



(19) Országkód

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszám: P 93 00052
(22) A bejelentés napja: 1991. 07. 12.
(23) Módosítási elsőbbség: 1994. 07. 01.
(30) Elsőbbségi adatok:
90/15473 1990. 07. 13. GB
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/GB 91/01150
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 92/00965

(40) A közzététel napja: 1995. 04. 28.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 2000. 11. 28.

(11) Lajstromszám:

218 766 B

(51) Int. Cl.⁷

C 07 D 217/20

A 61 K 31/485

A 61 P 21/02

(72) Feltalálók:

Hill, Derek Anthony, Dartford, Kent (GB)
Turner, Geoffrey Lloyd, Dartford, Kent (GB)

(73) Szabadalmaz:

The Wellcome Foundation Ltd., London (GB)

(74) Képviseelő:

ADVOPATENT Szabadalmi Iroda, Budapest

(54) **Neuromuszkuláris blokkoló hatású izokinolinszármazékok, eljárás azok előállítására és az azokat tartalmazó gyógyszerkészítmények**

KIVONAT

A találmány neuromuszkuláris blokkoló hatású izokinolinszármazékokra, azok előállítására és az azokat tartalmazó gyógyszerkészítményekre vonatkozik. Az 1R-cisz, 1'R-cisz-atrakurium-sók, amelyek lényegében mentesek a vegyület egyéb geometriai és optikai izomer-

jeitől, vagy azokat legfeljebb 2–5 tömeg%-ban tartalmazzák. Előnyösek a mezilát- vagy bezilátsók.

A találmány kiterjed az ilyen hatóanyagot tartalmazó gyógyszerkészítményekre és a sók előállítására is.

A találmány egy neuromuszkuláris blokkoló hatású szerként használható izokolininszármazékokra, azok előállítására és az azokat tartalmazó gyógyszerkészítményekre vonatkozik.

A sebészeti altatásnál gyakran alkalmaznak neuromuszkuláris blokkolószereket a vázizmok lazítására, elősegítve ezzel a sebész tevékenységét. A kórházak intenzív osztályain ugyancsak gyakran alkalmaznak ilyen szereket, hogy hosszú ideig tartó izomlazulást biztosítsanak olyan betegeknek, akiknél a szabályozott lélegeztetés érdekében a légcsőbe csövet vezettek be.

Az atrakurium-bezilát [azaz 2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxa-tridecilen)-bisz-(1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-2-metil-1-veratril-izokolinin-dibezilát)] olyan nem depolarizálódó neuromuszkuláris blokkolószerszer, melyet a humán sebészetben először Nagy-Britanniában kezdtek alkalmazni 1982 decemberében, majd egy évvel később az Amerikai Egyesült Államokban. Ezt a vegyületet az 1 579 822 számú nagy-britanniai és a 4 179 507 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás ismerteti. Jelenleg széles körben használják a sebészetben és az intenzív osztályokon folytatott terápiában. A szert egyedülálló módon úgy tervezték, hogy spontán degradáción menjen keresztül „Hofmann”-eliminációval, fiziológias pH-n és hőmérsékleten, valamint észterhidrolízis révén, mely a máj- és vesefunkciótól függetlenül megy végbe. Humán sebészetnél az atrakurium-bezilátot mint tíz optikai és geometriai izomerjének keverékét alkalmazzák. Az atrakurium-bezilát geometriai és optikai izomerjeit az Eur. J. Med. Chem.-Chim. Ther. (1984-19, No. 5, 441-450. oldal) ismerteti.

A neuromuszkuláris blokkolószerek, mint az atrakurium-bezilát is, blokkolják az acetil-kolin-receptort a neuromuszkuláris kapcsolásnál. Mindamellett ezek a kolinerg transzmissziót is blokkolhatják a vegetatív idegrendszerben, és nem kívánt kardiovaszkuláris mellékhatásokat idézhetnek elő. Például a paraszimpatikus blokádnál tachikardiát és magas vérnyomást eredményez, míg a szimpatikus gátlónak blokádnál bradikardiát és alacsony vérnyomást okoz. A neuromuszkuláris blokkolószerek arra is hajlamosak, hogy hisztamin szabadítsanak fel, ami néhány betegnél életet veszélyeztető anafilaxiás reakciókat vált ki. A vázizomlazító szerekben a kvaterner vagy tercier ammóniumrész az antigéncsoport, mely ugyancsak neuromuszkuláris blokkoló tulajdonságot biztosít ezeknél az ágenseknél. Ebből a szempontból az atrakurium gyenge hisztaminfelszabadítónak számít, és mint más neuromuszkuláris blokkolószereknél is, esetenként a szernek tulajdonított anafilaxiális reakciókról jelentek meg ismertetések.

