vykazují srdeční antiischemické, mozkové a tkáňové vlastnosti.

20 V evropském patentovém spise č. 341 231, téhož přihlašovatele, jsou popsány substituované [1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzimididy, které vykazují nejen srdeční antiischemické, mozkové a tkáňové vlastnosti, ale také vlastnosti agonistů α_2 -adrenergních receptorů. Posledně jmenované vlastnosti umožňují, že sloučeniny dle předloženého vynálezu mají výhodné terapeutické použití v léčbě patologií vyvolaných nebo vyplývajících z abnormálního zvýšení obsahu katecholaminů, jako například při srdečním městnání, Raynaudově nemoci nebo spazmatech věnčitých tepen. Ze stejného důvodu tyto sloučeniny nacházejí uplatnění při léčbě obtíží spojených s žaludeční a střevní hypersekrecí, jakož i při léčbě abstinenčních příznaků narkomanů. Tyto sloučeniny dále vykazují určitý diuretický účinek.

30 Vycházejíce ze známého stavu techniky byly podle předloženého vynálezu syntetizovány nové substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy, které jsou silní agonisté α_2 -adrenergních receptorů a přitom vykazují malé nebo dokonce žádné sekundární účinky.

35 Nové substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle předloženého vynálezu jsou silní agonisté α_2 -adrenergních receptorů, přitom se projevují málo, dokonce bez systemických sekundárních účinků centrálního nebo periferního původu. Z tohoto důvodu mohou být tyto sloučeniny výhodně použity pro redukci nitroočního tlaku a zejména pro prevenci a léčbu glaukomu.

40 Glaukom je postižení očí, vyznačující se zvýšením nitroočního tlaku, vyvolávající ztvrdnutí bulvy, atrofii zřakového nervu s charakteristickým prohloubením zornice, zúžením zorného pole a více či méně výrazným zmenšením ostrosti vidění. Konečná fáze glaukomu (nebo absolutní glaukom) je doprovázena úplnou slepotou pacienta.

45 Naléhavá léčba glaukomu spočívá obvykle v topické aplikaci cholinergních účinných látek, jako je pilokarpin, α - nebo β - adrenergní agonisté nebo antagonisté jako je clonidin, timolol nebo epinefrin, nebo také inhibitorů uhličitánové anhydrázy systémovou cestou. Jako poslední možnost je někdy zapotřebí provádět chirurgický zákrok.

50 Nicméně různé tradiční postupy léčby glaukomu, které jsou v současnosti k dispozici, jsou však doprovázeny vedlejšími účinky, jejichž povaha a vážnost jsou velmi proměnlivé.

Instalace cholinergního činidla do oka, jako je pilokarpin může takto vyvolat u některých pacientů zvracení, průjmy, svalové křeče, pocení, slzení, slinění atd. Na úrovni samotného oka je možné dále pozorovat stanování zornice (myosis) a ciliárního svalu, jakož i rozšiřování krevních cév duhovky a spojivky. Často to má za následek zrakové komplikace, jako je akomodační křeč, 5 krátkozrakost nebo zmenšení ostrosti vidění.

Léčba sympatomimetickým činidlem, jako je dipivalylepinefrin je známá tím, že vyvolává pocity pálení nebo dráždění. Kromě toho důležitým vedlejším účinkem těchto látek jsou projevy srdečních obtíží jako palpitace, tachykardie, arytmie atd. 10

Clonidin, známý jako agonista α_2 -adrenergických receptorů způsobuje mydriázu, jakož i počáteční fázi oční hypertenze (dvoufázový účinek). Mimo to navzdory topické aplikaci produktu lze pozorovat důležité systémové účinky, jako je bradykardie a hypotenze. 15

Použití léků ve formě β -blokátorů vyvolává rovněž významné systémové účinky, vyplývající z nepřítomnosti „first-pass efektu“ během jejich očního podávání. Například timolol vyvolává bradykardii nebo hypotenzi. Tyto sekundární systémové reakce na β -blokující léky mohou dosáhnout takové míry závažnosti, že je nutné zastavení léčby. Ve spojení s užíváním těchto léků byly zaznamenány případy sebevražedných depresí, halucinací, nočních můr nebo psychóz 20 vyžadujících hospitalizaci. Kromě toho musí být tyto sloučeniny používány s mimořádnou opatrností u pacientů trpících funkčními srdečními nebo plicními potížemi. U tohoto typu pacientů byly mimo jiné zaznamenány případy arytmií, srdeční zástavy, astmatu, dušnosti a bronchospazmu.

Léčba sympatolytickým činidlem, jako je guanetidin, vyvolává překrvení spojivky a dráždění, kromě toho, tato činidla mají pouze slabou schopnost snižovat nitrooční tlak. 25

Konečně při léčbě glaukomu inhibitory uhličitanové anhydrázy, jako je acetazolamid nebo metazolamid, jsou zaznamenány vážné sekundární systémové účinky, jako je deprese centrálního 30 nervového systému, ztráta hmotnosti a hlavně hypofunkce kostní dřeně.

Je tady zřejmé, že používání klasických hypotenzních činidel pro léčbu glaukomu je doprovázeno vážnými riziky. Známé léky nejsou zejména dobře způsobilé pro místní léčbu a sekundární systémové účinky těchto léků činí jejich použití choulostivé vzhledem k tomu, že tyto účinky 35 jsou daleké tomu, aby se mohly zanedbat a protože v některých případech mohou mít vážné důsledky.

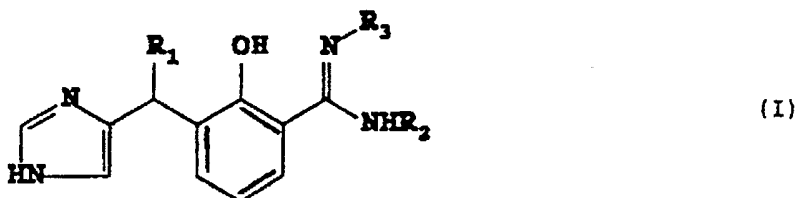
Existuje tedy reálná potřeba najít nové léky schopné snížit účinně nitrooční tlak a prostých 40 „rizikových“ pacientů, jako jsou kardiaci a astmatici.

Podstata vynálezu

Podstatou předloženého vynálezu jsou nové substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy. Tyto látky jsou silnými agonisty presynaptických α_2 -adrenergických receptorů. Navíc jsou tyto látky prosté sekundárních systémových účinků centrálního nebo periferního původu. U dávek, kde sloučeniny jsou v účinném množství pro snížení nitroočního tlaku se totiž nepozoruje ani hypotenze, ani bradykardie, ani myriáza. Přitom 50 tyto látky nevyvolávají hypohémii (odkrvení) léčeného oka a navíc není pozorován sekundární kontralaterální účinek oka neošetřovaného během očního léčení topickou aplikací, což dobře dokazuje absenci spojení, buď cirkulací krve, nebo neuronálním systémem. Rizika spojená s používáním klasických terapeutických činidel prakticky neexistují u látek podle předloženého

vynálezu, z toho plyne, že substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle předloženého vynálezu jsou zejména dobré pro léčbu nitrooční hypertenze a to zejména pro léčbu glaukomu.

- 5 Předložený vynález se zejména týká na nových substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů, obecného vzorce



10 kde

R_1 značí atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

15 R_2 značí atom vodíku, hydroxylovou skupinu, aminoskupinu nebo alkylovou skupinu mající 1 až 4 atomy uhlíku,

R_3 značí atom vodíku nebo

20 R_2 a R_3 dohromady značí skupinu $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$,

jakož i jejich adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.

25 V případě, že molekula obsahuje asymetrický uhlíkový atom, mohou být sloučeniny vzorce I buď ve formě racemické směsi, nebo ve formě jednoho nebo druhého enantiomeru. Tyto různé formy také spadají do rámce předloženého vynálezu.

