



HU000229507B1

(19) **HU****MAGYARORSZÁG**
Szellemi Tulajdon Nemzeti Hivatala(11) Lajstromszám: **229 507**(13) **B1**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 01 01130**(22) A bejelentés napja: **1997. 12. 18.**(51) Int. Cl.: **C07C 271/42** (2006.01)**A61K 31/27** (2006.01)(40) A közzététel napja: **2001. 08. 28.**(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlöny és Védjegyértékesítőben: **2014. 01. 28.**

(86) A nemzetközi (PCT) bejelentési szám:

PCT/US 97/24155

(87) A nemzetközi közzétételi szám:

WO 9827055

(30) Elsőbbségi adatok: 119853 1996. 12. 18. IL 120510 1997. 03. 24. IL	(73) Jogosult(ak): Yissum Research Development Company of the Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem (IL) Technion Research and Development Foundation Ltd., Haifa (IL)
(72) Feltaláló(k): Chorev, Michael, Jeruzsálem (IL) Weinstock-Rosin, Marta, Jeruzsálem (IL) Sterling, Jeffrey, Jeruzsálem (IL) Youdim, Moussa B. H., Haifa (IL) Goren, Tamar, Rehovot (IL) Herzig, Yacov, Ra'ananna (IL)	(74) Képviselő: Szentpéteri Zsolt, S.B.G. & K. Szabadalmi Ügyvivői Iroda, Budapest

(54) **1,2,3,4-Tetrahidro-amino-naftalinil- és aminoindánszármazékok, valamint a vegyületeket tartalmazó
gyógyszerkészítmények**

(57) Kivonat

A találmány az (I) általános képletű vegyületekre vonatkozik, ahol ha a értéke 0, akkor

b értéke 1 vagy 2;

ha a értéke 1, akkor

b értéke 1;

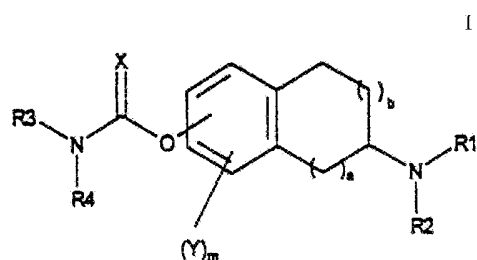
m értéke 0, 1, 2 vagy 3;

X jelentése oxigén- vagy kénatom;

Y jelentése halogénatom;

R₁ jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport;R₂ jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy adott esetben szubsztituált propargilcsoport; ésR₃ és R₄ jelentése egymástól függetlenül, 1-8 szénatomos alkil- vagy szubsztituált 1-8 szénatomos alkil-, 6-12szénatomos aril- vagy szubsztituált 6-12 szénatomos aril-, 6-12 szénatomos aralkil vagy szubsztituált 6-12 szénatomos
aralkil-, 6-12 szénatomos cikloalkilcsoport vagy szubsztituált 6-12 szénatomos cikloalkilcsoport, vagy hidrogénatom.A találmány továbbá az (I) általános képletű vegyületek terápiás alkalmazására is vonatkozik. A találmány szerinti
vegyületek depresszió, a koncentráció hiányával kapcsolatos zavarok, a koncentráció hiányával és hiperaktivitással járó
megbetegedés (ADHD), Tourette-tünetcsoport, Alzheimer-betegség és más elmebajok, például időskori demencia,

Parkinson típusú demencia, keringési okokból fellépő demencia kezelésére alkalmazhatók. A találmány tárgyát képezik továbbá azok a gyógyászati készítmények is, amelyek egy (I) általános képletű vegyület terápiásan hatásos mennyiségét gyógyászati szempontból elfogadható vivőanyaggal tartalmazzák.



**1,2,3,4-Tetrahidro-amino-naftalinil- és aminoindánszármazékok,
valamint a vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények**

Megadás alapjául szolgáló változat

A találmány új vegyületekre, ezeket a vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítményekre, valamint ezek alkalmazására vonatkozik különböző központi idegrendszeri (CNS) megbetegedések kezelésében.

Az elmebaj (demencia) számos formában jelentkezhet, ilyenek: a sztatikus demencia, Alzheimer-típusú demencia, időskori (szenilis) demencia, időskor előtt jelentkező (preszenilis) demencia és a súlyosbodó (progresszív) demencia. A demencia több típusának egyik közös kóroktani tényezője az acetilkolin ingerületátvivő anyag (neurotranszmitter) hiánya. Ennek alapján fejlesztették ki az acetilkolin-észteráz gátlókat - például a takrin nevű vegyületet - a demencia kezelésére. A különböző megközelítési módok és az Alzheimer-betegség kezelésében elért haladás áttekintése megtalálható a Drugs of the Future, **20**, 1145-1162 (1995) közleményben.

Újabban olyan vegyületeket dolgoztak ki, amelyek az acetilkolin-észteráz gátlásán kívül az A típusú monoamin-oxidáz (MAO-A) enzimet is gátolják. A MAO-A enzim aktivitásának gátlása bizonyíthatóan egy depresszió elleni hatás (lásd a 614 888 és 664 291 számú európai szabadalmi leírásokat).

Mind az 5 387 133, mind az 5 453 446, 5 457 133 és 5 519 061 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírások közlik, hogy az (R)-N-propargil-1-aminoindán - egy igen szelektív monoamin-oxidáz B (MAO-B) típusú gátló az Alzheimer típusú elmebajok és memóriazavarok kezelésében hatásos. E szabadalmi közleményekben nem utalnak arra, hogy e vegyület acetilkolin-észteráz-gátló hatással rendelkezik. Továbbá, e vegyületnek MAO-A gátló hatása igen gyenge.

A WO 95/18617 számon publikált nemzetközi PCT bejelentésben különböző aminoindánszármazékokat közölnek, amelyek különféle CNS megbetegedések - így Alzheimer típusú demenciák kezelésében hatásosak. Ebben a közleményben sem található utalás arra vonatkozóan, hogy a közölt vegyületek rendelkeznek-e acetilkolin-észteráz-gátló hatással.

A következőkben a találmányt röviden összefoglaljuk.

A találmány az (I) általános képletű vegyületekre vonatkozik, ahol ha a értéke 0, akkor

b értéke 1 vagy 2;

ha a értéke 1, akkor

b értéke 1;

m értéke 0, 1, 2 vagy 3;

X jelentése oxigén- vagy kénatom;

Y jelentése halogénatom;

R₁ jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport;

R₂ jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy adott esetben szubsztituált propargilcsoport; és

R₃ és R₄ jelentése egymástól függetlenül, 1-8 szénatomos alkil- vagy szubsztituált 1-8 szénatomos alkil-, 6-12 szénatomos aril- vagy szubsztituált 6-12 szénatomos aril-, 6-12 szénatomos aralkil- vagy szubsztituált 6-12 szénatomos aralkil- vagy 6-12 szénatomos cikloalkilcsoport vagy szubsztituált 6-12 szénatomos cikloalkil-csoport, vagy hidrogénatom.

A találmány tárgyát képezik önmaguk a vegyületek, továbbá ezeket a vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítmények, valamint ezek alkalmazása depresszió, koncentrációhiányos (figyelemhiányos) megbetegedés (ADD), a figyelem (koncentráció) hiányával és hiperaktivitással járó megbetegedés (ADHD), Tourette-tünetcsoport, Alzheimer-betegség és más elmebajok, így az időskori demencia, időskor előtti demencia,

progresszív demencia, Parkinson típusú demencia, keringési okokból fellépő demencia és a "Lewy-test" típusú demencia kezelésében.

Az (I) általános képletű vegyületek alkalmazásának a találmány szerinti további vonatkozása a vegyületek felhasználása idegkárosodással járó (neurotraumatikus) betegségek kezelésében. A "neurotraumatikus megbetegedés" fogalmán az idegrendszer károsodását értjük (mind a központi, mind a perifériás idegrendszer) iszkémiás károsodás következtében, amilyen például a sztrók, hipoxia vagy anoxia, idegsorvadással járó betegségek, Parkinson-betegség, Alzheimer-megbetegedés, Huntington-betegség, neurotoxikus károsodás, koponyasérülések, gerincagyi sérülések, perifériás idegbántalom vagy bármilyen idegkárosodás során bekövetkeznek.

A találmány egy további vonatkozása az (I) képletű vegyületek alkalmazása memóriazavarok és depresszió kezelésében.

A találmány mind a racém vegyületekre, mind azok optikailag aktív enantiomerjeire vonatkozik.

A rajzok rövid leírását a következőkben ismertetjük.

Az 1. ábra egérben a latencia csökkenését mutatja be zárt fejsérülés után (Morris Water Maze Test) az 1., 10. vegyülettel vagy sóoldattal (kontroll) való kezelés után. A nyíl a zárt fejsérülés időpontjára mutat.

A 2. ábra egérben a latencia csökkenését mutatja be zárt fejsérülés után (Morris Water Maze Test) a 24., 25. vegyülettel vagy sóoldattal (kontroll) való kezelés után. A nyíl a zárt fejsérülés időpontjára mutat.

A 3. ábra egérben a latencia csökkenését mutatja be zárt fejsérülés után (Morris Water Maze Test) a 37., 39. vegyülettel vagy sóoldattal (kontroll) való kezelés után. A nyíl a zárt fejsérülés időpontjára mutat.

Az alábbiakban a találmány részletesen ismertetjük.

A találmány az (I) általános képletű vegyületekre vonatkozik, ahol
ha a értéke 0, akkor

b értéke 1 vagy 2;

ha a értéke 1, akkor

b értéke 1;

m értéke 0, 1, 2 vagy 3;

X jelentése oxigén- vagy kénatom;

Y jelentése halogénatom;

R₁ jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport;

R₂ jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos alkilcsoport, vagy adott esetben szubsztituált propargilcsoport; és

R₃ és R₄ jelentése egymástól függetlenül, 1-8 szénatomos alkil- vagy szubsztituált 1-8 szénatomos alkil-, 6-12 szénatomos aril- vagy szubsztituált 6-12 szénatomos aril-, 6-12 szénatomos aralkil- vagy szubsztituált 6-12 szénatomos aralkil- vagy 6-12 szénatomos cikloalkilcsoport vagy szubsztituált 6-12 szénatomos cikloalkil-csoport, vagy hidrogénatom.

A találmány egyik megvalósítási alakjában a értéke 0, és b értéke 1.

A találmány egy másik megvalósítási alakjában a értéke 0, b értéke 1, és X oxigénatomot jelent.

A találmány egyik megvalósítása szerint X oxigénatomot jelent. A találmány egy másik megvalósítása szerint X jelentése kénatom.

A találmány egyik kiviteli alakjában R₂ jelentése hidrogénatom, metil-, etil- vagy adott esetben szubsztituált propargilcsoport.

A találmány egy másik kiviteli alakjában R₂ propargilcsoportot jelent.

A találmány egy további megvalósítása szerint a kiválasztott vegyületek: (rac)-6-(N-metil-N-etilkarbamóiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán-hidroklorid; (rac)-6-(N,N-dimetilkarbamóiloxi)-N'-metil-N'-propargil-1-aminoindán-hidroklorid; (rac)-6-(N-metil-N-etilkarbamóiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán-hidroklorid; (rac)-6-(N-propilkarbamóiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán-hidroklorid; (rac)-5-klór-6-(N-metil-N-propilkarbamóiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán-hidroklorid; (S)-6-(N-metil-N-propilkarbamóiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán-hidroklorid és (R)-6-(N-metil-N-etilkarbamóiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán-(L)-hemitararát.

A találmány egy másik kiviteli alakja szerint R_1 jelentése hidrogénatom, metil- vagy etilcsoport, és R_2 jelentése hidrogénatom, metil- vagy etilcsoport, vagy adott esetben szubsztituált propargilcsoport. A találmány egy további megvalósítása értelmében a propargilcsoport metilénecsoportján 1-4 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituálva van (az 1. reakcióvázlatban R_6).

A találmány szerint (e leírásban) "halogénatomon" fluor-, klór-, bróm- vagy jódatomot értünk.

A találmány egyik további megvalósítási formájában, ha m 1-nél nagyobb, akkor mindegyik Y azonos vagy különböző lehet.

A találmány egy még további megvalósítási alakjában az $OC(X)NR_3R_4$ általános képletű csoport az aminocsoporttal szubsztituált szénatomtól számítva az indángyűrű 4-, 6- vagy 7-helyzetében van.

A találmány egy másik kiviteli alakjában az R_3 és R_4 közül legalább az egyiknek a jelentése metilcsoport, míg a másiknak a jelenté-

se hidrogénatom, metil-, etil-, propil-, butil-, hexil-, fenil-, benzil- vagy ciklohexilcsoport.

A találmány gyakorlati megvalósítása során a gyógyászati szempontból elfogadható sók például (azonban korlátozás nélkül): az etánszulfonát, metánszulfonát, maleát, tartarát, hemtartarát, hidroklorid, hidrobromid, p-toluolszulfonát, benzoát, acetát, foszfát és szulfát.

A találmány továbbá gyógyászati készítményt is nyújt, amely az (I) képletű vegyület vagy gyógyászati szempontból elfogadható sója terápiásan hatásos mennyiségét és gyógyászati szempontból elfogadható vivőanyagot tartalmaz. Az (I) képletű vegyület vagy gyógyászati szempontból elfogadható sójának "terápiásan hatásos mennyiségét" a szakterületen jártas személy jól ismert módszerekkel meghatározhatja; ezeknek a mennyiségeknek az indikációit az alábbiakban megadjuk.

E készítményeket orálisan, parenterálisan, rektálisan vagy transzdermálisan adagolható gyógyszerek alakjában állíthatjuk elő.

Az orális adagolásra alkalmazható formák tabletták, préselt vagy bevont pilulák, drazsék, tasakok, kemény- vagy lágyzselatínkapszulák, nyelv alatt tabletták, szirupok vagy szuszpenziók. Az egyik megvalósítási forma szerint a gyógyászati szempontból elfogadható vivőanyag szilárd, és a gyógyászati készítmény tabletta.

A gyógyászati szempontból hatásos mennyiség körülbelül 0,5 mg-tól körülbelül 2000 mg-ig, előnyösen körülbelül 1 mg-tól körülbelül 1000 mg-ig terjedhet.

Egy alternatív kiviteli formában a gyógyászati szempontból elfogadható vivőanyag folyékony, és a gyógyászati készítmény injekciós oldat. A gyógyászati szempontból hatásos mennyiség ebben az esetben körülbelül 0,5 mg-tól körülbelül 2000 mg-ig, előnyösen 1 mg-tól körülbelül 1000 mg-ig terjedhet. Az adagolás során alkalmazott térfogat 0,5 és 10 ml között lehet.

Egy további alternatív megvalósítási formában a vivőanyag valamilyen gél, és a gyógyászati készítmény végbélkúp. Paren-terális adagolás céljára a találmány szerint ampullákat vagy fi-olákat alkalmazunk, amelyek vizes vagy nemvizes oldatot vagy emulziót tartalmaznak. Rektális adagolás céljára szolgálnak a hidrofíl vagy hidrofób vivőanyagot tartalmazó végbélkúpok. He-lyi alkalmazás céljára kenőcsöket, valamint transzdermális ada-golást alkalmazunk, e célra szolgálnak a szakterületen ismert, megfelelő adagoló rendszerek. Az orális vagy végbélkúpos ké-szítményekben adagolási egységenként 0,5 - 2000 mg ható-anyagot, előnyösen 1 - 1000 mg adagot alkalmazunk.

A fenti készítmények az előbbieken megnevezett betegsé-gekre alkalmazhatók önmagukban, vagy - mint az Alzheimer-betegség esetében - például a szokásos kezelésekkel, így haloperidollal, takrinnal vagy deprenillel együttesen alkalmaz-hatók.

A találmányt az alábbi Kísérleti Részben részletesebben megvilágítjuk. A szakterületen jártas személy számára azonban nyilvánvaló, hogy ezek a specifikus módszerek és részletesen közölt eredmények csupán szemléltetik a találmányt; a teljesebb leírás a későbbiekben megadott igénypontokból következik.

Példák

A vegyületek előállítása

Amint az 1. reakcióvázlatból látható, az (I) általános képletű vegyületek a megfelelő (III) általános képletű karbamoil-amino-indán-származékokból állíthatók elő úgy, hogy ez utóbbiakat a 3-helyzetben megfelelő kilépőcsoportot hordozó propargilvegyületekkel reagáltatjuk. Ilyen megfelelő kilépőcsoport például a halogenid, mezilát, tozilát; a reakciót bázisos körülmények között, szerves bázis, például kálium-karbonát, nátrium-hidroxid, vagy szerves bázis, például valamilyen tercier amin jelenlétében, poláris szerves oldószerben, például acetonitrilben vagy dimetil-formamidban (röviden: DMF), 15-40 °C hőmérsékleten, előnyösen 20-25 °C hőmérsékleten 5-48 órás reakcióidővel, előnyösen 20-30 órás időtartammal végezzük. Megfelelő feldolgozás és tisztítás után a kapott termékek szabad bázis alakúak. Ezeket előnyösen gyógyászati szempontból elfogadható sókká, például hidrokloriddá, metánszulfonáttá (meziláttá) vagy hemitartráttá alakítjuk.