Felismertük, hogy azok az atrakurium-sók, melyekben az atrakuriumrészek sajátos geometriai és optikai izomerkonfigurációja van, különösen előnyös kombinációjú farmakológiai tulajdonságokkal rendelkeznek, melyek kivételes előnyt nyújtanak ezeknek a sóknak mint neuromuszkuláris blokkolószereknek.

Az atrakuriumrész előbb említett sajátos geometriai és optikai izomerkonfigurációja az 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-konfiguráció.

Azokat az atrakuriumsókat, melyek ilyen konfigurációval rendelkeznek, 1R-*cisz*, 1'R-*cisz*-2',2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxa-tridecilen)-bisz-(1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-2-metil-1-veratril-izokolinin)-sóknak lehet nevezni. Ezeket a sókat a továbbiakban 1R-*cisz*, 1'R-*cisz*-atrakurium-sóknak fogjuk nevezni.

Találmányunk tárgya olyan 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-só, mely lényegében mentes más egyéb geometriai és optikai izomerjeitől.

A találmány szerinti 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-sók olyan mértékben mentesek más geometriai és optikai izomerektől, hogy általában kevesebb, mint 5 tömeg%, előnyösen kevesebb mint 2 tömeg% egyéb izomert tartalmaznak a vonatkozó keverék teljes tömegére számítva. Nevezetesen, a fenti 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-sók a találmány értelmében előnyösen a következőket tartalmazzák: (a) kevesebb mint 1 tömeg% megfelelő *cisz*,*transz*-izomereket és/vagy kevesebb mint 0,5 tömeg% *transz*,*transz*-izomereket és/vagy (b) általában kevesebb mint 5 tömeg%, előnyösen kevesebb mint 2 tömeg% megfelelő S-izomereket.

Humán alkalmazásnál, mint sebészetnél vagy belgyógyászati terápiánál, például anesztéziánál, az 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-sók a találmány értelmében egy fiziológiai szempontból elfogadható anion tartalmaznak, előnyben részesülnek a következő anionok: halogenid-, például klorid-, bromid- vagy jodid-, szulfát-, foszfát-, hidrogén-foszfát-, acetát-, propionát-, szukcinát-, maleát- és szerves szulfonát-, például metánszulfonát- (mezilát-) és naftalinszulfonát-anionok, különösen előnyösek a mezilát- és a bezilátanionok. Ezeket a fiziológiai szempontból elfogadható anionokat tartalmazó sókat a következőkben mint fiziológiai szempontból elfogadható 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-sókat fogjuk említeni.

A fiziológiai szempontból nem elfogadható anion tartalmazó atrakuriumsókat fel lehet használni egy megfelelő, fiziológiai szempontból elfogadható só szintéziséhez.

Tekintettel a farmakológiai tulajdonságok fentebb már említett különösen előnyös kombinációjára, állatokon folytatott kísérletek alapján felismertük, hogy az 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-sók szignifikánsan nagyobb neuromuszkuláris blokkolóképesseggel rendelkeznek mint az atrakurium-bezilát geometriai és optikai izomerek keverékének formájában, ugyanolyan időtartamú hatás mellett.

Az 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-sók emellett az esetleges káros hatásokat is alacsonyabb szinten fejtik ki a vegetatív idegrendszerre, beleértve a szimpatikus és paraszimpatikus blokádot, és kevésbé valószínű, hogy a hisztaminszerű kardiovaszkuláris hatások fellépnek a terápiás dózisoknál, s ezáltal nagyobb mértékű biztonságot nyújt a beteg számára, összehasonlítva a geometriai és optikai izomerek keverékének formájában lévő atrakurium-beziláttal.

