

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19) ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: 07.12.2000

(32) Datum podání prioritní přihlášky: 08.12.1999

(31) Číslo prioritní přihlášky: 1999/9929037

(33) Země priority: GB

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: 15.01.2003
(Věstník č. 1/2003)

(86) PCT číslo: PCT/EP00/12335

(87) PCT číslo zveřejnění: WO01/042238

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 1981

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 401/04

A 61 K 31/47

A 61 P 25/00

(71) Přihlašovatel:

GLAXOSMITHKLINE S. P. A., Verona, IT;

(72) Původce:

Orlandi Alessandra, Verona, IT;

(74) Zástupce:

Zelený Pavel JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Heterocyklické deriváty

(57) Anotace:

Řešení se týká nové soli enantiomeru A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinyliden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny nebo jejího solvátu, způsobu její přípravy, farmaceutických prostředků, které ji obsahují a jejího použití při léčení a zejména jejího použití jako léčiva pro vyvolání antagonistických účinků vůči excitačním aminokyselinám na receptorovém komplexu NMDA.

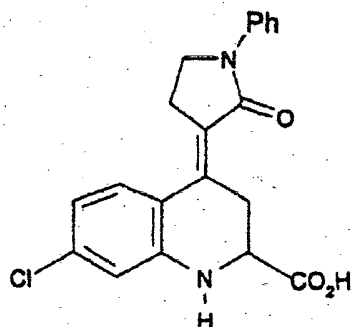
Heterocyklické deriváty

Oblast techniky

Tento vynález se týká nové soli enantiomeru A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinylden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny nebo jejích solvátů, způsobů její přípravy, farmaceutických prostředků, které ji obsahují a její použití při léčení, zejména jejích použití jako léčiva pro dosažení antagonistických účinků vůči excitačním aminokyselinám na receptorovém komplexu NMDA.

Dosavadní stav techniky

7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinylden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylová kyselina vzorce (I) je mezi jinými popsána ve zveřejněné mezinárodní patentové přihlášce WO 99/64411, kde se také popisují její fyziologicky přijatelné soli, konkrétně se tam popisuje enantiomer sloučeniny vzorce (I), který se tam nazývá "enantiomer A" a jeho sodná sůl.



Enantiomer A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinylden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny je

zejména silným antagonistou receptorového komplexu - NMDA, jeho použití v medicíně známo a existuje potřeba podobné sloučeniny, kterou by bylo možno připravovat ve vhodné formě, snadno izolovat ve velkém výrobním měřítku a ze které by bylo snadné vytvořit přípravek, který by se snadno vyráběl i užíval pacienti. Tyto požadavky nejsou v dostatečné míře splněny ani enantiomerem A ani jeho sodnou solí.

Bylo zjištěno, že megluminová sůl enantiomeru A se dá snadno připravit a izolovat ve vhodné čisté formě způsobem, který je vhodný pro využití ve velkém měřítku a uvedená sůl se dá získat ve vysokém stupni čistoty a dobré stabilitě, čímž splňuje náročná kritéria, která jsou požadována při výrobě farmaceutických přípravků, které se mají podávat pacientům.

Tento vynález tudíž poskytuje megluminovou sůl enantiomeru A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinyliden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny vzorce (I) nebo jejího solvátu (například hydrátu) (dále též "sloučenina podle vynálezu").

Vynález zejména poskytuje megluminovou sůl enantiomeru A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinyliden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny v krystalické formě.

Konkrétně podle jednoho provedení vynález poskytuje v krystalické formě hydrát megluminové soli enantiomeru A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinyliden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny (dále též

"forma 1"), pro kterou jsou charakteristické následující hodnoty rentgenového práškového difrakčního diagramu, vyjádřené jako úhel 2 Theta (θ):

Úhel $^{\circ}2\theta$

4,356	18,641	22,993
11,263	18,725	23,681
11,659	20,546	25,043
12,757	21,362	25,598
12,877	22,234	26,823
13,962	22,379	28,753
15,482	22,801	
17,242	22,921	

Podle dalšího provedení vynálezu je vyřešena další krystalická forma megluminové soli enantiomeru A 7-chlor₄-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinyliden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny (zde označovaná dále jako "forma 2"), pro kterou jsou charakteristické následující hodnoty rentgenového práškového difrakčního diagramu, vyjádřené jako úhel 2 Theta (θ):

Úhel $^{\circ}2\theta$

5,480	19,553	25,225
8,233	20,505	25,802
10,942	21,939	26,484
15,299	22,787	27,524
16,424	23,154	27,865
16,658	23,381	28,547
19,118	24,194	38,345

Sloučenina podle vynálezu ve více krystalických formách než jedné. Je třeba poznamenat, že předmětem vynálezu jsou všechny tyto formy nebo jejich směsi.

