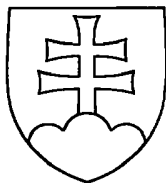


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania: 18.12.1998
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 9726987.2
(32) Dátum priority: 22.12.1997
(33) Krajina priority: GB
(40) Dátum zverejnenia: 12.03.2001
(86) Číslo PCT: PCT/EP98/08273
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: WO 99/32462

(21) Číslo dokumentu:

959-2000

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int Cl.7 :

C 07D 253/06
A 61K 31/53

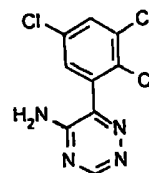
(71) Prihlasovateľ: GLAXO GROUP LIMITED, Greenford, Middlesex, GB;

(72) Pôvodca vynálezu: Cox Brian, Stevenage, Hertfordshire, GB;
Healy Mark Patrick, Stevenage, Hertfordshire, GB;
Nobbs Malcolm Stuart, Stevenage, Hertfordshire, GB;
Shah Gita Punjabhai, Stevenage, Hertfordshire, GB;

(74) Zástupca: Majlingová Marta, Ing., Bratislava, SK;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Triazínové deriváty, spôsob ich výroby, farmaceutický prostriedok s ich obsahom, ich použitie a medziprodukty**

(57) Anotácia:
Triazínové zlúčeniny vzorca (I) použiteľné pri liečení ochorení a porúch centrálnej nervovej sústavy a ich farmaceuticky prijateľné deriváty, farmaceutické prostriedky s ich obsahom, ich použitie pri liečení týchto ochorení, spôsob ich výroby a medziprodukty na ich výrobu.



(1)

Triazínové deriváty, spôsob ich výroby, farmaceutický prostriedok s ich obsahom, ich použitie a medziprodukty

Oblasť techniky

Predkladaný vynález sa týka triazínovej zlúčeniny použiteľnej pri liečení ochorení a porúch centrálnej nervovej sústavy (CNS) a jej farmaceuticky prijateľných derivátov, farmaceutických prostriedkov s ich obsahom, ich použitia pri liečení týchto ochorení a spôsobov ich výroby.

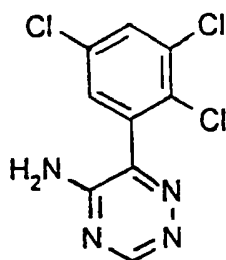
Doterajší stav techniky

EP-A-0021121 a EP-A-0247892 opisujú 3,5-diaminotriazíny, napríklad 3,5-diamino-6-(2,3-dichlórfenyl)-1,2,4-triazín (lamotrigín), ktoré sú účinné pri liečení porúch CNS a najmä sú využiteľné pri liečení epilepsie.

Predkladaný vynález sa týka derivátu 5-aminotriazínu, ktorý je blokátorom sodíkového kanálu. Táto zlúčenina má prekvapujúco silné protikrčové účinky, pričom má zvýšenú účinnosť v porovnaní s lamotrigínom a zvýšenú selektivitu z hľadiska vedľajších účinkov na CNS a inhibície enzýmu dihydrofolátreduktázy. Zlúčenina je preto použiteľná pri liečení ochorenia centrálnej nervovej sústavy, ako je epilepsia.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu je zlúčenina vzorca I



(I)

t.j. 5-amino-6-[2,3,5-trichlórfenyl]-1,2,4-triazín a jeho farmaceuticky prijateľné deriváty.

Pod termínom farmaceuticky prijateľný derivát sa rozumie akákoľvek farmaceuticky prijateľná soľ alebo solvát zlúčenín vzorca I, alebo akákoľvek iná zlúčenina, ktorá je schopná po podaní príjemcovi poskytnúť (priamo alebo nepriamo) zlúčeninu vzorca I, alebo jej aktívny metabolit alebo zvyšok (napríklad prekursor). Odkazy na zlúčeniny vzorca I teda budú v ďalšom znamenať jednak zlúčeninu vzorca I, a tiež i ich farmaceuticky prijateľné deriváty.

Medzi vhodné farmaceuticky prijateľné soli zlúčeniny vzorca I patria adičné soli s kyselinami, vytvorené s anorganickými alebo organickými kyselinami, výhodne s anorganickými kyselinami, napríklad ako sú hydrochloridy, hydrobromidy a sulfáty.

Vhodné prekursori sú v danej oblasti techniky známe a patria sem *N*-acylové deriváty, napríklad na ktoromkoľvek zo štyroch atómov dusíka zlúčenín vzorca I, napríklad jednoduché acylové deriváty ako je acetyl, propionyl a pod., alebo skupiny, ako je R-O-CH₂-atóm dusíka alebo R-O-C(O)-atóm dusíka.

Zlúčeniny vzorca I sú použiteľné najmä ako protikrčové látky. Sú preto využiteľné pri liečení epilepsie. Môžu sa používať na zlepšenie stavu pacienta, typicky človeka, ktorý trpí epilepsiou. Môžu sa používať na zmiernenie príznakov epilepsie u pacienta. „Epilepsia“ zahŕňa nasledujúce záchvaty: jednoduché čiastočné záchvaty, komplexné čiastočné záchvaty, sekundárne generalizované záchvaty, generalizované záchvaty vrátane absenčných záchvatov, myoklonické záchvaty, klonické záchvaty, tonické záchvaty, tonicko-klonické záchvaty a atonické záchvaty.

Zlúčeniny vzorca I sú ďalej použiteľné pri liečení bipolárnych ochorení, známych tiež ako manická depresia. Je možné liečiť bipolárne ochorenia typu I alebo II. Zlúčeniny vzorca I sa môžu teda používať na zlepšenie stavu pacienta – človeka trpiaceho bipolárnym ochorením. Môžu sa použiť na zmiernenie príznakov bipolárnej poruchy u hostiteľa. Zlúčeniny vzorca I môžu sa tiež použiť pri liečení unipolárnej depresie.

Zlúčeniny vzorca I sú použiteľné ako analgetiká. Preto môžu byť využité pri liečbe alebo prevencii bolesti. Môžu byť použité na zlepšenie stavu pacienta, typicky človeka, trpiaceho bolesťou. Môžu byť tiež použité na zmiernenie bolesti u pacienta.

Zlúčeniny vzorca I môžu byť použité ako analgetiká pri liečení akútnej bolesti, ako je kostrová svalová bolesť, pooperačná bolesť a bolesť po chirurgickom zákroku, chronická bolesť, ako je chronická bolesť zápalového pôvodu (napríklad reumatoidná artritída a osteoartritída), neuropatická bolesť (napríklad posterpetická neuralgia, neuralgia trigemínu a bolesť udržiavaná sympatikom) a bolesť spojená s rakovinou a fibromyaliou. Zlúčeniny vzorca I môžu byť tiež použité pri liečbe, alebo prevencii bolesti, spojenej s migrénou.

Zlúčeniny vzorca I sú ďalej použiteľné pri liečení funkčných porúch čreva, ktoré zahŕňujú nevredovú dyspepsiou, pri liečení bolesti na prsiach iného, ako srdcového pôvodu a najmä pri liečení syndrómu dráždivého čreva. Syndróm dráždivého čreva je gastrointestinálna porucha charakterizovaná bolesťou v bruchu a zmeneným správaním sa čreva, bez akýchkoľvek dôkazov organického ochorenia. Zlúčeniny vzorca I môžu sa teda použiť na zmiernenie bolesti spojenej so syndrómom dráždivého čreva. Môže byť teda zlepšený stav pacienta, trpiaceho syndrómom dráždivého čreva.

