(19) DANMARK

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 154837 B

PATENTDIREKTORATET
KØBENHAVN

(21) Patentansøgning nr.: 2315/86

(51) Int.Cl.[4] C 07 D 487/04

(22) Indleveringsdag: 16 maj 1986

(41) Alm. tilgængelig: 18 nov 1986

(44) Fremlagt: 27 dec 1988

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 17 maj 1985 DK 2204/85 12 aug 1985 DK 3659/85 17 okt 1985 DK 4769/85
20 dec 1985 DK 5994/85 06 jan 1986 US 816732

(71) Ansøger: A/S *FERROSAN; Sydmarken 5; 2860 Søborg, DK

(72) Opfinder: Frank *Waetjen; DK, Mogens *Engelstoft; DK, John Bondo *Hansen; DK, Leif Helth *Jensen; DK

(74) Fuldmægtig: Ingeniørfirmaet Lehmann & Ree

(54) Oxadiazolylimidazobenzodiazepinforbindelse og farmaceutisk præparat indeholdende samme

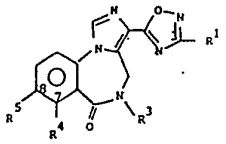
(56) Fremdragne publikationer

———

(57) Sammendrag:

2315-86

Substitueret 3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin med formlen



hvor X betegner Cl, Br, F, CF_3, CH_3 eller CN og farmaceutisk acceptable syreadditionssalte deraf.

Disse forbindelser udviser værdifulde psykofarmaceutiske egenskaber.

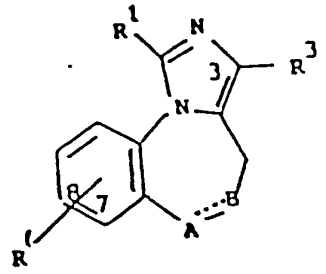
DK 154837 B

Opfindelsen angår hidtil ukendte oxadiazolylimidazobenzodiazepinforbindelser.

De hidtil ukendte forbindelser er anvendelige i psykofamaceutiske præparater, f.eks. til behandling af centralnervesystemssygdomme, såsom krampehæmmende midler og angstdæmpende midler.

Det er kendt (Squires, R.F. og Bræstrup, C., Nature (London) 266, (1977) 732), at specifikke steder i centralnervesystemet hos hvirveldyr udviser en stor specifik affinitet for binding af 1,4- og 1,5-benzodiazepiner. Disse steder kaldes benzodiazepinreceptorer.

Europæisk patentansøgning nr. 109.921 omtaler forbindelser med den almene formel I



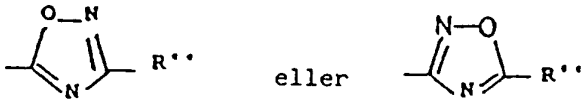
(I)

hvor

R´betegner hydrogen, chlor, fluor eller nitro i 7- eller 8-stilling,

R^1 betegner hydrogen eller C_{1-3}-alkyl,

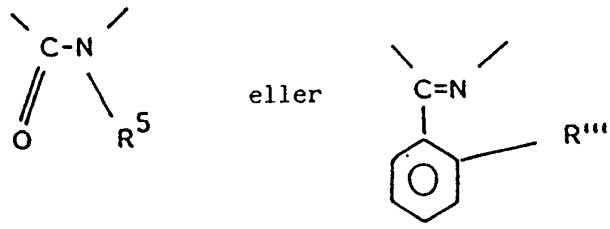
R^3 betegner en oxadiazolylgruppe med formlen



hvor

R´´ betegner C_{1-3}-alkyl,

A.....B betegner en gruppe med formlen



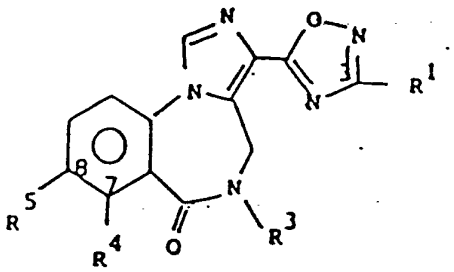
hvor

R^5 betegner hydrogen eller methyl og

R^{---} betegner hydrogen eller chlor.

Europæisk patentansøgning nr. 109.921 omtaler yderligere, at visse oxadiazolylbenzodiazepiner og oxadiazolylbetacarboliner udviser større bindingsaffinitet overfor benzodiazepinreceptorerne end alkylestere af de tilsvarende syrer.

Europæisk patentansøgning nr. 150.040 omtaler 1,2,4-oxadiazolylbenzodiazepinforbindelser med formlerne II og III



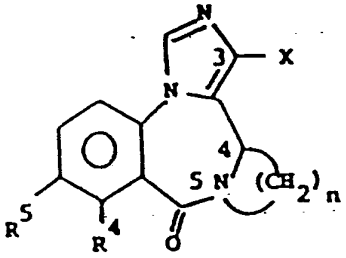
(II)

hvor

R^1 betegner alkyl, cycloalkyl, methoxymethyl,

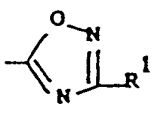
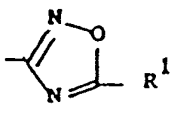
R^3 betegner H, CH_3 og

R^4 og R^5 hver betegner H eller halogen,



(III)

hvor

X betegner  eller 

hvor

R^1 betegner alkyl, cycloalkyl, CF_3 eller methoxymethyl,

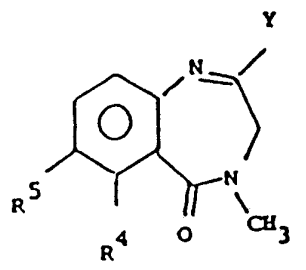
R^4 og R^5 hver betegner H, halogen, CF_3 og n betegner 2 eller 3.