A találmány szerinti 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-sók további előnye, hogy sokkal hatékonyabb neuromuszkuláris blokádot biztosítanak a lebomlási termékek kisebb mértékű képződése mellett, mint az atra-

kurium-bezilát-izomerek fent említett keveréke. Ez az előny különösen jelentős hosszabb sebészeti eljárásoknál és intenzív osztályon történő alkalmazásnál, ahol a kezelés nagy dózisokat és/vagy hosszú periódusokat igényel.

A találmányhoz még az alábbi megoldások tartoznak:

a) a találmány szerinti, fiziológiai szempontból elfogadható 1*R-cisz*,1'*R-cisz*-atrakurium-sók sebészeti vagy belgyógyászati terápiában való alkalmazáshoz, például anesztéziához, különösen neuromuszkuláris blokádnak előidézéséhez egy állatban, például egy emlősen, úgymint egy emberben;

b) a találmány szerinti, fiziológiai szempontból elfogadható 1*R-cisz*,1'*R-cisz*-atrakurium-sók alkalmazása neuromuszkuláris blokádnak létrehozására szolgáló gyógyászati készítmény előállításához; és

c) módszer neuromuszkuláris blokádnak előidézésére egy állatban, például egy emlősen, úgymint egy emberben, melynek során az említett állatnak neuromuszkuláris blokádnak létrehozásához szükséges mennyiségben fiziológiai szempontból elfogadható, a jelen találmány szerinti 1*R-cisz*,1'*R-cisz*-atrakurium-sót adunk be.

A találmány szerinti, fiziológiai szempontból elfogadható 1*R-cisz*,1'*R-cisz*-atrakurium-sókat általában a sebészetben vagy belgyógyászati terápiában, például anesztéziában lehet alkalmazni oly módon, hogy a sókat megfelelő módon és dózisban adjuk be az adott szubjektumnak, például embernek a kívánt szintű neuromuszkuláris blokádnak létrehozására. A sókat általában injekció formájában alkalmazzuk intravénás vagy intramuszkuláris úton vagy kívánt esetben folyamatos intravénás infúzióval. A pontos adagolás a neuromuszkuláris blokádnak kívánt mértékétől, a szubjektum korától és állapotától függően változhat. Mindazonáltal, ha a beadás intravénás úton történik a sókat általában 0,1–0,6 mg/kg, előnyösen 0,2–0,4 mg/kg dózisban alkalmazzuk. Infúzió esetén az adagolás mértéke általában 0,1–0,6 mg/kg/óra, előnyösen 0,2–0,4 mg/kg/óra.

A találmány szerinti 1*R-cisz*,1'*R-cisz*-atrakurium-sókat általában a sebészetben és belgyógyászati terápiában lehet alkalmazni olyan gyógyászati készítmény formájában, mely egy só és egy gyógyászati szempontból elfogadható hordozót tartalmaz. Ezeket a készítményeket előnyösen injekció vagy infúzió alakjában használjuk fel, például mint a só oldatát, emulzióját vagy szuszpenzióját egy gyógyászati szempontból elfogadható vizes vagy nem vizes folyadékban, például steril vízben, mely kívánt esetben még egy vagy több egyéb megfelelő adalékot, mint például bakteriosztatikus szereket, antioxidánsokat, puffereket, sűrítő- vagy szuszpendálószereket is tartalmazhat. Az ilyen folyékony készítmények általában 5–15, előnyösen 5–10 mg/ml mennyiségben tartalmazzák a sókat. Másik változatként a sókat liofilizálhatók, és az így kapott szilárd anyagok vízzel, dextrózzal vagy fiziológiás sóoldattal injekcióvá alakíthatók. A találmány szerinti készítmények általában egységnyi adagokban (dózis) kerülnek kiszerezésre, például ampullák vagy egyszer használatos injekciós esz-

közök alakjában vagy többdózisú formában, például palackban, amelyből a megfelelő dózis kivehető; valamennyi formának sterilnek kell lennie. Az egységnyi dózisok általában 10–250 mg, előnyösen 25–50 mg találmány szerinti sókat tartalmaznak oldatban vagy liofilizált szilárd anyagként.