Zlúčeniny vzorca I môžu byť tiež použiteľné pri liečení neurodegeneratívnych ochorení, ako je Alzheimerova choroba, ALS, ochorenie motorických neurónov, Parkinsonova choroba, svalová skleróza, makulárna degenerácia a glaukón. Zlúčeniny vzorca I môžu byť tiež použité ako neuroprotektívne látky a pri liečbe degenerácie nervov po mŕtvici, zástave srdca, po pľúcnom bypasse, úraze mozgu, úraze chrbtice a pod.

Zlúčeniny vzorca I sú ďalej použiteľné pri liečení ušných šelestov.

Zlúčeniny vzorca I sú ďalej použiteľné pri prevencii, alebo znížení závislosti, alebo pri prevencií alebo znížení tolerancie alebo spätnej tolerancie na látku vyvolávajúcu závislosť. Príklady látok vyvolávajúcich závislosť sú opiáty (napríklad morfín), látky tlmiace centrálnu nervovú sústavu (napríklad etanol), psycho-stimulačné látky (napríklad kokaín) a nikotín.

Predkladaný vynález teda ďalej poskytuje použitie zlúčeniny vzorca I alebo jej farmaceuticky prijateľného derivátu v humánnom a veterinárnom lekárstve.

Predkladaný vynález ďalej poskytuje použitie zlúčeniny vzorca I pri výrobe farmaceutického prostriedku na liečenie porúch, ktoré boli napríklad opísané vyššie.

Predkladaný vynález ďalej zahrnuje spôsob liečenia pacienta trpiaceho alebo vnímavého k ochoreniu tak, ako bolo v podstate uvedené vyššie, kde tento spôsob zahŕňa podávanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny vzorca I pacientovi.

Termín „liečenie“ ako sa tu používa, zahŕňa jednak liečenie už vyvinutých porúch, jednak aj ich prevenciu.

Presné množstvo zlúčenín vzorca I podávané hostiteľovi, najmä človeku, určí ošetrojúci lekár. Použitá dávka však bude závisieť na celom rade faktorov, vrátane veku a pohlavia pacienta, na konkrétnom liečenom ochorení a jeho vážnosti a ceste podávania.

Zlúčenina vzorca I môže byť podávaná v dávke od 0,1 do 10 mg/kg telesnej hmotnosti na deň a najmä 0,3 až 3 mg/kg telesnej hmotnosti na deň, vzťahnuté na voľnú bázu. Rozmedzie dávok pre dospelého človeka je všeobecne od 8 do 1000 mg/deň, napríklad od 35 do 800 mg/deň, výhodne 10 až 200 mg/deň alebo 20 až 200 mg/deň, vzťahnuté na voľnú bázu.

Zlúčeniny vzorca I a ich farmaceuticky prijateľné deriváty sa vhodne podávajú vo forme farmaceutických prostriedkov. V ďalšom uskutočnení vynálezu sa teda poskytuje farmaceutický prostriedok s obsahom zlúčeniny vzorca I alebo jej farmaceuticky prijateľného derivátu, upraveného na použitie v humánnom alebo veterinárnom lekárstve. Takéto prostriedky môžu byť pohodlne vo forme na použitie bežne v zmesi s jedným alebo viacerými fyziologicky prijateľnými nosičmi alebo pomocnými látkami.

Aj keď je možné podávať zlúčeniny vzorca I ako čisté chemikálie, ich podávanie je výhodné vo forme farmaceutického prostriedku. Farmaceutické prostriedky, podľa predkladaného vynálezu, obsahujú zlúčeniny vzorca I spolu s jedným, alebo viacerými farmaceuticky prijateľnými nosičmi, alebo riedidlami, prípadne ďalšími liečebnými zložkami. Nosič, alebo nosiče, musia byť „prijateľné“ v zmysle kompatibility s inými zložkami farmaceutického prostriedku a nesmú mať škodlivé účinky na príjemcu.

Medzi farmaceutické prostriedky patria formy vhodné na orálne, parenterálne (vrátane subkutánneho, napríklad vo forme injekcie alebo depotnej tablety, intradermálneho, intratekálneho, intramuskulárneho, napríklad depotného a intravenózneho), rektálne a miestne (vrátane dermálneho, bukálneho a sublinguálneho)

podávanie, i keď najvhodnejšia cesta môže závisieť napríklad na stave a poruche pacienta. Tieto farmaceutické prostriedky môžu byť výhodne v jednotkovej dávkovej forme a môžu byť pripravené akýmkoľvek spôsobom, známym v danej oblasti farmácie. Všetky tieto spôsoby zahŕňujú krok zmiešania zlúčeniny vzorca I alebo farmaceuticky prijateľnej soli s kyselinou („účinná zložka“) s nosičom, ktorý je tvorený jednou alebo viacerými prídavnými zložkami. Prostriedky sa všeobecne pripravujú rovnomerným a dokonalým zmiešaním účinnej zložky s kvapalnými nosičmi, alebo jemne rozomletými tuhými nosičmi alebo obidvoma a potom, v prípade potreby, tvarovaním výrobku do požadovanej formy.

Farmaceutické prostriedky podľa predkladaného vynálezu vhodné na orálne podávanie, môžu byť vo forme diskretných jednotiek, ako sú kapsuly, tobolky alebo tablety (napríklad žuvacie tablety, najmä na pediatrické podávanie), vždy s obsahom vopred určeného množstva účinnej zložky; ako je prášok alebo granuly; ako roztok alebo suspenzia vo vodnej kvapaline alebo nevodnej kvapaline; alebo ako kvapalná emulzia typu olej vo vode alebo voda v oleji. Účinná zložka môže byť tiež prítomná ako bolus, lektvar alebo pasta.

Tablety je možné vyrábať lisovaním alebo formovaním vo vlhkom stave, prípadne spolu s jednou alebo viacerými ďalšími prídavnými zložkami. Lisované tablety môžu byť vyrobené lisovaním účinnej zložky vo voľne sypkej forme ako prášok alebo granuly, prípadne v zmesi so spojivom, klznou látkou, inertným riedidlom, povrchovo aktívnou alebo dispergačnou látkou. Tablety, ktoré boli formované za vlhka môžu sa vyrábať lisovaním práškovej zmesi navlhčenej inertným kvapalným riedidlom na vhodnom stroji. Tablety môžu byť poťahované, alebo drážkované a môžu sa formulovať tak, aby sa dosiahlo pomalé alebo riadené uvoľňovanie aktívnej zložky z tablety.

Farmaceutické prostriedky na parenterálne podávanie zahŕňujú vodné a nevodné sterilné injekčné roztoky, ktoré môžu obsahovať antioxidanty, pufre, bakteriostatické látky a rozpúšťadlá, ktoré spôsobujú izotonický stav prostriedku s krvou potenciálneho príjemcu; a vodné a nevodné sterilné suspenzie, ktoré môžu obsahovať suspendačné prostriedky a zahusťujúce látky. Prostriedky môžu byť v zásobníkoch pre jednotkovú dávku alebo väčší počet dávok, napríklad v zatavených ampulách a fľaštičkách, a môžu sa uchovávať v lyofilizovanom stave,

ktorý vyžaduje len prídavok sterilného kvapalného nosiča, napríklad vody pre injekcie bezprostredne pred použitím. Injekčné roztoky a suspenzie na prípravu pred použitím môžu byť vyrobené zo sterilných práškov, granúl a tabliet opísaného typu.

Farmaceutické prostriedky na rektálne podávanie môžu byť vo forme čapíkov s obvyklými nosičmi ako je kakaové maslo, tuhý tuk alebo polyetylén glykol.

Farmaceutické prostriedky na miestne podávanie v ústach, napríklad bukové alebo sublinguálne, zahŕňujú pastilky obsahujúce účinnú zložku v ochutenom základe, ako je sacharóza a akácia alebo tragant, a pastilky obsahujúce účinnú zložku v základe, ako je želatína a glycerol, alebo sacharóza a akácia.

Zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť tiež formulované ako depotné preparáty. Tieto prostriedky s dlhodobým pôsobením môžu sa podávať implantáciou (napríklad subkutánne alebo intramuskulárne) alebo intramuskulárnou injekciou. Tak napríklad zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť formulované s vhodnými polymérnymi alebo hydrofóbnymi materiálmi (napríklad ako je emulzia v prijateľnom oleji) alebo ionomeničovými živcami alebo ako ťažko rozpustné deriváty, napríklad ťažko rozpustné soli.

Naviac k vyššie uvedeným zložkám môžu prostriedky obsahovať ďalšie, v danej oblasti techniky bežné prostriedky, pričom sa berie ohľad na typ príslušného farmaceutického prostriedku, napríklad formy vhodné na orálne podávanie môžu obsahovať chuťové prísady.

Výhodné jednotkové dávkové formy sú formy obsahujúce účinnú dennú dávku, ako bolo uvedené vyššie, alebo jej vhodný podiel, účinnej zložky. Bežne môže byť od 5 mg do 1000 mg, napríklad od 8 mg do 1000 mg, výhodnejšie 35 mg až 800 mg a najvýhodnejšie 10 až 200 mg, alebo 20 až 200 mg, vzťahnuté na voľnú bázu.

Zlúčeniny vzorca I sa môžu použiť v kombinácii s inými terapeutickými látkami, napríklad ďalšími protikŕčovými látkami. Ak sa zlúčeniny vzorca I používajú v kombinácii s ďalšími terapeutickými látkami, môžu sa tieto zlúčeniny podávať akoukoľvek vhodnou cestou buď postupne alebo súčasne. Vynález teda v ďalšom uskutočnení poskytuje kombináciu obsahujúcu zlúčeninu vzorca I alebo jej farmaceuticky prijateľný derivát, spolu s ďalšou terapeutickou látkou.

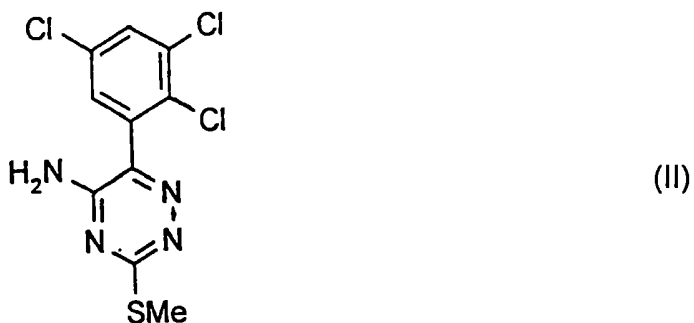
Vyššie uvedené kombinácie môžu byť výhodne vo forme na použitie ako farmaceutický prostriedok a ďalšie uskutočnenie vynálezu budú tvoriť farmaceutické prostriedky obsahujúce kombináciu, ako bolo definované vyššie, spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo pomocnou látkou. Jednotlivé zložky tejto kombinácie môžu sa podávať postupne alebo súbežne v oddelených alebo kombinovaných farmaceutických prostriedkoch.

Ak sa zlúčenina vzorca I, alebo jej farmaceuticky prijateľný derivát používa v kombinácii s druhou terapeutickou látkou s účinnosťou na rovnaké ochorenie, dávka každej zlúčeniny sa môže líšiť od dávky pri jej samostatnom použití. Výhodné dávky budú odborníkom v danej oblasti techniky samozrejmé.

Predkladaný vynález ďalej poskytuje spôsob výroby zlúčenín vzorca I a jej farmaceuticky prijateľných derivátov.

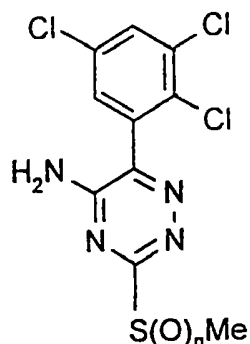
Zlúčeniny vzorca I sa môžu pripraviť spôsobmi, ktoré sú uvedené ďalej a tvoria ďalšie uskutočnenie vynálezu.

Podľa všeobecného spôsobu A je možné pripraviť zlúčeninu vzorca I pri vhodných reakčných podmienkach zo zlúčeniny vzorca I



napríklad redukciou, výhodne použitím redukujúceho kovu ako je Raneyov nikel a zdroja vodíka, ako je monohydrát hydrazínu, vo vhodnom rozpúšťadle, ako je etanol, výhodne pri zvýšenej teplote, napríklad medzi 70 až 75 °C.

Podľa ďalšieho spôsobu B, ktorý tvorí ďalšie uskutočnenie vynálezu, môže byť zlúčenina vzorca I pripravená za vhodných reakčných podmienok reakciou zlúčeniny vzorca III

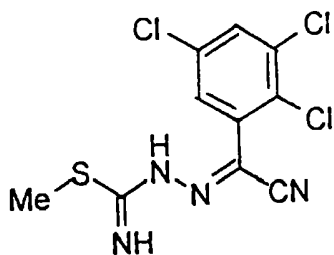


kde n môže byť 1 alebo 2, s redukčným činidlom. Medzi vhodné redukčné činidlá patria bórhydridy, výhodne bórhydrid sodný. Reakcia sa môže uskutočniť v zmesi rozpúšťadiel, ako je éter, výhodne tetrahydrofurán a alkohol, výhodne *tert*-butanol pri teplote miestnosti.

Zlúčenina vzorca III sa môže vyrobiť za vhodných reakčných podmienok reakciou zlúčenín vzorca II s oxidačným činidlom, ako je peroxykyselina, napríklad peroxomonosulfát draselný alebo kyselina *m*-chlórperbenzoová, a pri zníženej teplote, napríklad $<5^{\circ}\text{C}$, pričom tento spôsob tvorí ďalšie uskutočnenie vynálezu

Zlúčenina vzorca II sa môže výhodne pripraviť reakciou 2,3,5-trichlórbenzoylkyanidu s *S*-metyltiosemikarbazidovou soľou, výhodne s hydrojodidom, v prítomnosti zriedenej minerálnej kyseliny, výhodne zriedenej kyseliny sírovej, pričom tento spôsob tvorí ďalšie uskutočnenie vynálezu.

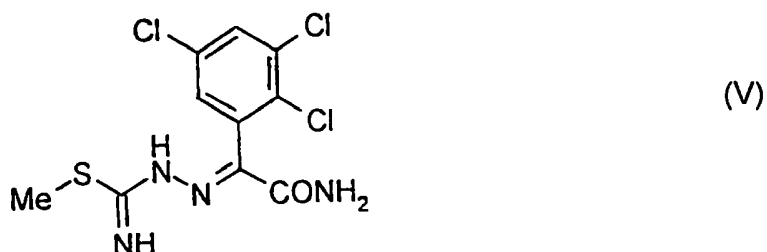
Zlúčenina vzorca II sa môže alternatívne vyrobiť za vhodných reakčných podmienok fotolýzou roztoku zlúčeniny vzorca IV v rozmedzí vlnových dĺžok 320 a 750 nm



vo vhodnom rozpúšťadle ako je alkohol, výhodne propán-1-ol a pri zvýšenej teplote, napríklad pri teplote varu rozpúšťadla pod spätným chladičom, pričom tento spôsob predstavuje ďalšie uskutočnenie vynálezu.

2,3,5-Trichlórbenzoylkyanid a S-metyltiosemikarbazid sa môžu vyrobiť spôsobmi bežnými v danej oblasti techniky a predstavujú tak ďalšie uskutočnenie vynálezu.

