



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

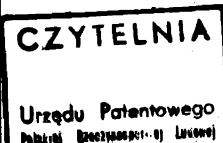
Zgłoszono: 30.04.77 (P. 223798)

Pierwszeństwo: 03.05.76 Stany Zjednoczone
Ameryki

Zgłoszenie ogłoszono: 08.10.79

Opis patentowy opublikowano: 15.02.1985

Int. Cl.³ C07D 417/12
//A61K 31/425



Twórca wynalazku _____

Uprawniony z patentu: Merck & Co., Inc., Rahway, N. J. (Stany
Zjednoczone Ameryki)

Sposób wytwarzania nowych pochodnych 2-iminotiazoliny

1

Wynalazek dotyczy sposobu wytwarzania nowych pochodnych 2-iminotiazoliny, które dzięki korzystnym własnościom tłumienia indoloamino-N-metylotransferazy są przydatne w leczeniu pewnych schorzeń psychicznych, takich jak schizofrenia.

Związki te używane są w środkach farmaceutycznych, znajdujących zastosowanie w leczeniu schorzeń psychicznych typu schizofrenii. Nowe iminy mają ogólną budowę, przedstawioną wzorem 1.

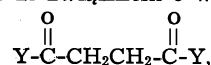
N,N-dwumetyloindoloaminy, takie jak dwumetyloserotonina i dwumetylotryptamina należą do środków psychotomimetycznych, które zgodnie z przyjętą opinią wytwarzają się w nadmiernych ilościach u osobników o pewnych schorzeniach psychicznych, klasyfikowanych powszechnie jako schizofrenia. Indoloamino-N-metylotransferaza jest enzymem katalizującym etapy metylowania w procesie biosyntezy tych związków. Stwierdzono, że inhibitory tego enzymu wywierają działanie terapeutyczne na chemizm organizmu pacjentów, dotkniętych schizofrenią i w wyniku tego łagodzą pewne objawy schorzenia. Tak więc, przedmiotem niniejszego wynalazku jest wytwarzanie powyżej opisanych imin oraz ich farmaceutycznie dopuszczalnych soli.

Farmaceutycznie dopuszczalne sole, wytwarzane według wynalazku są zasadniczo solami addycji kwasowej wytwarzanymi z nowego związku oraz

2

kwasu organicznego lub nieorganicznego, które zapewniają otrzymanie kwasowej soli addycyjnej typu chlorowodorku, bromowodorku, dwuwodoro-ortofosforanu, siarczanu, cytrynianu, pamoesanu, pirogronianu, soli kwasu natfaleno-2-sulfonowego, izocyjanianu, maleinianu, fumaranu lub pochodnych.

Sposób według wynalazku polega na tym, że związek o wzorze 2 poddaje się reakcji ze związkiem o wzorze 3, w którym Y oznacza grupę wodorotlenową lub ze związkiem o wzorze



w którym Y oznacza atom chloru, grupę o wzorze 4, N₃, grupę [alkil C₁₋₄]-O-C-O-, grupę

$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{OCH}_2\text{CN} \end{array}$, grupę o wzorze 5, 6, 7, 8, 9, grupę o wzorze -O-[alkil C₁₋₄].

Związki wytwarzane sposobem według wynalazku mogą być podawane w postaci preparatów farmaceutycznych. Sposób podawania leku może być doustny, doodbytniczy, dożylny, domięśniowy, lub dootrzewnowy. Dawki 0,10 do 100 mg/kg dziennie, korzystnie 1 do 10 mg/kg dziennie aktywnej domieszki są w zasadzie adekwatne, przy czym zaleca się podawanie leku w dawkach podzielnych, aplikowanych dwa do cztery razy dziennie.

Zaznacza się, że sprecyzowanie jednostkowej dawki zależy od indywidualnych przypadków i w

związku z tym pozostawia się do uznania fachowców terapeutów.

Zestawy farmaceutyczne, zawierające związek wytwarzany sposobem według wynalazku w postaci aktywnego składnika mogą być stosowane w dowolnej dogodnej postaci do użytku doustnego w tabletkach, pastylkach, cukierkach, w zawiesinach wodnych lub oleistych, w postaci sproszkowanej, w granulkach, emulsjach, w postaci twardych lub miękkich kapsulek, syropów lub eliksirów. W przypadku stosowania dożylnego, domięśniowego i do otrzewnowego zestawy farmaceutyczne mogą być w postaci sterylnych wstrzykiwanych preparatów takich jak sterylny roztwór wodny lub zawiesina. Ilość aktywnego składnika, zawarta w jednostkowej dawce wyżej opisanych zestawów farmaceutycznych może wynosić od 1 mg do 500 mg.

