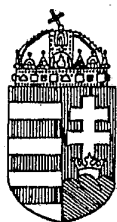


(19) Országkód:

HU



MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLTMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

205 751 B

(21) A bejelentés száma: 5030/90
(22) A bejelentés napja: 1990. 08. 15.
(30) Elsőbbségi adatok:
P 39 26 898 1989. 08. 16. DE

(51) Int. Cl.⁵

C 07 D 265/06
A 61 K 31/535

(40) A közzététel napja: 1991. 12. 30.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1992. 06. 29. SZKV 92/06

(72) Feltalálók:

Ballhause, Helmut, Biberach/Riss (DE)
dr. Engelhardt, Günther, Biberach/Riss (DE)
dr. Landgraf, Claus Adolf, Biberach/Riss (DE)
dr. Mayer, Norbert, Biberach/Riss (DE)
dr. Roth, Willy, Biberach/Riss (DE)
dr. Schumacher, Kurt, Speyer (DE)
dr. Prox, Axel, Warthausen (DE)

(73) Szabadalmas:

Dr. Karl Thomae GmbH., Biberach/Riss (DE)

(54) Eljárás új 1,3-oxazinok és ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására

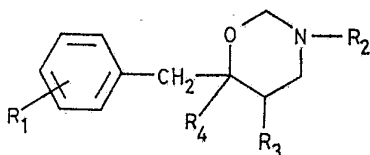
(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű vegyületek — ahol R_1 jelentése halogénatom; R_2 , R_3 és R_4 pedig 1–3 szénatomos alkilcsoportokat jelenthetnek — és savaddíciós sóik, valamint a vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására.

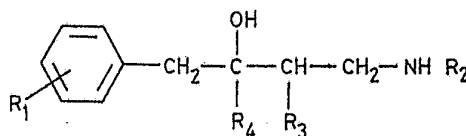
A találmány szerint az (I) általános képletű vegyületeket úgy állítják elő, hogy egy (II) általános képletű

vegyületet formaldehiddel reagáltatnak, és a kapott terméket adott esetben savaddíciós sóvá alakítják, vagy savaddíciós sójából felszabadítják.

Az (I) általános képletű vegyületek köhögéscsillapító hatású gyógyszerkészítmények hatóanyagaiként használhatóak.



(I)



(II)

A találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű 1,3-oxazinok és fiziológiásan elviselhető, szerves vagy szervetlen savakkal képzett sóik, valamint a vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására.

A legismertebb köhögéscsillapítók egyike minden bizonnyal a kodien, amely a morfinnak a fenolos hidroxilcsoportján metilezett származéka. Az 1 146 068 számú német szövetségi köztársaságbeli szabadalmi leírásban az (A) általános képletű, bázisos csoporttal szubsztituált tercier alkoholokat — a képletben az R_1 , R_2 , R_4 és R_5 szimbólumok alkilcsoportokat jelenthetnek, R_3 jelentése pedig hidrogénatom vagy 4-helyzetű halogénatom lehet — mint köhögéscsillapító gyógyszerkészítmények hatóanyagaiként hasznosítható vegyületeket publikálják. Ezen vegyületek közül a 4-(dimetil-amino)-1-(4-klór-fenil)-2,3-dimetil-2-butanol évek óta Silomat néven a Dr. Karl Thomae GmbH cég készítményeként van forgalomban, a hatóanyag nemzetközi szabad neve klobutinol.

A találmány célja, hogy olyan új hatóanyagokat állítsunk a gyógyítás szolgálatába, amelyek a kodeinnel azonos értékű köhögéscsillapító hatásúak, azonban mentesek annak ismert, kellemetlen mellékhatásaitól.

A találmány tárgya eljárás az (I) általános képletű 1,3-oxazinok — a képletben R_1 jelentése halogénatom, R_2 jelentése 1-3 szénatomos alkilcsoport, és R_3 , valamint R_4 azonos vagy különböző, 1-3 szénatomos alkilcsoportokat jelenthetnek — és fiziológiásan elviselhető, szerves vagy szervetlen savakkal képzett sóik előállítására.

Kiemelkedő jelentőségűek azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében R_1 4-helyzetű halogénatomot jelent.

Különösen kiemelkedő jelentőségűek azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében R_1 jelentése klóratom, előnyösen para-helyzetű klóratom, továbbá az R_2 , R_3 , valamint R_4 szimbólumok azonos vagy különböző jelentésűek, és jelentésük metil- vagy etilcsoport.

Ezeket az új vegyületeket a találmány értelmében úgy állítjuk elő, hogy a megfelelő (II) általános képletű vegyületet, vagy annak valamilyen savaddíciós sóját, célszerűen 20 °C és a reakcióelegy forráspontja közötti hőmérsékleten, előnyösen szobahőmérsékleten, vízes formaldehidoldattal reagáltatjuk, majd az így keletkezett (I) általános képletű vegyületet önmagában ismert módon, előnyösen savaddíciós só formájában izoláljuk, és kívánt esetben, önmagában ismert módon a kapott savaddíciós sóból felszabadítjuk a bázist, vagy a kapott bázist valamilyen savaddíciós sóvá alakítjuk.

A (II) általános képletű vegyületeket például a következő eljárásokkal állíthatjuk elő:

- egy (III) általános képletű vegyületet — a képletben az R_1 – R_4 szimbólumok az előzőekben megadott jelentésűek — N-monodezalkilezésével;
- egy (IV) általános képletű vegyület — a képletben R_1 – R_4 jelentése a fenti, Pg pedig valamilyen védőcsoportot jelent — védőcsoportjának eltávolításával.

