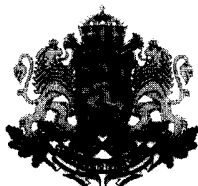


РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) **BG**

(11) **98439A**

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ
ЗА
ИЗОБРЕТЕНИЕ

(51) C07D453/02
C07D279/20
A61K 31/54
A61K 31/46

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

<p>(21) Заявителски № 98439 (22) Заявено на 07.02.1994 (24) Начало на действие на патента от:</p> <p style="text-align: center;">Приоритетни данни</p> <p>(31) MI91A002225 (32) 07.08.1991 (33) IT</p> <p>(41) Публикувана заявка в бюлетин № 9 30.09.1994 (45) Отпечатано на (46) Публикувано в бюлетин № на (56) Информационни източници:</p> <p>(62) Разделена заявка от рег. №</p>	<p>(71) Заявител(и): LABORATORI GUIDOTTI S.P.A. , , , PISA , PISA (IT) ; (72) Изобретател(и): GIORGI , RAFFAELO . , PISA (IT) ; SUBISSI , ALESSANDRO . , PISA (IT) ; TURBANTI , LUIGI . , PISA (IT) ; (74) Представител по индустриална собственост: Любов Стефанова Ненчева , 1463 София , ул. "Доспат" 44</p> <p>(86) № на РСТ заявка: PCT/ EP92/0 / 1759 , 03.08.1992 (87) № и дата на РСТ публикация: 93/030 / 29 , 18.02.1993</p>
--	--

(54) КВАТЕРНЕРНИ АМОНИЕВИ ПРОИЗВОДНИ НА (-) И (+) 10-(1-АЗОБИЦИКЛО [2.2.2]/ОКТ-3-ИЛ-МЕТИЛ)-10Н-ФЕНОТИАЗИН, ФАРМАЦЕВТИЧНИ СЪСТАВИ НА ТЯХНА ОСНОВА И МЕТОД ЗА ПОЛУЧАВАНЕТО ИМ

(57) Изобретението се отнася до дясновъртяща (+) и лявовъртяща (-) енантиоморфна форма на кватернерните амониеви производни на 10-(1-азобицикло [2.2.2] окт-3-ил-метил)-10н-фенотиазина с обща формула в която R е C1-4 алкил или циклопропил, X е халоген, диметилсулфат или p-толуенсулфонова киселина, до метод за получаването им, както и до фармацевтични състави, които ги съдържат като активен компонент и намират приложение за лечение на бронхоспастични и алергични заболявания, по-специално на бронхиална астма и ринити.

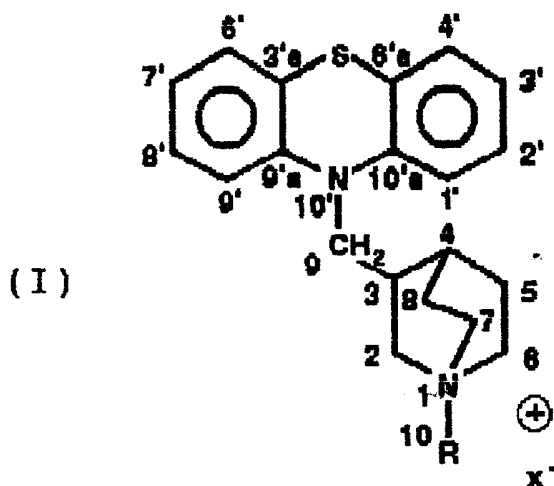
13 претенции , 0

BG 98439A

(-) и (+) КВАТЕРНЕРНИ АМОНИЕВИ ПРОИЗВОДНИ НА
 10-(1-АЗОБИЦИКЛО [2.2.2] ОКТ-3-ИЛ-МЕТИЛ)-
 10Н-ФЕНОТИАЗИН, ФАРМАЦЕВТИЧНИ СЪСТАВИ
 НА ТЯХНА ОСНОВА И МЕТОД ЗА
 ПОЛУЧАВАНЕТО ИМ.