A találmány szerinti 1*R-cisz*,1'*R-cisz*-atrakurium szerves szulfonátsót – amely lényegében egyéb geometriai és optikai izomerektől mentes – úgy állítjuk elő, hogy a megfelelő 1*R*,1'*R*-atrakurium-sót szilícium-dioxiddal töltött oszlopon nagy teljesítményű folyékony kromatográfiának vetjük alá, diklór-etánt, metanolt és szulfonsavat tartalmazó mobil fázissal eluáljuk, és az így kapott 1*R-cisz*,1'*R-cisz*-izomert az említett 1*R-cisz*,1'*R-cisz*-atrakurium-só megfelelő geometriai izomerjeitől elkülönítjük.

A kívánt 1*R-cisz*,1'*R-cisz*-atrakurium-sónak a fenti folyamattal összefüggésben történő elkülönítését előnyösen kromatografálással, különösen nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával (hplc) hajtjuk végre, bár folyadék-ellenáramú kromatográfia, oszlop- vagy ioncserélő kromatográfia is használható. Különösen hatásosan különíthető el a kívánt só hplc alkalmazásával, melynél szilícium-dioxiddal vagy alumínium-oxiddal töltött oszlopot használunk; az oszlop mozgó fázisa oldószerek alkalmas keverékéből áll, például egy klórozott szénhidrogén, mint metilén-klorid vagy acetonitril; egy alkohol, például rövid szénláncú alifás alkohol, mint metanol, etanol vagy propanol, és egy erős sav, mint benzolszulfonsav, metánszulfonsav, p-toluol-szulfonsav vagy foszforsav keverékéből. Különösen kedvezőnek találtuk a metilén-klorid, metanol és metánszulfonsav, előnyösen 80:20:0,5 arányú keveréke alkalmazását a metánszulfonát (mezilát)-sónak az oszlopról történő eluálásánál. Hasonlóan előnyös a benzolszulfonát (bezilát)-só eluálásához a metilén-klorid, metanol és benzolszulfonsav 4000:500:0,25 arányú oldószerek keveréke. A sóoldatot az eluálást követően az oldószerek, mint például metanol és némi savfőlösleg eltávolítása céljából mosni lehet, majd a klórozott szénhidrogén elpárologtatásával a só elkülöníthető. A kívánt só szilárd formában úgy kaphatjuk meg, hogy a só vizes oldatát liofilizáljuk vagy a só oldószereiben, így éterben oldjuk, majd egy nem poláris oldószert, mint petroléter vagy ciklohexán hozzáadásával kicsapjuk.

A fenti eljárásnál kiindulási anyagként alkalmazott 1*R-cisz*,1'*R-cisz*-atrakurium-sót ismert módon (R)-1,2,3,4-tetrahidropapaverinből lehet előállítani, például a Eur. J. Med. Chem.–Chim. Ther. 1984–19, No., 5, 441–450. közleményben leírt módszerrel.

A következő példák a találmányt mutatják be.

1. példa

a) 1,5-Pentametilén-diakrilát

1,5-Pentán-diolt (15,6 g) toluolban (500 ml) hevítünk visszafolytatás alkalmazása mellett 3-bróm-propionsavval (50,5 g) és kis mennyiségű p-toluolszulfonsavval, 4 óra hosszat. A lehűtött toluolos oldatot vizes nátrium-acetáttal mostuk és trietil-aminnal (50 ml) kezeltük visszafolytatás alkalmazásával. A lehűtött reak-

ciókeveréket alaposan mostuk vízzel, hogy a trietil-amin és a trietil-amin-hidrobromidot eltávolítsuk, majd a toluolt csökkentett nyomáson elkölönítettük.

A kívánt terméket, az 1,5-pentametilen-diakrilátot (24,0 g, 75%-os hozam) halvány folyadékként kaptuk nagyvákuum-desztillációval (forráspont 90 °C–95 °C/13,3 Pa).