30 Předložený vynález se rovněž týká adičních solí substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami podle obecného vzorce I. Je možné použít jakoukoliv adiční sůl s kyselinou, pokud je málo toxická a nedráždivá pro okol. Příklady oftalmologicky přijatelných kyselin jsou uvedeny na str. 2 časopisu Journal of Pharm. Sciences 66(1), leden 1977; mezi jinými lze uvést kyselinu fosforečnou, kyselinu maleinovou, kyselinu boritou, kyselinu uhličitou atd.

Významné sloučeniny podle vynálezu jsou:

35

2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamid;

N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamid;

2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-metyl-benzenkarboximidamid;

2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-(1-metyletyl)-benzenkarboximidamid;

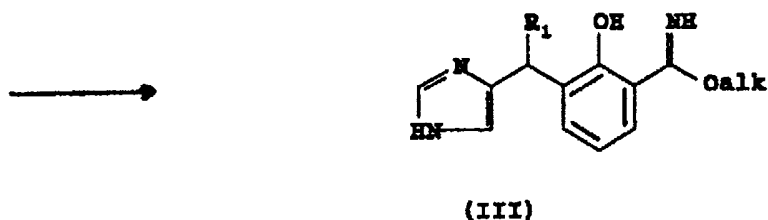
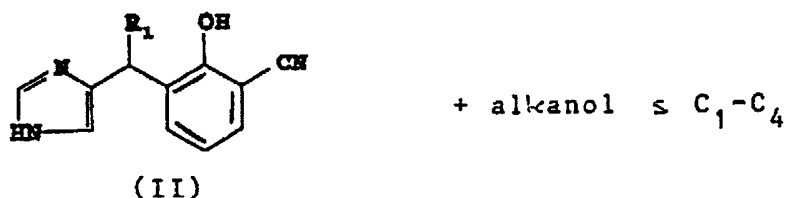
40 hydrazid kyseliny 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamidové;

(+)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid; a

(-)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid.

Dalším předmětem podle předloženého vynálezu je způsob přípravy substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů obecného vzorce I, který sestává z následujících fází:

- 5 (1) Nejprve se nechá reagovat 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitril vzorce II s alkanolem s 1 až 4 atomy uhlíku za přítomnosti plynné kyseliny chlorovodíkové podle rovnice:

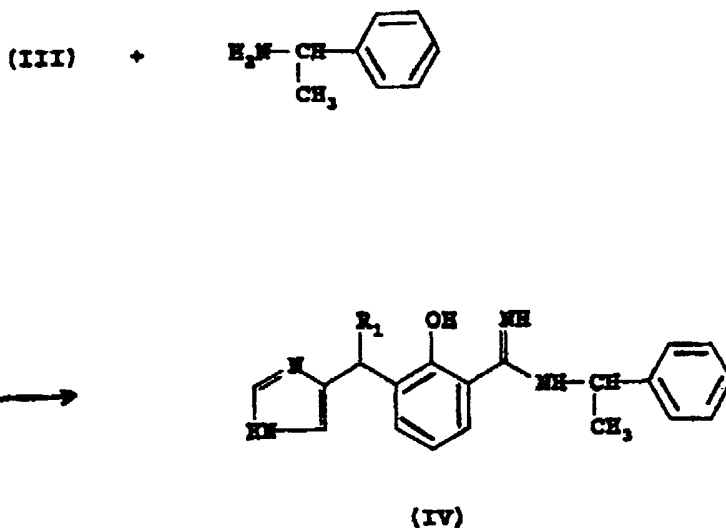


10

Reakce se obecně provádí při teplotě v rozmezí od -45 °C do +15 °C.

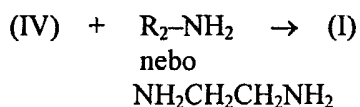
15

- (2) Poté se nechá reagovat takto získaný alkylem substituovaný 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidát obecného vzorce III s jedním z enantiomerů α -methylbenzylaminu podle rovnice:



20

- (3) Nakonec se nechá reagovat 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamid vzorce IV, získaný v předchozí fázi s dusíkatou sloučeninou vzorce R₂-NH₂, kde R₂ značí atom vodíku, hydroxylovou skupinu, aminoskupinu nebo alkylovou skupinu s 1-4 atomy uhlíku, když R₃ je vodíkový atom nebo s etylendiaminem, zatímco R₂ a R₃ dohromady značí skupinu -CH₂-CH₂-, podle rovnice:



5

přičemž ve všech vzorcích má R_1 význam uvedený výše a alk značí alkylovou skupinu mající 1 až 4 uhlíkové atomy.

10 Je zřejmé, že pro získání sloučenin odpovídajících obecnému vzorci I, ve formě optického izomeru se předem oddělí deriváty N- α -methylbenzylovaných diastereoizomerů vzorce IV, ve kterém R_1 značí alkylovou skupinu mající 1 až 4 atomy uhlíku, před provedením aminolyzové reakce ve fázi (3).

15 Tento obecný postup se tedy výborně hodí pro přípravu všech sloučenin odpovídajících obecnému vzorci I které jsou buď ve formě racemické, nebo ve formě optického izomeru, když R_1 představuje alkylový radikál, mající 1 až 4 atomy uhlíku nebo je v opticky neaktivní formě nebo je ještě v opticky inaktivní formě, když molekula neobsahuje asymetrický uhlík ($R_1 =$ vodík).

20 Podle výhodné formy způsobu přípravy 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů, odpovídajících obecnému vzorci I se nejprve syntetizuje alkylem substituovaný 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]benzenkarboximidát obecného vzorce III, přičemž se provádí pouze fáze (1) výše popsaného způsobu a poté se nechává reagovat alkybenzenkarboximidát obecného vzorce III s dusíkatou sloučeninou vzorce R_2-NH_2 , kde R_2 představuje atom vodíku, hydroxylovou skupinu, aminoskupinu nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, jestliže R_3 je atom vodíku nebo s etylendiaminem, když R_2 a R_3 dohromady představují skupinu $-CH_2-CH_2-$.

30 Podle varianty vybrané pro přípravu 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů obecného vzorce I, v němž R_2 značí hydroxylovou skupinu a R_3 značí atom vodíku, se nechá reagovat hydroxylamin s 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitrilem obecného vzorce II, kde R_1 má výše uvedený význam.

35 Ve zvláštním případě přípravy 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů odpovídajících obecnému vzorci I, v němž R_1 značí alkylovou skupinu mající 1 až 4 atomy uhlíku, R_2 a R_3 značí oba atom vodíku, ve formě jejich optických izomerů, se syntetizuje nejprve 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-N- α -methylbenzyl-benzylkarboximidamid obecného vzorce IV, přičemž se provedou pouze fáze (1) a (2) výše popsaného způsobu, oddělí se získané N- α -methylbenzylované diastereoizomery vzorce IV a poté se odstraní α -methylbenzylová skupina každého takto odděleného diastereoizomeru hydrolyzou prostřednictvím koncentrované kyseliny chlorovodíkové při teplotě od 80 °C do 110 °C.

45 Adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami, mohou být připraveny z 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů vzorce I o sobě známými způsoby.

2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitrily obecného vzorce II, používané jako výchozí produkty, mohou být připraveny způsobem popsaným v evropském patentovém spise č. 341 231.

50

Jak bylo uvedeno výše, substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů vzorce I, jakož i jejich adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými

kyselinami, vykazují stimulační vlastnosti agonistů α_2 -adrenergních presynaptických receptorů, tyto jsou schopné snižovat nitrooční tlak a jsou prosté výraznějších sekundárních účinků.

5 Příklady provedení vynálezu

Dále uváděné farmakologické zkoušky prokazují různá výhodná provedení podle předloženého vynálezu.