Az 1. reakcióvázlatban látható, hogy a (III) általános képletű vegyületek a (IV) általános képletű vegyületek Boc-védőcsoportjának az eltávolításával állíthatók elő. A (IV) általános képletű vegyületek úgy kaphatók, hogy egy (V) általános képletű vegyületet a szokásos módon karbamoilezünk, például úgy, hogy egy (V) képletű vegyületet megfelelő karbamoil-halogeniddal vagy alkil-izocianáttal reagáltatunk. Végül az (V) általános képletű vegyületek úgy nyerhetők, hogy egy megfelelő hidroxi-amin-származékot a szakember számára ismert úton Boc-védőcsoporttal látunk el. Az N,N-dialkil-aminoindán-származékok az 1. reakcióvázlatban szemléltetett módon a megfelelő N,N-dialkil-

hidroxi-aminoindán közvetlen karbamoilezésével vagy (III) képletű vegyület alkilezésével állíthatók elő.

Jöllehet az 1. reakcióvázlatban karbamoilszármazékok előállítását szemléltetjük, ugyaz az eljárás és az előbbi leírás a találmány szerinti tiokarbamátok előállítására is érvényes.

Kiinduló anyagok előállítása

A 6- és 7-hidroxi-1-aminoindánok a megfelelő 6-, illetve 7-metoxi-1-aminoindánok demetilezésével állíthatók elő. Az utóbbi vegyületeket a megfelelő 1-indanonokból kaphatjuk: vagy úgy, hogy az indanonszármazékot oximmá alakítjuk és redukáljuk [Y. Oshiro és munkatársai: J. Med. Chem., **34**, 2004 (1991)]; vagy redukatív aminezés útján NaCNBH_3 és ammónium-acetát alkalmazásával [R. F. Borch és munkatársai: J. Am. Chem. Soc., **93m** 2897 (1971)].

A 6-hidroxi-aminoindán aminoindánból is előállítható úgy, hogy a megfelelő N-védett aminoindánt regioszelektív Friedel-Crafts acilezési reakcióba visszük, majd Baeyer-Villiger oxidációt és végül hidrolizist végzünk [K. Teranishi és munkatársai: Synthesis 1018 (1984)]. Ennek alapján a 6-hidroxi-(R)-1-amino-indán az alábbi példában és a 2. reakcióvázlatban szemléltetett módon állítható elő (ahol "R" adott esetben szubsztituált alkilcsoportot jelent).

Az N-metil-6-hidroxi-1-aminoindán 6-metoxi-N-metil-1-aminoindán demetilezésével érhető el; ez utóbbit 6-metoxi-1-aminoindán redukatív alkilezésével kapjuk (például úgy, hogy etil-formiátot alkalmazunk, s ezt követi a LiAlH_4 redukció); vagy

egy más módon, a 6-metoxi-1-indanont redukatív aminezésnek vetjük alá [R. F. Borch fent idézett közleménye] (metil-amin, só-sav, majd NaCNBH_3 alkalmazásával). Az N-etil-6-hidroxi-1-aminoindánt úgy kapjuk, hogy a 6-hidroxi-1-aminoindánt acetilezzük (ecetsavanhidrid és kálium-hidroxid használatával), és ezt követően a kapott terméket LiAlH_4 redukciónak vetjük alá. Az N,N-dimetil-6-hidroxi-1-aminoindánt a megfelelő 6-metoxi-analóg demetilezésével állítjuk elő, a 6-metoxi analógot pedig 6-metoxi-1-aminoindán redukatív alkilezésével (formaldehid, hangyasav alkalmazásával) készítjük. A 4-hidroxi-1-aminoindán 4-hidroxiindanonból állítható elő úgy, hogy ez utóbbit oximmá alakítjuk, amelyet redukálunk (Y. Oshiro fentebb idézett közleménye). A 4-hidroxiindanon dihidrokumarinból szintetizálható [J. G. Cannon és munkatársai: J. Med. Chem., 28, 515 (1985)].

A 7-hidroxi-1-aminotetralint és 7-hidroxi-2-aminotetralint a megfelelő 7-metoxi-analógok demetilezésével valósítjuk meg. A 7-metoxi-analógokat a megfelelő 7-metoxi-1- és 2-tetralonok redukatív aminezésével állítjuk elő (lásd fentebb).

A 7-metoxi-2-tetralont 2,7-dimetoxitetralinból készítjük [S. C. Copinga és munkatársai: J. Med. Chem., 36, 2891 (1993)].

6-Hidroxi-(R)-1-aminoindán előállítása

Az előállítást a 2. reakcióvázlatban szemléltetjük.

N-Trifluoracetil-(R)-1-aminoindán

194,6 g (0,926 mol) trifluorecetsavanhidrid és 680 ml toluol 0 - 5 °C-ra hűtött oldatához 113,32 g (0,85 mol) (R)-1-aminoindán (bázisforma) és 50 ml toluol oldatát csepegtetjük, majd a reakcióelegyet jég-hűtés közben 3,5 órán át keverjük. Ekkor hűtés közben 67,25 g (1,2 mol) kálium-hidroxid és 1000 ml

víz oldatát adagoljuk hozzá hűtés közben. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 2 órán át tovább keverjük, majd szűrjük. A szilárd terméket szűrőssel összegyűjtjük, 680 ml vízzel mossuk, és vákuumban 60 °C-on szárítjuk. Így 152 g (78 %) fehér, szilárd terméket kapunk, olvadáspont: 153-154 °C. Az oldatot vákuumban bepároljuk, a kristályokat szűrjük, és vízzel mossuk. A szilárd terméket vákuumban 60 °C hőmérsékleten szárítva egy második generációt kapunk 25 g hozammal, amelyet hexán és etil-acetát elegyéből kristályosítva 18 g (9 %) fehér, szilárd terméként második generációt nyerünk, olvadáspont: 153-154 °C. Az összes hozam 170 g (87 %).

6-Klóracetil-N-trifluoracetil-(R)-1-aminoindán

89,2 g (0,67 mol) alumínium-klorid és 600 ml 1,2-diklóretán szuszpenziójához 55,7 ml (78,9 g, 0,7 mol) klóracetil-kloridot csepegtetünk 0-5 °C hőmérsékleten nitrogéngáz alatt 20 perc alatt, majd az elegyet 20-25 °C-ra hagyjuk felmelegedni. Ehhez az elegyhez 3 óra alatt 20-25 °C hőmérsékleten 34,4 g (0,15 mol) N-trifluoracetil-(R)-1-aminoindánt adagolunk, és az így kapott elegyet további 30 percig keverjük, majd 1,5 liter jéghideg víz és 1 liter 1,2-diklóretán keverékébe öntjük. A keveréket 5 percig keverjük, majd a fázisokat elkülönítjük. A vizes fázist kétszer extraháljuk 750 ml 1,2-diklóretánnal. Az egyesített szerves fázist kétszer extraháljuk 750 ml 1,2-diklóretánnal. Az egyesített szerves fázist kétszer mossuk 900 ml vízzel, és háromszor mossuk 900 ml 5 %-os vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal. A szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk, az oldószert vákuumban eltávolítjuk, és az így kapott szilárd

terméket etanolból átkristályosítjuk. Így 15 g (48 %) fehér, szilárd termékhez jutunk, olvadáspont: 166-167 °C.

6-Klóracetoxi-N-trifluoracetil-(R)-1-aminoindán

30,57 g (0,1 mol) 6-klóracetil-N-trifluoracetil-(R)-1-aminoindánt 20 ml vízmentes diklórmetánban (röviden DKM) oldunk, és egyszerre hozzáadunk 44,87 g (0,26 mol, 70 %-os) 3-klór-peroxibenzoesavat. A szuszpenziót 0 °C-ra hűtjük, és 11,4 g (0,1 mol) trifluoecetsavat csepegtetünk hozzá 5-10 perc alatt. A reakcióedényt fénytől védjük és a keveréket 3-5 napon át szobahőmérsékleten keverjük. Utána a reakcióelegyet 300 ml vízbe öntjük, ammónium-hidroxid oldattal közömbösítjük, és a fázisokat elkülönítjük. A vizes rétegeket 200 ml diklór-metánnal extraháljuk. Az egyesített szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk, az oldószert vákuumban eltávolítjuk, és az így kapott szilárd terméket etanolból átkristályosítjuk. Így 15 g (48 %) fehér, szilárd terméket kapunk, olvadáspont: 169-170 °C.

6-Hidroxi-(R)-1-aminoindán

25,4 g (0,11 mol) 6-klóracetoxi-N-trifluoracetil-(R)-1-aminoindán és 38,0 g (0,275 mol) kálium-karbonát 275 ml metanolal és 175 ml vízzel készült keverékét 70 °C hőmérsékleten másfél órán át keverjük, majd a metanolt vákuumban eltávolítjuk, és a vizes fázist 10 %-os sósavoldattal közömbösítjük. Az elegyet szűrjük, és a szilárd anyagot vízzel mossuk. Az anyalúgot vákuumban kis térfogatra pároljuk, a szuszpenziót közömbösítjük, szűrjük, és a barna, szilárd terméket metanolból kétszer átkristályosítjuk. Így 7,0 g (43 %) fehér, szilárd terméket kapunk, olvadáspont: 200-203 °C.

A megfelelő (S) enantiomer ugyanilyen módon állítható elő, kiindulási anyagként (S)-1-amino-indán felhasználásával.

Az enantiomerek rezolválása

Valamennyi vegyület R- és S-enantiomerje előállítható a megfelelő racém keverék optikai rezolúciójával. A rezolúció a technika állása szerint jól ismert, bármilyen szokásos rezolválási módszerrel végrehajtható, például olyan módon, ahogyan ezt a 4 833 273 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban közlik [(amelyet 1989. május 23-án publikáltak); valamint J. Jacques műve szerint: "Enantiomer, racémátok és rezolválási módszerek", Wiley, New York (1981)]. Így például a rezolválás végrehajtható királis oszlopon végzett preparatív kromatográfiával. A célszerű rezolválásra egy másik példa szerint úgy járunk el, hogy egy királis savval, például borkősavval, almasavval, mandulasavval vagy aminosavak N-acetil-származékaival, így N-acetil-leucinnal diasztereomer sókat képzünk, majd átkristályosítással elkülönítjük a kívánt enantiomer diasztereomer sóját.

Úgy is eljárhatunk, hogy kiválasztott kiinduló anyagokat, közbenső termékeket vagy végtermékeket a megfelelő enantiomerekre rezolválunk a WO/96US/21640 számú publikált PCT nemzetközi szabadalmi bejelentésben leírt módszerrel, amelynek értelmében a rezolválandó vegyületet előbb N-benzil-származékává alakítjuk, majd ez utóbbit R vagy S-mandulasavval rezolváljuk. A rezolvált terméket a megfelelő bázissá alakítjuk, és a savas körülmények között redukálva kapjuk a kívánt enantiomert. Előnyösen úgy járunk el, hogy a

kiinduló anyagot a Boc-védőcsoport bevezetése és a karbamoilezés előtt rezolváljuk.

A kiinduló anyagok R és S enantiomerjei továbbá az aminoindán R és S enantiomerjeiből is előállíthatók regioszelektív Friedel-Crafts acilezéssel az alkalmasan N-védett optikai izomer aminoindánból, amelyet követ egy Baeyer-Williger oxidáció és végül a hidrolízis (K. Teranishi és munkatársai fentebb idézett közleménye). Így az optikai rezolúció szükségtelessé válik.

A találmány szerinti vegyületek előállítása az 1. reakcióvázlatban szemléltetett módon.

A. A Boc-védőcsoport bevezetése és karbamoilezés

1. A Boc-védőcsoport bevezetése

6-Hidroxi-N-Boc-aminoindán

16 g (107 mol) 6-hidroxi-aminoindán, 23,8 g (109,2 mmol) di(terc-butil)dikarbonát és 16,74 ml (120 mmol) trietil-amin(TEA) 375 ml tetrahidrofuránnal (THF) készült oldatát szobahőmérsékleten 20 órán át keverjük. Utána a reakcióelegyet vákuumban szárazra pároljuk, és a maradékot 200 ml diklór-metánban oldjuk, 200 ml vízzel mossuk, nátrium-szulfáton szárítjuk, és vákuumban szárazra pároljuk. Az így kapott nyerterméket oszlopkromatográfiával tisztítjuk. Eluálószerként hexán és etil-acetát 2:1 arányú elegyének az alkalmazásával 23 g (86 %) szilárd terméket kapunk.

2. Karbamoilezés

6-(N-Metil-N-etilkarbamoiloxi)-N-Boc-aminoindán

7,5 g (30 mmol) N-Boc-6-hidroxi-aminoindán és 75 ml acetonitril jéggel hűtött oldatához keverés közben 6,3 g (71,8

mmol) N-metil-N-etil-karbamoil-kloridot adagolunk, majd az elegyhez 1,56 g (39 mmol) nátrium-hidridet adunk 60 %-os olajos diszperzióban. A reakcióelegyet argongáz alatt szobahőmérsékleten 2 órán át keverjük. Az oldószert vákuumban lepároljuk, a maradékhoz 100 ml vizet adunk, és háromszor extraháljuk 100 ml éterrel. A szerves fázist híg nátronlúggal mossuk (amíg a 10-11 pH-t el nem érjük), majd szárítjuk és vákuumban szárazra pároljuk. A kapott terméket oszlopkromatográfiával tisztítjuk. Eluálószerként hexán és etil-acetát 2:1 arányú elegyét alkalmazva 7,8 g (77 %) olajszerű terméket kapunk.

Ilyen módon állítottuk elő az 1. és 2. táblázatokban felsorolt közbelső termékeket. Az 1. táblázatban és valamennyi további táblázatban a "helyzet" a fejlécben a karbamoilcsoport gyűrűn elfoglalt helyzetére vonatkozik, ha erre vonatkozó más megjegyzést nem teszünk.

1. táblázat

(IVa) általános képletű, N-Boc védőcsoportot tartalmazó karbamoiloxi-aminoindán vegyületek

Helyzet	Y	R ₁	R ₂	R ₄	Hozam (%)
6-	H	H	Me	Me	92
6-	H	H	Me	Pr	95
6-	H	H	Me	Et	77
7-	H	H	Me	Me	92
7-	H	H	Me	Et	83
7-	H	H	Me	Pr	95
6-	H	Et	Me	Me	76
6-	H	Me	Me	Me	92

1. táblázat (folytatás)

Helyzet	Y	R ₁	R ₃	R ₄	Hozam (%)
7-	H	Me	Me	Me	78
6-	H	Me	Me	Pr	80
6-	H	H	Me	n-hexil	98
4-	H	H	Me	Me	85
4-	H	H	Me	Et	87
6-	H	H	Me	Et	89
6-	H	H	Me	ciklohexil	98
6-	H	H	Me	o-OMe-fenil	97
6-	H	H	Me	fenil	93
6-	H	H	Me	CH ₂ -fenil	83
6-	5-Cl	H	Me	Et	88
6-	5-Cl	H	Me	Pr	97
6-	H	H	Me	Bu	99
6-	H	H	Et	Bu	93
6-	H	H	Et	ciklohexil	94

2. táblázat

(IVb) általános képletű, N-Boc védőcsoportot tartalmazó
karbamoiloxi-aminotetralin vegyületek

Az aminocsoport helyzete	R ₁	R ₃	R ₄	Hozam (%)
2-	H	Me	Me	85
2-	H	Me	Et	79
1-	H	Me	Me	85
1-	H	Me	Et	98

B. A Boc védőcsoport eltávolítása**6-(N-Metil-N-etilkarbamoiłoxi)-aminoindán-hidroklorid****(3. vegyület)**

7,8 g (23,3 mmol) 6-(N-metil-N-etilkarbamoiłoxi)-N-Boc-aminoindánt 80 ml dioxánban oldunk, és 80 ml 20 %-os dioxános hidrogén-klorid oldatot adunk hozzá. Az elegyet szobahőmérsékleten 2 órán át keverjük, utána az oldószert vákuumban lepároljuk, a maradékot 200 ml száraz éterrel kezeljük, és az elegyet 4 órán át szobahőmérsékleten keverjük. Szűrés után 6,15 g (97 %) 6-(N-metil-N-etilkarbamoiłoxi)-aminoindán-hidrokloridot kapunk.

Ezzel az eljárással állítottuk elő a 3., 3a. és 4. táblázatokban bemutatott (I) általános képletű vegyületeket. E vegyületek színképi adatait a 7., 7a. és 8. táblázatokban adjuk meg.

