

KIVONAT.

Ügyszám: P 94 00273

CIM:

(-) és (+) 10-(1-azabicyclo[2.2.2.]okt-3-il-metil)-10H-fenotiazin kvaterner ammónium származékok, azokat tartalmazó gyógyszerkészítmények és eljárások előállításukra.

Bejelentő: Laboratori Guidotti S.P.A.
Pisa, IT.

Bejelentés napja: 1994. 02.01.

Feltalálók: Giorgi Raffaello, Pisa
Subissi Alessandro, Calci
Turbanti Luigi, Pisa

Elsőbbség: 1991. 08.7. (IT) (MI 91A002225)

A Nemzetközi bejelentés: PCT/EP92/01759

A nemzetközi bejelentés dátuma: 1992.08.03.

A találmány (I) általános képletű kvaterner ammónium vegyületek jobbraforgató (+) és balraforgató (-) enantiomorf származékaira vonatkozik, amely képletben R jelentése C alkil- vagy ciklopropil-csoport,

1-4

X jelentése halogén-atom, dimetil-szulfát, p-toluol-szulfonsav,

és olyan gyógyszerkészítményekre, amelyek hatóanyagként a fenti vegyületeket tartalmazzák.

A találmány tárgya továbbá eljárás ezen vegyületek előállítására, oly módon, hogy mequitazin racém keverékét rezolválják a két megfelelő jobbra- illetve balraforgató enantiomorf származékká királis fázisokat alkalmazó kromatográfiás elválasztási módszerek alkalmazásával, és az így kapott enantiomorfokat megfelelő reagensekkel kvaternerizálják.

Az új gyógyszerek bronchiális asztma, illetve nátha és szénanátha kezelésére alkalmasak.

Képviselő: Sonfai és Társai Iparjogi Iroda Kft.

Gwala

SOMFAT & TÁRSAT
Iparjogi Iroda Kft.
H-1137 Budapest
Dózsa ut. 38. II. E.

A

66570

- 273/94 KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

NSZOR C07D 453 102
C07D 279 118
A61K 31 1 435
A61K 31 1 574

(-) és (+) 10-(1-azabicyclo[2.2.2.]okt-3-il-metil)-10H-
-~~1~~-fenotiazin kvaterner ammónium származékok,
azokat tartalmazó gyógyszerkészítmények és
eljárások előállításukra.

Bejelentő: Laboratori Guidotti S.P.A.

Pisa, Olaszország

Béjelentés napja: 1994. február 04. 94

Feltalálók: Giorgi Raffaello, Pisa
Subissi Alessandro, Calci
Turbanti Luigi, Pisa
olasz állampolgárok.

Elsőbbség: 1991. augusztus 7. [Olaszország]

(MI 91A002225) sz. szab. bejelentés

Nemzetközi bejelentés: PCT/EP 92/01759

1992. augusztus 3. .

Wolfgang ...

A találmány (-) és (+)

10-(1-azabicyclo[2.2.2.]okt-3-il-metil)-10 H-fenotiazin kvaterner ammónium származékokra, azokat tartalmazó gyógyszerkészítményekre és ezek előállítására szolgáló eljárásokra, valamint alkalmazásukra vonatkozik.

A találmány tárgyát képezik a (I) általános képletű 10-(1'-azabicyclo[2'.2'.2'.]okt-3-il-metil)-10 H-fenotiazin kvaterner ammónium vegyületek jobbraforgató (+) és balraforgató (-) enantiomorf származékai, ahol a képletben

R jelentése C₁₋₄ alkil- vagy ciklopropil-csoport,

X jelentése halogén, dimetil-szulfát, p-toluol-szulfonsav,

és olyan gyógyszerkészítmények, amelyek a fenti vegyületeket tartalmazzák.

