

(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PATENTCHRIFT



(12) Ausschließungspatent

(11) **DD 298 924 A5**

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 07 D 265/06
A 61 K 31/535

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) DD C 07 D / 343 445 1
(31) P3926898.5

(22) 14.08.90
(32) 16.08.89

(44) 19.03.92
(33) DE

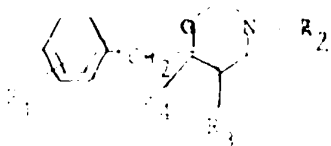
(71) siehe (73)

(72) Ballhause, Helmut; Engelhardt, Günther, Prof. Dr.; Landgraf, Claus A., Dr.; Mayer, Norbert, Dr.; Roth, Willy, Dr.; Schumacher, Kurt, Dr.; Prox, Axel, Prof. Dr., DE

(73) Dr. Karl Thomae GmbH, Birkendorfer Straße 65, PF 17 55, W - 7950 Biberach an der Riß 1, DE

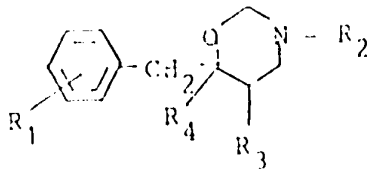
(54) **Neue 1,3-Oxazine**

(57) Die Verbindungen der allgemeinen Formel I weisen eine hustenstillende Wirkung auf. Formel I

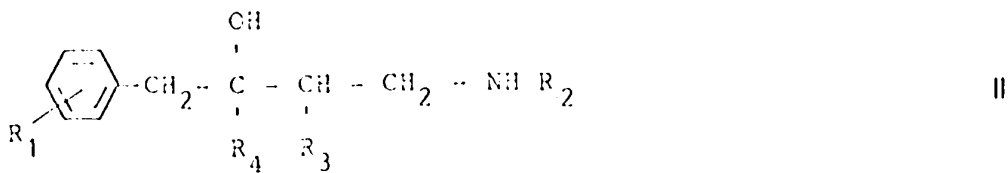


Patentansprüche:

1. Verbindungen der allgemeinen Formel I



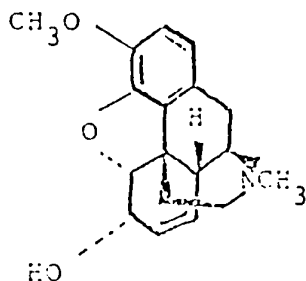
- in der R₁ ein Wasserstoff- oder ein Halogenatom, R₂ eine C₁-C₃-Alkylgruppe, und R₃ und R₄, die gleich oder verschieden sein können, C₁-C₃-Alkylgruppen bedeuten, und deren physiologisch verträgliche Säureadditionssalze mit anorganischen oder organischen Säuren.
2. Verbindungen gemäß Anspruch 1, worin R₁ ein Halogenatom in der p-Stellung bedeutet.
 3. Verbindungen gemäß Anspruch 1 oder 2, worin R₁ ein Chloratom und R₂, R₃ und R₄, die gleich oder verschieden sein können, Methyl- oder Ethyl bedeuten.
 4. 6-(p-Chlor-benzyl)-3,5,6-trimethyl-2H-3,4,5,6-tetrahydrooxazin(1,3)- oder ihre physiologisch verträglichen Säureadditionssalze mit anorganischen oder organischen Säuren, vorzugsweise Salzsäure.
 5. Verwendung einer Verbindung gemäß einer der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Husten.
 6. Arzneimittel, enthaltend als Wirkstoff eine Verbindung gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 neben gegebenenfalls einem oder mehreren inerten Trägerstoffen und/oder Verdünnungsmitteln.
 7. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung gemäß den Ansprüchen 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß man eine Verbindung der allgemeinen Formel II



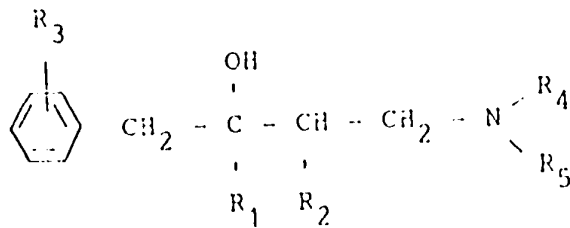
in der R₁, R₂, R₃ und R₄ wie in Anspruch 1 definiert sind, oder deren Säureadditionssalze, mit einer Formaldehyd-Lösung umsetzt, zweckmäßigerweise bei Temperaturen zwischen 20°C bis Siedetemperatur der Lösung, vorzugsweise bei Zimmertemperatur, und die resultierende Verbindung gemäß Formel I des Anspruchs 1 als Säureadditionssalze oder freie Basen isoliert und gewünschtenfalls eine freie Base in ein Säureadditionssalz überführt oder ein Säureadditionssalz in eine freie Base überführt.

Hierzu 5 Seiten Zeichnungen

Eines der wohl bekanntesten Hustenmittel ist das Morphinderivat „Codein“ mit der Formel



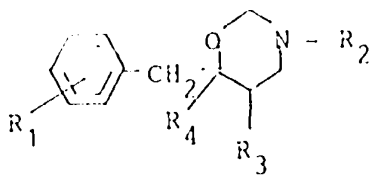
In der Deutschen Patentschrift P 1146068 werden basisch-substituierte Carbinole der allgemeinen Formel



beschrieben, wobei R_1 bis R_5 niedrigmolekulare Alkylreste bedeuten und R_3 ein Wasserstoff- oder ein p-Halogenatom sein kann, und die als Hustenmittel verwendet werden können. Eine dieser Verbindungen, 1-p-Chlor-2,3-dimethyl-4-dimethylaminobutanol, ist seit Jahren als Handelspräparat der Firma Dr. Karl Thomae GmbH unter dem Namen „Silomat“ auf dem Markt. Die Substanz hat den INN generico name „Clobutinol“.

Aufgabe der derzeitigen Erfindung ist, neue Verbindungen zu finden, die eine hustenstillende Wirkung, aber nicht die bekannten unangenehmen Nebenwirkungen von Codein, aufweisen.