10 Farmaceutickým zkouškám byly podrobeny následující sloučeniny:

- 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamid (sloučenina A, připravená v příkladě 2.1);
- 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-metylbenzenkarboximidamid (sloučenina B, 15 připravená v příkladě 2.2);
- N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamid (sloučenina C, připravená v příkladě 3);
- (+)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid (sloučenina D, připravená v příklad 4);
- (-)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid (sloučenina E, 20 připravená v příkladě 4);
- 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-(1-metyletyl)-benzenkarboximidamid (sloučenina F, připravená v příkladě 5.2);
- hydrazid kyseliny 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidové 25 (sloučenina G, připravená v příkladě 2.6).

Výsledky byly porovnány s výsledky získanými s clonidinem, látkou stimulující α_2 -adrenergní receptory, který je jako jeho určité deriváty používán při léčbě glaukomu.

30 1. Vlastnost α_2 -adrenergního presynaptického agonisty.

Stimulování kyčelníku (ileon) morčete.

35 Vlastnost sloučenin podle vynálezu býti α_2 -adrenergním presynaptickým agonistou je prokázován inhibicí kontrakce izolovaného ilea morčete, vyvolaného elektrickou stimulací.

Fragmenty podélných svalů, připojené k indikátoru izomerické síly jsou ponořeny do roztoku Tyrod a jsou napínány silou 1 g (G.M. DREW, Brit. J. Pharmacol, 64, (1978), 293-300; M. ANDREJAK a kol. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 314, (1980), 83-87.

40 Elektrická stimulace přívodních parasymptických nervů k fragmentům ileonu vyvolává kontrakci svalu. Tato kontrakce je redukována v přítomnosti presynaptického α_2 -agonisty a redukce závisí na koncentraci použitého agonisty. Tento účinek je antagonisován současnou přítomností α_2 -antagonisty, jako je alfa-johimbin.

45 Sloučeniny určené ke studování byly testovány při vzrůstajících koncentracích v rozmezí mezi 10^{-10} a 10^{-3} molu/litr. Určuje se koncentrace (IC_{50} v molech/l), která redukuje o 50 % intenzitu kontrakce svalu.

V tabulce I jsou uvedeny koncentrace IC_{50} (v molech/l) získané pro sloučeniny podle vynálezu, vyjma sloučeniny G, pro kterou je udávána koncentrace IC_{30} . Tyto výsledky dokládají, že sloučeniny podle vynálezu jsou dobře účinné při velmi malé koncentraci.

5

TABULKA I

Inhibice stanování ileonu morčete

Sloučenina	IC_{50} (v molech/l)
A	$6,2 \times 10^{-8}$
B	$2,5 \times 10^{-6}$
C	$1,4 \times 10^{-7}$
D	$3,9 \times 10^{-9}$
E	$2,0 \times 10^{-7}$
F	$6,4 \times 10^{-6}$
G	$2,5 \times 10^{-6}$ (IC_{30})
clonidin	$1,7 \times 10^{-8}$

10

2. Hypotenzní nitrooční aktivita

Účinek snižování nitroočního tlaku sloučeninami podle vynálezu je prokazován u králíka (novozélandský bílý) normově udržovaného v bdělém stavu měřením výchylky nitroočního tlaku po jednostranné aplikaci sloučenin do levého oka zvířete. Tři králíci (hmotnost: 2–2,5 kg) obou pohlaví dostávají všechny testované dávky podle experimentálního protokolu „křížená permutace“, podle kterého je každé zvíře také v kontrolní skupině. Studované sloučeniny, stejně jako clonidin, jsou podávány v roztoku, před tím ponechaného při teplotě místnosti po dobu 30 minut, ve 30 mikrolitrech stabilní destilované vody (collyre) při koncentracích v rozpětí od 0 (referenční) do 0,5% (v hmotnosti na objem). Měření nitroočního tlaku jsou prováděna pomocí pneumometru BIORAD (DIILA MODULAR ONE) po lokální anestézi pomocí 2 kapek hydrochloridu oxybuprokainu 0,4% (v hmotnosti na objem).

Dále uvedená tabulka II ukazuje výchylky tlaku pozorované při aplikaci sloučenin podle vynálezu, jakož i clonidinu. V této tabulce je v 1. sloupci uváděna zkoušená sloučenina, ve 2. sloupci koncentrace sloučeniny v procentech v hmotnosti na objem, a ve 3. až 7. je sloupci výchylka nitroočního tlaku (ΔP) vyjádřená v procentech, vzhledem ke zvířeti léčenému destilovanou vodou (collyre) prostou zkoušené sloučeniny, měřeno po 30 minutách, 1, 2, 3 a 6 hodinách.

30

TABULKA II

Redukce nitroočního tlaku

35

Sloučenina	Konc. %	ΔP (30 min.) %	ΔP (1h) %	ΔP (2h) %	ΔP (3h) %	ΔP (6h) %
A	0,05	-5,9		-18,6		-1,1
	0,1	-9,2		-21,2		-16,1
B	0,5	-5,5	-10,8	-13,3	-12,8	-7,6
D	0,01	-14,1		-17,7		-15,1
E	0,5	-11,6	-12,6			-6,6
clonidin	0,01	+8		-8,8		-9,2
	0,1	+23,4		+36,2	+11,4	
	0,5	+31,4		+39,4	+8,6	

Z této tabulky vyplývá, že sloučeniny podle vynálezu mají dobrou hypotenzní nitrooční účinnost, v protikladu vůči clonidinu, který vyvolává ze začátku hypertenzi léčeného oka, jejíž účinek se zvyšuje současně s koncentrací použité látky. Tento dvoufázový účinek není pozorován u sloučenin podle vynálezu.

Vyjma toho není u sloučenin podle vynálezu pozorován průvodní pokles nitroočního tlaku ve druhém oku léčeného zvířete. Naopak s clonidinem jsou naměřeny následující výchylky nitroočního tlaku ve druhém oku:

- při koncentraci 0,01%, $\Delta P = -9,5\%$ po 2 hodinách a $-9,2\%$ po 6 hodinách,
- při koncentraci 0,1%, $\Delta P = -10,2\%$ po 2 hodinách a $+2,6\%$ po 6 hodinách,
- při koncentraci 0,5%, $\Delta P = -26,3\%$ po 2 hodinách a $+15\%$ po 6 hodinách.

Toto prokazuje nepřítomnost spojení buď krevním oběhem, nebo nervovým systémem u sloučenin podle vynálezu. Naproti tomu prokazují tyto výsledky obtížnost dosáhnout poklesu nitroočního tlaku s clonidinem z důvodu jeho dvoufázového účinku.

3. Účinky na průměr zornice oka léčeného oka a druhého oka.

Účinek sloučenin podle vynálezu na průměr zornice je prokazován u králíka (novozélandského bílého) obou pohlaví (hmotnost 2–2,5 kg), normově udržovaného v bdělém stavu, měřením změna průměru zornice obou očí po zevní aplikaci sloučenin na levé oko zvířete. Studované sloučeniny, jakož i clonidin, byly podávány v roztoku před tím ponechaného při teplotě místnosti po dobu 30 minut v 30 mikrolitrech sterilní destilované vody (collyre) s koncentracemi v rozmezí od 0 (referenční) od 0,5% (v hmotnosti na objem). Průměr zornice je měřen vizuálně v bodě maximálního svislého průměru pomocí kovového milimetrového měřítka.

Sloučeniny podle vynálezu nevyvolávají žádnou nebo jen malou změnu průměru zornice při dávkách, kde snižují oční tlak (tabulka II) bez ohledu na to, které oko je pozorováno (léčené nebo neléčené druhé oko). Maximální rozdíly mezi naměřeným průměrem zornice před vkapáváním testované sloučeniny, a průměr zornice naměřený v dobách pozorování mezi 30 minutami a 6 hodinami po vkapání testované látky se pohybují v rozmezí od $-4,2\%$ do $+4,7\%$.