Forbindelserne, som omtales i eksemplerne 2, 3, 16, 29, 32, 43, 44, 45, 49, 50, 51, 53 og 56 i Europæisk patentansøgning nr. 150.040, er 5,6-dihydro-6-oxo-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepinforbindelser (med ovennævnte formel II), hvorimod de forbindelser, som omtales i eksemplerne 1, 8, 9, 17, 18, 23 og 30, er 10,11,12,12a-tetrahydro-9-oxo-9H-imidazo-(1,5-a)azeto(2,1-c)(1,4)-benzodiazepinforbindelser (med ovennævnte formel III) og forbindelserne, som omtales i eksemplerne 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 20, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 46, 48, 54, 55, 57, 58 og 59, er 11,12,13,13a-tetrahydro-9-oxo-9H-imidazo-(1,5-a)pyrrol(2,1-c)(1,4)benzodiazepinforbindelser (også med formlen III).

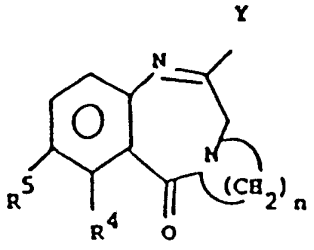
Endelig er den forbindelse, som omtales i eksempel 47 i Europæisk patentansøgning nr. 150.040, en 11,13a-dihydro-9-oxo--9H-imidazo(1,5-a)pyrrol(2,1-c)(1,4)benzodiazepinforbindelse.

De forbindelser, som omtales i eksemplerne 11, 15, 26 og 40 i Europæisk patentansøgning nr. 150.040, er forbindelser af formlen III, hvor X betegner en 1,2,4-oxadiazol-3-yl gruppe og i forbindelsen, som omtales i eksempel 40, betegner X en 5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl gruppe.

Europæisk patentansøgning nr. 150.040 omtaler også en fremgangsmåde til fremstilling af forbindelser med formlerne II og III, hvilken fremgangsmåde omfatter en omsætning af en forbindelse med henholdsvis formlen V og VI:



(V)

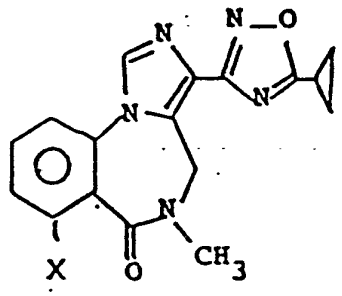


(VI)

hvor R^4, R^5 og n har de ovenfor anførte betydninger og Y betegner en fraspaltelig gruppe (leaving group), med en forbindelse med formlen $CN-CH_2-CO_2R$, til dannelse af en forbindelse med formlen II eller III, der omfatter en $-CO_2R$ substituent i 3-stillingen og omdannelse i

flere trin af denne forbindelse til det ønskede oxadiazolderivat.

Ifølge opfindelsen tilvejebringes en hidtil ukendt gruppe af oxadiazolylbenzodiazepinforbindelser med den almene formel VII



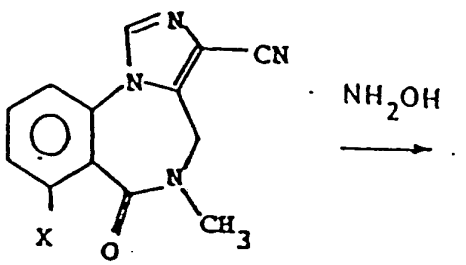
(VII)

hvor X betegner Cl, Br, F, CF_3, CH_3 eller CN samt farmaceutisk acceptable syreadditionssalte deraf. De hidtil ukendte forbindelser er anvendelige til behandling af centralnervesystemsforstyrrelser eller -sygdomme og specielt som krampehæmmende midler og angstdæmpende midler.

