



(19) Országkód

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

218 659 B

(21) A bejelentés ügyszáma: P 93 01911

(22) A bejelentés napja: 1992. 01. 03.

(30) Elsőbbségi adatok:

9100049.7 1991. 01. 03. GB

9118947.2 1991. 09. 05. GB

(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/FI 92/00003

(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 92/12135

(51) Int. Cl.⁷

C 07 D 237/04

A 61 K 31/50

A 61 P 9/08

A 61 P 9/12

(40) A közzététel napja: 1994. 02. 28.

(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 2000. 10. 30.

(72) Feltalálók:

Bäckström, Reijo, Helsinki (FI)

Haarala, Jorma, Helsinki (FI)

Haikala, Heimo, Espoo (FI)

Honkanen, Erkki, Espoo (FI)

Nore, Pentti, Helsinki (FI)

Wikberg, Tom, Espoo (FI)

(73) Szabadalmaz:

Orion-Yhtymä Oy, Espoo (FI)

(74) Képviselő:

dr. Gárdonyi Zoltánné, DANUBIA Szabadalmi
és Védjegy Iroda Kft., Budapest

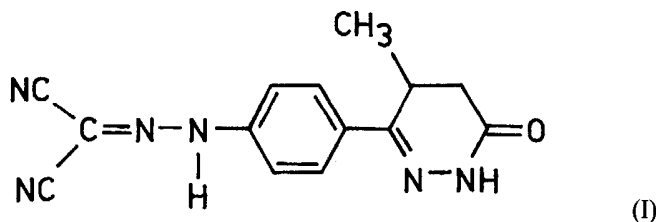
(54)

**Eljárás (–)-{[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-
fenil]-hidrazino}-propán-dinitril
és ezt tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására**

KIVONAT

A találmány (I) képletű {[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazono}-propán-dinitril optikailag lényegében véve tiszta (–)-enantiomerjének, valamint farmakológiailag elfogadható sójának az előállítási eljárására vonatkozik. A termék kardiotó-

niás, magasvérnyomás-ellenes és értágító szerként alkalmazható vértolulós szívrokkelenség kezelésében. A találmány tárgykörébe tartozik az említett enantiomert tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítási eljárása is.



HU 218 659 B

A találmány az (I) képletű {[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril tiszta (-)-enantiomerjének előállítására.

A találmány kiterjed az enantiomer sóira, az enantiomer, illetve sóit tartalmazó készítményekre, valamint a vegyületek és készítmények előállítására.

A találmány szerinti vegyületek kardiotóniás, magasvérnyomás-ellenes és értágító szerként alkalmazható vértululósos szívrendellenességek kezelésében.

Az (I) képletű {[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril racém elegyét (olvadáspont: 258–263 °C) a 2 228 004 számú nagy-britanniai szabadalmi leírás ismerteti. Itt leírják az (I) képletű vegyület vértululósos szívrendellenességek kezelésére való potenciális használhatóságát és szignifikáns kalciumfüggő kötődését a tropinhoz.

Kísérleteink során meglepő módon úgy találtuk, hogy a kardiotóniás hatás túlnyomórészt a vegyület optikailag aktív (-)-enantiomerjének köszönhető. Úgy találtuk továbbá, hogy a (-)-enantiomer vízzoldhatósága a racémához viszonyítva több, mint 30-szoros. A (-)-enantiomer biológiai hozzáférhetősége szintén meghaladja a racémátét. A tiszta (-)-enantiomer tehát sokkal alkalmasabb vértululósos szívrendellenességek kezelésére szolgáló gyógyszerkészítmények hatóanyagaként, mint a racém vegyület.

Az (I) képletű {[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril (-)- és (+)-enantiomerjei úgy választhatók el, hogy a racém elegyet királis fázisú kromatográfiás oszlopon vezetjük és a (-)-enantiomert kinyerjük. Ez a módszer azonban nagy mennyiségű anyag esetén hosszadalmas.

