

3415/96

24136

KÖZZÉTÉTELI PELDANY

63.252/DE

K I V O N A T

Benzopirán-vegyületek és alkalmazásuk terápiás célokra

SMITHKLINE BEECHAM PLC, BRENTFORD, Middlesex, GB

A bejelentés napja: 1995. 03. 31.

Elsőbbségei: 1994. 06. 10. (9411632.4), és

1994. 06. 13. (9411798.3), GB

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP95/02076

A nemzetközi közzététel száma: WO 95/34545

A találmány tárgya ~~az (I) általános képletű benzodiazepin-származékok~~ vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóik.

A találmány szerinti vegyületek gyógyszerészetben alkalmazhatók és alkalmasak szorongás, mánia, depresszió, szubarachnoid haemorrhagiával vagy idegi sokkal kapcsolatos betegségek, kokain, nikotin, alkohol és benzodiazepin hatóanyagok túlzott használata után bekövetkező megvonási tünetek, görcsoldó szerekkel kezelhető vagy megelőzhető betegségek, mint például epilepszia, Parkinson-kór, pszichózis, migrén, agyi ischaemia, Alzheimer-kór, skizofrénia és/vagy agresszió kezelésére.

24.11.1995

15

34/5/96

10553

63.252/DE

S.B.G. & K.
Nemzetközi
Légyhalászati Iroda
H-1062 Budapest, Andrássy út 115.
Telefon: 34-24-050, Fax: 34-24-323

A

KÖZZÉTÉTELI RÉSZ

Benzopirán-vegyületek és alkalmazásuk terápiás célokra

SMITHKLINE BEECHAM PLC, BRENTFORD, Middlesex, GB

Feltalálók:

CHAN Wai Ngor,

MORGAN Helen Kate Ann,

THOMPSON Mervyn,

EVANS John, Morris,

HARLOW, Essex, GB

A bejelentés napja: 1995. 03. 31.

Elsőbbségei: 1994. 06. 10. (9411632.4), és

1994. 06. 13. (9411798.3), GB

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP95/02076

A nemzetközi közzététel száma: WO 95/34545

A találmány tárgya új, benzopirán vegyületek, eljárás ezen vegyületek előállítására, valamint terápiás szerként való alkalmazásuk.

A 0126311 számú közzétett európai szabadalmi bejelentésben leírtak vérnyomáscsökkentő hatással rendelkező szubsztituált bezopirán-származékokat, mint például a 6-acetil-transz-4-(4-fluor-bezoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-olt.

Az EP-A-0 376 524 számú, az EP-A-0 205 292 számú, az EP-A-0 250 777 számú, az EP-A-0 093 535, az EP-A-0 150 202, az EP-A-0-076 075 és a WO 89/05808 számú (Beecham Group plc) szabadalmi bejelentésekben ugyancsak leírtak bizonyos benzopirán-származékokat, amelyek vérnyomáscsökkentő hatással rendelkeznek.

Az EP-A-0 350 805 számú (Beiersdorf), az EP-A-0 277 611 számú, az EP-A-0 277 612 számú, az EP-A-0-337 179 számú és az EP-A-0 355 565 számú (Hoechst Aktiengesellschaft); az EP-A-0 466 131 számú (Nissan Chemical Industries Ltd), az EP-A-0 339 562 számú (Yoshitomi Pharmaceuticals), az EP-A-415 065 számú (E. Merck), az EP-A-0 450 415 (Squibb), az EP-A-0 482 934 számú, az EP-A-0 296 795 számú, a JO-2004791 számú és a WO 89/07103 számú szabadalmi bejelentésekben ugyancsak leírtak bizonyos benzopirán-származékokat, amelyek feltehetően vérnyomáscsökkentő hatással rendelkeznek.

Az EP-A-0 430 621 számú és az EP-A-0 385 584 számú (Beecham Group plc) szabadalmi bejelentésekben leírták bizonyos közbenső termékek reszolválási eljárását, amely vegyületek alkalmasak a fenti szabadalmi bejelentésekben

előállított származékok előállításában való felhasználásra.

Az EP-A-0 139 992 (Beecham Group plc) szabadalmi bejelentésben leírtak bizonyos benzopirán-származékokat, amelyek a 3- és 4-helyzetben cisz-izomer vegyületek és ezek a vegyületek vérnyomáscsökkentő hatással rendelkeznek.

A PCT/GB92/01045 számú (SmithKline Beecham plc) számú szabadalmi bejelentésben leírtak bizonyos fluor-benzoil-amino-benzopirán vegyületeket, pirano-piridin vegyületeket, illetve tetrahidro-naftalin vegyületeket, amelyek a 3- és 4-helyzetben transz-izomer szubsztituenseket tartalmaznak. Ezek a vegyületek egyebek között szorongásellenes, illetve görcsoldó hatással rendelkeznek.