Tabulka III ukazuje výsledky pozorované ve stejných podmínkách s clonidinem. V této tabulce je v 1. sloupci udávána koncentrace clonidinu v procentech (hmotnost/objem); ve 2. sloupci maximální odchylka pozorovaná mezi průměrem zornice léčeného oka (insilaterálního), naměřena před vkapnutím clonidinu, a průměr zornice téhož oka naměřený v dobách pozorování od 30 minut do 6 hodin po vkapnutí; ve 3. sloupci je uvedena maximální odchylka pozorovaná za stejných podmínek na průměru zornice druhého oka (kontralaterálního).

TABULKA III

Účinek chlomidinu na průměr zornice

Koncentrace clonidinu (%)	Max. výchylka (ipsilaterál. oko) (%)	Max. výchylka (kontralaterál. oko) (%)
0,01	-5,6	-2,8
0,1	+9,7	-2,7
0,5	+23,9	-6,9

Tato tabulka ukazuje, že protikladně ke sloučeninám podle vynálezu je při použití clonidinu pozorována značná mydriáza ypsilaterálního oka při koncentracích (0,1 a 0,5%), kdy nedochází k poklesu nitroočního tlaku.

5 4. Účinky na sliznici léčeného oka (odkrvení).

Účinek sloučenin podle vynálezu na sliznici léčeného oka je prokazován u králíka (novozélandského bílého) obou pohlaví (hmotnost 2–2,5 kg) normově udržovaného v bdělém stavu, vizuálním vyšetřením spojivek za účelem zjištění eventuálních znaků změny nebo reakce na léčbu po zemní aplikaci sloučenin na oko zvířete. Odkrvení se projevuje nedostatečným přítokem krve do spojivky, které může vyvolat lokální nevratné ischemické změny. Sloučeniny určené ke studování byly podávány jako ve výše uvedených testech v roztoku, před tím ponechaného při teplotě místnosti po dobu 30 minut, ve 30 mikrolitrech sterilní destilované vody (collyre) při koncentracích v rozpětí od 0 (referenční) do 0,5% (v hmotnosti na objem).

15 Při určitých dávkách pro zajištění poklesu nitroočního tlaku, například 0,1% pro sloučeninu A nebo 0,5% pro sloučeninu E nevyvolávají sloučeniny podle vynálezu nedokrvení. Naopak u clonidinu při koncentraci 0,01% se pozoruje po 30 minutách zblednutí spojivek, přičemž tento účinek je ještě přítomen po 1 hodině pro clonidin při koncentraci 0,1%.

20

5. Účinky na frekvenci srdečního tepu

Účinek sloučenin na frekvenci srdečního tepu je prokazován u králíka (novozélandského bílého) obou pohlaví (hmotnost 2–2,5 kg), normově udržovaného v bdělém stavu, měřením srdečního tepu v úrovni tepny po zevní aplikaci sloučenin na levé oko zvířete. Studované sloučeniny byly podány v roztoku, před tím ponechaného při teplotě místnosti po dobu 30 minut, ve 30 mikrolitrech sterilní destilované vody (collyre) při koncentracích v rozpětí od 0 (referenční) do 0,5% (v hmotnosti na objem).

30 Nejsou pozorovány výrazné účinky na srdeční tep u zvířat ošetřovaných sloučeninami podle vynálezu. Naopak u zvířat ošetřovaných clonidinem při koncentraci 0,01% je pozorováno výrazné zpomalování srdečního tepu o 10,7% po 3 hodinách a u zvířat ošetřovaných clonidinem při koncentraci 0,1% je pozorován výrazný pokles frekvence srdečního tepu o 17,9% po 1 hodině.

35

6. Toxicita

40 Toxicita sloučenin podle vynálezu byla určena u samce myši NMRI pomocí Irvinovy zkoušky (S. Irvin, Psychopharmacologia, 13, (1968), 222–257). Progresivní dávky studované látky jsou podávány intraperitoneální cestou skupinám tří myší, až je dosažena smrtelná dávka (dávka vyvolávající smrt dvou zvířat ze tří během 24 hodin).

V následující tabulce IV je uvedena smrtelná dávka, pozorovaná pro sloučeniny podle vynálezu. Z tabulky plyne, že tyto sloučeniny jsou velmi málo toxické.

45

TABULKA IV

Toxicita

5

Sloučenina	Smrtelná dávka (mg/kg)
A	>216
B	230
C	232
D	25
E	248
F	155
G	416

10 Sloučeniny podle vynálezu jsou podávány s výhodou ve formě oční farmaceutické kompozice uzpůsobené pro topické podávání do oka, například ve formě roztoků nebo mastí nebo i ve formě pevného implantátu aplikovatelného na oko. Procentuální podíl účinné látky ve farmaceutických kompozicích se může pohybovat od 0,01 do 1%, výhodně od 0,05 do 0,5% hmotnosti. Pokud jde o denní dávkování, jsou sloučeniny podle vynálezu zpravidla podávány do oka v dávce od 1 µg do 1 mg a výhodně od 50 µg do 0,5 mg účinné látky, samotné nebo ve směsi.

15 V očních farmaceutických kompozicích mohou být sloučeniny podle předloženého vynálezu snadno spojovány s jedním nebo více netoxickými oftalmologicky přijatelnými vehikuly v pevném nebo kapalném stavu. Oftalmologicky přijatelnými vehikuly jsou například voda, směsi vody a rozpouštědel mísitelných s vodou, jako jsou alifatické nebo nižší aralifatické alkoholy, rostlinné oleje, polyalkylenglykoly, etylcelulóza, etyloleát, karboxymethylcelulóza, polyvinylpyrrolidin, izopropylmyristát nebo jiná obvyklá vehikula. Oční kompozice mohou
20 kromě toho obsahovat pomocné netoxické látky, jako emulgátory, konzervační činidla, smáčedla atd., jako například polyetylen glykoly 200, 300, 400, 600, 1000, 1500, 4000, 6000 a 10 000, baktericidní činidla, jako jsou kvartérní amoniové sloučeniny nebo fenylrtnutnaté soli, známé svými sterilizačními schopnostmi za studena a tím, že nemají škodlivé účinky, metylparaen, propylparaben, benzylalkohol, 2-fenyletanol, pufrý na bázi chloridu sodného, boritanu sodného, acetátu sodného, glukonátové pufrý, atd.
25

Kromě toho mohou být používána vhodná oftalmologicky přijatelná kapalná vehikula. Příklady kapalných vehikul jsou pufované roztoky na bázi fosfátu, izotonické roztoky kyseliny borité, chloridu sodného, boritanu sodného atd.
30

Oční kompozice se také mohou vyskytovat ve formě pevného implantátu, který se aplikuje na oko. V tomto případě je možné například použít jako nosiče pro lék pevného polymeru rozpustného ve vodě. Použitý polymer pro tvoření implantátu může být jakýkoli netoxický polymer rozpustný ve vodě, například deriváty celulózy, jako metylcelulóza, sodná sůl
35 karboxymethylcelulózy, hydroxyalkylcelulózy s nižšími alkyly, jako hydroxyetylcelulóza, hydroxypropylcelulóza, akryláty, jako kyselina polyakrylová nebo polyakrylamidy, přírodní produkty, jako želatina, algináty, pektiny, guma na bázi tragakantu, deriváty škrobu, jako acetyl škrobu, hydroxyetylovaný škrob, hydroxypropylovaný škrob, jakož i jiné syntetické deriváty jako polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon, polyvinylmetyler, polyetylenoxid a směsi těchto
40 polymerů.

V případě, když se používá pevný implantát k aplikaci na oko, připravuje se s výhodou tento implantát na bázi derivátů celulózy, jako je metylcelulóza, hydroxymethylcelulóza, hydroxypropylcelulóza nebo hydroxypropylmethylcelulóza, nebo na bázi jiných syntetických materiálů,
45 jako je polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon, polyvinyloxid nebo polyvinylmetyler.

