PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:
2002 - 1645

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.[7]:
C 07 D 333/38
A 61 K 31/381
A 61 P 25/00
A 61 P 25/28
A 61 P 25/16

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **15.11.2000**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **16.11.1999**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/9914334**

(33) Země priority: **FR**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **11.09.2002**
(Věstník č. 9/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/FR00/03168**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/36407**

(71) Přihlašovatel:
SOCIÉTÉ DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES (S. C. R. A. S.), Paris, FR;

(72) Původce:
Chabrier De Lassauniere Pierre-Etienne, Paris, FR;
Harnett Jeremiah, Gif-sur-Yvette, FR;

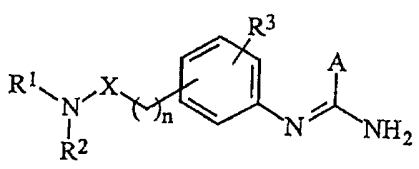
(74) Zástupce:
Švorčík Otakar JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Nové deriváty amidinů, způsob jejich přípravy a jejich použití jako léků

(57) Anotace:

Řešení se týká nových derivátů amidinů obecného vzorce I, způsobu jejich přípravy a jejich použití jako léků. Řešení se týká obzvláště použití uvedených derivátů pro přípravu léčiv určených pro inhibici NO syntáz a nebo monoamino oxidáz. Řešení se zejména týká následujících sloučenin: N´-(4-{[methyl-(2-propinyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid; N´-(4-{[methyl(kyanomethyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid; N´-(4-{[methyl(3-kyanoethyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid; N´-(4-{[methyl(4-pentinyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid; nebo jejich solí.



(I)

CZ 2002 - 1645 A3

JUDr. Otakar Švorčík
advokát
Hálkova 2, 120 00 Praha 2

17.07.02
PV2002 - 1645

Nové deriváty amidinů, způsob jejich přípravy a jejich použití jako léků

Oblast techniky

Předložená přihláška vynálezu se týká nových derivátů amidinů, způsobu jejich přípravy a jejich použití jako léků. Týká se zvláště použití uvedených derivátů pro přípravu léku určeného k inhibici NO syntáz (NOS) a/nebo monoamino oxidáz (MAO).

Dosavadní stav techniky

Vzhledem k potenciální roli NOS a MAO v patofyziologii mohou nově popsané deriváty odpovídající obecnému vzorci (I) vést k blahodárným nebo příznivým účinkům v léčbě patologií, ve kterých vystupují tyto enzymy. Zvláště mezi ně patří následující :

- poruchy centrálního nebo periferního nervového systému jako jsou například neurologické nemoci jako Parkinsonova nemoc, traumatická poškození mozku nebo míchy, mozkový infarkt, subarachnoidální krvácení, epilepsie, stárnutí, senilní demence, Alzheimerova nemoc, Huntingtonova chorea, amyotrofická laterální skleróza, periferní neuropatie, bolest;

- schizofrenie, deprese, psychózy;

- poruchy paměti a nálady;
- patologie jako například migréna;
- poruchy chování, bulimie a anorexie;
- auto-imunitní a virová onemocnění jako například lupus, AIDS, parazitární a virové infekce, diabetes a jeho komplikace (zvláště impotence spojená s diabetem), roztroušená skleróza.
- závislost na toxických látkách;
- proliferativní a zánětlivé patologie;
- a obecněji všechny patologie, které se vyznačují nadměrnou tvorbou NOS a/nebo na kterých se účastní MAO.

Ve všech těchto patologiích existuje experimentální důkaz, který poukazuje na roli NOS *(J. Med. Chem.* (1995) 38, 4343-4362) stejně tak jako roli MAO (Goodman & Gilman's: *The farmacologic basis of terapeutics,* 9th ed., 1995, 431-519).

Vynálezci již popsali inhibitory NO syntáz a jejich použití v dříve uvedených patentech (Patent US 5.081.148; Patent US 5.360.925). PCT přihláška vynálezu WO 95/05363 popisuje některé deriváty amidinů a jejich použití jako inhibitorů NO syntáz. Přihlašovatel sám dříve popsal jiné deriváty amidinů, které inhibují NO syntázy a/nebo lapají reaktivní

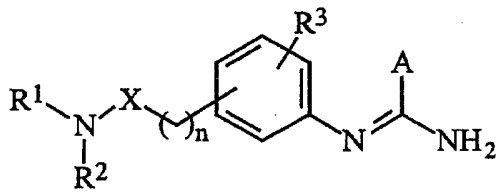
17.07.02

formy kyslíku (ROS pro *Reactive Oxygen Species)* (zvláště viz PCT patentové přihlášky WO 98/42696 a WO 98/58934).

Přihlašovatel právě objevil, že níže definované deriváty amidinů odpovídající obecnému vzorci (I) jsou překvapivě inhibitory NOS a/nebo MAO.

Podstata vynálezu

Předložený vynález se týká sloučenin obecného vzorce (I)



(I)

kde:

R^1 a R^2 nezávisle představují atom vodíku nebo zbytek alkyl, cykloalkyl, alkenyl, alkinyl, allenyl, allenylalkyl, kyanoalkyl, $-(CH_2)_g-Z^1R^4$ nebo $-(CH_2)_k-COR^5$,

Z^1 představuje -O-, $-NR^6-$, -S- nebo vazbu,

R^4 a R^6 nezávisle představují atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkenyl, allenylalkyl, alkinyl, alkoxy nebo

kyanoalkyl,

R^5 představuje zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl, alkoxy nebo NR^7R^8,

R^7 a R^8 nezávisle představují atom vodíku nebo zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl nebo alkoxy,

nebo R^1 a R^2 společně s atomem dusíku tvoří nearomatický heterocyklus, který sestává z 4 až 8 členů, prvky řetězce jsou vybrány ze souboru, zahrnujícího $-CH(R^9)-$, $-NR^{10}-$, -O-, -S-, -CO-, uvedený heterocyklus může být substituován jedním nebo více substituenty $-(CH_2)_k-Z^2R^{11}$ nebo $-(CH_2)_k-COR^{12}$, uvedeným heterocyklem může být například azetidin, piperazin, homopiperazin, 3,5-dioxopiperazin, piperidin, pyrolidin, morfolin nebo thiomorfolin,