A PCT/GB93/02512 számú és a PCT/GB93/02513 számú szabadalmi bejelentésekben további vegyületcsoportokat írtak le, amelyek egyebek között görcsoldó aktivitással rendelkeznek. Ezek a szabadalmi bejelentések nem kerültek közzétételre a jelen bejelentés elsőbbségének dátumáig.

Vizsgálataink során azt találtuk, hogy az alább leírt vegyületek közül néhány görcsoldó aktivitással rendelkezik, ezért alkalmasak epilepszia kezelésében történő felhasználásra, továbbá feltehető, hogy szorongás, mánia, depresszió kezelésében is felhasználhatók, és olyan betegségek kezelésében is, amelyek arachnoia alatti haemorrhagiával vagy idegi sokkal kapcsolatosak, továbbá alkalmasak a különböző kábítószer-megvonás vagy túlzott fogyasztás után megvonási tünetek kezelésére, Parkinson-kór kezelésére, pszichózis kezelésére, aura nélküli vagy ezzel járó migrén, agyi ischaemia, Alzheimer-kór, skizofrénia, OCD, azaz kényszeres kompuzív betegség és/vagy

pánikbetegség és/vagy agresszió kezelésére.

A találmány tárgya az alábbi vegyületek vagy ezek gyógyszerészetileg elfogadható sói:

cisz-6-acetil-4S-(2,3-diklór-benzoil-amino)-3,4-dihidro-
-2H-1-benzopirán-3S-ol,

transz-6-acetil-4S-(2,3-diklór-4-fluor-benzoil-amino)-
-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(3,5-diklór-benzoil-amino)-3,4-
-dihidro-2,2-dimetil-2H-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(3,5-difluor-benzoil-amino)-3,4-
-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-Acetil-4-(2-tiofén-karbonil-amino)-3,4-dihidro-
-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol,

transz-6-acetil-4S-(3-tiofén-karbonil-amino)-3,4-dihidro-
-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(2,5-diklór-3-tiofén-karbonil-amino)-
-3,4-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

cisz-6-acetil-4S-(2,5-diklór-3-tiofén-karbonil-amino)-
-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol,

transz-6-acetil-4S-(2,3,5-triklór-benzoil-amino)-3,4-di-
hidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(2,3,4-trifluor-benzoil-amino)-3,4-di-
hidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-benzoil-amino-3,4-dihidro-2,2-dimetil-
-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(3-jód-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-
-dimetil-2H-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(5-fluor-2-metil-benzoil-amino)-3,4-

-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,
transz-6-acetil-4S- (5-klór-2-metoxi-benzoil-amino) -3,4-
-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,
transz-6-acetil-4- (2,3-dimetil-benzoil-amino) -3,4-dihid-
ro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol,
cisz-6-acetil-4S- (2,3-diklór-4-fluor-benzoil-amino) -3,4-
-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol,
cisz-6-acetil-4S- (3-klór-4-fluor-benzoil-amino) -3,4-di-
hidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol,
transz-6-acetil-4S- (2-fluor-5-piridin-karbonil-amino) -
-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,
transz-6-acetil-4- (2-fenoxi-benzoil-amino) -3,4-dihidro-
-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol,
transz-7-acetil-4- (4-fluor-benzoil-amino) -3,4-dihidro-
-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol,
transz-6-acetil-4S- (2-klór-5-fluor-2-tiofén-karbonil-ami-
no) -3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,
cisz-6-acetil-4S- (2-klór-5-fluor-2-tiofén-karbonil-ami-
no) -3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol, és
cisz-6-acetil-4S- (2,3,4-trifluor-benzoil-amino) -3,4-di-
hidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol.

Ezeket a vegyületeket a továbbiakban (I) általános kép-
letű vegyületekként jelöljük.

A szakember felismeri, hogy az (I) általános képletű
vegyületek a 3-as és 4-es helyzetben királis szénatomokat
tartalmazhatnak, és enantiomer formában létezhetnek. A
találmány tárgykörébe beletartozik valamennyi enantiomer,
illetve az enantiomerek keverékei, beleértve a racemátokat is.

Ezen túlmenően a szakember felismeri, hogy a különféle felhasználás esetében egyes enantiomer formák előnyösebben alkalmazhatók; például amennyiben nem szub-arachnoid, haemorrhagia vagy idegi sokk kezelésében alkalmazzuk a vegyületeket, akkor a 3R, 4S, illetve 3S, 4S enantiomerek előnyösebben alkalmazhatók. Amennyiben a vegyületeket szub-arachnoid haemorrhagia vagy idegi sokk kezelésében használjuk, akkor a 3S, 4R, továbbá a 3R, 4R-enantiomerek előnyösebben alkalmazhatók.

A szakember továbbá felismeri, hogy az (I) általános képletű vegyületek vagy gyógyszerészetileg elfogadható sói körébe beleértjük a vegyületek szolvát formáit, amelyek lehetnek például hidrát formák is.

