

(19) Országkód:

**HU**



**MAGYAR  
KÖZTÁRSASÁG**

**ORSZÁGOS  
TALÁLMÁNYI  
HIVATAL**

# SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

**210 687 B**

(21) A bejelentés ügyszáma: 1277/91

(22) A bejelentés napja: 1991. 04. 18.

(30) Elsőbbségi adatok:  
103 728/901990. 04. 19. JP

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>

**C 07 C 311/29**

C 07 C 311/20

C 07 C 311/16

C 07 D 493/08

A 61 K 31/18

A 61 K 31/34

(40) A közzététel napja: 1991. 10. 28.

(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi  
Közlönyben: 1995. 06. 28.

(72) Feltalálók:

Matsuura, Takaharu, Hyogo (JP)  
Shirahase, Kazuhiro, Osaka (JP)  
Ohtani, Mitsuaki, Nara-shi, Nara (JP)

(73) Szabadalmas:

Shionogi and Co. Ltd., Osaka (JP)

(74) Képvisező:

S.B.G. & K. Budapesti Nemzetközi Szabadalmi  
Iroda, Budapest

## (54) Eljárás szulfonil-amino-szubsztituált biciklusos hidroxámsav-származékok és ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás új szulfonil-amino-szubsztituált biciklusos hidroxámsav-származékok előállítására.

A találmány szerint az (I) általános képletű vegyületeket állítják elő; a képletben

R<sup>1</sup> és R<sup>2</sup> hidrogénatom vagy alkilcsoport,

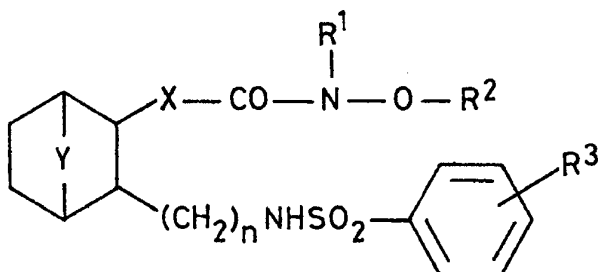
R<sup>3</sup> hidrogénatom, halogénatom vagy hidroxicsoport,

X alkenilénecsoport,

Y metilénecsoport vagy oxigénatom és

n 0, 1 vagy 2.

A találmány tárgyát képezi továbbá a fenti vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítása a tromboxán A<sub>2</sub> által közvetített betegségek kezelésére.



(I)

**HU 210 687 B**

A találmány tárgya eljárás új szulfonil-amino-szubsztituált biciklusos hidroxámsav-származékok előállítására.

A találmány olyan vegyületekre vonatkozik, amelyek igen jó antagonistikus hatással vannak a tromboxán  $A_2$  ( $TXA_2$ )-receptorra, közelebről, szulfonil-amino-szubsztituált biciklusos hidroxámsav-származékokra vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóikra, amelyek a  $TXA_2$  által előidézett trombózis, érszűkület vagy hörgőszűkület és hasonló betegségek kezelésére alkalmazhatók.

A szakirodalomban ismertették, hogy a szulfonil-amino-szubsztituált biciklusos karbonsav-származékok (a továbbiakban karbonsav-származékok) a  $TXA_2$ -receptorra erős antagonistikus hatást gyakorolnak (JPN Kokai 63-139 161 számú japán, USP 4 654 357 számú amerikai egyesült államokbeli, EP-A 312 906 számú európai és DE 3 720 760 számú német szabadalmi leírások stb.).

Ezeknek a karbonsav-származékoknak az a hátránya, hogy könnyen oxidálódnak és az anyagcsere útján átalakulnak az élő szövetekben.

Ezért felmerült az igény olyan  $TXA_2$ -receptor antagonisták kifejlesztésére, amelyek gyógyszerészetileg hasonlóak, de biológiailag stabilak, mint az ismert karbonsav-származékok.