Sloučenina podle vynálezu je antagonistou excitační aminokyseliny. Konkrétně je účinným antagonistou na k strychninu insenzitivním glycinovém vazebném místě, spojeném s receptorovým komplexem NMDA. Jako taková je silným antagonistou receptorového komplexu NMDA. Tato sloučenina je proto užitečná pro léčení nebo prevenci neurotoxického poškození nebo neurodegenerativních chorob. Tudiž je tato sloučenina užitečná pro léčení neurotoxického poškození, které následuje po cerebrální mrtvici, tromboembolické mrtvici, hemorrhagické mrtvici, cerebrální ischemie, cerebrálního angiospasmu, hypoglykémie, amnézie, hypoxie, anoxie, perinatální asfyxie a srdeční zástavě. Sloučenina podle vynálezu je použitelná pro léčení chronických neurodegenerativních nemocí jako je: Huntingtonovy choroby, Alzheimerovy senilní demence, amyotropní laterální sklerózy, acidémie typu kyseliny glutarové, multiinfarktové demence, epileptických stavů, kontuzivního poranění (například poranění míchy a poranění hlavy), degenerace nervů vyvolaná virovou infekcí (například AIDS, encefalopatie), Downův syndrom, oční neurodegenerace (např. glaukom), epilepsie, schizofrenie, deprese, migréna, bolesti hlavy včetně celé skupiny typů těchto bolestí a nebo bolestí hlavy způsobené tlakem, úzkostí, bolestí, (např. bolestí, působených zánětem a neuropatické bolesti), neurogenních puchýřů, syndrom dráždivého střeva nebo viscerální nadměrné bolestivosti, zvracení, dráždivých poruch močového měchýře, drogové závislosti včetně abstinčních příznaků po alkoholu, kokainu, opiátech,

nikotinu (například při pokusu přestat kouřit), benzodiazepinu a snížení tolerance, vyvolané opiáty (t.j. morfinem).

Silně selektivní účinek sloučeniny podle vynálezu na k strychninu insenzitivní glycinové vazebné místo, přítomné na receptorovém komplexu NMDA se dá snadno stanovit pomocí zavedených testovacích metod. Tak například schopnost vázat se na k strychninu insenzitivní glycinové vazebné místo byla stanovována pomocí metody podle publikace Kishimoto *et al.*, *J Neurochem.* 1981, 37, 1015-1024. Selektivita účinku sloučenin podle vynálezu pro k strychninu insenzitivní glycinové vazebné místo byla potvrzena studiemi na jiných známých ionotropních receptorech excitačních aminokyselin. Při tom bylo zjištěno, že sloučenina podle vynálezu má malou nebo žádnou afinitu ke receptoru kyseliny kainové (kainátovému), k receptoru kyseliny α -amino-3-hydroxy-5-metyl-4.-isoxazolpropionové (AMPA) nebo k vazebnému místu NMDA.

Sloučenina podle vynálezu může být zjištěno, že inhibuje křeče u myši, vyvolané NMDA, přičemž se dá použít metoda podle Chiamulera C. *et al.*, *Psychopharmacology* (1990), 102, 551-552.

Neuroprotektivní účinek sloučeniny podle vynálezu lze demonstrovat na uzavření artérie středního mozku myši, přičemž se používá metoda, popsaná v publikaci Chiamulera C. *et al.*, *European Journal of Pharmacology*, 216 (1992) pp. 335-336.

Schopnost sloučeniny podle vynálezu potlačovat nežádoucí příznaky způsobené nikotinem, které se dostavují při odvykání kouření, se dá demonstrovat pomocí obvyklých testů na relaps vyvolaný nikotinem, pomocí metody, popsané v publikaci C. Chiamulera et al., Arch. Pharmacol., 358, 1998.

Schopnost sloučeniny podle vynálezu tlumit bolest se dá demonstrovat obvyklými analgetickými testy, jako jsou testy, popsané v publikacích: Dubuisson a Dennis, Pain, 1977, 4:161-174; J.J. Bennett a J.K Xue, Pain, 1988, 41, 87-107.

Vynález také poskytuje použití sloučeniny podle vynálezu pro terapii a zejména použití jako léčiva pro vyvolání antagonistických účinků vůči excitačním aminokyselinám na receptorovém komplexu NMDA.

Vynález také poskytuje použití sloučeniny podle vynálezu pro výrobu léčiva pro vyvolání antagonistických účinků vůči excitačním aminokyselinám na receptorovém komplexu NMDA.

Podle dalšího aspektu vynález také poskytuje způsob vyvolání antagonistických účinků vůči excitačním aminokyselinám na receptorovém komplexu NMDA, při kterém se pacientovi, který to potřebuje, podává antagonistické množství sloučeniny podle vynálezu.

Odborníkovi v oboru bude po prostudování tohoto popisu jasné, že "léčení" může také znamenat profylaxi stejně jako léčení rozvinutých nemocí nebo symptomů.

Dále bude odborníkovi v oboru po prostudování tohoto popisu jasné, že množství sloučeniny podle vynálezu, požadované pro použití při léčení se bude měnit v ary povahy nemoci, která se má léčit, podle cesty, kterou se má účinná látka podávat a věku a stavu pacienta a bude s konečnou platností záviset na rozvaze ošetřujícího lékaře. Nicméně obecně budou pro dospělé osoby používány typické dávky v rozmezí od 2 do 800 mg denně, podle způsobu podávání.

