



**URZĄD
PATENTOWY
PRL**

Patent dodatkowy
do patentu nr ———

Zgłoszono: 83 06 15 (P. 242534)

Pierwszeństwo: 82 06 16 Francja

Zgłoszenie ogłoszono: 84 08 13

Opis patentowy opublikowano: 1987 08 31

Int. Cl.⁴ C07D 495/04



Twórca wynalazku ———

Uprawniony z patentu: SANOFI,
Paryż (Francja)

Sposób wytwarzania nowej pochodnej 5, 6, 7, 7a-tetrahydro-4H-tieno/3,2-c/ pirydynonu-2

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowej pochodnej 5, 6, 7, 7a-tetrahydro-4H-tieno/3,2-c/ pirydynonu-2 stosowanej w medycynie ludzkiej i weterynaryjnej.

Związek otrzymany sposobem według wynalazku odpowiada wzorowi 1.

Wytwarzanie soli addycyjnych związku o wzorze 1 z kwasami mineralnymi lub organicznymi farmaceutycznie dopuszczalnymi wchodzi również w zakres niniejszego wynalazku.

Związek zawierający asymetryczny atom węgla może występować w postaci dwóch enancjomerów. Wynalazek dotyczy zarówno każdego z enancjomerów jak i ich mieszaniny.

Sposób wytwarzania związku według wynalazku jest znamieny tym, że:

- a) poddaje się nitrozowaniu związek o wzorze 2
- b) otrzymany keto-oksym o wzorze 3 poddaje się uwodornieniu
- c) na otrzymany związek uwodorniony o wzorze 4 działa się kwasem otrzymując pochodną o wzorze 1.

Związek o wzorze 2, stanowiący produkt wyjściowy w syntezie związku o wzorze 1, jest znany a sposób jego wytwarzania jest opisany we francuskim opublikowanym opisie patentowym nr 2495 158.

Operację nitrozowania pozwalającą na otrzymanie związku o wzorze 3, tzn. 5-/2-chlorobenzyl-/3-hydroksyimino-4, 5, 6, 7-tetrahydro-3H-tieno/3,2-c/pirydynonu-2 prowadzi się w środowisku lodowatego kwasu octowego w atmosferze obojętnej, przez reakcję związku o wzorze 2 z azotynem sodu.

Reakcję uwodornienia prowadzi się w obecności kwasu nadchlorowego i katalizatora, korzystnie palladu na węglu, w roztworze w alkoholu, takim jak metanol, etanol, izopropanol, lub w rozpuszczalniku wodnoalkoholowym, w temperaturze 10-50°C.

Reakcję z kwasem prowadzi się dla związku o wzorze 4 rozpuszczonego w mieszaninie składającej się z alkoholu takiego jak metanol, etanol, izopropanol i z kwasu takiego jak kwas solny bromowodorowy o stężeniach od 1 N do 3 N korzystnie 2 N. Operację prowadzi się w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną, w atmosferze obojętnej, w ciągu 3-6 godzin.

Związek o wzorze 1, ewentualnie w postaci jego soli addycyjnych jest stosowany jako lek, zwłaszcza przeciw skupieniu się płytek krwi i przeciw zakrzepom.

Badanie toksyczności ostrej, chronicznej, podchronicznej i opóźnionej wykazało dobrą tolerancję i niską toksyczność pochodnej według wynalazku.

Badania wykonane na myszach, szczurach i królikach wykazały, że podawanie związku według wynalazku tak drogą doustną jak i dootrzewną nie spowodowało, podczas całego okresu prowadzenia różnych prób, żadnej reakcji miejscowej lub ogólnej, żadnych zakłóceń w kontrolach biologicznych prowadzonych regularnie, żadnego uszkodzenia makroskopowego lub mikroskopowego.

Badanie farmakologiczne wykazało działanie inhibitujące skupianie się płytek krwi i przeciwzakrzepowe.

1°/ Działanie inhibitujące skupianie się płytek krwi.