A találmány tárgyát az (I) általános képletű új hidroxámsav-származékok előállítása képezi; a képletben  $R^1$  és  $R^2$  hidrogénatom vagy 1-6 szénatomos alkilcsoport,  $R^3$  hidrogén- vagy halogénatom vagy hidroxicsoport, X 3-8 szénatomos alkenilénecsoport, Y metilénecsoport vagy oxigénatom és n 0, 1 vagy 2.

A találmány szerint előállított vegyületek igen jól használhatók trombózis, érszűkület vagy hörgőszűkület és hasonló betegségek megelőzésére és kezelésére, mivel a vérlemezkék aggregációjára erős inhibitorhatást gyakorolnak.

A jelen találmány feltalálói nagyszámú vegyületet szintetizáltak, és azt találták, hogy az (I) általános képletű hidroxámsav-származékok a szükséges követelményeknek megfelelnek. A találmány alapját ez a felismerés képezi.

A leírásban az 1-6 szénatomos alkilcsoport például metil-, etil-, propil-, izopropil-, n-butil-, terc-butil- és hexilcsoport. Előnyös a metil-, etil-, vagy propilcsoport.

A „halogén” fluor-, klór-, bróm- vagy jódatom.

Az „alkenilén” 3-8 szénatomos alkenilénecsoport, így például 1-butenilén-, 2-butenilén-, 3-butenilén-, 1-pentenilén-, 2-pentenilén-, 3-pentenilén-, 4-pentenilén-, 1-hexenilén-, 2-hexenilén-, 3-hexenilén-, 4-hexenilén-, 5-hexenilén-, 1-heptenilén-, 2-heptenilén-, 3-heptenilén-, 4-heptenilén-, 5-heptenilén-, 6-heptenilénecsoport. Előnyös az 1-pentenilén-, 2-petenilén-, 3-pentenilén-, 4-pentenilén-, 1-hexenilén-, 2-hexenilén-, 3-hexenilén-, 4-hexenilén- vagy 5-hexenilén-csoport.

Amint azt az (I) általános képlet szemlélteti, a találmány szerint előállított vegyületek hidroxámsav-származékok, valamint gyógyszerészetileg elfogadható só-

ik, amint már azt a szakember eleve feltételezi, azok szintén a találmány oltalmi körébe tartoznak.

A találmány szerint előállított vegyületek négy aszimmetriacentrummal rendelkeznek, amint azt az (I) általános képlet mutatja, és így a találmány tárgyához tartozik valamennyi lehetséges sztereoizomer előállítása is. A találmány szerint előállított vegyületeket egyebek között a legelőnyösebben az (IA) és (IB) általános képletű, optikai aktív formájukban használjuk – a képletekben  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ , X, Y és n a fenti jelentésűek –, de a vegyületek igen nagy aktivitása miatt ezeket elegendő optikailag nem tiszta állapotban használni a találmány céljaira.

Ha az (I) általános képletben  $R^1$  hidrogénatom, akkor a vegyület tautomerjeinek az előállítása is a találmány tárgyához tartozik.

Úgy gondoljuk, hogy a hidroxámsavcsoportok a biciklusos váz 2-helyzetében hozzájárulnak a biológiai stabilitásra és/vagy a parciális agonisztikus hatásra gyakorolt hatás tökéletesítéséhez.

Ezért a rövidszénláncú alkil-, hidroxi- vagy halogénecsoport szubsztitúció a fenil- vagy benzolszulfonilaminocsoporton – ami egy másik oldallánc – bármely helyzetben lehet.

Megjegyezzük, hogy a fő hatás szempontjából előnyös a szubsztituátlan vagy a metil-, hidroxi-, klór- vagy brómcsoporttal a 4. helyzetben szubsztituált fenilcsoport.

Várható továbbá, hogy a karbonsavak átalakítása hidroxámsav-származékokká javítja a biológiai stabilitást és/vagy csökkenti a parciális agonisztikus hatást a tromboxán  $A_2$ -receptor antagonistákban.