Az 10-(1'-azabicyclo[2'.2'.2'.]okt-3-il-metil)-10 H-fenotiazin (nemzetközi nevén mequitazin néven ismert) vegyület képletét a (II) ábrán mutatjuk be. A vegyületet az irodalom jól ismerteti és antihisztamin hatását is leírták (lásd például a 2.034.605 sz. francia szabadalmi leírást). Ismertek továbbá a (II) képletű vegyület kvaterner származékai, a racém módosulatok alakjában, amelyek jelentős hörgőgörcs elleni aktivitással rendelkeznek (159.059 sz. európai szabadalmi bejelentés).

A mequitazin kvaterner származékai valamint maga a mequitazin asszimetriacentrummal rendelkezik az 1-azabicyclo[2.2.2.]oktán 3 helyzetű szénatomján. Mindegy-

ik racém kvaterner származék, így tehát két (+) és (-) enantiomorfból áll 50 : 50 arányban. Meglepő módon azt találtuk, hogy a (I) általános képletű , a képletben R jelentése C₁₋₄ alkil- vagy ciklopropil -csoport, X jelentése halogén, dimetil-szulfát, p-toluol-szulfonsav, mequitazin kvaterner ammónium származékok enantiomorf formái különféle tulajdonságokkal rendelkeznek, amelyek mindegyiküket alkalmassá teszi arra, hogy igen előnyösen más-más kezelésekhez használjuk fel azokat.

A jelen találmány értelmében C₁₋₄ alkil-csoport jelentése:

metil-, etil-, propil-, izopropil-, butil-, izobutil-, vagy t-butil- csoport.

A jelen találmány szerint halogén-ion jelentése: jód-, bróm-, klór-ion.

Részletesebben elmondva azt találtuk, hogy míg mindkét (I) általános képletű enantiomorf egyaránt hatásos az acetil-kolin szempontjából - ami már önmagában is meglepő tulajdonság -, a jobbraforgató (+) enantiomorf jelentősen hatásosabb a hisztamin vonatkozásában, mint a megfelelő balraforgató (-) enantiomorf. Ezen túlmenően azt találtuk, hogy a jobbraforgató enantiomorf kevésbé toxikus, mint a balraforgató.

A jobbraforgató enantiomorfot tehát ezennel olyan hatóanyagként ajánljuk, amely különlegesen alkalmas hörgőszűkülettel járó és allergiás betegségek kezelésére

(különösen pedig a bronchiális asztma és szénanátha -[rinitisz]-kezelésére). Alkalmos továbbá minden olyan patológus tünet kezelésére, amely hisztaminnal vagy acetil-kolinval kapcsolatos. A hisztamin az asztmás hörgőszűkület valamint az orrban lévő nyálkahártya abnormális reagálásának egyik fő mediátora allergikus rinitisz esetén. Az acetil-kolin mind a légzőrendszer tónusát, mind az orrban lévő nyálkahártya szekrécióját szabályozza. Ismert tény továbbá az is, hogy az asztmás bronchokonstrikció és rinitisz fellépésekor több mediátor is szerepet játszik. Ezek szerepe a betegség típusától és előrehaladottságától valamint a betegétől is függ. Az a tény, hogy a jobbraforgató enantiomorf mindkét aktivitást egymással összeadható koncentrációk esetén biztosítja, különösen érdekes használható eszközt biztosít ezen és hasonló betegségek kezelésére.

A találmányunk szerinti enantiomorfok előállításakor a mequitazin (I) racém keverékét rezolválva bontjuk szét megfelelő jobbra- illetve balraforgató enantiomorf formákra, az általánosan ismert kromatográfiás elválasztási technikák alkalmazásával, amelyek a királis fázisok alkalmazására alapulnak. Különösen előnyösnek bizonyult cellulóz preparatív kromatográfiás oszlopok alkalmazása akkor, ha eluensként hexán / etanol (94/6), hexán / metanol (98/2), hexán / etanol / TEA (98/0.8/1.2) elegyeket használunk. Az így kapott enantiomorfokat azután megfelelő reagensekkel kvaternerizáljuk, például azokkal, amelyeket az alábbiakban megadott példákban adtunk meg a szemléltetés, de nem a korlátozás szándékával.