Tak pro parenterální podávání bude obvykle denní dávka v rozmezí 20-100 mg, výhodně 60-80 mg denně. Pro orální podávání bude typická denní dávky uvnitř rozmezí 200-800 mg, například 400-600 mg denně.

Tyto požadované dávky mohou být podávány obvyklým způsobem v jedné dávce nebo jako rozdělené dávky ve vhodných intervalech, například jako dvě, tři, čtyři nebo více částečných dávek denně.

Přestože je možné, aby při terapeutické aplikaci byla sloučenina podle vynálezu podávána jako surová chemikálie, je výhodné, aby byla účinná složka byla podávána jako farmaceutický prostředek.

Vynález proto poskytuje farmaceutický prostředek, obsahující sloučeninu podle vynálezu spolu s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými nosiči a popřípadě jinými terapeutickými a/nebo profylaktickými přísadami. Nosič(e) musí být "přijatelný(é)" v tom smyslu, aby byl(y) kompatibilní s jinými složkami formulace a neměl(y) škodlivý účinek na příjemce.

Prostředky podle vynálezu jsou zejména ve formě, určené pro orální, bukální, parenterální, inhalační nebo insuflační, implantátové nebo rektální podávání.

Tablety a tobolky pro orální podávání mohou obsahovat obvyklé přísady jako jsou pojiva, například sirup, arabská guma, želatina, sorbitol, tragakant, škrobový maz nebo polyvinylpyrolidon; plnidla, například laktóza, cukr, mikrokrytalická celulóza, kukuřičný škrob, fosforečnan vápenatý nebo sorbitol; mazadla, například stearat hořečnatý, kyselina stearová, mastek, polyetylglykol nebo oxid křemičitý; dezintegrační přísady, například bramborový škrob nebo sodná sůl glykolátu škrobu nebo smáčedla jako je laurylsíran sodný. Tablety mohou být povlečeny způsoby, které jsou v oboru známe. Orální kapalně přípravky se mohou dodávat například ve formě vodných nebo olejovitých suspenzí, roztoků, emulzí, sirupů nebo lázní nebo mohou být dodávány jako suché výrobky pro přípravu vodných nebo jiných vhodných směsí před použitím. Takové kapalně přípravky mohou obsahovat obvykle přísady jako jsou suspendační přísady, například sorbitolový sirup, metylcelulózu, glukózu, cukr sirup, želatinu, hydroxyethylcelulózu, karboxymethylcelulózu, aluminiumstearátový gel nebo hydrogenované jedlé tuky; emulgátory, například lecitin, sorbitanmonooleát nebo klovatinu; nevodná vehikula (která mohou obsahovat jedlé oleje), například mandlový olej, rektifikovaný kokosový olej, olejovité estery, propylenglykol nebo etylalkohol; solubilizátory jako jsou povrchově aktivní činidla (dále též surfaktanty), například polysorbáty nebo jiná činidla jako jsou cyklodextriny; stabilizační přísady jako jsou například metyl nebo propyl p-hydroxybenzoáty nebo kyselina askorbová. Kompozice mohou také být formulovány jako čípky, například

obsahující obvyklé základy čípků jako je kakaové máslo nebo jiné glyceridy.

Pro bukální podávání může mít lék podobu tablet nebo pastilek, které se připravují pomocí o sobě známých složek.

Prostředky podle vynálezu mohou být také formulovány pro parenterální podávání pomocí injekce nebo kontinuální infuze. Formulace pro injekce může být přítomna v jednotkové dávce ve formě ampulek, nebo ve vícekomorových kontejnerech s přísadou stabilizátoru. Prostředky také mohou být dodávány ve formě suspenzí, roztoků nebo emulzí v olejovém nebo vodném vehikulu, a může obsahovat formulační přísady jako jsou suspendační činidla a stabilizační a/nebo dispergační přísady. Alternativně může být účinná složka přítomna v práškové formě, vhodné pro přípravu prostředku pomocí dalších přísad, například sterilní bezpyrogenní vody, bezprostředně před použitím.

Pro podávání sloučenin podle vynálezu inhalací se obvykle používá forma aerosolového rozprašování z tlakových balení, kde se předpokládá použití vhodného propelentu jako je dichlordifluormetan, trichlorfluormetan, dichlor-tetrafluoretan, oxid uhličitý nebo jiné vhodné propelenty, jako je dichlordifluormetan, trichlorfluormetan, dichlor-tetrafluoretan, oxid uhličitý nebo jiné vhodné plyny, nebo pomocí nebulizéru. V případě stlačeného aerosolu může být dávková jednotka stanovena ventilem, který podává dávkované množství.

Alternativně může mít (pro podávání inhalací nebo insuflací) sloučenina podle vynálezu podobu suché práškové kompozice, například práškové směsi sloučeniny a vhodného nosiče jako je laktóza nebo škrob. Prášková kompozice se může dodávat v jednotkových dávkových formách, například tobolek nebo kazetách, vyrobených například ze želatiny nebo souborů váčků, ze kterých se může prášek podávat s přísadou inhalátoru nebo insuflátoru.