A találmány szerint előállított vegyületek elfogadható sói az alkáli fémekkel, így lítiummal, nátriummal, vagy káliummal, az alkáliföldfémekkel, így a kalciummal vagy magnéziummal és a szerves bázisokkal, így trietil-aminnal, azetidinnel, 2-fenil-imidazollal, 1,4-diamino-butánnal, n-butil-ciklohexil-aminnal, diciklohexil-aminnal, hexametilén-diaminnal, 3-metil-3-amino-pentánnal, piperidinnel, 2,2,6,6-tetrametil-piperidinnel, 2,2,4-trimetil-piperidinnel, 2-hidroxi-piridinnel, 4-hidroxi-piridinnel, 2,4,6-trimetil-piridinnel tetrahidro-2-metil-piridinnel vagy pirrolidinnel képezett sók. Kiváltképpen előnyösek a nátriummal, káliummal vagy kalciummal stb. képezett sók.

Az (I) általános képletű vegyületeket úgy állítjuk elő, hogy egy (II) általános képletű amint – a képletben  $R^1$  és  $R^2$  a fenti jelentésűek – egy (III) általános képletű vegyülettel – a képletben  $R^3$ , X, Y és n a fenti jelentésűek és Z elektronakceptorcsoport – kondenzálunk.

Az „elektronakceptorcsoport” bármely olyan csoportot jelent, amely a karbonilcsoportot aktiválni képes. Használhatók a szokásos acilezési reakciókban alkalmazott csoportok.

A találmány szerinti eljárás végezhetjük a hidroxámsavak szintézisére ismertett módon [Organic Chemistry, Vol. 12. III. 406-432. (Academic Press)].

A kiindulási anyagokat előállíthatjuk a JPN Kokai 63-139 161 számú japán szabadalmi leírás, az 1-314 028 számú japán szabadalmi bejelentés, a

4 654 357 számú amerikai egyesült államokbeli vagy az EP-A 312 906 számú európai szabadalmi leírások, stb. alapján.

A találmány szerint előállított vegyületek gátolni tudják a tromboxán A<sub>2</sub> által okozott hatásokat, így igen jól használhatók gyulladás, magas vérnyomás, trombózis, agyvérzés, szívinfarktus és agyi infarktus megelőzésére és kezelésére.

Az ismert TXA<sub>2</sub>-receptor antagonisták igen előnyös biológiai hatásokkal rendelkeznek orálisan beadva, mivel enyhén növelik a gyógyszer vérszintjét, de nem előnyösek a mellékhatások szempontjából ha egyszerre, intravénás injekcióban adják be ezeket, mert beadásuk után gyorsan magas vérszintet eredményeznek TXA<sub>2</sub>-receptor agonisztikus hatásuk (parciális agonisztikus hatás) következtében, bár ezek a mellékhatások csak átmenetiek.

A találmány szerint előállított vegyületek parciális agonisztikus hatásokkal lényegileg nem vagy csak csökkent mértékben rendelkeznek, amint ezt a későbbiekben kifejtiük. Amint azt már említettük, szükségtelen mondani, hogy azok a vegyületek, amelyek parciális agonisztikus hatásokkal nem vagy lényegileg nem rendelkeznek, főképpen alkalmasak injekciós felhasználásra. Szükség esetén a találmány szerint előállított vegyületek jó stabilitásuk és felszívódásuk miatt használhatók továbbá mint inhaláló vagy orális készítmények is vagy mint kúpok.

A találmány szerint előállított vegyületek alkalmazhatók a szokásos orális készítmények alakjában, ilyen szilárd készítmények például a tabletták, a porok, kapszulák és granulátumok és a folyékony készítmények, így a vizes vagy olajos szuszpenziók, szirupok és elixírek. Parenterális beadásra a találmány szerint előállított vegyületek lehetnek injekcióhoz alkalmas vizes vagy olajos szuszpenziók. Az ilyen készítmények előállításához a szokásos adalékok használhatók, így töltőanyagok, kötőanyagok, sikosító szerek, vizes vagy olajos oldószerek, emulgeáló és szuszpendáló szerek, továbbá konzerváló szerek, stabilizátorok vagy hasonlók. A találmány szerint előállított (I) általános képletű vegyületek dózisát általánosságban nehéz meghatározni, mivel ez összefügg a vegyület elérni kívánt terápiás hatásaitól, a beadás módjaitól, a beteg korától és testtömegétől stb. A szokásos napi dózis felnőtteknél azonban körülbelül 0,01–50 mg/kg testtömeg orálisan és körülbelül 0,05–10 mg/kg testtömeg orálisan és körülbelül 0,001–5 mg, előnyösen körülbelül 0,005–1 mg/kg testtömeg parenterálisan, 1–5 dózisra elosztva.