Die Erfindung betrifft neue 1,3-Oxazine der allgemeinen Formel I

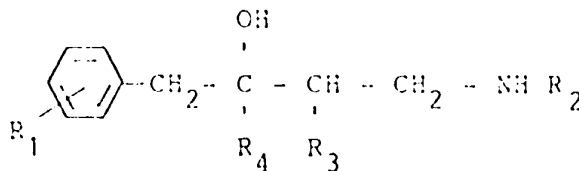


in der R_1 ein Wasserstoff- oder ein Halogenatom, R_2 eine C_1 - C_3 -Alkylgruppe, und R_3 und R_4 , die gleich oder verschieden sein können, C_1 - C_3 -Alkylgruppen bedeuten, deren physiologisch vorträgliche Säureadditionssalze mit anorganischen oder organischen Säuren sowie Verfahren zu ihrer Herstellung.

Bevorzugte Verbindungen der obengenannten allgemeinen Formel I sind diejenigen, in denen R_1 ein Halogenatom in der p-Stellung ist.

Besonder bevorzugt ist die Verbindung, worin R_1 ein Chloratom ist, vorzugsweise p-Chlor, und R_2 bis R_4 , die gleich oder verschieden sein können, Methyl oder Ethyl sind.

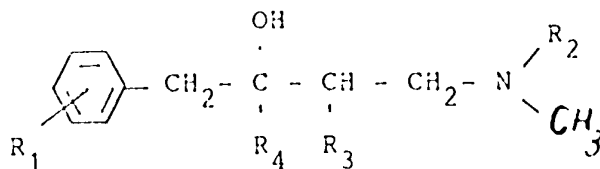
Das Verfahren zur Herstellung dieser neuen Verbindungen ist dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der allgemeinen Formel II



oder deren Säureadditionssalze mit einer wäßrigen Formaldehyd-Lösung umgesetzt, zweckmäßig bei Temperaturen zwischen 20°C bis Siedetemperatur der Lösung, vorzugsweise jedoch bei Zimmertemperatur, die zunächst gebildete Verbindung der allgemeinen Formel mit an sich bekannten Methoden isoliert, vorzugsweise als Säureadditionssalz, und gewünschtenfalls nach an sich bekannten Methoden eine freie Base in ein Säureadditionssalz überführt oder ein Säureadditionssalz in eine freie Base überführt.

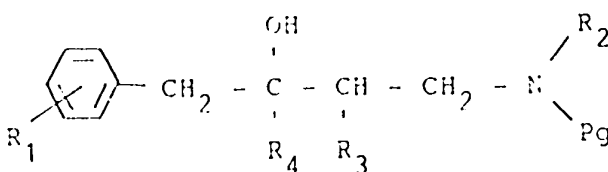
Die Verbindungen der allgemeinen Formel II können z. B. durch folgende Methoden hergestellt werden:

a) Mono-De-N-alkylierung einer Verbindung der allgemeinen Formel III



oder deren Säureadditionssalze, wobei R_1 bis R_4 wie oben definiert sind und R_2' , oder

b) Entfernung der Schutzgruppe Pg einer Verbindung der allgemeinen Formel IV



oder deren Säureadditionssalze.

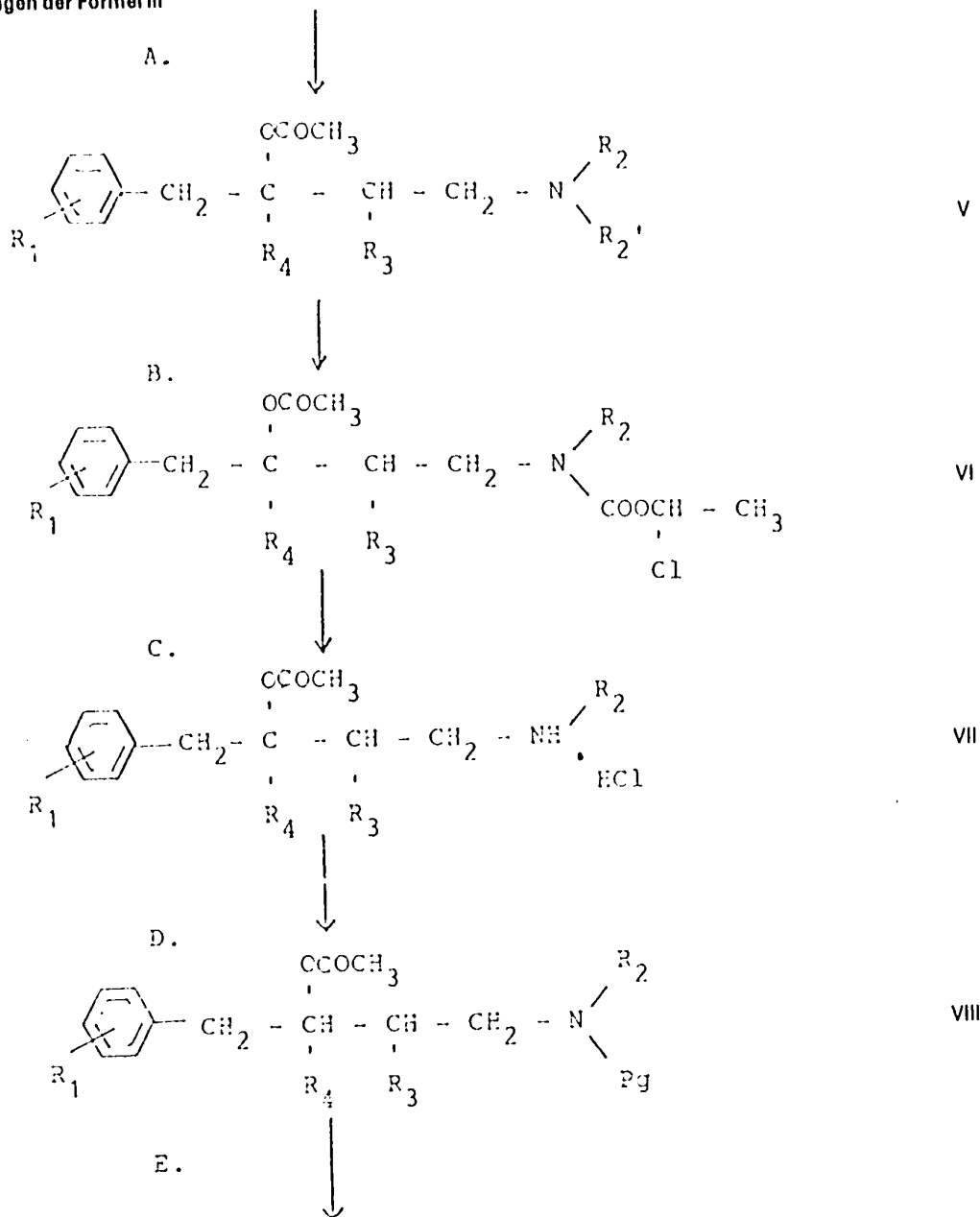
Die Mono-D_o-N-alkylierung nach Verfahren a) kann nach an sich bekannten Methoden durchgeführt werden, z. B. durch Umsetzung mit Azodicarbonsäure-diäthylester in einem Unpolar-Lösungsmittel wie Toluol bei einer Temperatur bis zur Siedetemperatur des Ansatzes und Hydrolyse der dabei entstehenden Produkte vorzugsweise unter Anwendung von Ammonium-Chlorid-Lösung in einem polaren Lösungsmittel wie Methanol-Wasser bei einer Temperatur bis zur Siedetemperatur des Ansatzes.