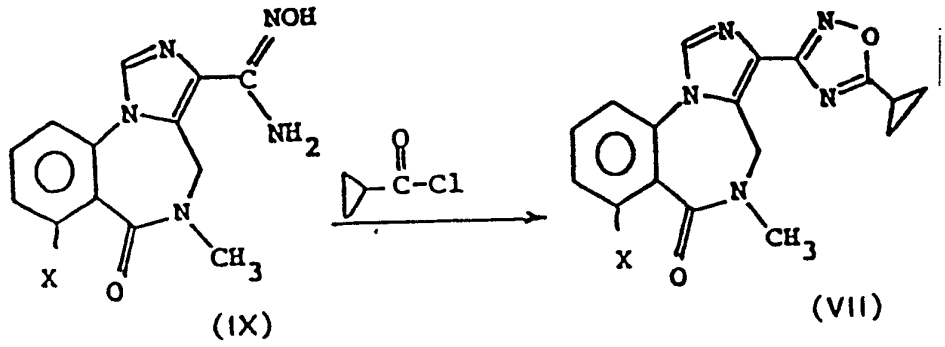
Smeltepunkterne for nogle af grundforbindelserne ifølge opfindelsen er følgende:

X	Smp.
Cl	165,1 - 169,2°C
Br	212 - 213°C
F	188,2 - 189,0°C
CF_3	200,1°C
CH_3	175,0 - 175,5°C
CN	237 - 239°C

Forbindelsen ifølge opfindelsen kan fremstilles ved a) følgende omsætning:

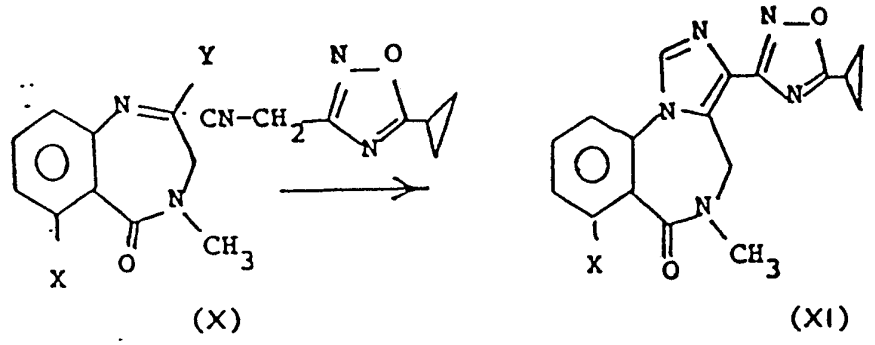


(VIII)



(IX) (VII)

hvor X har den ovenfor anførte betydning eller b) ved følgende omsætning:



(X) (XI)

hvor Y betegner en fraspaltelig gruppe og X har den ovenfor anførte betydning.

Eksempler på egnede fraspaltelige grupper er halogen, alkylthio, f.eks. methylthio, aralkylthio, N-nitrosoalkylamino, alkoxy, mercapto, $-OP-(O)(OR)_2$, hvor R betegner lavere alkyl, eller $-OP(O)(NR'R'')$, hvor R' og R'' hver repræsenterer lavere alkyl eller phenyl eller sammen med det tilstødende nitrogenatom danner en heterocyklisk gruppe såsom morpholin, pyrrolidin, piperidin eller methylpiperazin.

Omsætningen som beskrevet under b) sker fortrinsvis under basiske betingelser d.v.s. under tilstedeværelse af en base. Foretrukne baser er alkalimetal- f.eks. kalium- eller natrium-alkoxider eller -hydrider. Omsætningen sker fortrinsvis under tilstedeværelse af et organisk opløsningsmiddel, som ikke reagerer

med reaktanterne og reaktionsprodukterne under de herskende reaktionsbetingelser. Egnede opløsningsmidler er vandfrie opløsningsmidler og fortrinsvis vandfrie aprotiske opløsningsmidler, såsom dimethylformamid (DMF) eller lignende. Reaktionstemperaturen bør være tilstrækkelig høj til, at omsætningen kan forløbe i et rimeligt tempo og uden unødvendigt ophold eller dekomposition, og et almindeligvis passende interval ligger på -40°C til ca. 30°C.

Forbindelserne ifølge formel X kan fremstilles som beskrevet i US patentskrifterne nr. 4,352,817 og 4,316,839.

Opfindelsen angår også et farmaceutisk præparat, der omfatter en effektiv mængde af en forbindelse ifølge opfindelsen eller et farmaceutisk accetabelt syreadditionssalt deraf. Det farmaceutiske præparat ifølge opfindelsen er egnet til behandling af centralnervesystemssygdomme, såsom kramper og angsttilstande.

Det farmaceutiske præparat ifølge opfindelsen kan omfatte et sædvanligt hjælpestof, bærer eller fortyndingsmiddel eller kan bruges i enhedsdosisform. Forbindelsen ifølge opfindelsen kan indgives i fast form, f.eks. i form af tabletter eller fyldte kapsler, i flydende form f.eks. i form af opløsninger, suspensioner, emulsioner, eliksir eller kapsler fyldt med samme, alle til oral anvendelse; i form af suppositorier til rektal indgivelse; eller i form af sterile injicerbare opløsninger til parenteral (inkl. subkutan) brug. Sådanne farmaceutiske præparater og enhedsdosisformer heraf kan omfatte sædvanlige bestanddele i sædvanlige mængder, med eller uden yderligere aktive forbindelser eller principper. Enhedsdosisformerne bør indeholde en til lindring af en lidelse i centralnervesystemet effektiv mængde af den aktive bestanddel, der står i rimeligt forhold til det beregnede daglige dosisområde, som skal anvendes. Tabletter, som indeholder ca. 10 mg aktivt bestanddel eller mere generelt fra ca. 10 til 30 mg per tablet, er passende enhedsdosisformer.