A találmány tárgya továbbá az (I) általános képletű vegyület vagy gyógyszerészetileg elfogadható sója, amelyet a korábbiakban leírtunk, és amely elsősorban 3S, 4S vagy 3R, 4S enantiomer formában létezik attól függően, hogy a vegyület cisz- vagy transz-izomer forma.

Az "elsősorban 3S, 4S enantiomer formában létező" elnevezés alatt például azt értjük, hogy a 3S, 4S enantiomer forma 50 %-nál nagyobb mennyiségben van jelen, mint a 3R, 4R enantiomer forma.

Előnyösebben, a vegyületben nagyobb, mint 60 % 3S, 4S enantiomer található, különösen előnyösen a 3S, 4S enantiomer mennyisége nagyobb, mint 70 %, és legelőnyösebben a 3S, 4S enantiomer mennyisége nagyobb, mint 80 %, sőt különösen előnyösen a 3S, 4S enantiomer mennyisége nagyobb, mint 90 %. A legelőnyösebb találmány szerinti vegyületek azok, ahol a 3S,

4S enantiomer mennyisége a 3R, 4R enantiomerhez képest nagyobb, mint 95 %-os.

Ugyanez érvényes a 3R, 4S enantiomerek esetére is.

Az ilyen vegyületek és ezek gyógyszerészetileg elfogadható sói új vegyületek és a jelen találmány előnyös megvalósítását jelentik.

A vegyületek adagolása emlősök számára lehet orális, parenterális, nyelv alatti vagy transzdermális adagolás.

Az adott betegség kezelésében alkalmazandó hatásos mennyiség különféle tényezők függvénye, amelyek például a betegség súlyossága és fajtája, ezen túlmenően a kezelt emlős testtömege. Általában az alkalmazott dózis 1 - 1000 mg, alkalmasan 1 - 500 mg találmány szerinti vegyületet tartalmaz, amely mennyiség lehet például 2 - 400 mg, mint például 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300 és 400 mg aktív hatóanyag. Az egységdózis formát általában napi egy vagy több alkalommal adagoljuk, amely lehet például 1, 2, 3, 4, 5 vagy 6 nap, általánosabban, 1-4 alkalommal úgy, hogy a teljes napi dózis egy 70 kg testtömegű felnőtt esetében 1-1000 mg, például 1 - 500 mg, dózis legyen. Ez körülbelül napi 0,01-15 mg/kg/nap, általánosabban a 0,1-6 mg/kg/nap, például 1-6 mg/kg/nap dózisonak felel meg.

Különösen előnyösen az (I) általános képletű vegyületeket egységdózis formában adagoljuk, amely lehet például orális, (beleértve a nyelv alatti) rektális, helyi vagy parenterális (különösen intravénás) adagolású készítmény egységdózis forma.

Az adagolt készítményeket megfelelő orális vagy parenterális adagolásra alkalmas segédanyagokkal állíthatjuk elő,

és ezek lehetnek tabletta, kapszula, orális folyékony készítmény, por, granulátum, labdacs, rekonstituálható por, injektálható és infúzióra alkalmas oldat vagy szuszpenzió vagy kúp forma. Előnyösen alkalmazhatók az orálisan adagolható formák, különösen az alakra formált orális készítmények, mivel ezek az általános használatban könnyebben használhatók.

Az egységdózis formák lehetnek például tabletták és kapszulák orális adagolás céljára, és ezek szokásos segédanyagokat, mint például kötőanyagokat, töltőanyagokat, hígítóanyagokat, tablettázó segédanyagokat, kenőanyagokat, dezintegráló szereket, színezőanyagokat, ízesítőanyagokat és nedvesítőszeret tartalmazhatnak. A tabletták ezen túlmenően a szakirodalomban ismert módon bevonattal is elláthatók.

A készítmények előállításában alkalmazható töltőanyagok lehetnek például cellulóz, mannitol, laktóz vagy más hasonló anyagok. Az alkalmazható dezintegráló szerek lehetnek például keményítők, polivinil-pirrolidon és keményítő-származékok, mint például nátrium-keményítő-glikolát. Az alkalmazható kenőanyag lehet például magnézium-sztearát. Alkalmazható gyógyszerészetileg elfogadható nedvesítőszer lehet például nátrium-lauril-szulfát.

A szilárd orális adagolású készítményeket szokásos eljárásokkal állíthatjuk elő, amelyek keverés, töltés tablettázás vagy hasonló eljárások. Az ismételt keverési eljárásokat is alkalmazhatjuk abból a célból, hogy az aktív hatóanyagot a készítményen egyenletesen eloszlassuk, amennyiben nagy mennyiségben töltőanyagokat alkalmazunk. Ezek az eljárások természetesen a szakirodalomban jól ismertek.