b) (R)-Tetrahidropapaverin

(±)-Tetrahidropapaverin-hidrokloridot (105 g) vízben feloldottunk, és az oldatot hígított vizes ammóniával meglúgosítottuk. A kicsapott (±)-tetrahidropapaverin-bázist toluolban feloldottuk, majd az elkölönített oldószert elpárologtattuk, és a bázist halványsárga olaj alakjában kaptuk. Az olajat metanolban (1575 ml) feloldottuk és N-acetil-L-leucinnal (47,5 g) kezeltük. Az oldatot dietil-éterrel (274 ml) kezeltük, amikor is fokozatosan (S)-tetrahidropapaverin-N-acetil-L-leucinát (35,5 g) kristályosodott ki. A kristályok kiszűrése után az anyalúgot bepárolva szilárd anyagot (100 g) kapunk, melyet forrásban lévő acetontól (50-szeres térfogat) átkristályosítottunk. A lehűlés során kristályok [74 g, 83% (R)-diasztereoizomer, 17% (S)-diasztereoizomer] jelentek meg, ezeket kiszűrtük. A szilárd anyagot még egyszer átkristályosítottuk forrásban lévő acetontól (50-szeres térfogat), amikor is 58,7 g (R)-tetrahidropapaverin-N-acetil-L-leucinátot kaptunk [97% (R)-izomer, 3% (S)-izomer].

c) (1R,1'R)-2,2'-(3,11-Dioxo-4,10-dioxa-tridekame-tilén)-bisz(1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-1-veratril-izokinolin)-dioxalát

(R)-1,2,3,4-Tetrahidropapaverin-N-acetil-leucinátot (58,7 g) vízben feloldottunk és vizes ammóniával kezeltünk. A kicsapódott bázist toluollal (600 ml) extraháltuk, és az oldószert elpárologtatása után olaj formájában kaptuk meg (39,0 g). Az (R)-1,2,3,4-tetrahidropapaverin-bázist 1,5-pentametilen-diakriláttal (10,7 g) és jégeccetel (3,0 ml) hevítettük 70 °C-on 4 óra hosszat. A reakciókeveréket toluolban oldottuk (400 ml) és szilikagél 60-nal (Merck, oszlopkromatográfia-fok, 70–230 mesh) kevertettük, szűrtük, majd bepárolva sárga olajat kaptunk. A terméket acetonban oldottuk (600 ml), oxálsavval (9,3 g) kezeltük, és az (1R,1'R)-2,2'-(3,11-dioxo-4,10-dioxa-tridekame-tilén)-bisz(1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-1-veratril-izokinolin)-dioxalát-sója csapódott ki fehér, szilárd anyag formájában (54,2 g, hozam 99%), olvadáspont 125 °C, hplc –97,8%.

d) (1R,1'R)-2,2'-(3,11-Dioxo-4,10-dioxa-tridekame-tilén)-bisz(1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-2-metil-1-veratril-izokinolin)-benzolszulfonát

[(1R,1'R)-atrakurium-bezilát]

(1R,1'R)-2,2'-(3,11-Dioxo-4,10-dioxa-tridekame-tilén)-bisz(1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-1-veratril-izokinolin)-dioxalátot (54,0 g) vízben oldottunk (1,6 l) és nátrium-karbonát-oldattal kezeltünk a 7,0 pH-érték elérésére. A kicsapódott bázist toluollal (600 ml) extraháltuk, majd az oldószert elpárologtatva nagyon viszkózus sárga olajat kaptunk (42,7 g). Az olajat szobahőmérsékleten metil-benzolszulfonáttal (75 ml) kezeltük egy éjszakán át. A terméket az (1R,1'R)-2,2'-(3,11-dioxo-

4,10-dioxa-tridekame-tilén)-bisz(1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-2-metil-1-veratril-izokinolin)-benzolszulfonátot víz és toluol közötti megosztással izoláltuk. A vizes fázist két alikvot toluollal mostuk, majd utána liofilizáltuk. A terméket (49,7 g, 80% hozam) halványsárga szilárd anyag formájában kaptuk.

A termék (1R,1'R)-atrakurium-bezilát-izomerek keveréke, és pedig az (1R-cisz,1'R-cisz), (1R-cisz) az 1'R-transz), és az (1R-transz,1'R-transz) izomerek 58:34:6 arányban.

e) 1R-cisz,1'R-cisz-2,2'-(3,11-Dioxo-4,10-dioxa-tridekame-tilén)-bisz(1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-2-metil-1-veratril-izokinolin)-metánszulfonát

[(1R-cisz,1'R-cisz)-atrakurium-mezilát]