3. táblázat

(I) általános képletű karbamilloxi-aminoindán-hidroklorid vegyületek

A vegyület száma	Helyzet	R ₁ , R ₂	R ₃	R ₄	Krist./szuszp. ol- dószer	O.p. (°C)	Hozam (%)
1.	6-	H, H	Me	Me	Et ₂ O	156-158	93
2.	6-	H, H	Me	Me	Et ₂ O	165-167	27
3.	6-	H, H	Me	Et	Et ₂ O	150-152	50
4.	7-	H, H	Me	Me	Et ₂ O	156-160	93
5.	7-	H, H	Me	Et	Et ₂ O	185-187	55
6.	7-	H, H	Me	Pr	Et ₂ O	153-155	33
7.	6-	H, Et	Me	Me	Et ₂ O	172-174	91
8.	6-	H, Me	Me	Me	Et ₂ O	178-180	88
9.	7-	H, Me	Me	Me	dioxán	169-171	98
10.	6-	H, Me	Me	Et	Et ₂ O	172-174	87
11.	6-	H, Me	Me	Pr	Et ₂ O	165-167	98
12.	6-	Me, Me	Me	Me	Et ₂ O	164-166	62
13.	4-	H, H	Me	Me	Et ₂ O	198-200	90
14.	4-	H, H	Me	Et	Et ₂ O	183-185	92

3. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	Helyzet	R ₁ , R ₂	R ₃	R ₄	Krist./szuszp. ol- dószer	O.p. (°C)	Hozam (%)
15.	6-	H, H	Me	n-hexil	dioxán	111-112	78
16.*	6-	H, H	Me	Et	Et ₂ O	197-198	89
17.	6-	H, H	Me	ciklohexil	Et ₂ O	207-208	86
18.**	6-	H, H	Me	Et	Et ₂ O	202-204	84
48.	6-	H, H	H	Et	MeOH/EtOAc	191-192	74
49.	6-	H, H	H	Pr	MeOH/EtOAc	171-173	67
50.	6-	H, H	Me	p-OMe-fenil	iPrOH	225-227	92
51.	6-	H, H	Me	CH ₂ -Ph	Et ₂ O		78
52.*	6-	H, H	Me	Me	Et ₂ O		83
53.**	6-	H, H	Me	Me	Et ₂ O		81
88.	6-	H, H	Me	Ph	Et ₂ O		96
66.***	6-	H, H	Me	Et	Et ₂ O	116-119	92
67.***	6-	H, H	Me	Pr	Et ₂ O	181-183	86
80.	6-	H, H	Me	Bu	Et ₂ O		54
84.	6-	H, H	Et	ciklohexil	Et ₂ O	196-198	89

* R-enantiomer ** S-enantiomer *** 5-klór

3a. táblázat

(Ib) általános képletű tiokarbamoiloxi-aminoindán-hidroklorid vegyületek

A vegyület száma	Helyzet	R ₁ , R ₂	R ₃	R ₄	Krist./szuszp. oldószer	O.p. (°C)	Hozam (%)
44.	6-	H,H	Me	Me	MeOH/EIO	244-245	55
45.	6-	H,H	Me	Et	MeOH/EIOAc	236-238	58

4. táblázat

(Ic) általános képletű karbamoiloxi-aminotetralin-hidroklorid vegyületek

A vegyület száma	Az aminocsoport helyzete	R ₁	R ₃	R ₄	Krist./szuszp. oldószer	O.p. (°C)	Hozam (%)
19.	2-	H	Me	Me	éter	a)	96
20.	2-	H	Me	Et	éter	a)	98
12.	1-	H	Me	Me	éter	196-198	99
22.	1-	H	Me	Et	éter	166-168	85

a) olvadáspontjának tartománya széles: a vegyület hemihidrát

C. Propargilezés és sóképzés

A B. lépésben előállított vegyületek adott esetben propargilezéssel további (I) általános képletű vegyületekhez vezetnek.

6-(N-Metil-N-etilkarbamoiloxi)-N-propargil-aminoindán- -hidroklorid

(25. vegyület)

5,2 g (19,2 mmol) 6-(N-metil-N-etilkarbamoiloxi)-aminoindán-
-hidroklorid, 5,31 g (38,4 mmol) kálium-karbonát és 250 ml
acetonitril elegyéhez keverés közben 2,06 g (17,28 mmol)
propargilbromid és 10 ml acetonitril oldatát csepegtetjük. A reak-
cióelegyet szobahőmérsékleten nitrogéngáz alatt 25 órán át ke-
verjük, majd szűrjük. A szűrletet vákuumban szárazra pároljuk, és
a maradékot oszlopkromatográfiával tisztítjuk. Eluálószerként etil-
-acetát alkalmazásával a szabad bázist sárga olaj alakjában 3,6 g
(13,2 mmol, 69 %) hozammal kapjuk.

A szabad bázist 150 ml száraz éterben oldjuk, és 15 ml éteres
hidrogén-klorid oldatot adunk hozzá. Az elegyet szobahőmérsék-
leten 1 órán át keverjük, szűrjük, és a szilárd terméket
izopropanol és éter elegyből átkristályosítjuk. Így fehér, szilárd,
cím szerinti terméket kapunk 3,5 g (11,3 mol, 59 %) hozammal.

6-(N,N-Dimetilkarbamoiloxi)-N-propargil-aminoindán- -metánszulfonát (24. vegyület)

1,88 g (7,33 mmol) 6-(N,N-dimetilkarbamoiloxi)-aminoindán-
-hidroklorid, 2,03 g (14,66 mmol) kálium-karbonát és 70 ml
acetonitril elegyéhez keverés közben 0,79 g (6,6 mmol) propargil-
-bromid és 5 ml acetonitril oldatát csepegtetjük 5 perc alatt, nitro-

géngáz védelmében. Az elegyet nitrogéngáz alatt 24 órán át keverjük, utána szűrjük, és az oldószert vákuumban eltávolítjuk. A maradékot 150 ml víz és 150 ml toluol keverékével felvesszük, és ezt az elegyet keverjük, miközben a vizes fázis pH-értékét 20 %-os vizes sósavoldattal hozzáadásával 3,75-re állítjuk. A vizes fázist elkülönítjük, kétszer extraháljuk 100 ml toluollal, és 10 %-os vizes nátronlúg hozzáadásával gondosan 7,5 pH-ra szabályozzuk. Ezt követően 100 ml, majd négyszer 70 ml toluollal extraháljuk. Az egyesített toluolos fázist nátrium-szulfáton szárítjuk, és szűrés után az oldószert vákuumban eltávolítjuk. Így 1,06 g (62 %) sárga, olajszerű maradékot kapunk.

1,65 g (6,4 mmol) szabad bázis és 60 ml vízmentes éter oldatához keverés közben 0,7 g (7,29 mmol) metánszulfonsav és 10 ml éter oldatát csepegtetjük. A szuszpenziót 25 °C hőmérsékleten 30 percig keverjük, majd 30 percen át ülepedni hagyjuk. Ekkor az étert dekantáljuk, és a maradékot vákuumban szárítjuk. A kapott terméket izopropanol és éter elegyből átkristályosítva 2,05 g (90,3 %) hozammal fehér, szilárd terméket kapunk.

Ezzel az eljárással állítottuk elő az 5., 5a. és 6. táblázatokban felsorolt (I) általános képletű vegyületeket. Ezeknek a vegyületeknek az elemzési értékeit a 9., 9a. és 10. táblázatokban adjuk meg.

5. táblázat

(Id) általános képletű karbamoiloxi-N-propargil-aminoindán vegyületek

A vegyület száma	X	Helyzet	R ₁	R ₂	R ₃	Krist./szuszp. oldószer	O.p. (°C)	Hozam (%)
23.	Cl	6-	H	Me	Me	iPrOH/Et ₂ O	180-182	52
24.	mezilát	6-	H	Me	Me	iPrOH/Et ₂ O	147-149	60
25.	Cl	6-	H	Me	Et	iPrOH/Et ₂ O	194-196	59
26.	Cl	6-	H	Me	Pr	iPrOH/Et ₂ O	183-185	46
27.	Cl	7-	H	Me	Me	iPrOH/Et ₂ O	219-220	65
28.	Cl	7-	H	Me	Pr	iPrOH/Et ₂ O	185-186	53
29.	Cl	6-	Me	Me	Me	iPrOH/Et ₂ O	199-201	55
30.	Cl	6-	Me	Me	Et	Et ₂ O	196-198	47
31.	Cl	6-	Et	Me	Me	iPrOH/Et ₂ O	212-213	71
32.	Cl	7-	Me	Me	Me	iPrOH/Et ₂ O	169-171	63
33.	Cl	7-	H	Me	Et	iPrOH/Et ₂ O	208-209	64
34.	Cl	4-	H	Me	Me	Et ₂ O	196-198	85
35.	Cl	4-	H	Me	Et	Et ₂ O	183-185	85
36.	Cl	6-	H	Me	n-hexil	iPrOH/Et ₂ O	106-108	53

5. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	X	Helyzet	R ₁	R ₂	R ₃	Krist./szuszp. oldószer	O.p. (°C)	Hozam (%)
37.*	Cl	6-	H	Me	Et	Et ₂ O	159-160	88
38.	Cl	6-	H	Me	ciklohexil	Et ₂ O	174-175	55
39.**	Cl	6-	H	Me	Et	Et ₂ O	160-162	61
54.*	mezilát	6-	H	Me	Me	Et ₂ O	139-141	54
55.**	mezilát	6-	H	Me	Me	Et ₂ O	138-140	52
56.	Cl	6-	H	H	Et	iPrOH/Et ₂ O	175-177	38
57.	Cl	6-	H	H	Pr	iPrOH/Et ₂ O	165-167	48
58.*	mezilát	6-	H	Me	Et	Et ₂ O	92-94	64
59.**	mezilát	6-	H	Me	Et	iPrOH/Et ₂ O		72
60.	mezilát	6-	H	Me	Et	Et ₂ O	121-123	87
61.	Cl	6-	H	Me	p-OMe-Ph	Et ₂ O	172-174	84
62.	Cl	6-	H	Me	Ph	Et ₂ O	182-184	61
63.	Cl	6-	H	Me	CH ₂ -Ph	Et ₂ O	188-190	58
64.***	Cl	6-	H	Me	Me	iPrOH/Et ₂ O	195-197	55
65.***	Cl	6-	H	Me	Et	iPrOH/Et ₂ O	188-190	51

5. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	X	Helyzet	R ₁	R ₂	R ₄	Krist./szuszp. oldószer	O.p. (°C)	Hozam (%)
68.***	fumarát	6-	H	Me	Et	iPrOH	146-148	48
69.*	fumarát	6-	H	Me	Et	iPrOH	115-117	35
70.	ezilát	6-	H	Me	Et	EtOAc	109-111	60
71.****	Cl	6-	H	Me	Et	Et ₂ O	161-163	55
72.****	Cl	6-	H	Me	Pr	Et ₂ O	164-166	58
73.**	fumarát	6-	H	Me	Et	iPrOH	114/116	81
74.**	ezilát	6-	H	Me	Et	EtOAc	95-97	82
75.**	1/2 D-tartarát	6-	H	Me	Et	iPrOH	143-145	44
76.*	1/2 D-tartarát	6-	H	Me	Et	iPrOH	143-145	41
77.*	ezilát	6-	H	Me	Et	EtOAc	106-108	93
78.*	Cl	6-	H	Me	Pr	Et ₂ O	126-128	89
79.*	Cl	6-	H	Me	Pr	Et ₂ O	135-137	33
81.	Cl	6-	H	Me	Bu	Et ₂ O	168-170	63
83.	Cl	6-	H	Et	Bu	Et ₂ O	148-150	42

•••
•••
•••
•••
•••
•••

5. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	X	Helyzet	R ₁	R ₂	R ₃	Krist./szuszp. oldószer	O.p. (°C)	Hozam (%)
85.	Cl	6-	H	Et	ciklohexil	Et ₂ O	178-180	56
86.*	Cl	6-	H	Me	Bu	Et ₂ O	86-88	51
87.**	Cl	6-	H	Me	Bu	Et ₂ O	88-89	52

* R-enantiomer

** S-enantiomer

*** szubsztituált propargilszármazékok; az 1. reakcióvázlatban R₃ metilcsoportot jelent.

**** Y: 5-Cl

5a. táblázat

(Ie) általános képletű tiokarbamolloxi-N-propargil-aminoindán vegyületek

A vegyület száma	X	Helyzet	R ₁	R ₂	R ₃	Krist./szuszp. oldószer	O.p. (°C)	Hozam (%)
46.	Cl	6-	H	Me	Me	Et ₂ O	152-154	53
47.	Cl	6-	H	Me	Et	Et ₂ O	193-195	54

6. táblázat

(If) képletű N-propargil-aminotetralin vegyületek

A vegyület száma	Az amino- csoport helyzete	R ₁	R ₂	R ₃	Krist./szuszp. oldószer	O.p. (°C)	Hozam (%)
40.	2-	H	Me	Me	MeOH/Et ₂ O	206-208	66
41.	2-	H	Me	Et	iPrOH/Et ₂ O	208-209	65
42.	1-	H	Me	Me	éter	207-209	57
43.	1-	H	Me	Et	éter	201-203	42

7. táblázat

A 3. táblázatban bemutatott (Ia) általános képletű találmány szerinti vegyületek (mint hidrokloridok)
elemzési adatai

A vegyület száma	NMR ¹				IR	MS (MH ⁺)	Elemenálízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁ , R ₂	R ₃ , R ₄			
1.	7,38, 7,20, 7,10	4,85, 3,10, 2,96, 2,63, 2,14		3,10, 2,96	3446, 2943, 1711, 1487, 1393, 1240	221	számított: 56,14, 6,62, 10,90 talált: 55,90, 6,67, 10,89
2.	7,40, 7,21, 7,10	4,80, 3,10, 2,95, 2,65, 2,15		3,43, 3,27, 3,10, 2,95, 1,70, 1,63, 0,94, 0,90	2970, 2863, 1735, 1608, 1396, 1241	249	számított: 59,05, 7,38, 9,84 talált: 58,75, 7,33, 9,86
2a. (1/2 H ₂ O)	..	..		..		..	számított: 57,23, 7,55, 9,54 talált: 57,54, 7,29, 9,45
4.	7,47, 7,36, 7,09	4,91, 3,25, 3,07, 2,60, 2,25		3,18, 3,03	2950, 1701, 1504, 1396, 1234, 1177		

¹ D₂O, ha csak másképp nem jelöljük.

7. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ¹				IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁ , R ₂	R ₃ , R ₄			
5.	7,44, 7,29, 7,02	4,88, 3,20, 3,14, 2,55, 2,23		3,55, 3,39, 3,14, 2,99, 1,26, 1,18	3446, 2920, 1710, 1472, 1403, 1235	235	számított: 57,70, 7,25, 10,35 talált: 57,38, 6,97, 10,32
6.	7,45, 7,30, 7,02	4,86, 3,20, 3,04, 2,55, 2,23		3,50, 3,32, 3,13, 2,98, 1,70, 1,63, 0,94, 0,90	3448, 2923, 1710, 1485, 1226, 1154	249	számított: 59,05, 7,43, 9,84 talált: 58,78, 7,47, 9,91
7.	7,45, 7,29, 7,17	4,83, 3,17, 3,02, 2,65	3,20, 1,33	3,15, 3,0	2948, 2766, 2680, 1725, 1485, 1386	249	számított: 59,05, 7,38, 9,84 talált: 57,75, 7,40, 9,65
8.	7,43, 7,27, 7,17	4,75, 3,14, 3,03, 2,80, 2,30	2,73	3,13, 2,97	2950, 2722, 1720, 1390, 1160	235	számított: 57,70, 7,02, 10,35 talált: 56,83, 7,09, 10,27
9.	7,52, 7,37, 7,10	4,83, 3,27, 3,10, 2,55, 2,38	2,74	3,19, 3,04	2963, 2710, 1715, 1579, 1472, 1369	235	számított: 57,70, 7,02, 10,35 talált: 57,46, 6,73, 10,36

7. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ¹				IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁ , R ₂	R ₃ , R ₄			
10.	7,44, 7,25, 7,15	4,80, 3,15, 3,03, 2,62, 2,30	2,74	3,55, 3,35, 3,12, 2,98, 1,25, 1,18	2950, 2705, 1720, 1450, 1402		számított: 59,08, 7,38, 9,84 talált: 58,74, 7,51, 9,72
11.	7,42, 7,25, 7,14	4,75, 3,15, 3,10, 2,60, 2,28	2,72	3,45, 3,30, 3,10, 2,95, 1,65, 0,94, 0,88	2963, 2723, 1715, 1465, 1404, 1234		számított: 60,33, 7,70, 9,38 talált: 60,32, 7,75, 9,42
12.	7,43, 7,27, 7,17	4,96, 3,12, 3,05, 2,55, 2,42	2,75	3,10, 2,96	3480, 1718, 1475, 1390, 1237, 1174	249	számított: 59,05, 7,38, 9,84 talált: 58,75, 7,41, 9,84
13. ^a	7,53, 7,29, 7,08	4,71, 2,95, 2,74, 2,45, 2,0	8,75	3,04, 2,9		221	
14. ^a	7,53, 7,3, 7,08	4,71, 2,95, 2,73, 2,48, 2,0	8,7	3,41, 3,3, 3,01, 2,89, 1,18, 1,07		235	