Област на техниката

Изобретението се отнася до дясновъртяща (+) и ляговъртяща (-) енантиоморфна форми на кватернерните амониеви производни на 10-(1-азобицикло [2.2.2] окт-3-ил-метил)-10Н-фенотиазин със следната обща формула (I)



където

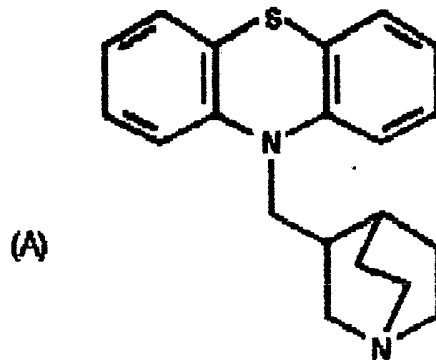
R = C₁₋₄ алкил, циклопропил,

X = халоген, диметилсулфат, ^{2H}p-толуенсулфонова киселина,

до метода за получаването им, както и до съдържащите ги фармацевтични състави, които намират приложение за лечение на бронхоспастични и алергични заболявания и по-специално на бронхиална астма и ринити.

Предшествващо състояние на техниката

От литературата, например от FR-A-2034605, е известен 10-(1-азобицикло [2.2.2] окт-3-ил-метил)-10Н-фенотиазинът (международно познат като мекитазин) със следната формула (А),

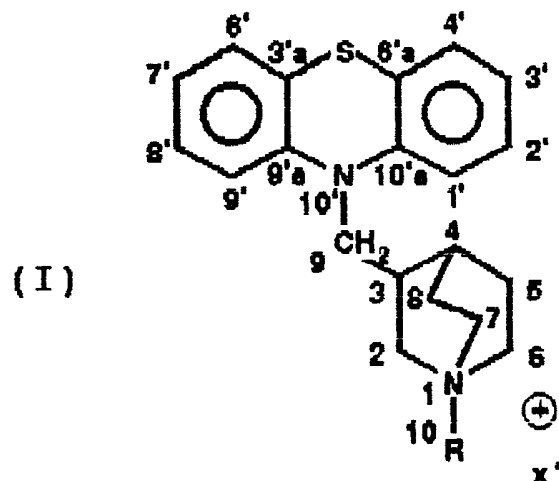


както и неговите антихистаминни свойства, описани пак там.

В EP-A-159059 заявителят описва кватернерните производни на съединението с формула (А) под формата на рацемични модификации, притежаващи забележима антиbronхо-спастична активност.

Техническа същност на изобретението

Кватернерните производни на мекитазина както и самият мекитазин от своя страна имат един асиметричен въглероден атом (позиция 3 на 1-азобицикло [2.2.2] октана). Всяко рацемично кватернерно производно при това се състои от две (+) и (-) енантиоморфни форми в съотношение 50:50. Изненадващо беше намерено, че енантиоморфните форми на кватернерните производни на мекитазина с формула (I)



където

R = C₁₋₄ алкил или циклопропил,

X = халоген, диметил сулфат или р-толуолсулфонова киселина, проявяват различаващи се свойства, което прави всяка една от тях особено подходяща за респективно различни лечения.

Съгласно настоящото изобретение C₁₋₄ алкил означава: метил, етил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, t-бутил.

Съгласно настоящото изобретение халоген означава: йод, бром, хлор.

В частност бе намерено, че докато и двете енантиоморфни форми съгласно общата формула (I) са еднакво активни по отношение на ацетилхолина, то всяка една проявява изненадващо различни свойства, например дясновъртящата (+) енантиоморфна форма е значително по-ефективна по отношение на хистамина, отколкото съответната лявовъртяща (-) енантиоморфна форма. Освен това беше открито, че дясновъртящата енантиоморфна форма е по-малко токсична от лявовъртящата.

Дясновъртящата (+) енантиоморфна форма може следователно да бъде приложена съгласно настоящото изобретение като средство, което е специално подходящо за лечение на бронхоспастични и алергични заболявания, по-специално на бронхиална астма и ринити, както и на всички патологии, свързани с хистамина - един от основните посредници на астматичните бронхиални спазми, и на ненормалното реагиране на лигавицата на носа; или с ацетилхолина - който контролира и тона на дихателната система, и секрета на лигавицата на носа. Както се знае в действителност, посредниците водещи до астматични бронхиални спазми и ринити са много, като нарастването на тяхното въздействие зависи от типа и степента на заболяването, както и от пациента. Фактът, че дясновъртящата енантиоморфна форма въздействува на двата посредника, когато са в доста значителни концентрации, прави тази форма изключително интересна като инструмент за лечение на съответните болести.