Verbindungen der allgemeinen Formel III sind literaturbekannt, wie z. B. aus den Deutschen Patentanmeldungen P 1146068 und P 1153380.

Das Verfahren b) kann nach an sich bekannten Methoden durchgeführt werden, abhängig von der Identität der Schutzgruppe. Vorzugsweise ist die Schutzgruppe die t-Butyloxycarbonylgruppe (Boc), die durch Trifluoressigsäure abgespalten werden könnte.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel IV können nach an sich bekannten Methoden hergestellt werden. Vorzugsweise werden diese Zwischenprodukte unter Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel III als Ausgangsstoff nach folgendem Reaktionsschema produziert:

Verbindungen der Formel III



Verbindungen der Formel IV

In der obigen Reaktionsreihe wird eine Verbindung der Formel III mit Acetylchlorid in einem inerten Lösungsmittel, z. B. Toluol, bei einer Temperatur bis zur Siedetemperatur umgesetzt. Die Verbindung V bzw. deren Hydrochloridsalz kann nach an sich bekannten Methoden isoliert werden, und dann mit Chlorameisensäure- α -Chloräthylester in 1,2-Dichloräthan oder einem anderen geeigneten organischen Lösungsmittel bei einer Temperatur bis zur Siedetemperatur des Ansatzes gerührt und die Verbindung VI nach an sich bekannten Nacharbeitungsmethoden isoliert werden. Danach wird die resultierende Verbindung in Methanol oder einem anderen inerten Lösungsmittel bis zur Siedetemperatur erhitzt. Das so hergestellte sekundäre Amin VII

wird dann als Hydrochlorid ausgefällt, dieses wird isoliert und nach bekannten Methoden gereinigt und getrocknet. Die Verbindung VII wird dann nach an sich bekannten Methoden in geschützte Aminoderivate übergeführt. Vorzugsweise geschieht das mit Di-t-butyl-di-carbonat in einem organischen Lösungsmittel wie z. B. Dioxan in Anwesenheit von einer organischen Base wie z. B. Triethylamine bei einer Temperatur von 20°C bis zur Siedetemperatur des Ansatzes, vorzugsweise bei Zimmertemperatur.

Die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel I können, sofern sie nicht bereits bevorzugt als Säureadditionssalze hergestellt wurden, mit anorganischen oder organischen Säuren nach an sich bekannter Weise in ihre physiologisch verträglichen Säureadditionssalze überführt werden, so z. B. durch Umsetzung einer alkoholischen Lösung der Base mit der äquimolaren Menge der entsprechenden Säure in Äther. Als Säuren haben sich beispielsweise Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Milchsäure, Zitronensäure, Weinsäure oder Maleinsäure als geeignet erwiesen.

Die 1,3-Oxazine der Formel I stellen Racemate dar, diese können gegebenenfalls in ihre optisch aktiven Antipoden in üblicher Weise, z. B. mit optisch aktiven Säuren, durch fraktionierte Kristallisation aufgespalten werden. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können aus z. B. den aktiven Antipoden der Verbindungen III hergestellt werden, wobei die Ausgangsstoffe z. B. der Formel III in ihre optisch aktiven Antipoden, z. B. durch flüssigchromatographische Racematrengung, abgetrennt werden und die Verfahren a) oder b) durchgeführt werden. Die Zwischenprodukte V bis VIII können gleichfalls behandelt werden, sofern sie als Racemate vorkommen. Die optische Reinheit der Ausgangs- bzw. Zwischenstoffe z. B. der Formel III sowie der Antipoden der beanspruchten Verbindungen der Formel I kann flüssigchromatographisch an einer chiralen Säule (s. Abb. 1 bis 5) bewiesen werden.

Zur medizinischen Anwendung lassen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen mit Hilfe von üblichen galenischen Hilfsstoffen wie z. B. Milchzucker, Mannit, Maisstärke, Methylcellulose, Hydroxyäthylcellulose, Polyäthylenoxid, hochdisperses Aluminiumoxid, Magnesium-Aluminiumsilikat, Magnesiumoxid, Magnesiumstearat, Natriumlaurylsulfat, Natriumcitrat, Weinsäure, Natriumpyrosulfit, Dioctylnatriumsulfosuccinat, p-Hydroxybenzoesäuremethylester-Natriumsalz, p-Hydroxybenzoesäurepropylester-Natriumsalz, Saccharin-Natrium, Aromastoffen und Entschäumer in die üblichen galenischen Zubereitungsformen wie Tabletten, Filmtabletten, Oblongtabletten, Dragées oder Kapseln sowie ihren Retardformen, Ampullen, Trockenampullen, Trockengranulaten oder Trockensäften einarbeiten.

