

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

1937-99

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **02. 12. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **04.12.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/9614847**

(33) Země priority: **FR**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 09. 99**
(Věstník č. 9/99)

(86) PCT číslo: **PCT/FR97/02174**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 98/24790**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 D 487/08
A 61 K 31/495

// (C 07 D 487/08,
C 07 D 241:00)

(71) Přihlášovatel:

SYNTHELABO, Le Plessis Robinson, FR;

(72) Původce:

Lothead Alistair, Charenton, FR;

Jegham Samir, Argenteuil, FR;

Nedelec Alain, Colombes, FR;

Solignac Axelle, Paris, FR;

(74) Zástupce:

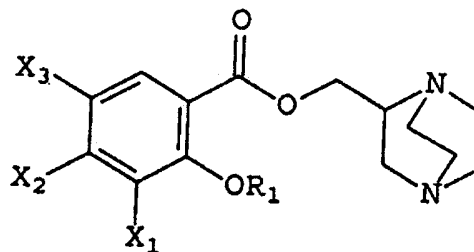
Hakr Eduard Ing., Přístavní 24, Praha 7,
17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Deriváty 1,4-diazabicyklo[2,2,2]okt-2-ylmethylbenzoátu, způsob jejich přípravy a jejich použití při léčení

(57) Anotace:

Sloučeniny vzorce I, kde R₁ je methyl; X je vodík; nebo OR₁ a X₁ společně tvoří skupinu -O/CH₂/2-, -O/CH₂/3-, -O/CH₂/2O- nebo -O/CH₂/3O-; X₂ je vodík nebo aminoskupina a X₃ je halogen. Sloučeniny jsou ligandy serotonergních receptorů typu 5-HT₃ a/nebo 5-HT₄ a působí jako 5-HT₄ agonisté a/nebo 5-HT₃ antagonisté.



(I)

CZ 1937-99 A3

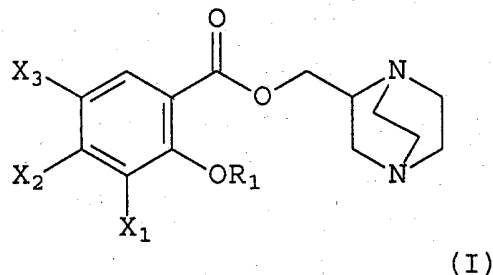
Deriváty 1,4-diazabicyklo[2,2,2]okt-2-ylmethylbenzoátu, způsob jejich přípravy a jejich použití při léčení

Oblast techniky

Předmětem předkládaného vynálezu jsou deriváty 1,4-diazabicyklo[2,2,2]okt-2-ylmethylbenzoátu, způsob jejich přípravy a jejich použití při léčení.

Podstata vynálezu

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mají obecný vzorec I



kde

R_1 je methylová skupina;

X_1 je atom vodíku; nebo

OR_1 a X_1 společně tvoří skupinu vzorce $-O(CH_2)_2-$, skupinu $-O(CH_2)_3-$, skupinu $-O(CH_2)_2O-$ nebo skupinu $-O(CH_2)_3O-$;