За получаването на енантиоморфните форми съгласно изобретението, рацемичната смес на мекитазина (формула A) се

разделя на две съответни дясно – и лявовъртящи енантиоморфни форми посредством техниката на хроматографското сепариране, основано на хиралността на фазите. В частност могат да бъдат използвани целулозни хроматографски колони, а като еленти съответно хексан/етилов алкохол (94/6), хексан метилов алкохол (98/2), хексан/етилов алкохол/TEA (98/0.8/1.2). От получените енантиоморфни форми се получават след това кватернерни производни посредством реагенти, описани в примерите, дадени в описанието по-нататък чрез техните индикации, които не ограничават изобретението.

Енантиоморфните форми, получени съгласно изобретението, са по-специално полезни за получаването на фармацевтични състави за външно приложение (главно чрез инхалация или чрез намазване) или за орално приложение. Един от фармацевтичните състави, подходящи за приложение на основата на активен компонент, съгласно изобретението, е разкрит в Пример 3 по начин, който не ограничава изобретението.

Примери за изпълнение на изобретението

Пример 1.

(-)-1-метил-3-(10-Н-фенотиазин-10-ил-метил)-1-азо-бицикло [2.2.2] октан йодид съгласно формула (I) при R = CH₃ и X = I⁻.

35 g (0.1 mol) от мекитазин (-) енантиоморфната форма се получава в колона за хроматографско хирално-фазово разделяне от рацемичната смес на мекитазин, която се суспендира в 200 ml ацетонитрил. Суспензията се разбърква 10 минути до хомогенизиране. Добавят се 50 ml (0.2 mol) метил йодид. Така получен разтворът се нагрива до 50°C, като нагриването при тази температура продължава 16 часа. Реакционната смес след това се подлага на охлаждане до 20°C, след това до 0 – 4°C, като сместа се държи при тази температура 48 часа. Получените твърди кристали се подлагат на филтруване под вакуум, измиват се върху филтъра с етилов етер, след което се сушат под вакуум при 50°C до постоянно тегло.

Получава се краен продукт с тегло 42 g /добие 90%/

5.

под формата на твърди кристали с кремав цвят и следните физико-химични характеристики:

Колона 150 x 4.6 с HPLC Nucleozil C₁₈®;

Елюент: MeOH/CH₃CN/NH₄H₂PO₄ = 43/25/32;

Скорост на изтичане (дебит): 0.5 ml/min, $\lambda = 254$ nm;

Впръскване: 4 μ l в метилов алкохол;

Общ пик при r.t.: 6.4;

Точка на топене: 142 - 144°C;

$[\alpha]_D^{20}$: -21.3°C (1% конц. в CH₃OH).

Елементарен анализ на C₂₁H₂₆IN₂S:

	C	H	I	N	S
изчислено	54.31	5.59	27.35	6.03	6.89
намерено	54.06	5.60	27.20	5.94	6.80

¹H NMR (CDCl₃): 7.21-6.84 (m, 8H, [1', 2', 3', 4', 6', 7', 8', 9']);

4.27-3.93 (m, 2H, [9]); 3.93-3.46 (m, 6H [2, 6, 7]);

3.21 (s, 3H, [10]); 2.71 (m, 1H, [3]); 2.30 (d, 1H [4]);

1.99-1.77 (2m, 4H, [5, 8])

¹³C NMR (CDCl₃): 144.62 (C-9'a, C-10'a); 127.77 (C-1', C-4', C-6', C-9'); 126.97 (C-4'a, C-5'a); 123.26 (C-2', C-8');

116.25 (C-3', C-7'); 60.49 (C-9); 57.38 (C-6); 57.21 (C-7);

52.54 (C-3); 48.30 (C-2); 32.06 (C-10); 24.87 (C-8);

20.90 (C-4); 19.57 (C-5).