Zlúčenina vzorca IV sa môže vyrobiť za vhodných reakčných podmienok reakciou zlúčeniny vzorca V



s dehydratačným činidlom, výhodne difosforylchloridom, pričom tento spôsob predstavuje ďalšie uskutočnenie vynálezu.

Zlúčenina vzorca V sa môže vhodne pripraviť reakciou zlúčeniny vzorca VI



s S-metyltiosemikarbazidovou soľou, výhodne s hydrojodidom vo vhodnom rozpúšťadle, napríklad etanole a pri zvýšenej teplote napríklad pri 50 °C, pričom tento spôsob predstavuje ďalšie uskutočnenie vynálezu.

Zlúčenina vzorca VI sa môže vyrobiť za vhodných reakčných podmienok reakciou 2,3,5-trichlórbenzoylkyanidu so silnou vodnou kyselinou, výhodne koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou, pričom tento spôsob predstavuje ďalšie uskutočnenie vynálezu.

Prekurzory zlúčenín vzorca I môžu byť vyrobené bežnými spôsobmi.

Nasledujúce príklady sú uvedené na ilustráciu, bez toho aby boli považované za jeho obmedzenie.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Medziprodukt 1

Kyselina 2,3,5-trichlórbenzoová

2,3,5-Trichlórbenzaldehyd (197,4 g, 0,94 mol, Lancaster) sa rozpustil v *tert*-butanole (785 ml), miešal a zahrieval sa pod dusíkom pri 50 °C. 2M vodný hydroxid sodný (940 ml) sa zahrial na 50 °C a pridal sa k roztoku aldehydu. Peroxid vodíka (27,5% vodný roztok, 699 g, 5,65 mol) sa pridal dávkovacím čerpadlom v priebehu 45 minút, pričom teplota sa udržiavala medzi 57 až 60 °C. Reakčná zmes sa potom miešala a zahrievala v atmosfére dusíka ďalšiu hodinu, ochladila sa a odparila vo vákuu. Získaná kaša sa odfiltrovala a filtrát sa premyl toluénom (2 x 300 ml) a potom sa okysličil (pH 1) 5M kyselinou chlorovodíkovou pri dôkladnom miešaní. Získaná hustá biela zrazenina sa odfiltrovala, premyla vodou (3 x 300 ml) a sušila vo vákuu pri 50 °C. Výťažok 180 g (85 %). Teplota topenia 155 až 158 °C (pena).

Medziprodukt 2

2,3,5-Trichlórbenzoylchlorid

2,3,5-Trichlórbenzoová kyselina (75 g, 0,33 mol, príklad 1) a tionylchlorid (197,47 ml, 271,32 g, 2,28 mol) sa zahrievali pod spätným chladičom v bezvodnom toluéne (350 ml) pri 120 °C 3 hodiny. Reakčná zmes sa ochladila na teplotu miestnosti a odparila vo vákuu. Zvyšok sa azeotropne destiloval s bezvodným toluénom (3 x 100 ml) za získania hnedého viskózneho oleja.

Alternatívne sa môže príprava uskutočniť nasledujúcim spôsobom:

2,3,5-Trichlórbenzoová kyselina (75 g, 333 mmol, 1 ekv.) sa pridala k toluénu (225 ml) a kaša sa zohrievala pod spätným chladičom 2 hodiny s pripojeným Dean-Starkovým prístrojom. Kyselina sa po zahriatí rozpustila. Roztok sa ochladil za

dôkladného miešania a prikvapávacím lievikom sa pridal v priebehu 1 hodiny pyridín (0,2 ml, kat. ~ 0,5 mol. %) a tionylchlorid (26,7 ml, 365 mmol, 1,1 ekv.) za udržiavania vnútornej teploty medzi 70 až 80 °C. Po ukončení pridávania sa zmes zahrievala pod spätným chladičom 2 hodiny. Roztok sa ochladil, prchavé látky sa odstránili vo vákuu a potom sa roztok azeotropne ddestiloval s toluénom (2 x 50 ml) za získania číreho žltého oleja ako produktu.

Medziprodukt 3

2,3,5-Trichlórbenzoylkyanid

Kyanid meďný (63,88 g, 0,71 mol), jodid draselný (108,2 g, 0,65 mol) sa zahrievali pod spätným chladičom v bezvodnom xyléne (590 ml) pri 150 °C 24 hodín s použitím Dean-Starkovho prístroja. Pridal sa roztok 2,3,5-trichlórbenzoylchloridu v bezvodnom xyléne (150 ml) a získaná suspenzia sa zahrievala pod spätným chladičom v atmosfére dusíka pri 150 °C 3 dni. Suspenzia sa odfiltrovala a filtrát sa odparil vo vákuu. δ (CDCl_3): 7,80 (s, 1H), 8,0 (s, 1H).

Príprava môže byť alternatívne uskutočnená nasledujúcim spôsobom:

Jodid draselný (66,25 g, 400 mmol, 1,2 ekv.) (preosiaty kvôli získaniu častíc veľkosti <1 mm) a kyanid meďný (36 g, 400 mmol, 1,2 ekv.) v xyléne (400 ml) sa zahrievali pod spätným chladičom 3 hodiny s pripojeným Dean-Starkovým prístrojom. Zmes sa ochladila a pridal sa 2,3,5-trichlórbenzoylchlorid v xyléne (100 ml). Zmes sa zahrievala pod spätným chladičom s pripojeným Dean-Starkovým prístrojom. Zmes postupne v priebehu 30 min zmenila farbu z červenej na oranžovú a cez noc sa získal svetlohnedý roztok.

Zmes sa zahrievala pod spätným chladičom 40 hodín, potom sa ochladila a anorganické látky sa odfiltrovali. Xylén sa odstránil vo vákuu pri 55 °C, azeotropne sa destiloval s toluénom (2 x 50 ml), potom sa pridal Buchiho vstupom petroléter s teplotou varu 60 až 80 °C (260 ml) za získania hnedého roztoku. Pri ochladení sa vytvorila hnedá zrazenina. Roztok sa miešal pri teplote miestnosti cez noc, tuhá látka sa odfiltrovala a premyla petroléterom s teplotou varu 60 až 80 °C (100 ml).

Tuhé podiely sa do sucha odsali pod dusíkom, za získania prvého podielu žltej tuhej látky 2,3,5-trichlórbenzoylnitrilu (45,5 g, 58,1 %).

Filtrát sa skoncentroval, nechal sa stáť 24 hodín a potom sa získal druhý podiel (6,5 g, 8,7 %) a nakoniec tretí podiel (5,3 g, 6,8 %).

Celkový výťažok (57,6 g, 73,8 %). NMR (d_6 -DMSO) dppm: 8,03 (d, 1H), 8,34 (d, 1H).

Medziprodukt 4

Hydrojodid S-metyltiosemikarbazidu

Tiosemikarbazid (448 g, 0,50 mol, Aldrich) a jódmétán (300 ml, 5 mol) sa zahrievali pod spätným chladičom v 95% etanole (2000 ml) 5 hodín a potom sa ochladili na teplotu miestnosti. Požadovaný produkt sa odfiltroval, premyl éterom (3 x 1000 ml) a sušil vo vákuu. Výťažok 647 g. Teplota topenia 138 až 140 °C.