Forbindelsen ifølge opfindelsen kan formuleres til oral og parenteral indgivelse hos pattedyr, herunder mennesker i overensstemmelse med sædvanlige galeniske farmaceutiske metoder.

Sædvanlige tilsætningsstoffer er sådanne farmaceutisk acceptable organiske eller uorganiske bærestoffer, som er egnede til parenteral eller oral brug, og som ikke på skadelig vis reagerer med den aktive forbindelse.

Eksempler på sådanne bærere er vand, saltopløsninger, alkoholer, polyethylenglycoler, polyhydroxy-ethoxyleret ricinusolie, gelatine, lactose, amylose, magnesiumstearat, talkum, kiselsyre, fedtsyremonoglycerider og fedtsyrediglycerider, pentaerythritol-fedtsyreestere, hydroxymethylcellulose og polyvinylpyrrolidon.

De farmaceutiske præparater kan steriliseres og om ønsket blandes med sådanne hjælpemidler som smøremidler, konserveringsmidler, stabiliseringsmidler, befugtningsmidler, emulgeringsmidler, salte til påvirkning af osmotiske tryk, puffere og/eller farvestoffer og lignende, som ikke på skadelig vis reagerer med den aktive forbindelse.

Injicerbare opløsninger eller suspensioner, fortrinsvis vandige opløsninger med den aktive forbindelse opløst i polyhydroxyleret ricinusolie, er særligt egnede til parenteral anvendelse.

Ampuller er hensigtsmæssige enhedsdoser.

Til oral anvendelse er tabletter, drageer eller kapsler, der indeholder talkum og/eller en kulhydratbærer eller binder eller lignende, specielt egnede, idet bæreren fortrinsvis er lactose og/eller majsstivelse og/eller kartoffelstivelse. En sirup, eliksir eller lignende kan anvendes, når en sødet bærer kan bruges. I almindelighed anvendes forbindelsen ifølge opfindelsen i enhedsdosisform, hvor en enhedsdosis omfatter fra 0.05-100 mg i en farmaceutisk acceptabel bærer.

På grund af den store affinitet overfor benzodiazepin-receptorerne er forbindelserne ifølge opfindelsen meget anvendelige ved behandling af centralnervesystemssygdomme eller -forstyrrelser, når de indgives i en mængde, der er effektiv til lindring, mildning eller fjernelse af sådanne sygdomme eller forstyrrelser. Den vigtige CNS-aktivitet af forbindelserne ifølge opfindelsen omfatter både krampehæmmende og angstdæmpende aktiviteter sammen med en lav toksicitet, som sammen giver et meget gunstigt terapeutisk indeks. Forbindelserne ifølge opfindelsen kan følgelig indgives i pattedyr, såsom mennesker, der har behov for samme til behandling, lindring, mildning eller fjernelse af en indikation, som er forbundet med centralnervesystemet og bezodiazepinreceptorer og som gør sådan psykofarmaceutisk behandling påkrævet, f.eks. mennesker som lider af

kramper eller som befinder sig i en angsttilstand. Forbindelsen ifølge opfindelsen indgives fortrinsvis i form af et farmaceutisk præparat som ovenfor beskrevet og fortrinsvis i en daglig dosis på 1-200 mg, fortrinsvis 10-100 mg og mest foretrukket 30-70 mg afhængig af den eksakte indgivelsesmåde, indgivelsesformen, indikationen, som indgivelsen er rettet mod, patienten, der er involveret, og den involverede patients kropsvægt, og den ansvarlige læge eller dyrlæges præference eller erfaring. Bredere dosisintervaller for forbindelsen ifølge opfindelsen ligger på 0,1-300 mg/dag, når den ingives i patienter f.eks. mennesker i form af et medikament.

Opfindelsen vil nu blive beskrevet nærmere under henvisning til de følgende eksempler.

EKSEMPEL 1

a. 5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-7-chlor-4H-imidaxo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin-3-carboxamidoxim

En blanding af 1,2 g 3-cyano-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-7-chlor-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin (fremstillet som beskrevet i US patentskrift nr. 4.316.839), 0,45 g hydroxylaminhydrochlorid, 20 ml 99% ethanol, 2 ml vand og 1,2 g kaliumcarbonat tilbagesvales i 1,5 time. Reaktionsblandingen filtreres og filtratet koncentreres. Resten behandles med 50 ml vand og det krystallinske stof frafiltreres og vaskes med vand.

Smp. 227,6-228,4°C.

b. 3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-7-chlor-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin

En blanding af 580 mg 5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-chlor-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin-3-carboxamidoxim fremstillet som ovenfor beskrevet og 0,3 ml cyclopropylcarboxylsyrechlorid omrøres i 15 ml THF i to timer ved 20°C og inddampes. Efter inddampning tilsættes 20 ml eddikesyre og blandingen tilbagesvales i 2,5 time og inddampes derefter. Reaktionsblandingen får lov til at henstå natten over ved stuetemperatur, hvorefter blandingen afkøles, filtreres og

inddampes derefter. Reaktionsblandingen får lov til at henstå natten over ved stuetemperatur, hvorefter blandingen afkøles, filtreres og filtratet inddampes til dannelse af en inddampningsrest i form af olieagtige krystaller.