Az (I) képletű vegyület tiszta enantiomerjei előállításának másik módja az, hogy intermediereként a 6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on megfelelő, optikailag aktív enantiomerjét használjuk. A (II) képletű racém 6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on ismert módon állítható elő [J. Med. Chem. 17, 273–281 (1974)]. A (II) képletű racém vegyület rezolválása azonban igen bonyolult, mivel a molekulában levő 4-aminocsoport gyengén bázikus. A 6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on optikailag aktív savakkal alkotott sói kristályosítás során könnyen vízszahidrolizálnak (II) képletű és rezolváló vegyületté, ami zavarja vagy teljesen lehetetlenné teszi a rezolválást.

A (II) képletű vegyület tiszta enantiomerekké történő szétválasztását királis HPLC-oszlopon az EP-208 518 számú európai szabadalmi bejelentés ismerteti. E módszer azonban ipari méretekben nem alkalmazható. A (-)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on hétlépéses, (+)-2-klór-propionsavból kiinduló enantioszelektív szintézise szintén ismert [J. Org. Chem. 56, 1963 (1991)]. Az eljárás teljes kihozatala mindössze 12%, 97,2%-os optikai tisztaságú (-)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on.

Kísérleteink során úgy találtuk, hogy a (II) képletű vegyület jó enantiomerelválasztása érhető el, ha L- vagy D-borkősavat használunk a (II) képletű vegyü-

letre számítva főlegesen, előnyösen körülbelül 2–3 ekvivalens mennyiségben, 2-propanolban. A (IIIb) képletű (-)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on-(L-tartarát)-(2-propanol)-szolvát és a (IIIa) képletű (+)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on-(D-tartarát)-(2-propanol)-szolvát savas sók jó kihozattal és gyakorlatilag optikailag tisztán kristályosodnak.

Úgy találtuk továbbá, hogy a részben dúsított enantiomerelegy kisebb része dioxánból a (II) képletű racém vegyület formájában kristályosítható ki, míg a nagyobb rész oldatban marad. Így, ha a fenti kristályosítással kapott (IIIa) és (IIIb) képletű sókat leszűrjük, a szabad bázist kálium-karbonát-oldattal felszabadítjuk, és a terméket dioxánnal kezeljük, ezzel a kétfázisú kristályosítással a (II) képletű vegyület két enantiomerjét 99% fölötti, nagy optikai tisztasággal kapjuk. Ezen eljárás kihozatala szintén nagyon jó, mivel a racém (II) képletű vegyületet dioxánból kristályos formában kapjuk, és így visszavihetjük az eljárásba. Mind az L-, mind a D-borkősav rezolválószer alkalmazhatjuk az eljárásban, a természetes L-borkősav azonban előnyösebb, mert olcsóbb.

Az (I) képletű vegyület optikailag lényegében véve tiszta (-) és (+) enantiomerjei azután a (II) képletű vegyület optikailag lényegében véve tiszta (-), illetve (+) enantiomerjeiből ismert módon, például a 2 228 004 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásban ismertetett módon nagy optikai tisztasággal és közel kvantitatív kihozattal előállíthatók. A 2 228 004 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásban ismertetett eljárás az (I) képletű vegyület előállítására abban áll, hogy a (II) képletű vegyületet savas közegben nátrium-nitrittel és malonitrillel kezeljük.

Az „optikailag lényegében véve tiszta” kifejezésen 90% fölötti, előnyösen 95% fölötti, még előnyösebben 99% fölötti optikai tisztaságot értünk.

Az (I) képletű vegyület enantiomerjeinek sói ismert módon állíthatók elő. A farmakológiailag elfogadható sók gyógyszerkészítmények hatóanyagaként alkalmazhatók, előnyösek azonban az alkálifém- és alkáliföldfém-sók.

Oldhatóság

1. táblázat

Az (I) képletű {[4-(1,4,5,6-Tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril racém elegyének és (-)-enantiomerjének vízzoldhatósága 67 mmol/l-es foszfátpufferben (pH 2)

Vegyület	Oldhatóság (mg/ml)
(-)-Enantiomer	0,029
Racém	0,0007

Kardiotóniás hatás

Az (I) képletű {[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril (-)- és (+)-enantiomerjének kardiotóniás hatását tengerimalac izolált, elektromosan ingerelt jobb kamrai kapil-

lárís izmán tanulmányoztuk. A vizsgálatokat normál Tyrode-féle fürdőben végeztük [Otani et al., Japan. J. Pharmacol. 45, 425 (1987)].