A találmány szerinti enantiomorfok különösen hasznosak olyan gyógyszerkészítmények előállítására, amelyek topikálisan alkalmazhatók, főleg inhalációs és intranazális adagolás esetére. Alkalmasak azonban orális beadás esetén is. A gyógyszerkészítmények egyik előnyös típusa, amely a találmány értelmében a hatóanyag adagolását teszi lehetővé, az alábbi 3. példában kerül bemutatásra, de csupán a szemléltetés kedvéért, és nem korlátozás céljából.

A találmány részleteit az alábbi példákban mutatjuk be, anélkül, hogy az oltalmi kört ezen példákra kívánnánk korlátozni.

PÉLDÁK

1. Példa

200 ml aceto-nitrilben szuszpendálunk 35 g (0,1 mól) mequitazin (-) enantiomorfot, amelyet preparatív mequitazin racém keverékből kromatográfiával nyertünk királis fázis oszlopon való elválasztással. A szuszpenziót 10 percen át keverjük homogenizálás céljából. Ezután hozzáadunk 50 ml (0.2 mól) metil-jodidot, és az így kapott oldatot 50 °C-ra melegítjük, majd ezen a hőmérsékleten tartjuk 16 órán át. A reakció keveréket 20 °C-ra hűtjük, majd tovább hűtjük 0-4 °C-ra és ezen a hőmérsékleten tartjuk 48 órát át. A kapott szilárd kristályokat csökkentett nyomáson leszűrjük, a szűrőn etil-éterrel mossuk majd csökkentett nyomáson 50 °C-on állandó súlyig szárítjuk.

A termék 42 g (-)-1-metil-3-(10'-H-fenotiazin-10'-il-)metil -1-azoniabiciklo[2.2.2.]oktán-jodid (vagyis a (I) általános képletű vegyület abban az esetben, amikor R jelentése metil és X - jelentése jodid-ion). A termelés 90 %-os, a termék krémszínű szilárd kristályok alakjában jelenik meg, amelyek a következő fiziko-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek:

HPLC: Nucleosil C₁₈[®] 150x4.6 oszlop

eluens: MeOH/CH₃CN/NH₄H₂PO₄ 0.425% = 43/25/32

folyási sebesség: 0.5 ml/min λ = 254 nm

injektálás: 4 μl metil-alkoholban

egység maximum r.t. 6.4 értéken.

Olvadáspont: 142 - 144 °C

$[\alpha]_{D^{20}}$: -21.3° (1% CH₃OH koncentráció)

Elemanalízis C₂₁H₂₆N₂S-re számolva:

| | C% | H% | N% | S% |
|-----------|-------|------|-------|------|
| számított | 54.31 | 5.59 | 27.35 | 6.89 |
| talált | 54.06 | 5.60 | 27.20 | 6.80 |

¹H NMR (CDCl₃): 7.21-6.84 (2m, 8H,

[1',2',3',4',6',7',8',9']);

4.27-3.93 (m, 2H, [9]); 9.93-3.46 (m, 6H [2,6,7]);

3.21 (s, 3H, [10]); 2.71 (m, 1H, [3]); 2.30 (d, 1H [4]);

1.99-1.78 (2m, 4H [5,8])

¹³C NMR (CDCl₃): 144.62 (C-9'a, C-10'a); (C-1', C-4', C-6', C-9');

126.97 (C-4'a, C-5'a); 123.26 (C-2', C-8'); 116.25 (C-

3', C-7'); 60.49 (C-9); 57.38 (C-6); 57.21 (C-7); 52.54

(C-3); 48.30 (C-2); 32.06 (C-10); 24,87 (C-8); 20.90

(C-4); 19.57 (C-5).