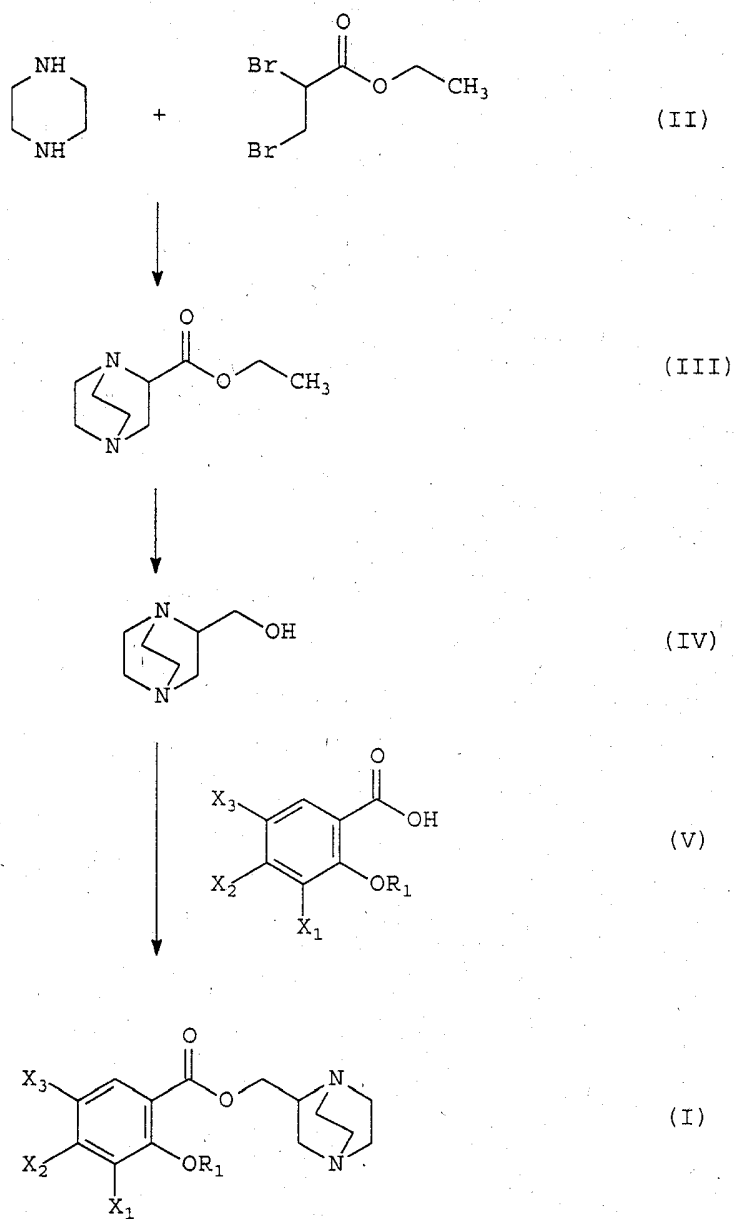
X_2 je atom vodíku nebo aminoskupina a

X_3 je atom halogenu.

Mohou existovat ve formě volných bazí nebo adičních solí s kyselinami. Dále mohou obsahovat asymetrický atom uhlíku v diazabicyklooktanovém kruhu a mohou proto existovat ve formě čistých enantiomerů nebo směsí enantiomerů.

Podle předkládaného vynálezu se sloučeniny obecného vzorce I připraví podle způsobu uvedeného v následujícím schématu.

Schéma



Ethyl-1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktan-2-karboxylát obecného vzorce III (popsaný v *Helv. Chimica Acta* (1962), díl XLV, část VII, č. 273 2383) se nejprve připraví reakcí mezi piperazinem a ethyl-2,3-dibrompropanoátem v inertním rozpouštědle, například v toluenu nebo benzenu a popřípadě v přítomnosti organické báze, například triethylaminu, potom se získaný ester redukuje na 1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktan-2-methanol obecného vzorce IV

(popsaný v Khim. Farm. Zh. (1989), 23, 30,35 a v Khim. Geterosikl. Soedin. (1980), 10, 1404-1407), například pomocí lithiualuminiumhydridu a nakonec se získaný alkohol reaguje s derivátem kyseliny benzoové vzorce V, kde R_1 , X_1 , X_2 a X_3 jsou definovány výše, podle známých esterifikačních způsobů, například pomocí aktivace kyseliny imidazolidem a kondenzace tohoto produktu s alkoholem, který byl před tím převeden na alkoxid, například za použití butyllithia.

Piperazin a 2,3-dibrompropanoát jsou komerčně dostupné. Některé deriváty kyseliny benzoové vzorce V jsou komerčně dostupné; jiné se mohou připravit podle způsobů popsaných v J. Med. Chem. (1993), 36, 4124-4123 a v patentové přihlášce EP-0234872, WO-9305038 a EP-2019042 nebo zmydelněním odpovídajících esterů, jako je popsáno v patentech DE-3001328 a DE-36433103.

Následující příklad podrobně ilustruje přípravu sloučeniny podle předkládaného vynálezu. Elementární analýzy a IČ a NMR spektra odpovídají strukturám získaných sloučenin.