A találmány szerinti eljárás kiviteli módját a példákkal szemléltetjük, anélkül, hogy a találmány oltalmi körét ezekre korlátoznánk.

#### 1 példa

(1R,2S,3S,4S)-(5Z)-7-[3-(Fenil-szulfonil-amino)-bicyklo[2.2.1]hept-2-il]-hex-4-én-il-hidroxámsav (Ia)

1,133 g (3 mmol) (1R,2S,3S,4S)-(5Z)-7-[3-(fenil-szulfonil-amino)-bicyklo[2.2.1]hept-2-il]-5-hepténsav 10 ml metilén-dikloriddal készített oldatához 915 µl (3 mmol×3,5) oxalil-kloridot adunk nitro-

génatmoszférában szobahőmérsékleten, és a reakciókeveréket 50 °C-on visszafolyatással melegítjük. Egy óra múlva a reakciókeveréket bepároljuk, a maradékhoz bezolt adunk, és a keveréket a reagens feleslegének eltávolítása céljából újra bepároljuk. 1,04 g (3 mmol×5) hidroxilamin-hidrokloridot 10 ml tetrahidrofuránban szuszpendálunk, majd a szuszpenzióhoz szobahőmérsékleten 10 ml telített vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldatot adunk, és az elegyet 5 percig keverjük. A reakciókeverékhez adjuk az előzetesen elkészített savklorid-oldatot 6 ml tetrahidrofuránban, szobahőmérsékleten, és az elegyet 1,5 órán át erélyesen keverjük. Az így kapott oldatot megosztjuk etil-acetát és 0,5 n sósav között. A szerves oldatot vízzel mossuk, szárítjuk és csökkentett nyomáson bepároljuk, a maradékot metilén-diklorid/éter keverékéből átkristályosítjuk, így kapjuk az előállítani kívánt (Ia) képletű vegyületet. A kitermelés 910 mg (77,1%). A termék szintelen, oszlopos kristályokból áll, olvadáspontja 98–100 °C.

20 IR-spektrum (nujol)  $\nu_{\max}$ : 3340, 3246, 1648, 1161, 1093, 1059, 758, 717, 687 cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR-spektrum (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 0,95–2,30 (m, 17H), 3,00–3,13 (m, 1H), 5,20–5,43 (m, 2H), 5,75 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,45–7,65 (m, 3H), 7,80–7,95 (m, 2H).

25  $[\alpha]_{D}^{25} = +23,7^{\circ} \pm 0,6^{\circ}$  (c = 1,011, metanol).

Elemi összetétel a C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S képletre:

számított: C 61,19, H 7,20, N 7,14, S 8,17%,

talált: C 61,20, H 7,17, N 7,15 S 8,25%.

Az (Ia) képletű vegyület nátriumsóját úgy készítjük el, hogy 196 mg (0,5 mmol) (Ia) képletű vegyületet 3 ml metanolban feloldunk, az oldathoz 0,163 n metanosol nátrium-metoxid-oldatot (3,06 ml, 0,5 mmol) adunk 0 °C-on, és az elegyet néhány percig keverjük, majd csökkentett nyomáson bepároljuk. A maradékot vízben feloldjuk és liofilizáljuk. Így kvantitatíve kapjuk az (Ia) képletű vegyület nátriumsóját (207 mg) mint szintelen port.