Az eredményeket a 2. táblázatban foglaltuk össze, ahol látható, hogy a (–)-enantiomer 47-szer hatásosabb a (+)-enantiomernél.

2. táblázat

Az (I) képletű

{[4-(1,4,5,6-Tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril (–) és (+)-enantiomerjének kardiotóniás hatása tengerimalac kapilláris izmában

Enantiomer	EC ₅₀ (μmol/l)
(–)	0,06
(+)	2,8

Biológiai hozzáférhetőség

Az 1. ábrán bemutatjuk a {[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril teljes koncentrációját kutyaplazmában, 1 mg/kg racém elegy és 0,5 mg/kg (–)-enantiomer egyetlen orális dózisban történt adagolása után. Az A görbe a (–)-enantiomerre, míg a B görbe a racém {[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitrilre vonatkozik. Az ábrán látható, hogy a (–)-enantiomer használata esetén a racém elegy dózisének felénél kevesebb szükséges ugyanolyan plazmakoncentráció eléréséhez.

A találmány szerinti, farmakológiailag hatásos vegyület ismert módon adagolási formákká alakítható. Emlősöknek, például embernek adagolható önmagában vagy alkalmas farmakológiai segédanyagokkal kombinálva tablettá, drázsé, kapszula, kúp, emulzió, szuszpenzió vagy oldat formájában. A találmány szerinti készítmény a találmány szerinti, farmakológiailag hatásos vegyület terápiásan hatásos mennyiségét tartalmazza. A hatásos vegyület mennyisége a készítményben körülbelül 0,5–100 tömeg%. A találmány szerinti vegyület embernek általában orálisan naponta 1–50 mg mennyiségben adagolható. A készítmény alkalmas komponenseinek megválasztása szakember rutinfeladata. Nyilvánvaló, hogy a szakterületen általában alkalmazott alkalmas hordozók, oldószeresek, gélképző komponensek, diszpergálószeresek, antioxidánsok, színezőanyagok, édesítőszeresek, nedvesítőszeresek és más komponensek szintén alkalmazhatók. A (I) képletű vegyület (–)-enantiomerjének LD₅₀-értéke, patkányoknak intravénásan adagolva, 57 mg/kg.

A készítmény a gyógyszer adagolandó formájának megfelelően készíthető el, rendszerint megfelelő a nem bevont tablettá. Bizonyos esetekben tanácsos bevont tablettát, úgynevezett enterotablettát adagolni annak biztosítására, hogy a hatóanyag elérje a gasztrointesztinális traktus kívánt területét. Drázsék és kapszulák szintén adagolhatók.

A találmány szerinti megoldást a következő példákkal szemléltetjük.

1. példa

Racém 6-(4-amino-fenil)-5-metil piridazin-3(2H)-on rezolválása L-borkőssavval

203 g (1 mol) (±)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on feloldunk 40 l 2-propanolban. Az oldathoz fokozatosan hozzáadunk 300 g (2 mol) L-borkőssavat. Az elegyet keverés közben addig melegítjük, amíg tiszta oldatot nem kapunk. Az oldatot keverés közben lassan szobahőmérsékletre hűtjük, majd egy éjszaka át 20 °C-on keverjük. A kapott kristályos terméket [(IIIb)] leszűrjük. A nedves sót 1,5 l vízben feloldjuk, és keverés közben kálium-karbonát-oldatot (190 g kálium-karbonát 0,74 l vízben) adunk hozzá. A szabad bázist leszűrjük, vízzel mossuk és megszáritjuk. A kapott 104,6 g terméket melegítés közben feloldjuk 0,6 l dioxánban, majd hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni. A kapott 74,6 g racém 6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on leszűrjük, és a szűrletet vákuumban szárazra pároljuk, így 23,8 g kristályos szilárd (–)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on kapunk, 99,5%-os tisztasággal, olvadáspont: 207–210 °C, $[\alpha]_D^{25} = -383^\circ$ (etanol-víz-koncentrált sósav 17:2:1). A (+)-enantiomert és a (II) képletű vegyület racém elegyét tartalmazó 2-propanolos oldatot vákuumban szárazra pároljuk. A maradékot a fenti módon kálium-karbonát-oldattal kezeljük, így 87,3 g terméket kapunk, amely a (+)-enantiomer és a racém elegy keveréke, és amelyet melegítés közben feloldunk 0,48 l dioxánban. Hűtés után 48,0 g racémotot leszűrünk, és a szűrletet vákuumban szárazra pároljuk, így 26,1 g szilárd kristályos (+)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on kapunk 99,5%-os tisztasággal, olvadáspont: 206–209 °C, $[\alpha]_D^{25} + 391^\circ$ (etanol-víz-koncentrált sósav 17:2:1). Összesen 122,6 g racémotot nyerünk ki, a (–)-enantiomer kinyerése 59,2%, a (+)-enantiomere 64,9%.