Jako neomezující příklad kompozice popisující kompozici podle vynálezu je dále uváděn příklad sterilního roztoku pro zemní aplikaci ve formě se sterilní destilovanou vodou:

5	<u>složky množství (% hm./obj.)</u>	
	účinná sloučenina	0,01 až okolo 1 %
	polyvinylalkohol	0 až 40 %
	benzalkoniumchlorid	0 až 0,15 %
	chlorid sodný	0 až 10 %
10	pufr	0,01 až 10 %
	steril. destilovaná voda	zbytek do 100 %

Následující příklady slouží pro ilustraci vynálezu, tento však neomezuje. V těchto příkladech byly teploty tání určovány diferenciální skanovací kalorimetrií (D.S.C.) s teplotním spádem 20 °C/min. Spektra nukleární magnetické rezonance (NMR) byla prováděna Brikerovým 15 přístrojem při 250 MHz v dimetylsulfoxidu za použití tetrametylsilanu jako standardu. Chemické posuny jsou uvedeny v δ (ppm). Písmena s, d, dd, t, q, b a m značí postupně singlet, dublet, dvojitý dublet, triplet, kvadruplet, rozšířený pík a multiplet.

20

Příklad 1

Příprava výchozích 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitrilů vzorce II:

25 1. 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzonitril

Připraví se sloučenina způsobem popsáným v příklad 3.1 evropského patentového spisu č. 341 231.

30 2. 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzonitril

Připraví se sloučenina způsobem popsáným v příklad 3.2 evropského patentového spisu č. 341 231.

35

Příklad 2

Příprava substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů vzorce I.

40

1. 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamid

a) Ochladí se na -40 °C suspenze 10 g (0,050 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzonitrilu (připraveného ve výše uvedeném příkladě 1.1) ve 200 ml metanolu a nasytí se 45 plynnou kyselinou chlorovodíkovou. Teplota se nechá znovu vystoupit na 0 až 5 °C a reakční směs se udržuje na této teplotě po dobu 20 hodin. Roztok se odpaří na 9/10 svého objemu, přidá se zbytek 300 ml ledové vody a neutralizuje se pomocí vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného.

50 Roztok se extrahuje čtyřikrát 150 ml etylacetátu a spojí se organické fáze. Organická fáze se promyje 100 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného a poté se usuší nad síranem hořečnatým, filtruje se a odpařuje za sníženého tlaku.

b) Získaný zbytek se vyjme 150 ml absolutního etanolu. Roztok se ochladí pod 10 °C a nasatí se amoniakem. Teplota roztoku se nechá vystoupit na teplotu místnosti a reakční směs se udržuje na této teplotě po dobu 15 hodin. Rozpouštědlo se odpaří pod sníženým tlakem. Pevný zbytek se vyčistí kapalinovou preparativní chromatografií (oxid křemičitý: 600 g; eluent: směs 77,5:20:2,5 (obj.) dichlormetan–metanol–amoniak). Izoluje se 8 g pevného bílého produktu, který se rekrystalizuje v metanolu. Získá se 4,559 2–hydroxy–3–(1H–imidazol–4–ylmetyl)–benzenkarboximidamidu.

Výtěžek: 42 %.

10 Teplota tání: 248,71 °C

NMR: δ : 3,68 (2H,s), 6,13 (1H, dd), 6,61 (1H,s), 6,95 (1H,dd), 7,4 (1H,d), 7,43 (1H,dd).

Analýza pro $C_{11}H_{12}N_4O$ v %:

vypočítané:	C 61,10	H 5,59	N 25,91
15 zjištěné:	61,18	5,62	26,07

2. 2–hydroxy–3–(1H–imidazol–4–ylmetyl)–N–metyl–benzenkarboximidamid

a) Plynnou kyselinou chlorovodíkovou se nasatí suspenze 19,9 g (0,1 mol) 2–hydroxy–3–(1H–imidazol–4–ylmetyl)–benzonitrilu (připraveného ve výše uvedeném příklad 1.1) v 600 ml metanolu ochlazeného na 10 °C. Přidá se 60 ml vody, suspenze se ochladí na -25 °C a nasatí se znovu plynnou kyselinou chlorovodíkovou. Reakční směs se udržuje na této teplotě po dobu 15 hodin. Roztok se odpaří a zbytek se vyjme 500 ml ledové vody a neutralizuje se pomocí vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Roztok se extrahuje čtyřikrát 250 ml etylacetátu a spojí se organické fáze. Organická fáze se promyje 200 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, poté se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se. Získá se 19,1 g metyl–[2–hydroxy–3–(1H–imidazol–4–ylmetyl)–benzenkarboximidátu], který se použije v následující fázi.

30 b) Rozpustí se 9,55 g (0,0413 mol) metyl–[2–hydroxy–3–(1H–imidazol–4–ylmetyl)–benzenkarboximidátu] ve 100 ml absolutního etanolu. Roztok se ochladí na 10 °C a přidá se 1,289 (0,0413 mol) metylaminu. Teplota roztoku se nechá vystoupit na teplotu místnosti a nechá se reagovat po dobu 15 hodin.

35 Rozpouštědlo se odpaří pod sníženým tlakem. Pevný zbytek se vyčistí kapalinovou preparativní chromatografií (oxid křemičitý: 600 g; eluent: směs 78:20:2 (obj.) etylacetát–metanol–amoniak). Izoluje se 9,49 g produktu, který se protřepává ve 100 ml acetonitrilu při 50 °C po dobu 30 minut. Odfiltruje se pevný produkt a rekrystalizuje se v metanolu.

40 Získá se 4,5 g 2–hydroxy–3–(1H–imidazol–4–ylmetyl)–N–metyl–benzenkarboximidadu.

Výtěžek: 47 %.

Teplota tání. 235,84 °C

45 NMR: δ : 2,94 (3H, s), 3,70 (2H, s), 6,20 (1H, dd), 6,60 (1H, s), 6,95 (1H, dd), 7,41 (1H, d), 7,47 (1H, dd), 8,47 (2H,m), 14,1 (1H, m).

Analýza pro $C_{12}H_{14}N_4O$ v %:

vypočítané:	C 62,59	H 6,15	N 24,73
zjištěné:	62,53	6,15	24,30

3. 2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-6-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-fenol

5 a) Metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidát] se připraví podle 2.a), jak je uvedeno výše, a použije se v následující fázi.

b) Rozpustí se 9,55 g (0,0413 mol) produktu připraveného ve 3.a) ve 100 ml absolutního etanolu a přidá se 6,65 ml (0,826 mol) etylandiáminu. Roztok se protřepává 1 hodinu při teplotě místnosti a poté se nechá reagovat po dobu 15 hodin. Vytvořená sraženina se filtruje (1. proud).
10 Filtrát se odpaří pod sníženým tlakem a získaný zbytek se čistí kapalinovou preparativní chromatografií (oxid křemičitý: 400 g; eluent: směs 78:20:2 (obj.) etylacetát-metanol-amoniak).

15 Izoluje se 1,7 g pevné bílé sloučeniny (2. proud). Oba proudy se spojí a dvakrát se rekrystalizují v metanolu. Získá se 3,3 g 2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-6-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-fenolu.

Výtěžek: 33 %.