Az orális folyékony készítmények lehetnek például vizes vagy olajos szuszpenziók, oldatok, emulziók, szirupok vagy elixírek vagy ezek lehetnek száraz formák is, amelyeket vízzel vagy más alkalmas hordozóanyaggal rekonstituálhatunk a felhasználás előtt. Ilyen folyékony készítmények tartalmazhatnak szokásos segédanyagokat, mint például szuszpendálószereket, például szorbitolt, szirupot, metil-cellulózt, zselatint, hidroxietil-cellulózt, karboxi-metil-cellulózt, alumínium-sztearátot, amely gélfarmájú, vagy hidrogénezett ehető zsírokat, emulzifikáló szereket, mint például lecitint, szorbitán-monooléatot vagy akáciát; nem-vizes hordozóanyagokat (amelyek lehetnek ehető olajok), mint például mandulaolaj, frakcionált kókuszolaj, olajos-észter, mint például glicerín-észterek, propilén-glikol vagy etanol; tartósítóanyagokat, mint például metil- vagy propil-p-hidroxibenzoátot vagy szorbinsavat, és kívánt esetben szokásos ízesítő- vagy színezőanyagokat.

Az orális adagolású készítmények lehetnek szokásos, fenn-tartott hatóanyag-kibocsátású készítmények, mint például enterikus bevonattal rendelkező tabletták vagy granulátum formák.

Parenterális adagolás céljára fluid egységdózis formákat is előállíthatunk, amelyek a találmány szerinti vegyületeket, illetve egy steril hordozóanyagot tartalmaznak. A hordozóanyagtól, illetve koncentrációtól függően a találmány szerinti vegyület szuszpendált vagy oldott állapotban lehet jelen a készítményben. A parenterális adagolású oldatokat általában úgy állítjuk elő, hogy a találmány szerinti

vegyületet valamely hordozóanyagban oldjuk, majd szűréssel az oldatot sterilizáljuk, és ezután az oldatot alkalmas ampulla vagy injektáló edénybe töltjük, ezután ezt az edényt lezárjuk. Előnyösen, az ilyen készítményekben segédanyagokat is alkalmazunk, amelyek lehetnek lokális érzéstelenítő-, tartósító- és pufferanyagok és ezeket is a hordozóanyagban oldjuk. A készítmény stabilitását növelhetjük úgy, hogy az ampullába való töltés után ezt fagyasztjuk és a vizet vákuumban elpárologtatjuk.

A parenterális adagolású szuszpenzió formákat a fentiek szerint állíthatjuk elő azzal a különbséggel, hogy a találmány szerinti vegyületet oldás helyett a hordozóanyagban szuszpendáljuk, valamint a szuszpenziót úgy sterilizáljuk, hogy a steril hordozóanyagba történő szuszpendálás előtt etilén-oxid-dal kezeljük az elegyet. Előnyösen az ilyen elegyben felületaktív anyagot vagy nedvesítőszer is alkalmazunk abból a célból, hogy a találmány szerinti vegyület egyenletes eloszlását biztosítsuk.

A szokásos gyakorlatnak megfelelően az ilyen készítmények általában írott vagy nyomtatott adagolási és tájékoztatási információkkal ellátottan kerülnek forgalomba az adott gyógyszerészeti célnak megfelelően.

A találmány tárgya továbbá gyógyszerkészítmény, amely alkalmas szorongás, mánia, depresszió, szub-arachnoid, haemorrhagia betegséggel kapcsolatos betegségek vagy idegi sokk kezelésére; továbbá alkalmas olyan betegségek kezelésére amely kokain, nikotin, alkohol, illetve benzodiazepinek megvonásával kapcsolatos; görcsoldó szerekkel

kezelhető vagy megelőzhető betegségek kezelésére, amely lehet például epilepszia, Parkinson-kór, pszichózis, migrén, agyi ischaemia, Alzheimer-kór, skizofrénia és/vagy agresszió, azal jellemezve, hogy ez a gyógyszerkészítmény az (I) általános képletű találmány szerinti vegyületet vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóját, és emellett gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyagot tartalmaz.

A találmány tárgya továbbá eljárás szorongás, mánia, depresszió, a szub-arachnoid haemorrhagiával vagy idegi sokkal kapcsolatos betegségek, a kokain, nikotin, alkohol és benzodiazepin megvonással kapcsolatos tünetek, a görcsoldó szerekkel kezelhető vagy megelőzhető betegségek, mint például epilepszia, Parkinson-kór, pszichózis, migrén, agyi ischaemia, Alzheimer-kór, skizofrénia és/vagy agresszió kezelésére vagy megelőzésére, mely lényege, hogy az ilyen betegségben szenvedő betegnek az (I) általános képletű vegyület vagy gyógyszerészetileg elfogadható sója hatásos vagy megelőzésben hatásos mennyiségét adagoljuk.