Z^2 představuje -O-, $-NR^{13}-$ nebo -S- nebo vazbu,

R^{11} nezávisle představuje v každém svém výskytu atom vodíku, zbytek alkyl, alkenyl, alkinyl, alkoxy, allenyl, allenylalkyl nebo kyanoalkyl,

R^{13} nezávisle představuje v každém svém výskytu atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkenyl, alkinyl, alkoxy, allenyl, allenylalkyl nebo kyanoalkyl,

R^{12} představuje v každém svém výskytu zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl, nebo

alkoxy nebo $NR^{14}R^{15}$,

R^{14} a R^{15} nezávisle představují v každém svém výskytu atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkoxy, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl nebo kyanoalkyl,

R^9 a R^{10} nezávisle představují v každém svém výskytu atom vodíku, $-(CH_2)_k-Z^3R^{16}$ nebo $-(CH_2)_kCOR^{17}$,

Z^3 představuje -O-, $-NR^{18}-$, -S- nebo vazbu,

R^{18} nezávisle představuje atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkenyl, allenyl, allenylalkyl, alkinyl, alkoxy nebo kyanoalkyl,

R^{16} nezávisle představuje v každém svém výskytu atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkenyl, alkinyl, alkoxy, allenyl, allenylalkyl nebo kyanoalkyl,

R^{17} nezávisle představuje v každém svém výskytu zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl, alkoxy nebo $NR^{19}R^{20}$,

R^{19} a R^{20} nezávisle představují v každém svém výskytu atom vodíku nebo zbytek alkyl alkoxy, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl nebo kyanoalkyl;

X představuje zbytek -CO- nebo $-(CH_2)_m$;

R^3 představuje atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený

zbytek alkyl nebo alkoxy, který sestává z 1 až 6 atomů uhlíku;

A představuje přímý nebo rozvětvený zbytek alkyl, který sestává z 1 až 6 atomů uhlíku nebo karbocyklický zbytek nebo heterocyklický zbytek aryl, který sestává z 5 až 6 členů, obsahující 1 až 4 heteroatomy, vybranými z O, S, N a zvláště zbytků thiofen, furan, pyrol nebo thiazol, uvedený zbytek aryl je popřípadě substituován jednou nebo více skupinami, vybranými z přímých nebo rozvětvených zbytků alkyl, alkenyl nebo alkoxy, které sestávají z 1 až 6 atomů uhlíku,

g nezávisle představuje v každém svém výskytu celé číslo od 1 do 6,

m, k a n nezávisle představují v každém svém výskytu celá čísla od 0 do 6;

nicméně se rozumí, že když R^3 představuje atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený zbytek alkyl, který sestává z 1 až 6 atomů uhlíku, potom R^1 a R^2 nezávisle nepředstavují atom vodíku nebo zbytek alkyl, a navíc NR^1R^2 nepředstavují jednu z nesubstituovaných skupin piperidinyl, morfolinyl, pyrolidinyl nebo skupinu piperazinyl popřípadě se substitucí v poloze 4 zbytkem alkyl obsahujícím od 1 do 6 atomů uhlíku.

Pokud nebude uvedeno jinak, tak se alkylem myslí přímý nebo rozvětvený zbytek alkyl obsahující od 1 do 6 atomů uhlíku.

Pokud nebude uvedeno jinak, tak se cykloalkylem myslí uhlíkový systém obsahující od 3 do 7 atomů uhlíku. Pokud nebude uvedeno jinak, tak se alkenylem myslí přímý nebo rozvětvený zbytek alkyl obsahující od 1 do 6 atomů uhlíku a obsahující alespoň jednu nenasycenou vazbu (dvojnou vazbu). Pokud nebude uvedeno jinak, tak se alkinylem myslí přímý nebo rozvětvený zbytek alkyl obsahující od 1 do 6 atomů uhlíku a obsahující alespoň jednu dvojitě nenasycenou vazbu (trojnou vazbu). Allenylem se myslí zbytek $-CH=C=CH_2$. Karbocyklickým nebo heterocyklickým arylem se myslí karbocyklický nebo heterocyklický systém obsahující alespoň jeden aromatický kruh, systém se nazývá heterocyklický, když alespoň jeden z kruhů, který obsahuje, obsahuje heteroatom (O, N nebo S). Heterocyklem se myslí mono- nebo polycyklický systém, uvedený systém obsahuje alespoň jeden heteroatom, který se vybere z O, N a S a je nasycený, částečně nebo úplně nenasycený nebo aromatický. Halogenalkylem se myslí zbytek alkyl, u kterého alespoň jeden z atomů vodíku (a popřípadě všechny) se nahradí atomem halogenu.

Zbytky alkylthio, alkoxy, halogenalkyl, halogenalkoxy, aminoalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl a aralkyl se myslí s ohledem na pořadí zbytky alkylthio, alkoxy, halogenalkyl, halogenalkoxy, aminoalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl a aralkyl, kde zbytek alkyl má význam, který byl dříve uvedený.

Heterocyklem se myslí zvláště zbytky thiofen, pyrol, pyrolidin, furan, tetrahydrofuran, piperidin, piperazin,

chinolin, indolin a indol. Lineárním nebo rozvětveným alkylem, která sestává z 1 až 6 atomů uhlíku, se myslí zvláště zbytky methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, sec-butyl a *terc.*-butyl, pentyl, neopentyl, isopentyl, hexyl, isohexyl. Konečně halogenem se myslí atomy fluóru, chlóru, brómu nebo jódu.

V některých případech mohou sloučeniny podle předložené přihlášky vynálezu obsahovat asymetrické atomy uhlíku. Výsledkem toho je skutečnost, že sloučeniny podle předložené přihlášky vynálezu mají dvě možné enantiomerní formy, t.j. "R" a "S" konfigurace. Předložená přihláška vynálezu zahrnuje obě enantiomerní formy a všechny kombinace těchto forem, zahrnující také "RS" směsi. Pro zjednodušení, pokud není ve strukturních vzorcích uvedena specifická konfigurace, má se za to, že jsou znázorněny obě enantiomerní formy a jejich směsi.