Die antitussive Wirkung der Verbindung 6-(p-Chlor-benzyl)-3,5,6-trimethyl-2H-3,4,5,6-tetrahydro-oxazin(1,3)-hydrochlorid wurde wie folgt geprüft:

33 männliche und weibliche Katzen mit einem Körpergewicht von 3,4 bis 4,5 kg wurden mit Pentobarbital-Na narkotisiert (45 mg/kg als initialer Bolus i. p. und anschließend über den Versuch verteilt nach Bedarf mehrfach 7,5 oder 15 mg/kg i. v.). Es wurde darauf geachtet, die Tiere etwa auf Stufe 1 bis 2 (Guedel) des Toleranzstadiums zu halten.

Die Auslösung der Hustenstöße erfolgte mechanisch durch Einführen eines Kunststoffkatheters mit kugelförmiger Spitze, Durchmesser ca. 1,5 mm, in die Trachea bis zur Bifurkation. Zu jedem Reizzeitpunkt wurde eine Serie von 3 Stimuli im gegenseitigen Abstand von etwa 30 Sekunden durchgeführt. Hustenstöße wurden immer 5, 25 und 45 Minuten nach Gabe der Prüfsubstanz bzw. des Vehikels provoziert.

Die Prüfsubstanz wurde als Lösung in 0,9%iger NaCl-Lösung durch einen in der V. femoralis liegenden Katheter appliziert. Das injizierte Volumen betrug maximal 0,5 ml/kg. Vor Substanzgabe wurde an jedem Tier der Effekt des Vehikels überprüft.

Zur Bewertung der hustendämpfenden Wirkung wurde die Anzahl der nicht mit Hustenstößen beantworteten Stimuli zu deren Gesamtzahl zu jedem Zeitpunkt nach Substanzgabe in Beziehung gesetzt und daraus die prozentuale Hemmung errechnet (Tabelle 1).

Tabelle 1

Substanz	Dosis mg/kg i. v.	n	Prozentuale Hustenhemmung, MW \pm SE nach Min.		
			5	25	45
Kontrolle	-	33	6,1 \pm 3,4	5,1 \pm 3,2	7,1 \pm 3,3
Wirkstoff	0,5	5	26,7 \pm 8,5	16,7 \pm 10,5	23,3 \pm 10,0
	0,705	5	23,3 \pm 6,7	13,3 \pm 6,2	13,3 \pm 3,3
	1,0	5	33,3 \pm 18,3	40,0 \pm 16,3	36,7 \pm 3,3
	1,41	5	63,3 \pm 13,3	53,3 \pm 16,2	50,0 \pm 18,3
	2,0	5	33,3 \pm 17,5	53,3 \pm 14,3	36,7 \pm 17,0
	2,82	5	36,7 \pm 14,3	43,3 \pm 13,5	40,0 \pm 11,3
	4,0	5	60,0 \pm 11,3	63,3 \pm 13,3	46,7 \pm 9,7
	5,64	5	70,0 \pm 20,0	70,0 \pm 20,0	63,3 \pm 17,0
	8,0	3	44,4 \pm 29,4	50,0 \pm 25,5	44,4 \pm 20,0

Mit Hilfe der linearen Regressionsanalyse und der linearen Kovarianzanalyse wurden nach Parallelanpassung ED₅₀-Werte (Reduktion der Anzahl der Hustenstöße um 50%) ermittelt (Tabelle 2).

Tabelle 2

Minuten nach Substanzangabe	ED ₅₀ (mg/kg i. v.) nach Parallelanpassung
5	2,6
25	2,4
45	3,2

Die Substanz in den Dosierungen 0,5 bis 8 mg/kg i. v. verabreicht, wirkte vermindern auf die Anzahl der mechanisch ausgelösten Hustenstöße. Hier war die hustenhemmende Wirkung von der niedrigsten verabreichten Dosierung ab zu allen Testzeiten zu beobachten.

Die erfindungsgemäßen neuen Verbindungen der allgemeinen Formel I und deren physiologisch verträglichen Säureadditionssalze eignen sich aufgrund ihrer oben erwähnten pharmakologischen Eigenschaften zum hustenstillenden Zweck insbesondere zur Behandlung des Hustens der Luftwege, des Pertussis, des Reiz- und Krampfhustens.

Die zur Erzielung einer entsprechenden Wirkung erforderliche Dosierung beträgt zweckmäßigerweise 2- bis 4mal täglich 0,1 bis 4,0 mg/kg, vorzugsweise 0,3 bis 1,5 mg/kg Körpergewicht.

Beispiel 1

6-(p-Chlor-benzyl)-3,5,6-trimethyl-2H-3,4,5,6-tetrahydrooxazin(1,3)-hydrochlorid

4,0 g 1-(p-Chlor-phenyl)-2-hydroxy-2,3-dimethyl-4-methylamino-butan-hydrochlorid werden in 10 ml Wasser gelöst und 10 ml ca. 36%ige Formaldehyd-Lösung hinzugefügt. Nach 12stündigem Stehen bei Raumtemperatur wird der Ansatz unter Kühlung mit konz. Ammoniak alkalisiert und die Basenanteile ausgeäthert. Nach Trocknung der Ätherphase über Natriumsulfat wird das Filtrat eingedampft und der ölige Rückstand mit wenig Methanol aufgenommen. Die methanolische Lösung wird mit ätherischer Salzsäure auf einen pH von ca. 5 gebracht und mit so viel Äther versetzt, bis das entstandene Hydrochlorid ausfällt. Die Lösung wird so lange mit Essigester zum Sieden erhitzt, unter teilweisem Verdampfen von Äther und Methanol, bis das Hydrochlorid ausfällt. Das Hydrochlorid wird abgesaugt, mit Essigester ausgekocht, filtriert und getrocknet.