A találmány tárgya továbbá az (I) általános képletű találmány szerinti vegyület vagy gyógyszerészetileg elfogadható sójának alkalmazása gyógyszer előállítására, amely alkalmas szorongás, mánia, depresszió, szub-arachnoid, haemorrhagia vagy idegi sokkal kapcsolatos betegségek, kokain, nikotin, alkohol és benzodiazepinek megvonásával kapcsolatos betegségek, görcsoldó szerekkel kezelhető vagy megelőzhető betegségek, mint például epilepszia, Parkinson-kór, pszichózis, migrén, agyi ischaemia, Alzheimer-kór, skizofrénia és/vagy agresszió kezelésére.

A találmány tárgya továbbá gyógyszerkészítmény, amely az (I) általános képletű találmány szerinti vegyületet vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóját, és gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyagot tartalmaz.

A találmány tárgya továbbá az (I) általános képletű találmány szerinti vegyület vagy gyógyszerészetileg elfogadható sója alkalmazása terápiás szerként, előnyösen szorongás, mánia, depresszió, szub-arachnoid, haemorrhagiával, idegi sokkal kapcsolatos betegségek, kokain, nikotin, alkohol és bezodiazepinek megvonási tüneteinek kezelésére, görcsoldó szerekkel kezelhető vagy megelőzhető betegségek, mint például epilepszia, Parkinson-kór, pszichózis, migrén, agyi ischaemia, Alzheimer-kór, skizofrénia és/vagy agresszió kezelésére.

Az ilyen készítményeket a korábban leírtaknak megfelelően állíthatjuk elő.

Általában az (I) általános képletű találmány szerinti vegyületeket előállíthatjuk a megfelelő transz-izomerekből, mely eljárásokat az EP-0 126 311 számú, az EP-0 376 524 számú, az EP-2 052 292 számú, az EP-0 250 077 számú, az EP-0 093 535 számú, az EP-0 150 202 számú, az EP-0 076 075 számú, a WO 89/15808 számú, az EP-0 350 805 számú, az EP-0 277 611 számú, az EP-0 277 612 számú, az EP-0 337 179 számú, az EP-0 339 562 számú, az EP-0 355 565 számú, az EP-A-415 065 számú (E. Merck), az EP-A-450 415 számú (Squibb), az EP-0 466 131 számú, az EP-A-0 482 934 számú, az EP-A-0 296 975 számú, a JO-2004-791 számú és a WO 89/07103 számú szabadalmi bejelentésekben leírták.

Az (I) általános képletű cisz-izomer vegyületeket az EP-A-0 139992 számú szabadalmi bejelentésben leírt eljárásnak megfelelően állíthatjuk elő.

Az (I) általános képletű vegyületek cisz-izomerjeit ezen túlmenően előállíthatjuk G. Burell és munkatársai, Tet. Letters, 31:3649-3652 (1990) és U. Quast és E. Villhauer, Eur. J. Pharmacol, Molecular Pharmacology Section 245:165-171 (1993) közleményekben leírt eljárásoknak megfelelően.

Az (I) általános képletű vegyületeket ezen túlmenően reszolválhatjuk vagy az (I) általános képletű vegyületeket enantiomer-izomer szempontjából tisztított formában állíthatjuk elő a szakirodalomban ismert eljárásoknak megfelelően, különösen az EP-0 430 631 számú és az EP-0 355 584 számú szabadalmi bejelentésekben leírt eljárások szerint.

Előnyösen a találmány szerinti (I) általános képletű vegyületeket a kívánt enantiomer formában úgy állíthatjuk elő, hogy királis szempontból tiszta epoxid-származékot állítunk elő a WO 91/14694 számú vagy a WO 93/17026 számú szabadalmi bejelentésekben leírt eljárások, illetve katalizátorok alkalmazásával, majd ezt követően az epoxidokat az ott leírt eljárásoknak megfelelően a kívánt (I) általános képletű vegyületté alakítjuk.

Az (I) általános képletű találmány szerinti transz-izomer vegyületeket a PCT/GB92/01045 számú szabadalmi bejelentésben leírt eljárásnak megfelelően állíthatjuk elő, amely eljárást referenciaként adunk meg vagy az (I) általános képletű vegyület transz-izomerjeit a fent leírt szabadalmi bejelentéseknek megfelelő eljárások bármelyikével analóg eljárással

állíthatjuk elő.

Az alább leírt vegyületeket a fent hivatkozott szabadalmi bejelentéseknek és közleményeknek megfelelő eljárásokkal állítottuk elő.

A találmány szerinti eljárást az alábbi példákon részletesen bemutatjuk abból a célból, hogy a találmány tárgyát részletesen ismertessük.

1. előállítás

2,3-Diklór-4-fluor-benzoészav

5 g 2,3-diklór-fluor-benzol, 6,91 g alumínium-triklorid és 3,85 ml acetyl-klorid elegyét argon atmoszférában 20 órán át 130°C hőmérsékletre melegítjük. A kapott fekete maradékot tömény sósav-jég elegyébe öntjük, majd az elegyhez étert adagolunk. Ezt követően a rétegeket elválasztjuk, majd a szerves fázist telített nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, és telített sóoldattal mossuk. Ezt követően a szerves oldatot vízmentes magnézium-szulfáttal megszáritjuk, leszűrjük, majd bepároljuk. A kapott fekete színű maradékot n-hexánnal eldolgozzuk. Az n-hexános oldatot leszűrjük, majd az oldószert elpárologtatjuk. Így 1,04 g 2,3-diklór-4-fluor-acetofenont nyerünk.