Příklady provedení vynálezu

Příklad

(1,4-Diazabicyklo[2,2,2]okt-2-yl)methyl 8-amino-7-chlor-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-5-karboxylát

1. Ethyl-1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktan-2-karboxylát

16,9 ml (116 mmol) ethyl-2,3-dibrompropanoátu rozpuštěného v 250 ml toluenu, 10 g (116 mmol) piperazinu a 49 ml (348 mmol) triethylaminu rozpuštěného v 150 ml toluenu se postupně umístí do baňky s kulatým dnem a směs se zahřívá na 80 °C za míchání magnetickým míchadlem přes noc. Směs se ochladí, odfiltruje se hydrobromid triethylaminu, promyje se ethylacetátem, z filtrátu

se za sníženého tlaku odpaří rozpouštědla a zbytek se destiluje za normálního tlaku. Získá se 6,91 g sloučeniny, která se použije v následujícím kroku.

2. 1,4-Diazabicyklo[2,2,2]oktan-2-methanol

0,21 g (5,43 mmol) lithiualuminiumhydridu suspendovaného v diethyletheru se umístí do baňky s kulatým dnem, suspenze se za použití ledové chladicí lázně ochladí na 0 °C a pomalu se za míchání magnetickým míchadlem přidá 1 g (5,43 mmol) ethyl 1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktan-2-karboxylátu rozpuštěného v 10 ml diethyletheru a směs se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti. Přebytek hydridu se hydrolyzuje pomocí pomalého přidání 0,2 ml vody, 0,2 ml 15% vodného roztoku hydroxidu sodného a potom znovu 0,6 ml vody, pevné složky se odfiltrují, promyjí se chloroformem a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Po destilaci se získá 0,43 g olejovitého produktu.

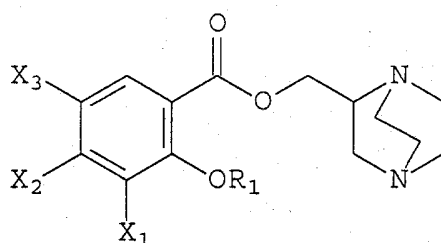
3. (1,4-Diazabicyklo[2,2,2]okt-2-yl)methyl 8-amino-7-chlor-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-5-karboxylát

0,69 g (3,03 mmol) 8-Amino-7-chlor-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-5-karboxylové kyseliny suspendované v 5 ml bezvodého tetrahydrofuranu se zavede do baňky s kulatým dnem a pod dusíkovou atmosférou při teplotě místnosti se přidá 0,49 g (3,03 mmol) N,N'-karbonyldiimidazolu a směs se míchá 2 hodiny. Do jiné baňky s kulatým dnem se zavede 0,43 g (3,02 mmol) 1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktan-2-methanolu rozpuštěného v 20 ml tetrahydrofuranu a pod dusíkovou atmosférou se za míchání magnetickým míchadlem pomalu přidá 1,21 ml (3,02 mmol) 2,5M roztoku butyllithia v hexanu a směs se míchá 1 hodinu.

Roztok kyseliny připravený výše se potom pomalu přidá pomocí stříkačky k roztoku butyllithia a míchání pokračuje 1 hodinu 10

minut při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku, zbytek se převede do ethylacetátu a vody a organická vrstva se oddělí a několikrát promyje vodou. Po sušení, odpaření, převedení zbytku do diethyletheru a rekrystalizaci z ethanolu se izoluje 0,35 g bílé pevné látky. Teplota tání je 217 °C.

Chemické struktury a fyzikální vlastnosti některých sloučenin podle předkládaného vynálezu jsou uvedeny níže v tabulce.



(I)

Č.	OR ₁	X ₁	X ₂	X ₃	Sůl	T.t. (°C)
1	-OCH ₃	H	H	Cl	-	121-124
2	-OCH ₃	H	-NH ₂	Cl	-	168-171
3	-O(CH ₂) ₂ -	H	H	Cl	HCl (1:2)	247-250
4	-O(CH ₂) ₂ O-	-NH ₂	-NH ₂	Cl	-	217
5	-O(CH ₂) ₃ O-	-NH ₂	-NH ₂	Cl	HCl (1:2)	191-198

Ve sloupci sůl znamená značka „-“, že sloučenina je ve formě báze a „2HCl“ znamená, že sloučenina je ve formě dihydrochloridu.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu byly předmětem testů, které demonstrují jejich výhodnost jako látek, které mají léčebnou aktivitu.

Jejich afinita k 5-HT₂ serotoninergním receptorům se demonstrovala pomocí náhrady vazby specificky značeného ligandu, [³H]- (S)-zacopridu.