Az a) szintézisútnak megfelelő monodezalkilezést önmagában ismert eljárások alkalmazásával végezhethetjük, például eljárhatunk oly módon, hogy a megfelelő (III) általános képletű vegyületet valamilyen apoláris oldószerben, így toluolban, a reakcióelegy forráspontján vagy az alatti hőmérsékleten dietil-azodikarboxiláttal reagáltatjuk, majd a keletkezett terméket előnyösen valamilyen poláris oldószerben, így vizes metanolban, ammónium-klorid-oldatot adva a reakcióelegyhez, hidrolizáljuk. A (III) általános képletű vegyületek a szakirodalomból, például az 1 146 08 és 1 153 380 számú német szövetségi köztársaságbeli szabadalmi leírásokból ismertek.

A b) eljárás kiviteli módja önmagában ugyancsak ismert, és elsősorban a védőcsoport mibenlétéből következik. Előnyös, ha a védőcsoport terc-butoxi-karboni-csoport (Boc), amelyet trifluor-ecetsavval hasíthatunk le.

A (IV) általános képletű vegyületeket önmagukban ismert eljárásokkal állíthatjuk elő, előnyösen például egy (III) általános képletű vegyületből kiindulva, az (V), (VI), (VII) és (VIII) általános képletű köztitermékeken keresztül. Eszerint úgy járunk el, hogy egy (III) általános képletű vegyületet valamilyen inert oldószerben, például toluolban, a reakcióelegy forráspontjának megfelelő, vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten acetil-kloriddal reagáltatunk. A keletkezett (V) általános képletű vegyületet, illetve annak hidoklorid sóját azután önmagában ismert módon izoláljuk, és etilén-dikloridban vagy más alkalmas oldószerben, a reakcióelegy forráspontjáig terjedő hőmérséklet-tartományban (1-klór-etil)-(klór-formiát)-tal kevertetjük, aminek eredményeképpen egy (VI) általános képletű vegyület képződik. Ezt a terméket a reakcióelegy szokásos feldolgozásával elkülönítjük, majd metanolban vagy más, inert oldószerben forrásig melegítjük. Az így keletkezett (VII) általános képletű szekunder amint hidoklorid só formájában elkülönítjük, majd ismert módon tisztítjuk és megszáritjuk, azután ugyancsak ismert módon a megfelelő védett aminná alakítjuk. Ez utóbbi átalakítás előnyösen úgy történhet, hogy valamilyen szerves oldószerben, például dioxánban, valamilyen szerves bázis, például trietil-amin jelenlétében, 20 °C és a reakcióelegy forráspontja közötti hőmérsékleten, előnyösen szobahőmérsékleten di(terc-butil)-dikarbonáttal reagáltatjuk a (VII) általános képletű vegyületet.

A találmány szerinti eljárással előállított (I) általános képletű vegyületekből, ha azokat már eleve nem az előnyös savaddíciós só formájába állítjuk elő, ismert módon, szervetlen vagy szerves savakkal fiziológiásan elviselhető sókat képezhetünk. A sóképzés történhet például oly módon, hogy a bázist etanolban oldjuk, és az oldathoz a megfelelő sav ekvimoláris mennyiségének dietil-éteres oldatát adjuk. Savaddíciós sók előállításához alkalmas savak például a sósav, a hidrogénbromid, a kénsav, a foszforsav, a tejsav, a citromsav, a borkósav vagy a maleinsav.

Amennyiben az (I) általános képletű 1,3-oxazinokat racémátok formájában állítjuk elő, azokat adott

esetben, a szokásos eljárásokkal, például optikailag aktív savakkal képzett sóik frakcionált kristályosításával optikai antipódjaikra választjuk szét. Úgy is előállíthatjuk azonban az (I) általános képletű vegyületeket optikailag aktív formában, hogy például egy (III) általános képletű vegyület megfelelő optikai antipódját, amelyet a racemát — például folyadékkromatográfiás — rezolválásával kapunk, az a) vagy a b) pont szerinti eljárást követve reagáltatjuk. Az, hogy az (V)–(VIII) általános képletű köztitermékek racemátok vagy optikai antipódok, az eljárás kivitelezésénél nem játszik szerepet. A kiindulási vegyületek, például a (III) általános képletű vegyületek, valamint a köztitermékek, illetve az előállított (I) általános képletű vegyületek antipódjainak optikai tisztaságát királis töltetű oszlopon kivitelezett folyadékkromatográfiás módszerrel vizsgálhatjuk. Az 1–5. ábrák ilyen kromatogramokat szemléltetnek.

Gyógyászati felhasználás céljából az (I) általános képletű vegyületeket a szokásos gyógyszerészeti segédanyagokkal, így tejcukorral, mannittal, kukoricakeményítővel, metil-cellulózzal, (hidroxi-etil)-cellulózzal, poli(etilén-oxid)-dal, finom eloszlású alumínium-oxid-dal, alumínium-magnézium-szilikáttal, magnézium-oxiddal, magnézium-sztearáttal, nátrium-lauril-szulfáttal, nátrium-citráttal, borkósavval, nátrium-diszulfáttal, dioktil-(szulfo-szukcinát)-nátrium-sóval, metil-(4-hidroxi-benzoát)-nátrium-sóval, propil-(4-hidroxi-benzoát)-nátrium-sóval, propil-(4-hidroxi-benzoát)-nátrium-sóval, szacharin-nátrium-sóval, aromaanyagokkal vagy efferveszcensanyagokkal kombinálva a szokásos galenikus gyógyszerkészítményekké — ilyenek például a tabletták, a filmbevonatos tabletták, a téglalapalakú pasztillák, a draszték vagy kapszulák, valamint ezek retard formái, továbbá az injekciós ampullák, a porampullák, a granulátum és a liofilizátum — alakítjuk.

tum — alakítjuk.

