

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

148 541

Patent dodatkowy
do patentu nr ———

Zgłoszono: 86 06 16 /P. 260106/

Pierwszeństwo 85 06 18 Węgry

Zgłoszenie ogłoszono: 87 05 04

Opis patentowy opublikowano: 1989 12 31



Int. Cl.⁴ C07D 417/04
//A61K 31/425

Twórcy wynalazku: Zoltán Györgydeák, István Kovács, Rezső Bognár, Géza Horváth,
Terczia Mile, Judit Krusper, Ferenc Pusztai, Mariann Fekete,
Sándor Jancsó, János Balint, Ildiko Mihók, András Jenei,
Bela Szende, Karoly Lapis

Uprawniony z patentu: Biogal Gyógyszergyár, Debreczyn /Węgry/

SPOSÓB WYTWARZANIA NOWYCH POCHODNYCH KWASU TIAZOLIDYNOKARBOKSYLOWEGO-4-/S/

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych pochodnych kwasu tiazolidyno-karboksyłowego-4/S/.

Nowe pochodne są objęte ogólnym wzorem 1, w którym R¹ oznacza grupę furylową lub nitrofurylową, R² oznacza atom wodoru lub rodnik alkilowy o 1-4 atomach węgla, a R³ oznacza atom wodoru lub rodnik alkanoilowy o 1-4 atomach węgla.

Wytworzone sposobem według wynalazku pochodne kwasu tiazolidynokarboksyłowego-4/S/ wykazują zaskakujące działanie terapeutyczne: regenerują one naturalne i eksperymentalnie wywołane uszkodzenia wątroby.

Opisane są już biologicznie czynne kwasy tiazolidynokarboksyłowe-4, m. in. również związki o działaniu ochraniającym komórkę wątrobową, które mają mieć działanie regenerujące komórki wątrobowe, działanie przeciwmartwicze i proteinotropowe.

W opisie patentowym Republiki Federalnej Niemiec DE-PS nr 2116629 omówiono sposób wytwarzania pochodnych kwasu tiazolidynokarboksyłowego-4, według którego chlorowodorek cysteiny poddaje się reakcji z kwasem pirogronowym /w celu wytworzenia kwasu 2-metylo-tiazolidynokarboksyłowego-2,4/ lub z kwasem m-formylofenoksyoctowym /w celu wytworzenia kwasu 2-/2'-fenoksyacetylo/-tiazolidynokarboksyłowego-4/ lub z innymi kwasami organicznymi. Wspomniane związki wykazują działanie osłaniające wątrobę.

Przeciwhiperlipemicznie działa kwas 5,5-dwumetylo-3/-p-chlorofenoksyizobutyrylo/-tiazolidynokarboksyłowy-4 omówiony w opisie patentowym Republiki Federalnej Niemiec DE-PS nr 2446100.

W opisie patentowym Republiki Federalnej Niemiec DE-PS nr 2614798 przedstawiono 2-metyloamino-5-/5-nitro-2-furfurylideno/-tiazolinon-4 i 3-metylo-2-imino-5-/5-nitro-furfurylideno/-tiazolidynon-4, które znajdują zastosowanie w wytwarzaniu papieru.

Belgijski opis patentowy nr 751482 dotyczy kwasów tiazolidynodwukarboksylowych-2,4 i ich pochodnych. Związki te działają ochraniająco komórkę wątrobową, regenerująco komórki wątrobowe i odtruwająco. Kwas tiazolidynodwukarboksylowy-2,4 wytwarza się z wyjściowej cysteiny, prowadząc reakcję z octanem sodowym w obecności trójetyloaminy.

Publikacja F. Asinger'a i współpracowników (*Monatshefte für Chemie* 114, 47-63 /1983//) obejmuje wytwarzanie kwasów 5,5-dwumetylotiazolidynokarboksylowych-4/R,S/ i ich pochodnych. Według komunikatu chlorowodorek D,L-penicylaminy poddaje się kondensacji z różnymi aldehydami i ketonami. Związki docelowe mają dwa centra chiralności i otrzymuje się je w postaci chlorowodoru lub wolnej zasady. Biologiczne działanie tych związków nie zostało zbadane, ponieważ przedmiotem doświadczeń był mechanizm reakcji kondensacji.