#### 2. példa

(1R,2S,3S,4S)-(5Z)-[3-[(4-Hidroxi-fenil-szulfonil)-amino]-bicyklo[2.2.1]hept-2-il]-hex-4-én-il-hidroxámsav (Ib)

1. 548 mg (1,5 mmol) metil-(1R,2S,3S,4S)-(5Z)-7-(3-amino-bicyklo[2.2.1]hept-il)-5-heptenoát-trifluoecet-sav sót 4 ml metilén-dikloriddal készített oldathoz 2 ml metilén-dikloridban oldva 625 µl (1,5 mmol×3) trimetilamin-oldatot és 360 mg (1,5 mmol) p-acetoxi-benzolszulfonil-kloridot adunk nitrogénatmoszférában, 0 °C-on, és az elegyet ezen a hőmérsékleten 20 percig keverjük. Az így kapott oldatot megosztjuk etil-acetát és 2 n sósav között. A szerves oldatot vízzel mossuk, szárítjuk és csökkentett nyomáson bepároljuk. A maradékot kovasavgélen, eluensként toluol/etil-acetát 9:1 arányú keverékével kromatografáljuk. Így 310 mg (45,9%) megfelelő szulfonamidot kapunk szintelen ragacsos anyag alakjában.

55 300 mg (0,66 mmol) fenti vegyület 3 ml metanollal készített oldatához szobahőmérsékleten 2,64 ml (0,66 mmol×4) 1 n kálium-hidroxid-oldatot adunk, és az elegyet 4 órán át keverjük. Az így kapott oldatot megosztjuk toluol és víz között, majd a vizes oldatot 2 n sósavval megsavanyítjuk és etil-acetáttal extrahál-

juk. Az extraktumot vízzel mossuk, szárítjuk és csökkentett nyomáson bepároljuk. Így a szulfonamid hidroxivegyületét kapjuk kvantitatíve (258 mg) szintelen, ragacsos anyag alakjában.

<sup>1</sup>H-NMR-spektrum (CD<sub>3</sub>OD) δ ppm: 0,96–2,05 (m, 14H), 2,12 (brs, 1H), 2,25 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,85–2,93 (m, 1H), 5,10–5,33 (m, 2H), 6,85–6,95 (m, 2H), 7,65–7,75 (m, 2H).

2. Az 1. példában leírtak szerint állítjuk elő az (Ib) képletű vegyületet és nátriumsóját. A termék szintelen hab. A kitermelés 26,4%.

IR-spektrum (nujol) ν<sub>max</sub>: 3270, 1642, 1604, 1587, 1500, 1148, 1093, 837, 677 cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR-spektrum (CD<sub>3</sub>OD) δ ppm: 0,97–2,15 (m, 1H), 2,85–2,95 (m, 1H), 5,10–5,35 (m, 2H), 6,85–6,95 (m, 2H), 7,65–7,775 (m, 2H).

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +17,5 ± 1,0° (c = 0,561, metanol).

Elemi összetétel a C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S·O×2H<sub>2</sub>O képletre:

számított: C 58,28, H 6,96, N 6,80, S 7,78%,  
talált: C 58,48, H 7,02, N 6,81, S 7,35%.

### 3. példa

(1*S*,2*S*,3*R*,4*R*)-(5*Z*)-6-[3-[(4-Bróm-fenil-szulfonil)-amino-metil]-bicyklo[2.2.1]hept-2-il]-pen-3-én-il-hidroxámsav (Ic)

Az (Ic) képletű vegyületet és nátriumsóját az 1. példában leírtak szerint állítjuk elő. A termék szintelen hab, a kitermelés 42,5%.

IR-spektrum (CHCl<sub>3</sub>) ν<sub>max</sub>: 3360, 1662, 1577, 1471, 1405, 1391, 1331, 1160, 1093, 1069, 1009, 820, 601 cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR-spektrum (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,10–2,35 (m, 16H), 2,75–3,10 (m, 2H), 4,95–5,30 (m, 2H), 5,27 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,62–7,83 (m, 4H).

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +15,3 ± 1,5° (c = 1,018%, metanol).