Schmp. F. = 198-200°C, Ausbeute: 3,3 g.

Behandelt man auf analoge Weise die Enantiomeren des nor-Clobutinols, so erhält man die Enantiomeren des beanspruchten 1,3-Oxazins mit folgenden Drehwerten:

Aus (+)-Clobutinol → (+)-nor-Clobutinol →

(-)-1,3-Oxazin-HCl: $[\alpha]_D^{20} (c = 0,303; 1 \text{ dm; Äthanol rein}) = -16,83^\circ$
Schmelzpunkt: 197-199°C

Aus (-)-Clobutinol → (-)-nor-Clobutinol →

(+)-Oxazin-HCl (1,3): $[\alpha]_D^{20} (c = 0,301; 1 \text{ dm; Äthanol rein}) = +16,6^\circ$
Schmelzpunkt: 197-199°C

Beispiel 2

Tabletten mit 5,0 mg 6-(p-Chlor-benzyl)-3,5,6-trimethyl-2H-3,4,5,6-tetrahydro-oxazin(1,3)-hydrochlorid

Zusammensetzung:

Wirkstoff	5,0 mg
Milchzucker	148,0 mg
Kartoffelstärke	65,0 mg
Magnesiumstearat	2,0 mg
	<hr/>
	220,0 mg

Herstellungsverfahren:

Aus Kartoffelstärke wird durch Erwärmen ein 10%iger Schleim hergestellt. Die Wirksubstanz, Milchzucker und die restliche Kartoffelstärke werden gemischt und mit obigem Schleim durch ein Sieb der Maschenweite 1,5 mm granuliert. Das Granulat wird bei 45°C getrocknet, nochmals durch obiges Sieb gerieben, mit Magnesiumstearat vermischt und zu Tabletten verpreßt.

Beispiel 3

Ampullen mit 10 mg 6-(p-Chlor-benzyl)-3,5,6-trimethyl-2H-3,4,5,6-tetrahydro-oxazin(1,3)-hydrochlorid

Zusammensetzung:

Wirkstoff	10,0 mg
Natriumchlorid	8,0 mg
Dest. Wasser	ad 1 ml

Herstellungsverfahren:

Die Wirksubstanz und Natriumchlorid werden in dest. Wasser gelöst und anschließend auf das gegebene Volumen aufgefüllt. Die Lösung wird sterilfiltriert und in 1-ml-Ampullen abgefüllt.
Sterilisation: 20 Minuten bei 120°C.

Beispiel 4

Tropfen mit 0,5 mg 6-(p-Chlor-benzyl)-3,5,6-trimethyl-2H-3,4,5,6-tetrahydro-oxazin(1,3)-hydrochlorid pro 100,0 ml

Zusammensetzung:

P-Hydroxybenzoesäuremethylester	0,035 g
p-Hydroxybenzoesäurepropylester	0,015 g
Anisöl	0,05 g
Menthol	0,06 g
Ethanol rein	10,0 g
Wirkstoff	0,5 g
Natriumcyclamat	1,0 g
Glycerin	15,0 g
Dest. Wasser	ad 100,0 ml

Herstellungsvorfahren:

Die Wirksubstanz und Natriumcyclamat werden in ca. 70ml Wasser gelöst und Glycerin zugefügt. Man löst p-Hydroxybenzoesäureester, Anisöl sowie Menthol in Ethanol und fügt diese Lösung unter Rühren der wäßrigen Lösung zu. Abschließend wird mit Wasser aus 100 ml aufgefüllt und schwebeteilchenfrei filtriert.

Referenz-Beiispiel 1

1-(p-Chlor-phenyl)-2-hydroxy-2,3-dimethyl-4-methylamino-butanhydrochlorid

26,5g Clobutinol-Base werden mit 21,0g Azodicarbonsäurediäthylester (1,1 molar zu Clobutinol) in 200ml trockenem Toluol 4 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach Abdampfen des Toluols im Vakuum wird der Rückstand 4 Stunden lang bei Siedetemperatur mit 200ml Methanol und 200ml gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung hydrolysiert.

Der Ansatz wird eingedampft und der resultierende halb feste Rückstand mit 100ml eines Gemisches gleicher Anteile konz. Salzsäure und Wasser versetzt. Nach dem Absaugen über einen Weitauffilter und erneutem Filtrieren des Filtrats wird das Filtrat mit 40%iger Natronlauge und Eis alkalisiert, und die basischen Anteile werden mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherphase wird abgetrennt und über Natriumsulfat getrocknet, danach mit Aktivkohle ausgerührt, filtriert und eingedampft. Der eingedampfte Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel (0,05 - 0,2mm) mit dem F'uanten Methylenchlorid - Methanol - Ammoniak (940 + 60 + 4) bis (900 + 100 + 6) gereinigt. Die polare(n) Fraktion(en), die das gewünschte nor-Clobutinol enthalten, werden vereinigt und das Lösungsmittel abdestilliert. Die Rohbase wird in das Hydrochlorid überführt. Den basischen Rückstand nimmt man in wenig Methanol auf und neutralisiert mit ätherischer Salzsäure. Dabei fällt das Hydrochlorid der gewünschten Verbindung aus. Den Niederschlag vervollständigt man durch weitere Ätherzugabe.

Schmp. F. = 182-183°C, ca. 4,0g.

Ausgehend von (+)- bzw. (-)-Clobutinol erhält man das entsprechende enantiomere nor-Clobutinol.

Referenz-Beiispiel 2

1-(p-Chlor-phenyl)-2-hydroxy-2,3-dimethyl-4-methylamino-butanhydrochlorid

A. O-Acetyl-Clobutinol

30,0g Clobutinol-Base in 150ml Toluol werden tropfenweise bei 80°C Ölbadtemperatur mit 8,5ml Acetylchlorid in 20ml Toluol versetzt und anschließend das Reaktionsgemisch 2 Stunden lang zum Sieden erhitzt. Die schnell einsetzende Ausfällung des gewünschten Hydrochlorids wird nach dem Abkühlen des Ansatzes abgesaugt, mit Äther nachgespült und getrocknet.