A termék optikai tisztaságát a szabad bázisra HPLC méréssel királis fázis-oszlopon határoztuk meg az alábbiak szerint:

oszlop CHIRACEL O.D.®

eluens hexán / etil-alkohol = 94/6

folyási sebesség 0.5 ml / min. $\lambda = 254$ nm

injektálás 4 μ l hexán / etilakohol elegyben

csúcs 98 % r.t. = 15.03 értéken.

2. Példa

160 ml aceto-nitrilben szuszpendálunk 28 g (0,08 mól)

mequitazin (+) enantiomorfot, amelyet preparatív

kromatográfiával nyertünk királis fázis- oszlopon való elválasztással mequitazin racém keverékből. A szuszpenziót 10 percen át keverjük homogenizálás céljából. Ezután hozzáadunk 40 ml (0.64 mól) metil-jodidot, és az így kapott oldatot 50 °C-ra melegítjük, majd ezen a hőmérsékleten tartjuk 16 órán át. A reakció- keveréket 20 °C-ra hűtjük, majd tovább hűtjük 0-4 °C-ra és ezen a hőmérsékleten tartjuk 48 órát . A kapott szilárd kristályokat csökkentett nyomáson leszűrjük, a szűrőn etiléterrel mossuk, majd csökkentett nyomáson 50 °C-on állandó súlyig szárítjuk.

A termék 35 g (+) 1-metil-3-(10'- H-fenotiazin-10'-il-)metil -1-azoniabicyclo[2.2.2.]oktán-jodid (vagyis a (I) általános képletű vegyület abban az esetben, amikor R jelentése metil-csoport és X jelentése jodid-ion). A termelés 94 %-os, a termék krémszínű szilárd kristályok alakjában jelenik meg, amelyek a következő fiziko-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek:

¹H NMR; ¹³C NMR: lásd 1. példa

HPLC lásd 1. példa

királis-fázis HPLC: csúcs r.t. = 16.73 (97%)

(l).p.: 142-145 °C

$[\alpha]_D^{20} = + 21^\circ$ (1% CH₃OH koncentráció)

Elemanalízis C₂₁H₂₆N₂S-re számolva:

| | C% | H% | J% | N% | S% |
|-----------|-------|------|-------|------|------|
| számított | 54.31 | 5.59 | 27.35 | 6.03 | 6.89 |
| talált | 54.00 | 5.62 | 27.18 | 5.96 | 6.82 |

3. Példa

A (I) általános képletű (+) vagy (-) vegyületekből az

alábbi összetételű gyógyszerkészítményt állíthatjuk elő:

| | |
|-----------------------------------|----------|
| hatóanyag | 100 mg |
| szorbitán- trioleát (Arlacel 85R) | 20 mg |
| Freon 11R | 3380 mg |
| Freon 12-114R (65:35) | 10500 mg |

A keveréket kis mérőhengerbe tesszük, amely adagoló szeleppel van ellátva.

A fenti készítmény 50 és 200 μg közötti aktív hatóanyag tartalmú mért adagok beadását teszi lehetővé.

In vitro mérések:

4. Példa

Hatástani vizsgálatok

Az 1. és 2. példák szerint előállított enantiomorfokat összehasonlító vizsgálatoknak vetettük alá, hogy megállapítsuk farmako-toxikológiai tulajdonságaikat, különös tekintettel a következő szempontokra:
 acetil-kolin és hisztamin antagonizmus tengeri malacok izolált légcsövén, acetil-kolin és hisztamin által indukált broncho-konstrikció tengeri malacon (Konzett-Roessler módszer), akut toxicitás egéren.

Az eredmények azt igazolják, hogy mindkét enantiomorf acetil-kolin és hisztamin kompetitív antagonistaként működik tengeri malac légcsövön mérve. Megállapítható, hogy míg mindkét enantiomorf egyaránt hatásos acetil-kolinra (a pA_2 értékek 7.96 illetve 7.81 a balraforgató illetve a jobbraforgató enantiomorf esetén), a jobbraforgató (+) enantiomorf hisztamin esetében szignifikánsan hatásosabb (a pA_2 8.5), mint a

balrafordató (-) enantiomorf (a pA₂ érték 7.09).