Elemi összetétel a C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>SBr·O·4H<sub>2</sub>O képletre:

számított: C 50,18, H 5,87, N 5,85, S 6,70%,  
talált: C 50,24, H 5,85, N 6,01, S 6,78%.

### 4. példa

(1*R*\*,2*R*\*,3*R*\*,4*S*\*)-(5*Z*)-7-[3-Fenil-szulfonil-amino)-7-oxabicyklo[2.2.1]hept-2-il]-hex-4-én-il-hidroxámsav (Id)

Az (Id) képletű vegyületet és nátriumsóját az 1. példában leírtak szerint állítjuk elő. A termék szintelen hab, a kitermelés 67,4%.

IR-spektrum (CHCl<sub>3</sub>) ν<sub>max</sub>: 3350, 1664, 1447, 1343, 1327, 1160, 1093, 982, 583 cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR-spektrum (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 1,20–2,30 (m, 13H), 2,86–3,00 (m, 1H), 4,02 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 4,42 (brs, 1H), 5,10–5,37 (m, 2H), 5,63 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,47–7,66 (m, 3H), 7,84–8,00 (m, 2H).

### 5. példa

(1*R*,2*S*,3*S*,4*S*)-(5*Z*)-*O*-Metil-7-[3-(fenil-szulfonil-amino)-bicyklo[2.2.1]hept-2-il]-hex-4-én-il-hidroxámsav (Ie)

Az (Ie) képletű vegyületet az 1. példában ismertett módon állítjuk elő. A kitermelés 70,7%. Az olvadáspont 78–80 °C.

IR-spektrum (CHCl<sub>3</sub>) ν<sub>max</sub>: 3395, 3280, 3010, 2965, 2885, 1960, 1461, 1450, 1323, 1160, 1095, 590, 555 cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR-spektrum (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 0,92–2,26 (m, 17H), 2,97–3,10 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 5,00 (brs, 1H), 5,20–5,38 (m, 2H), 7,44–7,67 (m, 3H), 7,87–7,92 (m, 2H), 8,53–8,96 (m 1H).

[α]<sub>D</sub><sup>23,0</sup> = +17,2 ± 0,6° (c = 1,032, metanol).

Elemi összetétel a C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S képletre:

számított: C 62,04, H 7,44, N 6,89, S 7,89%,  
talált: C 61,80, H 7,40, N 6,89, S 7,78%.

### 6. példa

(1*R*,2*S*,3*S*,4*S*)-(5*Z*)-*N*-Metil-7-[3-(fenil-szulfonil-amino)-bicyklo[2.2.1]hept-2-il]-hex-4-én-il-hidroxámsav (If)

Az (If) képletű vegyületet az 1. példában ismertett módon állítjuk elő. A kitermelés 78,7%. Olvadáspont 126–127 °C.

IR-spektrum (CHCl<sub>3</sub>) ν<sub>max</sub>: 3300, 3150, 1638, 1148, 1091, 1074, 765, 723, 690 cm<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR-spektrum (CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 0,96–2,60 (m, 17H), 2,90–3,09 (m, 1H), 3,35 (s, 3H), 5,22–5,40 (m, 2H), 5,72–5,89 (brs, 1H), 7,42–7,62 (m, 3H), 7,84–7,95 (m, 2H).

[α]<sub>D</sub><sup>25,0</sup> = +22,9 ± 0,6° (c = 1,011, metanol).

Elemi összetétel a C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S×0,25 H<sub>2</sub>O képletre:

számított: C 61,36, H 7,48, N 6,81, S 7,80%,  
talált: C 61,40, H 7,40, N 6,72, S 7,72%.

A találmány szerint előállított vegyületek erős tromboxán A<sub>2</sub>-receptor antagonistikus hatással rendelkeznek, és kiválóan gátolják a vérlemezkék aggregációját vagy a tromboxán A<sub>2</sub> által előidézett érszűkületet. Ez azt jelenti, hogy a vegyületek használhatók mint trombózis elleni és érszűkület elleni szerek. Az alábbi kísérlet a vegyületek képviselőinek inhibitorhatását szemlélteti vérlemezkék aggregációjára in vitro.