Prostředek podle vynálezu se také může formulovat jako zásobní směs. Takové formulace s dlouhodobou trvanlivostí se mohou podávat implantací (například podkožní nebo nitrosvalovou) nebo intramuskulární injekcí. Tak například se sloučeniny podle vynálezu mohou kombinovat s vhodným polymerním nebo hydrofobním materiálem (například formou emulze v přijatelném oleji) nebo iontoměniči, nebo jako částečně rozpustné deriváty, například jako částečně rozpustné soli.

Prostředky podle vynálezu mohou obsahovat mezi 0,1 a 99 % účinné složky, obvykle 30 - 95 % v tabletách a tobolkách a 3 - 50 % v kapalných přípravcích.

Další aspekt vynálezu je způsob přípravy sloučeniny podle vynálezu.

Tak v jednom z možných provedení vynálezu se sloučenina podle vynálezu může připravovat působením megluminu na roztok enantiomeru A (I) ve vhodném rozpouštědle jako je aprotické rozpouštědlo (např. aceton, tetrahydrofuran) nebo alkanol jako je etanol.

Vynález dále poskytuje způsob výroby sloučeniny podle vynálezu v krystalické formě.

Tak sloučenina podle vynálezu v hydrátové krystalické formě (forma 1) se může připravit působením megluminu rozpuštěného ve vodě na roztok enantiomeru A 7-chlor-4-(2oxo-1-fenyl-3-pyrolidinylyden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny v etanolu.

Reakce se provádí při pokojové teplotě a v prostředí, kde není přítomna sloučenina podle vynálezu v krystalické formě 2.

Krystalická forma 2 se dá získat krystalizací sloučeniny podle vynálezu ze směsi vody a organického antirozpouštědla, mísitelného s vodou.

Vhodnými, s vodou mísitelnými organickými antirozpouštědly pro použití při krystalizaci jsou alkanol (například etanol, IMS (etanol/metanol 95/5) nebo izopropanol), aceton nebo acetonitril.

Zejména vhodnými organickými antirozpouštědly pro uvedený účel jsou etanol nebo aceton.

Obvykle se krystalizace provádí tak, že se k roztoku sloučeniny podle vynálezu, rozpuštěné ve vodě, přidá antirozpouštědlo.

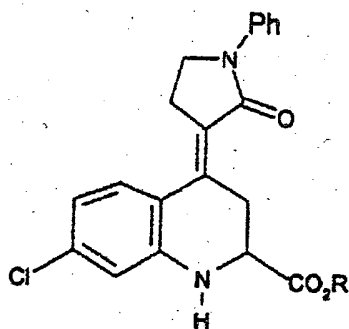
Při jiném provedení tohoto způsobu lze krystalickou formu 2 získat krystalizací sloučeniny podle vynálezu ze směsi vhodných organických rozpouštědel.

Tak forma 2 se dá získat rozpuštěním sloučeniny podle vynálezu ve vhodném organickém rozpouštědle (t.j. N,N-dimetylformamid nebo 1-metyl-2-pyrolidon) a následným přidáním vhodného organického antirozpouštědla jako je alkanol (například etanol, IMS (etanol/metanol 95/5) nebo izopropanol) nebo aprotického rozpouštědla (například aceton, tetrahydrofuran, dichlormetan, etylacetát, toluen, nebo acetonitril).

Tento způsob se výhodně provádí při teplotě v rozmezí 20 až 45°C.

Enantiomer A sloučeniny vzorce (I) se dá připravit podle postupu, který je popsán ve WO 99/64411, který se tímto zahrnuje do popisu formou odkazu.

Podle výhodného provedení se dá enantiomer A sloučeniny vzorce (I) připravit stereoselektivní enzymatickou hydrolýzou sloučenin vzorce (II) esterázou ferulové kyseliny v čisté formě.



kde R je skupina chránící karboxylovou skupinu.

Vhodná skupina R, chránící karboxylovou skupinu, pro použití v této reakci, může být C₁-4 alkylová skupina jako je metyl, etyl, propyl, butyl nebo arylmetylové skupiny jako je benzyl, nitrobenzyl nebo trityl.

Reakce se obvykle provádí v aprotickém rozpouštědle jako je DMSO nebo tetrahydrofuran, za přítomnosti vhodných vodných pufrů (t.j. citrátový pufr, fosfátový pufr nebo CaCl₂). Do reakční směsi je žádoucí přidat solubilizační činidlo jako je Tween-80.

Při jiném způsobu může být enzym imobilizován a reakce se provádí ve stavu v podstatě "nezředených", vodou nasycených organických rozpouštědel jako je metyl terc-butyl éter nebo terc-amylalkohol.

Stereoselektivní enzymatická hydrolýza sloučenin vzorce (II) esterázou kyseliny ferulové v čisté formě je nová a představuje další aspekt vynálezu.

Vynález také zahrnuje megluminovou sůl enantiomeru A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinylyden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny vzorce (I) nebo jejích solvátů, pokud jsou připraveny z enantiomeru A vzorce (I), který byl získán stereoselektivní enzymatickou hydrolýzou sloučenin vzorce (II) esterázou kyseliny ferulové v čisté formě.

