(19)

SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 905369 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 905369

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07D403/12

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **30.10.1990**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **30.10.1990**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **01.05.1991**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

31.10.1989 US 429835

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **Allergan, Inc.,** 2525 Dupont Drive, Irvine Cal. 92715, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Gluchowski, Charles,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Menetelmä (2-Imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinien käyttämiseksi silmänsisäisen paineen alentamiseksi tai ylläpitoon

Förfarande för användning av (2-Imidazolin-2-ylamino)kinoxaliner för sänkning eller upprätthållning av intraokulära trycket

Menetelmä (2-Imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinien käyttämiseksi silmänsisäisen paineen alentamiseen tai ylläpitoon - Förfarande för användning av (2-imidazolin-2-ylamino)-kinoxaliner för sänkning eller upprätthållning av intraokulära trycket

Tämä keksintö koskee menetelmää alentamiseen tai ylläpitoon silmänsisäinen paine. Erityisemmin se koskee menetelmää silmänsisäisen paineen alentamiseen tai ylläpitoon, johon liittyy (2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinin ja/tai sen suolan tehokkaan määräm antaminen, esimerkiksi silmälääketieteellisesti hyväksyttävässä väliaineessa.

Keksinnön mukainen menetelmä on erityisen käyttökelpoinen glaukooman hoidossa, silmäsairauden, jolle on tunnusomaista lisääntynyt silmänsisäinen paine. Glaukooma luokitellaan taudinsyyopilliselta pohjaltaan primääriseksi tai sekundääriseksi. Esimerkiksi primäärinen glaukooma aikuisilla voi olla joko kroonista avokulmaglaukoomaa tai akuuttia tai kroonista ahdaskulmaglaukoomaa. Sekundäärinen glaukooma on seurausta aikaisemmista silmäsairauksista, kuten silmän keskikalvon tulehduksesta, silmänsisäisestä kasvaimesta tai laajentuneesta harmaakaihista.

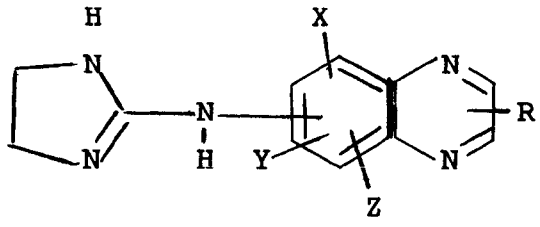
Primäärisen glaukooman taustalla olevat syyt eivät vielä ole hyvin tunnettuja. Lisääntynyt silmänsisäinen paine johtuu silmän kammionesteen ulosvirtausreitin tukkeutumisesta. Kroonisessa avokulmaglaukoomassa the silmän etukammio ja sen anatomiset rakenteet vaikuttavat normaaleilta, mutta kammionesteen ulosvaluminen on estynyt. Akuutissa ja kroonisessa avokulmaglaukoomassa silmän etukammio on matala, suodatuskulma on kaventunut ja värikalvo voi peittää ansasrakenteen sisääntulon Schlemmin kanavaan. Pupillin laajentuminen voi työntää värikalvon juurta kulmaa vasten tai se voi aiheuttaa mustuaisen katkoksen (pupillary block) ja aiheuttaa siten akuutin kohtauksen. Silmät, joissa on kapeat

silmän etukammiokulmat, ovat alttiina eri vakavuisille akuuteille ahdaskulmaglaukoomakohtauksille.

Sekundääristä glaukoomaa aiheuttaa mikä hyvänsä häiriö silmän kammionesteen virtauksessa takakammiosta silmän etukammioon, ja seurauksena, Schlemmin kanavaan. Sisäsegmentin tulehdussairaudet voivat estää veden poistumisen aiheuttaen värikalvon täydellisen kiinnikasvamisen sarveiskalvoon, ja se voi salvata huuhtelukanavan tihkuvilla nesteillä. Muita yleisiä syitä ovat silmänsisäiset kasvaimet, laajentunut harmaakaihi, keskusverkkokalvolaskimon tukkeuma, silmävamma, leikkaukset ja silmänsisäinen verenvuoto.

Tarkasteltaessa kaikkia tyyppejä yhdessä glaukoomaa esiintyy noin 2 %:lla kaikista yli 40 vuoden ikäisistä henkilöistä, ja se voi olla vuosien ajan oireettomana ennen etenemistä nopeaan näön menetykseen. Tapauksissa, joissa leikkaus ei ole syynä, ovat paikallisesti käytetyt β-adrenoseptoriantagonistit perinteisesti olleet glaukooman hoitoon valittuja lääkkeitä.

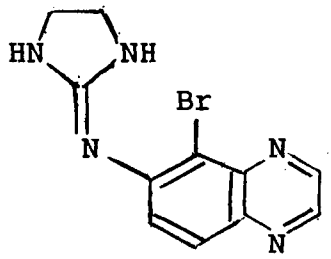
Erilaisia kinoksaliinijohdannaisia on ehdotettu terapeuttisiksi aineiksi. Esimerkiksi Danielewicz, et al., US-patenttijulkaisu 3890319, esittää sydän/verisuoni-järjestelmän säätelijöinä yhdisteitä, joilla on seuraava kaava



jossa 2-imidatsolin-2-yyliaminoryhmä voi olla missä hyvänsä kinoksaliiniytimen asemista 5, 6, 7 tai 8; X, Y ja Z voivat olla missä hyvänsä jäljellä olevista asemista 5, 6, 7 tai 8, ja ne voivat olla vety, halogeeni, alempi alkyyli, alempi alkoksi tai trifluorimetyyli; ja R on mahdollinen substituentti kinoksaliiniytimen joko 2- tai 3-asemassa, ja se voi olla vety, alempi alkyyli tai alempi alkoksi. Daniele-

wicz et al.-patenttijulkaisussa ei esitetä, että sellaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia silmänsisäisen paineen alentamiseen tai ylläpitoon.