Penicylamina jest wykazującym kilka grup funkcyjnych aminokwasem, którego reakcją charakterystyczną jest reakcja kondensacji ze związkami zawierającymi grupy karbonylowe, prowadząca do cyklizacji. Na drodze tej reakcji powstają kwasy 5,5-dwumetylotiazolidynokarboksylowe-4 podstawione w położeniu - 2 różnymi grupami, a z kwasów tych na drodze dalszej reakcji otrzymuje się estry, amidy, pochodne siarkowe i azotowe.

Ze stanu techniki wiadomo, że niektóre pochodne kwasu tiazolidynokarboksylowego mają działanie osłaniające wątrobę. Według obecnych rozpoznań działanie to polega na tym, że związki te uczestniczą w procesie reaktywowania enzymów wątroby i innych enzymów endogennych. W procesie tym szerzące się grupy dwusiarczkowe ponownie przekształcają się w wolne grupy tiolowe.

Znane są przy tym próby wytworzenia kwasów tiazolidynokarboksylowych-4 z wyjściowych D,L-cysteiny lub D,L-penicylaminy. W obu tych reakcjach powstają związki racemiczne o 2 centrach asymetrii, tzn. w reakcji powstają cztery izomery o różnej budowie przestrzennej. Cząsteczki o różnej budowie przestrzennej wykazują różną aktywność biologiczną, występują wśród nich nawet odmiany nieaktywne.

Aby, znając aktywność izomerów, od razu wyeliminować odmiany nieaktywne lub mało aktywne, wzięto pod uwagę możliwość stosowania jako związku wyjściowego zawsze tylko izomeru optycznego, gdyż dzięki temu w związku docelowym ustala się jedno centrum asymetrii, zaś liczba możliwych izomerów zmniejsza się do połowy.

Odpowiednio do tego są w przypadku wytwarzania nowych, farmakologicznie czynnych związków szczególnie interesujące różne przestrzenne izomery pochodnych kwasu tiazolidynokarboksylowego-4, powstające podczas kondensacji.

Z tego powodu w sposobie według wynalazku jako substrat, odmiennie od dotychczasowych sposobów, stosuje się D-penicylaminę. Dzięki temu liczba powstających izomerów zmniejsza się do połowy, a występują tylko diastereoizomery cis-/2S/4S/ i diastereoizomery trans-/2R/4S/.

Nowe pochodne kwasu tiazolidynokarboksylowego-4/S/ o ogólnym wzorze 1, w którym R_1 , R_2 i R_3 mają znaczenie podane przy omawianiu wzoru 1, wytwarza się sposobem, który według wynalazku polega na tym, że wykazujący w centrum chiralności konfigurację-D związek o ogólnym wzorze 3, w którym R oznacza atom wodoru lub rodnik alkanoilowy o 1-4 atomach węgla, poddaje się reakcji kondensacji z aldehydem o ogólnym wzorze 2, w którym Z oznacza atom wodoru lub grupę nitrową, i ewentualnie te związki o ogólnym wzorze 1, w którym R^2 oznacza atom wodoru, poddaje się estryfikacji, i/ albo te związki o ogólnym wzorze 1, w którym R^3 stanowi atom wodoru, przeprowadza się drogą reakcji z bezwodnikami kwasowymi lub z halogenkami kwasowymi w odpowiednie N-acylopochodne.

Reakcję kondensacji w sposobie według wynalazku prowadzi się celowo w obecności kwasowego katalizatora, korzystnie w obecności kwasu solnego.

Jako rozpuszczalnik w sposobie według wynalazku stosuje się korzystnie wodę i/ lub metanol lub pirydynę.

Sposób ten szczegółowo objaśniono za pomocą przykładów.

Przykłady I i II omawiają reakcję związków o ogólnym wzorze 3 z aldehydami o ogólnym wzorze 2. W wyniku reakcji powstają podstawione w położeniu-2 kwasy 5,5-dwumetylotiazolidynokarboksylowe-4/S/ względnie ich w położeniu-3 acylowane pochodne /patrz przykład III/.