Teplota tání: 260,92 °C

20 NMR: δ : 3,71 (3H, s), 3,77 (2H, s), 6,53 (1H, t), 6,64 (1H, s), 7,07 (1H, d), 7,40 (1H, dd), 7,45 (1H, s), 11,1 (2H, m), 11,7 (1H, m)

Analýza pro $C_{13}H_{14}N_4O$ v %:

vypočítané:	C 64,46	H 5,82	N 23,13
zjištěné:	64,46	5,86	23,14

25

4. 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-4-benzenkarboximidamid

a) Suspenze 10 g (0,047 mol) 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzonitrilu, připravená ve výše uvedeném příkladu 1.2, ve 100 ml metanolu, se ochladí na -40 °C a nasatí se plynou kyselinou chlorovodíkovou. Teplota se nechá znovu vystoupit až na 5 °C a reakční směs se udržuje na této teplotě po dobu 24 hodin. Roztok se odpaří za studena na 3/4 objemu, ke zbytku se přidá 200 ml vody a 150 ml etylacetátu a provede se neutralizace prostřednictvím vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Roztok se extrahuje třikrát 100 ml etylacetátu a organická fáze se spojí. Organická fáze se promyje 100 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, poté se suší nad síranem hořečnatým, filtruje se a rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku při teplotě místnosti.

b) Získaný zbytek se vyjme 50 ml absolutního etanolu, roztok se ochladí pod 10 °C a nasatí se plyným amoniakem. Roztok se nechá znovu vystoupit na teplotu místnosti a reakční směs se udržuje na této teplotě po dobu 6 hodin. Poté se odpaří rozpouštědlo za sníženého tlaku. Pevný zbytek se vyčistí kapalinovou preparativní chromatografií (oxid křemičitý: 500 g; eluent: směs 78:20:2 (obj.) dichlormetan-metanol-amoniak). Produkt získaný po odpaření rozpouštědel se rekrystalizuje dvakrát ve směsi 90/10 (obj.) voda-metanol. Získá se 8,75 g 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamidu.

45

Výtěžek: 81 %.

Teplota tání: 190,6 °C

50 NMR: δ : 1,40 (3H, s), 4,48 (1H, q), 6,14 (1H, dd), 6,63 (1H, s), 6,88 (1H, dd), 7,40 (1H, s), 7,41 (1H, dd).

Analýza pro $C_{12}H_{14}N_4O$ v %:

vypočítané:	C 62,59	H 6,13	N 24,33
zjištěné:	62,58	6,12	24,37

5. N-2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamid

5 a) Suspenze 14,1 g (0,071 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-yl-metyl)-benzonitrilu, připravená ve výše uvedeném příkladu 1.1, ve 420 ml metanolu, se ochladí na -40 °C a nasytí se
 10 plynnou kyselinou chlorovodíkovou. Teplota se nechá vystoupit až na 10 °C a reakční směs se udržuje na této teplotě po dobu 20 hodin. Roztok se koncentruje až na 200 ml, ke koncentrovanému roztoku se přidá 300 ml ledové vody a 300 ml etylacetátu a neutralizuje se
 15 vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Filtruje se a oddělí se vodná fáze od organické fáze, poté se vodná fáze extrahuje dvakrát 300 ml etylacetátu a tři organické fáze se spojí. Organická fáze se promyje nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, poté se suší nad
 síranem hořečnatým, filtruje se a odpaří se rozpouštědlo za sníženého tlaku. Získá se 15,4 g metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidátu] ve formě béžového
 pevného produktu, který se vyjme do 210 ml absolutního ethanolu.

15 b) K 70 ml roztoku metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidátu] v absolutním etanolu připraveném výše v příkladě 5.a) se přidá 1,53 g (0,022 mol) hydrochloridu hydroxylaminu a 3,06 ml (0,022 mol) triethylaminu. Reakční směs se nechá reagovat po dobu
 20 1 hodiny při 20 °C. Odpaří se rozpouštědlo za sníženého tlaku a vyjme se pod ultrazvukem olejnatý zbytek do 100 ml vody. Izoluje se 4,5 g bílého pevného produktu, který se dvakrát rekrystalizuje v metanolu. Získá se 3,4 g N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamidu.

Výtěžek: 62 %.

25 Teplota tání: 227,81 °C

NMR: δ : 3,83 (2H,s), 6,24 (2H, s), 6,67 (1H, s), 6,75 (1H, t), 7,05 (1H, d), 7,49 (1H, s), 7,51 (1H, d), 10,67 (1H, m), 11,7 (1H, m), 12,5 (1H, m).

Analýza pro $C_{11}H_{12}N_4O_2$ v %:

30 vypočítané: C 56,88 H 5,21 N 24,13
 zjištěné: 56,83 5,25 24,09

6. Hydrázid kyseliny 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidové

35 a) Suspenze 14,1 g (0,071 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-yl-metyl)-benzonitrilu, (připravená ve výše uvedeném příkladě 1.1) ve 400 ml metanolu, se ochladí na -45 °C a nasytí se
 40 plynnou kyselinou chlorovodíkovou. Teplota se nechá znovu vystoupit až na 10 °C a nechá se ještě probublávat plynná kyselina chlorovodíková suspenzí po dobu 4 hodiny při této teplotě. Suspenze se ochladí na 5 °C a udržuje se na této teplotě po dobu 20 hodin. Sraženina, která se
 vytvoří, se filtruje a získá se 11,4 g metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidátu] ve formě bílého pevného produktu, který se použije v následující fázi.

45 b) Přidá se najednou roztok 2 g (0,0066 mol) metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidátu připraveného v 6.a) v 20 ml metanolu k roztoku 1,52 ml (0,0033 mol) hydrátu hydrázinu v 20 ml metanolu. Látky se nechají reagovat 15 minut a poté se přidá 40 ml dietyleru. Sraženina, která se vytvořila se filtruje, a filtrát se koncentruje za sníženého tlaku. Zbytek po odpaření se čistí kapalinovou preparativní chromatografií (oxid křemičitý: 400 g; eluent: směs 89:10:1 (obje.) dichlormetan-metanol-amoniak). Pevný bledě žlutý produkt získaný
 50 po odpaření rozpouštědel se rekrystalizuje v metanolu. Získá se 1,2 g hydrázidu kyseliny 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-yl-metyl)-benzenkarboximidové.

Výtěžek: 80 %.

Teplota tání: 187,8 °C

NMR: δ : 3,77 (2H, s), 5,09 (2H, b), 6,34 (2H, b), 6,56 až 6,64 (2H, m), 6,97 (1H, d), 7,44 (2H, m), 11,7 (1H, b), 14,7 (1H, b)

Analýza pro $C_{11}H_{13}N_5 \cdot 1/2H_2O$ v %:

5	vypočítané: C	54,98	H	5,87	N	29,15
	zjištěné:	54,96		5,89		28,39

Příklad 3

10

Příprava N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmethyl)-benzenkarboximidamidu

Rozpustí se 3 g (0,015 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmethyl)-benzonitrilu, připraveného v příkladě 1.1, ve 100 ml metanolu a přidá se 1,15 g (0,0165 mol) hydrochloridu hydroxylaminu a 1,84 g acetátu sodného. Směs se zahřívá na teplotu zpětného toku po dobu 20 hodin. Odpaří se metanol za sníženého tlaku a zbytek se vyjme 100 mililitry vody. Vodný roztok se neutralizuje na pH 7 přidáním vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Bílá sraženina, která se vytvoří, se filtruje, suší se ve vakuu a rekrystalizuje se v metanolu. Získá se 1,6 g N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmethyl)-benzenkarboximidamidu, sloučeniny, která je totožná se sloučeninou připravenou v příkladě 2.5.

20

Výtěžek: 46 %.

25 Příklad 4

Příprava opticky aktivních 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)methyl]-benzenkarboximidamidů.

30 (-)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid

a

35 (+)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid.

a) Metyl-[2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidát] se připraví jako v příkladě 2.2.a) z výchozích 32 g (0,150 mol) 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzonitrilu (připraveného v příkladě 1.2). Surový zbytek metyl-[2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidátu] se použije v následující fázi.