A 3,4,5,6-tetrahidro-6-(4-klór-benzil)-3,5,6-trimetil-2H-1,3-oxazin-hidroklorid köhögéscsillapító hatását a következő módon vizsgáljuk:

5 Hím és nőstény, 3,4 és 4,5 kg közötti testtömegű macskákat — a kísérletek során összesen 33 darabot — 45 mg/kg dózisban intraperitoneálisan adott pentobarbitál-nátrium bolus-injekcióval elaltatunk. A kísérlet közben szükség szerint kapnak 7,5 vagy 15 mg/kg intravénás dózisokat az állatok, ügyelve arra, hogy 1-es és 2-es fokozat közötti tolerancia-stádiumban (Guedel) tartassuk azokat.

A köhögési rohamokat mechanikus ingerléssel váltjuk ki, erre a célra egy legömbölyített végű, hozzávetőlegesen 1,5 mm átmérőjű, műanyagból készült katéter szolgál, amelyet bevezetünk a légcsőbe, egészen a kettéágazásig. Minden megfigyelési időpontban mintegy 30 másodperces időközök tartva, sorozatban, háromszor egymás után megismételjük az ingerlést. A köhögési rohamokat a vizsgálandó hatóanyag, illetve a hatóanyagot nem tartalmazó vivőanyag beadását követően 5, 25 és 45 perc múlva idézzük elő.

A vizsgálandó hatóanyagot 0,9%-os nátrium-klorid-oldatban a combvénába helyezett katéteren keresztül kapják az állatok. A befecskendezett térfogat testtömegkilogrammonként legfeljebb 0,5 ml. Minden egyes állat esetében, mielőtt hatóanyaggal kezelnénk, megállapítjuk a hatóanyagot nem tartalmazó vivőanyag hatását.

30 A köhögéscsillapító hatás kiértékelése végett a vizsgálandó anyag beadását követően az egyes időpontokban megállapítjuk a köhögési rohamot nem okozó ingerlések számát, és azt az összes ingerlések számához viszonyítva, annak százalékában fejezzük ki. Ezeket az adatokat az 1. táblázatban találjuk.

1. Táblázat

Dózis Kezelés (mg/kg, i.v.)	Állat- szám	Százalékban kifejezett köhögésgátló hatás (átlag ± szórás) a kezelés után		
		5 perc múlva	25 perc múlva	45 perc múlva
Kontroll	33	6,1 ± 3,4	5,1 ± 3,2	7,1 ± 3,3
Hatóanyag	5	26,7 ± 8,5	16,7 ± 10,5	23,3 ± 10,0
0,705	5	23,3 ± 6,7	13,3 ± 6,2	13,3 ± 3,3
1,0	5	33,3 ± 18,3	40,0 ± 1,3	36,7 ± 3,3
1,41	5	63,3 ± 13,3	53,3 ± 16,2	50,0 ± 18,3
2,0	5	33,3 ± 17,5	53,3 ± 14,3	36,7 ± 17,0
2,82	5	36,7 ± 14,3	43,3 ± 13,5	40,0 ± 11,3
4,0	5	60,0 ± 11,3	63,3 ± 13,3	46,7 ± 9,7
5,64	5	70,0 ± 20,0	70,0 ± 20,0	63,3 ± 17,0
8,0	3	44,4 ± 29,4	50,0 ± 25,5	44,4 ± 20,0

Lineáris regresszió és variencia-analízis segítségével, a párhuzamos illesztés módszerét alkalmazva állapítjuk meg az ED₅₀ értékeit, vagyis azokat a dózisokat,

amelyek a köhögési rohamok számát 50%-kal csökkentik. A különböző időpontokhoz tartozó ED₅₀ értéket a 2. táblázatban foglaltuk össze.

2. Táblázat

A hatóanyag be- adásától eltelt idő (perc)	ED ₅₀ (mg/kg i.v.)
5	2,6
25	2,4
45	3,2

A fenti adatok alapján megállapítható, hogy a vizsgált hatóanyag 0,5 mg/kg és 8 mg/kg közötti dózisban intravénásan adva csökkenti a mechanikus ingerléssel kiváltott köhögési rohamok számát. Már a legkisebb alkalmazott dózisszintnél is minden vizsgált időpontban megfigyelhető volt a köhögéscsillapító hatás.

A fent részletezett farmakológiai tulajdonságaik alapján tehát a találmány szerinti eljárással előállított (I) általános képletű vegyületeket és fiziológiásan elviselhető savaddíciós sóikat köhögéscsillapító hatású, elsősorban a légúti okokra visszavezethető köhögés, pertusszis, ingerköhögés, valamint görcsös rohamokban jelentkező, úgynevezett paroximális köhögés esetében alkalmazható gyógyszerkészítmények hatóanyagaiként hasznosíthatjuk.

A megfelelő hatás elérése végett a hatóanyagokat célszerűen naponta 2-4 alkalommal, testtömegkilogrammonként 0,1-4,0 mg előnyösen 0,3-1,5 mg dózisban alkalmazzuk.

A találmány szerinti eljárást az alábbi példákban mutatjuk be:

1. példa

3,4,5,6-Tetrahidro-6-(4-klór-benzil)-3,5,6-trimetil-2H-1,3-oxazin-hidroklorid

4,0 g 4-(dimetil-amino)-1-(4-klór-fenil)-2,3-dimetil-2-butanol-hidrokloridot feloldunk 10 ml vízben, hozzáadunk 10 ml, mintegy 36%-os formaldehidoldatot, és a reakcióelegyet szobahőmérsékleten hagyjuk keveredni 12 óra hosszáig. Ezután tömény ammónium-hidroxiddal hűtés közben meglúgosítjuk az elegyet és dietil-éterrel extraháljuk, majd az éteres fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk. A visszamaradó olajat kevés metanolban felveszük, az oldat pH-ját dietil-éterben oldott hidrogénkloriddal hozzávetőlegesen 5-re állítjuk, majd annyi dietil-étert adunk hozzá, hogy a keletkezett hidrokloridsó kicsapódjon. Az oldatot ezután etil-acetátot adva hozzá, forrásig melegítjük, és a dietil-éter, valamint a metanol részleges elpárologtatásával a hidrokloridsó kiválását teljessé tesszük. A kivált sót leszívjuk, etil-acetáttal megforraljuk, szűrjük és szárítjuk. Az így kapott termék tömege 3,3 g, olvadáspontja 198-200 °C.