W celu przeprowadzenia reakcji związek o ogólnym wzorze 3, w którym R stanowi atom wodoru, rozpuszcza się w wodzie i/lub w mieszącym się z wodą rozpuszczalniku organicznym, i mieszącą dodaje się aldehyd o ogólnym wzorze 2. Mieszaninę tę w temperaturze 0-45°C miesza się nadal w ciągu od 5 minut do 48 godzin, przy czym wytrąca się krystaliczny związek docelowy. Oddziela się go drogą sączenia.

Jeżeli w ogólnym wzorze 3 symbol R oznacza rodnik alkanoilowy, to związek o ogólnym wzorze 3 rozpuszcza się w apolarnym rozpuszczalniku, zawierającym kwasowy katalizator, i mieszącą do tego roztworu dodaje się aldehyd o ogólnym wzorze 2. Mieszaninę tę miesza się w temperaturze pokojowej w ciągu 1-180 minut, przy czym wytrąca się krystaliczny produkt docelowy. Oddziela się go na drodze sączenia.

Według przykładu III kwasy 5,5-dwumetylotiazolidynokarboksylowe-4/S/, podstawione w położeniu-2, poddaje się reakcji z bezwodnikami kwasowymi lub z halogenkami kwasowymi. Powstają przy tym acylowane w położeniu-3 pochodne związków.

W tym celu związki o ogólnym wzorze 1, w którym R³ stanowi atom wodoru, rozpuszcza się w wodzie lub w rozpuszczalniku organicznym, a roztwór stale mieszącą zadaje się bezwodnikiem kwasowym lub halogenkiem kwasowym. Jeśli środowiskiem reakcji jest woda, to reakcję tę prowadzi się w temperaturze 30-100°C, a produkt wytrąca się podczas chłodzenia mieszaniny reakcyjnej. Jeśli stosuje się rozpuszczalnik organiczny /korzystna jest pirydyna/, to reakcję prowadzi się w temperaturze pokojowej lub niższej, a produkt wyodrębnia się na drodze odparowania.

W przykładzie IV przedstawiono estyfikację 2-podstawionego kwasu 5,5-dwumetylotiazolidynokarboksylowego-4/S/ za pomocą dwuazoalkanu. W tym celu związek o ogólnym wzorze 1, w którym R² stanowi atom wodoru, rozpuszcza się w rozpuszczalniku polarnym, korzystnie w alkoholu, a roztwór ten chłodząc zadaje się środkiem alkilującym. Produkt uzyskuje się drogą odparowania.

Izomery powstające podczas reakcji na ogół nie dają się rozdzielać drogą chromatografii cienkowarstwowej. W wyniku chromatografii na żelu krzemionkowym 60 F₂₅₄ za pomocą zawierającej nieco kwasu organicznego mieszaniny rozpuszczalnikowej jako czynnika obiegowego otrzymuje się na ogół pojedynczą zwartą plamę. Widma MRJ /magnetycznego rezonansu jądrowego/, podane w przykładach, zdejmowano wyłącznie w sulfotlenku dwumetylowym /DMSO/.

W celu zbadania ostrej toksyczności rozpuszczono badane związki w wodnym roztworze węglanu sodowego i zwierzętom doświadczalnym /40-dniowe osobniki żeńskie myszy CFPL/ aplikowano w tej postaci śródtrzewnowo /i.p./ lub dożylnie /i.v./. W podanej niżej tabelicy 1 przedstawiono charakterystyczną wartość LD₅₀.

T a b l i c a 1

Związek według przykładu	Sposób podawania	LD ₅₀ [mg/kg]
I	i.v.	2191

Wartości ostrej toksyczności są wystarczająco wysokie, by umożliwiły terapeutyczne stosowanie nowych związków.

a/ Działanie związków testowanych osłaniające wątrobę

W celu zbadania działania osłaniającego wątrobę aplikowano związki męskim osobnikom szczurów-CFY o masie 200-240 g każdy, które od 18 godzin głodowały. Uszkodzenie wątroby wywoływano doświadczalnie za pomocą czterochloru węgla, alkoholu allilowego lub galaktozaminy. Badano aktywność aminotransferazy glutaminowo-oksaloocetanowej /GOT/ w surowicy, zawartość trójglicerydów wątroby i histologiczny obraz wątroby.