Medziprodukt 5

3-Tiometyl-5-amino-6-[2,3,5-trichlórfenyl]-1,2,4-triazín [vzorec II]

Spôsob A

Hydrojodid S-metyltiosemikarbazidu (38,59 g, 0,17 mol) sa suspendoval v zriedenej kyseline sírovej (95,83 ml koncentrovanej kyseliny sírovej/95,83 ml vody) a zmes sa miešala 1 hodinu pri teplote miestnosti. Pomaly sa pridal roztok 2,3,5-trichlórbenzoylkyanidu (18 g, 0,077 mol) v acetonitrile (90 ml) a získaná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 11 dní. Reakčná zmes sa zriedila vodou a extrahovala etylacetátom (3 x 250 ml). Etylacetátová vrstva sa premyla vodou (2 x 300 ml), sušila nad bezvodým síranom horečnatým, odfiltrovala sa a filtrát sa vo vákuu odparoval. Zvyšok sa rozpustil v propán-1-ole (500 ml) a zahriev sa pod spätným chladičom pri 130 °C 4 hodiny. Reakčná zmes sa ochladila na teplotu miestnosti a odparila sa vo vákuu. Zvyšok sa rozdelil medzi 2N vodný roztok roztok hydroxidu sodného (100 ml) a etylacetát (300 ml). Etylacetátová vrstva sa premyla vodou (2 x 100 ml), sušila sa nad bezvodým síranom horečnatým, odfiltrovala sa a filtrát sa odparil vo vákuu. Zvyšok sa čistil bleskovou chromatografiou s použitím

cyklohexánu až zmesou 1:3 cyklohexán:éter ako eluenta. Výťažok 1,90 g (8 %). Teplota topenia 138 až 140 °C.

Spôsob B

2-[S-Metyltiosemikarbazono]-2-[2,3,5-trichlórfenyl]acetonitril (1 g, 3,11 mmol) sa zmiešal v propán-1-ole (40 ml) a zahrieval pod spätným chladičom pod dusíkom. Do zmesi bola ponorená wolfrámová žiarovka 300 W a reakcia sa nechala, aby prebiehala za týchto podmienok 48 hodín. Reakčná zmes sa ochladila na teplotu miestnosti, žiarovka sa vypla a roztok sa odparil vo vákuu, pričom vznikol tmavý olej, ktorý počas státia kryštalizoval. Tuhá látka sa rozotrela s metanolom, odfiltrovala a vysušila za vzniku produktu 3-tiometyl-5-amino-6-[2,3,5-trichlórfenyl]-1,2,4-triazínu. Výťažok 770 mg (77,0 %).

NMR (d_6 -DMSO) δ ppm: 2,50 (s, 3H), 7,15 (široký s, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,90 (široký s, 1H), 8,00 (d, 1H). LC/MS, pozitívne elektrorozprašovanie $(M+1)^+ = 321/323$.

Medziprodukt 6

3-Metylsulfoxy-5-amino-6-[2,3,5-trichlórfenyl]-1,2,4-triazín [vzorec III]

3-Tiometyl-5-amino-6-[2,3,5-trichlórfenyl]-1,2,4-triazín (6 g, 18,7 mmol, 1 ekv.) sa suspendoval v dichlórmétáne (650 ml) a zmes sa ochladila na 5 °C. Naraz sa pridala kyselina *m*-chlórperbenzoová (5,66 g, 18,7 mmol, podľa predpokladu 57%, ~1 ekv.) a zmes sa miešala pri teplote <10 °C 20 minút v dusíku za vzniku číreho žltého roztoku. Analýza TLC (zmes 1:1 cyklohexán:etylacetát) ukázala, že už nie je prítomný žiadny východzí materiál. Reakcia sa ukončila pridaním siričitanu sodného (10 g) a vody (200 ml) do dôkladne miešaného roztoku. Vrstvy sa oddelili a organická vrstva sa premyla 10% vodným roztokom siričitanu sodného (100 ml). Testovacie prúžky na peroxid Merck ukázali negatívny výsledok. Organická vrstva sa premyla nasýteným hydrogenuhlíčanom sodným (200 ml), potom sa premyla roztokom soli (200 ml) a sušila sa nad bezvodným síranom horečnatým. Organický roztok sa prefiltraval a rozpúšťadlo sa odstránilo vo vákuu za získania žltej tuhej

látky 3-metylsulfoxy-5-amino-6-[2,3,5-trichlórfenyl]-1,2,4-triazínu. Výťažok 5,82 g (92,2 %).

NMR(CDCI₃) δ ppm: 3,05 (s, 3H), 7,39 (d, 1H), 7,69 (d, 1H). LC/MS pozitívne elektrorozprašovanie (M+1)⁺ = 337/339.

Medziprodukt 7

2-Oxo-2-[2,3,5-trichlórfenyl]acetamid [vzorec VI]

2,3,5-Trichlórbenzoylkyanid (10,0 g, 46 mmol) sa pridal ku koncentrovanej kyseline chlorovodíkovej (140 ml) a miešal sa pri teplote miestnosti 48 hodín. Suspenzia sa zriedila s vodou (100 ml) a prefiltrovala sa. Svetlohnedá tuhá látka sa premyla vodou a potom sušila vzduchom 1 hodinu. Surový produkt sa rozpustil v etylacetáte (400 ml), premyl sa nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (2 x 300 ml) a potom roztokom soli (300 ml) a potom sa sušil nad síranom horečnatým, prefiltroval sa a odparil. Získala sa béžová tuhá látka.

Táto tuhá látka sa rozotrela v zmesi hexán/toluén (200 ml), odfiltrovala sa a sušila vo vákuu. Získala sa belavá tuhá látka 2-oxo-2-[2,3,5-trichlórfenyl]acetamidu. Výťažok 7,02 g (65,3 %). NMR (d₆-DMSO) δ ppm: 7,77 (d, 1H), 8,09 (d, 1H), 8,13 (široký s, 1H), 8,48 (široký s, 1H). LC/MS, negatívne elektrorozprašovanie (M-1)⁻ = 250/252.

Medziprodukt 8

2-[S-Metyltiosemikarbazono]-2-[2,3,5-trichlórfenyl]acetamid [vzorec V]

2-Oxo-2-[2,3,5-trichlórfenyl]acetamid (5,0 g, 19,8 mmol) a hydrojodid S-metyltiosemikarbazidu (9,2 g, 39,5 mmol) sa suspendovali v etanole (100 ml) a zahrievali pri 50 °C pod dusíkom cez noc. Chromatografia na tenkej vrstve ukázala, že je stále prítomný východzí materiál, a preto sa pridal ďalší hydrojodid S-metyltiosemikarbazid (4,0 g, 172 mmol) a miešanie pokračovalo pri 50 °C 2 hodiny. Reakčná zmes sa odparila vo vákuu a získal sa hnedý olej. Tento olej sa rozpustil v etylacetáte (400 ml), premyl sa vodou (300 ml), potom roztokom soli (300 ml), sušil sa nad síranom horečnatým, prefiltroval sa a odparil vo vákuu. Získala sa

žltohnedá guma. Táto guma sa čistila chromatografiou na kolóne s použitím zmesi 1:1 etylacetát:hexán ako eluenta. Produkt, prevažne E izomér, sa získal ako bledožltá tuhá látka. Výťažok 4,25 g (63,2 %). NMR (d_6 -DMSO) δ ppm: 2,14 (s, 3H), 7,28 (d, 1H), 7,31 (široký s, 1H), 7,84 (d, 1H), 8,28 (široký s, 1H). LC/MS, pozitívne elektrorozprašovanie $(M+1)^+ = 339/341$.