Inddampningsresten behandles med ether til dannelse af ovenstående forbindelse i form af blege krystaller, som opsamles ved filtrering.

Smp. 165-169°C.

EKSEMPEL 2

a. Formylaminomethyl-carboxamidoxim

0,55 mol nylig frigjort hydroxylamin opløst i 370 ml methanol sættes til 53,6 g (0,638 mol) N-formylamino-acetonitril fremstillet som beskrevet i Synthesis, bind 10, s. 681-82. Et isbad bruges til at holde temperaturen under 20°C under tilsætningen. Opløsningen får lov til at henstå natten over ved stuetemperatur, hvorefter den inddampes til dannelse af ovennævnte forbindelse i form af blege krystaller.

Dekomposition 104-110°C.

b. 3-Formylaminomethyl-5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol

En blanding af 35 ml ethylcyclopropylcarboxylat, 30 g formylaminomethylcarboxamidoxim, 1 g natrium og 30 g knust molekylsi (4Å) tilbagesvales i 300 ml abs. EtOH i 8 timer, i hvilket tidsrum yderligere 1 g natrium tilsættes. Reaktionsblandingen filtreres og filtratet inddampes. Den mørke olieagtige inddampningsrest opslæmmes i 300 ml $CHCl_3$, filtreres og filtratet inddampes til dannelse af ovennævnte forbindelse i form af en olie.

H-NMR (60 MHz, $CDCL_3$) o (ppm): 1,2 (4 H, m), 2,8 (1 H, m), 4,5 (2 H, d, J=6 Hz), 7,8 (1 H, bred-NH), 8,2 (1 H, s).

c. 5-Cyclopropyl-3-isocyanomethyl-1,2,4-oxadiazol

En omrørt opløsning af 5-cyclopropyl-3-formylamino-methyl-1,2,4-oxadiazol (60 mmol) og triethylamin (176 mmol) i CH_2Cl_2 (100

ml) tilsættes dråbevis $POCl_3$ (60 mmol) ved 0°C, hvorefter en opløsning af Na_2CO_3 (60 mmol) i H_2O (50 ml) tilsættes. Blandingen opvarmes til stuetemperatur, hvorefter den organiske fase fraskilles, tørres og inddampes i vakuum. Inddampningsresten behandles med ether, dekanteres og opløsningen inddampes til dannelse af ovennævnte forbindelse i form af en olie.

Olien bruges uden yderligere rensning.

IR, cm^{-1}: 2160.

d. 3,4-Dihydro-4-methyl-6-cyano-2H-1,4-benzodiazepin-2,5(1H)dion

2,3 g 3,4-dihydro-4-methyl-6-brom-2H-1,4-benzodiazepin-2,5(1H)-dion og 1,26 g cuprocyanid opløses i 5 ml dimethylformamid. Den derved fremkomne blanding opvarmes til 110°C i 30 minutter og afkøles derefter til 50°C, hvorefter 2,4 g natriumcyanid i 6 ml vand tilsættes. Den derved fremkomne blanding omrøres derefter i 10 minutter, hvorefter 30 ml vand tilsættes. Blandingen ekstrakteres to gange med 25 ml ethylacetat. Den organiske fase tørres med calciumchlorid. Efter filtrering inddampes den organiske opløsning i vakuum til dannelse af 0,78 g af ovennævnte forbindelse.

Smp. 261-69°C.

e. 3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-7-chlor-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin

3,4-dihydro-4-methyl-6-chlor-2H-1,4-benzodiazepin-2,5(1H)dion (9,17 mmol) opløses i tør DMF (20 ml) og tilsættes natriumhydrid (10 mmol). Den derved fremkomne opløsning afkøles under N_2 til -20°C, hvorefter chlordiethylphosphat (11 mmol) tilsættes.

Reaktionsblandingen holdes under N_2 under omrøring ved -20°C og tilsættes en -30°C kold opløsning af 5-cyclopropyl-3-isocyanomethyl-1,2,4-oxadiazol (11 mmol) og K-t-butylat (11 mmol) i tør DMF (15 mmol).

Den derved fremkomne reaktionsblanding får lov til at opvarme til stuetemperatur, hvorefter den inddampes til tørhed i vakuum. Den olieagtige inddampningsrest, som indeholder råproduktet, renses på SiO_2 med ethylacetat som elueringsmiddel. Dette giver ovennævnte

forbindelse i form af hvide krystaller.

Smp. 165-168,5°C.

EKSEMPEL 3

3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo 7-brom-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin

2,5 g 3,4-dihydro-4-methyl-6-brom-2H-1,4-benzodiazepin-2,5 (1H)-dion (8,5 mmol) opløses i tør DMF (30 ml) og tilsættes 480 mg natriumhydrid. Den derved fremkomne opløsning afkøles under en atmosfære af N_2 til -20°C, hvorefter chlordiethylphosphat (1,6 ml) tilsættes.