B. N-(α-chloräthyl-Carbamat) des O-Acetyl-nor-Clobutinols

16,0g O-Acetyl-Clobutinol-Base (Stufe A) in 100ml 1,2-Dichloräthan werden mit 11,0g Chlorameisensäure-α-chloräthylester in 50ml 1,2-Dichloräthan 3 Stunden zum Sieden erhitzt. Dann wird der Ansatz mit 1 N-Salzsäure und Eis ausgeschüttelt, die organische Phase abgetrennt und neutral mit Kaliumbicarbonat-Lösung (versetzt mit Eis) ausgeschüttelt. Die organische Schicht wird abgetrennt, über Natriumsulfat getrocknet und die Lösung abfiltriert und zur Trockne eingedampft. Ohne weitere Reinigung wird der Rückstand weiter verarbeitet.

C. O-Acetyl-nor-Clobutinol-hydrochlorid

Der ölige Rückstand der vorstehenden Verbindung aus Stufe B wird mit 50ml Methanol aufgenommen und 2 Stunden am Rückfluß erhitzt. Dabei beginnt das gewünschte Hydrochlorid bereits auszufallen. Ein Teil des Methanols wird dann noch abdestilliert, der Ansatz gekühlt und das Kristallisat abgesaugt. Circa 10,0g Hydrochlorid fallen nach Spülung mit Essigester und Trockne an.

F. = 185-188°C

D. O-Acetyl-N-Boc-nor-Clobutinol

12,8g des Produktes aus Stufe C werden in 500ml Dioxan zusammen mit 10,0g Di-t-butyl-di-carbonat und 4,0g Triäthylamin 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird die Suspension abgesaugt, filtriert und das Filtrat eingoengt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet.

E. N-Boc-nor-Clobutinol

Obiger ölicher Rückstand aus Stufe D wird mit 50ml 1 N-Natronlauge und 100ml Methanol 3 Stunden am Rückfluß erhitzt. Danach wird das Methanol im Vakuum abgedampft und die alkalische, wäßrige Suspension ausgeäthert. Die Äther-Phase wird abgetrennt, über Natriumsulfat getrocknet und nach Filtration eingedampft. Der zunächst ölige Rückstand wird nach einiger Zeit fest. Der feste Rückstand wird gepulvert und direkt der Umsetzung mit Trifluoressigsäure unterworfen.

F. nor-Clobutinol

12,0g der vorstehenden Boc-Verbindung aus Stufe E werden in 40ml eisgekühlter Trifluoressigsäure gelöst. Die Reaktionslösung wird 30 Minuten bei Eiskühlung und 2 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Sodann wird der größte Teil der Trifluoressigsäure bei 30°C abdestilliert, der Rückstand in Wasser und Eis aufgenommen und die nichtbasischen Anteile mit Äther ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird abgetrennt, unter Eiskühlung mit 40%iger Natronlauge alkalisiert und mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Die organische Phase wird abgetrennt und abdestilliert und der Rückstand in das Hydrochlorid überführt. Dazu wird die ölige Base in wenig Methanol gelöst und ätherische Salzsäure bis zum pH 5 hinzugefügt. Das Hydrochlorid fällt dabei schon aus. Der Niederschlag wird durch weitere Zugabe von Äther vervollständigt. Das abgesaugte Hydrochlorid wäscht man mit Essigsäureäthylester aus.

Nach Trocknung zeigt das Salz einen

Schmp. von F. = 182-184°C, Ausbeute: 8,0g

Referenz-Beispiel 3**Analytischer Nachweis der optischen Einheit der I- und der II-Enantiomere**

- (A) Das Racemat (\pm) 1-(p-Chlorphenyl)-2,3-dimethyl-4-dimethylamino-butan-2-ol wurde auf eine LKB-Säule gegeben und mittels Propanol-2 (0,5%) und Phosphatpuffer pH 6 eluiert. Wie in Abbildung 1 dargestellt, wurde das (-)-Enantiomer bei 9,25 Minuten und das (+)-Enantiomer bei 12,25 Minuten erhalten.
- (B) Das Racemat (\pm) 6-(p-Chlorbenzyl)-3,4,5-trimethyl-2H-3,4,5,6-tetrahydrooxazin(1,3) wurde auf eine Chiracel OD-Säule gegeben und mittels 495 ml Hexan und 5 ml Propanol-2 eluiert. Wie in Abbildung 2 dargestellt, wurde der (-)-Enantiomer bei 11,89 Minuten und das (+)-Enantiomer bei 13,22 Minuten erhalten.
- (C) Die (+)- und (-)-Enantiomere der Verbindung 6-(p-Chlorbenzyl)-3,5,6-trimethyl-2H-3,4,5,6-tetrahydro-oxazin(1,3) wurden durch stereospezifische Verfahren mittels des entsprechenden (+)- und (-)-Clobutinol als Ausgangsstoff hergestellt. Abbildung 3 und 4 stellen die Ergebnisse der chromatographischen Analyse der entsprechenden Produkte auf einer Chiracel OD-Säule dar. Die (+)- und (-)-Enantiomere des Oxazin wurden gemischt und gleichfalls eluiert, das Ergebnis ist in Abbildung 5 dargestellt.

Referenz-Beispiel 4**Bindungsversuch an den Opiatrezeptor**

In jedem Versuch wurden zwei männliche Ratten (ca. 200g) mittels Schlag an den Hals getötet. Die Gehirne wurden entfernt und jeweils der Gehirnstamm zusammen mit der Medulla vorbereitet und gewogen. Diese Gewebe wurden mittels einem „Potter homogenisier“ in 30 ml 0,1 M Tris HCl Puffer pH 7,4 homogenisiert. Das resultierende Homogenisat wurde bei 18000 \times g 15 Minuten lang zentrifugiert.