Studie se provádí *in vitro* na 5-HT₃ receptorech mozkové kůry krysy, což je popsáno v Barnes N. M. a kol., J. Pharm. Pharmacol. (1988), 40, 548-551. Samci krysy Sprague-Dawley (OFA, Iffa Credo, Lyons, Francie), o hmotnosti 200 až 250 g se humánně usmrtili a byl jim vyjmut mozek. Mozková kůra se potom rozřezala a homogenizovala za použití homogenizéru Polytron™ (poloha 7, 20 s) v 20 objemech pufru Tris (25 mM, pH = 7,4, při 22 °C), homogenát se odstřeďoval při 45 000 g 10 minut pomocí odstředivky Sorvall™ opatřené rotorem SS34 a peleta se suspenzovala v 10 objemech Tris pufru a inkubovala se za míchání při 37 °C 10 minut.

Suspenze se zředila na 20 objemů pufrům Tris a znovu se odstředila za stejných podmínek a potom se peleta znovu suspenzovala v 5 objemech pufru Tris a rozdělila se na 5ml alikvotní díly, které se zmrazily při -80 °C.

V den pokusu se prostředky nechaly roztát při +4 °C a potom se zředily 1,2krát inkubačním pufrům Tris-NaCl (Tris 25 mM, NaCl 150 mM, pH = 7,4 při 22 °C).

Suspenze membrán (100 µl, 1 mg proteinů) se potom inkubovala při 25 °C 25 minut v přítomnosti 0,5 nM [³H]-(-S)-zacopridu (specifická aktivita 75-85 mCi/mmol, Amersham, Little Chalfont, Velká Británie) v konečném objemu 500 µl pufru Tris-NaCl v přítomnosti nebo nepřítomnosti testované sloučeniny.

Inkubace se ukončila pomocí filtrace přes filtry Whatman GF/B předupravené 0,1% polyethyleniminem. Každá reakční zkumavka se předem zředila 4 ml pufru Tris-NaCl a potom se třikrát promyla 4,5 ml pufru Tris-NaCl.

Před sušením v sušárně (120 °C, 5 minut) se filtry rozřezaly. Radioaktivita, která zůstala na filtrech, se určila pomocí

kapalinové scintigrafie. Nespecifická vazba se určila v přítomnosti 10 μM MDL 72222 (ligand popsáný v citovaném článku). Pro všechny koncentrace studované sloučeniny se určila procentuální inhibice specifické vazby [^3H]-(-S)-zacopridu a potom koncentrace IC_{50} , což je koncentrace této sloučeniny, která inhibuje 50 % specifických vazeb.

Hodnoty IC_{50} sloučeniny podle předkládaného vynálezu leží v rozmezí 0,1 až 0,5 μm .

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu byly také testovány na afinitu vzhledem k 5-HT₄ receptorům ve striatu morčat podle způsobu popsáného v Grossman a kol., Br. J. Pharmacol., (1993) 109, 618-624.

Morčata (Hartley, Charles River, Francie) o hmotnosti 300 až 400 g, se humánně usmrtila, vyjmuly se jim mozky, vyřízla se striata a zmrazila se při -80 °C.

V den pokusu se tkáň roztály při +4 °C v 33 objemech pufru HEPES-NaOH (50 mM, pH = 7,4 při 20 °C) a homogenizovaly se pomocí mlýnu Polytron™, homogenát se odstřeďoval při 48 000 g 10 minut, peleta se vyjmula, znovu se suspendovala a odstředila za stejných podmínek, jako je uvedeno výše a nakonec se peleta znovu suspendovala v pufru HEPES-NaOH, v poměru 30 mg tkáň na ml. 100 μl této suspenze membrán se inkubovalo při 0 °C 120 minut v přítomnosti [^3H]GR113808 (ligand popsáný ve výše uvedeném článku, specifická aktivita 80-85 Ci/mmol) v konečném objemu 1 ml pufru HEPES-NaOH (50 mM, pH = 7,4), v přítomnosti nebo nepřítomnosti testované sloučeniny. Inkubace se ukončila filtrací přes filr Whatman GF/B, který byl předem upravený 0,1% polyethyleniminem, každá zkumavka se promyla 4 ml pufru při 0 °C, znovu se provedla filtrace a pomocí kapalinové scintigrafie se určila radioaktivita zbývající na filtru.