Продуктът с оптическа чистота е анализиран хроматографски в свободната фаза чрез HPLC с хирално-фазова колона, примерно колона CHIRACEL O.D.®

елюент - хексан/етилов алкохол = 94/6,

скорост на изтичане 0.5 ml/min. $\lambda = 254$ nm,

впръскване 4 μ l в хексан/етилов алкохол,

пик - 98% при r.t.: 15.03.

Пример 2.

(+)-1-метил-3-(10-Н-фенотиазин-10-ил-метил)-1-азобикало [2.2.2] октан йодид съгласно формула (I) при R = CH₃ и X = I⁻.

28 g (0.08 mol) от мекитазин (+) енантиоморфната форма, съгласно изобретението се получава чрез разделяне посредством хроматографска хирално-фазова колона на рацемичната смес на мекитазина, суспендирана в 160 ml ацетонитрил.

Суспензията се разбърква 10 min. до хомогенизирането ѝ. Добавят се 40 ml (0.64 mol) метил йодид. Полученият разтвор се нагрива до 50°C, като се държи при тази температура 16 часа. След това реакционната смес се охлажда до 20°C, след това до 0 - 4°C и се съхранява при тази температура 48 часа. Получените твърди кристали се филтрират под вакуум, измиват се върху филтъра с етилов етер и се сушат под вакуум при 50°C до постоянно тегло.

Получават се 35 g от желанния продукт (94% добив) под формата на кремаво оцветени твърди кристали със следните физико-химични характеристики:

^1H NMR; ^{13}C NMR са както в Пример 1.

HPLC е както в Пример 1, като хирално-фазовата HPLC е с пик при r.t. - 16.73 (97%),

точката на топене е 142 - 145°C,

$[\alpha]_{\text{D}20}$: +210 (1% конц. в CH_3OH).

Елементарен анализ за $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{IN}_2\text{S}$

	C	H	I	N	S
изчислено	54.31	5.59	27.35	6.03	6.89
намерено	54.00	5.62	27.18	5.96	6.82

Пример 3.

Изпитания "in vitro" на фармацевтичен състав, състоящ се от: активен компонент - [(+) или (-) продукт

съгласно формула (I)] - 100 mg;

сорбитан триолеат (Arlacel 85^R) - 20 mg;

Freon 11^R - 3.380 mg;

Freon 12-114^R (65:35) - 10.500 mg.

Горният състав се поставя в малък цилиндър с вентил-дозатор.

Приготвеният по горния начин състав се разпределя в единични дози, съдържащи от 50 до 200 µg активен компонент.

Така подготвения състав се изпитва по-нататък с:

Тестове за активност

Енантиоморфните форми получени съгласно Пример 1 и Пример 2, са изследвани и сравнявани по отношение на притежаваните от тях фармакотоксикологични свойства и по-специално са изследвани в следните аспекти: ацетилхолиновия

и хистаминния антагонизъм върху изолирана от морски свинчета трахея; задържане на бронхиалното свиване, индуцирано от ацетилхолина и хистамина при морски свинчета (по метода на Konzett-Roessler), острата токсичност при мишки.

Получените резултати показват, че и двете енантиоморфни форми са съпоставими антагонисти на ацетилхолина и хистамина в трахеята на морски свинчета. Докато и двете енантиоморфни форми са еднакво ефективни по отношение на ацетилхолина (pA_2 е 7.96 и 7.81 за лявовъртящата и за дясновъртящата енантиоморфни форми), то (+) дясновъртящата енантиоморфна форма (pA_2 е 8.05) е значително по-ефективна от (-) лявовъртящата по отношение на хистамина. Резултатите от изпитанията "in vitro" се подкрепят и от резултатите от "in vivo" изпитанията, които демонстрират, че двете енантиоморфни форми са еднакво ефективни в инхибирането на бронхиалното свиване, предизвикано от ацетилхолина. В същото време дясновъртящата (+) енантиоморфна форма е значително по-ефективна, отколкото лявовъртящата (-) при инхибирането на бронхиалното свиване, предизвикано от хистамина (респективно ED_{50} : 63 и 239 nmol kg^{-1}).