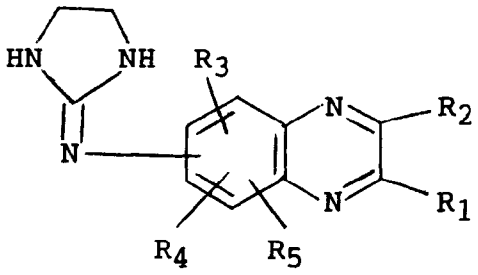
Julkaisussa "Ocular effects of a relatively selective alpha 2 agonist (UK-14, 304-18) in cats, rabbits and monkeys", J.A. Burke et al., Current Eye Research, vol. 5, No. 9, 1986, kinoksaliinijohdannaisen osoitettiin alentavan silmänsisäistä painetta tehokkaasti kaneilla, kissoilla ja apinoilla. Silmänsisäisen paineen alentamiseen ei ehdotettu muita kinoksaliinijohdannaisia.



On keksitty uusi menetelmä silmänsisäisen paineen alentamiseen tai ylläpitoon nisäkkään silmässä. Tämä menetelmä käsittää tehokkaan määrän yhden tai useamman määrätyistä (2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliineista (tässä määritellyn), sen suolojen ja seosten antamisen suoraan silmään. Tämä uusi menetelmä on erityisen tehokas nisäkkään, esimerkiksi ihmisen, glaukoomasta kärsivien silmien hoitoon tai käsittelyyn.

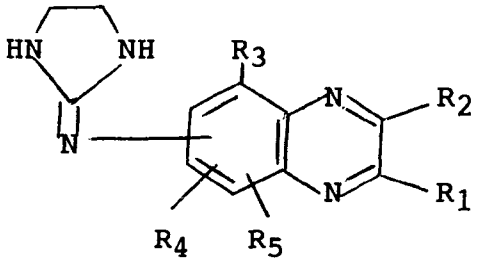
Tämän keksinnön mukaisesti käyttökelpoiset (2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinit ovat suoraan nisäkkään silmään annettaessa tehokkaita alentamaan ylläpitämään, edullisesti alentamaan, silmänsisäistä painetta nisäkkään silmässä. Keksinnön suoja-alaan kuuluu kahdentyyppisiä kinoksaliinijohdannaisia.

Yksi tämän keksinnön mukaisesti käyttökelpoisten kinoksaliinijohdannaisten tyyppi ovat kinoksaliinijohdannaiset, joilla on kaava



niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät happoadditiosuolat ja niiden seokset. R_1 on H, ja R_2 on joukosta alkyyliradikaalit, joissa on 1 - 4 hiiltä ja alkoksiradikaalit, joissa on 1 - 4 hiiltä. R_2 on edullisesti metyyliradikaali. 2-imidatsolin-2-yyliaminoryhmä voi olla missä hyvänsä kinoksaliiniytimen asemista 5, 6, 7 tai 8, edullisesti 6-asemassa. R_3, R_4 ja R_5 sijaitsevat kukin yhdessä kinoksaliiniytimen jäljelle jäävistä asemista 5, 6, 7 ja 8 ja ne ovat toisistaan riippumatta joukosta Cl, Br, H ja alkyyliradikaalit, jotka sisältävät 1 - 3 hiiltä. R_3 on edullisesti kinoksaliiniytimen 5-asemassa, ja R4 ja R5 ovat edullisesti molemmat H. Erityisen käyttökelpoisessa suoritusmuodossa R_3 on Br.

Toinen tämän keksinnön mukaisesti käyttökelpoisten kinoksaliinijohdannaistyyppi ovat kinoksaliinijohdannaiset, joilla on kaava



niiden farmaseuttisesti hyväksyttävät happoadditiosuolat ja näiden seokset. Tässä kaavassa R_1 ja R_2 ovat toisistaan riippumatta H, alkyyliradikaalit, jotka sisältävät 1 - 4 hiiltä ja alkoksiradikaalit, jotka sisältävät 1 - 4 hiiltä. Edullisesti sekä R_1 että R_2 ovat H. 2-imidatsolin-2-yyliaminoryhmä voi olla missä hyvänsä kinoksatsoliiniytimen asemista 6, 7 tai 8, edullisesti 6-asemassa. R_3 on joukosta H ja

alkyyliradikaalit, jotka sisältävät 1 - 3 hiiltä. Edullisesti R_3 on H tai metyyli. R_4 ja R_5 ovat kumpikin yhdessä kinoksaliiniytimen jäljelle jäävistä asemista 6, 7 tai 8, ja no ovat joukosta Cl, Br, H ja alkyyliradikaalit, jotka sisältävät 1 - 3 hiiltä. Edullisesti sekä R4 että R5 ovat H.

Keksinnön suoja-alaan kuuluvat kaikki stereoisomeerit, tautomeerit ja näiden seokset, jotka noudattavat yhden tai useamman, keksinnön mukaisesti käyttökelpoisen yhdisteen rajoja.

Keksinnön mukainen menetelmä on erityisen tehokas hoitosuunnitelmassa glaukooman, joko primäärisen tai sekundäärisen glaukooman, hoitamiseksi tai käsittelemiseksi. Tässä suoritusmuodossa 1 tai useampia keksinnön mukaisesti käyttökelpoisista yhdisteistä annetaan edullisesti suoraan nisäkkään glaukoomasta kärsivään silmään silmänsisäisen paineen alentamiseksi tai ylläpitämiseksi, edullisesti kontrolloimiseksi glaukoomasta kärsivässä silmässä.