Medziprodukt 9

2-[S-Metyltiosemikarbazono]-2-[2,3,5-trichlórfenyl]acetonitril [vzorec IV]

2-[S-Metyltiosemikarbazid]-2-[2,3,5-trichlórfenyl]acetamid (2 g, 5,89 mmol) sa po častiach pridával k roztoku difosforylchloridu (2,97 g, 1,63 ml, 11,8 mmol) v 1,4-dioxáne (16 ml) a zmes sa miešala pod dusíkom 6 hodín. Tmavý roztok sa odparil vo vákuu za vzniku tmavožltého oleja. Tento olej sa rozpustil v etylacetáte (50 ml), premyl vodou (50 ml), nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (50 ml), roztokom soli (50 ml), potom sa sušil nad síranom horečnatým, prefiltraval sa a odparil vo vákuu. Vznikol tmavožltý olej. Surový produkt sa čistil chromatografiou na kolóne s použitím zmesi 3:1 hexán:etylacetát ako eluenta. Produkt 2-[S-metyltiosemikarbazono]-2-[2,3,5-trichlórfenyl]acetonitril sa získal ako žltý olej, ktorý stáťím kryštalizoval na žltú tuhú látku. Výťažok 1,16 g (61,2 %). NMR (d_6 -DMSO) δ ppm: 2,20 (s, 1H), 3,38 (široký s, 3H), 7,68 (široký s, 1H), 7,95 (d, 1H), 8,12 (široký s, 1H). LC/MS, pozitívne elektrorozprašovanie $(M+1)^+ = 321/323$.

Príklad

5-Amino-6-[2,3,5-trichlórfenyl]-1,2,4-triazín

Spôsob A

Raneyov nikel (3,50 g, suspenzia vo vode, Fluka) sa suspendoval v roztoku 3-tiometyl-5-amino-6-(2,3,5-trichlórfenyl)-1,2,4-triazínu (1,75 g, $5,44 \cdot 10^{-3}$ mol) v absolútnom etanole (30 ml) a zmes sa miešala pri 70 °C. K suspenzii sa v priebehu 30 minút po kvapkách pridal monohydrát hydrazínu (3,50 ml, 3,54 g, 0,11 mol). Získaná zmes sa miešala pri 70 až 75 °C 2 hodiny, odfiltrovala sa, premyla sa absolútnym etanolom (3 x 20 ml) a filtrát sa odparil vo vákuu. Zvyšok sa čistil

bleskovou chromatografiou s použitím zmesi 15:25 cyklohexán:éter ako eluenta a potom preparatívnu HPLC na kolóne Supelcosil ABZ a 50% zmesou acetonitril/-voda a 0,1% kyselinou mravčou ako eluenta. Výťažok 0,134 g (9 %). Teplota topenia 220 až 222 °C, $R_t = 13,691$ minút, NMR(d_6 -DMSO) δ ppm: 6,90 (široký s, 1H) 7,60 (d, 1H), 7,70 (široký, s, 1H), 8,0 (d, 1H), 8,70 (s, 1H). LC/MS (EI) $M^+ = 275/277$.

Spôsob B

3-Metylsufoxy-5-amino-6-[2,3,5-trichlórfenyl]-1,2,4-triazín (5,82 g, 17,2 mmol, 1 ekv.) sa rozpustil v zmesi 1:1 THF:*tert*-butanol (1800 ml). Naraz sa pridal bórhydrid sodný (915 g, 24,08 mmol, ~1,4 ekv.) a získaná zmes sa miešala pri teplote miestnosti pod dusíkom 2 hodiny. Prítomné rozpúšťadlo sa úplne odstránilo vo vákuu a získala sa žltá tuhá látka, ktorá bola potom azeotropne destilovala s tetrahydrofuránom (200 ml). Pomaly sa pridala 10% vodná kyselina citrónová (500 ml) pri udržiavaní teploty pod 20 °C a potom etylacetát (500 ml). Vrstvy sa oddelili a vodná vrstva sa ďalej extrahovala etylacetátom (500 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli nasýteným roztokom soli, sušili sa nad bezvodným síranom horečnatým, prefiltrovali sa a akékoľvek prchavé podiely sa odstránili vo vákuu. Získala sa žltá tuhá látka. Produkt sa čistil s použitím chromatografie na kolóne a 20% etylacetátu v hexáne ako eluenta so zvýšením na 60 % etylacetátu v hexáne. Frakcie s obsahom produktu sa spojili a odparili vo vákuu. Získala sa žltá tuhá látka, 3-tiometyl-5-amino-6-[2,3,5-trichlórfenyl]-1,2,4-triazín. Výťažok 1,5 g (31,7 %).

NMR(d_6 -DMSO) δ ppm: 7,67 (d, 1H), 8,02 (d, 1H), 8,75 (s, 1H), 7,0 - 7,2 (široký s, 1H), 7,7 - 8,0 (široký s, 1H). LC/MS, pozitívne elektrorozprašovanie ($M+1$)⁺ = 275/277.

Farmaceutické príklady

Sterilné prostriedky

Príklad A

	mg/ml
Zlúčeniny podľa vynálezu	0,1 mg
Chlorid sodný USP	9,0 mg
Voda pre injekcie USP na doplnenie do	1 ml

Zložky sa rozpustia v časti vody pre injekcie a roztok sa doplní na celkový objem na poskytnutie koncentrácie 0,1 mg/ml zlúčenín podľa vynálezu. V prípade, ak sa používa soľ zlúčenín, množstvo zlúčenín sa zvýši na poskytnutie koncentrácie 0,1 mg/ml voľnej bázy. Roztok môže byť zabalený na injekčné použitie, napríklad naplnením a uzatvorením do ampuliek, fľaštičiek alebo striekačiek. Tie môžu byť asepticky plnené, a/alebo nakoniec sterilizované, napríklad autoklavovaním pri teplote 121 °C.

Ďalšie sterilné prostriedky je možné pripraviť podobne na získanie iných koncentrácií zlúčenín.

Príklad B

	mg/ml
Zlúčeniny podľa vynálezu	0,5 mg
Manitol	50,0 mg
Voda pre injekcie na doplnenie do	1 ml

Zložky sa rozpustia v časti vody pre injekcie. Zmes sa doplní na konečný objem a mieša sa do homogenity. Prostriedok sa prefiltruje cez sterilizačný filter a plní sa do sklenených fľaštičiek. Fľaštičky sa lyofilizujú a uzatvoria. Rekonštitúcia pred použitím sa uskutoční vhodným rozpúšťadlom.

Prostriedky na orálne podávanie

Tabletky sa dajú pripraviť obvyklými spôsobmi ako je priame lisovanie alebo granulácia vo vlhkom prostredí. Tabletky môžu byť potiahnuté vhodným filmo-

tvorným materiálom, ako je materiál Opadry, s použitím štandardných spôsobov. Tablety môžu byť alternatívne potiahnuté cukrom.

Príklad C

Priamo lisované tablety

	mg/ml
Zlúčeniny podľa vynálezu	5,0 mg
Stearan horečnatý	4,0 mg
Mikrokryštalická celulóza (Avicel PH102) do	400,0 mg

Zlúčeniny podľa vynálezu sa preosejú sitom 30 mesh (595 μ m) a zmiešajú s materiálom Avicel a stearanom horečnatým. Získaná zmes sa lisuje do tabliet pomocou vhodného tabletovacieho lisu opatreného raznicou s priemerom 11,0 mm, takže sa získa množstvo 5 mg zlúčenín podľa vynálezu na tabletu. Podobným spôsobom je možné pripraviť tablety s iným obsahom účinnej látky, ktoré obsahujú napríklad 25 alebo 100 mg zlúčenín podľa vynálezu na tabletu.

Príklad D

Tablety granulované za mokra

	mg/tabletu
Zlúčeniny podľa vynálezu	5,0 mg
Predželatinizovaný škrob	28,0 mg
Sodná soľ glykolátu škrobu	16,0 mg
Stearan horečnatý	4,0 mg
Laktóza do	400,0 mg

Zlúčeniny podľa vynálezu, laktóza, predželatinizovaný škrob a sodná soľ glykolátu škrobu sa za sucha zmiešajú a potom granulujú pomocou vhodného objemu čistej vody. Získané granuly sa sušia a zmiešajú so stearanom horečnatým. Sušené granuly boli lisované na vhodnom tabletovacom lise,

opatrenom raznicou 11,0 mm na získanie obsahu 5 mg zlúčenín podľa vynálezu v tablete.