Wygłodzonym zwierzętom podawano substancje uszkadzające wątrobę /1,5 g/kg czterochloru węgla doustnie; 0,75 g/kg galaktozaminy śródtrzewnowo; 20 mg/kg alkoholu allilowego śródtrzewnowo/, a po upływie 6 godzin śródtrzewnowo aplikowano badane związki w dawce 100 mg/kg. Wyniki zestawiono w podanej niżej tabelicy 2, w której Catergen, czyli +/-2-/3,4-dwuhydroksyfenylo/-chromanotriol-3,5,7, jako znany związek o działaniu osłaniającym wątrobę jest substancją porównawczą:

T a b l i c a 2

	Aktywność GOT /jednostka/ litr	Trójgliceryd /mg/mg białka/
Sprawdzian	81,7 ± 16	40 ± 8
Czterochlorek węgla	269 ± 14	86 ± 17
CCl ₄ + Związek z przykładu I	244,0 ± 14	51 ± 15
CCl ₄ + Związek z przykładu II	229,0 ± 14	84 ± 6
CCl ₄ + Catergon /porównawczy/	241,0 ± 23	77 ± 7

W grupie doświadczalnej traktowanej tylko czterochlorkiem węgla wzrosło wskutek uszkodzenia wątroby stężenie CO-aminotransferazy w surowicy 3,3-krotnie, co da się wytłumaczyć tym, że w surowicy pojawiła się GOT wewnątrzkomórkowa. Zawartość trójglicerydów wątroby wzrosła w tej grupie około 2,14-krotnie. Zmiany te odpowiadają mierze martwiczych przemian, stwierdzonych na wycinkach histologicznych. W przypadku podawania związków, wytworzonych sposobem według wynalazku, obniża się aktywność GO-aminotransferazy w stopniu przedstawionym w tablicy 2.

b/ Działanie związków testowanych w przypadku zatrucia wywołanego alkoholem allilowym

Po upływie 24 godzin zwierzęta uśmiercono i określano aktywność aminotransferazy glutaminowo-pirogronianowej /GPT/ w surowicy. Po traktowaniu alkoholem allilowym podniósł się poziom GPT w surowicy z $1,81 \pm 0,43$ $\mu\text{mola/ml.h}$ do $4,16 \pm 1,63$ $\mu\text{mola/ml.h}$. Poziom ten po działaniu dawką 100 mg/kg związku z przykładu I obniżył się do $2,84 \pm 0,97$ $\mu\text{mola/ml.h}$.

c/ Działanie związków testowanych w przypadku zatrucia wywołanego galaktozoaminą

Za pomocą galaktozoaminy można w wątrobie wywołać martwice otoczone objawami zapalnymi i zwyrodnieniowe objawy odtłuszczenia tkankowego. Badane związki aplikowano śródtrzewnowo zwierzętom po upływie 6 godzin od zatrucia galaktozoaminowego. Dzięki związkom z przykładów I i II zmniejszyły się ilości martwic mięszu i stopień ciężkości zmian charakterystycznych dla galaktozoaminowych zapaleń wątroby.

Podane niżej przykłady objaśniają bliżej sposób według wynalazku, nie ograniczając jego zakresu.

P r z y k ł a d I. Kwas 5,5-dwumetylo-2-/5'-nitrofurylo-2'-tiazolidynokarboksylowy-4/S/

15 g /0,1 mola/ D-penicylaminy /D- β , β -dwumetylocysteiny; związku o wzorze 3 i o R = H/ mieszając rozpuszcza się w 190 ml zdejonizowanej wody i roztwór ten mieszając zadaje się w ciągu 10-12 minut kroplami roztworu 12,5 g /0,1 mola/ 5-nitrofurfuralu w 60 ml metanolu. Całość miesza się nadal w ciągu około 1 godziny, przy czym osadza się produkt o barwie piasku.