Ha a fent leírtak szerint járunk el, de a norklobutinol tiszta enantiomerjeiből indulunk ki, akkor a kívánt 1,3-oxazint tiszta enantiomerek formájában, az alábbi forgatási értékekkel kapjuk:

(+)-klobutinolból (+)-norklobutinol keletkezik, és az abból előállított (-)-1,3-oxazin-származék hidrokloridjának olvadáspontja 197-199 °C,

$[\alpha]_{D(589)}^{20} = -16,83^\circ$ ($c = 0,303$; 1 dm; tiszta etanol);
(-)-klobutinolból (-)-norklobutinol keletkezik, és az abból előállított (+)-1,3-oxazin-származék hidrokloridjának olvadáspontja 197-199 °C,

5 $[\alpha]_{D(589)}^{20} = +16,6^\circ$ ($c = 0,301$; 1 dm; tiszta etanol).

2. példa

Hatóanyagként 5,0 mg 3,4,5,6-tetrahidro-6-(4-klór-benzil)-3,5,6-trimetil-2H-1,3-oxazin-hidrokloridot tartalmazó tabletták előállítására

Összetétel:

Hatóanyag	5,0 mg
Tejucukor	148,0 mg
Burgonyakeményítő	65, mg
15 Magnézium-sztearát	2,0 mg
	220,0 mg

Előállítás:

A burgonyakeményítő egy részéből melegítéssel 10%-os nyákot készítünk. A hatóanyagot, a tejucrot és a maradék burgonyakeményítőt összekeverjük, és a keveréket a fenti nyákkal egy 1,5 mm lyukméretű szitán áttörve granuláljuk. A granulátumot 45 °C-on megszáritjuk, majd ismét átengedjük a fenti szitán, hozzákeverjük a magnézium-sztearátot, és a masszát tablettákká préseljük.

3. példa

Hatóanyagként 10 mg 3,4,5,6-tetrahidro-6-(4-klór-benzil)-3,5,6-trimetil-2H-1,3-oxazin-hidrokloridot tartalmazó injekciós ampulla előállítására

Összetétel:

Hatóanyag	10,0 mg
Nátrium-klorid	8,0 mg
Desztillált vízzel kiegészítve	1,0 ml-re

35 Előállítás:

A hatóanyagot és a nátrium-kloridot desztillált vízben feloldjuk, majd az előírt térfogatra feltöltjük. Az oldatot csíramentesre szűrjük és 1 ml-es ampullákba töltjük. Az ampullákat 20 percen át 120 °C-on sterilizáljuk.

4. példa

Hatóanyagként 100 ml oldatban 0,5 g 3,4,5,6-tetrahidro-6-(4-klór-benzil)-3,5,6-trimetil-2H-1,3-oxazin-hidrokloridot tartalmazó cseppek előállítására

Összetétel:

Metil-(4-hidroxi-benzoát)	0,035 g
Propil-(4-hidroxi-benzoát)	0,015 g
Ánizsolaj	0,05 g
50 Metanol	0,06 g
Etanol (tiszt)	10,0 g
Hatóanyag	0,5 g
N átrium-ciklamát	1,0 g
Glicerín	15,0 g
55 Glicerín	15,0 g

Desztillált vízzel feltöltve 100,0 ml-re

Előállítás:

A hatóanyagot és a nátrium-ciklamátot hozzávetőlegesen 70 ml vízben feloldjuk és hozzáadjuk a glicerint. Az etanolban feloldjuk a 4-hidroxi-benzoesav-

észtereket, az ánizsolajat és a metanolt, majd az így kapott oldatot keverés közben a vizes oldattal elegyítjük. Végül vízzel feltöltjük az oldatot 100 ml-re, és a lebegő részecskéktől megsűrjük.

1. *hivatkozási példa*

1-(4-Klór-fenil)-2,3-dimetil-4-(metil-amino)-2-butanol-hidroklorid

25,5 klobutinol-bázis, 21,0 g dietil-(azo-dikarboxilát) (1,1 mólekvalens a klobutinolra számítva) és 200 ml vízmentes toluol elegyét 4 óra hosszat visszafolyatató hűtő alatt forraljuk. Ezután a toluolt vákuumban elpárologtatjuk, a párlási maradékhoz 200 ml metanolt és 200 ml telített ammónium-klorid-oldatot adunk, és az elegy forráspontjának megfelelő hőmérsékleten 4 órán át hidrolizáljuk. A reakcióelegyet bepároljuk, a visszamaradó félig szilárd termékhez 100 ml vizes, 1:1 arányban hígított sósavat adunk, és az elegyet durva szűrőn megsűrjük. A szűrletet ismételt szűrés után jég hozzáadása mellett 40%-os nátrium-hidroxid-oldattal meglúgosítjuk, és dietil-éterrel összerázzuk. Az éteres fázist elválasztjuk, nátrium-szulfát felett szárítjuk, aktív szénnel elkeverjük, szűrjük és bepároljuk. A párlási maradékot kromatográfiás eljárással 0,05–0,2 mm szemcseméretű szilikagélén tisztítjuk, metilén-diklorid, metanol és tömény ammónium-hidroxid 940:60:4, illetve 900:100:6 arányú elegyével eluálva az oszlopot. A klobutinolt tartalmazó frakciókat egyesítjük, elpárologtatjuk az oldószert, és a visszamaradó nyers bázist hidrokloriddá alakítjuk. Ez úgy történik, hogy a bázisos maradékot kevés metanolban felvesszük, és az oldatot dietil-éterben oldott hidrogénkloriddal semlegesítjük, aminek eredményeképpen kiválik a hidrokloridsó. A sókiválást további dietil-éter hozzáadásával tehetjük teljessé. A kapott termék tömege 4,0 g, olvadáspontja 182–183 °C.