40

b) Zbytek získaný výše v a) se vyjme do 150 ml absolutního etanolu a přidá se k němu 38,7 ml (0,3 mol) S(-)- α -metylbenzylaminu. Látky se nechají reagovat při teplotě místnosti po dobu 15 hodin, poté se odpaří rozpouštědlo za sníženého tlaku. Získaný zbytek se čistí kapalinovou preparativní chromatografií (oxid křemičitý: 1 kg; eluent: směs 95,6:4,0:0,4 (obj.) chloroform-metanol-amoniak).

45

c) Směs diastereoizomerů, částečně vyčištěných, se poté chromatografuje podílem 5 g (oxid křemičitý: 1 kg, eluent: směs 95,5:5:0,5 (obj.) etylacetát-metanol-amoniak) pro uskutečnění úplné separace diastereoizomerů. Oba prakticky čisté diastereoizomery jsou ještě chromatografovány naposledy za stejných podmínek. Získá se tak 18,9 g (výtěžek: 33%) diastereoizomeru A, nejméně polární a tedy první vyloučené složky, a 27,3 g (výtěžek 47%) diastereoizomeru B, nejpolarnější a tedy poslední eluované složky. Obě sloučeniny se zavedou do fáze konečné debenzylace.

50

NMR diastereoizomeru A:

δ :: 1,40 (3H, d), 1,51 (3H, d), 4,53 (1H, q), 4,99 (1H, q), 6,29 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 6,91 (1H, dd), 7,2 až 7,5 (7H, m), 7,75 (1H, m)

5

NMR diastereoizomeru B:

δ :: 1,40 (3H, d), 1,52 (3H, d), 4,53 (1H, q), 4,99 (1H, q), 6,27 (1H, dd), 6,67 (1H, s), 6,89 (1H, dd), 7,2 až 7,5 (7H, m), 7,75 (1H, m)

10

d) (-)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid.

Pod zpětným chladičem se zahřívá 24 hodin roztok obsahující 30 g diastereoizomeru A (izolovaného ve výše uvedeném kroku c)) v 300 ml vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové 12N a 30 ml toluenu. Po eliminaci zbylého rezidua filtrací se dekantuje organická fáze a vodná fáze se promyje malým množstvím toluenu. Vodná fáze se poté alkalizuje na pH 9 vodným roztokem hydroxidu sodného 1N. Tento vodný roztok se extrahuje směsí 80:20 (obj.) etylacetát-metanol. Odpaření organických extrakčních rozpouštědel poskytuje pevný zbytek (1. proud). Odpaří se rovněž vodná fáze a získaný zbytek se vyjme 30 ml roztoku amoniaku 2,5 N v izopropylalkoholu. Nerozpustné soli se odfiltrují a odpaří se izopropylalkohol za získání pevného zbytku (2. proud). Oba spojené proudy se čistí dvěma kapalinovými preparativními chromatografiemi, prováděnými za sebou za stejných podmínek (oxid křemičitý: 1 kg, eluent: směs 72:20:2 (obj.) dichlormetan-metanol-amoniak). Izoluje se 10 g bílého pevného produktu, který se rekrystalizuje ve vodě. Získá se 7,18 g monohydratovaného (-)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamidu.

25

Výtěžek. 32 %.

Teplota tání: 125,18 °C

NMR: δ : 1,40 (3H, d), 4,44 (1H, q), 6,16 (1H, t), 6,65 (1H, s), 6,90 (1H, dd), 7,41 (1H, dd), 7,44 (1H, s)

30

$[\alpha]_D^{25} = -232,36^\circ$ (c=1, metanol)

Analýza pro $C_{12}H_{14}N_4O \cdot H_2O$ v %:

vypočítané: C 58,04 H 6,49 N 22,57

zjištěné: 57,86 6,54 22,65

35

e) (+)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid.

Pod zpětným chladičem se zahřívá 24 hodin roztok obsahující 27,3 g diastereoizomeru B (izolovaného ve výše uvedeném kroku c)) v 270 ml vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové 12N a 27 ml toluenu. Eliminuje se organická fáze dekantací a vodná fáze se promyje malým množstvím toluenu. Vodná fáze se odpaří za sníženého tlaku a zbytek se vyjme do 100 ml etanolu. Poté se neutralizuje etanolový roztok 40 ml roztoku amoniaku 2,5 N v izopropylalkoholu. Nerozpustné soli se filtrují a filtrát se odpaří. Zbytek se čistí dvakrát kapalinovou preparativní chromatografií, prováděnou za sebou ve stejných podmínkách (oxid křemičitý: 800 g; eluent: směs 78:20:2 (obj.) dichlormetan-metanol-amoniak). Izoluje se 6,22 g bílého pevného produktu, který se rekrystalizuje ve vodě. Získá se 4,93 g monohydratovaného (+)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamidu.

50

Výtěžek: 24 %.

Teplota tání: 139,07 °C

NMR: δ : 1,40 (3H, d), 4,48 (1H, q), 6,14 (1H, t), 6,63 (1H, s), 7,40 (1H, s), 7,41 (1H, dd)

$[\alpha]_D^{25} = +237,44^\circ$ (c=1, metanol)

Analýza pro $C_{12}H_{14}N_4O \cdot H_2O$ v %:

vypočítané:	C 58,04	H 6,49	N 22,57
zjištěné:	58,11	6,53	22,65

5

Příklad 5

Příprava substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)-alkyl]-benzenkarboximidamidů obecného vzorce I

10

1. 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamid

a) Přidá se 11,3 ml (0,0088 ml) S-(–)- α -metylbenzylaminu k 140 ml roztoku metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidátu] v absolutním alkoholu, připravenému ve výše uvedeném příklad 2.5a). Nechá se reagovat po dobu 15 hodin při teplotě 20 °C a poté se rozpouštědlo odpaří za sníženého tlaku. Získaný zbytek se čistí kapalinovou preparativní chromatografií (oxid křemičitý: 1 kg; eluent: 94,5:5:0,5 (obj.) etylacetát-metanol-amoniak).

20 Získá se tak 13,9 g 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N- α -metylbenzyl-benzenkarboximidamidu, který se používá v následující fázi.

b) Pro účely analýzy se chromatografuje ještě jednou 2g 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N- α -metylbenzyl-benzenkarboximidamidu připraveného podle a) jak je uvedeno výše (oxid křemičitý: 500 g, eluent: 92,3:7:0,7 (obj.) dichlormetan-metanol-amoniak).

NMR: δ : 1,52 (3H, d), 3,74 (2H, m), 5,00 (1H, q), 6,28 (1H, t), 6,64 (1H, s), 6,96 (1H, dd), 7,25 až 7,45 (6H, m), 7,51 (1H, dd), 7,80 (1H, b)
 $[\alpha]_D^{25} = +225^\circ$ (c=1, metanol)

30

c) Do digestoře se vloží 1 g (0,0031 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamidu připraveného ve výše uvedeném příklad 1.a) a 15 ml amoniaku a zahřívá se při 100 °C po dobu 40 hodin. Odpaří se rozpouštědlo a zbytek se vyčistí kapalinovou preparativní chromatografií (oxid křemičitý: 200 g; eluent: směs 78:20:2 (obj.) dichlormetan-metanol-amoniak). Po odpaření rozpouštědel se získá 0,5 g 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamidu, sloučeniny totožné se sloučeninou připravenou v příklad 2.1.

35

Výtěžek: 75 %.

40 2. 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-(1-metyletyl)-benzenkarboximidamid

Do digestoře se vloží 5 g (0,0156 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N- α -benzenkarboximidamidu připraveného ve výše uvedeném příkladě 5.1.a) a 50 ml 2-propanaminu a zahřívá se při 80 °C po dobu 54 hodin a poté při 100 °C po dobu 46 hodin. Odpaří se rozpouštědlo a zbytek se čistí kapalinovou preparativní chromatografií (oxid křemičitý: 600 g, eluent: směs 89:10:1 (obj.) dichlormetan-metanol-amoniak). Po odpaření rozpouštědel se získá 3,6 g bledě žlutého pevného produktu, který se rekrystalizuje dvakrát z acetonitrilu. Získá se 1,25 g 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-(1-metyletyl)-benzenkarboximidamidu.