Meglumin je komerčně dostupný (Aldrich).

Při popisu meziproductů a v příkladech, pokud není uvedeno jinak, platí následující:

Teploty tání (t.t.) byly měřeny na zařízení "Gallenkamp" a nebyly korigovány. Veškeré teploty jsou uváděny ve 0°C. Protonová magnetická rezonance (¹H-NMR) byla měřena při 500 MHz, a při této teplotě byla zaznamenána spektra. Chemické posuny jsou uváděny v ppm ve směru klesajícího pole (zkratka "d" podle "downfield") od Me₄Si, který byl použit jako interní standard, a jsou označovány jako "singlety" (s), "dublety" (d), "doublety dubletů" (dd), triplety (t), kvartety (q) nebo multiplety (m). Sloupcová chromatografie byla prováděna na koloně, plněné silikagelem (Merck AG Darmstadt, Germany). DBU = 1,8-diazo-bicyklo[5,4,0]undec-7-en.

Rentgenové práškové difraktogramy krystalické formy sloučeniny podle vynálezu byly získány umístěním vzorku do difraktometru (byl použit rentgenový difraktometr Siemens D5005, vybavený úhloměrem θ/θ , scintilačním počítačem a grafitovým monochromátorem. Difraktometr byl nastaven na následující parametry:

Instrumentální parametry

MONOCHROMATICKÉ ZÁŘENÍ: Cu - 1,54056/1,54439

2 θ ROZSAH: 2° - 40° 2 θ

NAPĚTÍ/PROUD GENERÁTORU: 40kV/50mA

VELIKOST KROKU: 0,02° 2 θ

DOBA TRVÁNÍ KROKU: 2 s⁻¹

ROTACE: ANO

ROZPTYL/PROTIROZPTYLOVACÍ ŠTĚRBINA: proměnlivá

UMÍSTĚNÍ VZORKU: kruhová prohlubeň na spodní části desky.

Získané spektrum bylo analyzováno pomocí softwaru pro hodnocení dat "EVA 3,0".

Termín "Enantiomer A" označuje jeden enantiomer, jehož absolutní stereochemická konfigurace nebyla zjišťována.

Meziprodukt 1

(±)-Etyl 2-(5-chlor-2-jodanilino)-4-pentenoát

K roztoku 2-jod-4-chloranilinu (9,1 g) v suchém toluenu (150 ml) byl přidán etylglyoxylát (50% roztok v toluenu, 14,6 ml) a MgSO_4 (2 g) a výsledná suspenze byla přes noc refluxována. Pak byla zfiltrována a zahuštěna do sucha pod vysokým vakuem při 50°C po dobu 1,5 h. Výsledný hnědý olej byl rozpuštěn v dichlormetanu (150 ml), ochlazen na 78°C a injekční stříkačkou byl přidán TiCl_4 (4 ml, čistota 99,995 %). Suspenze byla míchána 15 min při -78°C, a pak byla ponechána ohřát na pokojovou teplotu po dobu 15 minut, načež byla opět ochlazená na -78°C. Pak byl přidán allyltributylcín (17 ml) a reakční směs byla ponechána reagovat 1 hodinu. Černý roztok byl nalit do 200 ml etylacetátu a promyt nejprve nasyceným roztokem NH_4Cl (2 x 150 ml), pak vodou a solankou. Organická fáze byla sušena a zahuštěna, což poskytlo surový produkt, který byl čištěn sloupcovou chromatografií (cyklohexan, pak cyklohexan/ethylacetát 98/2), což poskytlo titulní sloučeninu (10,4 g) jako bezbarvý olej.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm) 7,57 (d, 1H), 6,49 (dd, 1H), 6,45 (dd, 1H), 5,79 (m, 1H), 5,25 (dd, 1H), 5,24 (dd, 1H), 4,83 (d, 1H), 4,25 (q, 2H), 4,13 (m, 1H), 2,66 (m, 2H), 1,30 (t, 3H)

Meziprodukt 2

(±)-Etyl 2-(5-chlor-2-jodanilino)-4-oxobutanoát

Roztok meziproduktu 1 (5,2 g) v dichlormetanu (150 ml) byl ochlazen na -78°C a získaným roztokem byl probubláván ozon, dokud se čirý roztok nezměnil na cihlově červený. V tomto momentě bylo zavádění ozonu přerušeno a do roztoku byl několik minut zaváděn dusík. K získané směsi byl přidán trifenylyfosfin (7,1 g) míchání pokračovalo bez kontroly teploty 1,5 hodiny. Výsledný roztok byl nalit do 200 ml etylacetátu a promyt nejprve roztokem NH_4Cl (2 x 150 ml), pak vodou a solankou. Organická fáze byla sušena a zahuštěna, což poskytlo surový produkt, který byl čištěn sloupcovou chromatografií (cyklohexan/ethylacetát 80/20), což poskytlo titulní sloučeninu (2,4 g) jako bezbarvý olej.