Keksinnön mukaisesti käyttökelpoisia yhdisteitä annetaan usein silmään seoksen muodossa silmälääketieteellisesti hyväksyttävän väliaineen kanssa. Voidaan käyttää mitä hyvänsä sopivaa, esimerkiksi tavanomaista, silmälääketieteellisesti hyväksyttävää väliainetta. Sellainen väliaine on silmälääketieteellisesti hyväksyttävä, jos sillä ei ole oleellista pitkäaikaista tai pysyvää turmiollista vaikutusta silmään, johon sitä annetaan. Esimerkkejä silmälääketieteellisesti hyväksyttävistä väliaineista ovat mm. vesi, erityisesti tislattu vesi, suolaliuos ja vastaavat vesiväliaineet. Keksinnön mukaiset yhdisteet annetaan silmään edullisesti nesteseoksena väliaineen kanssa. Edullisemmin yhdisteet ovat väliaineeseen liukoisia niin, että yhdisteet annetaan silmään liuoksen muodossa.

Silmälääketieteellisesti hyväksyttävää väliainetta käytettäessä seos sisältää edullisesti yhtä tai useampaa keksinnön

mukaisesti käyttökelpoista yhdistettä määrän välillä noin 0,0001 - noin 1 %, edullisemmin noin 0,05 - noin 0,5 paino/-tilavuus-%.

Keksinnön mukaisesti käyttökelpoisen yhdisteen tai yhdisteiden hoidettavaan silmään lisäämiseksi voidaan käyttää menetelmää lääkkeiden lisäämiseksi suoraan nisällään silmään. Käsitteellä "antaa suoraan" tarkoitetaan, että suljetaan pois yleiset systeemiset lääkkeenantotavat, esimerkiksi injektio suoraan potilaiden verisuoniin, oraalinen anto ja vastaavat, joista seuraa yhdisteen tai yhdisteiden systeeminen saatavuus. Keksinnön mukaisen yhdisteen tai yhdisteiden suoraan nisäkkään silmään annon primäärinen vaikutus nisäkkääseen on edullisesti silmänsisäisen paineen aleneminen. Edullisemmin keksinnön mukaisesti käyttökelpoista yhdistettä tai yhdisteitä käytetään paikallisesti silmään tai injisoidaan suoraan silmään. Erityisen käyttökelpoisia tuloksia saadaan, kun yhdistettä tai yhdisteitä lisätään paikallisesti silmään.

Paikalliset silmälääketieteelliset formulaatiot, esimerkiksi silmätipat, geelit tai voiteet ovat edullisia johtuen käytön helppoudesta, annostelun helppous, ja vähäisemmät systeemiset sivuvaikutukset, kuten sydän/verisuoni-järjestelmän alentunut verenpaine. Esimerkinomainen paikallisesti käytettävä silmälääketieteellinen formulaatio esitetään alla taulukossa I. Lyhenne q.s. tarkoittaa riittävää määrää saamaan aikaan tuloksen tai tekemään tilavuuden.

TAULUKKO I

valmistusaine	määrä (paino/tilavuus-%)
(2-imidatsolin-2-yyliamino)-kinoksaliini	noin 0,0001 - noin 1,0
säilöntäaine	0 - 0,10
väliaine	0 - 40
toonisuudensäätöaine	1 - 10
puskuri	0,01 - 10
pH-säätöaine	q.s. pH 4,5 - 7,5

hapetuksenestoaine	tarvittaessa
puhdistettu vesi	tarvittaessa 100 %:iin

Edellä taulukossa I kuvatussa silmälääketieteellisessä formulaatiossa voidaan käyttää erilaisia säilöntäaineita. Edullisia säilöntäaineita ovat, mutteivät rajoittavasti, mm. bentsalkoniumkloridi, klooributanoli, timerosali, fenyylielohopea(2)asetaatti ja fenyylielohopea(2)nitraatti. Samoin sellaisissa silmälääketieteellisissä formulaatioissa voidaan käyttää erilaisia edullisia väliaineita. Näitä väliaineita ovat mm., muttei rajoittavasti, polyvinyylialkoholi, povidoni, hydroksipropyylimetyyliselluloosa, poloksameerit, karboksimetyyliselluloosa, hydroksietyyliselluloosa ja puhdistettu vesi.

Mikäli tarpeen tai soveliasta, voidaan lisätä toonisuudensäätöaineita. Niitä ovat mm., muttei rajoittavasti, suolat, erityisesti natriumkloridi, kaliumkloridi, mannitoli ja glyseriini tai mikä hyvänsä muu sopiva silmälääketieteellisesti hyväksyttävä toonisuudensäätöaine.

pH-arvon säätöön voidaan käyttää erilaisia puskureita ja tapoja mikäli tulokseksi saatava formulaatio vain on silmälääketieteellisesti hyväksyttävä. Niinpä puskureita ovat mm., muttei rajoittavasti, asetaattipuskurit, sitraattipuskurit, fosfaattipuskurit ja boraattipuskurit. Tarvittaessa näiden formulaatioiden pH-arvon säätöön voidaan käyttää happoja tai emäksiä.

Samalla tavalla silmälääketieteellisesti hyväksyttäviä hapetuksenestoaineita ovat mm., muttei rajoittavasti, natriummetabisulfiitti, natriumtiosulfaatti, asetyylikysteiini, butyloitu hydroksianisoli ja butyloitu hydroksitolueeni.

Muita apuainekomponentteja, joita voidaan lisätä, ovat taulukossa I kuvattuun esimerkinomaiseen silmälääketieteelliseen formulaatioon, ovat kelatoivat aineet, joita voidaan lisätä tarvittaessa. Edullinen kelatoiva aine on edetaat-

tidinatrium, vaikka sen sijaan tai yhteydessä voidaan käyttää muitakin kelatoivia aineita.

Keksinnön mukaisesti käyttökelpoisten yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä happoadditiosuoloja ovat sellaiset, jotka muodostetaan hapoista, jotka muodostavat ei-toksisia additiosuoloja, jotka sisältävät farmaseuttisesti hyväksyttäviä anioneja, kuten hydrokloridi-, hydrobromidi-, hydrojodidi-, sulfaatti- tai bisulfaatti-, fosfaatti- tai hapan fosfaatti-, asetaatti-, maleaatti-, fumaraatti-, oksalaatti-, laktaatti-, tartraatti-, sitraatti-, glukonaatti-, sakkaraatti- ja p-tolueenisulfonaattisuolat.