Poniżej opisane doświadczenia wykazują zastosowanie terapeutyczne związków wytwarzanych sposobem według wynalazku. Doświadczenia obejmowały testy *in vivo* z zastosowaniem związków o wzorze 1, zwanych dalej L-632,594 i związków o wzorze 2, zwanych dalej L-630,865. Wyniki wykazują, że otrzymane związki są aktywnymi inhibitorami enzymu indoleamino-N-metylotransferazy oraz wykazują ich aktywność jako środków przeciw schizofrenii w medycynie ludzkiej.

W poniższych testach stosowano następujące skróty:

NMT: N-metylotransferaza

DMT: dwumetylo-tryptamina

CPM: liczba na minutę.

A. Zahamowanie aktywności indoleamino-N-metylotransferazy (INMT) *in vivo*.

Badano działanie *in vivo* związków L-632,594 i L-630,865 na specyficzną aktywność INMT w płucach królika w szeregu doświadczeniach. Wyniki badań przedstawiono poniżej.

1. Dawkowanie doustne.

Samce królików NZW (0,7—1,2 kg) głodzono przez noc, po czym podawano związki przez sondę żołądkową L-632,594 podawano w roztworze (w HCl do pH 3,5—4,0) lub w zawieszynie (w mieszaninie dwumetyloacetamid-emulgator-woda) a L-730,865 rozpuszczony w wodzie. Po upływie różnych okresów po podaniu (2—7 godz.) ucinano królikom głowy, wykrwawiano, usuwano płuca i homogenizowano w 3—10 objętościach 0,15 M KCl w 0°C. Homogenizaty wirowano z szybkością 55,000 $\times$ g w ciągu 30—60 min w 0°C, po czym w supernatancie badano bezpośrednio aktywność INMT.

Mieszanina reakcyjna zawierała 0,025 ml 1M buforu z fosforanu potasu o pH=7,9, 0,01 ml 0,003M NMT, 0,005 ml S-adenozylometionino-metylo-¹⁴C (około 50 μ C/ μ mol; 50 μ C/2,5 ml), wodę i enzym w całkowitej objętości 0,1 ml. Probki inkubowano 60 min. w 37°C i kończono reakcję dodając 0,2 ml 0,125 M boranu i 2 ml roztworu nasyconego alkoholu izoamylowego w wodzie. Po odwirowaniu oznaczono radioaktywność w 0,5—1,0 ml górnej warstwy. Poprzednie doświadczenia wykazały że prawie cała radioaktywność pochodziła od ¹⁴C-DMT. Proteiny enzymu oznaczono metodą Lowry, zmodyfikowaną przez Oyama i Eagle (Proc. Soc. Sxp. Biol. Med., 91, 305, 1956).

Załączona fig. 1 przedstawia niektóre reprezentatywne krzywe aktywności enzymu odpowiadające królikom kontrolnym i traktowanym związkiem L-632,594, uśmiercanym 3 i 7 godz. po podaniu. Specyficzna aktywność preparatu enzymatycznego (CPM we frakcji ¹⁴C-DMT/mg proteiny/godz. w 37°C) obliczona była na podstawie nachylenia linii. Gdy nie otrzymywano linii prostych, stosowano Δ cpm/ Δ protein/400 lub 500 μ g minus 100 μ g), gdyż wartość ta na ogół reprezentowała najbardziej liniową część krzywych.

Figura 2 sumuje dane dla działania L-632,594 na INMT. Przy podawaniu królikom (1—2 na grupę) 8—25 mg/kg i uśmiercaniu ich 2—3 godz. później zahamowanie aktywności enzymu wynosiło 50—85%. Uśmiercanie po 7 godz. po podaniu dawki 25 mg/kg dawało zahamowanie 36% w jednym doświadczeniu, zaś dawka 68 mg/kg powodowała 50% zahamowanie aktywności INMT w trzech doświadczeniach. Ponieważ przypuszcza się, że każdy mol związku L-632,594 uwalnia 1 mol aktywnego związku L-630,865, dawka czynnika aktywnego podawanego królikom oblicza się dzieląc podaną dawkę przez 2,7. Dane z pięciu doświadczeń przedstawionych na fig. 2 były analizowane niezależnie przez różnych grupy biometryczne, co miało znaczenie statystyczne. Z poniższej tablicy 1 widać, że wartości procentowe zahamowania są podobne do wartości obliczonych początkowo i że obniżenie aktywności INMT ma znaczenie statystyczne przy poziomie P=0,01 lub P=0,001. Na fig. 2 słupki z linią przerywaną odpowiadają zwierzętom kontrolnym, a słupki narysowane linią ciągłą — zwierzętom traktowanym L-632,594.