Krystaliczny kwas 5,5-dwumetylo-2-/5'-nitrofurylo-2'-tiazolidynokarboksylowy-4/S/ odsącza się, przemycza za pomocą 20 ml zdejonizowanej wody i suszy na powietrzu. Otrzymuje się 23,9 g /87,7% wydajności teoretycznej/ produktu surowego. Rozpuszcza się go na gorąco w 26 ml metanolu, roztwór ten sączy i zadaje kroplami 8-10 ml zdejonizowanej wody do rozpoczęcia krystalizacji. Krystalizującą mieszaninę wstawia się do lodówki. Kryształy odsącza się, przemycza za pomocą 15 ml 50%-owego metanolu i suszy w temperaturze co najwyżej 55°C. Otrzymuje się 19,7 g /72,3% wydajności teoretycznej/ związku tytułowego o temperaturze topnienia 147-148°C i o skręcalności $[\alpha]_D^{20} = -159^\circ /c = 0,829$, DMSO/. Analiza elementarna /M = 272,3/ wykazuje:

obliczono, %: N 10,29 S 11,78

znaleziono, %: N 10,14 S 11,78

Widmo w podczerwieni: 3304 /NH/ i 1725 /CO/ cm^{-1} oraz 2480 cm^{-1} /wskazanie na strukturę jonów obojnych/. Widmo $^1\text{H-MRJ}$: 1,34 i 1,65 /C-metyl cis/, 1,40 i 1,69 /C-metyl trans/, 5,77 /H-2/ i 3,64 /H-4/ izomeru-cis i 5,71 /H-2/ i 3,70 /H-4/ ppm izomeru-trans.

P r z y k ł a d II. Kwas 5,5-dwumetylo-2-/furylo-2'-tiazolidynokarboksylowy-4/S/

Mieszaninę 4,27 g D-penicylaminy i 2,48 ml furfuralu miesza się w 90 ml 30%-owego metanolu w ciągu 8 godzin. Następnie roztwór odparowuje się do sucha, a półkrystaliczny

produkt krystalizuje się przez rozcieńczenie z eterem etylowym. Związek tytułowy wykazuje temperaturę topnienia 141-143°C i skręcalność $[\alpha]_D^{20} = +103^\circ / c = 0,602$, DMSO/. Analiza elementarna $M = 227,3$ / wykazuje:

obliczono, %: N 6,16 S 14,10

znaleziono, %: N 5,91 S 13,69

Widmo w podczerwieni: 1721 cm^{-1} /CO/.

Widmo $^1\text{H-MRJ}$: 1,22 i 1,53 /C-metyl, trans/, 1,28 i 1,56 /C-metyl, cis/, 3,58 /H-4/ i 5,70 /H-2/ izomeru-cis i 3,60 /H-4/ i 5,66 /H-2/ ppm izomeru-trans.

P r z y k ł a d III. Kwas 3-acetylo-5,5-dwumetylo-2-/S/-/5'-nitrofurylo-2'-/-tiazolidynokarboksylowy-4/S/

2,72 g /10 mmoli/ kwasu 5,5-dwumetylo-2-/5'-nitrofurylo-2'-/-tiazolidynokarboksylowego-4/S/ rozpuszcza się w 5-6 ml wody. Roztwór ten ogrzewa się na łaźni parowej do temperatury 100°C, zadaje za pomocą 5,6 ml bezwodnika octowego i ogrzewa w ciągu dalszych 3 minut. Po dodaniu wody wytrąca się 2,6 g /84,3% wydajności teoretycznej/ produktu. Substrat wytwarza się według przykładu I. Produkt końcowy wykazuje tt. 191-194°C oraz $[\alpha]_D^{25} = -315,9^\circ / c = 0,938$, DMSO/. Analiza elementarna $M = 308,3$ / wykazuje:

obliczono, %: N 9,08 S 10,40

znaleziono, %: N 8,72 S 10,13

Widmo w podczerwieni: 1740 cm^{-1} /CO/.