Keksinnön mukaisesti käyttökelpoiset yhdisteet voidaan valmistaa menetelmien mukaisesti, jotka on kuvattu US-patenttijulkaisussa 3890319, Danielewicz, et al., siinä esitettyjen kinoksaliinijohdannaisten suhteen. Tämä patenttijulkaisu liitetään täten tähän kokonaisuudessaan viitteeksi.

Lyhyesti, keksinnön mukaisesti käyttökelpoiset 2-imidatsolin-2-yyliaminokinoksaliinijohdannaiset voidaan valmistaa (1) sopivan aminokinoksaliinin reaktiolla tiofosgeenin kanssa vastaavan isotiosyanaatin muodostamiseksi; ja (2) saattamalla tämän isotiosyanaatin reagoimaan etyleenidiamiiniylimäärän kanssa vastaavan β-aminoetyylitioureidokinoksaliinin muodostamiseksi, joka sitten syklisoidaan vastaavaksi johdannaiseksi. Vaihtoehtoisesta sellaiset johdannaiset voidaan valmistaa (1) saattamalla vastaava aminokinoksaliini reagoimaan bentsoyyli-isotiosyanaatin kanssa muodostamaan vastaavan N-bentsoyylitioureidoyhdisteen, jonka jälkeen tioureidoyhdiste hydrolysoidaan, tai aminokinoksaliini saatetaan reagoimaan ammoniumtiosyanaatin kanssa muodostamaan tioureidoyhdisteen suoraan; (2) metyloimalla tioureidoyhdisteen S-metyylijohdannaisen muodostamiseksi; ja (3) reaktiolla etyleenidiamiinin kanssa johdannaisen muodostamiseksi.

Johdannaisia varten, joissa ryhmän R_3 on oltava alkyyli, voidaan tuottaa vastaava bromijohdannainen ja käsitellä sitten alkylointireaktiolla, jossa bromiryhmä korvataan halutulla alkyyliryhmällä. Tämä alkylointireaktio suoriteaan sopivasti käyttämällä alkylointireagenssia, kuten alkyylimetallista komponenttia, esimerkiksi, alkyylistannaania, platinaryhmän metallia sisältävän katalysaattorin läsnäollessa. Jos esimerkiksi halutaan korvata bromi metyyliryhmällä, bromijohdannainen saatetaan kontaktiin tetrametyylitinan kanssa palladiumia sisältävän katalysaattorin, esimerkiksi $(Ph_3P)_2PdCl_2$:n läsnäollessa olosuhteissa, jotka saavat aikaan halutun alkyloitumisen tai korvautumisen.

Seuraavat ei-rajoittavat esimerkit kuvaavat tämän keksinnön määrättyjä näkökantoja.

Esimerkki 1

6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliini-1,2,4-triaminobentseenidihydrokloridin valmistus

4-nitrofenyleenidiamiinin (Aldrich, 10 g, 65,3 mmol) suspensioon absoluuttisessa etanolissa (240 ml) lisättiin 600 mg 10-paino-% Pd/C-katalysaattoria. Suspension sisältävä astia tyhjennettiin ja täytettiin kolmesti vedyllä, ja suspensiota hydrogenoitiin 124 kPa paineella, kunnes vedyn vastaanotto loppui. Reaktio oli hieman eksoterminen, ja vaadittiin yksi vedynlisäys. Tulokseksi saatu vaaleankeltainen liuos, joka tummeni nopeasti ilmakontaktissa, suodatettiin ja konsentroitiin noin 150 ml:ksi. Lisättiin konsentroitua suolahappoa (12 ml), ja muodostunut kiinteä aine suodatettiin pois. Yön yli tyhjössä kuivaamisen jälkeen saatiin 12 g (saanto 93 %) vaaleanpunaista kiinteää ainetta, sp. 224 - 225 °C. Tämä kiinteä aine määritettiin erilaisia analyyttisiä menetelmiä käyttäen 1,2,4-triaminobentseenidihydrokloridiksi.

6-Aminokinoksaliini

Glyoksaalinatriumbisulfiittiadduktia (Aldrich, 14,3 g, 50 mmol) lisättiin pienissä erissä 1,2,4-triaminobentseenidihydrokloridin (9,8 g, 50 mmol)liuokseen 200 ml:ssa 10 paino-

% natriumkarbonaatin vesiliuokseen. Reaktioseosta kuumennettiin 2 tuntia 100 °C:ssa, ja jäähdytettiin sitten 0 °C:een. Muodostuneet kiteet suodatettiin pois ja kuivattiin tyhjössä, jolloin saatiin raakasaanto 7,06 g (saanto 97 %) ruskeita kiteitä. Uudelleenkiteyttämällä bentseenistä saatiin 6,32 g (saanto 87 %) keltaisia kiteitä, sp. 157 - 158 °C. Nämä keltaiset kiteet määritettiin erilaisia analyyttisiä menetelmiä käyttäen 6-aminokinoksaliiniksi.