2. Podawanie dożylne.

Samcom królików NZW (0,07—0,9 kg) podawano L-632,594 i L-630,895 w jednym zastrzyku dożylnym (do żyły usznej). Po około 40 min. obcinano głowy królikom i preparowano i badano surową INMT z płuc analogicznie jak w punkcie 1. Jak wykazuje tablica 2, L-632,594 (4 mg/kg) dawał 61% zahamowania specyficznego aktywności INMT, zaś L-630,865 (5 mg/kg) — 64% zahamowania.

Tablica 1

Działanie L-632,594 na aktywność INMT z płuc królika — podawanie doustne

Dawka (mg/kg)	Okres czasu od podania do uśmiercenia	% zahamowania INMT	
		dane z fig. 2	dane z pomiarów grup biometrycznych*)
8,1	2	51	55 (p<0,1)
12,5	2	74	69 (p<0,01)
25	2	85	76 (p<0,01)
25	3	84	81 (p<0,001)
68	7	55	56 (p<0,01)

*) Określenie zsumowanego błędu stosowane dla analizy statystycznej

Tablica 2

Działanie L-632,594 i L-630,865 na aktywność INMT z płuc królika — podawanie doustne

Doświadczenie nr	Związek	Dawka (mg/kg)	Okres czasu od podania do uśmiercenia	Specyficzna aktywność**)		% zahamowania
				króliki traktowane	króliki kontrolne	
1	L-632,594 (w rozc. HCL)	4	36	45,662	117,160	61% (p<.01)
2	L-630,865	5	40	37,043	103,280	64% (p<.05)

** Równoważna do nachylenia; 2 króliki/grupę; do analizy statystycznej stosowano określenie zsumowanego błędu z dwóch doświadczeń (t-test)

Pomimo, że konwencjonalne leczenie schizofrenii obejmuje zastosowanie środków neuroleptycznych, które są antagonistami dopaminy, interesujące są również inne sposoby leczenia tej choroby, oparte na teorii, że powodują ją endogenicznie wytwarzane chemiczne toksyny. Istnieją poważne wskazówki, że powodem takim jest N,N-dwumetylotryptamina (DMT) J. C. Cillin, J. Kaplen, R. Stillman i R. J. Wyatt, *Am. J. Psychiat.*, 133, 203 (1976). L. R. Mandel, *Neurotransmitter Balances Regulating Behavior*, p. 175, E. F. Domino i J. M. Davis, Eds., Ann Arbor (1975). Istnienie możliwości enzymatycznych dla jej tworzenia u zwierząt i fakt, że jest ona zarówno halucynogenna i silnie psychotogenna u człowieka cytowany był dla podtrzymania tej teorii E. F. Domino, in *Relevance of the Animal Psychopathological Model to the Human*, Second International Symposium, Kittay Foundation, Plenum Press, New York (1975). J. M. Saavedra, i J. Axelrod, *Science*, 172, 1365 (1972). Ponadto stwierdzono, że podawanie aminokwasowych prekursorów DMT, metioniny i tryptofanu powiększa symptomatologię schizofreniczną (S. S. Kety, *New eng. J. Med.*, 276, 325 (1967). Ponadto, prekursor DMT, tryptamina, obecny jest w mózgu ludzkim (J. M. Saavedra, i J. Axelrod, *Science*, 172, 1365 (1972), oraz obecny jest w zwiększonej ilości w moczu niektórych schizofreników (M. E. Himwich, in *Biochemistry, Schizophrenias i Affective Illnesses*, H. E. Himwich, Ed., p. 79—112, Williams i Wilkins, Co., Baltimore (1971). Tak więc zahamowanie biosyntezy DMT jako możliwy sposób leczenia schizofrenii ma podstawy racjonalne i wydaje się atrakcyjne.