Tiszta (+)-, illetve (–)-klobutinolból kiindulva a megfelelő norklobutinol-enantiomert kapjuk.

2. *hivatkozási példa*

1-(4-Klór-fenil)-2,3-dimetil-4-(metil-amino)-2-butanol-hidroklorid

F) *O-Acetil-klobutinol*

150 ml toluolban feloldunk 30,0 g klobutinol-bázist, az oldatot 80 °C-os olajfürdővel melegítjük, és cseppenként beadagoljuk 8,5 ml acetil-klorid 20 ml toluollal készült oldatát. A reakcióelegyet 2 óra hosszat visszafolyatató hűtő alatt forraljuk, majd lehűtve, a gyorsan ülepedő csapadék formájában kivált hidrokloridsót szívatással szűrjük, dietil-éterrel mossuk és szárítjuk.

B) *Az O-acetil-norklobutinol N-(1-klór-etoxi)-karbonil-származéka*

16,0 g fenti, A) pont szerinti O-acetil-klobutinol-bázist 100 ml etilén-dikloridban oldunk, hozzáadjuk 11,0 g (1-klór-etil)-(klór-formiát) 50 ml etilén-dikloriddal készült oldatát, és az elegyet 3 óra hosszat visszafolyatató hűtő alatt forraljuk. Ezután 1 N sósavat és jeget adunk az elegyhez, összerázzuk, elválasztjuk a szerves fázist, majd jeges kálium-hidrogén-karbonát-

oldattal semlegesre mossuk, nátrium-szulfáton szárítjuk, szűrjük, végül szárazra pároljuk. A párlási maradékot minden további tisztítás nélkül használjuk fel a következő reakciólépéshez.

5 C) *O-Acetil-norklobutinol-hidroklorid*

A B) pontban leírtak szerint kapott olajos maradékot 50 ml metanolban felvesszük, és az oldatot 2 óra hosszat visszafolyatató hűtő alatt forraljuk, miközben megindul a kívánt hidrokloridsó kiválása. Ezután a metanol egy részét elpárologtatjuk, az elegyet lehűtjük, és a kivált kristályokat kiszűrjük. Etil-acetáttal leöblítve és megsűrítve, mintey 10,0 g hidrokloridot kapunk, amelynek az olvadáspontja 185–188 °C.

D) *O-Acetil-N-[(terc-butoxi)-karbonil]-norklobutinol*

12,8 g fenti, C) pont szerinti terméket 500 ml dióxánban 10,0 g di(terc-butil)-dikarbonát és 4,0 g trietilamin hozzáadása után 12 óra hosszat szobahőmérsékleten keverünk. Ezután a szuszpenziót szűrjük, a szűrletet bepároljuk, és az így kapott párlási maradékot minden további tisztítás nélkül felhasználjuk a következő reakciólépéshez.

E) *N-[(terc-Butoxi)-karbonil]-norklobutinol*

A D) pontban leírtak szerint kapott olajos maradékot 50 ml 1 N nátrium-hidroxid-oldat és 100 ml metanol elegyében 3 óra hosszat visszafolyatató hűtő alatt forraljuk. A metanolt ezután vákuumban elpárologtatjuk, és a visszamaradó lúgos vizes szuszpenziót dietil-éterrel extraháljuk. Az elválasztott dietil-éteres fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk. A visszamaradó, kezdetben olajos termék egy idő után megszilárdul, ezt a szilárd maradékot elporítjuk, és ebben a formában, tisztítás nélkül visszük tovább a védőcsoport trifluor-ecetsavval történő eltávolításához.

35 F) *Norklobutinol*

12,0 g fenti, E) pont szerinti Boc-származékot feloldunk 40 ml jéghideg trifluor-ecetsavban, és az oldatot 30 percig jeges hűtés mellett, majd 2 óra hosszat szobahőmérsékleten állni hagyjuk. Ezt követően a trifluor-ecetsav túlnyomó részét 30 °C-on ledesztilláljuk, a maradékot jeges vízzel felvesszük, és a nembázisos karakterű alkotórészeket dietil-éteres mosással eltávolítjuk. A vizes fázist ezután jeges hűtés közben 40%-os nátrium-hidroxid-oldattal meglúgosítjuk, metilén-dikloriddal összerázzuk, majd a szerves fázist elválasztjuk, bepároljuk, és a maradékot hidrokloriddá alakítjuk. A sóképzés úgy történik, hogy az olajos bázist kevés metanolban feloldjuk, és az oldat pH-ját dietil-éterben oldott hidrogén-kloriddal 5-ösre állítjuk. Hamarosan megindul a hidroklorid kiválása, ami további dietil-éter hozzáadásával teszünk teljessé. A hidrokloridsót szívatással szűrjük, etil-acetáttal mossuk, majd megsűrítjük, aminek eredményeképpen 8,0 g 182–184 °C olvadáspontú terméket kapunk.