Přihláška vynálezu se týká zvláště produktů obecného vzorce (I), které byly dříve definované, kde může být nalezen nezávisle alespoň jeden z následujících znaků:

- R^1 představuje zbytek alkyl a R^2 představuje jeden z výše definovaných zbytků alkyl, cykloalkyl, alkenyl, alkinyl, allenyl, allenylalkyl, kyanoalkyl, $-(CH_2)_g Z^1R^4$ nebo $-(CH_2)_k-COR^5$;

- R^1 a R^2 společně s atomem dusíku tvoří nearomatický heterocyklus, který sestává z 4 až 8 členů, prvky řetězce jsou vybrány ze souboru, zahrnujícího $-CH(R^9)-$, $-NR^{10}-$ a $-O-$

17.07.02

R^9 a R^{10} představují nezávisle atom vodíku nebo zbytek $-(CH_2)_k-Z^3R^{16}$ nebo $-(CH_2)_kCOR^{17}$,

Z^3 představuje vazbu,

R^{16} představuje nezávisle atom vodíku, zbytek alkyl, alkenyl, alkinyl, allenyl, allenylalkyl nebo kyanoalkyl,

R^{17} představuje nezávisle zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl nebo kyanoalkyl;

- n představuje 0 nebo 1;
- k představuje celé číslo od 1 do 6;
- X představuje $-(CH_2)_m$, kde m představuje 0 nebo 1.

Výhodněji dříve definované produkty obecného vzorce (I), jsou takové, že lze nalézt nezávisle alespoň jeden z následujících znaků:

- R^1 představuje zbytek alkyl a R^2 představuje jeden ze zbytků alkyl, alkenyl, alkinyl, allenyl, allenylalkyl nebo kyanoalkyl;
- R^1 a R^2 společně s atomem dusíku tvoří nearomatický heterocyklus, který sestává z 4 až 8 členů, prvky řetězce jsou vybrány ze souboru, zahrnujícího $-CH(R^9)-$ a $-NR^{10}-$,

R^9 a R^{10} představují nezávisle atom vodíku nebo $-(CH_2)_k-Z^3R^{16}$ zbytek,

Z^3 představuje vazbu,

R^{16} představuje nezávisle atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkinyl nebo kyanoalkyl;

- n představuje 0 nebo 1;
- k představuje celé číslo od 1 do 3;
- X představuje $-(CH_2)_m-$, kde m představuje 0 nebo 1.

Zvláště výhodné produkty obecného vzorce (I) jsou:

N'-(4-{[methyl-(2-propinyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid;

N'-(4-{[methyl(kyanomethyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid;

N'-(4-{[methyl(propyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid;

N'-(4-{[methyl(3-kyanoethyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid;

N'-(4-{[methyl(4-pentinyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid;

a jejich sole.

Konečně se zvláště upřednostňuje N'-(4-{[methyl-(2-propinyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofen karboximidamid nebo jeho sole.

Přihláška vynálezu se také týká sloučenin obecného vzorce (I) nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí jako léků. Navíc jsou předmětem předložené přihlášky vynálezu farmaceutické kompozice obsahující jako účinnou látku, sloučeninu obecného vzorce (I) nebo farmaceuticky přijatelnou sůl sloučeniny obecného vzorce (I), stejně tak jako použití sloučenin obecného vzorce (I) pro přípravu léku určeného k inhibici NO syntáz a/nebo monoamino oxydáz, zvláště monoamino oxydázy B.

Zvláště mohou být sloučeniny obecného vzorce (I) použity pro přípravu léku, který je určen pro léčbu jedné z následujících poruch nebo jedné z následujících nemocí: Parkinsonova nemoc, senilní demence, Alzheimerova nemoc, Huntingtonova chorea, amyotrofická laterální skleróza, schizofrenie, deprese, psychózy.

Farmaceuticky přijatelnou solí se myslí zvláště adiční sole anorganických kyselin jako hydrochlorid, hydrobromid, hydrojodid, sulfát, fosfát, difosfát a nitrát nebo organických kyselin jako octan, malát, fumaran, vínan, jantaran, citronan, mléčnan, methansulfonát, p-toluensulfonát, pamoát a stearan. Do rozsahu předložené

přihlášky vynálezu spadají také sole vytvořené z bází jako hydroxid sodný nebo hydroxid draselný, pokud je možné je použít. Jiné příklady farmaceuticky přijatelných solí jsou referenčně uvedeny v "Salt selection for basic drugs", *Int. J. Pharm.* (1986), 33, 201-217.

Farmaceutické kompozice mohou sestávat z pevné hmoty, jako například prášky, granule, tablety, želatinové kapsle, lipozómy nebo čípky. Vhodnými pevnými nosiči mohou být například fosforečnan vápenatý, stearan hořečnatý, mastek, cukry, laktóza, dextrin, škrob, želatina, celulóza, methylcelulóza, sodná sůl karboxymethylcelulózy, polyvinylpyrolidin a vosk.

Farmaceutické kompozice obsahující sloučeninu podle předložené přihlášky vynálezu mohou také být v tekuté formě, jako například roztoky, emulze, suspenze nebo sirupy. Vhodnými tekutými nosiči mohou být například voda, organická rozpouštědla jako glycerol nebo glykoly, podobně jako jejich směsi, v různých proporcích, ve vodě.

Podávání léku podle předložené přihlášky vynálezu může být provedeno topicky, orálně, parenterální cestou, nitrosvalovou injekcí, atd.

Dávka podání léku podle předložené přihlášky vynálezu se nachází mezi 0,1 mg až 10 g ve shodě s druhem použité účinné látky.

Podle předložené přihlášky vynálezu mohou být připraveny

17.07.02

sloučeniny obecného vzorce (I) níže popsaným postupem.

Příprava sloučenin podle předložené přihlášky vynálezu

Sloučeniny obecného vzorce (I) se mohou připravit z meziproduktů obecného vzorce (II) postupem podle Diagramu 1, kde A, X, R^1, R^2, R^3 a n mají výše definovaný význam a Gp je ochranná skupina karbamátového typu.