Boli pripravené tiež tablety s inými obsahmi, napríklad 25 a 100 mg/tabletu.

Príklad E

Tvrdá želatínová kapsula

	mg/kapsulu
Zlúčenina podľa vynálezu	5,0 mg
Mikrokryštalická celulóza (Avicel PH102) do	700,0 mg

Zlúčeniny podľa vynálezu sa preosejú sitom 30 mesh (595 μ m) a potom sa zmiešajú s mikrokryštalickou celulózoou na získanie homogénnej zmesi. Zmes môže byť potom plnená do tvrdých želatínových kapsúl veľkosti OEL na získanie kapsúl s obsahom 5,0 mg zlúčenín podľa vynálezu na kapsulu.

Podobným spôsobom môžu byť pripravené kapsuly s inými obsahmi zlúčenín podľa vynálezu, ako je napríklad 25 alebo 100 mg/kapsulu.

Príklad F

Mäkká želatínová kapsula

	mg/kapsulu
Zlúčeniny podľa vynálezu	10,0 mg
Polyetylén glykol	90,0 mg
Propylén glykol do	200,0 mg

Polyetylén glykol a propylén glykol sa vzájomne zmiešajú, v prípade potreby za tepla. Zmes sa mieša do homogenity. Pridajú sa zlúčeniny podľa vynálezu a zmes sa opäť mieša do homogenity. Zmes sa potom plní do vhodnej želatínovej hmoty na získanie mäkkých želatínových kapsúl s obsahom 200 mg prostriedku na získanie obsahu 10,0 mg zlúčenín podľa vynálezu na kapsulu.

Podobným spôsobom je možné pripraviť kapsuly s iným obsahom účinných látok, napríklad s 5 a 25 mg/kapsulu zlúčenín podľa vynálezu.

Príklad G

Sirup

Zlúčeniny podľa vynálezu	5,0 mg
Roztok sorbitolu	1500,0 mg
Glycerol	1000,0 mg
Benzoan sodný	5,0 mg
Príchut'	125,0 mg
Čistená voda do	5,0 ml

Benzoan sodný sa rozpustí v časti čistenej vody a pridá sa roztok sorbitolu. Pridajú sa zlúčeniny podľa vynálezu, príchut' a glycerol a zmes sa mieša do homogenity. Získaná zmes sa doplní na požadovaný objem čistenou vodou.

Ďalšie prostriedky

Príklad H

Čapík

	mg/čapík
Zlúčeniny podľa vynálezu	10,0 mg
Tuhý tuk Witepsol W32 do	2000,0 mg

Materiál Witepsol W32 sa roztaví pri teplote približne 36 °C. Do jeho časti sa pridajú zlúčeniny podľa vynálezu a zmes sa zmieša. Pridá sa zvyšný roztavený Witepsol W32 a zmes sa mieša do homogenity. Formy sa plnia 2000 mg prostriedku na získanie obsahu 10,0 mg zlúčenín podľa vynálezu v čapíku.

Príklad I

Transdermálny prostriedok

Zlúčeniny podľa vynálezu	5,0 mg
Kvapalný silikón	90,9 mg
Koloidný oxid kremičitý	5,0 mg

Uskutoční sa zmiešanie kvapalného silikónu a účinnej látky a pridá sa koloidný oxid kremičitý. Materiál sa potom dávkuje do polymérneho laminátu zloženého z polyesterovej sťahovacej fólie lepidla pre styk s kožou, zloženého zo silikónu alebo akrylových polymérov, membrány na riadenie prieniku liečiva z polyolefínu (vyrobeného napríklad z polyetylénu alebo polyvinylacetátu) alebo polyuretánu a nepriepustnej krycej membrány z viacvrstvého polyesteru, kde tento laminát sa potom teplom uzatvorí.

Biologické údaje

Inhibičný účinok na sodíkové kanály riadené napätím

Na vyhodnotenie účinnosti zlúčeniny vzorca I na rekombinantný Na^+ kanál ľudského mozgu typu IIA exprimovaný v bunkách vaječníkov čínskeho škrečka sa použila technika priloženia napätia na celú bunku (whole-cell voltage-clamp). Zlúčenina vzorca I inhibuje tieto kanály v závislosti na napätí a použití s odhadovacou hodnotou K_i 11 μM pre rovnovážny stav inaktivácie, čo je približne 70x viac, než účinnosť v pokojnom stave ($\text{IC}_{50} = 785 \mu\text{M}$).

Zvýšená selektivita na stav kanálu a väčšia inhibícia v závislosti na použití v porovnaní s lamotrigínom (približne 30x) poskytuje mechanizmus, ktorým zlúčenina vzorca I selektívne blokuje prenos spôsobený vysokofrekvenčným spúšťaním akčných potenciólov (záchvatová aktivita). To podporuje zistenie, že zlúčenina vzorca I je silnejšia protikŕčová látka než lamotrigín a má vyšší terapeutický index.

Protikrčová účinnosť

Ukázalo sa, že zlúčenina vzorca I má protiepileptické účinky u dvoch modelov generalizovanej epilepsie na hlodavcoch, v teste maximálneho elektrošoku u potkana (MES), ktorý je zvierací model odrážajúci ľudské generalizované tonicko-klonické kŕče a v teste infúzie pentyléntetrazolu u myší, ktorý napodobňuje absenčné kŕče u človeka a myoklonický epileptický záchvat petit mal.

Napríklad samcom potkanov kmeňa Han Wistar (hmotnosť 150 až 200 g) sa orálne podávala suspenzia testovanej zlúčenina v 0,25% metylcelulóze 2 hodiny pred testom. Tesne pred testovaním sa urobilo vizuálne pozorovanie na prítomnosť ataxie. Pomocou ušných elektród sa aplikuje prúd 200 mA počas 200 ms a zaznamenáva sa prítomnosť alebo neprítomnosť natiahnutia zadnej končatiny. Zlúčenina vzorca I mala hodnotu ED₅₀ 1,7 mg/kg v porovnaní s hodnotou 6,1 mg/kg pre lamotrigín s terapeutickým indexom (pomer ED₅₀ pre ataxiu a ED₅₀ pre test MES) 23,7 v porovnaní s 3,3 pre lamotrigín.

Zlúčenina vzorca I mala v teste infúzie pentyléntetrazolu u myší hodnotu ED₅₀ 3,8 mg/kg pri dávkovaní 1 hodinu po PTZ v porovnaní s hodnotou ED₅₀ 8,4 mg/kg pre lamotrigín.

Analgetické účinky

Ukázalo sa tiež, že zlúčenina vzorca I má analgetické účinky v modeloch bolesti. Tri hodiny po intraplantárnom podaní karagenanu (100 µl 2%) potkanovi dôjde k zníženiu zaťažovania zapálenej labky a zvýšeniu objemu labky súvisiaceho s akútnou hyperalgiou a zápalom. Zlúčenina vzorca I podaná orálne 30 minút pred karagenanom poskytne v závislosti na dávke inhibíciu zníženia zaťažovania indukovaného karagenanom s hodnotou ED₅₀ 7,5 mg/kg v porovnaní s 23,5 mg/kg pre lamotrigín. Zlúčenina vzorca I mala tiež v tomto modeli významné protizápalové účinky pri dávke 30 mg/kg (50% zníženie objemu labky).