3. *hivatkozási példa*

Az (I) és (II) általános képletű vegyületek enantiomerjeinek analitikai vizsgálata, az optikai tisztaság igazolása

60 A) *A racén (±)-4-(dimetil-amino)-1-(4-klór-fenil)-*

2,3-dimetil-2-butanolt felvisszük egy LKB oszlopra és 6-os pH-jú, 0,5% izopropil-alkohol-tartalmú foszfátpufferrel eluáljuk. Amint azt a 1. ábra mutatja, a (-)-enantiomer 9,25 percnel, a (+)-enantiomer pedig 12,25 percnel jön le az oszlopról.

B) A racém ($\pm$)-3,4,5,6-tetrahydro-6-(4-klór-benzil)-3,4,5-trimetil-2H-1,3-oxaint felvisszük egy Chiracel OD oszlopra, majd 495 ml hexán és 5 ml izopropil-alkohol elegyével eluáljuk. Amint azt a 2. ábra mutatja, a (-)-enantiomer 11,89 percnel, a (+)-enantiomer pedig 13,22 percnel jön le az oszlopról.

C) A 3,4,5,6-tetrahydro-6-(4-klór-benzil)-3,5,6-trimetil-2H-1,3-oxazin (+)- és (-)-enantiomerjei sztereospecifikus eljárással, a megfelelő (+)- és (-)-klobutinolból kiindulva állítottuk elő. A 3. és 4. ábrán a termékek Chiracel OD oszlopon végzett kromatográfiás analízisének eredményeit láthatjuk. A kapott (+)- és (-)-enantiomer oxazinokat ezután összekevertük, és azonos módon eluáltuk. Az eredményt az 5. ábra mutatja.

4. hivatkozási példa

Kötődési vizsgálatok opiátreceptoron

A kísérletekhez két, mintegy 200 g tömegű, hím patkányt a nyakra mért ütéssel leölünk, az agyakat kivesszük, és az agytörzset a velővel együtt különválasztjuk, mérjük, azután Potter-féle homogenizálókészülék segítségével 30 ml 7,4 pH-jú, 50 mM Tris-hidroklorid-pufferoldatban homogenizáljuk. A homogenizátumot ezt követően 18 000 g-mal centrifugáljuk, majd a pelletet ismét szuszpendálva és centrifugálva kétszer átmoszuk. Az így kapott pillethez végül a tömegére számítva 200-szoros 7,4 pH-jú Tris-hidroklorid-pufferoldatot adunk.

A receptorkötődési vizsgálatok során minden esetben a fenti preparátum 1 ml-éhez 0,5 nM [3 H]diprenorfin (Amersham, fajlagos aktivitás: 38,9 Ci/nmol) — ez az opiátreceptoroknak egy nem szelektív ligandja — adunk, és az elegyet a vizsgálandó anyag különböző koncentrációinak jelenlétében, jégfürdőben inkubáljuk. Az inkubálást 3 órán át folytatjuk, majd a mintát „Ismatec Filter-Prep 101 sample processor” alkalmazásával Whatman GF/B üvegyapotszűrőn gyorsan megszűrjük. A szűrőt háromszor 3 ml hideg pufferoldattal átöblítjük, majd a fennmaradt anyagot 4 ml Instatet-t tartalmazó ampullába visszük, és éjszaka át állni hagyjuk. Ezt követően mérjük a radioaktivitást. Minden egyes mérést háromszor hajtunk végre. Nem specifikusan kötődnek tekintjük azt a radioaktivitást, amelyet akkor mérünk, ha a meghatározást 100 nM naloxon jelenlétében végezzük.

Eredmények:

A radioizotóppal jelzett opiát-agonista vegyület, a [3 H]diprenorfin specifikusan és reverzibilisen kötődik

a preparátum opiátreceptorjain. Scatchard-analízissel egy telítési kísérlet során a számított KD-értéket 0,51 nM-nak találtuk. A 0,5 nM [3 H]diprenorfin specifikus kötődését a naloxon gátolja, az IC₅₀ értéke 3 nM. Ezzel szemben a vizsgálati anyag 100 nM koncentrációban semmiféle gátló hatást nem mutatott a [3 H]diprenorfin kötődését illetően.

SZABADALMIIGÉNYPONTOK

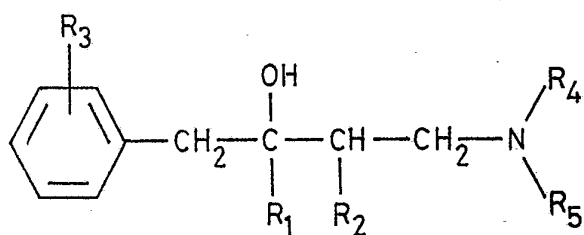
1. Eljárás az (I) általános képletű vegyületek — a képletben R₁ jelentése halogénatom, R₂ jelentése 1–3 szénatomos alkilcsoport, és R₃ valamint R₄ azonos vagy különböző, 1–3 szénatomos alkilcsoportokat jelenthetnek — és fiziológiásan elviselhető, szerves vagy szervetlen savakkal képzett savaddíciós sóik előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő (II) általános képletű vegyületet — a képletben R₁, R₂, R₄ és R₅ a tárgyi körben megadott jelentésűek — vagy annak valamely savaddíciós sóját célszerűen 20 °C és a reakcióelegy forráspontja közötti hőmérsékleten, előnyösen szobahőmérsékleten formaldehidoldattal reagáltatjuk, és az így kapott (I) általános képletű vegyületet, amelyet savaddíciós só vagy szabad bázis formájában izolálunk, kívánt esetbensavaddíciós sóvá alakítjuk, vagy savaddíciós sójából a bázist felszabadítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R₁ jelentése 4-helyzetű halogénatommal, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatjuk.