Badanie prowadzono na szczurze, który otrzymywał w ciągu 3 dni, drogą doustną, 100mg związku według wynalazku w momentach:

— 48 godzin, — 24 godziny i — 2 godziny. W momencie 0 godzin pobrano 4ml krwi Renauda z żyły szyjnej uśpionego zwierzęcia. Tę krew cytrynianową użyto do pomiaru skupiania się płytek krwi.

a) pomiar skupiania się płytek krwi za pomocą A. D. P. 2ml krwi cytrynianowej przeniesiono szybko do małej zlewki umieszczonej na mieszkadle magnetycznym i wyposażonej w namagnesowany pręcik. Po kilku sekundach mieszania, do zlewki wprowadzono 0,4ml roztworu zawierającego 0,66 μ g adenozyne-dwufosforanu (A. D. P.) na ml. Po 90 sekundach mieszania pobrano dwie próbki po 0,5ml krwi:

— pierwszą próbkę mieszało z 0,5ml roztworu EDTA-formalina o zawartości 0,01MEDTA i 7,5% formaliny

— drugą próbkę mieszało z 0,5ml roztworu samej EDTA.

Badanie roztworu EDTA — formalina miało na celu stabilizację krwi a więc ustalenie skupienia się, podczas gdy EDTA powodowała przeciwnie rozkład wszelkich skupisk płytkowych.

Po 10 minutowym odstaniu i wirowaniu 2 mieszanin z małą szybkością w ciągu 5 minut, dla oddzielenia czerwonych krwinek, pobrano górną warstwę stanowiącą plazmę bogatą w płytki (PRP), rozcieńczono i obliczono płytki. Intensywność skupiania się oznaczono stosunkiem

$$\frac{\text{liczba płytek w EDTA — formalina}}{\text{liczba płytek w EDTA}} \times 100 = \text{procent płytek nie skupionych}$$

Badany produkt tym lepiej inhibitował skupianie się płytek im stosunek ten był bliższy 100.

Oznaczono w ten sposób, że w serii 5 szczurów potraktowanych związkiem według wynalazku otrzymana procentowość wyniosła 44 ± 13 , podczas gdy dla serii 5 szczurów kontrolnych procentowość wyniosła 6 ± 2 .

b) pomiar skupiania się płytek krwi pod wpływem kolagenu

Do 1,5ml krwi cytrynianowej dodano 0,10ml roztworu zawierającego 10 μ kolagenu na ml. Mieszaninę utrzymywano przy mieszaniu, a pomiaru liczby płytek dokonywano bez przerwy.

Zmniejszenie się liczby wolnych płytek w funkcji czasu, kontrolowane w sposób ciągły, pozwoliło na wykreślenie krzywej, której nachylenie dało szybkość początkową skupiania się płytek.

Dla serii 5 szczurów potraktowanych związkiem według wynalazku szybkość początkowa skupiania się wyniosła $2,33 \pm 1,18$, podczas gdy dla serii kontrolnej (5 szczurów) szybkość ta wyniosła $12,44 \pm 2,65$.

Badanie aktywności inhibitującej skupianie się płytek krwi przeprowadzono także dla działania związku według wynalazku w odniesieniu do czasu krwawienia.

Zastosowano adaptowaną metodę L. Stella, M. B. Donati i G. Gaetano, *Thromb. Rea.* 1975, 7, 709-716.

Doświadczenie przeprowadzono na szczurze, który otrzymał per os na 65 godzin 41 godzin i 17 godzin wcześniej 200mg związku według wynalazku w zawieszynie w 10ml/kg wodnego roztworu gumy arabskiej 5N. po uśpieniu pentobarbitem przecięto ogon szczura na 5mm od końca. Krew starannie wycierano gąbką w ciągu 15sekund, uważając, by nie dotknąć rany. Hemostazę osiągnęto wówczas, gdy zatrzymanie krwawienia następowało w ciągu 1minuty.