45

50 Výtěžek: 31 %.

Teplota tání: 138–139 °C (rozklad)

NMR: δ : 1,24 (6H, d), 3,70 (2H, s), 3,91 (1H, m), 6,20 (1H, t), 6,60 (1H, s), 6,94 (1H, d), 7,43 (1H, s), 7,48 (1H, dd), 7,98 (1H, b), 11,7 (1H, b),

Analýza pro $C_{14}H_{18}N_4O.H_2O$ v %:

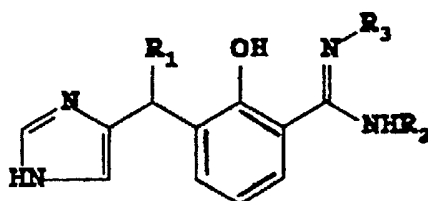
vypočítané:	C 60,85	H 7,30	N 20,28
zjištěné:	60,62	7,67	19,88

5

PATENTOVÉ NÁROKY

10

1. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy, jejich optické izomery a jejich racemické směsi odpovídající obecnému vzorci I



(I)

15

ve kterém

R_1 značí atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

20

R_2 značí atom vodíku, hydroxylovou skupinu, aminoskupinu nebo alkylovou skupinu mající 1 až 4 atomy uhlíku,

R_3 značí atom vodíku nebo R_2 a R_3 dohromady značí skupinu $-CH_2-CH_2-$,

25

jakož i jejich adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.

2. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle nároku 1, kterými jsou 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamid a jeho adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.

30

3. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle nároku 1, kterými jsou N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzenkarboximidamid a jeho adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.

35

4. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle nároku 1, kterými jsou 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-metyl-benzenkarboximidamid a jeho adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.

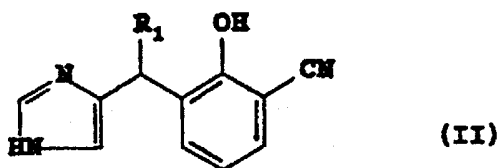
40

5. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle nároku 1, kterými jsou 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid a jeho adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.

45

6. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle nároku 1, kterými jsou (+)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid a jeho adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.

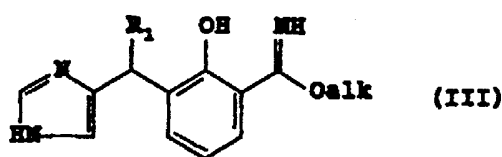
7. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle nároku 1, kterými jsou (-)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzenkarboximidamid a jeho adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.
- 5 8. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle nároku 1, kterými jsou 2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-6-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-fenol a jeho adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.
9. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle nároku 1, kterými jsou 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-(1-metyletyl)-benzenkarboximidamid a jeho adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.
- 10 10. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy podle nároku 1, kterými jsou hydrazid kyseliny 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-yl-metyl)-benzenkarboximidové a jeho adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.
- 15 11. Způsob přípravy substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů a jejich solí, definovaných v nároku 1, vyznačený tím, že se
- 20 a) (1) nechá reagovat 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitril obecného vzorce II



25 ve kterém R_1 má význam uvedený v nároku 1, s alkanolem majícím 1 až 4 atomy uhlíku v přítomnosti plynné kyseliny chlorovodíkové;

(2) poté se nechá reagovat takto získaný 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidát substituovaný alkylem obecného vzorce III

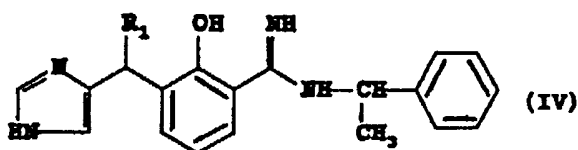
30



ve kterém R_1 má význam uvedený v nároku 1 a alk značí alkylovou skupinu mající 1 až 4 atomy uhlíku, s jedním z enantiomerů α -metylbenzylaminu, a

35

(3) nakonec se nechá reagovat takto získaný 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-N- α -metylbenzyl-benzenkarboximidamid obecného vzorce IV



40

ve kterém R_1 má význam uvedený v nároku 1,

– buď s dusíkatou sloučeninou vzorce R_2NH_2 , ve kterém R_2 značí atom vodíku, hydroxylovou skupinu, aminoskupinu, nebo alkylovou skupinu mající 1 až 4 atomy uhlíku, když je požadováno získat sloučeninu obecného vzorce I, ve kterém R_3 je atom vodíku

5 – nebo s etylendiaminem, když je požadováno získat sloučeninu obecného vzorce I, ve kterém R_2 a R_3 dohromady značí skupinu $-CH_2-CH_2-$,

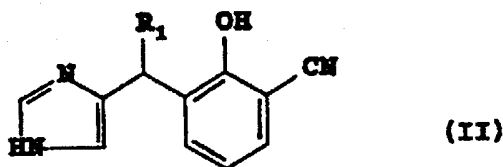
a když je požadováno získat sloučeninu obecného vzorce I ve formě optického izomeru, předem se oddělí N- α -methylbenzylované diastereoizomery obecného vzorce IV, kde R_1 značí alkylovou skupinu mající 1 až 4 atomy uhlíku; nebo

b) se nechá reagovat 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidát substituovaný alkylem obecného vzorce III získaný způsobem popsaným ve výše uvedeném bodě a) s

15 – buď dusíkatou sloučeninou vzorce R_2NH_2 , kde R_2 značí atom vodíku, hydroxylovou skupinu, aminoskupinu, nebo alkylovou skupinu mající 1 až 4 atomy uhlíku, když je požadováno získat sloučeninu obecného vzorce I, ve kterém R_3 je atomem vodíku,

– nebo s etylendiaminem, když je požadováno získat sloučeninu vzorce I, ve kterém R_2 a R_3 dohromady značí skupinu $-CH_2CH_2-$; nebo

c) pro přípravu 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů odpovídajících obecnému vzorce I, ve kterém R_2 značí hydroxylovou skupinu a R_3 značí atom vodíku, se nechá reagovat hydroxylamin s 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitrilem obecného vzorce II



kde R_1 má význam uvedený v nároku 1; nebo

30 d) pro přípravu 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů odpovídajících obecnému vzorci I, ve kterém R_1 značí alkylovou skupinu mající 1 až 4 atomy uhlíku a R_2 a R_3 značí oba atom vodíku, ve formě jejich optických izomerů, se oddělí diastereoizomerní 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-N- α -methylbenzyl-benzenkarboximidamidy obecného vzorce IV, získané způsobem popsaným ve výše uvedeném bodě a), a poté se eliminuje hydrolyzou α -methylbenzylová skupina každého takto separovaného diastereoizomeru pomocí koncentrované kyseliny chlorovodíkové při teplotě od 80 °C do 110 °C; a

40 e) přičemž se eventuelně převedou získané 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidy obecného vzorce I na jejich adiční soli s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami.

45 12. Použití 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů podle kteréhokoli z nároků 1 až 10 nebo některé z jejich adičních solí s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami pro výrobu léčiva určeného pro prevenci a léčení glaukomu.

13. Farmaceutická kompozice s oftalmologickým účinkem pro snižování nitroočního tlaku, vyznačená tím, že obsahuje účinné množství jednoho nebo více 2-hydroxy-3-[1-(1H-

imidazol-4-yl)alkyl]-benzenkarboximidamidů podle kteréhokoli z nároků 1 až 10 nebo některé z jejich adičních solí s netoxickými, oftalmologicky přijatelnými kyselinami, společně s netoxickými pevnými nebo kapalnými oftalmologickými expicenty.

5

Konec dokumentu

10