Dostępność indoloamino - N - metylotransferazy (INMT), enzymu płucnego, który jak stwierdzono katalizuje syntezę BMT przez transfer grupowy z S-adenozylometioniny do N-metylotryptaminy (NMT), umożliwił próby in vitro, prowadzone w celu poszukiwania odpowiedniego inhibitora syntezy DMT. J. Axelrod, *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 138, 28 (1962). Próby te stosowano w naszym laboratorium jako wstępny skrining; wykazały one, że 2, 3, 4, 6, 7, 8 — sześciowodoropirolo [1,2-a] pirymidyna (DHN) stanowi silny, specyficzny inhibitor INMT z tkanek płucnych królików, małp i ludzi

(L. R. Mandel, *Biochem. Pharm.*, 25, 2251 (1976). Sugerowało to syntezę zbliżonych struktur w celu znalezienia bardziej skutecznych środków. Prowadzono łącznie z oceną tych związków jako inhibitorów enzymów in vitro. Ponadto, jeden związek 2,3,5,6-czterowodoro-8H-imidazo [2,1-c] [1,4]-triazyna(11a) badany był na aktywność in vivo pod względem zahamowania aktywności INMT i biosyntezy DMT z NMT.

Poniższe przykłady wyjaśniają bliżej wynalazek.

Przykład I. Sukcynamid N,N-dwu-(3-metylotiazolidynylidenu-2).

55 Etap A: Otrzymywanie bursztynianu dwu-(4-nitrofenylu).

Mieszaninę zawierającą 2,36 g (20 moli) kwasu bursztynowego, 6,517 g (44 moli) 4-nitrofenolu i 8,24 g (40 moli) N,N'-dwucykloheksylokarbodiimidu poddawano mieszaniną w pokojowej temperaturze w 225 ml octanu etylu przez 2 dni.

Mieszaninę sączono i przesącz zateżano do sucha. Pozostałość rozcierano z 40 ml chloroformu i zbierano składniki stałe mieszaniny na filtrze, susząc powietrzem. Otrzymywano 1,38 g bursztynianu dwu-(4-nitrofenolu) o temperaturze topnienia 176—178°C.

Etap B: Otrzymywanie sukcynamidu N,N'-dwu-(3-metylotiazolidynylidenu-2).

Mieszaninę składającą się z 80 mg 2-imino-3-metylotiazolidyny, 118 mg bursztynianu dwu-(4-nitrofenylu) i 8 ml chloroformu ogrzewano przez 5,5 godziny pod chłodnicą zwrotną. Całość rozcieńczono chloroformem, dwukrotnie przemywano roztworem węgla sodowego, suszono nad siarczanem sodowym i zateżano do sucha. Pozostałość rekrytalizowano w 2 ml metanolu, otrzymując 68 g sukcinamidu N,N'-dwu-(3-metylotiazolidynylidenu-2), o temperaturze topnienia 181—183°C.

Przykład II. Do mieszaniny zawierającej 21,6 g 3-metylo-2-sukcynyloiminotiazolidyny i 10,2 g trójetyloaminy w 80 ml bezwodnego chloroformu dodawano stopniowo 10,9 g chloromrówczanu etylowego przy —5 do 0°C. Po 30 minutach mieszania, dodawano 10,2 g 2-imino-3-metylotiazolidyny w 50 ml chloroformu, utrzymując temperaturę 0°C przez zewnętrzne chłodzenie. Po godzinnym odstawianiu w temperaturze otoczenia wytrącił się chło-

rowodorek trójetiloaminy, który odsączano. Chlороformowy przesącz przemawano roztworem kwasnego węglanu sodowego, suszono (Na_2SO_4) i usuwano rozpuszczalnik pod próżnią. Pozostałość rekrytalizowano z metanolu, otrzymując N,N'-dwu-(3-metylotiazolidynyliđeno-2)sukcynoamid.

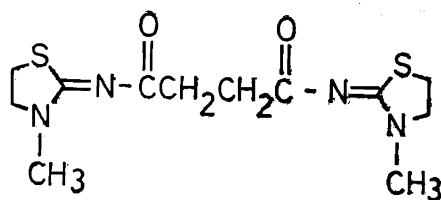
Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowych pochodnych 2-iminotiazoliny o wzorze 1, ewentualnie w postaci jego farmaceutycznie dopuszczalnej soli, **znamienny** tym, że związek o wzorze 2 poddaje się reakcji ze

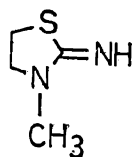
10

wodorotlenową, po czym otrzymany produkt ewentualnie przeprowadza się w sól.