Czasy krwawienia wyrażały się w sekundach a czasów dłuższych od 1200sekund (20minut) nie obliczono.

Oznaczono w ten sposób, że dla zwierząt kontrolnych, które otrzymały tylko gumę arabską, średni czas krwawienia wyniósł 390 sekund, podczas gdy dla zwierząt potraktowanych związkiem według wynalazku czas ten był wyższy od 1200 sekund.

2°/ Działanie przeciwzakrzepowe

Działanie to badano dwoma metodami:

a) metodą eksperymentalnego zakrzepu na nici jedwabnej.

Zasada tego badania polega na adaptacji metody eksperymentalnego zakrzepu wywołanego przez krążenie pozaustrojowe, opisaną przez Truhiko Umetau i Kazuko Samai (Thromb. Haemost...39 1, 1978).

U szczura uśpionego przez wstrzyknięcie dootrzewnowe pentobarbitolu obnażano lewą żyłę szyjną i prawą tętnicę szyjną zewnętrzną.

Odgałęzienie boczne tętniczo-żylne składało się z cewnika centralnego i dwóch cewników bocznych; białą nitkę z jedwabiu naturalnego wprowadzono do części centralnej i przywrócono krążenie w ciągu 20 minut. Po zatrzymaniu krążenia przez zakleszczenie, nitkę delikatnie wyciągnięto i natychmiast zważono. Średni ciężar wilgotnej nitki jedwabiu naturalnego oznaczono wcześniej.

Na 48 godzin, 24 godziny i 2 godziny przed rozpoczęciem krążenia krwi w odgałęzieniu bocznym zwierzęciu podano doustnie 200 mg/kg związku według wynalazku w zawiesinie w 10 ml/kg gumy arabskiej 5%, przy czym kontrola otrzymała tylko roztwór gumy arabskiej 5%.

Oznaczono w ten sposób, że średni ciężar zakrzepu w dwóch seriach 10 szczurów wyniósł $38,62 \pm 1,18$ mg dla zwierząt kontrolnych i $25,00 \pm 6,42$ mg dla zwierząt potraktowanych związkiem według wynalazku (- 35%).

b) metoda zakrzepu żylnego pod wpływem spirali

Polega na przystosowaniu metody Friedmana i współprac. (Am. J. Physiol., 1960, 199, 770-774). Rozciętą metalową spiralę (spiralka dentystyczna) wprowadzono do żyły głównej dolnej szczura, który otrzymał per os na 48 godzin, 24 godziny i 2 godziny wcześniej 200 mg/kg badanego związku, w zawiesinie w 10 ml/kg roztworu wodnego gumy arabskiej 5%.

Po pięciu godzinach pobrano spiralę z zatrzymanym na niej zakrzepem, wysuszone delikatnie przez kolejne tamponowanie na bibule filtracyjnej i zważono. Następnie spiralę pozbawiono zakrzepu, ponownie osuszone i ponownie zważono. Otrzymano w ten sposób z różnicy średni ciężar zakrzepu. Wyniósł on $3,4 \pm 0,4$ mg dla szczurów kontrolnych (10 zwierząt) które otrzymały tylko gumę arabską oraz $2,1 \pm 0,3$ mg dla szczurów (10 zwierząt) potraktowanych lekiem według wynalazku (- 36%).

Przystosowane wyżej badania toksykologiczne i farmakologiczne wykazały niską toksyczność związku według wynalazku i jego doskonałą tolerancję a także interesujące własności inhibitowania skupienia się płytek krwi oraz własności przeciwzakrzepowe, dzięki którym związek ten jest bardzo pożyteczny w leczeniu ludzi i zwierząt.

Do podawania doustnego lek może być stosowany w postaci tabletek, drażetek, kapsułek żelatynowych, kropli, granulatów lub syropu. Może być on także podawany drogą doodbytniczą, w postaci czopków, oraz drogą pozajelitową w postaci roztworu wodnego do iniekcji.