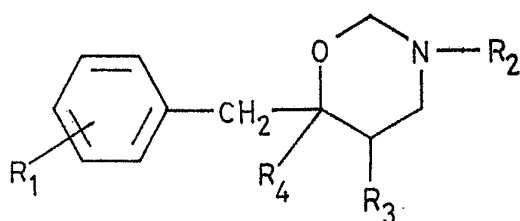
3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R₁ jelentése klóratom, R₂, R₃ és R₄ azonos vagy különböző jelentésűek, és jelentésük metil- vagy etilcsoport, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatjuk.

4. Az 1–3. igényponok bármelyike szerinti eljárás 3,4,5,6-tetrahydro-6-(4-klór-benzil)-3,5,6-trimetil-2H-1,3-oxazin és fiziológiásan elviselhető, szerves vagy szervetlen savakkal képzett savaddíciós sóinak, előnyösen hidrokloridjának előállítására, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási vegyületeket reagáltatjuk.

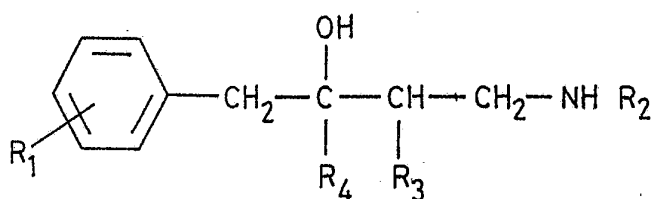
5. Eljárás hatóanyagként valamely (I) általános képletű vegyületet — a képletben R₁, R₂, R₃ és R₄ az 1. igényponban megadott jelentésűek — tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy egy, az 1–4. igénypontok bármelyike szerinti eljárással előállított (I) általános képletű vegyületet vagy annak valamely fiziológiásan elviselhető, szerves vagy szervetlen savval képzett sóját egy vagy több, a gyógyszerészetben általánosan alkalmazott vívő-, hígító- és/vagy egyéb segédanyaggal kombinálva, a szokásos gyógyszerformák valamelyikévé alakítjuk.



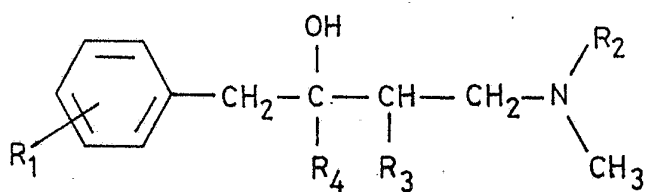
(A)



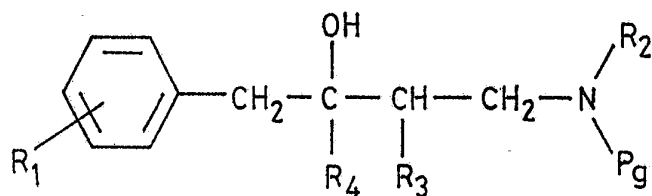
(I)



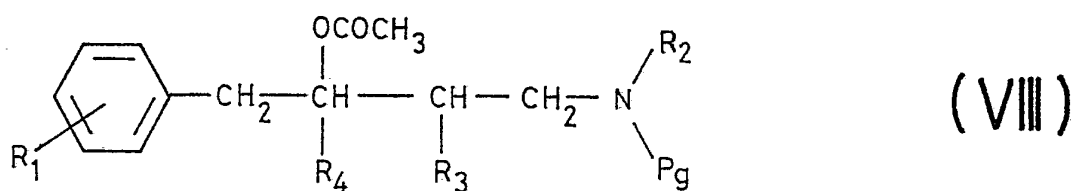
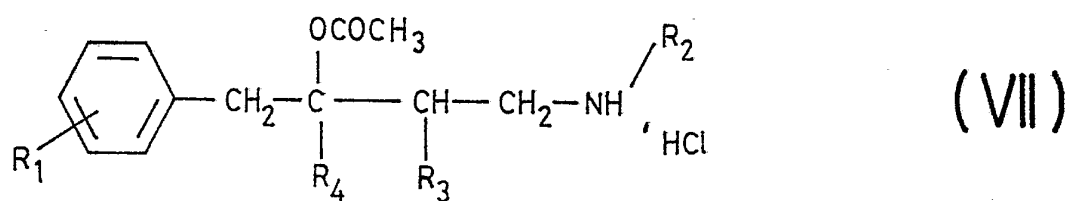
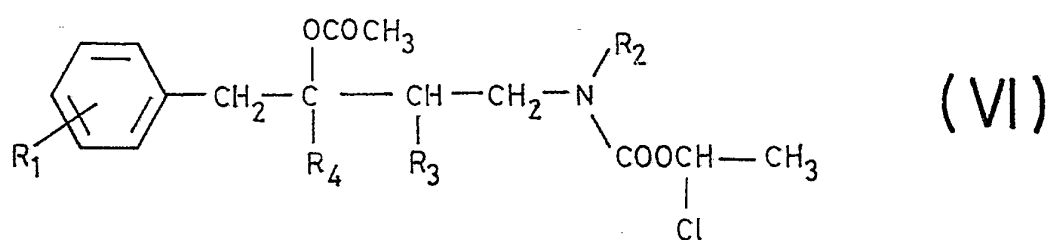
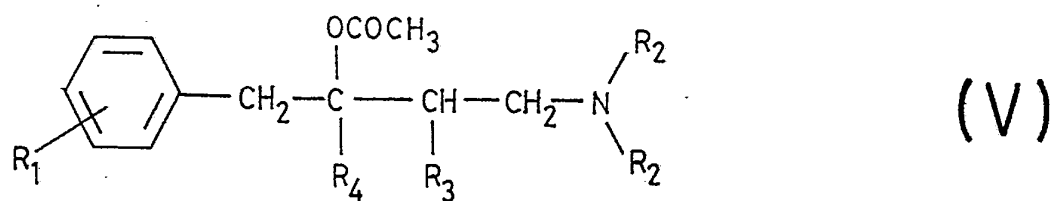
(II)