2. példa (referenciapélda)

(+)-{[4-(1,4,5,6-Tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril

0,2 g (+)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on és 0,5 ml koncentrált sósav 8,0 ml vízzel készült oldatához keverés és hűtés (0–5 °C) közben hozzáadjuk 80 mg nátrium-nitrit 0,5 ml vízzel készült oldatát. 10 perc múlva hozzáadjuk még 70 mg malononitril 0,5 ml vízzel készült oldatát, majd az elegyet szobahőmérsékleten 1,5 óra hosszat keverjük. Ezután a pH-t nátrium-acetáttal 6,0 értékre állítjuk. A terméket vízzel és etanollal mossuk. Kinyerés 98%, olvadáspont: 210–214 °C, $[\alpha]_D^{25} = +568^\circ$ (tetrahydrofuran-metanol 1:1).

3. példa

(–)-{[4-(1,4,5,6-Tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril

0,2 g (–)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on és 0,5 ml koncentrált sósav 8,0 ml vízzel készült oldatához keverés és hűtés (0–5 °C) közben hozzáadjuk 80 mg nátrium-nitrit 0,5 ml vízzel készült oldatát. 10 perc múlva hozzáadjuk még 70 mg malononitril

0,5 ml vízzel készült oldatát, majd az elegyet szobahőmérsékleten 1,5 óra hosszat keverjük. Ezután a pH-t nátrium-acetáttal 6,0 értékre állítjuk. A terméket vízzel és etanollal mossuk. Kihozatal 97%, olvadáspont: 210–214 °C, $[\alpha]_D^{25} = -566^\circ$ (tetrahydrofuran-metanol 1:1).

4. példa (referenciapélda)

(IIIa) képletű tiszta diasztereomer só előállítása

508 g (2,5 mmol) az 1. példa szerinti módon előállított tiszta (+)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-ont feloldunk 100 ml 2-propanolban. Hozzáadunk 750 mg (5,0 mmol) D-borkósavat, és az elegyet forrásig hevítjük. Hűtés hatására 800 mg kristályos (+)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on-(D-tartarát)-mono(2-propanol)-szolvátot kapunk, olvadáspont: 97–105 °C.

5. példa (referenciapélda)

(IIIb) képletű tiszta diasztereomer só előállítása

A fenti módon járunk el, kiindulási anyagként (–)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-ont és L-borkósavat alkalmazunk. Olvadáspont: 98–106 °C.

6. példa

(–)-6-(4-Amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on és (–)-{[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril előállítása

203 g (1 mol) (±)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-ont melegítés közben feloldunk 10 l 2-propanolban. Az oldathoz fokozatosan hozzáadunk 300 g (2 mol) L-borkósavat. Az elegyet melegítés közben addig keverjük, amíg tiszta oldatot nem kapunk. Az oldatot 3 óra alatt lassan 50 °C-ra hűtjük, és egy éjszakán át tovább keverjük 50 °C-on. A kapott kristályos terméket leszűrjük, majd az 1. példa szerinti módon járunk el. Így 30,3 g (–)-6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-ont kapunk (az elméleti 97,4%-a). Az optikai tisztaság 99,7%-os. Összesen 140,8 g racémátot nyerünk ki.