Widmo $^1\text{H-MRJ}$: 1,30 i 1,41 /CH₃/, 1,57 i 1,61 /CH₃/, 2,03 /NHCOCH₃/, 3,45 /OH/, 4,50 i 4,79 /H-4/, 6,37 i 6,71 /H-2/, 6,95, 7,16, 7,71 i 7,76 /aromatycz./.

P r z y k ł a d IV. 5,5-dwumetylo-2-/S/-/5'-nitrofurylo/-tiazolidynokarboksylan-4/S/-metylowy

2,72 g /10 mmoli/ kwasu 5,5-dwumetylo-2-/5'-nitrofurylo/-tiazolidynokarboksylowego-4/S/ rozpuszcza się w temperaturze pokojowej w 50 ml metanolu, a do tego roztworu chłódząc dodaje eterowy roztwór dwuazometanu, sporządzony z 4,45 g /43,2 mmola/ nitrozometylomocznika. Odczynnik małymi porcjami dodaje się do chwili, aż pozostanie żółte zabarwienie.

Po upływie 1 godziny nadmiar dwuazometanu rozkłada się za pomocą kilku kropli kwasu octowego lodowatego. Po odparowaniu rozpuszczalnika otrzymuje się produkt w postaci bladżółto zabarwionego syropu.

Widmo masowe: 286 /M⁺/ $M = 286,304$ /; $a [\alpha]_D^{24} = 194^\circ / c = 0,670$ chloroform/.

Widmo w podczerwieni: 1743 cm^{-1} /CO/ /w KBr/.

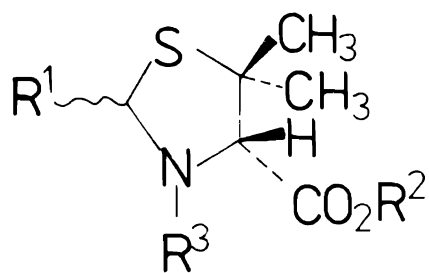
Widmo $^1\text{H-MRJ}$: 1,3 /3H, C-CH₃/, 1,68 /3H, C-CH₃/, 3,8 /4H, H₄+O-CH₃/, 5,7 /1H, H₂/, 6,63 /1H, H₃ i H₄ 7,26/ 1H.

Z a s t r z e ż e n i a p a t e n t o w e

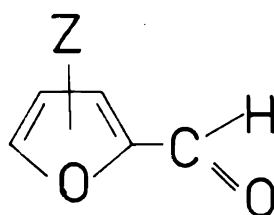
1. Sposób wytwarzania nowych pochodnych kwasu tiazolidynokarboksylowego-4/S/ o ogólnym wzorze 1, w którym R¹ oznacza grupę furylową lub nitrofurylową, R² oznacza atom wodoru, rodnik alkilowy o 1-4 atomach węgla, a R³ oznacza atom wodoru lub rodnik alkanoilowy o 1-4 atomach węgla, z n a m i e n n y t y m, że związek o ogólnym wzorze 3, w którym R oznacza atom wodoru lub rodnik alkanoilowy o 1-4 atomach węgla, poddaje się reakcji z aldehydem o ogólnym wzorze 2, w którym Z oznacza atom wodoru, grupę nitrową i ewentualnie te związki o ogólnym wzorze 1, w którym R² oznacza atom wodoru, poddaje się estryfikacji, i/albo te związki o ogólnym wzorze 1, w którym R³ stanowi atom wodoru, przeprowadza się drogą reakcji z bezwodnikami kwasowymi lub z halogenkami kwasowymi w odpowiednie N-acylo-pochodne.

2. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że reakcję prowadzi się w obecności kwasowego katalizatora, korzystnie w obecności kwasu solnego.

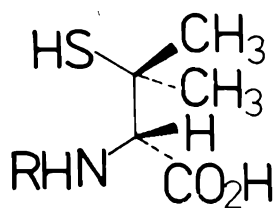
3. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że reakcję prowadzi się w rozpuszczalniku takim jak woda i/lub metanol lub pirydyna.



Wzór 1



Wzór 2



Wzór 3