5. Példa

In vivo eredmények

Az in vitro eredményeket az in vivo vizsgálatok megerősítették. Ezek azt igazolták, hogy a két enantiomorf egyformán hatásos az acetil-kolin okozta broncho-konstriktó korlátozására, míg a jobbrafordató (+) enantiomorf szignifikánsan hatásosabb a hisztamin okozta bronho-konstriktó kivédésére, illetve visszaszorítására mint a (-) balrafordató enantiomorf (ED₅₀: 63 illetve 239 nmól kg⁻¹).

6. Példa

Toxikológiai vizsgálatok

Az egereken végzett intravénás akut toxicitási vizsgálatok azt mutatták, hogy a jobbrafordató (+)enantiomorf toxicitása [LD₅₀ 95 %-os fiduciális határok esetén: 3.65 (3.45 - 3.86) mg kg⁻¹] szignifikánsan alacsonyabb, mint a balrafordató (-)-enantiomorf toxicitása [2.68 (2.61 - 2.74) mg kg⁻¹].

1. Táblázat

In vitro vizsgálatok

Acetil-kolin és hisztamin antagonizmus esetén, tengerimalac izolált hörgőjén

| | Acetil-kolin | Hisztamin |
|------------------------------|-----------------|-----------|
| | pA ₂ | |
| Balrafordató enantiomorf (-) | | |
| 1. Példa | 7.96 | 7.09 |

Jobbraforgató enantiomorf (+)

| | | |
|----------|------|------|
| 2. példa | 7.81 | 8.05 |
|----------|------|------|

In vivo vizsgálatok

Tengerimalac acetilkolin és hisztamin okozta
hörgőgörcsének visszaszorítása:

| | Acetilkolin | Hisztamin |
|-------------------------------|----------------------------|-----------|
| | ED ₅₀ (nmol/kg) | |
| Balraforgató enantiomorf (-) | | |
| 1. Példa | 65 | 239 |
| Jobbraforgató enantiomorf (+) | | |
| 2. példa | 71 | 63 |

Akut toxicitás egéren:

LD₅₀ (mg kg⁻¹ 95 %-os fiduciális határral)

Balraforgató enantiomorf (-)

| | |
|----------|------------------|
| 1. Példa | 2.68 (2.61-2.74) |
|----------|------------------|

Jobbraforgató enantiomorf (+)

| | |
|----------|------------------|
| 2. példa | 3.65 (3.45-3.86) |
|----------|------------------|

Szabadalmi igénypontok.

1.

(I) általános képletű -a képletben

R jelentése C₁₋₄ alkil- vagy ciklopropil-csoport,

X jelentése halogén, dimetil-szulfát, p-toluol-szulfonsav-

(-) 10-(1'-azabicyclo[2'.2'.2']okt-3'-il)-metil -10 H-fenotiazin kvaterner ammónium származékok.

2.

(I) általános képletű -a képletben

R jelentése C₁₋₄ alkil- vagy ciklopropil-csoport,

X jelentése halogén, dimetil-szulfát, p-toluol-szulfonsav-

(+) 10-(1'-azabicyclo[2'.2'.2']okt-3'-il)-metil -10 H-fenotiazin kvaterner ammónium származékok.

3.

Az 1. és 2. igénypont szerinti enantiomorfok, amelyek (I) általános képletében R jelentése metil-csoport és X jelentése jód.

4.

Az 1. és 2. igénypont szerinti enantiomorfok, amelyek (I) általános képletében R jelentése metil-csoport és X jelentése klór.

5.

Az 1. és 2. igénypont szerinti enantiomorfok, amelyek (I) általános képletében R jelentése metil-csoport és

X jelentése bróm.

6.

Az 1. és 2. igénypont szerinti enantiomorfok, amelyek (I) általános képletében R jelentése metil-csoport és X jelentése dimetil- szulfát.

7.