A vegyületek optikai tisztaságát nagy sebességű folyadékkromatográfiával határozzuk meg, amelyhez Waters 600 E gradiensszivattyút, Waters 990 fotodiódás sordetektort és Waters 700 Satellite Wisp injektort (Millipore Co.) használunk, amelyeket egy NEC Powemate SX Plus komputer szabályoz.

A 6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on enantiomerjeit cellulóz típusú királis oszlopon (Chiracel=OJ, 4,6×250 mm Diacel Chemical Industries Ltd. gyártmány) választjuk el. A mobil fázis összetétele: 97 térfogat% 2-propanol és 3 térfogat% hexán. Átfolyási sebesség 0,3 ml/perc.

A {4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril enantiomerjeit β -ciklodextrin oszlopon (Cyclobond Ib, 4,6×250 mm, Advance Separation Technologies Inc. gyártmány) választjuk el. A mobil fázis összetétele: 41 térfogat% metanol vízben, pH 4,0 értékre pufferolva 1 térfogat% trietilammónium-acetáttal. Átfolyási sebesség 0,3 ml/perc.

A (+)-{4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril tisztasága >98% enantiomerfölösleg, olvadáspont: 210–214 °C, $[\alpha]_D^{25} = +540^\circ$ (0,2% tetrahydrofuran-metanol 1:1),

a (–)-{4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril tisztasága >92% enantiomerfölösleg, olvadáspont: 210–214 °C, $[\alpha]_D^{25} = -513^\circ$ (0,2% tetrahydrofuran-metanol 1:1).

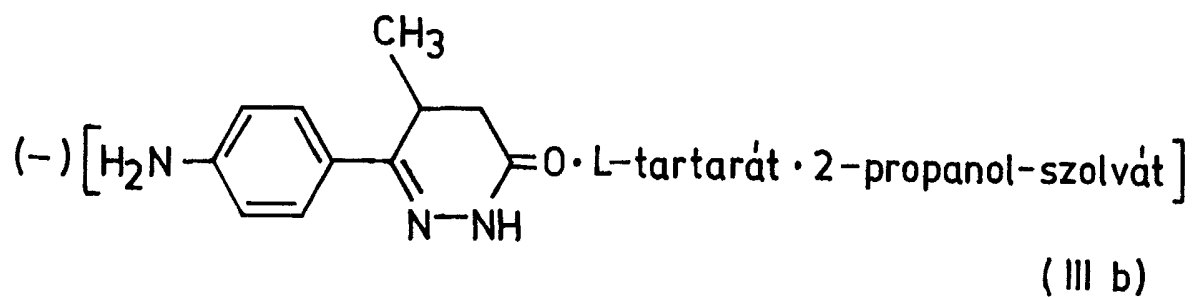
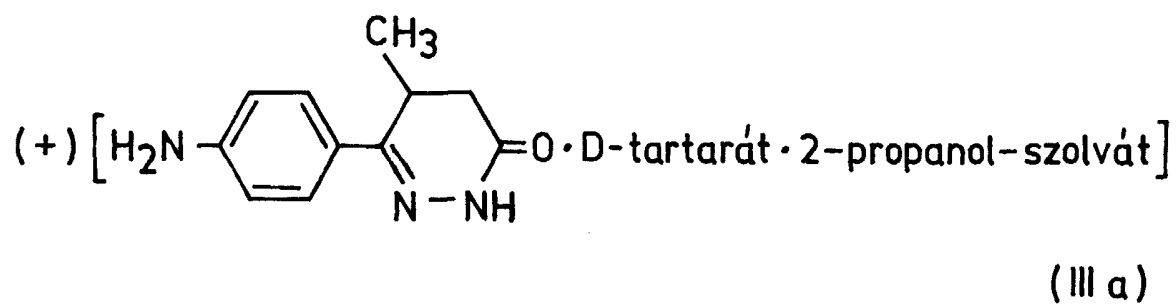
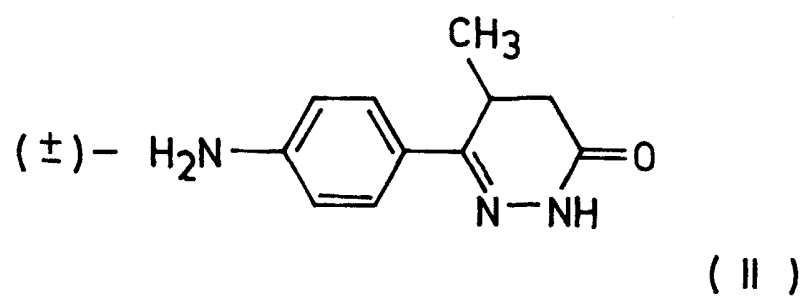
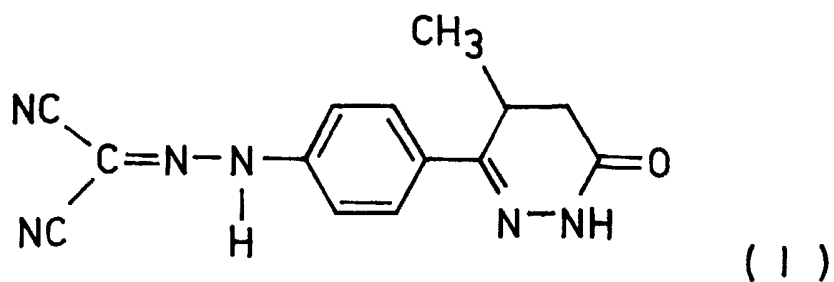
SZABADALMI IGÉNYPONTOK