Durch nachfolgende Resuspension und Zentrifugierung wurden die Pellets zweimal gewaschen. Die resultierenden Pellets wurden mit dem 200fachen ihres Gewichts an Tris HCl Puffer pH 7,4 verdaut. Zur Durchführung der Bindungsanpassung wurden jeweils 1 ml dieses Präparates mit 0,5 nM 3H-Diprenorphine (38,9 Ci/nmol Amersham), das ein nichtselektiver Ligand für die Opiatrezeptoren ist, und die Testverbindung bei verschiedenen Konzentrationen in einem Eisbad inkubiert.

Die Inkubation wurde nach 3 Stunden beendet und der Ansatz in einem „Ismatec Filter-Prep 101 sample processor“ unter Verwendung eines Whatman GF/B Glaswollfilter schnell filtriert.

Das Filtrat wurde dreimal mit 3 ml gekühltem Puffer gespült und in kleinen Ampullen, die 4 ml Instasel enthielten, abgefüllt, über Nacht extrahiert. Danach wurde die Radioaktivität gemessen. Alle Messungen wurden dreimal durchgeführt. Als nicht-spezifische Bindung gilt jene gebundene Radioaktivität, die in Anwesenheit von 100 nM Naloxone gefunden wurde.

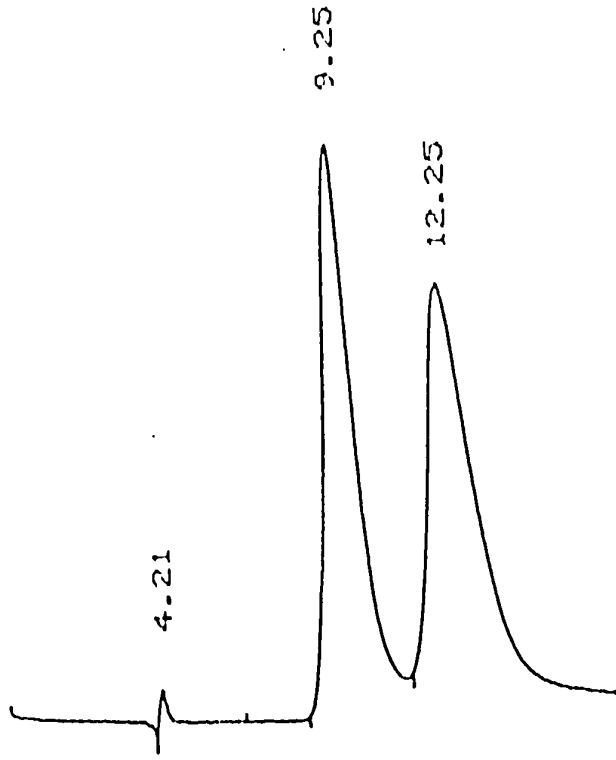
Ergebnisse:

Die radiomarkierte opiatagonistische Verbindung 3H-Diprenorphine bindet spezifisch und reversibel mit den Opiatrezeptoren der Präparate. Nach Scatchard Analysierung wurde bei einer Sättigungsuntersuchung ein KD-Wert von 0,51 nM kalkuliert. Die spezifische Bindung von 0,5 nM 3H-Diprenorphine würde durch Naloxone mit einem IC₅₀-Wert von 3 nM inhibiert. Im Gegensatz zu diesem Befund weist die Testverbindung bis 100 μ M keine Inhibierung von 3H-Diprenorphine auf.

Flüssigchromatographische Racematsentrennung

Abbildung 1

(+)-Clobutinol



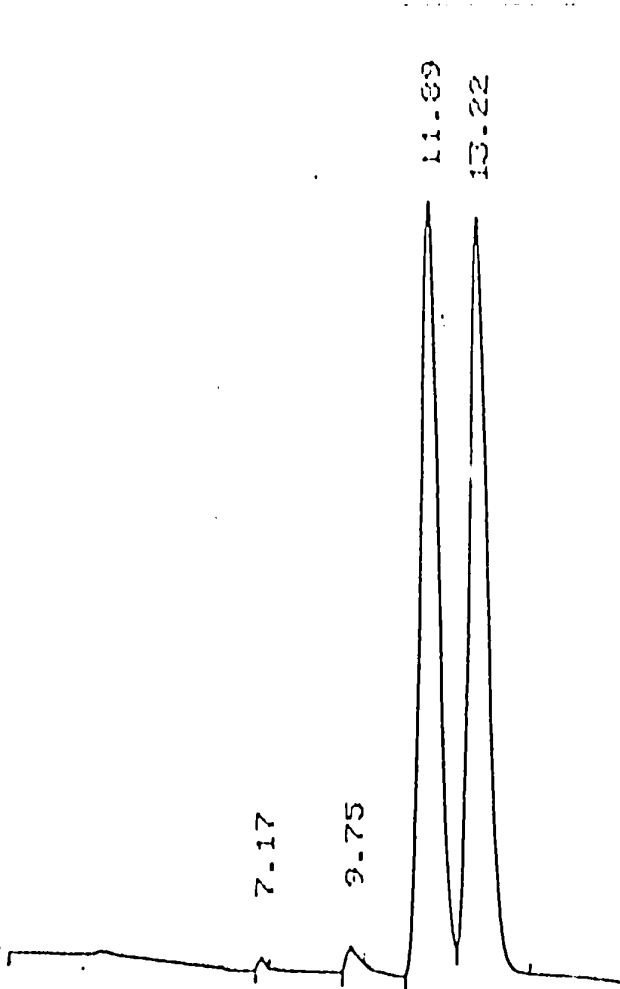
Säule: Enantiopac LKB

Eluant: Phosphatpuffer $p_H=6$ und Propanol-2 (0.5 %)