Reaktionsblandingen holdes under N_2 under omrøring ved -20°C og tilsættes en -30°C kold opløsning af 5-cyclopropyl-3-isocyanomethyl-1,2,4-oxadiazol (1,64 g) og K-t-butylat (1,23 g) i tør DMF (15 ml).

Den derved fremkomne reaktionsblanding får lov til at opvarme til stuetemperatur og omrøres i 30 minutter. Et råprodukt dannes ved udfældning ved tilsætning af 150 ml vand. Råproduktet deles mellem 50 ml ethylacetat/diethylether (1/1) og 100 ml 4M saltsyre. Den organiske fase fjernes og produktet udfældes ved neutralisering af den vandige fase med 2M natriumhydroxid. Udfældningsproduktet omkrystalliseres fra ethylacetat. Dette giver ovennævnte forbindelse i form af hvide krystaller.

Smp. 212-13°C.

EKSEMPEL 4

3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo 7-methyl-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin

3,4-dihydro-4-methyl-6-methyl-2H-1,4-benzodiazepin-2,5(1H) dion (4,0 mmol) opløses i tør DMF (20 ml) og tilsættes natriumhydrid (5 mmol). Den derved fremkomne opløsning afkøles under N_2 til -20°C, hvorefter chlordiethylphosphat (11 mmol) tilsættes.

Reaktionsblandingen holdes under N_2 under omrøring ved -20°C

og tilsættes en -30°C kold opløsning af 5-cyclopropyl-3-isocyanomethyl-1,2,4-oxadiazol (5 mmol) og K-t-butylat (5 mmol) i tør DMF (15 mmol).

Den derved fremkomne reaktionsblanding får lov til at opvarme til stuetemperatur, hvorefter den inddampes til tørhed i vakuum. En olieagtig inddampningsrest indeholdende råproduktet omkrystalliseres fra ethanol, hvorved der dannes 0,45 g af ovennævnte forbindelse.

Smp. 175-175,5°C.

På analog måde syntetiseres følgende forbindelser.

7-fluor-3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin ud fra 3,4-dihydro-4-methyl-6-fluor-2H-1,4-benzodiazepin-2,5(1H)-dion.

Smp. 188,2-189,0°C.

H-NMR (60 mHz, DMSO-D_6): o = 8,2 (s, 1H), 7,2-8,0 (m,3H aromatisk), 5,1-4,2 (degenereret kobling, 2H), 3,1 (s,3H, NME), 2,3 (m,1H) 1,1-1,5 (m,4H).

7-cyano-3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-dihydro-5-methyl-6-oxo-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin ud fra 3,4-dihydro-4-methyl-6-cyano-2H-1,4-benzodiazepin-2,5(1H)-dion.

Smp. 237-9°C.

IR: 0,3% KBr plade viser det karakteristiske C=N bånd ved 2230 cm^{-1} NMR (60 mHz, $CDCl_3$ + DMSO-D_6): o = 8,2 (s,1H), 7,2-8,0 (m,3H,aromatisk), 5,2-4,3 (2m, degenereret kobling, 2H), 3,1 (s,3H,N-ME), 2,3 (m,1H), 1,1-1,5 (m,4H).

7-trifluormethyl-3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin ud fra 3,4-dihydro-4-methyl-6-trifluormethyl-2H-1,4-benzodiazepin-2,5(1H)dion.

Smp. 200,1°C.

H^1-NMR (60 mHz, DMSO-D_6 + $CDCl_3$) = (s,1H), 8,0-7,5 (m,3H aromatisk), 5,3-4,4 (m, degenereret kobling, 2H), 3,1 (s,3H,N-ME), 2,3 (m,1H) 1,1-1,5(4H).

EKSEMPEL 5

Repræsentative farmaceutiske præparater.

a) Tabletter

En typisk tablet, som er egnet til behandling af angsttilstande, og som kan fremstilles efter sædvanlige tabletteringsmetode indeholder:

Forbindelse ifølge opfindelsen	1,0 mg
Lactose	67,4 mg Ph.Eur.
Avicel® (mikrocellulose)	31,4 mg
Amberlite® (IRP 88) (ionbytterharpiks)	1,0 mg
Magnesiumstearat	0,25 mg Ph.Eur.

Den samme tablet kan bruges til behandling af kramper.

b) Suppositorier

Ved inkorporering af den aktive bestanddel under anvendelse af en kendt fremgangsmåde kan der anvendes en hvilken som helst sædvanlig suppositoriebase, såsom en polyethylenglycol, som er i fast form ved stuetemperatur og som smelter ved eller omkring kropstemperatur.

c) Sterile opløsninger til parenteral (herunder subkutan) indgivelse

Den aktive bestanddel sammen med sædvanlige bestanddele, såsom natriumchlorid, natriumdihydrogenphosphat, dinatriumedetat (dinatriumsaltet af ethylendiamintetraeddikesyre, benzylalkohol, natriumhydroxid til regulering af pH og dobbelt distilleret vand q.s., behandles på sædvanlig vis f.eks. ved filtrering, aseptisk påfyldning i ampuller, og autoklaving til sterilitet.