6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliini

6-Aminokinoksaliinia (1,00 g, 7,5 mmol) suspendoitiin 15 ml:aan vettä, ja lisättiin tiofosgeenia (0,64 ml, 8,4 mmol) pienissä erissä sekoittaen voimakkaasti. Lähtöaine liukenni, ja 2 tunnin kuluttua liuoksen punainen väri katosi. Muodostunut kiinteä aine poistettiin suodattamalla imupullolla ja pestiin vedellä. Näin saatua raakaa isotiosyanaattia käytettiin puhdistamatta edelleen. Isotiosyanaatin liuos bentseenissä (70 ml) saatettiin kontaktiin etyleenidiamiinin kanssa (Aldrich, 2,71 g, 45 mmol) 10 ml:ssa bentseeniä 25 °C:ssa 30 min ajan. Edelleen 30 min sekoittamisen jälkeen supernatantti kaadettiin pois. Näin saatu raaka tiourea pestiin kolmesti 10 ml:lla kuivaa eetteriä, ja käytettiin suoraan seuraavassa vaiheessa. Raakatuote liuotettiin 30 ml:aan kuivaa metanolia, ja tummanvihreää luiosta kuumennettiin refluksoiden 15 tuntia, kunnes ei enää muodostunut vetysulfidikaasua. Seos jäähdytettiin huoneenlämpötilaan ja konsentroitiin tyhjössä. Tulokseksi saatu tummanvihreä kiinteä aine kromatografoitiin (SiO_2, 90/10 $CHCl_3/CH_3OH$, joka oli kyllästetty NH_3:lla (g)), jolloin saatiin tummanvihreä kiinteä aine, joka uudelleenkiteytettiin CH_3OH:sta, jolloin saatiin 1,11 g otsikkoyhdistettä vaaleanvihreänä kiteisenä kiinteänä aineena, sp. 232 - 234 °C. Saanto oli 70 %. Yhdiste karakterisoitiin ^1H- ja ^{13}C-NMR-, IR- ja massaspektrianalyysillä.

Esimerkki 2

5-metyyli-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinin valmistus

6-Amino-5-bromikinoksaliinihydrobromidi

6-Aminokinoksaliini (2,08 g, 14,4 mmol) liuotettiin 11,5 ml:aan jääetikkaa. Liuosta jäähdytettiin vedessä samalla, kun bromin (0,74 ml, 2,3 g, 14,4 mmol) liuos 1,5 ml:ssa jääetikkaa lisättiin hitaasti 15 min qaikana. Kun oli sekoitettu edelleen 30 min, muodostunut oranssinpunainen kiinteä aine suodatettiin pois, ja pestiin läpikotaisin kuivalla eetterillä. Kiinteää ainetta kuivattiin tyhjössä yön yli, jolloin saatiin 4,44 g raakatuotetta (saanto 100 %). Yhdisteellä, 6-amino-5-bromokinoksaliinihydrobromidilla ei ollut selvää sulamispistettä. Faasinmuutos (hienosta jauheesta punaisiksi kiteiksi) havaittiin noin 220 °C:ssa. Hajoaminen havaittiin noin 245 °C:ssa. Yhdiste käytettiin suoraan seuraavassa vaiheessa.

6-amino-5-bromikinoksaliini

Raaka 6-amino-5-bromikinoksaliini edeltävästä vaiheesta liuotettiin veteen, ja lisättiin kylläistä natriumbisulfiittiliuosta, kunnes tulokseksi saatu liuos testattiin negatiiviseksi tärkkelys/jodi-paperilla. Sitten liuoksen pH säädettiin alkaliseen arvoon 2N natriumhydroksidilla ja uutettiin läpikotaisin etyyliasetaatilla. Orgaaninen uute kuivattiin magnesiumsulfaatilla ja konsentroitiin alennetussa paineessa, jolloin saatiin vapaa emäs. Raakatuote uudelleenkiteytettiin kiehuvasta bentseenistä, jolloin saatiin keltaisia kiteitä, sp. 155 - 156 °C. Keltaiset kiteet määritettiin erilaisia analyyttisiä menetelmiä käyttämällä 6-amino-5-bromikinoksaliiniksi. Saanto oli 82 %.

5-bromi-6-isotiosyanatokinoksaliini

Edellä mainittu raaka hydrobromidituote (4,27 g, 14,0 mmol) liuotettiin 60 ml:aan vettä, ja lisättiin tiofosgeenia (Aldrich, 1,28 ml, 16,8 mmol) pienissä erissä kiivaasti sekoittaen. 2 tunnin kuluttua liuoksen punainen väri hävisi. Muodostunut kiinteä aine suodatettiin pois ja pestiin läpikotaisin vedellä. Tyhjössä kuivaamisen jälkeen 25 °C:ssa saatiin 3,38 g (saanto 90 %) tiilenpunaisia kiteitä, sp. 157 - 158 °C. Osa tästä materiaalista puhdistettiin edelleen

pylväskromatografialla, jolloin saatiin valkoisia kiteitä, sp. 157 - 158 °C. Nämä kiteet määritettiin erilaisia analyyttisiä menetelmiä käyttäen 5-bromi-6-isotiosyanatokinoksaliiniksi.

5-bromi-6(-N-(2-aminoetyyli)tioureido)kinoksaliini

Isotiosyanaatin (3,25 g, 12,2 mmol) liuosta 145 ml:ssa bentseeniä lisättiin etyleenidiamiinin (Aldrich, 5,43 g, 90,0 mmol) liuokseen 18 ml:ssa bentseeniä 25 °C:ssa 2 tunnin aikana. Kun oli sekoitettu edelleen 30 min, supernatantti kaadettiin pois. Jäljelle jäävä öljy pestiin kuivalla eetterillä ravistaen kolmesti, ja käytettiin suoraan seuraavassa vaiheessa.

Osa tästä tuotteesta puhdistettiin karakterisointia varten edelleen pylväskromatografialla (SiO_2, $CHCl_3$). Saatiin talteen valkoista kiinteää ainetta, joka hajosi 175 °C:ssa samalla, kun muodostui kaasua (pöllähdellen). Tämä valkoinen kiinteä aine määritettiin 5-bromi-6-(-N-2-(aminoetyyli)-tioureido)kinoksaliiniksi.

5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliini

Edellä saatu raakatuote liuotettiin 100 ml:aan kuivaa metanolia, ja ruskeaa liuosta refluksoitiin 19 tuntia, kunnes ei enää kehittynyt vetysulfidia. Seos jäähdytettiin huoneenlämpötilaan ja konsentroitiin noin 50 ml:ksi. Keltainen kiinteä aine suodatettiin pois ja kuivattiin tyhjössä; paino 2,52 g (saanto 70 %), sp. 242 - 244 °C.