A d) pont szerint kapott (1R,1'R)-atrakurium-bezilát-izomerek keverékét (10 g) diklór-metánban (50 ml) oldottuk és 520 g 20–45 mikronos egyenetlen szilícium-dioxiddal töltött, axiálisan összenyomott 500 mm×50 mm méretű kromatográfias oszlopra vittük fel, majd az oszlopot diklór-metán, metanol és metánszulfonsav keverékével (80:20:0,5) eluáltuk. Az oszlopról lejutó eluátumot frakciókba gyűjtöttük és a kívánt 1R-cisz,1'R-cisz-izomert tartalmazó frakciókat egyesítettük, majd 10%-os sóoldattal mostuk. A diklór-metán-oldatot szárazra párooltuk, a maradék szintelen olajat vízben feloldottuk, és az oldat pH-ját metánszulfonsavval 4,0 értékre állítottuk be. A vizes oldatot liofilizáltuk, és így a cím szerinti vegyületet (5 g) kaptuk fehér, szilárd anyag formájában, melyről megállapítottuk, hogy lényegében mentes a vegyület egyéb geometriai és optikai izomerjeitől, vagyis az izomerekből kevesebb mint 5 tömeg% van a termékben, közelebből a megfelelő 1R-cisz,1'R-transz-izomernek kevesebb mint 3 tömeg%-a és a megfelelő 1R-cisz,1'R-transz-izomernek kevesebb mint 0,3%-a.

2. példa

1R-cisz,1'R-cisz-2,2'-(3,11-Dioxo-4,10-dioxa-tridecile-tilén)-bisz(1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-2-metil-veratril-izokinolin)-benzolszulfonát

[(1R-cisz,1'R-cisz)-atrakurium-bezilát]

Az 1. példa a), b), c) és d) pontjaiban foglaltakat megismételtük. A d) pontban kapott terméket elkölönítettük a leírtak szerint, vagy pedig az alábbiakban ismertetett módon kromatografáltuk.

(1R,1'R)-Atrakurium-bezilát-izomerek keverékét [1,5 g a d) pontban elkölönített izomerekből, vagy a d) pontból kapott reakciókeverékből 3,5 g] diklór-metánban (10 ml) feloldottuk és 80 g 10 mikronos szferikus szilícium-dioxiddal töltött, axiálisan összenyomott 300 mm×25 mm mértű kromatográfias oszlopra vittük fel, majd az oszlopot diklór-metán, metanol és benzolszulfonsav 4000:500:0,25 arányú keverékével eluáltuk. Az oszlopról frakciókat szedtünk és a kívánt 1R-cisz,1'R-cisz-izomert tartalmazó frakciókat egyesítettük, majd 10%-os sóoldattal vagy vízzel mostuk. A diklór-metán-oldatot szárazra párooltuk, a maradék szintelen olajat vagy félig szilárd anyagot vízben feloldottuk, és az oldat pH-ját benzolszulfonsavval 4,0 értékre állítottuk be. A vizes oldatot liofilizáltuk, és így a

cím szerinti vegyületet (0,5 g) kaptuk fehér, szilárd anyag formájában, melyről megállapítottuk, hogy lényegében mentes a vegyület egyéb geometriai és optikai izomerjeitől, vagyis ezekből az izomerekből kevesebb mint 5 tömeg% van a termékben, közelebből a megfelelő 1R-cisz,1'R-transz-izomernek kevesebb mint 3 tömeg%-a és a megfelelő 1R-cisz,1'R-transz-izomernek kevesebb mint 0,3 tömeg%-a. A termék $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) analízise a következő: 1,52 (m, 7- CH_2 -trideka), 1,63 (m, 6 CH_2 -trideka, 8 CH_2 -trideka), 2,84 (m, 1/2-4 CH_2 , 1/2- CH_2 -veratril), 3,15 (m, 1/2-4 CH_2), 3,22 (s, NCH_3), 3,26 (m, 2 CH_2 -trideka, 12 CH_2 -trideka), 3,34 (s, OCH_3), 3,47 (m, 1/2-3 CH_2 , 1/2- CH_2 -veratril), 3,58 (s, OCH_3), 3,73 (2s, OCH_3 , OCH_3), 3,84 (m, 1/2-3 CH_2), 3,95-4,24 (m, 5 CH_2 -trideka, 9 CH_2 -trideka, 1 CH_2 -trideka, 13 CH_2 -trideka), 4,86 (dd, $J=3,8$ Hz, 1H), 5,87 (s, 8H), 6,36 (dd, $J=8,2$ Hz, 6H-veratril), 6,42 (d, $J=2$ Hz, 2H-veratril), 6,48 (s, 5H), 6,59 (d=8 Hz, 5H-veratril), 7,24 (m, meta- és para-bezilát), 7,78 (m, orto-bezilát).