### 1. kísérlet

#### 40 Antagonisztikus hatás

(Inhibitorhatás vérlemezkék aggregációjára patkányokban)

Anyagok és eljárás

Hét hetes hím Sprague–Dowley patkány hasi artériájából műanyag fecskendővel 10 ml vért veszünk, a vér 1,5 ml ACD-t (86 mmol nátrium-citrát, 70 mmol citromsav és 110 mmol glükóz) és 20 µg proszttaglandin E<sub>1</sub>-et tartalmaz. A vért műanyag kémcsőbe tesszük, mérsékeltén rázzuk, forgatva és centrifugálva 10 percig (160 g), így vérlemezkékben dús plazmát kapunk. Ehhez a plazmához 25 µg/ml apirázt adunk, és a keveréket 40%-os marhaszérum-albuminra rétegezzük. Az így kapott keveréket 25 percig centrifugáljuk (1200 g). Az így elkészített vérlemezkeüledék szuszpenzióját kis mennyiségű puffertartalmú (137 mmol NaCl, 2,7 mmol KCl, 1,0 mmol MgCl<sub>2</sub>, 3,8 mmol NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 3,8 mmol hepes, 5,6 mmol glükóz és 0,035% marhaszérum-albumin, pH = 7,35) 10 ml Sepharose 2B oszlopra visszük, és ugyanilyen pufferral eluálva mosott vérlemezkéket készítünk.

60 A vérlemezke aggregációs reakciót aggregométer-

rel (NKK Hema Tracer 1 Model Pat-6A.6M, Nikkou Bioscience).

245 µl mosott vérlemezkét, amelynek koncentrációját  $5 \times 10^8$  µl-re beállítjuk, mérőküvetébe teszünk, és a küvetát az aggregométerbe helyezük. A beállított, mosott vérlemezkéket 37 °C-on keverjük (1000 ford/perc), és 3,8 µl 0,1 mólos kalcium-klorid-oldatot adunk hozzájuk. Egy perccel később a kísérleti vegyület 0,5 µl dime-til-szulfoxidos oldatát a vérlemezkékhez adjuk, és 2 perccel később 1 µl kollagént (Collagen reagent Horm<sup>R</sup>, Hormon-Chemie München GmbH, a végső koncentráció 4 µl/ml) adunk mint indítót a vérlemezke-aggregációhoz. A vérlemezke-aggregációt a fénytranszmisszió növekedése és csökkenése alapján mérjük.

A koncentrációt, ami a vérlemezkék aggregációjának 50%-os gátlásához szükséges, az aggregáció mértékéből számítjuk ki. (Az aggregáció mértéke megfelel egy minta fénytranszmissziójának, amit a vérlemezke-aggregáció indító kollagén bevitele után 3 perccel mérünk, feltéve, hogy a mosott vérlemezkék és a pufferminták fénytranszmisszióját 0%-nak, illetve 100%-nak vesszük.)

A kapott eredményeket az 1. táblázat szemlélteti.

1. táblázat

Vegyület*	Inhibitorhatás a vérlemezke-aggregációra, IC <sub>50</sub>
Ia	12 nM
Ib	10 nM
Ic	20 nM
Ie	60 nM
If	20 nM
Ref. vegyület	2 nM

\* Az Ia és Ib vegyületeket nátriumsók alakjában használjuk.

A referenciavegyület az (A) képletű (1R,2S,3S,4S)-(5Z)-7-[3-(tozil-amino)-bicyklo[2.2.1]hept-2-il]-5-hepténsav-nátriumsó.