Każda dawka jednostkowa zawiera korzystnie 0,010-0,500 g 0,025-1,50 g składnika aktywnego, w zależności od wieku chorego i stanu choroby.

Dzięki własnościom inhibitowania skupiania się płytek krwi oraz przeciwzakrzepowym, lek jest wskazany do stosowania przy zapobieganiu i leczeniu chorób powodujących patologiczną zmianę skupiania się płytek krwi, taką jak choroby zakrzepowe — zatorowe. Poniższy przykład ilustruje sposób według wynalazku.

Przykład a) 5-/2-Chlorobenzyllo/-3-hydroksyimino-4, 5, 6, 7-tetrahydro-3H-tieno/-3,2-c/-pirydynon-2

25 g (0,0068 mola) szczawianu 5-/2-chlorobenzyllo/-5, 6, 7, 7a-4H-tieno/3,2-c/-pirydynonu-2 zawieszono w 125 ml lodowatego kwasu octowego w atmosferze obojętnej. Po oziębieniu mieszaniny reakcyjnej do temperatury 0-5°C wkroplono 5 g (0,072 mola) azotynu sodu rozpuszczonego w 30 ml wody. Utrzymywano w temperaturze pokojowej w ciągu 7 godzin. Wytrącone kryształy odsączono, przemyto eterem i wysuszone. Produkt przekrystalizowano z wody, otrzymując żółte kryształy o temperaturze topnienia 222°C. Wydajność 70%. b) 5-/2-Chlorobenzyllo/-3-hydroksyimino-3a, 4, 5, 6, 7, 7a-heksahydro-3H-tieno/3,2-c/-pirydynon-2

15 g (0,0376 mola) związku o wzorze 3 otrzymanego powyżej rozpuszczono w mieszaninie 900 ml metanolu i 8 ml kwasu nadchlorowego o stężeniu 70%. Do środowiska reakcji dodano 4 g palladu na węglu (10%) w zawieszynie 100 ml etanolu. Mieszaninę reakcyjną poddano uwodornieniu w reaktorze bezciśnieniowym ($1,01325 \cdot 10^5$ Pa) i pozostawiono w ciągu 6 godzin w temperaturze pokojowej. Po odsączeniu katalizatora roztwór odparowano do sucha. Pozostałość rozpuszczono w wodzie i zobojętniono wodnym nasyconym roztworem kwaśnego węglanu sodu. Fazę wodną wyekstrahowano dwuchlorometanem, warstwę organiczną osuszono nad bezwodnym siarczanem sodu i odparowano do sucha. Oleistą pozostałość oczyszczono przez chromatografię na kolumnie z krzemionką (eluent: toluen — octan etylu 1/1).

Oczyszczanie końcowe przeprowadzono poprzez szczawian. Otrzymano kryształy barwy beżowej o temperaturze topnienia 200°C . Wydajność 65%.

c) 5-/2-Chlorobenzyl/3-hydroksy-5, 6, 7, 7a-tetrahydro-4H-tieno/3,2-c/-pirydynon-2

10,4 g (0,0334 mola) związku o wzorze 4 otrzymanego w etapie poprzednim rozpuszczono w mieszaninie 250 ml alkoholu izopropylowego i 45 ml 2 N kwasu solnego. Mieszaninę ogrzewano w atmosferze obojętnej w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną w ciągu 4 godzin, po czym odparowano do sucha. Do pozostałości dodano wodny nasycony roztwór kwaśnego węglanu sodu. Fazę wodną ekstrahowano dwuchlorometanem. Fazę organiczną osuszono nad bezwodnym siarczanem sodu i odparowano do sucha. Uzyskaną oleistą pozostałość oczyszczono za pomocą filtracji przez warstwę krzemionki (eluent: toluen — octan etylu 1/1). Otrzymana z wydajnością 81% zasada miała pozostałość kryształów barwy beżowej o temperaturze topnienia 121°C .