A következő példák a találmány szerinti gyógyászati készítményeket mutatják be, amelyekben az „aktív alanyanyag” a találmány szerinti 1R-cisz,1'R-cisz-atrakurium-bezilát-só.

3. példa

Egységdózisú injekciós oldat

Aktív alanyanyag	50 mg
Benzolszulfonsav q. s.	3-4 pH-hoz
Víz az injekciókhoz	5 ml készítéséhez

Az aktív alanyanyagot az injekcióhoz szükséges vízben feloldottuk, és a kapott oldat pH-ját kívánt esetben a savval beállítottuk. Az oldatot szűrővel sterilizáltuk, és 5 ml-es steril ampullákba töltöttük.

4. példa

Többdózisú injekciós oldat

Aktív alanyanyag	100 mg
Benzolszulfonsav q. s.	3-4 pH-hoz
Benzil-alkohol	90 mg
Víz az injekcióhoz	10 ml készítéséhez

Az aktív alanyanyagot az injekcióhoz szükséges vízben feloldottuk, és a kapott oldat pH-ját kívánt esetben a savval beállítottuk. Az oldatot szűrővel sterilizáltuk, és 10 ml-es steril ampullákba töltöttük.

5. példa

Liofilizált injekciós oldat

Aktív alanyanyag	50 mg
Benzolszulfonsav q. s.	3-4 pH-hoz
Mannitol	62,5 mg
Víz az injekcióhoz	2,5 ml készítéséhez

Az aktív alanyanyagot és a mannitolt az injekcióhoz szükséges vízben feloldottuk, és a kapott oldat pH-ját kívánt esetben a savval beállítottuk. Az oldatot szűrővel sterilizáltuk, steril fiolákba töltöttük, és liofilizáltuk.

Farmakológiai értékelés

1R-cisz,1'R-cisz-Atrakurium-mezilát-szulfonátot (az alábbiakban A vegyületként szerepel) az alábbiak

szerint értékeltük, összehasonlítva a geometriai és optikai izomerek szokásos keverékével (az alábbiakban atrakurium-bezilátként azonosítva), hogy meghatározzuk a neuromuszkuláris blokkolóképesseget és a szimpatikus és paraszimpatikus blokádra gyakorolt hatást.

a) Módszerek és anyagok

2,2-4,25 kg tömegű hím Mongrel-macskákat (Southeastern Laboratories Animal Fann) nátrium-pentobarbitál (7 mg/kg i. p.) és alfa-kloralóz (80 mg/kg i. p.) keverékével elaltattunk. Az anesztézia megfelelő szintjét szükség esetén intravénásan beadott kiegészítő alfa-kloralóz-dózissal tartottuk fenn. A légcsőbe kanült vezetünk be, és az állatokat egy Harvard Apparatus elnevezésű szivattyúval levegőztettük, mely 20 ml/kg szobalevegőt szállított 20 löket/perc adagolásban. Az artériás vérnyomást egy kanül útján mértük a jobb femorális artériában, mely Statham P23 transzduktorhoz volt kötve. A szívfrekvenciát EKG-ból határoztuk meg, Grass-tachográfot alkalmazva. A jobb nyaki szimpatikus ideget feltártuk, átmetszettük, körülbelül 5 cm-re proximálisan a felső nyaki gangliontól és egy árnyékolt bipoláris platinaelektrodot helyeztünk el rajta. A jobb bolygóideget (vagus) feltártuk, összenyomtuk körülbelül 2 cm-re disztálisan a csomós ganglionoktól és egy árnyékolt bipoláris platinaelektrodot helyeztünk el rajta. A nyaki szimpatikus ideget és a bolygóideget egy Grass 58 stimulátorral 5 percenként 10 mp-ig ingereltük a következő paramétereket alkalmazva: 20 Hz, 0,5 ms tartam, szupramaximális feszültség (10-15 volt). A pislogóhártya izometrikus koncentrációját 5 gramm nyugalmi nyomás folyamán regisztráltuk egy Grass FT.03 transzduktorral és egy Grass-poli-gráffal. A pislogóhártya nyugalmi nyomása 5 gramm volt.