Тестове за токсичност

Тестът за остра токсичност към i.v. приложение за мишки показва, че дясновъртящата (+) енантиоморфна форма е значително по-малко токсична [LD_{50} и основата, определена при 95% е 3.65 (3.45-3.86) mg kg^{-1}] в сравнение с лявовъртящата се (-) енантиоморфна форма [2.68 (2.61-2.74) mg kg^{-1}].

Резултатите от изпитанията са дадени в следната Таблица 1:

ТАБЛИЦА 1

Тестове "In vitro"

Определяне на антагонизма на ацетилхолин и хистамин върху изолирана от морски свинчета трахея

	Ацетилхолин	Хистамин pA ₂
Лявовертяща се (-) енантиоморфна форма (Пример 1)	7.96	7.09
Дясновертяща се (+) енантиоморфна форма (Пример 2)	7.81	8.05

Тестове "In vivo"

	Ацетилхолин ED ₅₀ (nmol kg ⁻¹)	Хистамин
Лявовертяща се (-) енантиоморфна форма (Пример 1)	65	235
Дясновертяща се (+) енантиоморфна форма (Пример 2)	71	63

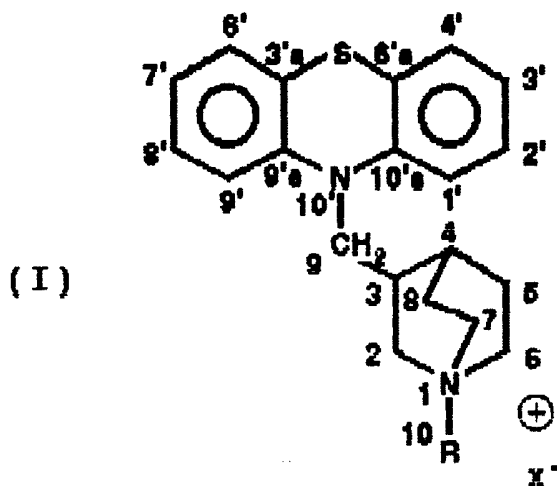
Остра токсичност при мишки

LD₅₀ (mg kg⁻¹ и основата (базата) определена при 95%)

Лявовертяща се (-) енантиоморфна форма (Пример 1)	2.68 (2.61-2.74)
Дясновертяща се (+) енантиоморфна форма (Пример 2)	3.65 (3.45-3.86)

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

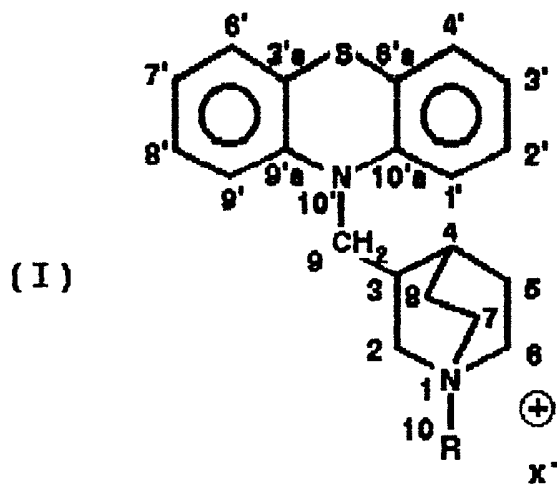
1. Енантиоморфна (-) форма на 10-(1-азобикакло [2.2.2] окт-3-ил-метил)-10Н-фенотиазин кватернерни амониеви производни със следната обща формула (I)



където R е C₁₋₄ алкил или циклопропил;

X е халоген, диметил сулфат или p-толуолсулфонова киселина.

2. Енантиоморфна (+) форма на 10-(1-азобикакло [2.2.2] окт-3-ил-метил)-10Н-фенотиазин кватернерни амониеви производни със следната обща формула (I)



където R е C₁₋₄ алкил или циклопропил;

X е халоген, диметил сулфат или p-толуолсулфонова киселина.

3. Енантиоморфна форма съгласно претенция 1 и 2, където R е CH₃, а X е I.