Det viser sig, at forbindelserne ifølge opfindelsen udviser en forbløffende gunstig og meget fordelagtig aktivitetsgrad i en

klassisk standardprøve til bestemmelse af in vivo affiniteten for benzodiazepinreceptorer samt ved en standardprøve, som anses for at være en indikator for farmaceutisk aktivitet mod kramper og angsttilstande, som formidles gennem benzodiazepinreceptorerne.

Den følgende prøve blev udført på nogle af forbindelserne ifølge opfindelsen samt på repræsentative eksempler på kendte forbindelser.

I. In vivo inhibering af ^{3}H-flunitrazepambinding til musefor-hjernemembraner ved intraperitonealt indgivne prøvestoffer

Princip. 20 minutter efter indgivelse af en dosis af ^{3}H-flunitrazepam (^{3}H-FNM) (200 µCi/kg i.v.) når omfanget af specifik ^{3}H-FNM binding til hjernebenzodiazepinreceptorer den maximale værdi. ^{3}H-FNMs specifikke binding kan delvist eller helt forhindres ved en samtidig eller forudgående indgivelse af farmakologisk aktive benzodiazepiner eller med benzodiazepinlignende midler (Chang og Snyder, Eur. J. Pharmacol. 48, 212-218 (1978)).

Bestemmelsesprocedure. Suspensioner af prøvestoffer (2 mg/ml) fremstilles i 5% "Duphasol-X" (ricinusolie-ethylenoxidderivat til emulgering og opløsning af olie og andre vanduopløselige stoffer) ved lydbehandling i 10 minutter ved brug af et Branson B15 microtip ultralydsapparat (indstilling 7). Grupper på 3 mus (hunmus af NMR-typen, der vejer 18-22 g) injiceres intraperitonealt med prøvestoffet i en mængde på 100 mg/kg. 15 minutter efter prøvestoffets indgivelse påvirkes musene intravenøst med 4 µCi i form af ^{3}H-FNM (70-90 Ci/mol) i 200 µl fysiologisk saltopløsning. 20 minutter efter indgivelsen af ^{3}H-FNM aflives musene ved halshugning og forhjernerne fjernes hurtigt (indenfor 30 sek.) og homogeniseres i 12 ml iskold 25 mM KH_2PO_4, pH 7,1 ved hjælp af et Ultra-Turrax homogeniseringsapparat, som er forsynet med en N 10 aksel. To portioner på 1 ml filtreres straks gennem Whatman GF/C glasfibrefiltre og vaskes med 2 x 5 ml af ovennævnte puffer. Mængderne af radioaktivitet på filtrene måles ved traditionel scintillationstælling. En gruppe af ubehandlede mus tjener som kontrolgruppe. 1-3 mus injiceres med 25 mg/kg clonazepam i.p. 30 minutter før indgivelsen af ^{3}H-FNM til bestemmelse af mængden af

ikke-specifik ^{3}H-FNM binding, som bør ligge på mellem 8-15% af den totale binding.

Når doser på 100 mg/kg inhiberer mere end 50% specifik ^{3}H-flunitrazepam binding, indgives prøvestofferne i doser, som er en faktor på 3,16 gange mindre end den dosis, som inhiberer mere end 50% binding.

ED_{50}-værdien for prøvestoffet defineres som den dosis, der inhiberer 50% specifik ^{3}H-FNM binding. Specifik binding defineres som omfanget af binding i kontrolmusene minus omfanget af binding hos clonazepambehandlede mus.

Resultater. ED_{50}-værdien bestemmes ud fra dosisresponskurver. Hvis der kun indgives en dosis af prøvestoffet, beregnes ED_{50}-værdien som følgende (forudsat at inhiberingen af specifik binding ligger indenfor et interval på 25-75%):

$$ED_{50} = \text{indgivet dosis} \times \frac{1 \cdot 1000}{\frac{C_o}{C_x} - 1} \ \mu g/kg$$

hvor C_o betegner specifik binding hos kontrolmusene og C_x betegner binding hos mus, som er behandlet med prøvestoffet.

II. Mus med pentazol-inducerede kloniske kramper(i.p.)

Princip. Pentylentetrazol fremkalder kloniske og toniske kramper i mus ved doser på 60-120 mg/kg s.c. Mekanismen er ukendt, men synes at skyldes visse påvirkninger gennem GABA receptor/benzodiazepinreceptor/chloridionosfære komplekset. Antagonisme af kramper, som induceres med maksimale doser af pentylenetetrazol, anses for at være en indikator for, at lægemidler er effektive mod petit mal epilepsia og angst.

Fremgangsmåde. 150 mg/kg pentylentetrazol opløst i 0,9% NaCl opløsning indgives subkutant i mængder på 15 ml/kg til han- eller hunmus af NMRI typen, der vejer 20-25 g, 30 minutter efter intraperitoneal injektion af en prøveforbindelse. Antallet af mus, der udviser kloniske kramper indenfor de næste 30 minutter,

registreres. Mindst 3 doser af hver prøveforbindelse bruges på 4 eller 8 mus pr. dosis og med doser både over og under ED_{50}-værdien.