Účinnosť proti neurotoxícite indukovanej MPTP

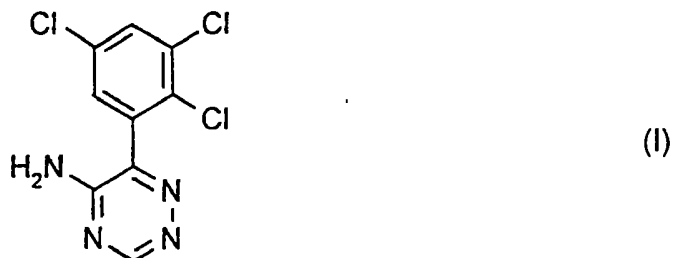
Model MPTP u myší sa všeobecne používa ako model Parkinsonovej choroby.

Samci myši C57BL/6 dostali štyri intraperitoneálne injekcie MPTP.HCL (15 mg voľnej bázy na kg; Research Biochemicals) vo fyziologickom roztoku v intervaloch 2 hodiny. Kontrolné myši dostávali len fyziologický roztok. Testovaná zlúčenina sa podávala vo forme štyroch podkožných injekcií v olivovom oleji v intervaloch 2 hodiny, 30 min pred každou injekciou MPTP.

Sedem dní po injekcii MPTP boli myši usmrtené a odobralo sa im corpus striatum, ktoré sa okamžite zmrazilo a skladovalo pri -80 °C až do analýzy. V deň analýzy boli vzorky tkaniva sonikované v 10 objemoch (hmotnosť/objem) 0,1M kyseliny chloristej s obsahom 1,9 mM hydrogensiričitanu sodného a 1,6 mg/ml DBA-HBr. Po centrifugácii (2800 g, 10 minút pri teplote miestnosti) a filtrácii (veľkosť pórov 0,5 µm, Millipore), sa supernatant preniesol do nádoby a umiestnil v autosamplére (M231XL, Gilson). S pomocou HPLC sa meral obsah dopamínu. Zlúčenina vzorca I poskytla 75% ochranu proti vyčerpaniu dopamínu pri dávkovaní 3 mg/kg (4x) a 98% ochranu pri dávkovaní 10 mg/kg (4x).

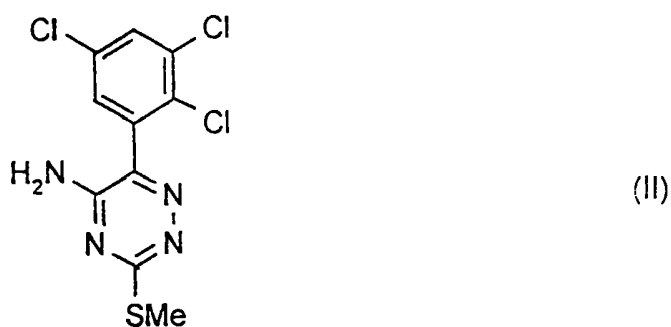
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Triazínové deriváty vzorca I

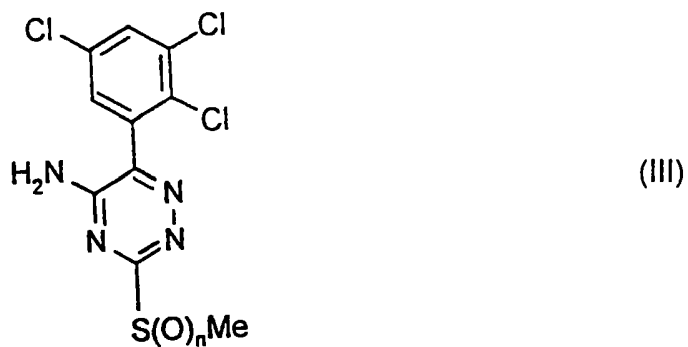


a ich farmaceuticky prijateľné deriváty.

2. Spôsob výroby triazínového derivátu vzorca I podľa nároku 1, v y z n a č u-
j ú c i s a t ý m, že sa redukuje zlúčenina vzorca II

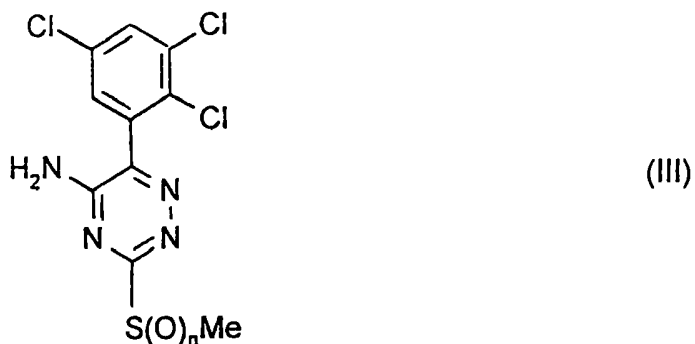


3. Spôsob výroby triazínového derivátu vzorca I podľa nároku 1, v y z n a č u-
j ú c i s a t ý m, že sa redukuje zlúčenina vzorca III

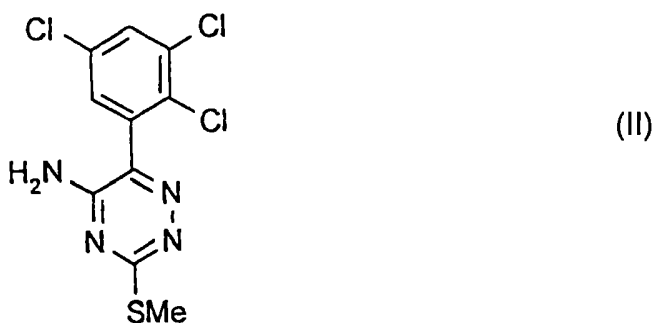


kde n je 1 alebo 2.

4. Spôsob výroby triazínového derivátu vzorca I podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa triazínový derivát vzorca III



pripravuje oxidáciou zlúčeniny vzorca II



5. Farmaceutický prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje triazínový derivát vzorca I podľa nároku 1 spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom.

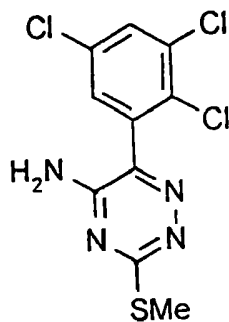
6. Triazínové deriváty podľa nároku 1 na použitie v lekárstve.

7. Triazínové deriváty podľa nárou 1 na použitie na liečenie pacienta trpiaceho alebo vnímavého na epilepsiu, bipolárne poruchy alebo manickú depresiu, bolesti, funkčné poruchy čreva, neurodegeneratívne ochorenia, neuroprotekciiu, neurodegeneráciu, ušné šelesty alebo na závislosť alebo toleranciu na látky indukujúce závislosť.

8. Použitie triazínového derivátu podľa nároku 1 na výrobu liečiva na liečenie epilepsie, bipolárnej poruchy alebo manickej depresie, bolesti, funkčných porúch

čreva, neurodegeneratívnych ochorení, neuroprotektie, neurodegenerácie, ušných šelestov alebo závislosti alebo tolerancie na látky indukujúce závislosť.

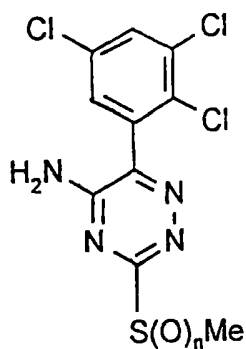
9. Medziprodukt vzorca II



(II)

a jeho farmaceuticky prijateľné deriváty na prípravu triazínového derivátu vzorca I podľa nároku 1.

10. Medziprodukt vzorca III



(III)

kde n je 1 alebo 2, a jeho farmaceuticky prijateľné deriváty na prípravu triazínového derivátu vzorca I podľa nároku 1.