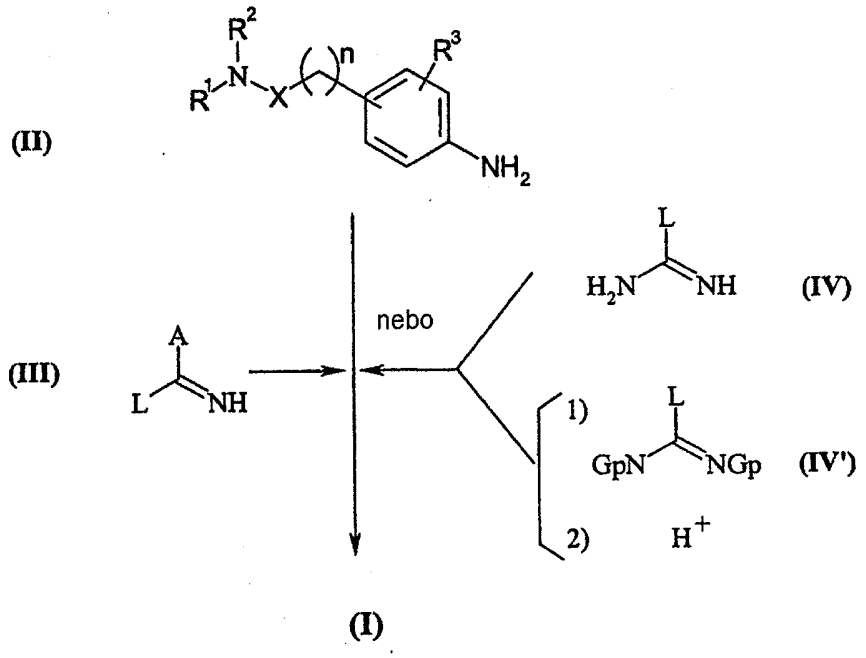


Diagram 1

Deriváty anilinů obecného vzorce (II) mohou být kondenzovány se sloučeninami obecného vzorce (III), kde L představuje odštěpitelnou skupinu (zbytek alkoxy, alkylthio, sulfonovou kyselinu, halogenid, arylalkohol nebo

17.07.02

tosyl), za účelem přípravy konečné sloučeniny obecného vzorce (I) typu substituovaného amidinu (viz Diagram 1). Například když A = thiofen, mohou být deriváty obecného vzorce (II) kondenzovány s S-methylthiofen thiokarboxamid hydrojodidem, připraveným ve shodě s metodou uvedenou v odborné literatuře *(Ann. Chim.* (1962), 7, 303-337). Kondenzace se může provést ohříváním v alkoholu (například v methanolu nebo isopropanolu), popřípadě v přítomnosti DMF při teplotě, která se s výhodou nachází mezi 50 a 100°C po dobu, která se obecně nachází mezi několika hodinami a ponecháním přes noc.

V případě, že A je amin, jsou konečné sloučeniny obecného vzorce (I) guanidiny. Tyto guanidiny se mohou připravit například kondenzací aminů obecného vzorce (II) s deriváty obecného vzorce (IV) nebo (IV'). Reakční činidla obecného vzorce (IV), kde L představuje například pyrazolový kruh, jsou kondenzovány s aniliny obecného vzorce (II) ve shodě s podmínkami, které jsou popsané v odborné literatuře *(J. Org. Chem.* (1992) 57, 2497-2502). Operace se provede podobně u reakčního činidla obecného vzorce (IV'), kde L představuje například pyrazolový kruh a Gp skupinu tBuOCO *(Tetrahedron Lett.* (1993) 34 (21), 3389-3392) nebo když L představuje skupinu $-N-SO_2-CF_3$ a Gp skupinu tBuOCO *(J. Org. Chem.* (1998) 63, 3804-3805). Během posledního kroku syntézy se provede deprotekce guanidinové funkční skupiny v přítomnosti silné kyseliny jako je například kyselina trifluorooctová.

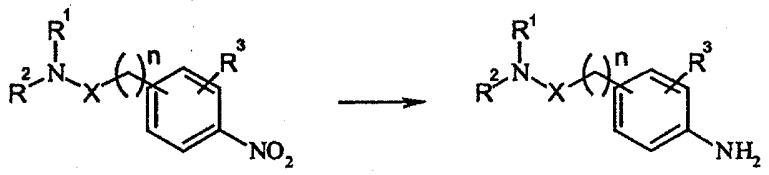
Příprava sloučenin obecného vzorce (II):

Meziprodukty obecného vzorce (II) se získají například redukcí prekurzoru typu skupiny nitro, jak je níže ilustrováno v Diagramu syntézy 2.

Redukce prekurzorů typu skupiny nitro

Redukce funkční skupiny nitro meziproduktů obecného vzorce (V), Diagram 2, kde R^1, R^2, R^3, X a n mají výše definovaný význam, se obecně provede katalytickou hydrogenací, v ethanolu, v přítomnosti Pd/C, kromě případu, kde jsou molekuly citlivé na tyto podmínky, kde je nitro skupina selektivně redukována, například zahříváním produktu ve vhodném rozpouštědle jako ethylacetát s malým množstvím ethanolu v přítomnosti $SnCl_2$ *(J. Heterocyclic Chem.* 1987), 24, 927-930; *Tetrahedron Letters* (1984), 25 (8), 839-842) v přítomnosti $SnCl_2$/Zn *(Synthesis.* (1996),9, 1076-1078) nebo za použití $NaBH_4$-$BiCl_3$ *(Synth. Com.* (1995) 25 (23), 3799-3803) v rozpouštědle jako ethanol, nebo potom za použití Raney Ni s hydrazin hydrátem, který se k němu přidá *(Monatshefte für Chemie,* (1995), 126, 725-732).

17.07.02



(V) (II)

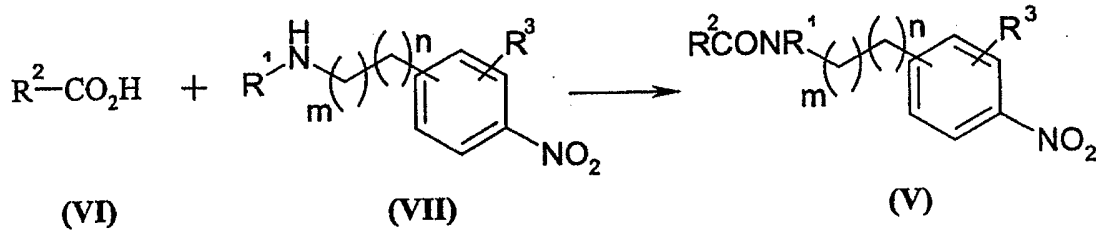
Diagram 2

Příprava sloučenin obecného vzorce (V):

Syntézy karboxamidů:

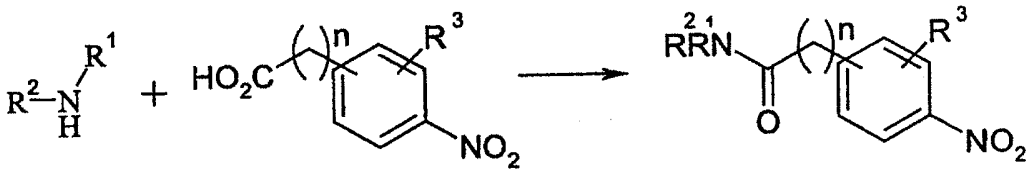
Karboxamidy obecného vzorce (V), Diagram 3, kde R', R^2, R^3, m a n mají výše definovaný význam, se připraví kondenzací kyselin obecného vzorce (VI) s aminy obecného vzorce (VII) (Diagram 3) nebo kyselin obecného vzorce (VIII) s aminy obecného vzorce (IX) (Diagram 3a) za standardních podmínek pro peptidovou syntézu (M. Bodanszky a A. Bodanszky, The Practice of Peptide synthesis, 145 (Springer-Verlag, 1984)) zvláště v THF, dichloromethanu nebo DMF v přítomnosti kopulačního reakčního činidla jako dicyklohexylkarbodiimid (DCC), 1,1'-karbonyldiimidazol (CDI) *(J. Med. Chem.* (1992), 35 (23), 4464-4472) nebo hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (EDC nebo WSCI) (John Jones, The Chemical synthesis of peptides, 54 (Clarendon Press, Oxford, 1991)).

17.07.02



(VI) (VII) (V)

Diagram 3



(IX) (VIII) (V)

Diagram 3a

Syntéza aminů obecného vzorce V

Aminy obecného vzorce (V), Diagram 4, kde R^1, R^2, R^3, m a n mají výše definovaný význam, se mohou připravit jednostupňovou kondenzací aminů obecného vzorce (VII) s halogenovanými deriváty obecného vzorce (X) (Hal představuje atom halogenu) v přítomnosti báze jako například K_2CO_3 a/nebo triethylamin, v rozpouštědle jako například acetonitril.

17.07.02

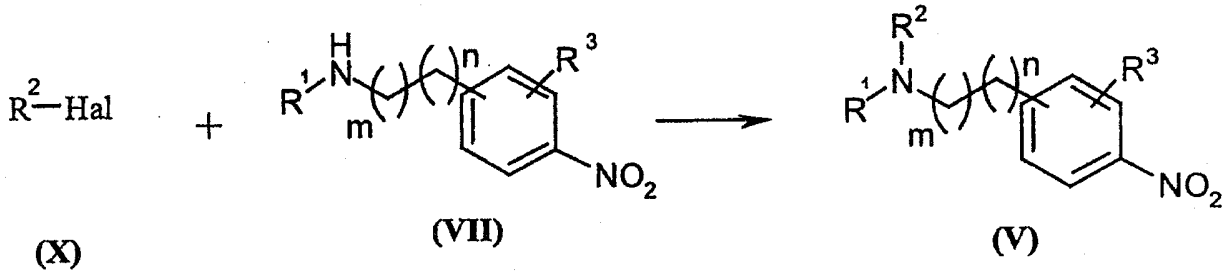


Diagram 4

Když mají R^1, R^2, R^3, m a n výše definovaný význam, mohou být také aminy obecného vzorce (V) připraveny z halogenovaných derivátů vzorce (XI) (Hal představuje atom halogenu) a aminů obecného vzorce (IX), Diagram 5, v přítomnosti báze jako například K_2CO_3 a/nebo triethylaminu, v rozpouštědle jako například acetonitril.

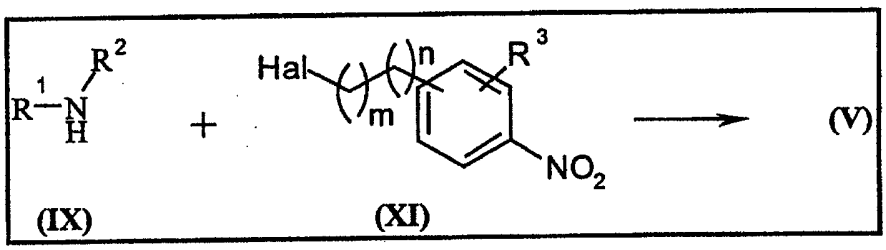


Diagram 5

Syntéza aminů redukční aminací:

Aminy obecného vzorce (V), Diagram 6, kde R^1, R^2, R^3, m a n mají výše definovaný význam, se mohou připravit kondenzací

17.07.02

aldehydu obecného vzorce (XII) s aminem obecného vzorce (VII) v redukčním médiu. Reakce proběhne v alkoholovém rozpouštědle jako například methanol v přítomnosti práškovitého 4 Å molekulárního síta, předtím aktivovaného, a redukčního činidla, jako je například $NaBH_4$ nebo $NaBH_3CN$.

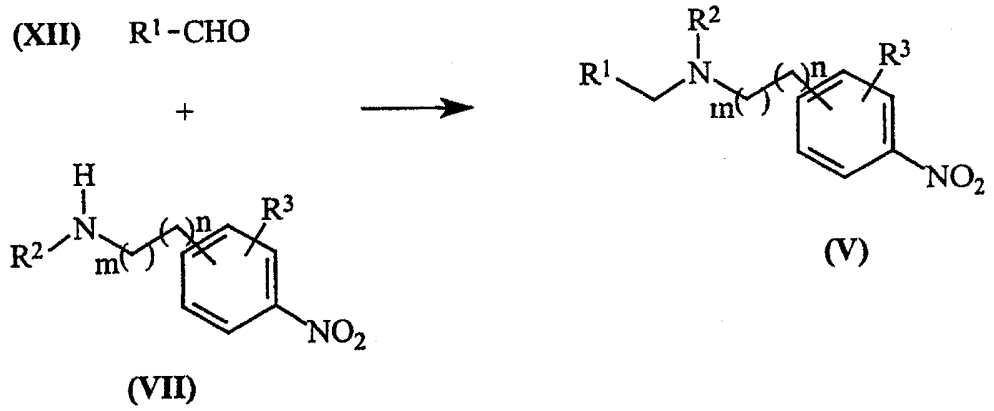
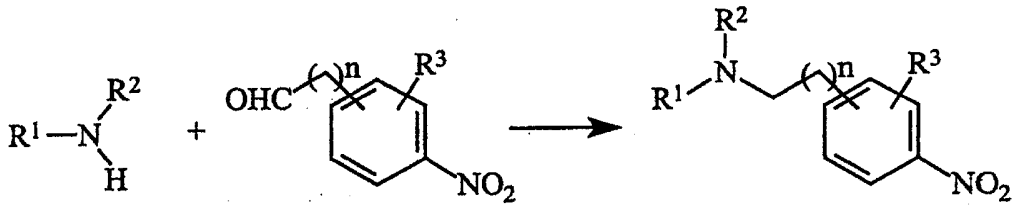


Diagram 6

Aminy obecného vzorce (V), Diagram 7, kde R^1, R^2, R^3 a n mají výše definovaný význam, mohou také být připraveny kondenzací aminu obecného vzorce (IX) s aldehydem obecného vzorce (XIII) v redukčním médiu za dříve popsaných podmínek.