(III)



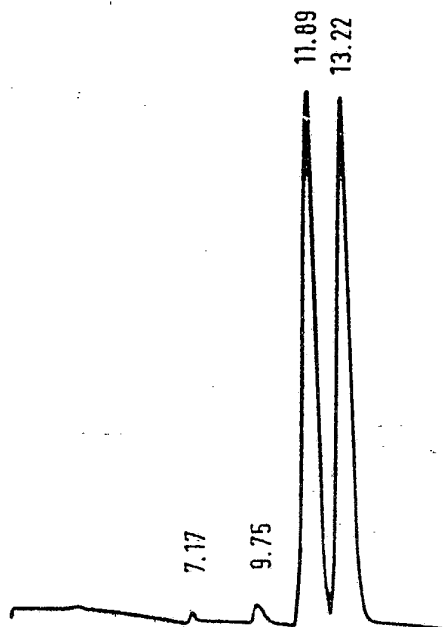
(IV)



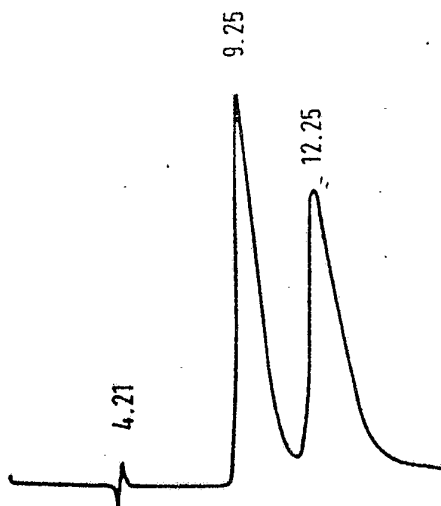
2. ábra

(+)-3,4,5,6-Tetrahidro-6-(4-klór-benzil)-3,5,6-trimetil-2H-1,3-oxazin
Oszlop: Chiralcel OD
Eluens: 495 ml hexán és 5 ml izopropil-alkohol elegye

2. ábra



1. ábra

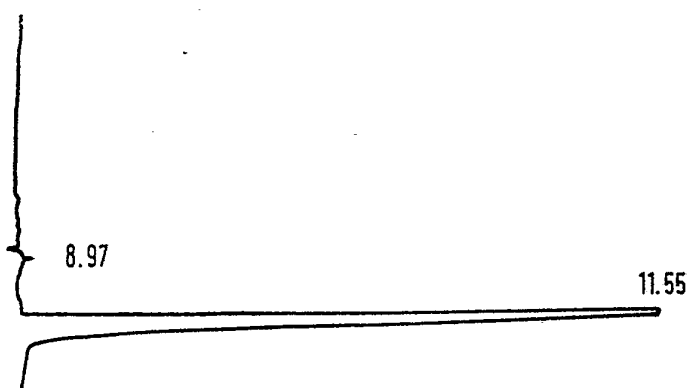


1. ábra

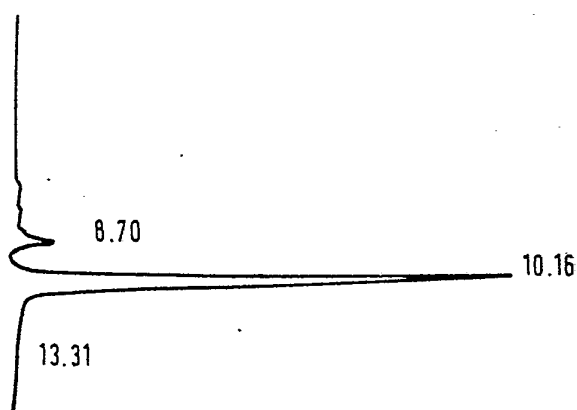
(+)-Klobutinol folyadékkromatográfiás rezolválása
Oszlop: Enantiopac LKB
Eluens: 0,5 % izopropil-alkoholt tartalmazó 6-os pH-jú foszfátpuffer

3. ábra

(-)-3,4,5,6-Tetrahidro-6-(4-klór-benzil)-3,5,6-trimetil-2H-1,3-oxazin
A kísérleti körülmények azonosak a 2. ábránál megadottakkal.



3. ábra

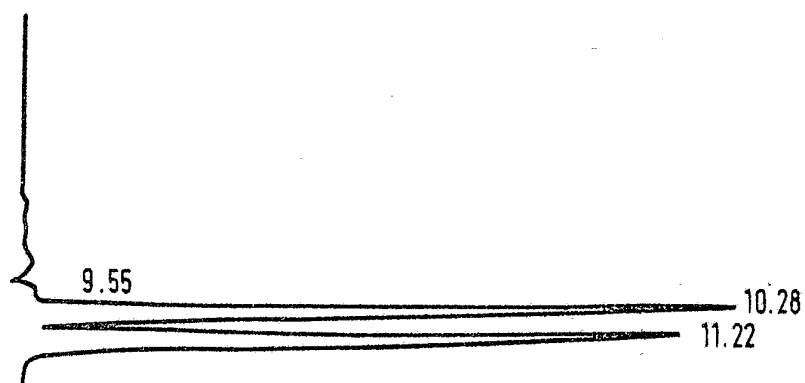


4. ábra

4. ábra

(+)-3,4,5,6-Tetrahidro-6-(4-klór-benzil)-3,5,6-trimetil-2H-1,3 oxazin
A kísérleti körülmények azonosak a 2. ábránál megadottakkal.

5. ábra



5. ábra

A 3. és 4. ábrán bemutatott (+)- és (-)-enantiomerek keveréke,

A kísérleti körülmények azonosak a 2. ábránál megadottakkal