^1NMR (DMSO) δ (ppm) 9,80 (t, 1H), 7,57 (d, 1H), 6,55 (d, 1H), 6,51 (dd, 1H), 4,99 (d, 1H), 4,46 (m, 1H), 4,24 (q, 2H), 3,08 (m, 2H), 1,28 (t, 3H)

Meziprodukt 3

(±)E-Etyl-2-(5-chlor-2-jodanilino)-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinylyden)butanoát (4a); (±)-Z-Ethyl 2-(5-chlor-2-jodanilino)-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinylyden)butanoát (4b)

K roztoku meziproduktu 2 (2,4 g) v acetonitrilu (100 ml) byly při pokojové teplotě přidány meziprodukt 3 (3,7 g) a DBU (13 ml) v míchání směsi se pokračovalo přes noc při -20°C . Surový roztok byl nalit do 200 ml etylacetátu a promyt nasyceným roztokem NH_4Cl (2 x 150 ml), pak vodou a solankou. Organická fáze byla sušena a zahuštěna, což poskytlo surový produkt jako směs sloučenin 4a/4b v poměru 4/1. Čištění sloupcovou chromatografií

(cyklohexan/etylacetát 80/20) poskytlo titulní sloučeninu 4a (2,16 g) a titulní sloučeninu 4b (0,5 g) jako bezbarvé oleje, přičemž jejich spektra byla následující:

Meziprodukt 3a:

^1NMR (CDCl_3) δ (ppm) 7,72 (d, 2H), 7,56 (d, 1H), 7,38 (t, 2H), 7,16 (t, 1H), 6,6 (m, 1H), 6,50 (dd, 1H), 6,49 (d, 1H), 4,88 (d, 1H), 4,26 (m, 3H), 3,87 (t, 2H), 2,79 (m, 4H), 1,30 (t, 3H)

Meziprodukt 3b:

^1NMR (CDCl_3) δ (ppm) 7,69 (d, 2H), 7,52 (d, 1H), 7,38 (t, 2H), 7,17 (t, 1H), 6,47 (d, 1H), 6,44 (dd, 1H), 5,98 (m, 1H), 5,00 (d, 1H), 4,22 (m, 2H), 4,13 (m, 1H), 3,84 (t, 2H), 3,2-3,6 (m, 2H), 2,85 (m, 2H), 1,26 (t, 3H)

Meziprodukt 4

($\pm$)-Etyl-7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinylden)-
-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylát

K roztoku meziproduktu 3b (370 g) v toluenu (5,2 l) byly přidány triethylamin (248 ml), trifenylofosfin (7,4 g) a PdCl_2 (2,52 g). Výsledný roztok byl zahřát na 100 °C a míchán po dobu 2 hodin. Suspenze byla ochlazen na 20-25 °C a byl přidán toluen (2,6 ml).

Reakční směs byla promyta NH_4Cl o koncentraci 8% (3 x 5,2 l) a vodou (5,2 l). Organická vrstva byla zfiltrována přes celitové lože a to bylo pak promyto toluenem (1 l); pak bylo destilováno pod vakuem ($T = 50^\circ\text{C}$; $P = 6 \text{ kPa}$) až se dosáhlo předestilovaného objemu 6,3 litru. Po ochlazení na $T = 20-25^\circ\text{C}$, byl v průběhu 30 minut izooktan

(5,2 l). Sraženina byla míchána 2 h 30 minut, pak byla zfiltrována a promyta směsí toluen/izooktan v poměru 1/1 (1,85 l). Získaná žlutá pevná látka byla sušena pod vakuem při $T = 40^{\circ}\text{C}$ po dobu 18 hodin, až byla získána titulní sloučenina jako žlutá pevná látka (210 g).

t.t. $160\text{--}162^{\circ}\text{C}$

^1NMR (DMSO): 7,72 (m, 2H); 7,39 (m, 2H); 7,20 (d, 2H); 7,15 (m, 2H); 6,96 (dd, 1H); 6,74 (d, 1H); 6,57 (dd, 1H); 4,29 (dd, 1H); 4,21 (m, 1H); 4,02 (m, 1H); 3,93 (m, 1H); 3,82 (m, 1H); 3,69 (m, 1H); 3,20 (m, 1H). 2,92 (m, 2H); 2,92 (m, 2H); 0,93 (t, 3H).

Příklad 1

(-)-Megluminová sůl enantiomeru A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinyliden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny (forma 2)

Metoda A

16,5 g lipázy Amano AP12 (Lipáza získaná z mikroorganismu *Aspergillus niger*) bylo při 15°C v míchané nádobě suspendováno v 360 ml 0,1M citrátového pufru ($\text{pH} = 3$). 27,5 g meziprojektu 4 bylo rozpuštěno v 190 ml dimethylsulfoxidu při 20°C , a tento roztok byl za živého míchání přidán do shora uvedené nádoby.

Tato směs byla míchána při 37°C po dobu 24 hodin k této reakční směsi bylo přidáno 27,5 g filtrační hmoty (Dikalit). Načež byla reakční směs ochlazená na 20°C . Po přidání 275 ml vodného roztoku 0,2M kyseliny chlorovodíkové, směs byla ochlazená na $+6^{\circ}\text{C}$ a pak přefiltrována.