Koska raakatuote oli useimpiin tavallisiin orgaanisiin liuottimiin liukenematon, alustava puhdistus suoritettiin happo/emäs-uuttomenetelmällä. 23 g raakatuotetta liuotettiin 100 ml:aan 0,5 N suolahappoa. Samea keltainen liuos suodatettiin, jolloin saatiin kirkas oranssinkeltainen liuos, joka uutettiin kahdesti etyyliasetaatilla (2 x 10 ml). Vesifaasi jäähdytettiin 0 °C:een ja säädettiin emäksiseen pH-arvoon 6N natriumhydroksidilla, pitäen liuoksen lämpötilan koko ajan alle 15 °C:ssa. Saostunut keltainen kiinteä

aine suodatettiin pois ja pestiin läpikotaisin vedellä, kunnes pesuvedet olivat pH-paperin mukaan pH-arvoltaan neuraaleja. Kiinteää ainetta kuivattiin yön yli tyhjiössä, jolloin saatiin 1,97 keltaista kiinteää ainetta, sp. 249 - 250 °C. Talteen saatiin noin 88 %.

Edelleen puhdistaminen saavutettiin uudelleenkiteyttämällä alla kuvatulla tavalla. Edellä saatu osittain puhdistettu tuote liuotettiin N,N-dimetyyliformamidiin (noin 17 ml/g) 100 °C:ssa sekoittaen kiivaasti. Liuos suodatettiin kuumana, ja asetettiin syrjään jäähtymään yön aikana. Vaaleankeltaiset kiteet kerättiin suodattamalla, sp. 252 - 253 °C. Talteen saatiin 65 - 77 %. Vaaleankeltainen kiinteä aine määritettiin erilaisia analyyttisiä menetelmiä käyttäen 5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliiniksi.

5-metyyli-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliini

Suljettavaan reaktioputkeen lisättiin 5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinia (104 mg, 0,36 mmol), tetrametyylitinaa (214 mg, 1,2 mmol) ja $(Ph_3P)_2PdCl_2$ (10 ml) ja kuivaa dimetyyliformamidia (2 ml). Reaktioseoksen läpi ohjattiin kuivaa typpikaasua. Putki suljettiin ja kuumennettiin 6 tuntia 145 °C:ssa. Reaktioseos jäähdytettiin huoneenlämpötilaan, ja liuotin poistettiin tyhjössä. Tummanruskea jäännös kromatografoitiin (SiO_2; 5/1 $CHCl_3/CH_3OH$, joka oli kyllästetty NH_3:lla (g)), jolloin saatiin 46,5 mg (53 %) otsikkoyhdistettä vaaleankeltaisena kiinteänä aineena. Valmistettiin analyyttinen näyte uudelleenkiteyttämällä $CHCl_3/CH_3OH$:sta, ja sillä oli sulamispiste 183 - 186 °C. Yhdistettä karakterisoitiin ^1H- ja ^{13}C-NMR-, IR- ja massapektrianalyysillä.

Esimerkki 3

2-metyyli-5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinin valmistus

2-metyyli-6-nitrokinoksaliini

Palorypälealdehydin (Aldrich, 40-% liuos H_2O:ssa, 11,8 g, 65,3 mmol) lisättiin tipoittain liuokseen, jossa oli 4-

nitro-1,2-fenyleenidiamiinia (Aldrich, 10 g, 65,3 mmol) 150 ml:ssa H_2O:ta. Reaktioseosta kuumennettiin 4 tuntia 80 °C:ssa. Reaktioseos jäähdytettiin huoneenlämpötilaan, laimennettiin vedellä ja uutettiin $CHCl_3$:lla. Orgaaniset uutteet kuivattiin $MgSO_4$:llä ja haihdutettiin, jolloin saatiin 10,7 g (saanto 87 %) tiilenpunaista kiinteää ainetta. Tämä kiinteä aine määritettiin erilaisia analyyttisiä menetelmiä käyttäen 2-metyyli-6-nitrokinoksaliiniksi.

2-metyyli-6-aminokinoksaliini

Paksuseinäiseen Parr-hydrogenointipulloon lisättiin 2-metyyli-6-nitrokinoksaliinia (10,0 g, 52,9) ja CH_3OH:ta (200 ml). Pullo huuhdottiin typpivirralla, ja lisättiin 10-paino-% Pd/C:tä (500 mg). Pullo paineistettiin vedyllä 345 kPA:han ja pidettiin tässä paineessa 3 tuntia. Reaktioseos suodatettiin ja pestiin piidioksidin läpi ja konsentroitiin tyhjössä, jolloin saatiin kullanruskeaa kiinteää ainetta. Raakamateriaali kromatografoitiin (SiO_2; 95/5 $CHCl_3/CH_3OH$, joka oli kyllästetty NH_3:lla (g)) ja uudelleenkiteytettiin bentseenistä, jolloin saatiin 7,4 g (saanto 88 %) kullanruskeaa kiinteää ainetta. Tämä kullanruskea kiinteä aine määritettiin erilaisia analyyttisiä menetelmiä käyttäen 2-metyyli-6-aminokinoksaliiniksi.

2-metyyli-5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliini

Otsikkoyhdiste (sp. 260 °C) valmistettiin sarjalla reaktiovaiheita, jotka olivat analogisia edellä esimerkissä 2 5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinin valmistukselle kuvatuille lähtien 6-aminokinoksaliinin sijasta 2-metyyli-6-aminokinoksaliinista.

Esimerkki 4

3-metyyli-5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinin valmistus

3-metyyli-6-aminokinoksaliini

Palorypälealdehydiä (Aldrich, 892 mg, 4,95 mmol, 40-% liuos H_2O:ssa) lisättiin tipoittain sekoitettuun liuokseen, jossa oli 1,2,4-triaminobentseenihydrokloridia (1,0 g, 4,95 mmol)

liuenneena 10-% Na_2CO_3:n vesiliuoksessa (15 ml). Seosta kuumennettiin 2 tuntia 100 °C:ssa ennen huoneenlämpötilaan jäähdyttämistä. Seos uutettiin $CHCl_3$:lla. Yhdistetyt orgaaniset uutteet kuivattiin $MgSO_4$:llä ja konsentroitiin tyhjössä, jolloin saatiin ruskea kiinteä aine. Raakatuote kromatografoitiin (SiO_2, 95/5 $CHCl_3/CH_3OH$, joka oli kyllästetty NH_3:lla (g)), jolloin saatiin 616 mg (saanto 75 %) keltaista kiteistä kiinteää ainetta. Valmistettiin analyyttinen näyte uudelleenkiteyttämällä bentseenistä, sp. 170 - 173 °C. Kiinteä aine määritettiin erilaisia analyyttisiä menetelmiä käyttäen 3-metyyli-6-aminokinoksaliiniksi.