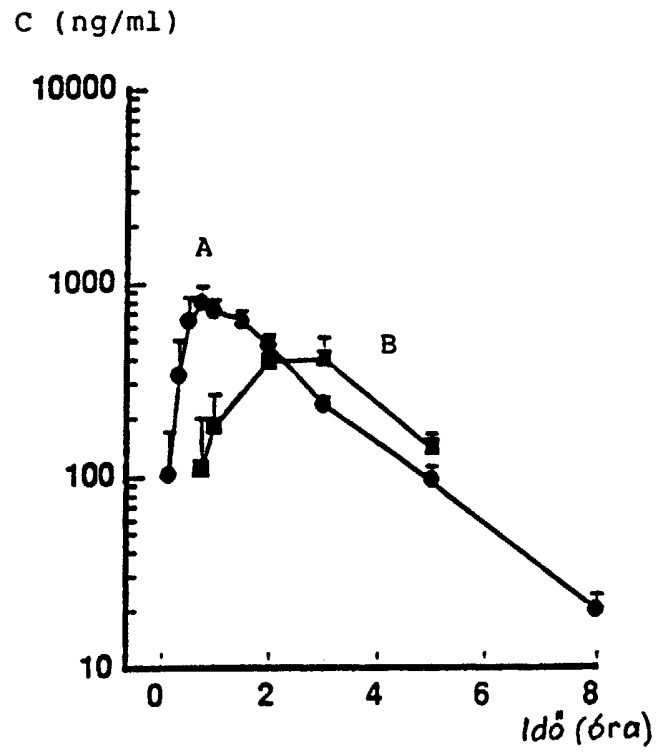
1. Eljárás 90% fölötti optikai tisztaságú (I) képletű (–)-{4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril és farmakológiailag elfogadható sói előállítására, *azzal jellemezve*, hogy

a) a (II) képletű 6-(4-amino-fenil)-5-metil-piridazin-3(2H)-on 90% fölötti optikai tisztaságú (–)-enantiomerjét nátrium-nitráttal és malononitrillel kezeljük, vagy

b) {4-(1,4,5,6-Tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitril (+)- és (–)-enantiomerjeit kromatográfiás oszlopon elválasztjuk, és a (–)-enantiomert kinyerjük, és a kapott terméket kívánt esetben sóvá alakítjuk.

2. Eljárás szírvendellenességek kezelésére szolgáló gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az 1. igénypont szerinti eljárással előállított (–)-{4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)-fenil]-hidrazino}-propán-dinitrilt vagy valamely farmakológiailag elfogadható sóját farmakológiailag elfogadható hordozó-, hígító- és/vagy egyéb segédanyagokkal összekeverve gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.





1. ábra