Az 1. és 2. igénypont szerinti enantiomorfok, amelyek (I) általános képletében R jelentése metil-csoport és X jelentése p-toluol- szulfonsav.

8.

Eljárás a (I) általános képletű

-a képletben

R jelentése C₁₋₄ alkil- vagy ciklopropil-csoport,

X jelentése halogén, dimetil-szulfát, p-toluol-
szulfonsav-

(-) 10-(1'-azabicyclo[2'.2'.2']okt-3'-il-metil)-10 H-fenotiazin kvaterner ammónium származékok előállítására, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy a (II) képletű mequitazin racém keverékét a két megfelelő jobbra- illetve balraforgató enantiomorf származékká rezolváljuk királis fázisokat alkalmazó kromatográfiás elválasztási módszerek alkalmazásával, és az így kapott enantiomorfokat megfelelő reagensekkel kvaternerizáljuk.

9.

Gyógyszerkészítmény, a z z a l j e l l e m e z v e, hogy hatóanyagként valamely (I) általános képletű (+)

10-(1'-azabicyclo[2.2.2.]okt-3'-il)-metil -10 H-fenotiazin kvaterner ammónium vegyületet - a képletben

R jelentése C₁₋₄ alkil- vagy ciklopropil-csoport,

X jelentése halogén, dimetil-szulfát, p-toluol-szulfonsav -

tartalmaz.

10.

Gyógyszerkészítmény, a z z a l j e l l e m e z v e,

hogy hatóanyagként valamely (I) általános képletű (-)

10-(1'-azabicyclo[2.2.2.]okt-3'-il)-metil -10 H-fenotiazin kvaterner ammónium vegyületet - a képletben

R jelentése C₁₋₄ alkil- vagy ciklopropil-csoport,

X jelentése halogén, dimetil-szulfát, p-toluol-szulfonsav -

tartalmaz.

11.

Hatóanyagként a 2-7. igénypontok szerinti jobbraforgató (+) enantiomorfot tartalmazó gyógyszerkészítmények.

12.

Hatóanyagként a 1, 3-7. igénypontok szerint balraforgató (-) enantiomorfot tartalmazó gyógyszerkészítmények.

13.

Bronchiális asztma, illetve nátha és szénanátha

kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmény, a z z a l

j e l l e m e z v e, hogy hatóanyagként valamely (I)

általános képletű (+) 10-(1'-azabicyclo[2.2.2.]okt-3'-il)-metil -10 H-fenotiazin kvaterner ammónium vegyületet - a

képletben

R jelentése C₁₋₄ alkil- vagy ciklopropil-csoport,

X jelentése halogén, dimetil-szulfát, p-toluol-szulfonsav -

tartalmaz.

14.

Eljárás a 9-12. igénypontok szerinti gyógyszerkészítmények előállítására, a z z a l j e l - l e m e z v e, hogy valamely (I) általános képletű (+) vagy (-)10-(1'-azabicyclo[2'.2'.2'.]okt-3'-il)-metil -10 H-fenotiazin kvaterner ammónium vegyület - a képletben

R jelentése C₁₋₄ alkil- vagy ciklopropil-csoport,

X jelentése halogén, dimetil-szulfát, p-toluol-szulfonsav -

gyógyszerészetileg hatásos mennyiségét megfelelő hordozókkal és más adalék anyagokkal keverünk össze, olyan készítmények előállítására, amelyek a közvetlen helyi kezelésre vagy orális adagolásra alkalmasak.

15.

A 9.-12. igénypontok szerinti gyógyszerkészítmények alkalmazása bronchiális asztma és nátha kezelésére.

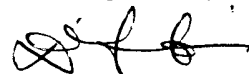
16.

A 10. igénypont szerinti gyógyszerkészítmények alkalmazása bronchiális asztma és nátha kezelésére.

A bejelentő helyett
a meghatalmazott

*1. rész
Gw...*

SOMFAI & TÁRSAI Kft.
1137 Budapest, Pozsonyi út 38.



Dr Somfai Éva