17.07.02



(IX) (XIII) (V)

Diagram 7

Všechny technické a vědecké termíny, které jsou zde použity, mají stejný význam, pokud nebudou jinak definovány, jako je význam, který mají pro znalce v oboru, do kterého spadá předložená přihláška vynálezu. Podobně jsou všechny publikace, patentové přihlášky, všechny patenty a všechny jiné reference, které jsou zde uvedeny, zahrnuty jako reference.

Úkolem následujících příkladů je ilustrovat výše uvedené postupy a jejich smyslem není v žádném směru omezit rozsah předložené přihlášky vynálezu.

17.07.02

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1: N'-(4-{[methyl(2-propinyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid

1.1. *N-methyl-N-(4-nitrobenzyl)-2- propin-1-amin*

3,72 g (22,0 mmolů) p-nitrobenzyl chloridu v 20 ml dichloromethanu se přidá, po kapkách, při teplotě 0 °C, do roztoku 1 g (1,45 mmolů) N-methylpropargylaminu v 15 ml dichloromethanu a 3,1 ml triethylaminu. Po míchání přes noc se reakční směs koncentruje do sucha ve vakuu, a zbytek se rozpustí dichloromethanem a 40 ml nasyceného roztoku NaCl. Po míchání a dekantaci se oddělí organická fáze a suší se nad síranem hořečnatým, filtruje se a koncentruje se ve vakuu. Očekávaný produkt se získá po chromatografii na koloně oxidu křemičitého, vymývací rozpouštědlo: (20% ethylacetát v heptanu), čisté frakce, po odpaření, vedou k hnědé pevné látce s výtěžkem o velikosti 80%. Bod tání: 47-49 °C.

MH+ = 205,20.

1.2. *4-{[methyl(2 propinyl)amino]methyl}anilin*

1,4 g (6,11 mmolů) $SnCl_2$, $2H_2O$ a 0,4 g (6,11 mmolů) Zn se postupně přidá do roztoku 0,5 g (2,442 mmolů) meziproduktu 1.1 ve směsi 12,0 ml ledové kyseliny octové a 1,5 ml HCl (12 N). Směs se míchá po dobu 18 hodin při teplotě 20 °C. Reakční směs se potom stane bazická přidáním 30% vodného

17.07.02

roztoku NaOH. Produkt se potom extrahuje použitím dvakrát 50 ml CH_2Cl_2. Organický roztok se myje za použití 50 ml slané vody, suší se nad $MgSO_4$, filtruje se a koncentruje se ve vakuu. Získá se světle žlutý olej s výtěžkem o velikosti 90%. Zbytek se použije bez další purifikace v následujícím kroku.

MH+= 175,10.

1.3. *N'-(4-{[methyl(2-propinyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid*

0,315 g (1,80 mmolů) meziproduktu 1.2 a 0,77 g (2,70 mmolů) hydrojodidu S-methyl-2-thiofenthiokarboximidu se rozpustí v 15 ml isopropanolu ve nádobce o objemu 25 ml. Reakční směs se míchá po dobu 20 hodin při teplotě 80 °C. Po odpaření rozpouštědla ve vakuu se zbytek vezme do 25 ml směsi (1/1) nasyceného roztoku $NaHCO_3$ a dichloromethanu. Po dekantaci se organická fáze myje 2 x 25 ml slané vody. Organický roztok je suší se nad síranem hořečnatým, filtruje se, koncentruje se ve vakuu a zbytek se čistí na koloně silikagelu (vymývací rozpouštědlo: dichlormethan + 3% ethanolu). Seberou se čisté frakce a koncentrují se ve vakuu. Získá se bílá pevná látka s výtěžkem o velikosti 38%. Bod tání: 109-110 °C.

MH+ = 284,10.

Následující sloučeniny se mohou připravit postupem podle podobného protokolu jako ten, který je popsán v Příkladu 1.

17.07.02

Příklad 2: N'-(4-{[methyl(kyanomethyl)amino]methyl}fenyl)2-thiofenkarboximidamid

(N-methylpropargylamin se nahradí methylaminoacetonitrilem v prvním kroku)

Příklad 3: N'-(4-{[methyl(propyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid

(N-methylpropargylamin se nahradí N-methyl-N-propylaminem v prvním kroku)

Příklad 4: N'-(4-{[methyl(3-kyanoethyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid

(N-methylpropargylamin se nahradí N-methyl-[3-alaninnitrilem v prvním kroku)

Příklad 5: N'-(4-{[methyl(4-pentinyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid

(N-methylpropargylamin se nahradí v prvním kroku N-methyl-N-pent-4-inylaminem

(připravený podle *Tetrahedron Letters* (1992), 33(45), 6835-6838, a *Heterocycles* (1996), 42(1), 385-396))