0,69 g fenti nyerstermék, 23 ml 5 %-os nátrium-hipoklorit oldat és 20 ml dioxán elegyét ezt követően 16 órán át visszafolyatás melletti forráshőmérsékletre melegítjük. Ezután az oldatot lehűtjük, bepároljuk és a maradékhoz 20 ml vizet, illetve tömény sósavat adagolunk úgy, hogy pH értéke 1-re álljon be. A kivált csapadékot leszűrjük, majd aceton/víz

oldószerelegyből átkristályosítjuk. Így 0,36 g 2,3-diklór-4-fluor-benzoésavat nyerünk.

2. előállítás

cisz-8-Acetil-2-(3-klór-4-fluor-fenil)-3a,9b-dihidro-4,4-dimetil-4H-benzo[b]oxazol

3,37 g (8,6 mmól, WO 94/13656 számú szabadalmi bejelentés 62. példa szerinti anyaga) transz-o-acetil-4S-(3-klór-4-fluor-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-benzo[b]pirán-3R-ol 90 ml száraz diklór-metánban készült oldatát és 1,40 ml (10,59 mmól) DAST reagenst 2 napon át szobahőmérsékleten tartunk. Ezt követően az elegyet vákuumban bepároljuk, majd a maradékot Kieselgel 60 oszlopon 25 % etilát/n-hexán eluens alkalmazásával kromatográfia segítségével tisztítjuk. Így 2,50 g (78 % kitermelés) színtelen, gumyszerű cím szerinti oxazolin-vegyületet nyerünk.

^1H -NMR-spektrum (CDCl_3), δ :

1,35 (3H, s), 1,59 (3H, s), 2,60 (3H, s), 4,80 (1H, d), 5,35 (1H, d), 6,90 (1H, d), 7,15 (1H, t), 7,82 (1H, m), 8,00 (1H, dd), 8,10 (1H, d).

1. példa

cisz-6-Acetil-4S-(2,3-diklór-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2H-1-benzopirán-3S-ol

0,84 g transz-6-acetil-4S-(2,3-diklór-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2H-1-benzopirán-3R-olt oldunk 50 ml diklór-metánban. Ezt követően az oldathoz 0,325 ml dietil-amino-kén-trifluoridot (DAST) adagolunk. Az elegyet éjszakán át keverjük, majd

szárazra pároljuk. A maradékot Kieselgel 60 adszorbensen kromatográfia segítségével tisztítjuk. Eluensként diklór-metán-etil-acetát gradiens eluenst alkalmazunk. 0,71 g halványsárga, gumyszerű terméket nyerünk, amelyet 20 ml dioxán és 6 ml víz elegyében tartunk, amely elegy 3 ml 5 normál kénsavat tartalmaz. Ezt a tárolást 2 napon át végezzük. Ezt követően az elegyet szilárd nátrium-hidrogén-karbonát segítségével meglúgosítjuk, majd 2 órán át keverjük. Ezután az elegyet bepároljuk, a kapott maradékot etil-acetát és víz között megosztjuk. A szerves fázist elválasztjuk és telített sóoldattal mossuk. Ezt követően a szerves oldatot vízmentes nátrium-szulfáton megszárítjuk, leszűrjük, majd bepároljuk. 0,639 g halványsárga gumyszerű maradékot nyerünk. A reakcióban nyert terméket, illetve egy korábbi ugyanilyen reakcióban nyert, 0,3 g terméket egyesítjük, majd Kieselgel 60 adszorbensen diklór-metán - 1 % metanol eluens alkalmazásával kromatográfia segítségével tisztítjuk. 0,47 g fehér, szilárd maradékot kapunk, amelyet etil-acetát-hexán oldószerelegyből, majd acetón-hexán oldószerelegyből kristályosítunk. Így a cím szerinti vegyületet nyerjük, amelynek olvadáspontja 104-107°C közötti.

$[\alpha]_D = 7,50^\circ$ (MeOH, $c = 1,0$).

2. példa

transz-6-Acetil-4S-(2,3-diklór-4-fluor-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol

Az 1. előállítás szerint előállított 2,3-diklór-4-fluor-benzoésavból kiindulva kapcsolási reakció segítségével a cím

szerinti vegyületet állítjuk elő az 1. példa szerinti eljárásnak megfelelően. A cím szerinti vegyületet aceton-hexán oldószerkelegetből átkristályosítjuk, így kristályos terméket nyerünk.