Filtrační koláč byl promyt 140 ml vodného roztoku 0,2M kyseliny chlorovodíkové a 140 ml vody a pak usušen.

Takto získaný suchý filtrační koláč (55 g) byl při 20°C extrahován 660 ml acetonu, pak byla pevná složka odfiltrována a promyta 220 ml acetonu. K filtrátu bylo přidáno 33 ml vodného roztoku megluminu o koncentraci 0,2 g/ml. Takto získaná suspenze byla digerována a zfiltrována, a pevný podíl byl promyt 275 ml acetonu. Po vysušení byla získána titulní sloučenina jako žlutá pevná látka (16,2 g).

4 g Těto surové sloučeniny pak byla rozpuštěny v 10 ml vody při současném zahřívání na 50°C a pak bylo přidáno 110 ml EtOH. Po digeraci při 20°C byla pevná složka odfiltrována a sušena, čímž byla získána čištěná titulní sloučenina jako žlutá pevná látka (3,75 g), t.t. 186 C°.

Titulní sloučenina (5 mg) byla rozpuštěna v 1 ml směsi D₂O/DMSO v poměru 95/5.

¹H-NMR (D₂O/DMSO 95/5) δ (ppm) 7,44 (2H, d), 7,37 (2H, t), 7,19 (1H, t), 7,16 (1H, d), 6,66 (1H, d), 6,58 (1H, dd), 3,96 (1H, m), 3,78-3,50 (8H, m), 3,46 (1H, dd), 3,99 (1H, dd), 3,10 (1H, dd), 3,05 (1H, d), 3,02 (2H, m), 2,64 (3H, s).

[α]_D = -321,7; λ = 598 nm; 20°C koncentrace mg/ml 0,12%
rozpuštědlo = metanol.

Metoda B

K 0,1 M sodnému citrátovému pufru, získanému smísením 0,1 M vodného roztoku (412 ml) kyseliny citronové a 0,1 M vodného roztoku (196 ml) dihydrátu citronanu sodného, předloženému do opláštěvaného reaktoru, zahřátému na 35 °C, byly přidány vodný roztok (o koncentraci 40 mg/ml) enzymu esterázy kyseliny ferulové (19,6 ml) a dimetylsulfoxid (98 ml). K takto získanému roztoku byl přidán meziprodukt 4 (49 g) v dimethylsulfoxidu (270 ml). Pak byla směs míchána při 37-38°C po dobu 24 hodin.

Po ochlazení na 20°C byla reakční směs dvakrát extrahována 2-butanonem (1470 ml) a organická vrstva byla promyta 6% vodným roztokem chloridu sodného (2 x 980 ml) a pak 25% vodným roztokem chloridu sodného (392 ml), načež, po přidání dalšího 2-butanonu (490 ml) bylo rozpouštědlo oddestilováno za atmosferického tlaku na zbytkový objem 200 ml. K této směsi byl přidán aceton (1323 ml) a byl do ní přikapán 20% vodný roztok megluminu (60 ml). Výsledná suspenze byla hodinu míchána, pak zfiltrována, promyta acetonem (490 ml) a sušena při 40°C pod vakem po dobu cca 16 hodin, čímž byla získána surová titulní sloučenina jako žlutá pevná látka (26,9 g).

26,8 g této surové titulní sloučeniny bylo rozpuštěno ve vodě (107,2 ml) při 55°C a po filtraci byl roztok ochlazen na 45°C. Pak byl ke směsi za doprovodného míchání přikapán aceton (268 ml) směs byla naočkováána titulní sloučeninou. Aceton (402 ml) byl přidáván dále a výsledná kaše byla míchána při 20°C po dobu 1 hodiny a při 2°C po dobu 2 hodin. Pak byla pevné podíly odfiltrovány, promyty

acetone (134 ml) a sušeny pod vakuem při 40°C po dobu cca 16 hodin, čímž byla získána titulní sloučenina (23 g), t.t. 185-187°C.

Tabulka 1

Rentgenový práškový difraktogram produktu z příkladu 1, charakterizovaný mřížkovými vzdálenostmi "d" je následující

Úhel ($^{\circ}2\theta$)	"d" (Å)
5,480	16,114
8,233	10,731
10,942	8,079
15,299	5,787
16,424	5,393
16,658	5,317
19,116	4,639
19,553	4,538
20,505	4,328
21,939	4,048
22,787	3,899
23,154	3,838
23,381	3,801
24,194	3,676
25,225	3,528
25,802	3,450
26,484	3,363
27,524	3,238
27,865	3,199
28,547	3,124
38,345	2,346

Příklad 2

(-)-Megluminová sůl enantiomeru A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinyliden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny (forma 1)