3-metyyli-5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliini

Otsikkoyhdiste (sp. >260 °C) valmistettiin sarjalla reaktiovaiheita, jotka olivat analogisia edellä esimerkissä 2 5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinin valmistukselle kuvatuille lähtien 6-aminokinoksaliinin sijasta 3-metyyli-6-aminokinoksaliinista.

Esimerkki 5

2,3-dimetyyli-5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinin valmistus.

2,3-dimetyyli-6-aminokinoksaliini

2,3-butaanedionia (7,03 g, 81,7 mmol) lisättiin liuokseen, jossa oli 1,2,4-triaminobentseenihydrokloridia (16,5 g, 81,7 mmol) 10-% Na_2CO_3:n vesiliuoksessa (200 ml). Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa 15 min, jonka aikana muodostui keltainen saostuma. Reaktioseosta sekoitettiin vielä 30 min ennen kiinteän aineen keräämistä imupullolla suodattamalla. Kiinteä ainen pestiin vedellä, kuivattiin tyhjössä ja kromatografoitiin (SiO_2, etyyliasetaatti), jolloin saatiin 11,7 g (86 %) kullanruskeaa kiinteää ainetta, sp. 185 - 186 °C. Tämä kiinteä aine määritettiin erilaisia analyyttisiä menetelmiä käyttäen 2,3-dimetyyli-6-aminokinoksaliiniksi.

2,3-dimetyyli-5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliini

Otsikkoyhdiste (sp. 252 - 254 °C) valmistettiin sarjalla reaktiovaiheita, jotka olivat analogisia edellä esimerkissä 2 5-bromi-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinin valmistukselle kuvatuille lähtien 6-aminokinoksaliinin sijasta 2,3-dimetyyli-6-aminokinoksaliinista.

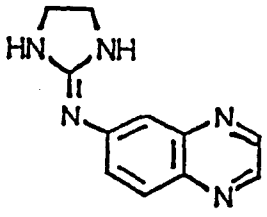
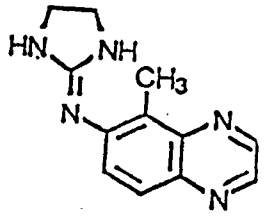
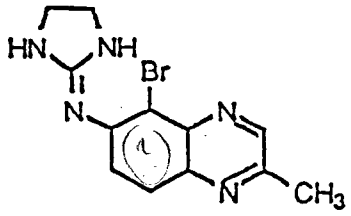
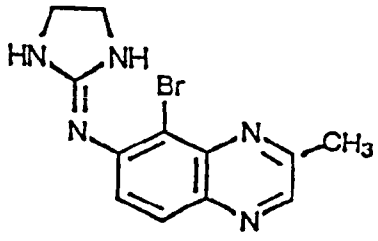
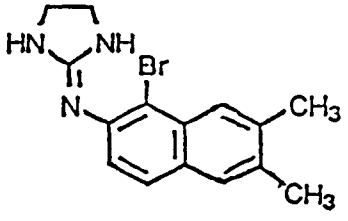
Esimerkit 6 - 10

Nämä 5 esimerkkien 1 - 5 mukaisesti valmistettua kinoksaliinijohdannaista testattiin jotta määritettäisiin, mikä vaikutus, jos lainkaan, näillä materiaaleilla on silmänsisäiseen paineeseen.

Kukin näistä materiaaleista liuotettiin tislattuun veteen konsentraatiossa 0,1 % (paino/tilavuus). Kutakin näistä liuoksista lisättiin paikallisesti ja toispuolisesti yhteen silmään aikaisemmin lääkkeitä saamattomalle nukuttamattomalle Uuden Seelannin valkokanille yhdessä ainoassa 50-μl pisarassa. Vastakkaisen puolen silmään lisättiin yhtäsuuri tilavuus suolaliuosta ennen silmänsisäisen paineen määrittämistä seoksen lisäämisen jälkeen. Kunkin kanin sarveiskalvoon lisättiin myös noin 10 μl 0,5-% (paino/tilavuus) proparakaiinia (paikallispuudute) ennen silmänsisäisen paineen määrittämistä. Kontrollitestinä 6 muuta, lääkettä ennen saamatonta, nukuttamatonta Uuden Seelannin valkokania käsiteltiin jatestattiin edellä kuvatulla tavalla paitsi, että silmiin lisätyissä liuoksissa ei ollut kinoksaliinijohdannaista.

Silmänsisäinen paine määritettiin kunkin kanin kummassakin silmässä ennen liuosten lisäämistä ja sen jälkeen. Nämä silmänsisäisen paineen määritykset suoritettiin tavanomaisella tavalla tavanomaista laitteistoa käyttäen.

Näiden IOP-määritysten tulokset olivat seuraavat:

esimerkki	aktiivinen materiaali	ero silmänsisäisessä paineessa, prosenttia		
		alkuvaikutus käsiteltyyn silmään	maksimivaikutus käsiteltyyn silmään	maksimivaikutus käsittelemättömään silmään
6.		11,8±1,8	-18,6±3,2	-9,6±1,4
7.		N.S.	-21,9±3,6	-5,4±2,0
8.		N.S.	N.S.	N.S.
9.		N.S.	-22,5±1,8	N.S
10.		N.S	N.S.	N.S.
kontrolli		N.S.	N.S.	N.S.