^a DMSO-d₆

7. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ¹				IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁ , R ₂	R ₃ , R ₄			
15.	7,35, 7,23, 7,01	4,83, 3,3, 2,6, 2,16		3,1, 3,06, 2,95, 2,91, 1,6, 1,29, 0,85	2930, 1720, 1471, 1405, 1248	291	számított: 62,47, 8,33, 8,57 talált: 62,54, 8,30, 8,61
16.	7,42, 7,22, 7,12	4,87, 3,16, 3,01, 2,65, 2,17		3,53, 3,39, 3,92, 2,99, 1,26, 1,17		235	
17.	7,42, 7,22, 7,11	4,87, 3,15, 2,95, 2,65, 2,19		4,10, 3,85, 3,00, 2,85, 1,90, 1,40, 1,34, 1,13		289	számított: 62,85, 7,76, 8,63 talált: 62,55, 7,81, 8,33
3.	7,43, 7,20, 7,12	4,86, 3,15, 3,02, 2,64, 2,18		3,51, 3,38, 3,10, 2,95, 1,25, 1,15		235	számított: 55,70, 7,25, 10,35 talált: 57,44, 7,06, 10,38

7. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ¹				IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁ , R ₂	R ₃ , R ₄			
18.	7,43, 7,20, 7,12	4,86, 3,15, 3,02, 2,64, 2,18		3,51, 3,38, 3,10, 2,95, 1,25, 1,15		235	számított: 55,70, 7,25, 10,35 talált: 57,44, 7,06, 10,38
48.	7,41, 7,24, 7,13	4,87, 3,13, 3,0, 2,65, 2,17		3,23, 1,17		221	számított: 56,13, 6,68, 10,91 talált: 56,00, 6,66, 10,81
49.	7,41, 7,24, 7,13	4,87, 3,12, 2,98, 2,65, 2,17		3,17, 1,56, 0,94		235	számított: 57,67, 7,07, 10,35 talált: 57,32, 7,13, 10,31
50.	7,37, 7,16, 7,03	4,80, 3,10, 2,96, 2,61, 2,15		7,40-7,0, 3,82, 3,43, 3,29			számított: 61,98, 6,02, 8,03 talált: 61,16, 6,07, 7,77
66.	7,57, 7,39	4,91, 3,18, 3,05, 2,71, 2,25		3,61, 3,43, 3,20, 3,03, 1,33, 1,23		269, 271	számított: 50,41, 6,02, 9,05 talált: 50,46, 6,11, 8,77

7. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ¹				IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁ , R ₂	R ₃ , R ₄			
67.	7,55, 7,36	4,89, 3,14, 3,02, 2,68, 2,20		3,52, 3,36, 3,18, 3,02, 1,77, 1,67, 0,99, 0,93		283, 285	számított: 52,67, 6,32, 8,78 talált: 52,67, 6,28, 8,48

7a. táblázat

A 3a. táblázatban bemutatott (Ib) általános képletű találmány szerinti vegyületek elemzési adatai

A vegyület száma	NMR ¹				IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N, S)
	aril	indán	R ₁ , R ₂	R ₃ , R ₄			
44.	7,45, 7,20, 7,11	4,87, 3,15, 3,05, 2,65, 2,20		3,44, 3,36	2933, 1714, 1599, 1536, 1488, 1392		számított: 52,83, 8,28, 10,27, 11,75 talált: 51,11, 8,48, 10,23, 12,16
45.	7,45, 7,20, 7,11	4,75, 3,10, 2,97, 2,65, 2,20		3,88, 3,79, 3,39, 3,32, 1,28, 1,25	2934, 1719, 1594, 1522, 1497, 1402		számított: 51,22, 8,94, 9,19, 10,52 talált: 51,04, 7,30, 9,31, 11,24

8. táblázat

A 4. táblázatban bemutatott (Ic) általános képletű találmány szerinti vegyületek elemzési adatai

A vegyület száma	NMR ²				IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	ciklohexil	R ₁ , R ₂	R ₃ , R ₄			
19. (1/2 H ₂ O)	7,22, 6,95	3,69, 3,22, 2,93, 2,87, 2,22, 1,92		3,12, 2,97	3484, 2930, 2362, 1699, 1612, 1500, 1391	235	számított: 55,81, 7,20, 10,02 talált: 55,29, 6,93, 9,71
20. (1/2 H ₂ O)	7,20, 6,94	3,70, 3,19, 2,90, 2,23, 1,90		3,48, 3,35, 3,08, 2,94, 1,20, 1,12		249	számított: 57,23, 7,55, 9,54 talált: 57,50, 7,53, 9,54
21.	7,28, 7,11, 7,06	4,56, 2,87, 2,77, 2,16, 2,05, 1,88		3,10, 2,96		235	számított: 57,70, 7,02, 10,35 talált: 56,97, 6,93, 10,06
22.	7,29, 7,13, 7,07	4,57, 2,88, 2,79, 2,15, 2,05, 1,90		3,52, 3,37, 3,10, 2,97, 1,25, 1,17		249	számított: 59,05, 7,38, 9,84 talált: 58,91, 7,18, 9,99

² D₂O, ha csak másképp nem jelöljük.

9. táblázat

Az 5. táblázatban bemutatott (Id) általános képletű találmány szerinti vegyületek elemzési adatai

A vegyület száma	NMR ³					IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁	propargil	R ₂ , R ₄			
23.	7,46, 7,30, 7,18	5,01, 3,20, 3,15, 2,65, 2,36		4,0, 3,16	3,15, 3,0		259	számított: 61,12, 6,50, 9,51 talált: 60,93, 6,38, 9,47
24.	7,46, 7,30, 7,18	5,01, 3,20, 3,15, 2,65, 2,36		4,0, 3,16	3,15, 3,0	1711, 1482, 1439, 1394, 1192, 1170	259	számított: 54,22, 6,26, 7,91 talált: 53,92, 6,28, 7,84
25.	7,42, 7,27, 7,15	4,97, 3,16, 3,0, 2,62, 2,32		3,97, 3,02	3,52, 3,36, 3,10, 2,97, 1,24, 1,15	1728, 1435, 1404, 1242, 1166	273	számított: 62,23, 6,86, 9,57 talált: 62,42, 6,84, 8,94
25. ^b	7,50, 7,32, 7,10	4,78, 3,10, 2,85, 2,45, 2,28		3,91, 3,74	3,43, 3,32, 3,03, 2,90, 1,20, 1,10	- " -	273	- " -

³ D₂O, hacsak másképp nem jelöljük. ^b: DMSO-d₆

9. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ³					IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁	propargil	R ₂ , R ₃			
26.	7,45, 7,30, 7,17	5,0, 3,16, 3,04, 2,65, 2,33		4,0, 3,03	3,48, 3,32, 3,12, 2,98, 1,72, 1,63, 0,96, 0,92	1725, 1465, 1429, 1403, 1232, 1165	287	számított: 63,25, 7,18, 8,68 talált: 63,13, 7,28, 8,93
27.	7,52, 7,38, 7,10	5,05, 3,26, 3,07, 2,58, 2,40		3,99, 3,21	3,12, 3,03	3200, 1722, 1567, 1434, 1408, 1238	259	számított: 61,12, 6,50, 9,51 talált: 61,01, 6,46, 9,64
28.	7,52, 7,37, 7,07	5,02, 3,27, 3,09, 2,55, 2,38		3,98, 3,10	3,65, 3,42, 3,18, 3,02, 1,75, 0,98, 0,93	3200, 1727, 1566, 1468, 1438, 1406, 1222	287	számított: 63,25, 7,18, 8,68 talált: 63,06, 7,30, 8,37
29.	7,44, 7,30, 7,19	5,20, 3,15, 3,03, 2,57, 2,44	2,80	4,01, 3,13	3,12, 2,97	1729, 1388, 1234, 1165	273	számított: 62,33, 6,80, 9,07 talált: 61,97, 6,80, 8,78

9. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ³					IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁	propargil	R ₂ , R ₃			
31.	7,48, 7,30, 7,23	5,34, 3,20, 3,08, 2,65, 2,50	3,36, 1,37	4,05, 3,12	3,16, 3,01	3180, 1723, 1490, 1440, 1389, 1230, 1160	287	számított: 63,25, 7,18, 8,68 talált: 63,42, 7,09, 8,71
32.	7,58, 7,39, 7,15	5,30, 3,28, 3,08, 2,55	2,78	4,12, 3,23	3,20, 3,02	1712, 1472, 1392, 1238, 1171	273	számított: 62,23, 6,86, 9,07 talált: 62,05, 6,81, 8,87
33.	7,48, 7,32, 7,03	4,96, 2,50, 2,33		3,92, 3,04	3,13, 2,96, 1,24, 1,15	1719, 1426, 1404, 1233, 1154	273	számított: 62,23, 6,86, 9,07 talált: 62,19, 6,77, 9,08
34.	7,48, 7,23	5,07, 3,08, 2,96, 2,65, 2,35		4,05, 3,07	3,29, 3,03	3238, 2907, 2769, 2635, 1714, 1470, 1392, 1240	259	számított: talált:

9. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ³					IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁	propargil	R ₂ , R ₃			
35.	7,48, 7,23	5,07, 3,08, 2,95, 2,65, 2,35		4,05, 3,07	3,56, 3,41, 3,15, 3,01, 1,29, 1,21	3197, 2934, 2565, 2431, 1707, 1445, 1403, 1236	273	számított: talált:
36.	7,45, 7,28, 7,15	4,98, 3,16, 3,03, 2,63, 2,33		3,98, 3,04	3,49, 3,35, 3,11, 2,97, 1,66, 1,33, 0,88			számított: 65,83, 8,01, 7,68 talált: 65,65, 8,11, 7,82
37.	7,44, 7,29, 7,18	4,98, 3,15, 3,01, 2,63, 2,31		3,98, 3,03	3,53, 3,38, 3,12, 2,98, 1,25, 1,16	3275, 2754, 1719, 1445, 1395, 1303	273	számított: 62,23, 6,86, 9,07 talált: 62,30, 6,94, 9,09
38.	7,44, 7,27, 7,16	4,98, 3,14, 3,00, 2,64, 2,33		3,98, 3,04	4,09, 3,85, 3,01, 2,88, 1,90-1,45, 1,35, 1,14	3227, 2936, 2612, 2128, 1711, 1584, 1440, 1401	327	számított: 68,19, 7,50, 7,72 talált: 65,90, 7,63, 7,55

9. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ³					IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁	propargil	R ₃ , R ₄			
39.	7,46, 7,30, 7,19	4,97, 3,17, 3,04, 2,64, 2,32		3,97, 3,03	3,54, 3,39, 3,13, 3,0, 1,27, 1,19	3275, 2933, 2758, 1720, 1445, 1396, 1303	273	számított: 62,23, 6,86, 9,07 talált: 62,27, 6,95, 9,03
54.	7,46, 7,30, 7,19	5,00, 3,17, 3,05, 2,64, 2,33		3,99, 3,05	3,15, 3,0	1711, 1482, 1438, 1395, 1192, 1169	259	számított: 54,17, 6,20, 7,90 talált: 54,18, 6,27, 7,78
55.	7,46, 7,30, 7,19	5,00, 3,17, 3,05, 2,64, 2,33		3,99, 3,05	3,15, 3,0	1711, 1482, 1438, 1395, 1192, 1169	259	számított: 54,17, 6,20, 7,90 talált: 54,07, 6,25, 7,88
56.	7,46, 7,32, 7,20	4,99, 3,17, 3,04, 2,65, 2,33		3,99, 3,05	3,27, 1,20		259	számított: 61,12, 6,50, 9,51 talált: 60,87, 6,47, 9,34

9. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ^a					IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁	propargil	R ₃ , R ₄			
57.	7,47, 7,32, 7,20	4,99, 3,18, 3,05, 2,65, 2,34		3,99, 3,06	3,20, 1,61, 0,98		273	számított: 62,23, 6,86, 9,07 talált: 61,60, 6,93, 9,04
58.	7,47, 7,32, 7,22	5,01, 3,20, 3,08, 2,67, 2,36		4,01, 3,07	3,56, 3,41, 3,14, 3,01, 1,29, 1,21		273	számított: 55,43, 6,52, 7,60 talált: 55,08, 6,52, 7,31
59.	7,47, 7,32, 7,22	5,01, 3,20, 3,08, 2,67, 2,36		4,01, 3,07	3,56, 3,41, 3,14, 3,01, 1,29, 1,21		273	számított: talált:
60.	7,47, 7,32, 7,22	5,01, 3,20, 3,08, 2,67, 2,36		4,01, 3,07	3,56, 3,41, 3,14, 3,01, 1,29, 1,21		273	számított: 55,43, 6,52, 7,60 talált: 55,21, 6,64, 7,40
61.	7,40-7,0	4,96, 3,10, 2,97, 2,57, 2,30		3,96, 3,90, 3,03	7,40-7,0, 3,81		351	számított: 65,20, 5,95, 7,24 talált: 64,72, 6,04, 6,81

9. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ³					IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁	propargil	R ₃ , R ₄			
62.	7,60-7,10	4,96, 3,15, 3,00, 2,61, 2,34		3,98, 3,07	7,60-7,10, 3,42		321	számított: 67,32, 5,89, 7,85 talált: 67,22, 6,00, 7,54
63.	7,55-7,10	4,97, 3,17, 3,00, 2,64, 2,36, 2,36		3,99, 3,07	7,55-7,10, 4,73, 4,59, 3,14, 3,05		335	számított: 67,47, 6,20, 7,55 talált: 67,75, 6,32, 7,47
64.	7,48, 7,35, 7,21	5,16, 5,12, 3,20, 3,05, 2,70, 2,35		4,44, 4,27, 3,17, 1,68, 1,63	3,17, 3,03		273	számított: 62,23, 6,86, 9,07 talált: 62,22, 6,86, 8,96
65.	7,44, 7,36, 7,27, 7,19	5,15, 5,09, 3,20, 3,02, 2,65, 2,32		4,43, 4,25, 3,25, 3,17, 1,67, 1,61	3,55, 3,39, 3,13, 3,00, 1,27, 1,19			számított: 63,25, 7,18, 8,68 talált: 63,15, 7,15, 8,31
71.	7,60, 7,44	5,02, 3,20, 3,06, 2,68, 2,36		4,02, 3,07	3,60, 3,43, 3,20, 3,02, 1,33, 1,23		307, 309	számított: 55,98, 5,87, 8,16 talált: 55,72, 5,88, 8,11

9. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ³					IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁	propargil	R ₃ , R ₄			
72.	7,59, 7,44	5,01, 3,20, 3,06, 2,68, 2,38		4,03, 3,07	3,53, 3,36, 3,20, 3,02, 1,79, 1,68, 1,01, 0,95		321, 323	számított: 57,15, 6,21, 7,84 talált: 57,05, 6,21, 7,81
76.	7,47, 7,31, 7,20	5,00, 3,20, 3,06, 2,66, 2,35		4,00, 3,07	3,56, 3,40, 3,16, 3,00, 1,28, 1,20	3286, 2972, 1724, 1637, 1400, 1308, 1233	273	számított: 62,17, 6,62, 8,05 talált: 62,31, 6,66, 7,94
81.	7,48, 7,31, 7,20	5,00, 3,20, 3,07, 2,66, 2,35		4,01, 3,07	3,53, 3,38, 3,14, 3,01, 1,65, 1,39, 0,97			számított: 64,19, 7,42, 8,32 talált: 63,99, 7,42, 8,04
83.	7,47, 7,31, 7,19	5,00, 3,19, 3,04, 2,66, 2,34		4,01, 3,07	3,52, 3,38, 1,68, 1,40, 1,29, 1,22, 0,98		315	számított: 65,04, 7,70, 7,98 talált: 64,75, 7,72, 7,94

9. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	NMR ¹					IR	MS (M ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	indán	R ₁	propargil	R ₂ , R ₃			
85.	7,47, 7,31, 7,19	5,00, 3,19, 3,02, 2,63, 2,34		4,01, 3,07, 1,85, 1,66, 1,23	3,84, 3,42		341	számított: 66,33, 7,70, 7,43 talált: 66,75, 7,69, 7,36

9a. táblázat

Az 5a. táblázatban bemutatott (le) általános képletű találmány szerinti vegyületek elemzési adatai

A vegyület száma	NMR (D ₂ O)				IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N, S)
	aril	indán	propargil	R ₃ , R ₄			
46.	7,48, 7,29, 7,16	5,02, 3,19, 3,05, 2,67, 2,37	4,0, 3,07	3,48, 3,41			számított: 57,97, 6,11, 9,01, 10,30 talált: 58,07, 6,06, 8,85, 10,23
47.	7,50, 7,31, 7,19	5,04, 3,21, 3,07, 2,70, 2,38	4,20, 3,09	3,95, 3,87, 3,45, 3,38, 1,35, 1,32			számított: 59,16, 6,47, 8,62, 9,86 talált: 59,23, 6,39, 8,52, 9,76

10. táblázat

A 6. táblázatban bemutatott (If) általános képletű találmány szerinti vegyületek elemzési adatai

A vegyület száma	NMR ⁴					IR	MS (MH ⁺)	Elemanalízis (C, H, N)
	aril	ciklohexil	R ₁	propargil	R ₃ , R ₄			
40.								számított: talált:
41.	7,22, 6,95	3,79, 3,26, 2,95, 2,32, 1,91		4,06, 3,01	3,50, 3,36, 3,09, 2,96, 1,24, 1,16	3227, 2938, 2768, 1713, 1587, 1474, 1394, 1301	287	számított: 63,25, 7,18, 8,68 talált: 63,16, 6,93, 8,69
42.	7,21, 7,03	4,60, 2,81, 2,72, 2,15, 2,02, 1,84, 1,80		3,88, 2,95	3,01, 2,87	3234, 2936, 2774, 2130, 1732, 1497, 1390	273	számított: 62,23, 6,80, 9,07 talált: 62,20, 7,01, 9,3
43.	7,32, 7,12	4,65, 2,88, 2,80, 2,20, 2,12, 1,94, 1,85		3,99, 3,04	3,51, 3,37, 3,10, 2,96, 1,23, 1,16	3216, 2933, 2768, 2663, 2129, 1723, 1425, 1399	287	számított: 63,06, 7,41, 8,65 talált: 63,2, 7,14, 8,81

⁴ D₂O, ha csak másképp nem jelöljük.