Amint az az eredményekből világosan látható, a találmány szerint előállított vegyületek a legfontosabb hatást tekintve hasonló hatással rendelkeznek, mint az ismert tromboxán A<sub>2</sub>-receptor antagonisták. Mivel a referenciavegyületet – amely úgy látszik a legerősebb inhibitorhatással van a vérlemezkék aggregációjára – a JPN Kokai 63-139 161 számú japán szabadalmi leírásban ismertetett vegyületek közül választottuk ki, az eredmények azt mutatják, hogy a találmány szerint előállított vegyületek valamivel kisebb hatásúak mint a referenciavegyület. Jól ismert tény azonban az, hogy az ilyen fajta vegyületek ugyanazokat a farmakológiai hatásokat adják, amelyek orális beadásnál várhatók, ha ezeket mint az orális dózis 1/10 részét intravénás injekciójában adjuk be. Ezért, mivel a találmány szerint előállított vegyületeket intravénás beadásra alkalmasnak tartjuk, várható, hogy ezeknek a referencia vegyületnél kisebb dózisa hasonló farmakológiai hatásokat adnak, mint a referencia vegyület orálisan beadva.

A parciális agonisztikus hatást (az a hatás, amely

alakváltozást indukál a patkány-vérlemezkékben) a vérlemezkék aggregációs reakciójához használt szokásos eljárással határoztuk meg. A mosott vérlemezkékhez 0,1 mólos vizes kalcium-klorid-oldatot adunk és 1 perc múlva a hatás megállapítása céljából mértük a fénytranszmisszióinak a kísérleti vegyület által előidézett csökkenését. Ennek eredményeképpen az (Ia) képletű vegyület nem mutatott parciális agonisztikus hatást még 1000 nM koncentrációban sem, míg a referencia vegyület ED<sub>50</sub>-értéke 1 nM volt.

Megállapítottuk, hogy a találmány szerint előállított (Ia) képletű vegyület parciális agonisztikus hatást lényegileg nem mutat, és hatása hosszabb, mint az ismert karbonsav-származékoké, a légzésgátló hatás meghatározásával, ami megfigyelhető, ha a TXA<sub>2</sub>-receptor antagonistát intravénásan egerekbe injektáljuk. Jó a parciális agonisztikus hatás indexe is.

A találmány szerint előállított (Ia) képletű vegyület ezért igen alkalmas intravénás injekció céljára, mivel valójában parciális agonisztikus hatással nem rendelkezik.

## SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás az (I) általános képletű szulfonil-amino-szubsztituált biciklusos hidroxámsav-származékok, optikai izomerjeik, valamint gyógyszerészetileg elfogadható sóik előállítására – a képletben R<sup>1</sup> és R<sup>2</sup> hidrogénatom vagy 1–6 szénatomos alkilcsoport,

R<sup>3</sup> hidrogénatom, halogénatom vagy hidroxicsoport, X 3–8 szénatomos alkenilcsoport, Y metilcsoport vagy oxigénatom és n 0, 1 vagy 2 –, *azzal jellemezve*, hogy egy (II) általános képletű amint – a képletben R<sup>1</sup> és R<sup>2</sup> a tárgyi kör szerinti jelentésűek – egy (III) általános képletű vegyülettel – a képletben R<sup>3</sup>, X, Y és n a tárgyi kör szerinti jelentésűek és Z elektronakceptorcsoport – kondenzálunk,

és kívánt esetben a kapott vegyületet gyógyszerészetileg elfogadható sójává átalakítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletben R<sup>1</sup> és R<sup>2</sup> hidrogénatom, *azzal jellemezve*, hogy megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatunk.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás (+)- vagy (-)-enantiomerek előállítására, *azzal jellemezve*, hogy megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatunk.

4. A 2. igénypont szerinti eljárás (+)-enantiomerek előállítására, *azzal jellemezve*, hogy megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatunk.

5. Eljárás hatóanyagként az 1. igénypontban meghatározott (I) általános képletű vegyületeket – a képletben R<sup>1</sup>–R<sup>3</sup>, X, Y és n jelentése az 1. igénypontban megadott –, optikai izomerjeiket vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóikat tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az 1. igénypont szerint előállított hatóanyagot a gyógyszerkészítmények szokásos hordozó-, hígító-, töltő- és/vagy egyéb segédanyagaival együtt gyógyszerkészítménnyé feldolgozzuk.