298926

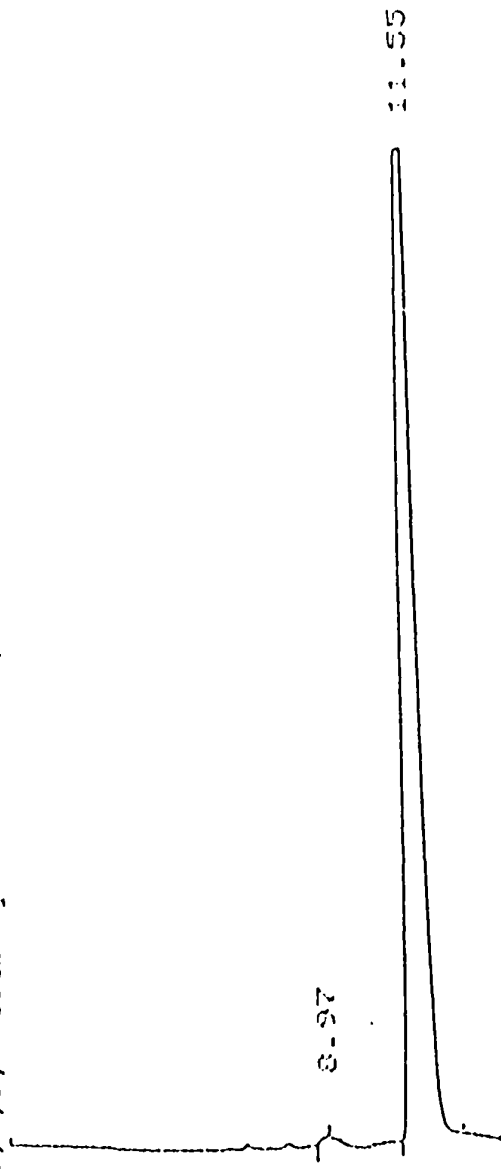
Abbildung 2

(+) 6-(p-Chlorbenzyl)-3,5,6-trimethyl-2H-3,4,5,6-tetrahydro-oxazin(1,3)



Säule: Chiralcel OD
Eluant: 495 ml Hexan und 5 ml Propunol-2

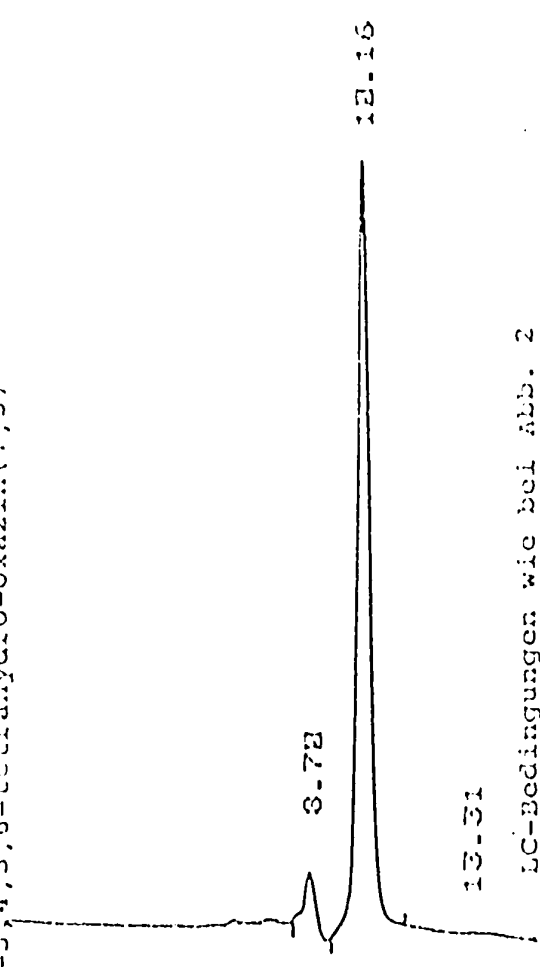
(-)-6-(p-Chlorbenzyl)-3,5,6-trimethyl-
2H-3,4,5,6-tetrahydro-oxazin(1,3) Abbildung 3



LC-Bedingungen wie bei Abb. 2

298924

(+)-6-(p-Chlorbenzyl)-3,5,6-trimethyl-
2H-3,4,5,6-tetrahydro-oxazin(1,3)



LC-Bedingungen wie bei Abb. 2

Abbildung 4

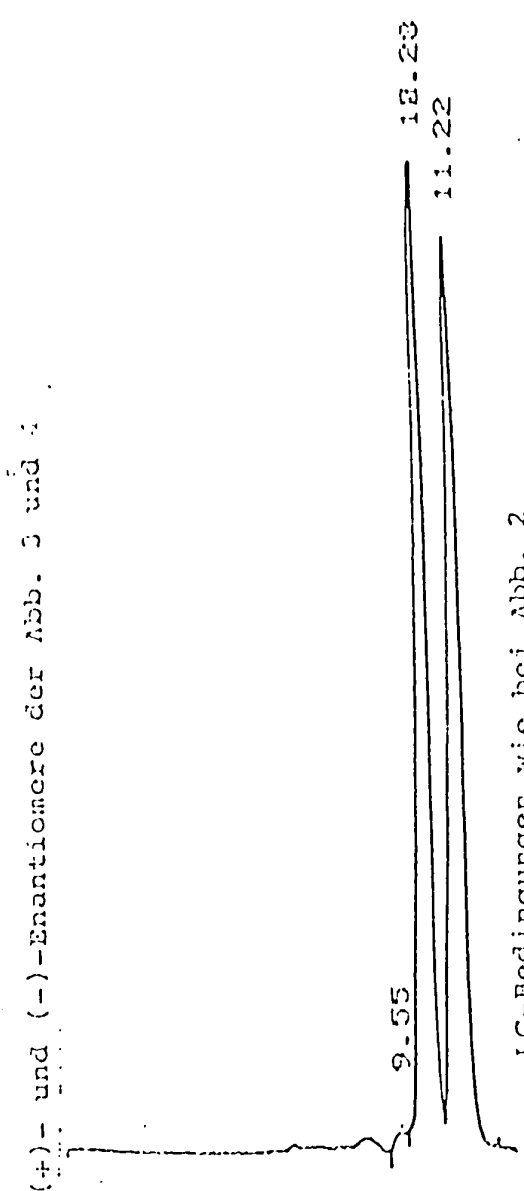


Abbildung 5