A bal hátsó végtagot szilárdan rögzítettük, a sípcsonthoz izoláltuk és Grass-FT.-transzduktorral kötöttük össze. Az ülőidegtörzs elmesztése után a peroneális ideget egy árnyékolt bipoláris platinaelektrodra helyeztük. 0,2 ms időtartamú ingereket alkalmaztunk az idegre szupramaximális feszültségen, 0,15 Hz értéken, Grass S88 stimulátort használva. Az elülső sípcsonthoz mutatózó rángás feszültségét regisztráltuk 50 g nyugalmi nyomás alatt.

A teszthevegyületeket 3,0 pH-jú puffertartalmú sóoldatban feloldottuk, majd jégen tartottuk, és egy kanülön át a jobb femorális vénába adtuk be. A nyelőcső hőmérsékletét egy Yellow Springs termisztor szondával ellenőriztük, a szív hőmérsékletét 37 °C és 38 °C között tartottuk fenn sugárzó hővel.

Valamennyi regisztrálás egy Grass Model 7 poli-gráf alkalmazásával készült.

b) Eredmények

A neuromuszkuláris blokkolóképesseget ED_{95} értékét dózisreagálás görbékből számítottuk ki.

A vegyületek inhibitor hatásának ED_{50} és ED_{25} értékeit a paraszimpatikus (vagus) és szimpatikus ideg ingerlést illetően hasonlóképpen számítottuk ki.

Az eredményeket a következő táblázatban összegeztük.

Táblázat

Vegyület	Számított* ED ₉₅ (mg/kg)	Arány 50% vagus- inhibíció vs. ED ₉₅	Arány 25% szimpatikus inhibíció vs. ED ₉₅
Atrakurium- bezilát	0,092±0,010	17	34
A vegyület	0,06±0,008	27	60

* ED₉₅ mg/kg-ként számítva mint szabad bázis, az atrakuriumkation tömegére vonatkoztatva.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-Atrakurium-só, amely lényegében mentes a vegyület egyéb geometriai és optikai izomerjeitől.

2. Az 1. igénypont szerinti 1 R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-só, amely a vegyület mellett keverék formájában 5 tömeg%-nál kisebb mennyiségben tartalmazza a vegyület egyéb geometriai és optikai izomerjeit.

3. A 2. igénypont szerinti 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-só, amely a vegyület mellett keverék formájában 2 tömeg%-nál kisebb mennyiségben tartalmazza a vegyület egyéb geometriai és optikai izomerjeit.

4. Az 1–3. igénypontok bármelyike szerinti, fiziológiai szempontból elfogadható 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-só.

5. A 4. igénypont szerinti 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-mezilát- vagy bezilát-só.

6. A 4. igénypont szerinti, fiziológiai szempontból elfogadható 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-só sebészeti vagy belgyógyászati, terápiához való alkalmazásra.

7. A 6. igénypont szerinti fiziológiai szempontból elfogadható 1 R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-só neuromuskuláris blokádnak előidézésére való alkalmazásra.

8. Gyógyászati készítmény, amely a 4. és 5. igénypontok bármelyike szerinti, fiziológiai szempontból elfogadható 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium-sót és gyógyászati szempontból elfogadható hordozót tartalmaz.

9. A 8. igénypont szerinti gyógyászati készítmény, amely injekció- vagy infúzióformában van.

10. Eljárás az 1R-*cisz*,1'R-*cisz*-atrakurium szerves szulfonátsó előállítására, amely lényegében egyéb geometriai és optikai izomerektől mentes, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő 1R,1'R-atrakurium-só-izomerek keverékét szilícium-dioxiddal töltött oszlopon nagynyomású folyadékkromatográfiának vetjük alá, diklór-metánt, metanolt és a megfelelő szerves szulfonsavat tartalmazó mobil fázissal eluáljuk, és így az 1R-*cisz*,1'R-*cisz* izomert az említett 1R,1'R-atrakurium-só egyéb geometriai izomerjeitől elkülönítjük.

11. A 10. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az 1R,1'R-sóként bezilátsót, mobil fázisként pedig diklór-metán, metanol és benzolszulfonsav keverékét alkalmazzuk.