17.07.02

Farmakologická studie produktů podle předložené přihlášky vynálezu

Studie účinků na neuronální konstitutivní NO syntázu v krysím mozečku

Inhibiční aktivita produktů podle předložené přihlášky vynálezu se určí měřením jejich účinků na konverzi [^{3}H] L-argininu na [^{3}H] L-citrulin NO syntázou upravenou metodou podle Bredt a Snyder *(Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* (1990) 87: 682-685). Mozečky Sprague-Dawley krys (300 g - Charles River) se rychle vyjmou, disekují se při teplotě 4 °C a homogenizují se v dílu extrakčního pufru (HEPES 50 mmol, EDTA 1 mmol, pH 7,4, pepstatin A 10 mg/ml, leupeptin 10 mg/ml). Homogenáty se potom centrifugují při 21000 g po dobu 15 minut při teplotě 4°C. Dávkování se provede v skleněných pokusných zkumavkách, kam se rozdělí 100 µl inkubačního pufru obsahujícího 100 mmol HEPES (pH 7,4), 2 mmol EDTA, 2,5 mmol $CaCl_2$, 2 mmol dithiotreitolu, 2 mmol redukovaného NADPH a 10 µg/ml kalmodulinu. Přidá se 25 µl roztoku obsahujícího 100 nmol [^{3}H]L-argininu (specifická aktivita: 56,4 Ci/mmol, Amersham) a 40 µmol neradioaktivního L-argininu. Reakce se spustí přidáním 50 µl homogenátu, konečný objem je 200 µl (scházejících 25 µl je buď voda nebo testovaný produkt). Po 15 minutách se reakce zastaví 2 ml zastavujícího pufru (20 mmol HEPES, pH 5,5, 2 mmol EDTA). Poté, co vzorky projdou přes 1 ml kolonu DOWEX pryskyřice, se kvantifikuje radioaktivita za pomoci kapalinového scintilačního spektrometru. Výše popsaná sloučenina podle příkladu 1 vykazuje IC_{50}, které je nižší,

17.07.02

než 3,5 μmol.

Studie účinků na vazbu specifického ligandu MAO-B, [^{3}H]Ro 19-6327

Inhibiční aktivita produktů podle předložené přihlášky vynálezu se určí měřením jejich účinků na vazbu specifického ligandu MAO-B, [^{3}H]Ro 19-6327.

a) Preparát mitochondrií mozkové kůry krys

Preparát mitochondrií mozkové kůry krys se provede ve shodě s metodou, která je popsaná v Cesura A. M., Galva M. D., Imhof R. a Da Prada M., J. Neurochem. 48 (1987), 170-176. Krysy se dekapitují a získá se jejich mozková kůra, homogenizuje se v 9 dílech 0,32 mol sacharózového pufru, pufrovaného na pH 7,4 pomocí 5 mmol HEPES, potom se centrifuguje při 800 g po dobu 20 minut. Seberou se supernatanty a pelety se myjí dvakrát 0,32 mol sacharózového pufru, stejně jako předtím. Sebrané supernatanty se centrifugují při 10000 g po dobu 20 minut. Získané pelety se suspendují v Tris pufru (50 mmol Tris, 130 mmol NaCl, 5 mmol KCl, 0,5 mmol EGTA, 1 mmol $MgCl_2$, pH 7,4) a centrifugují se při 10000 g po dobu 20 minut. Tento krok se opakuje dvakrát, a konečná peleta, odpovídající mitochondriální frakci, se uchovává při teplotě -80°C v Tris pufru. Proteinový obsah preparátu se určí za pomoci metody Lowry.

17.07.02

b) Vazba [^{3}H]Ro 19-6327

100 µl mitochondriálního preparátu (2 mg protein/ml) se inkubuje po dobu 1 hodiny při teplotě 37°C v Ependorfově zkumavce, v přítomnosti 100 µl [^{3}H] Ro 19-6327 (33 nmol, konečná koncentrace) a 100 µl Tris pufru obsahujícího nebo neobsahujícího inhibitory. Reakce se zastaví přidáním 1 ml neoznačeného pufru Tris do každé zkumavky, potom se vzorky centrifugují po dobu 2 minut při 12000 g. Supernatanty se odsají a pelety se myjí 1 ml Tris pufru. Pelety se potom rozpustí v 200 µl dodecyl sulfátu sodného (20% hmotnost/objem) po dobu 2 hodin při teplotě 70°C. Radioaktivita se určí počítáním vzorků použitím kapalinové scintilace.

c) Výsledky

Sloučenina z Příkladu 1, která je výše popsaná, vykazuje IC_{50}, které je nižší než 25 µM.

Zastupuje:

JUDr. Otakar Švorčík

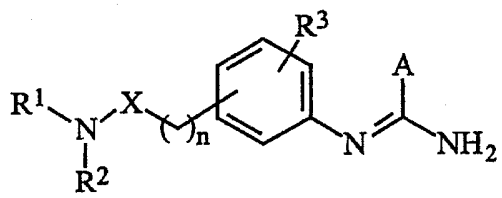
JUDr. Otakar Švorčík
advokát
Hálkova 2, 120 00 Praha 2

17.07.02

PV 2002 - 1645

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Produkt obecného vzorce (I)



(I)

kde:

R^1 a R^2 nezávisle představují atom vodíku nebo zbytek alkyl, cykloalkyl, alkenyl, alkinyl, allenyl, allenylalkyl, kyanoalkyl, $-(CH_2)_g-Z^1R^4$ nebo $-(CH_2)_k-COR^5$,

Z^1 představuje -O-, $-NR^6-$, -S- nebo vazbu,

R^4 a R^6 nezávisle představují atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkenyl, allenylalkyl, alkinyl, alkoxy nebo kyanoalkyl,

R^5 představuje zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl, alkoxy nebo NR^7R^8,

R^7 a R^8 nezávisle představují atom vodíku nebo zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl

nebo alkoxy,

nebo R^1 a R^2 společně s atomem dusíku tvoří nearomatický heterocyklus, který sestává z 4 až 8 členů, prvky řetězce jsou vybrány ze souboru, zahrnujícího $-CH(R^9)-$, $-NR^{10}-$, $-O-$, $-S-$, $-CO-$, uvedený heterocyklus může být substituován jedním nebo více substituenty $-(CH_2)_k-Z^2R^{11}$ nebo $-(CH_2)_k-COR^{12}$,

R^{11} nezávisle představuje v každém svém výskytu atom vodíku, zbytek alkyl, alkenyl, alkinyl, alkoxy, allenyl, allenylalkyl nebo kyanoalkyl,

R^{13} nezávisle představuje v každém svém výskytu atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkenyl, alkinyl, alkoxy, allenyl, allenylalkyl nebo kyanoalkyl,

R^{12} představuje v každém svém výskytu zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl, nebo alkoxy nebo $NR^{14}R^{15}$,

R^{14} a R^{15} nezávisle představují v každém svém výskytu atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkoxy, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl nebo kyanoalkyl,

R^9 a R^{10} nezávisle představují v každém svém výskytu atom vodíku, $-(CH_2)_k-Z^3R^{16}$ nebo $-(CH_2)_kCOR^{17}$,