Op.: 205-206°C.

$$[\alpha]_D^{20} = + 17,6^\circ \text{ (MeOH, } c = 0,44 \text{)}.$$

3. példa

transz-6-Acetil-4S-(3,5-diklór-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-
-dimetil-2H-benzopirán-3R-ol

Op.: 220°C.

$$[\alpha]_D^{20} = + 22,2^\circ \text{ (MeOH, } c = 1,18 \text{)}.$$

4. példa

transz-6-Acetil-4S-(3,5-difluor-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-
-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol

Op.: 203°C.

$$[\alpha]_D^{20} = + 28,8^\circ \text{ (MeOH, } c = 1,0 \text{)}.$$

5. példa

transz-6-Acetil-4-(2-tiofén-karbonil-amino)-3,4-dihidro-2,2-
-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol

Op.: 175,5-177°C.

6. példa

transz-6-Acetil-4S-(3-tiofén-karbonil-amino)-3,4-dihidro-2,2-
-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol

Op.: 211-213°C.

7. példa

transz-6-Acetil-4S-(2,5-diklór-3-tiofén-karbonil-amino)-3,4-
-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol

Op.: 194°C.

$[\alpha]_D^{20} = 1,0^\circ$ (MeOH, c = 1,03).

8. példa

cisz-6-Acetil-4S-(2,5-diklór-3-tiofén-karbonil-amino)-3,4-di-
hidro-2,2-dimetil-2H-2-benzopirán-3S-ol

A termék barnássárga habos anyag.

^1H -NMR-spektrum (CDCl_3), δ :

1,40 (3H), 1,54 (3H), 2,06 (1H, d), 3,84 (1H, dd),
5,60 (1H, dd), 6,92 (1H, d), 7,22 (1H, sz d), 7,30
(1H), 7,85 (1H, dd), 7,96 (1H).

9. példa

transz-6-Acetil-4S-(2,3,5-triklór-benzoil-amino)-3,4-dihidro-
-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol

Op.: 219-223°C.

10. példa

transz-6-Acetil-4S-(2,3,4-trifluor-benzoil-amino)-3,4-dihidro-
-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol

Op.: 167°C.

$[\alpha]_D^{20} = + 3,0^\circ$ (MeOH, c = 0,945).

11. példa

transz-6-Acetil-4S-benzoil-amino-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-
-benzopirán-3R-ol

Op.: 188-191°C.

12. példa

transz-6-Acetil-4S-(3-jód-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dime-
til-2H-benzopirán-3R-ol

Op.: 171-173°C.

$[\alpha]_D^{20} = + 15,5^\circ$ (MeOH, c = 1,00).

13. példa

transz-6-Acetil-4S-(5-fluor-2-metil-benzoil-amino)-3,4-dihid-
ro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol

Op.: 194-196°C.

14. példa

transz-6-Acetil-4S-(5-klór-2-metoxi-benzoil-amino)-3,4-dihid-
ro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol

Op.: 191-194°C.

15. példa

transz-6-Acetil-4-(2,3-dimetil-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-
-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol

Op.: 188-189°C.

16. példa

cisz-6-Acetil-4S-(2,3-diklór-4-fluor-benzoil-amino)-3,4-dihid-ro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol

Op.: 130°C.

17. példa

cisz-6-Acetil-4S-(3-klór-4-fluor-benzoil-amino-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol

2,5 g oxazolin (6,68 mmól, 2. előállítás szerinti anyag) 45 ml 1,4-dioxán és 15 ml víz, valamint 6 ml 5 normál kénsav elegyében készült oldatát 1 napon át szobahőmérsékleten állni hagyjuk. Ezt követően az elegyhez felesleg mennyiségű nátrium-hidrogén-karbonátot adagolunk, majd a kapott szuszpenziót 2 órán át szobahőmérsékleten keverjük. Ezután az elegyet vákuumban bepároljuk, a maradékot etil-acetát és víz között megosztjuk. A szerves fázist elválasztjuk, majd vízzel, telített sóoldattal mossuk és nátrium-szulfáton megszárítjuk.

A szerves oldatot vákuumban bepároljuk és így halványsárga, gumyszerű maradékot nyerünk, amelyet Kieselgel 60 adszorbensen 25 % etil-acetát/n-hexán eluens alkalmazásával kromatográfia segítségével tisztítunk. A megfelelő frakciókat egyesítjük, majd a terméket aceton/hexán oldószerelegyből átkristályosítjuk. Így fehér, kristályos 1,20 g (46 % kitermelés) cím szerinti vegyületet nyerünk.

Op.: 151-153°C.

Elemanalízis a $C_{20}H_{19}ClFNO_4$ képlet alapján:

számított: C: 61,31, H: 4,89, N: 3,57 %.

mért: C: 61,04, H: 4,91, N: 3,86 %.

IR-spektrum $\nu_{\max}$ (KBR): 3360, 3310, 2950, 1680, 1260 és 840 cm^{-1} .