Resultater. ED_{50}-værdien beregnes som den dosis, hvor kramper inhiberes hos 50% af dyrene ved anvendelse af et EDB-program baseret på en metode udviklet af Litchfield og Wilcoxon (1949).

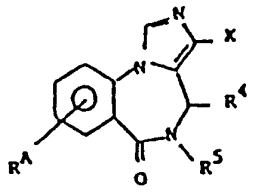
III. Mus med pentazol-inducerede toniske kramper(i.p)

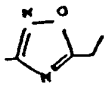
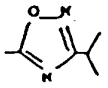
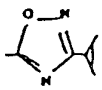
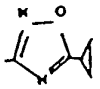
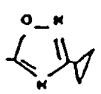
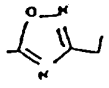
Princip. Pentylentetrazol fremkalder kloniske og toniske kramper i mus ved doser på 60-120 mg/kg s.c. Mekanismen er ukendt, men synes at skyldes visse påvirkninger gennem GABA receptor/benzodiazepinreceptor/chloridionosfære komplekset. Antagonisme af kramper, som induceres med maksimale doser af pentylentetrazol, anses for at være en indikator for, at lægemidler er effektive mod petit mal epilepsia og angst.

Fremgangsmåde. 150 mg/kg pentylentetrazol opløst i 0,9% NaCl opløsning indgives subkutant i mængder på 15 mg/kg til han- eller hunmus af NMRI typen, der vejer 20-25 g, 30 minutter efter intraperitoneal injektion af en prøveforbindelse. Antallet af mus, der udviser toniske kramper indenfor de næste 30 minutter, registreres. Mindst 3 doser af hver prøveforbindelse bruges på 4 eller 8 mus pr. dosis og med doser både over og under ED_{50}-værdien.

Resultater. ED_{50}-værdien beregnes som den dosis, hvor kramper inhiberes hos 50% af dyrene ved anvendelse af et EDB-program baseret på en metode udviklet af Litchfield og Wilcoxon (1949).

De opnåede resultater ved undersøgelse af forbindelsen ifølge opfindelsen og de mest relevante kendte forbindelser vil fremgå af den efterfølgende tabel.



	R^A	R^4	R^5	X	In vivo binding, ED_{50}, µg/kg	Aktivitet mod pentazol-inducerede kramper, ED_{50}, µg/kg klonisk	tonisk
A_1	H	Cl	CH_3		27	40	3
A_2	H	Br	CH_3		15	2	0,2
A_3	H	F	CH_3		90	20	5
A_4	H	CF_3	CH_3		10	8	3
B	H		CH_3		1,800	27,000	1,300
C	H	Cl	CH_3		200	600	200
D	H	Cl	CH_3		60	90	30
E	$-CH_2CH_2CH_2-$	Cl			960	13,000	1,000
F	$-CH_2CH_2CH_2-$	Cl			230	1,600	80
G	H		CH_3		2,200	8,000	2,000

A_1-A_4	Forbindelser ifølge opfindelsen
B	Forbindelse omtalt i EP 109.921, eksempel 3
C	Forbindelse omtalt i EP 109.921, side 3, linie 5
D	Forbindelse omtalt i EP 150,040, eksempel 29
E	Forbindelse omtalt i EP 150.040, eksempel 40
F	Forbindelse omtalt i EP 150.040, eksempel 31
G	Forbindelse omtalt i EP 109.921, eksempel 1.

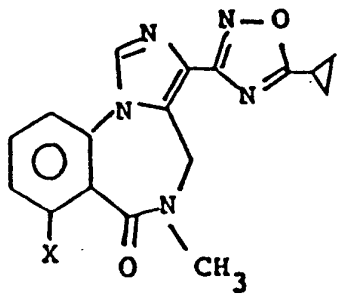
Som det fremgår af ovennævnte tabel er de farmakologiske egenskaber af forbindelse A_1 klart bedre end den tilsvarende kendte forbindelses (D). Således er affiniteten for binding af benzodiazepinreceptoren ca. 2 gange større og aktiviteten mod pentazol-inducerede kloniske og toniske kramper henholdsvis 2,25 og 10 gange større end for den omtalte kendte forbindelse.

Ligeledes fremgår det af tabellen, at de ovenfor omtalte egenskaber af forbindelse A_1 er henholdsvis 35, 325 og 330 gange større end for en kendt forbindelse (E) med den samme X-substituent.

Generelt fremgår det, at forbindelserne ifølge opfindelsen (forbindelserne A_1-A_4) udviser forbløffende forbedrede farmakologiske egenskaber sammenlignet med de nært beslægtede kendte forbindelser (forbindelserne B-G).

Krav

1. 7-substitueret 3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-4H-imidazo(1,5-a)(1,4)benzodiazepin med formlen VII



(VII)

hvor X betegner Cl, Br, F, CF_3, CH_3 eller CN og farmaceutisk acceptable syreadditionssalte heraf.

2. Forbindelse ifølge krav 1 hvor X betegner Br.

3. Forbindelse ifølge krav 1 hvor X betegner CF_3.

4. Farmaceutisk præparat omfattende en effektiv mængde af en forbindelse ifølge krav 1 og en farmaceutisk acceptabel bærer eller fortyndingsmiddel.