Z^3 představuje $-O-$, $-NR^{18}-$, $-S-$ nebo vazbu,

17.07.02

R^{18} nezávisle představuje atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkenyl, allenyl, allenylalkyl, alkinyl, alkoxy nebo kyanoalkyl,

R^{16} nezávisle představuje v každém svém výskytu atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkenyl, alkinyl, alkoxy, allenyl, allenylalkyl nebo kyanoalkyl,

R^{17} nezávisle představuje v každém svém výskytu zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl, alkoxy nebo $NR^{19}R^{20}$,

R^{19} a R^{20} nezávisle představují v každém svém výskytu atom vodíku nebo zbytek alkyl alkoxy, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl nebo kyanoalkyl;

X představuje zbytek -CO- nebo $-(CH_2)_m-$;

R^3 představuje atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený zbytek alkyl nebo alkoxy, který sestává z 1 až 6 atomů uhlíku;

A představuje přímý nebo rozvětvený zbytek alkyl, který sestává z 1 až 6 atomů uhlíku nebo karbocyklický zbytek nebo heterocyklický zbytek aryl, který sestává z 5 až 6 členů, obsahující 1 až 4 heteroatomy, vybranými z O, S, N, uvedený zbytek aryl je popřípadě substituován jednou nebo více skupinami, vybranými z přímých nebo rozvětvených zbytků alkyl, alkenyl nebo alkoxy, sestávajících z 1 až 6 atomů uhlíku,

17.07.02

g nezávisle představuje v každém svém výskytu celé číslo od 1 do 6,

m, k a n nezávisle představují v každém svém výskytu celá čísla, která jdou od 0 do 6;

nicméně se rozumí, že když R^3 představuje atom vodíku nebo přímý nebo rozvětvený zbytek alkyl, který sestává z 1 až 6 atomů uhlíku, potom R^1 a R^2 nezávisle nepředstavují atom vodíku nebo zbytek alkyl, a navíc NR^1R^2 nepředstavují jednu z nesubstituovaných skupin piperidinyl, morfolinyl, pyrolidinyl nebo skupinu piperazinyl, popřípadě se substitucí v poloze 4 zbytkem alkyl obsahujícím od 1 do 6 atomů uhlíku.

2. Produkt podle nároku 1, ***vyznačující se tím***, že:

R^1 představuje zbytek alkyl a R^2 představuje jeden ze zbytků alkyl, cykloalkyl, alkenyl, alkinyl, allenyl, allenylalkyl, kyanoalkyl, $-(CH_2)_g-Z^1R^4$ nebo $-(CH_2)_k-COR^5$;

Z^1 představuje -O-, $-NR^6-$, -S- nebo vazbu,

R^4 a R^6 představuje atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkenyl, alkinyl, alkoxy nebo kyanoalkyl,

R^5 představuje zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl, alkoxy nebo NR^7R^8,

17.07.02

R^7 a R^8 nezávisle představují allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl, kyanoalkyl nebo alkoxy,

nebo R^1 a R^2 společně s atomem dusíku tvoří nearomatický heterocyklus, který sestává z 4 až 8 členů, prvky řetězce jsou vybrány ze souboru, zahrnujícího $-CH(R^9)-$, $-NR^{10}$ a $-O-$,

R^9 a R^{10} představují nezávisle atom vodíku nebo zbytek $-(CH_2)_k-Z^3R^{16}$ nebo $-(CH_2)_kCOR^{17}$,

Z^3 představuje vazbu,

R^{16} představuje nezávisle atom vodíku, zbytek alkyl, alkenyl, alkinyl, allenyl, allenylalkyl nebo kyanoalkyl,

R^{17} představuje nezávisle zbytek alkyl, allenyl, allenylalkyl, alkenyl, alkinyl nebo kyanoalkyl;

n představuje 0 nebo 1;

k představuje celé číslo od 1 do 6; a

X představuje $-(CH_2)_m-$, kde m představuje 0 nebo 1.

3. Produkt podle nároku 1, ***vyznačující se tím***, že:

R^1 zbytek alkyl a R^2 představuje jeden ze zbytků alkyl, alkenyl, alkinyl, allenyl nebo kyanoalkyl,

nebo R^1 a R^2 společně s atomem dusíku tvoří nearomatický

17.07.02

heterocyklus, který sestává z 4 až 8 členů, prvky řetězce jsou vybrány ze souboru, zahrnujícího $-CH(R^9)-$, $-NR^{10}-$ a $-O-$,

R^9 a R^{10} představují nezávisle atom vodíku nebo $-(CH_2)_k-Z^3R^{16}$ zbytek,

Z^3 představuje vazbu,

R^{16} představuje nezávisle atom vodíku nebo zbytek alkyl, alkinyl nebo kyanoalkyl;

n představuje 0 nebo 1;

k představuje celé číslo od 1 do 3; a

X představuje $-(CH_2)_m$, kde m představuje 0 nebo 1.

4. Produkt podle jednoho z nároků 1 až 3, ***vyznačující se tím***, že je jednou z následujících sloučenin:

N'-(4-{[methyl-(2-propinyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid;

N'-(4-{[methyl(kyanomethyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid;

N'-(4-{[methyl(propyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid;

N'-(4-{[methyl(3-kyanoethyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid;

N'-(4-{[methyl(4-pentinyl)amino]methyl}fenyl)-2-thiofenkarboximidamid;

nebo jednou z jejich solí.

5. Produkt podle jednoho z nároků 1 až 4 jako léčivo.

6. Farmaceutická kompozice obsahující jako účinnou látku, produkt podle jednoho z nároků 1 až 4 nebo jeho farmaceuticky přijatelnou sůl.

7. Použití produktu podle jednoho z nároků 1 až 4, nebo farmaceuticky přijatelné sole uvedeného produktu, pro přípravu léku určeného k inhibici NO syntáz.

8. Použití produktu podle jednoho z nároků 1 až 4, nebo farmaceuticky přijatelné sole uvedeného produktu, pro přípravu léku určeného k inhibici monoamino oxydáz.

9. Použití podle patentového nároku 8, ***vyznačující se tím,*** že připravený lék je určený k inhibici monoamino oxydázy B.

10. Použití produktu podle jednoho z nároků 1 až 4, nebo farmaceuticky přijatelné sole uvedeného produktu, pro přípravu léku určeného k inhibici jak NO syntáz, tak monoamino oxydáz.