Metodami klasycznymi otrzymano następujące sole: hemiszcawian, kryształy barwy kremowej o t. t. 170°C (rekrytalizacja z mieszaniny alkoholu izopropylowego i acetonitrylu); azotan, kryształy barwy różowej o t. t. 181°C (rekrytalizacja z mieszaniny i metanolu), chlorowodorek, kryształy barwy beżowej o t. t. 139°C (rekrytalizacja z izopropanolu).

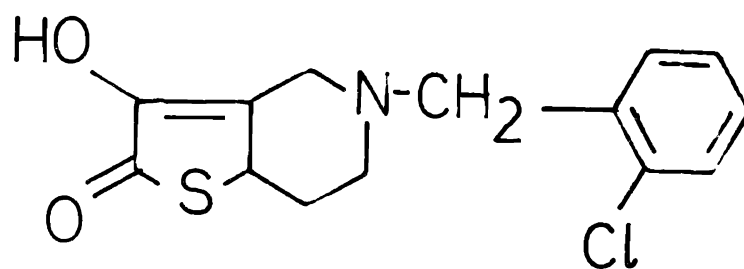
Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowej pochodnej 5, 6, 7, 7a-tetrahydro-4H-tieno/3,2-c/-pirydynonu-2 o wzorze 1 i jej soli mineralnych lub organicznych farmaceutycznie dopuszczalnych, **znamienny tym**, że poddaje się nitrozowaniu związek o wzorze 2, następnie uwodornia się otrzymany keto-oksym o wzorze 3, po czym działa się kwasem na otrzymaną pochodną uwodornioną o wzorze 4.

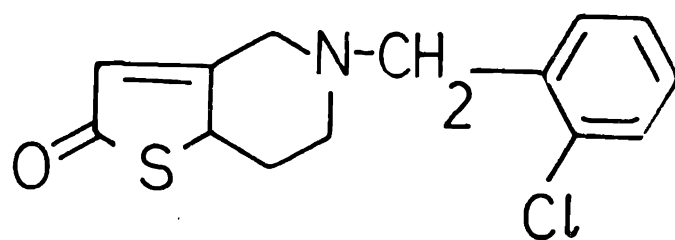
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że nitrozowanie prowadzi się za pomocą azotynu sodu w środowisku kwasu octowego i w atmosferze obojętnej.

3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że uwodornienie prowadzi się w obecności katalizatora i kwasu nadchlorowego.

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję z kwasem prowadzi się korzystnie za pomocą kwasu solnego o stężeniu 2 N, w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną i w atmosferze obojętnej.

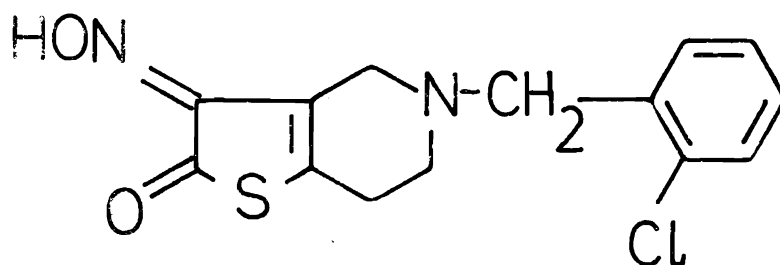


WZÓR 1

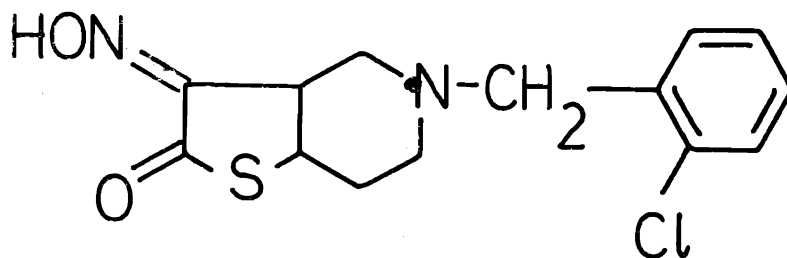


WZÓR 2

139 772



WZÓR 3



WZÓR 4