Biológiai példák

1. példa

Acetilcolin-észteráz gátlása egereken

1.1. Az acetilcolin-észteráz (AChE) gátlásának mérése in vitro körülmények között

Az emberi eritrocitából származó acetilcolin-észteráz (XIII. típus, Sigma cég, Izrael) készítményt 1U/ml koncentrációjú törzsoldatban készítettük, amely 1 % Tritont és 0,05 % szarvasmarha-szérumalbumint tartalmazott 8 pH-értékű foszfátpufferoldatban. Az enzimet 0,05 U mennyiségben a vizsgálati vegyület 3-5 különböző koncentrációjával (három ismételtesben) 37 °C hőmérsékleten 15-60 percig inkubáltuk. Ezt követően hozzáadtuk az acetiltiokolint (0,075 moláris koncentrációban) és az 5,5'-ditiobisz(2-nitrobenzoesav)-at (DTNB, 0,01 moláris koncentrációban); és a szubsztrátum hidrolízisét - amely egy sárga terméket eredményez - 412 nm hullámhosszon spektrofotometriásan monitoroztuk [Ellman és munkatársai: Biochem. Pharmacol., 7, 88-95 (1961)]. Az AChE gátlásának százalékos értékét a gyógyszer-hatóanyag minden egyes koncentrációjára úgy számítottuk ki, hogy összehasonlítottuk az enzim gátlásának százalékos értékével a hatóanyag távollétében. Továbbá kiszámítottuk minden egyes hatóanyag azon koncentrációját, amely az AChE-t 50 %-kal gátolja (ez az IC_{50} érték) az aktivitás csúcserékének az időpontjában; ezeket az értékeket az alábbi 11. táblázatban adjuk meg.

1.2. Az acetilkolin-észteráz (AChE) gátlásának mérése ex vivo körülmények között

A vizsgálati hatóanyagokat vagy konyhasóoldatokat szubkután úton adagoltuk hím egereknek (Sabra törzs, testtömegük 28-35 g). Dózisonként 4-5 egeret alkalmaztunk, és hatóanyagként legalább 3 dózist teszteltünk. Az egereket a hatóanyag adagolása után 15, 30, 60, 70, 90, 120, illetve 180 perccel leöltük, agyvelejüket gyorsan eltávolítottuk (a cerebellum kivételével), megmértük és 0,1 moláris, 8,0 pH értékű, 1 mg/100 g szövetet tartalmazó Triton oldatban homogenizáltuk, majd a sejttöredékek eltávolítása céljából centrifugáltuk. A felülúszó 25 µl térfogat alikvot részleteit acetiltiokolinnal és DTNB-val inkubáltuk. Az AChE aktivitását a fentebb leírtak szerint mértük. A teljes agy AChE gátlásának százalékos értékét minden egyes hatóanyagdózisra vonatkozóan úgy számítottuk ki, hogy összehasonlítottuk 3 konyhasóoldattal kezelt, azonos időpontban alkalmazott egér enzimaktivitásával. Kiszámítottuk minden egyes hatóanyagnak azt a dózist, amely a csúcsaktivitás időpontjában az AChE-t 50 %-kal gátolta (ED_{50} érték), ezeket az értékeket a 11. táblázatban adjuk meg.

1.3. Az akut toxicitás egéren

A hatóanyagokat legalább 3 dózisban, dózisonként legalább 10 egérnek adagoltuk szubkután úton. Minden egyes hatóanyagra vonatkozóan kiszámítottuk azt a dózist, amely az egerek 50 %-ában adagolás után 6 órával halálosnak adódott. Ezen értékeket a 11. táblázatban adjuk meg. A terápiás indexet úgy számítottuk, hogy az acetilkolin-észteráz gátlásának LD_{50} értékét az ED_{50} értékével (ex vivo körülmények között) osztottuk.

2. példa

2.1. A MAO aktivitás gátlása in vitro körülmények között

A MAO enzim forrásaként patkányagy 0,3 moláris szacharózoldattal készített homogenátumát alkalmaztuk, amelyet 600 x g sebességgel 15 percig centrifugáltunk. A felülúszót megfelelő módon 0,05 moláris foszfátpufferrel hígítottuk, majd a vizsgálati vegyületek sorozathígításával 20 percig 37 °C hőmérsékleten előinkubáltuk. Ezt követően a ^{14}C -jelzett szubsztrátumokat (2-feniletíl-amin, a továbbiakban: PEA; 5-hidroxitriptamin, a következőkben: 5-HT) hozzáadtuk, és az inkubálást még 20 percig (PEA) vagy 30-45 percig (5-HT) folytattuk. A PEA szubsztrátum koncentrációja 50 μM , az 5-HT szubsztrátum koncentrációja 1 mM volt. A PEA esetében az enzim koncentrációját úgy választottuk, hogy a reakció folyamán a szubsztrátumnak legfeljebb 10 %-a metabolizált. A dezaminált termékeket toluol és etil-acetát 1:1 térfogat%-os oldatával extraháltuk, amely 0,6 tömeg/térf.% 2,5-difenil-oxazolt (ppo) tartalmazott, majd a meghatározást folyadékszintillációs számlálással végeztük. Az eluátumban a megfigyelt radioaktivitás arra utal, hogy a MAO aktivitásának eredményeként neutrális és savas metabolitok képződtek. A MAO aktivitását a mintában a gátló anyagok hiányában észlelt kontroll-aktivitás százalékos értékében fejeztük ki a megfelelő blank (vak értékek) levonása után. A szubsztrátumként PEA alkalmazásával meghatározott aktivitást MAO-B aktivitásnak, az 5-HT alkalmazásával meghatározott aktivitást MAO-A aktivitásnak nevezzük.

A szubsztrátum metabolizmusa 50 %-os gátlását előidéző gátló koncentrációkat (IC_{50} értékeket) a gátlási görbékből számítottuk ki. Ezek eredményeit a 11. táblázatban mutatjuk be.

2.2. A MAO aktivitás gátlása ex vivo körülmények között

45-50 g testtömegű hím Sabra egerekbe a vizsgálati vegyület 0,9 %-os konyhasóoldattal készült oldatait fecskendeztük. Minden egyes dózist két vagy három egérnek adagoltunk. A hatóanyag adagolása után 2 órával, vagy az AChE csúcsértékű gátlásának időpontjában (lásd a 11. táblázatot) az egereket megöltük; az állatok agyvelejét és máját gyorsan kímetszettük, és megfelelő fiolákban jégen tároltuk. A szöveteket mértük, 1/20 arányra hígítottuk 0,23 moláris szacharózoldatban, és a fentebb leírt MAO mérés elvégzéséig -20 °C hőmérsékleten tároltuk. A 11. táblázatban feltüntetett eredmények csupán az agyszöveten végzett mérésekre vonatkoznak.

2.3. A MAO aktivitásának gátlása patkányokon szubkután adagolás után

A kísérleteket Sprague-Dawley hím patkányokon végeztük a 2.1. és 2.2. példában leírt módon, azonban a hatóanyag adagolását naponta 14 napon át folytattuk. Ennek a periódusnak a végén az állatokat leöltük, és a MAO koncentrációit az agyban, májban és belekben meghatároztuk.

A 24., 37. és 39. vegyületeket szubkután és/vagy orális úton adagoltuk 6 mg/kg dózisban (szubkután), illetve 10 mg/kg dózisban (orálisan) a 24. vegyület esetében; 25, illetve 50 mg/kg dózisban a 25. vegyület esetében; 45 mg/kg dózisban a 37. vegyület esetében; valamint 40 mg/kg dózisban a 39. vegyület esetében. Az eredményeket a 11a. táblázatban összegeztük; ezen eredményekből kitűnik, hogy ezek a vegyületek a MAO enzim szubtípusainak a gátlásában szelektivitást mutatnak: az agyi MAO enzimet a perifériás enzimmel szemben erősen gátolják.

11. táblázat

A vegyület száma	AChE gátlása		Idő		MAO-B gátlása		MAO-A gátlása		Akut toxicitás	
	in vitro	ex vivo	A csúcs- aktivitásig	Csúcsaktivitás 50 %-ig való visszatérés	in vitro	ex vivo	in vitro	ex vivo		
	IC ₅₀ μM	ED ₅₀ μmol/kg (AC)	t (perc)		IC ₅₀ μM	ED ₅₀ μmol/kg (AC)	IC ₅₀ μM	ED ₅₀ μmol/kg (AC)	LD ₅₀ μmol/kg	Terápiás index (LD/AC)
1.	0,6	5,0	30	>120	>1000	>>80	75	>>80	83,8	16,8
23.	3,5	22,4	15	70	600	100	800	>120	255	11,4
2.	7,3	nt			>1000		32			
3.	20,0	46,3	60-90	>180	>1000		12,6		950	20,6
25.	53,0	140,0	60	>180	>1000	200	270	>>350	1400	10,8
26.	17,0	120	30-60		264	333	114	>>440	1200	9
27.	5,72	30	15	>60	>1000	>>160	>1000	>>160	300	10
28.	100,0	NT								
5.	11,5	85,0	60	>120		>>277		>>277	840	9,9
7.	32,0	NT			>1000		600			
8.	1,0	10,0	15-30	>60	>1000	>>50	50	>>50	87	8,7
9.	0,18	1,9	15						93	4,9
29.	8,5	53,7	15	>60	40	30	40	50	500	9,3
10.	38,0	34,7	60-90	>180	>1000	>175	22	>175	740	21,3
30.	1300,0	NT								
31.	10,0	110			>1000	>100	>1000	>100		
32.	3,7	7,8	15		500	>>20	190	>>20	68	9,0
12.	2,0	8,0	15		>1000		130		<20	<2,5
33.	540,0	NT			>1000	1000	>1000	>>1200		
34.	0,046	0,65	30		100		0,5		3,7	5,7
35.	2,2	1,0	60		100		<1		33	3,3

11. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	AChE gátlása		Idő		MAO-B gátlása		MAO-A gátlása		Akut toxicitás	
	in vitro	ex vivo	A csúcs- aktivitásig	Csúcsaktivitás 50 %-ig való visszatérés	in vitro	ex vivo	in vitro	ex vivo		
	IC ₅₀ μM	ED ₅₀ μmol/kg (AC)	t (perc)		IC ₅₀ μM	ED ₅₀ μmol/kg (AC)	IC ₅₀ μM	ED ₅₀ μmol/kg (AC)	LD ₅₀ μmol/kg	Terápiás index (LD/AC)
37.	51	125			500	200	750	>200	1700	13,6
39.	36	80	30-60	>180	1000	>>200	550	>>200	1150	14,4
24.	3	16,6	15		750	100	850	>120	179	10,8
60.	42									
58.	51				>1000		300			
54.	1,8					>100		>100		
55.	2					>100		>100		
56.	11,5	180								
57.	2,4	70			25		69			
48.	10									
49.	2									
17.	4									
16.	9									
50	0,26									
61.	0,75	47			500	>100	700	>100		
64.	1,0	13,2			>1000	>120	1000	>120	150	11,4
38.	33	>1000			10	>400	170	>400		
36.	15	>400			>1000	>100	>1000	>100	>1000	
62.	0,57	290	60		100	>>200	80	>>200		

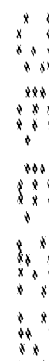
11. táblázat (folytatás)

A vegyület száma	AChE gátlása		Idő		MAO-B gátlása		MAO-A gátlása		Akut toxicitás	
	in vitro	ex vivo	A csúcs- aktivitásig	Csúcsaktivitás 50 %-ig való visszatérés	in vitro	ex vivo	in vitro	ex vivo		
	IC ₅₀ μM	ED ₅₀ μmol/kg (AC)	t (perc)		IC ₅₀ μM	ED ₅₀ μmol/kg (AC)	IC ₅₀ μM	ED ₅₀ μmol/kg (AC)	LD ₅₀ μmol/kg	Terápiás index (LD/AC)
63.	2,5	140	80-90		120	>300	40	>300	1300	9,3
71.	29	>100				130		>100		
72.	38	>200				>100		>100		
78.	10	101	80-90	>120		450		>>450	1300	12,9
79.	9,4	94	90	>180		>>450		>>450	1000	10,6
81.	11,5	40	90	>120		>>100		>>100	920	23
83.	80									
86.	10,5									
87.	9,1									
85.	17	>100								

11a. táblázat

A 24., 25., 37. és 39. vegyületek hatása a MAO aktivitásra patkányokon krónikus szubakut kezelés után

		MAO-A gátlásának %-os értéke					MAO-B gátlásának %-os értéke				
Vegyület		24.	25.		37.	39.	24.	25.		37.	39.
Dózis (mg/kg)		6 (s.c.) 10 (p.o.)	25	50	45	40	25	25	50	45	40
Szerv	Adagolás										
Agy	s.c.	30	53	75	78	17	50	61	85	87	27
	p.o.	1		70	67		20		80	82	
Bél	s.c.	0	0	30	0	0	0	29	45	26	40
	p.o.	30		25	0		20		30	21	
Máj	s.c.	0	0	10	0	0	0	14	40	29	0
	p.o.	10		25	28		0		35	28	



3. példa

A hatóanyaggal végzett kezelés hatása zárt koponyasérülés (CHI) után egereken

A zárt koponyasérülést követő eljárásként Shohami és munkatársai által leírt módszert [J. Neurotrauma 10, 109-119 (1993), 109-119 (1993)] követtük, az alább leírt változtatásokkal.

Állatokként him Sabra egereket alkalmaztunk (testtömegük 14 - 40 g, a Hebrew University-ből származó törzs). Az egereket ketrecenként tízes csoportokban helyeztük el 14 órás/14 órás fény/sötétség ciklusokkal. Az állatok táplálékot és vizet tetszés szerint fogyaszthattak.

A traumát éteres érzéstelenítés után idéztük el. A koponyát fedő bőrön hosszanti bemetszést tettünk, és a bőrt a koponya felfedése céljából széthúztuk. A fejet kézzel rögzítettük a terhelő berendezés alsó síkján. A baloldali koponya-féltekére a középvonaltól 1-2 mm távolságra oldalsó irányban a középkoronás síkban elektromos eszközzel, 3 cm magasságból 333 g tömeget ejtettünk. A vizsgálati vegyületeket szubkután úton, az acetilkolin-észteráz gátlása ED₅₀ értékének megfelelő dózisban a CHI után 15 perccel fecskendeztük be.

3.1. A motoros (mozgatósi) működés kiértékelése

A károsított egereken a motoros működést és a reflexeket a zárt koponyasérülés (CHI) után különböző időpontokban értékeltük egy neurológiai súlyossági skálával (NSS), amint ez a 12. táblázatból látható [a patkányra vonatkozó közlés módosításával dolgoztunk; [lásd: Shohami és munkatársai fentebb idézett közleményét]. Egy pontot adtunk egy vizsgált reflex hiá-

nyáért, vagy egy, a táblázatban feltüntetett feladat végrehajtásának hiányáért. A maximális pontszám, amely a CHI után 1 órával elérhető, 25 pont, majd a későbbi időpontokban 21 pont. Az NSS-ban fennálló különbség 1 óránál - és bármilyen más időpontban - tükrözi a gyógyulást, ezt a különbséget Δ NSS-nek nevezzük. Egy 15-19 értékű NSS pontszám 1 óránál súlyos károsodást jelez; 11-14 pontszám mérsékelt károsodást jelez; és 10-nél alacsonyabb pontszám enyhe károsodásra utal. A vizsgálati vegyülettel vagy kontrollanyaggal végzett kezelés után kapott NSS értéket a 13. táblázatban mutatjuk be.