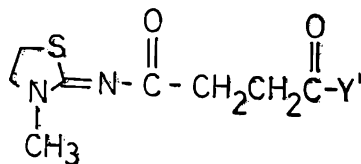
2. Sposób otrzymywania nowych pochodnych 2-iminotiazoliny o wzorze 1, ewentualnie w postaci jego farmaceutycznie dopuszczalnej soli, **znamienny** tym, że związek o wzorze 2 poddaje się reakcji ze związkiem o wzorze $\text{Y}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{Y}$, w którym Y oznacza atom chloru, grupę o wzorze 4, $-\text{N}_3$, (alkil C_{1-4})-O-COO-, $-\text{OCH}_2\text{CN}$, podstawnik o wzorze 5, 6, 7, 8, 9 lub o wzorze $-\text{O}-(\text{alkil } \text{C}_{1-4})$, po czym otrzymany produkt ewentualnie przeprowadza się w sól.



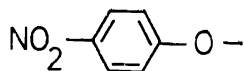
WZOR 1



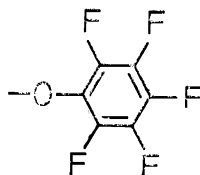
WZOR 2



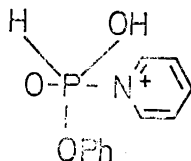
WZOR 3



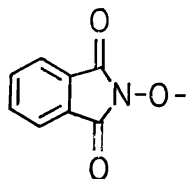
WZÓR 4



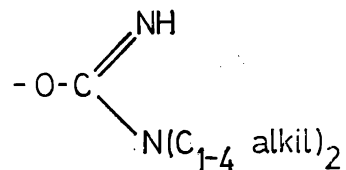
WZÓR 5



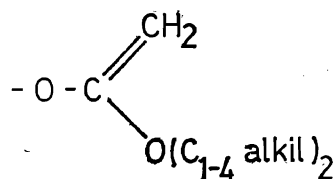
WZÓR 6



WZÓR 7



WZÓR 8



WZÓR 9

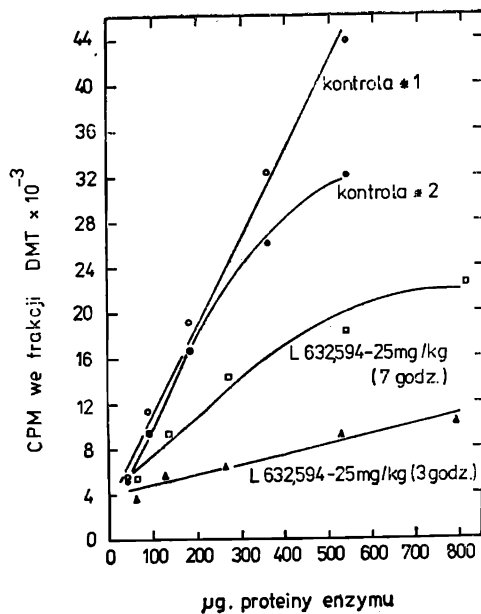
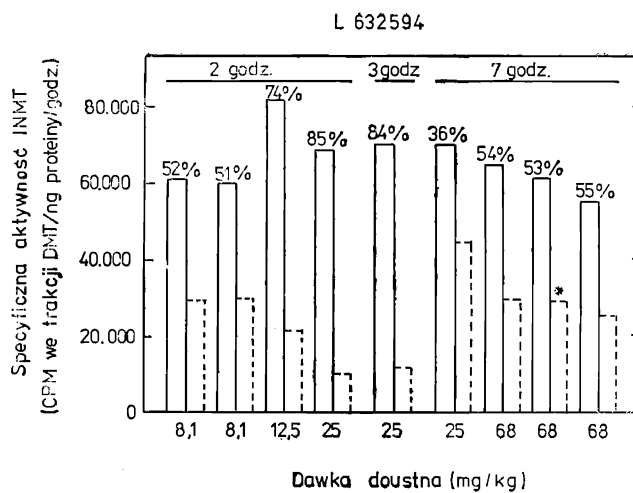


Fig. 1



* 1 królik / grupę

Fig. 2