(-)-Natrium 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinyliden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylát (2,5 g) byl suspendován v etylacetátu (75 ml) a extrahován vodnou 1,5N HCl (25 ml). Organická vrstva byla odpařena, čímž byla získána 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3pyro(idinyliden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolin-2-karboxylová kyselina jako bílá pěna (2,3 g), která byla rozpuštěna v etanolu (69 ml) při 23°C pod dusíkovou atmosférou a pak byl v průběhu 20 minut přidán roztok megluminu (1,25 g) ve vodě (5,3). Takto získaná suspenze byla míchána při 23°C pod dusíkem po dobu 24 hodin. Pevná složka byla pak odfiltrována a sušena při 40°C po dobu 20 hodin (získáno 3,0 g), t.t. 112°C.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{DMSO}$ 95/5) δ (ppm) 7,73 (2H, d), 7,38 (2H, t), 7,15 (1H, d), 7,13 (1H, t), 6,77 (1H, d), 6,45 (1H, dd), 6,40 (1H, bs), 4,10 (1H, bm), 3,79 (3H, m), 3,64 (1H, dd), 3,60 (1H, bm), 3,55 (1H, dd), 3,47 (1H, m), 3,40 (1H, d), 3,38 (1H, t), 3,16 (1H, m), 2,98 (1H, m), 2,85 (1H, m), 2,78 (1H, m), 2,70 (1H, bm), 2,42 (3H, s).

Rentgenový práškový difraktogram je ve formě dat uveden v Tabulce 2.

Tabulka 2

Rentgenový práškový difraktogram produktu příkladu 2, vyjádřený jako hodnoty mřížkových vzdáleností "d" je následující

Úhel ($^{\circ}2\theta$)	Hodnota "d" (Å)
4,356	20,270
11,263	7,849
11,659	7,584
12,757	6,934
12,877	6,869
13,962	6,337
15,482	5,719
17,242	5,139
18,641	4,756
18,725	4,735
20,548	4,319
21,362	4,158
22,234	3,995
22,379	3,989
22,801	3,897
22,921	3,877
22,993	3,865
23,681	3,754
25,043	3,553
25,598	3,477
28,823	3,321
28,753	3,102

Příklady farmaceutických prostředků

A. Tobolky a tablety

Účinná složka	20,0 mg
Škrob 1500	32,5 mg
Mikrokrystalická celulóza	200,0 mg
Sodná sůl kroskarmelózy	6,0 mg
Stearan hořečnatý	1,5 mg

Účinná složka se mísí s přísadami. Směs se dá použít k plnění do želatinových tobolek nebo lisovat do tvaru tablet pomocí vhodných lisovacích forem. Tablety se dají potahovat pomocí obvyklých technik a povlaků.

B. Tablety

Účinná složka	20,0 mg
Sorbitol	200,0 mg
Mikrokrystalická celulóza	70,0 mg
Povidon	25,0 mg
Sodná sůl kroskarmelózy	6,0 mg
Stearan hořečnatý	1,5 mg

Účinná složka se mísí s laktózou, mikrokrystalickou celulózou a s částečným podílem sodné soli kroskarmelózy. Tato směs se po dispergaci ve vhodném rozpouštědle (t.j. ve vodě) granuluje s povidonem. po vysušení a rozdrcení se granule mísí s ostatními přísadami. Směs se dá lisovat s použitím vhodných forem a tablety se dají potahovat pomocí o sobě známých technik a povlaků.

C. Velká pilulka

Účinná složka	0,1-32	mg/ml
Trometamol	1,0-5,0	mg/ml
Voda pro injekce	do 1	ml

Přípravek může být balen ve skleněných ampulích nebo lahvičkách a injekčních stříkačkách s gumovou uzavírací pojistkou a plastovou/kovovou záklopkou (jen u lahviček).

D. Infuze

Účinná složka	0,01-3,2	mg/ml
Trometamol	0,2-1,0	mg/ml
5% dextróza pro injekce	do 100	ml

Tento přípravek se může balit do skleněných lahviček nebo plastových sáčků.

Při testování sloučeniny podle vynálezu na myších nebyl pozorován žádný škodlivý účinek, přičemž sloučenina podle vynálezu byla myším podávána ve farmakologicky účinných dávkách.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Megluminová sůl enantiomeru A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinylyden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny.

2. Krystalická forma sloučeniny podle nároku 1:

3. Krystalická forma popsaná v příkladu 1.

4. Způsob výroby sloučeniny podle některého z nároků 1 až 3, který zahrnuje mísení enantiomeru A 7-chlor-4-(2-oxo-1-fenyl-3-pyrolidinylyden)-1,2,3,4-tetrahydro-2-chinolinkarboxylové kyseliny s megluminem ve vhodném rozpouštědle.

5. Způsob přípravy krystalické formy podle nároku 2 nebo 3, který zahrnuje krystalizaci megluminové soli ze směsi vody a organického rozpouštědla, mísitelného s vodou nebo ze směsi vhodných organických rozpouštědel.

6. Farmaceutický prostředek, obsahující sloučeninu podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3 ve směsi s alespoň jedním fyziologicky přijatelným nosičem a/nebo s alespoň jednou fyziologicky přijatelnou přísadou.

7. Použití sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3 jako léčiva pro vyvolání antagonistických účinků vůči excitačním aminokyselinám na receptorovém komplexu NMDA.

8. Způsob léčení stavů, při kterých jsou terapeuticky výhodné antagonistující účinky na receptorovém komplexu NMDA excitačním aminokyselinám, u savců včetně člověka, zahrnující podávání účinného množství sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3.