12. táblázat

Neurológiai súlyossági skála egereken zárt koponyasérülés után

Paraméterek	Pontszámok 1 óránál	Pontszámok bármilyen más időpontban
Képtelenség egy kör elhagyására (amelynek átmérője 30 cm), ha a középpontjában hagyjuk: 30 percig 60 percig 60 percnél hosszabb időn át	 1 1 1	 1
A tájékozódási reflex elvesztése 10 másodpercig 20 másodpercig több, mint 30 másodpercig	 1 1 1	 1
Hemiplégia: az egér a helyzetében kikényszerített változásoknak ellenállni nem képes	1	1

12. táblázat (folytatás)

Paraméterek	Pontszámok 1 óránál	Pontszámok bármilyen más időpontban
A hátsó végtag elfordulása, ha farkánál fogva felemeljük	1	1
Egyenes járásra képtelen, ha talajra helyezzük	1	1
Reflexek:		
fülkagyló-reflex	1	1
szaruhártya-reflex	1	1
riasztási reflex	1	1
Klinikai fokozat:		
a kereső viselkedés elvesztése	1	1
ernyedtség	1	1
Reflexvesztés:		
bal elülső végtag	1	1
jobb elülső végtag	1	1
bal hátsó végtag	1	1
jobb hátsó végtag	1	1
Funkciós vizsgálat:		
sugármalábon belüli egyensúlyozási feladat (0,5 cm szélességben)		
20 másodpercig	1	1
20 másodpercig	1	1
60 másodpercnél tovább	1	1
Kudarcc a kerek rúdon végzett egyensúlyozásban (0,5 cm rúdátmérővel)		
10 másodpercig	1	1

12. táblázat (folytatás)

Paraméterek	Pontszámok 1 óránál	Pontszámok bármilyen más időpontban
A sugáryalábban végzett járás kudarca		
3 cm szélességű sugárban	1	1
2 cm szélességű sugárban	1	1
1 cm szélességű sugárban	1	1
Maximális pontszám	25	21

Eredmények

A motoros funkció kiértékelése

13. táblázat

A neurológiai súlyosság pontszámának változása egereken,
zárt koponyasérülés után

Hatóanyag/ dózis	N állatszám	Δ NSS, 24 órával CHI után	Δ NSS, 7 nappal CHI után	Δ NSS, 14 nappal CHI után
Konyhasóoldat, 1 ml/kg	51	4,75 $\pm$ 0,17	5,83 $\pm$ 0,36	5,96 $\pm$ 0,4
1. (1,3 mg/kg)	10	5,50 $\pm$ 0,34*	7,31 $\pm$ 0,42*	9,21 $\pm$ 0,47
24. (6,5 mg/kg)	12	6,11 $\pm$ 0,23*	8,67 $\pm$ 0,41*	9,67 $\pm$ 0,66*
25. (46 mg/kg)	10	5,00 $\pm$ 0,42	7,42 $\pm$ 0,62*	9,01 $\pm$ 0,69*
10. (15 mg/kg)	11	5,36 $\pm$ 0,39	6,64 $\pm$ 0,41*	6,73 $\pm$ 0,52
37. (30 mg/kg)	12	5,50 $\pm$ 0,26	6,92 $\pm$ 0,38	8,25 $\pm$ 0,62
39. (30 mg/kg)	14	5,36 $\pm$ 0,25	6,71 $\pm$ 0,45	7,64 $\pm$ 0,48

1. CHI előtt 60 perccel adagoltuk;

* szignifikánsan különböző a kontroll konyhasóoldattól ($p < 0,05$).

3.2. A referencia-emiékezet kiértékelése

Morris-féle vízlabirintus teszt: a vízlabirintus körkörös alu-míniummedencéből áll, amelynek átmérője 1 m, mélysége 60 cm, és 17,5 cm mélységben vízzel töltött. A rejtett célemelvéný egy üvegemelvéný (amelynek átmérője 15 cm, magassága 16,5 cm) a medence rögzített helyén, 1 cm-re a vízfélület alatt. A víz hőmérsékletét 24 °C-on tartjuk, és a medencét mindig azonos helyzetben helyezzük el a szobában azonos, a célón kívüli uta-sításokra. A CHI előtt (amint azt a fenti 3. példában leírtuk) az egereket öt egymást követő napon át naponta háromszor trení-roztuk egy alapszintű teljesítméný elérésére, amelyet az emel-véný megtalálására szükséges látenciaidővel mértünk azonos starthelyzetből. A CHI utáni 24. órától kezdve az egereket 2 héten át, naponta 3 próbában ismételtén teszteltük.

Az 1., 2. és 3. ábrák mutatják a latencia csökkenését olyan egereken, amelyeket a CHI után 24. vegýűlettel (6,5 mg/kg dó-zisban), 25. vegýűlettel (46 mg/kg dózisban), 1. vegýűlettel (1,3 mg/kg dózisban), 10. vegýűlettel (15 mg/kg dózisban), 37. ve-gýűlettel (30 mg/kg dózisban), illetve 39. vegýűlettel (30 mg/kg dózisban) kezeltünk összehasonlítva a konyhasóoldattal kezelt kontrollokkal.

4. példa

Hipobár hipoxiás epizódon átesett egereken kifejtett ha-tás

A hipobár hipoxia általánosan elfogadott olyan vegýűletek aktivitásának a kiértékelésére, amelyekről feltételezik, hogy neuroprotektív hatással rendelkeznek. A modell M. Nakanishi és munkatársai közlésén alapul [Life Sci., 13, 467 (1973); valamint

Oshiro és munkatársai: J. Med. Chem., 34, 2004-2013 (1991); továbbá a 4 788 130 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás].

12 literes exszikkátort (A exszikkátor) és egy 2,5 literes exszikkátort (B exszikkátor) egymástól elkülönítetten vákuumszivattyúval kapcsolunk össze. A B exszikkátort lekapcsoljuk, és hagyjuk a szobalevegővel egyensúlyba jutni, míg a B exszikkátort 13,3 kPa nyomásig evakuáljuk. Négy hím ICR albino egeret (22-28 g testtömegűek) helyezünk a B exszikkátorba, majd a B exszikkátort a szobalevegőtől elzárjuk, és az A exszikkátorhoz kapcsoljuk. A nyomást a B exszikkátoron belül higanyos manométerrel monitorozzuk, és amikor a B exszikkátorban a nyomás elérte a 127 kPa-t (általában 14 másodpercen belül), akkor a két exszikkátort a vákuumszivattyúról lekapcsoljuk, és a szivattyút kikapcsoljuk. Minden egyes egér esetében feljegyezzük az időtartamot a hipoxia kezdetének idejétől kezdve a légzés megszűntének időpontjáig, maximum 15 percig az után, hogy a szobalevegőt a B exszikkátorba ismét bevezetjük. A túlélő egeren a letargia vagy a vitalitás jeleit monitorozzuk.

A hatóanyaggal végzett kezelés hatását úgy értékeltük, mint a hatóanyaggal kezelt csoport túlélési idejét a konyhasó befecskendezésével vagy vivőanyag befecskendezésével kezelt kontrollcsoport túlélési idejéhez képest. A kontrollcsoportokat kétszer vizsgáltuk, minden egyes kísérleti csoport előtt és után; ez a csoport 8 egérből állt, 4 egeret tartalmazó csoportokban az oxigén állandó maradéktérfogatának biztosítására az összes próbákban. A vizsgálati hatóanyag minden egyes dózisának a hatását két ismétlésben, azaz két, 4 egeret tartalmazó csoport-

ban vizsgáltuk. A kontrollegerek túlélési ideje 108-180 másodpercet tett ki.

Pozitív összehasonlító hatóanyagként pentobarbitál-nátriumot alkalmaztunk 40 mg/kg dózisban, valamint diazepamot 10 mg/kg dózisban, amelyeket a hipoxia előtt 0,5 órával adagoltunk; fiziosztigmint 0,2 és 0,4 mg/kg adagban, valamint neosztigmint 0,2 mg/kg adagban, szubkután úton, a hipoxia előtt 30 perccel adtunk. A fiziosztigmin előtt 10 perccel szubkután úton 1 mg/kg metil-atropint adagoltunk.

A vizsgálati hatóanyagokat 0,9 %-os konyhasóoldatban oldottuk, és szubkután úton fecskendeztük be a nyaknak a hajlataiba a testtömeggel összhangban álló dózisban, a hipoxia előtt 60-90 perccel. Az injekció térfogata egerenként 0,2 - 0,3 ml (10 ml/kg). A kezdeti dózis az acetilkolin-észteráz gátlására vonatkozó, közölt LD₅₀ értékének harmada volt. Ha a védelem nem valósult meg, akkor a dózist a legközelebbi, nemtoxikus dózissig növeltük. Védőhatás esetében a dózist csökkentettük, a "védő" dózistartomány helyének a kijelölésére. A 14. táblázatban mutatjuk be a túlélési idők százalékos értékét a konyhasóval kezelt kontrollokhoz képest.

14. táblázat

Hipobár epizódon átesett egerek túlélési ideje

A vegyület	Dózis mg/kg	A dózis idő- pontja (perc a hipoxia előtt)	Védelem (a kont- roll %-a)	p
Kontroll (kony- hasóoldat)			100	

14. táblázat (folytatás)

A vegyület	Dózis mg/kg	A dózis idő- pontja (perc a hipoxia előtt)	Védelem (a kont- roll %-a)	p
Nembutál	40	30	253±200	<0,005
Diazepám	10	30	316±78	<0,003
Neosztigmin	0,2	30	141±32	<0,01
Fizosztigmin	0,2	30	453±222	<0,001
	0,4	30	552±210	<0,001
Fizosztigmin és Atropin metil- -nitrát	0,4	30	296±193	<0,05
	1,0	40		
1.	8	60	637±116	0,007
	4	60	470±200	0,001
	2	60	120±51	NS
24.	50	60	738±00	<0,001
	21	60	269±166	<0,02
25.	100	60	761±91	0,001
	75	60	559±225	0,001
	50	60	380±231	0,01
	25	60	84±35	NS
27.	50	60	455±23	<0,001
	3	60	287±119	<0,001
	15	60	143±56	<0,05
	8	60	119±45	NS
29.	77	60	508±206	<0,001
	51	60	638±10	<0,001
	25	60	131±56	NS
	25	30	271±183	<0,02

14. táblázat (folytatás)

A vegyület	Dózis mg/kg	A dózis idő- pontja (perc a hipoxia előtt)	Védelem (a kont- roll %-a)	p
10.	50	90	705±101	0,001
	25	90	700±201	0,001
	10	90	304±129	0,001
12.	20	60	725±128	<0,001
	15	60	649±221	<0,001
	10	60	386±238	<0,01
	7	60	248±97	<0,001

5. példa

A neurológiai skála (pontszám) és az agyi infarktus mérete hím Wistar patkányokon a középső agyi artéria elzárására (MCA-O) után

A Tamura és munkatársai közleményében leírt eljárás [A. Tamura és munkatársai: J. Cereb. Blood Flow and Metab., 1, 53-60 (1981)] módosítását alkalmaztuk. 300-400 g testtömegű, hím Wistar patkányokat Equitesine-val érzéstelenítettünk (amelyet 3 ml/kg dózisban intraperitoneálisan adagoltunk). Az Equitesine összetétele: 13,5 ml pentotál-nátrium oldat (amelynek koncentrációja 60 mg/ml); 3,5 g klorál-hidrát; 1,75 g MgSO₄, 33 ml propilénlikol; 8,3 ml absz. alkohol; 83 ml feltöltve desztillált vízzel.

A műtétet nagy nagyítású operáló mikroszkóppal végeztük (SMZ.28 modell, Type 102 (gyártó cége a Nikon, Japán). A baloldali középagyú artéria exponálása céljából a halántéki izom-

zatban bemetszést tettünk. Az állkapocs koszorúnyúlványának a csúcsát egy finom csontfogóval kimetszettük, és eltávolítottuk. A koponya fúrását fogorvosi fúróval végeztük a középső fal és az alsó halántéki üreg tetőzése között.

A kemény agyhártyát gondosan megnyitottuk egy 27 gauge méretű tűvel. A középső agyi artériát (röviden: MCA) maradóan zártuk mikrobipoláris alvasztás útján - csekély energia-bevezetéssel kezdve - 2-3 mm-rel mediálisan a szaglócsatornához képest annak az orrkörnyéki agykéreghez, valamint az oldalsó striatális artériákhoz vezető kérgi (kortikális) elágazás között. Koaguláció után az MCA-t mikroczipeszekkel súlyosbítottuk, és osztottuk, a teljes elzárás biztosítására. Ezt követően a halántéki izmot varrással rögzítettük, és a koponyametszés helyén át fektettük. A bőrt 3-0 méretű selyemvarrattal zártuk. Egy koponyametszéses álműtétet végeztünk patkányok párhuzamos csoportjával, azonban az MCA kauterezés nélkül.

A sebészi beavatkozás alatt (20-25 perc) végig, mindkét csoportban a testhőmérsékletet 37-38 °C hőmérsékleten tartottuk egy testhőmérséklet-szabályzóval (Kyoritsu, Japán), amely egy végbélben elhelyezett termisztorhoz kapcsolt melegítőeszközből (önműködő) állt. A sebészi beavatkozás után 24 és 48 órával neurológiai pontszámot állapítottunk meg, úgy, hogy a hatóanyaggal kezelt patkányokban a károsodás súlyosságát kiértékeljük a kezeletlen kontrollokhoz képest.

A hatóanyagokat szubkután befecskendezéssel adagoltuk az alábbi adagolási rend szerint:

24. vegyület: 7,8 mg/kg 15 perccel az MCA-O előtt; majd 6,5 mg/kg 2 órával MCA-O után;

25. vegyület: 43 mg/kg 90 perccel az MCA-O előtt; és 30 mg/kg 3 órával MCA-O után.

A permanens elzárás által előidézett iszkémia után 48 órával az állatokat Equitesine-val érzéstelenítettük, és az infarktus térfogatát mértük az alábbiak szerint: TTC (2,3,5-trifenil-tetrazólium-klorid) festéssel. A TTC reagenst 10 %-os koncentrációban konyhasóoldattal készítettük közvetlenül használat előtt, és az alumíniumfóliás burkolattal védtük a fénybehatástól. Az MCA-O-s patkányokat mély altatásnak vetettük alá, és 23 gauge méretű tűt (kinyúló csővel), valamint 20 ml térfogatú fecskendőt vezettünk be a kamrába mellkasfelmetzés útján. A jobb pitvart a konyhasóoldat kifolytatása céljából bemetszettük. 50 NE heparint tartalmazó konyhasóoldatot adagolunk, amíg a perfuzátum vértelenné nem vált. A konyhasóoldatos fecskendőt 30 ml térfogatú TTC-vel töltött fecskendőre cseréltük, és a bal kamrába 5 ml/perc sebességgel TTC-t fecskendeztünk. Mindkét perfuzátum oldatot 37,5 °C hőmérsékleten adagoltuk. Az agyvelőket eltávolítottuk, és 20 ml 1 %-os TTC-be merítettük szorosan zárt üvegfiolákban. Ezeket azután 2 órán át 37 °C hőmérsékletű vízfürdőben tartottuk. A TTC oldatot dekantáltuk, az agyvelőket eltávolítottuk, szárazra töröltük, és 10 %-os, puffertolt formalinoldatba helyeztük 3 napig. Hat, egyenként 2 mm vastagságú koronális szeletet nyertünk disztális irányban a homloki középponttól 3, 5, 7, 9, illetve 13 mm távolságra egy agyi matrica segítségével (Harward Apparatus, South Natick, MA). Az infarktus területét a koronális szeletek mindkét oldaláról video-leképzéssel és elemzővel mértük, és mm²-ben fejeztük ki. Az infarktusos terület térfogatát mm³-ban úgy számítottuk ki,

hogy mind a hat szelet iszkémiás területének összegét vettük figyelembe. A konyhasóoldatos kontroll és a 24., illetve 25. végület infarktusos övezetének a térfogatát a 15a. táblázatban adjuk meg.

Neurológiai skála (pontszámok)

A neurológiai pontszámot a 3. példában megadott eljárástól némileg különböző módon mértük. Ez a módszer egy adott patkányon a specifikus lokomotor (helyváltoztató) tevékenység teljesítményéhez rendelt értékelési sor összegén alapul. A skála kezdőpontja zérus (teljesen normális patkányok); és 13-mal végződik (teljesen teljesítményvesztés patkányok). A legtöbb paramétert vagy 0-val (normális) vagy 1-gyel (teljesítmény nélküli állatok) minősítjük.

Általános megfigyelés vizsgálata: csökkent aktivitás, szedáltság, a szőr ereklója

Motoros (helyzetváltoztató) reflex: A patkányokat farkuknál fogva körülbelül 15 cm-rel a talaj fölé emeltük. Normális patkányok olyan helyzetet vesznek fel, amelyben mindkét előlő végtagjukat a padló felé terjesztik, és hátsó végtagjaikat trapézszerűen oldalra terpesztik. Ha az MCA-O súlyos, akkor az ellenoldali végtag maradandó elfordulását idézi elő.

Motoros képesség: ez abból a képességből látható, hogy egy 1 cm átmérőjű rudat ellenoldali végtagjukkal 5-15 másodpercig megragadnak, ha a patkányt a rúdon függve hagyjuk.

Mozgáskoordináció: normális patkányok egy 5 cm szélességű nyalábon belül - amely mérsékelten meredek - képesek fel és lejárni. A nyalábban belül bármely irányban végzett járás kudarc-

ca egy bizonyos mozgatási (motoros) koordináció hiányára, egyensúlyhiányra és a végtag gyengeségére mutat.

Járásmód: a normális helyzet visszaállításának képessége bármelyik hátsó ellenoldali vagy elülső ellenoldali végtagon, ha egy szűk nyalábban belül akarattuk ellenére helyzetüket megváltoztatjuk.