Nespecifická vazba se určila v přítomnosti 30 μM serotoninu. Specifická vazba představuje 90 % celkové radioaktivity získané na filtru. Pro každou koncentraci testované sloučeniny se určila procentuální inhibice specifické vazby [^3H]GR113808 a potom hodnota IC_{50} , což je koncentrace testované sloučeniny, která inhibuje 50 % specifické vazby.

Hodnoty IC_{50} sloučenin podle předkládaného vynálezu leží v rozmezí 0,015 až 5 μM .

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu se také testovaly s ohledem na jejich agonistické nebo antagonistické působení k 5-HT_4 receptorům v jícnu krys podle způsobu popsaného v Baxter a kol., Naunyn Schmied. Arch. Pharmacol., (1991) 343, 439. Použili se samci krys Sprague-Dawley o hmotnosti 300 až 450 g. Z koncové části jícnu se rychle vyjmul 1,5cm fragment, svalová vrstva se odstranila a vnitřní svalový obal sliznice se podélně otevřel, fragment se připevnil do orgánové nádoby obsahující Krebs-Henseleitův roztok při 32 °C okysličený proudem karbogenu (95 % kyslík a 5 % oxid uhličitý) a připojil se k izometrickému měniči za bazálního tlaku 0,5 g. Stažení tkáně se vyvolalo přidáním 0,5 μM karcholu, počkalo se 15 minut, než se stabilizovala koncentrace, a potom se prostředek vystavil serotoninu (1 μM), čímž se stanovila maximální relaxace. Tkáň se promyla a po 20 minutách se znovu přidalo 0,5 μM karcholu a prostředek se vystavil studované sloučenině při rostoucích koncentracích 0,1 až 1 μM . Sloučeniny, které vyvolaly relaxaci, se charakterizovaly jako 5-HT_4 agonisté.

Pro sloučeniny, které nevyvolávají relaxaci, se prostředky vystavily serotoninu při rostoucích koncentracích od 0,1 nM do koncentrace vyvolávající maximální relaxaci a relaxační křivka vyvolaná serotoninem, v přítomnosti studované sloučeniny, se

potom porovnávala s kontrolní křivkou v nepřítomnosti jmenované sloučeniny. Pokud přítomnost této sloučeniny vyvolá posun křivky směrem doprava, testovaná sloučenina je charakterizována jako 5-HT₄ antagonistista.

Nakonec se sloučeniny podle předkládaného vynálezu testovaly vzhledem k jejich antagonistickému působení na 5-HT₃ receptory sestupné hladké svaloviny tračníku izolované z morčete podle způsobu popsaného v Grossman a kol., Br. J. Pharmacol. (1989), 97, 451.

Serotonin (0,1 až 100 μM), po blokování receptorů typu 5-HT₁ a 5-HT₂ (0,1 μM methysergid) a znečitlivění 5-HT₄ receptorů (10 μM 5-methoxytryptamin), způsobuje stažení hladké svaloviny sestupného tračníku morčat pomocí stimulace 5-HT₃ receptorů v závislosti na koncentraci. Kontrakce se zaznamenává pomocí isometrie.

Antagonistický účinek sloučeniny na 5-HT₃ serotoninergní receptory se stanoví pomocí měření posunu kontrolní křivky koncentračního efektu (neaditivní vzrůstající následné koncentrace), při koncentracích sloučeniny 1 nM až 0,1 μM, při inkubaci 30 minut.

Výsledky biologických testů provedených na sloučeninách podle předkládaného vynálezu ukazují, že jsou ligandy serotoninergních receptorů typu 5-HT₃ a/nebo 5-HT₄, a že působí jako 5-HT₄ agonisté nebo antagonisté a/nebo jako 5-HT₃ antagonisté.

Sloučeniny mohou být proto použity pro léčbu a prevenci poruch, ve kterých jsou zahrnuty 5-HT₃ a/nebo 5-HT₄ receptory, v oblasti centrální nervové soustavy, gastrointestinálního systému, kardiovaskulárního systému nebo močového systému.