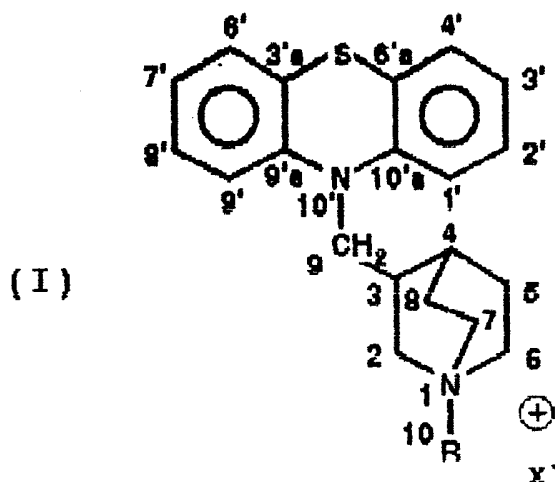
4. Енантиоморфна форма съгласно претенция 1 и 2, където R е CH₃, а X е Cl.

5. Енантиоморфна форма съгласно претенция 1 и 2, където R е CH₃, а X е Br.

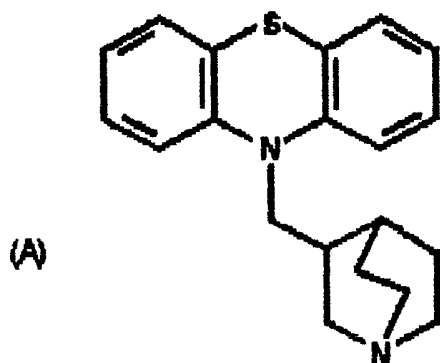
6. Енантиоморфна форма съгласно претенция 1 и 2, където R е CH₃, а X е диметилсулфат.

7. Енантиоморфна форма съгласно претенция 1 и 2, където R е CH₃, а X е p-толуолсулфонова киселина.

8. Метод за получаване на (-) или (+) енантиоморфни форми на 10-(1-азобикало [2.2.2] окт-3-ил-метил)-10Н-фенотиазин кватернерни амониеви производни с обща формула (I)



където R е C₁₋₄ алкил или циклоалкил, а X е халоген, диметилсулфат или p-толуолсулфонова киселина характеризираща се с това, че рацемична смес на мекитазин с формула (A)

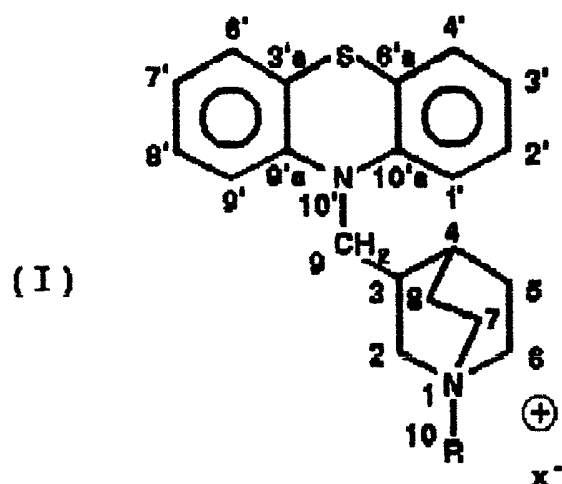


се разделя на две съответно дясно и лявовъртящи енантиоморфни форми посредством техниката на хроматографското сепариране, използващо хирални фази, след което със съответни реагенти се получават кватернерните производни.

9. Фармацевтичен състав, съдържащ като активен компонент лявовъртяща (-) енантиоморфна форма съгласно претенция 1,3 до 7.

10. Фармацевтичен състав съдържащ като активен компонент дясновъртяща (+) енантиоморфна форма съгласно претенция от 2 до 7.

11. Метод за получаване на фармацевтичен състав съгласно претенция 9 и 10 характеризиращ се с това, че фармацевтично ефективно количество от (+) или (-) 10-(1-азобикало [2.2.2] окт-3-ил-метил)-10Н-фенотиазин кватернерно амониево производно с формула (I)



12.

където R е C₁₋₄ алкил или циклопропил,

X е халоген, диметилсулфат или p-толуолсулфонова
киселина

се смесва с подходящи носители за получаване на състав
подходящ за външна или орална употреба.

Използване
12. Приложение на състава съгласно претенция 9 за лечение на
bronхиална астма и ринити.

Използване
13. Приложение на състава съгласно претенция 10 за лечение
на bronхиална астма и ринити.