Egyensúly: az állatok képessége kapaszkodásra és egyensúlyozásra egy 2 cm szélességű nyalábban.

Helyváltoztatási aktivitás: az összes mozgás mennyisége 15 perces időtartam alatt automatizált aktivitásmérő ketrecben.

A fenti paraméterekhez rendelt minősítéseket a 15. táblázatban foglaltuk össze.

15. táblázat

A helyzet és a helyzetváltoztatás 10 paraméteréhez rendelt neurológiai skála (pontszám)

Paraméterek	Pontszám	
a. Aktivitás az otthonos ketrecben	normális = 0	csökkent aktivitású = 1
b. Szédáltság	nincsen = 0	kifejezett = 1
c. A szőr merevedése	nincsen = 0	kifejezett = 1
d. Az ellenoldali elülső végtag kinyújtása a talaj felé, ha farkánál fogva felemeljük	jó = 0	elfordult végtag = 1
e. Az ellenoldali hátsó végtag terpesztése felé, ha farkánál fogva felemeljük (trapezoid helyzet)	jó = 0	elfordult végtag = 1
	jó = 0	gyenge = 1

15. táblázat (folytatás)

Paraméterek	Pontszám	
f. A rudat megragadja ellenoldali végtagjával 5-15 másodpercig, ha előlső végtagjánál fogva felfüggesztjük	jó = 0	gyenge = 1
g. Járás egy 5 cm szélességű nyalámban	jó = 0	gyenge = 1
h. Az ellenoldali hátsó és/vagy előlső végtag visszahelyezése eredeti helyzetébe, ha szándékosan áthelyezzük	jó = 0	gyenge = 1 (egy végtagra) 2 (két végtagra)
i. 2 cm szélességű nyalábon kapaszkodás és egyensúly	jó = 0	gyenge = 1
j. Motoros aktivitás a kontrollhoz képest	0-25 % a kontrollhoz képest = 3 26-50 % a kontrollhoz képest = 2 51-75 % a kontrollhoz képest = 1 76-100 % a kontrollhoz képest = 0	k.
k. Tendencia az ellenkező oldalra dőlésre	1	
l. Ellenoldali körözés, ha a farkánál fogva húzzuk	1	
m. Ellenoldali spontán körözés	1	

A 15a. táblázat mutatja a 24. és 25. vegyületek hatását ezen a modellen, a 24 és 48 órával a károsodás után mért NSS változásának összehasonlításával.

15a. táblázat

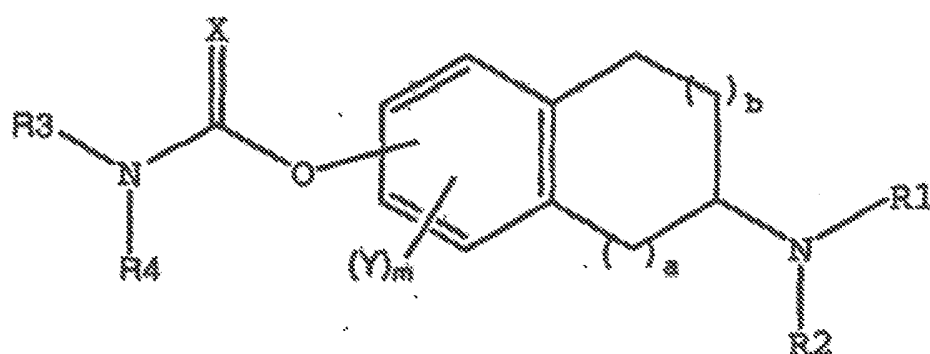
Vegyület	NSS*	Az infarktus térfogata átlag $\pm$ SD mm
Konyhasóoldat	0,745	211 $\pm$ 75
24.	0,625	152 $\pm$ 45
25.	1,78	189 $\pm$ 54

* A 24 óránál és 48 óránál mért NSS különbsége: ebből látható, hogy a 24. és 25. vegyületek hatása hosszabb ideig tart, mint a konyhasóval kezelt kontrollállat esetében.

75684/ZSO

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Az (I) általános képletű vegyületek,



ahol

amennyiben a értéke 0, akkor b értéke 1 vagy 2,

ahol amennyiben a értéke 1, b értéke 1, m értéke 0-3, X jelentése O vagy S, Y jelentése halogénatom, R₁ jelentése hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, R₂ jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos alkilcsoport vagy adott esetben szubsztituált propargil-csoport, és R₃ és R₄ jelentése egymástól függetlenül 1-8 szénatomos alkilcsoport, 6-1 szénatomos arilcsoport, 6-12 szénatomos aralkil-csoport vagy 6-12 szénatomos cikloalkil-csoport, amelyek mindegyike adott esetben, vagy hidrogénatom.

2. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, ahol Y jelentése O vagy S.
3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti vegyületek, ahol a értéke 0 és b értéke 1.
4. A 3. igénypont szerinti vegyületek, ahol R₂ jelentése hidrogénatom, metil-csoport, etilcsoport vagy adott esetben szubsztituált propargil-csoport.
5. A 4. igénypont szerinti vegyületek, ahol R₂ jelentése propargil-csoport.

6. Az 1-5. igénypontok bármelyike szerinti vegyületek, ahol R_3 vagy R_4 egyikének jelentése metilcsoport és a másik jelentése hidrogénatom, metil-, etil-, i-butil-, propil-, hexil-, fenil-, benzil- vagy ciklohexil-csoport.

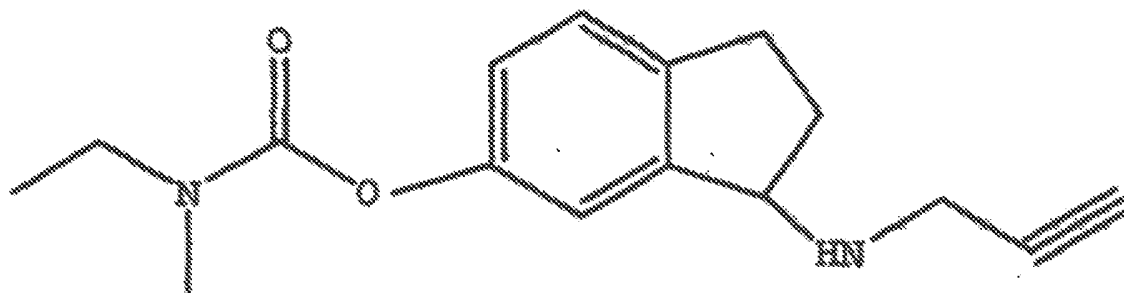
7. A 6. igénypont szerinti vegyületek, ahol az $OC(X)NR_3R_4$ csoport az indángyűrűn az amino-szubsztituált szénatomtól számolva 4-es, 6-os vagy 7-es pozícióban helyezkedik el.

8. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti vegyületek, ahol a vegyület egy optikailag aktív enantiomer.

9. Az alábbiak közül választott vegyület:

(rac) 6-(N-metil-N-etil-karbamiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán HCl; (rac) 6-(N,N-dimetil-karbamiloxi)-N'-metil-N'-propargil-1-aminoindán HCl; (rac) 6-(N-metil-N-etil-karbamiloxi)-N'-propargil-1-aminotetralin HCl; (rac) 6-(N,N-dimetil-tiokarbamiloxi)-1-aminoindán HCl; (rac) 6-(N-propil-karbamiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán HCl; (rac) 5-klór-6-(N-metil-N-propil-karbamiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán HCl; (S)-6-(N-metil-N-propil-karbamiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán HCl; (R)-6-(N-metil-N-etil-karbamiloxi)-N'-propargil-1-aminoindán hemi-(L)-tartarát.

10. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, amelyek az alábbi képlettel rendelkeznek:



valamint ezen vegyületek racém keverékei, enantiomerjei és sói.

11. A 10. igénypont szerinti vegyületek, ahol az enantiomer az R-enantiomer.

12. A 10. igénypont szerinti vegyületek, ahol az enantiomer az S-enantiomer.
13. Gyógyászati készítmény, amely az 1-12. igénypontok bármelyike szerinti vegyület terápiásan hatásos mennyiségét és egy gyógyászatilag elfogadható hordozót tartalmaz.
14. Gyógyászati készítmény Alzheimer-kór vagy demenciák kezelésénél történő alkalmazásra, amely készítmény az 1-12. igénypontok bármelyike szerinti vegyület terápiásan hatásos mennyiségét tartalmazza.
15. Gyógyászati készítmény statikus demencia, Alzheimer-típusú demencia, öregkori demencia, öregkor előtti demencia, előrehaladott demencia, vaszkuláris demencia vagy Lewy-testes demencia kezelésénél történő alkalmazásra, amely készítmény az 1-12. igénypontok bármelyike szerinti vegyület terápiásan hatásos mennyiségét tartalmazza.
16. Gyógyászati készítmény neurotrauma kezelésénél történő alkalmazásra, amely készítmény az 1-12. igénypontok bármelyike szerinti vegyület terápiásan hatásos mennyiségét tartalmazza.
17. Gyógyászati készítmény memória-rendellenesség kezelésénél történő alkalmazásra, amely készítmény az 1-12. igénypontok bármelyike szerinti vegyület terápiásan hatásos mennyiségét tartalmazza.
18. Gyógyászati készítmény depresszió kezelésénél történő alkalmazásra, amely készítmény az 1-12. igénypontok bármelyike szerinti vegyület terápiásan hatásos mennyiségét tartalmazza.
19. Gyógyászati készítmény a monoaminoxidáz-B (MAO-B) aktivitásnak az agyban történő gátlásánál történő alkalmazásra, amely készítmény az 1-12. igénypontok bármelyike szerinti vegyület terápiásan hatásos mennyiségét tartalmazza.

20. A 13-19. igénypontok bármelyike szerinti gyógyászati készítmény, amelynél a terápiásan hatásos mennyiség 0,5 - 2000 mg.

21. A 13-19. igénypontok bármelyike szerinti gyógyászati készítmény, amelynél a terápiásan hatásos mennyiség 1 - 1000 mg.

22. A 13-19. igénypontok bármelyike szerinti gyógyászati készítmény szilárd formában.

23. A 13-19. igénypontok bármelyike szerinti gyógyászati készítmény folyékony formában.

24. A 13-19. igénypontok bármelyike szerinti gyógyászati készítmény gél formában.

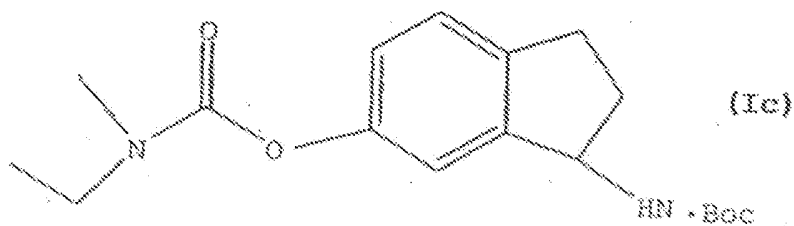
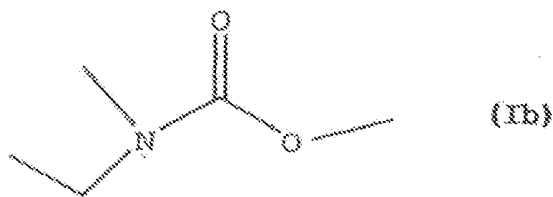
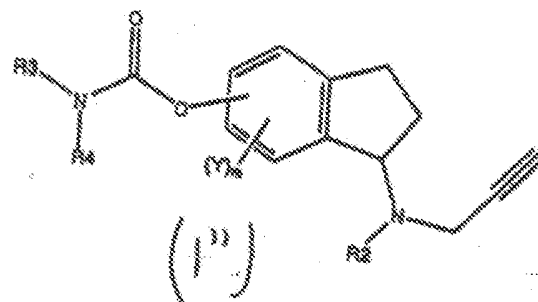
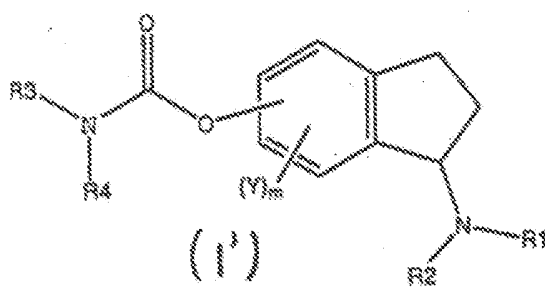
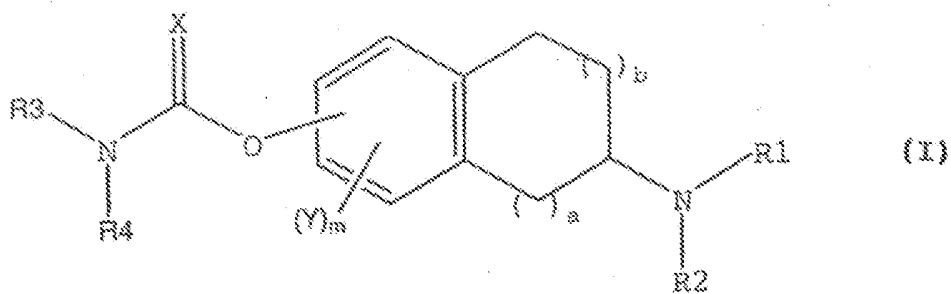
A meghatalmazott

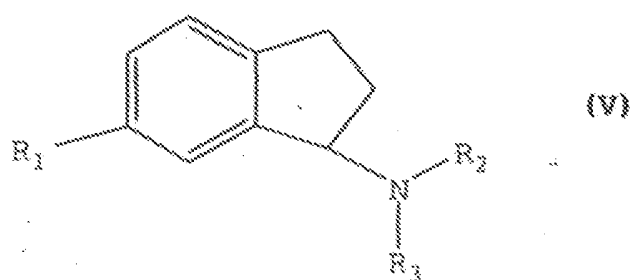
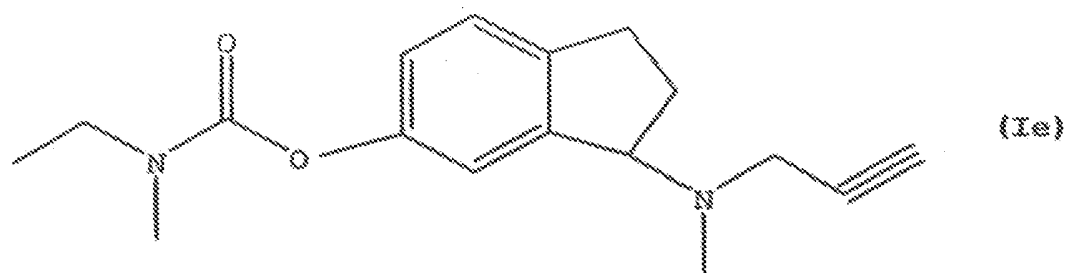
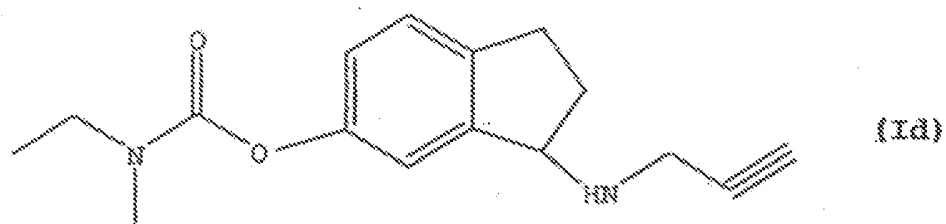
Szentmáteri Zoltán
SOGK Szakigazgatói Ügyvivői Iroda
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 461-1098 Fax: 461-1098
Email: szentmazeri.zs@sogek.hu