V oblasti centrálního nervového systému tyto poruchy a potíže zahrnují zejména neurologické a psychiatrické poruchy, jako jsou poruchy rozpoznání, psychózy, nutkavé nebo obsedantní chování a stavy deprese a úzkosti. Mezi poruchy rozpoznání patří například nedostatky paměti a pozornosti, stavy demence (stařecká demence typu Alzheimerovy choroby nebo demence související s věkem), cerebrovaskulární nedostatečnosti nebo Parkinsonova nemoc. Mezi psychózy patří například paranoia, schizofrenie, mánie a autismus. Mezi nutkavé a obsedantní chování patří například poruchy spojené s jídlem, jako ztráta chuti nebo bulimie. Mezi stavy deprese a úzkosti patří například úzkosti anticipujícího typu (před chirurgickou operací, před zubním ošetřením, a podobně), úzkosti způsobené závislostí na alkoholu nebo drogách nebo jejich odebráním, mánie, sezónní citové poruchy, migrény nebo zvedání žaludku.

V oblasti gastrointestinálního systému tyto poruchy a potíže zahrnují zejména zvracení vyvolané protinádorovou léčbou, přímé nebo nepřímé poruchy gastrointestinální pohyblivosti jícnu, žaludku nebo střev nebo specifické choroby, jako je dispepsie, vředy, gastroesofagiální reflux, nadýmání, dráždivý střevní syndrom, poruchy střevního vylučování nebo průjem, například vyvolaný cholerou nebo karcinoidním syndromem.

V oblasti kardiovaskulárního systému tyto poruchy a problémy zahrnují zejména onemocnění související přímo nebo nepřímo se srdečními arytmiemi.

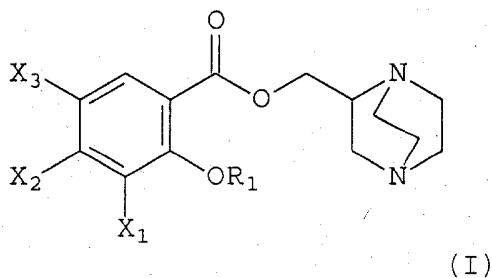
V oblasti močového systému tyto poruchy a problémy zahrnují zejména inkontinence všeho druhu, stejně jako jejich příčiny nebo následky, například infekce, kameny nebo poškození ledvin.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou být přítomny ve všech formách prostředků vhodných pro enterální nebo paren-

terální podávání, jako jsou tablety, dražé, tobolky, včetně tvrdých želatinových tobolek, suspenze nebo roztoky pro polykání nebo pro injekční podávání, jako jsou sirupy nebo ampulky a podobně, v kombinaci s vhodnými přísadami a v dávkách, které umožňují denní podávání 0,005 až 20 mg/kg.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Sloučenina ve formě čistého enantiomeru nebo směsi enantiomerů obecného vzorce I



kde

R_1 je methylová skupina;

X_1 je atom vodíku; nebo

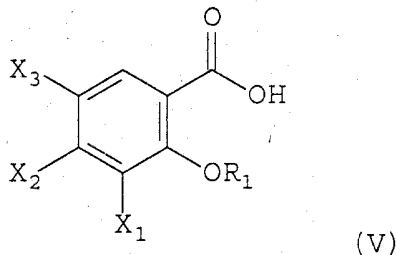
OR_1 a X_1 společně tvoří skupinu vzorce $-O(CH_2)_2-$, skupinu $-O(CH_2)_3-$, skupinu $-O(CH_2)_2O-$ nebo skupinu $-O(CH_2)_3O-$;

X_2 je atom vodíku nebo aminoskupina a

X_3 je atom halogenu;

ve formě volné báze nebo adiční soli s kyselinou.

2. Způsob přípravy sloučenin podle nároku 1 v y z n a č u - j í c í s e t í m , že se nejprve připraví ethyl-1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktan-2-karboxylát reakcí mezi piperazinem a ethyl-2,3-dibrompropanoátem, potom se získaný ester redukuje na 1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktan-2-methanol a nakonec se získaný alkohol reaguje s derivátem kyseliny benzoové obecného vzorce V



kde R_1 , X_1 , X_2 a X_3 jsou definovány v nároku 1.

3. Léčivo, vyznačující se tím, že obsahuje sloučeninu podle nároku 1.

4. Farmaceutický prostředek vyznačující se tím, že obsahuje sloučeninu podle nároku 1 v kombinaci s vhodnou přísadou.