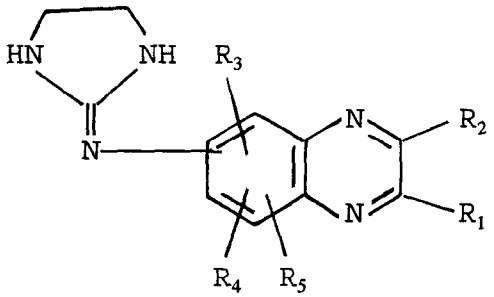
N.S. tarkoittaa, ettei vaikutus ollut tilastollisesti merkittävä.

Nämä tulokset ilmaisevat, että esimerkeissä 6, 7 ja 9 käytetyt kinoksaliinijohdannaiset ovat tehokkaita alentamaan silmänsisäistä painetta käsitellyn kanin silmässä, ts., silmässä, johon aktiivista materiaalia on lisätty suoraan. Esimerkissä 6 käytetyllä kinoksaliinijohdannaisella oli alussa käsitellyssä silmässä painetta nostava vaikutus. Nämä tulokset ovat erityisen hämmästyttäviä ottaen huomioon esimerkeissä 8 ja 10 käytettyjen materiaalien merkityksettömän vaikutuksen silmänsisäiseen paineeseen, jotka materiaalit ovat rakenteellisesti läheistä sukua muille testatuille materiaaleille.

Vaikka tämä keksintö on kuvattu erityisten spesifisten esimerkkien ja suoritusmuotojen suhteen, on ymmärrettävä, että keksintö ei rajoitu niihin, ja että sitä voidaan toteuttaa eri tavoilla seuraavien patenttivaatimusten suojaalan puitteissa.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä yhdisteen ja sen farmaseuttisesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen ja seosten valmistamiseksi, joka yhdiste alentaa tai ylläpitää silmänsisäistä painetta nisäkkään silmässä ja jolla on kaava I



jossa
R_1 ja R_2 ovat toisistaan riippumatta 1-4 hiiliatomia sisältävä alkyyliryhmä tai 1-4 hiiliatomia sisältävä alkoksiryhmä; 2-imidatsolin-2-yyliaminoryhmä voi olla missä tahansa asemista 5, 6, 7 tai 8 kinoksaliiniytimessä; ja
R_3, R_4 ja R_5 sijaitsevat jokainen yhdessä jäljellä olevista 5-, 6-, 7- ja 8-asemista kinoksaliiniytimessä ja ovat toisistaan riippumatta Cl, Br, H tai 1-3 hiiliatomia sisältävä alkyyliryhmä, **tunnettu** siitä, että menetelmässä
(A) saatetaan sopiva aminokinoksaliini reagoimaan tiofosgeenin kanssa vastaavan isotiosyanaatin muodostamiseksi, annetaan mainitun vastaavan isotiosyanaatin reagoida ylimäärän kanssa etyleenidiamiinia vastaavan β-aminoetyyli-tioureidokinoksaliinin muodostamiseksi, joka sitten syklisoidaan kaavan I mukaisen yhdisteen saamiseksi; tai
(B) saatetaan sopiva aminokinoksaliini reagoimaan bentsoyyli-isotiosyanaatin kanssa vastaavan N-bentsoyylitioureidoyhdisteen muodostamiseksi, joka sitten hydrolysoidaan tioureidoyhdisteeksi, tai saatetaan sopiva aminokinoksaliini reagoimaan ammoniumtioisosyanaatin kanssa tioureidoyhdisteen muodostamiseksi, ja sitten mainittu tioureidoyhdiste metyloidaan tioureidoyhdisteen S-metyylijohdannaisen muodostamiseksi, ja tämä johdannainen saatetaan reagoimaan etyleenidiamiinin kanssa kaavan I mukaisen yhdisteen saamiseksi; edel-

lyttäen, että jos R_3 on alkyyli, voidaan tuottaa vastaava bromijohdannainen ja sitten alkyloida bromiryhmän korvaamiseksi halutulla alkyyliryhmällä ja, haluttaessa, saatu kaavan I mukainen yhdiste voidaan muuttaa toiseksi kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi muodostamalla farmaseuttisesti hyväksyttävä happoadditiosuola.

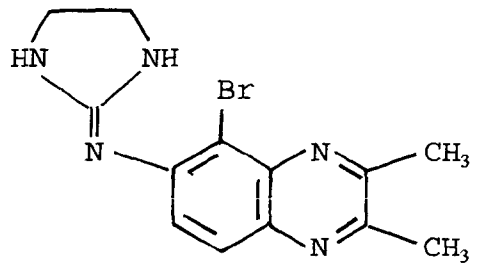
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että 2-imidatsolin-2-yyliaminoryhmä on kinoksaliiniyitimen 6-asemassa, R_3 on kinoksaliiniyitimen 5-asemassa ja on valittu joukosta Cl, Br ja alkyyliradikaalit, joissa on 1-3 atomia, ja R_4 ja R_5 ovat molemmat H.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että R_2 on metyyliradikaali.

4. Jonkin patenttivaatimuksen 1-3 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että R_1 on metyyliradikaali.

5. Jonkin patenttivaatimuksen 1-4 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että R_3 on Br.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että mainittu kaava I on:



7. Jonkin patenttivaatimuksen 1-4 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että R_3 on H tai metyyliradikaali.

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS **TUTKIMUSRAPORTTI**
Patentti- ja innovaatiolinja

PATENTTIHAKEMUS NRO	LUOKITUS
905369	C07D 403/12

TUTKITTU AINEISTO
Patenttijulkaisukokoelma (FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US), tutkitut luokat
Tiedonhaut ja muu aineisto

VIITEJULKAISUT		
Kategoria*)	**Julkaisun tunnistetiedot**	**Koskee vaatimuksia**
	US-A-3 890 319, C07d 51/78 DE-A-2 538 620, C07D 403/12	

*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna
Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu
A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este

Päiväys	Tutkija