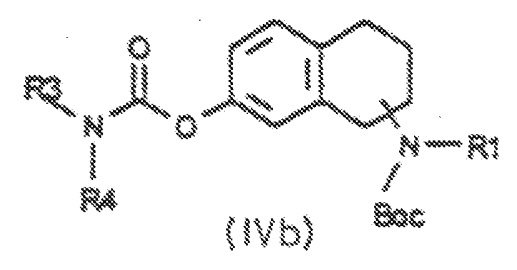
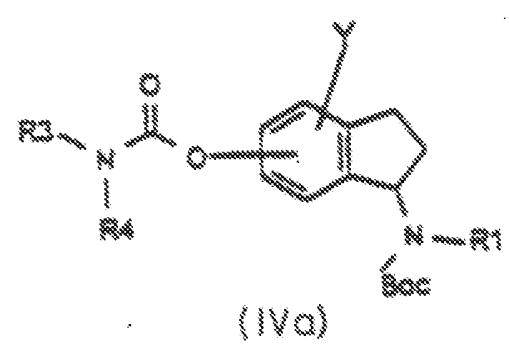
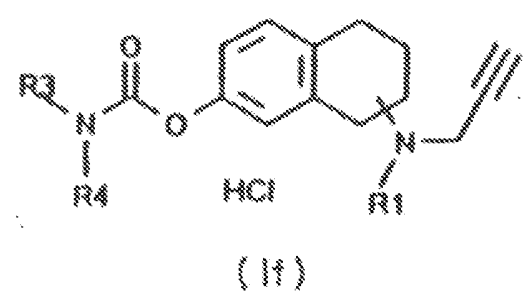
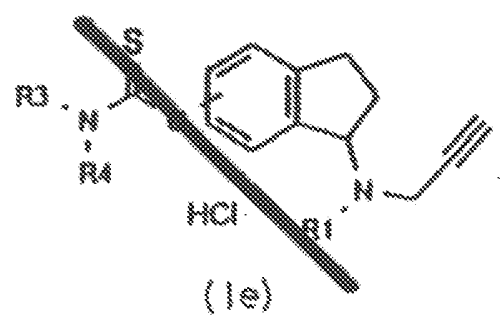
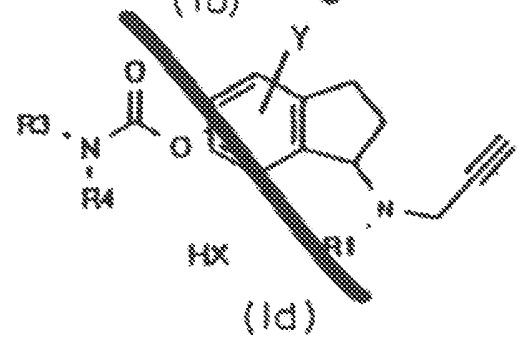
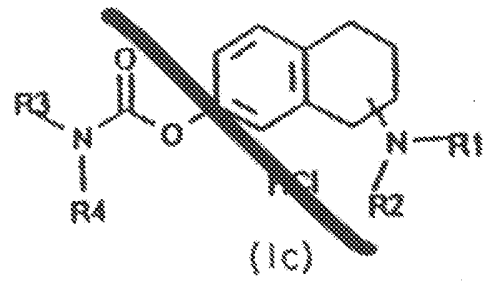
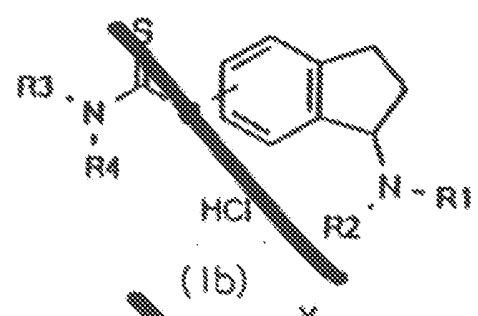
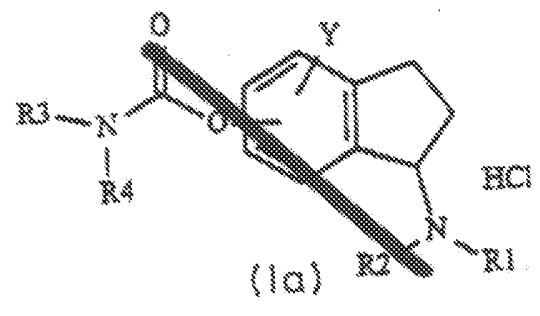
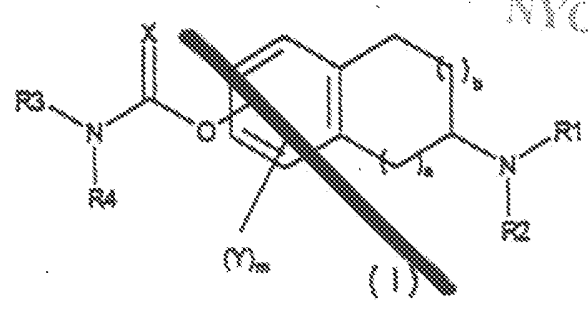
NYOMDAPÉLDÁNY

4/8

Megadás alapjául szolgáló változat



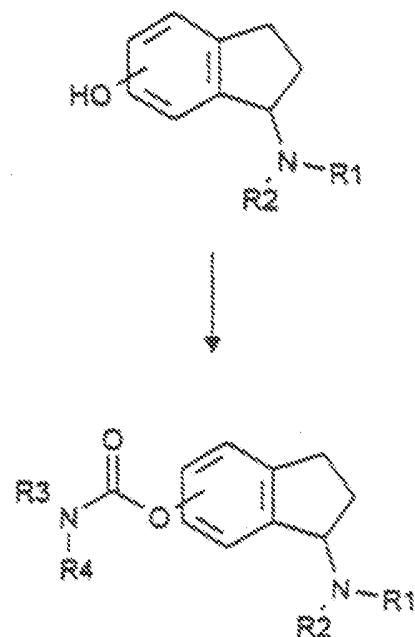
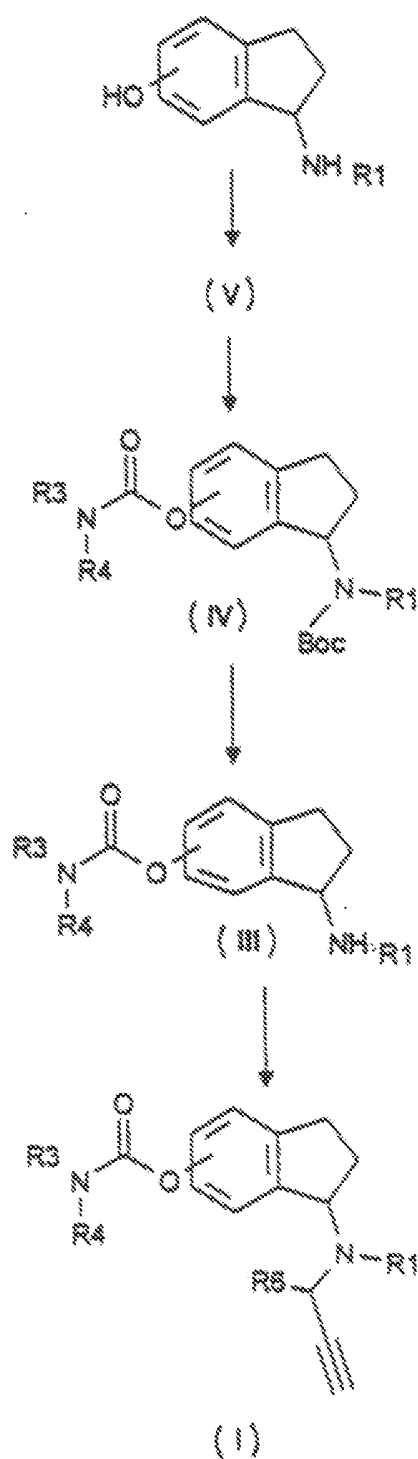




1. reakcióvázlat

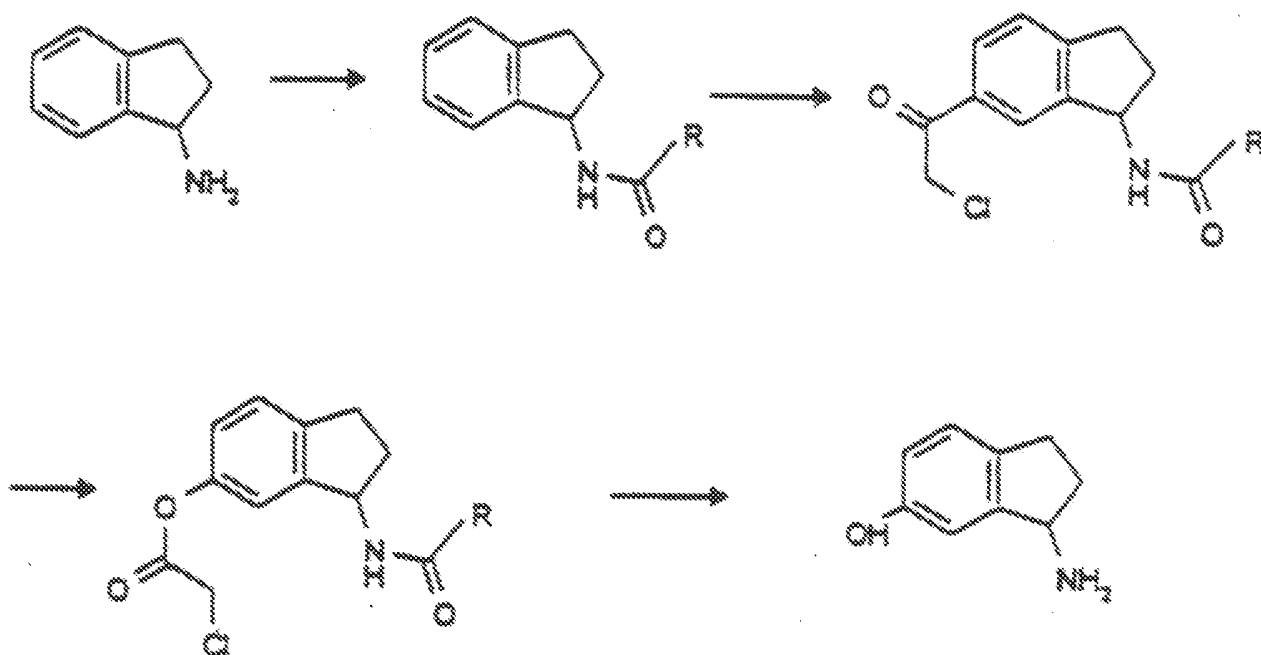
NYOMDAPÉLDÁN

4/8

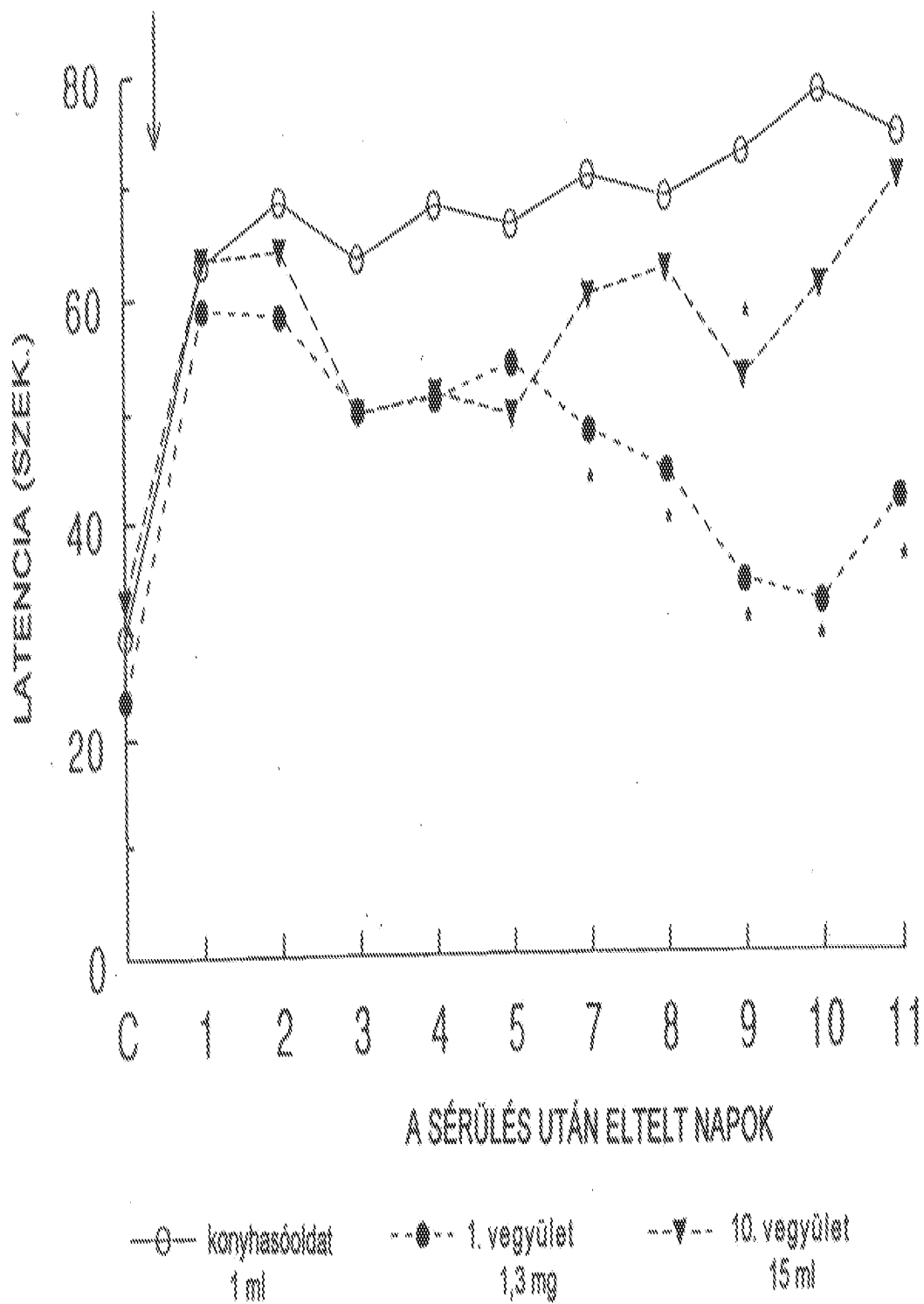


2. reakcióvázlat

5/8



ZÁRT KOPONYASÉRÜLÉS
MWM (egéren)



1. ábra

6/2

NYOMDAELDÁNY

3333

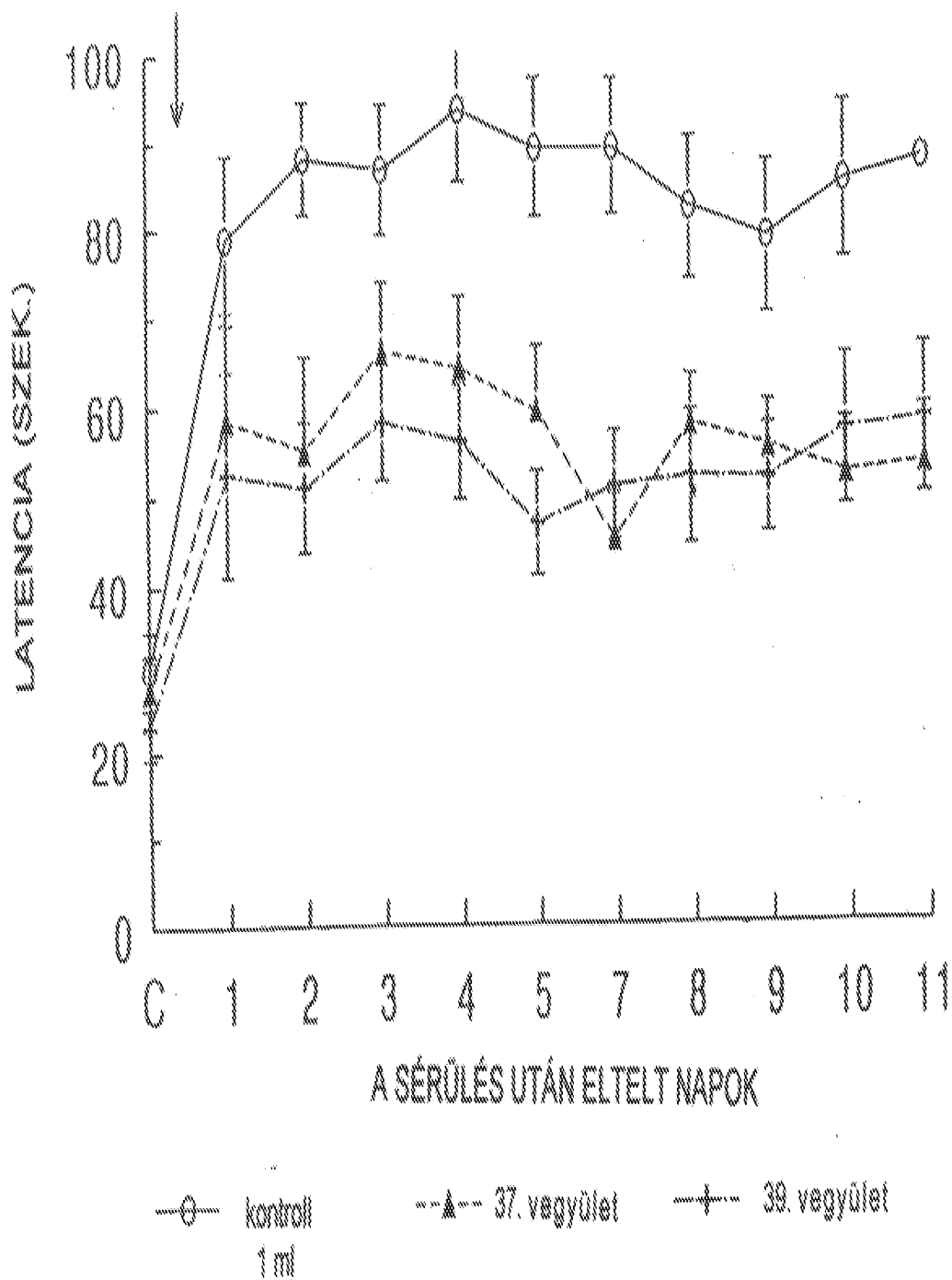
PO 11130

1760
201



21

ZÁRT KOPONYASÉRÜLÉS MWM (egéren)



3. ábra

NYOMDAELDÁNY

201 1130

201 1130

2/2