^1H -NMR-spektrum (CDCl_3), δ :

1,40 (3H, s), 1,56 (3H, s), 2,12 (1H, d, ex. D_2O), 2,50 (3H, s), 3,84 (1H, dd), 5,62 (1H, dd), 6,91 (1H, d), 6,95 (1H, sz d), 7,23 (1H, t), 7,75 (1H, m), 7,83 (1H, dd), 7,92 (1H, d), 7,96 (1H, dd).

MS-spektrum, m/z: 391 (M^+ , 1 %), 373 (4), 358 (88), 203 (50), 157 (100).

18. példa

cisz-6-Acetil-4-(2,3,4-trifluor-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol

^1H -NMR-spektrum (CDCl_3), δ :

1,41 (3H, s), 1,55 (3H, s), 2,50 (3H, s), 3,85 (1H, dd), 5,67 (1H, dd), 6,92 (1H, d), 7,03-7,20 (1H, m), 7,78-7,90 (2H, m), 7,95 (1H, s).

19. példa

transz-7-Acetil-4-(4-fluor-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol

Op.: 189-193°C.

20. példa

transz-6-Acetil-4S-(2-fluor-5-piridin-karbonil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol

Op.: 84°C.

21. példa

transz-6-Acetil-4-(2-fenoxi-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol

Op.: 208°C.

Az alábbi példák szerinti vegyületeket a fent leírt eljárásoknak megfelelően állítjuk elő.

22. példa

transz-6-Acetil-4-(2-klór-5-fluor-2-tiofén-karbonil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol

23. példa

cisz-6-Acetil-4-(2-klór-5-fluor-2-tiofén-karbonil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol

Farmakológiai adatok

1) Patkány szociális kölcsönhatás tesztvizsgálat

A találmány szerinti (I) általános képletű vegyületeket vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóikat terápiás felhasználhatóság céljából, az alábbi eljárásokkal vizsgáltuk:

A potenciális szorongásos hatást a patkány szociális kölcsönhatás eljárás segítségével vizsgáltuk, amely a File (180, J. Neurosci. Methods, 2, 219-238) közleményben leírt eljárás. Ebben az esetben a szorongást kiváltó hatóanyagokkal szelektíven növelték a szociális kölcsönhatást anélkül, hogy bármely hatást kifejtettek volna a lokomotor aktivitásra

(helyzetváltoztatási aktivitás).

Eljárás

Hím Sprague-Dawley patkányokat (Charles River, U. K., 250-300 g testtömeg) 3 napon át a tesztvizsgálat előtt egyenként ketrecekben tartottunk. A tesztvizsgálati napon az állatokat véletlenszerűen 8-16 tagot számláló csoportokba helyeztük, majd orálisan 1 ml/kg különféle dózisú találmány szerinti vegyületet (1-300 mg/kg) vagy hordozóanyagot adagoltunk nekik. A dózis adagolása után az állatokat egy tömeg, illetve kezelés illesztett hím párba helyeztük (első alkalommal találkozó állatok). Az egybezárást egy szociális interakciós ketrecben végeztük, amely igen erősen megvilágított és az állatok számára nem természetes körülmény. A találkozási ketrec fehér perspex 54 x 37 x 26 cm-es doboz, amely az előoldalon átlátszó fallal rendelkezik. A ketrec alapja 24 egyenlő négyzetre bontott és ez igen nagymértékben megvilágított (115 lux). Az aktív szociális kölcsönhatással töltött időt (másodperc) (szimatolás, vakarászás, követés, felállás, alá- vagy fölélmászás, verekedés és harcolás) "vak-próbának" tekintettük távoli követéssel, és így ezt egy adott jelzőszámmal adtuk meg (a mozgás, illetve helyzetváltoztatás indexének tekintettük).

A szociális kölcsönhatásban eltelt időt, a jelzőszámok átlagát, illetve standard hibáját számítottuk minden egyes kezelt csoport, illetve minden egyes hatóanyag esetében. Ezeket az értékeket a kontroll csoporttal összehasonlított

növekedési százalékban fejeztük ki. Statisztikus összehasonlítást végeztünk a hordozóanyag, illetve a hatóanyaggal kezelt csoportok között a Dunnett többszörös összehasonlítási eljárással, amely egy egyutas variációs jelentőség számítás.

A hatóanyagokat 1 % metil-cellulózban szuszpendáltuk.

2) MEST tesztvizsgálat

A maximális elektrosokk epilepsziás roham (MES) határérték tesztvizsgálat rágcslókban különösen érzékenyen mutatja az adott vegyület potenciális görcs-ellenes hatását¹. A modellben a görcs-ellenes hatóanyagok megnövelik az elektromosan indukált rohamokkal szembeni határértéket, míg a görcsöt elősegítő anyagok ezt a határértéket csökkentik.

Eljárás

Hím egereket (Charles River, U. K. CD-1 törzs, 25-30 g testtömeg) esetlegesen 10-20 tagú csoportokba osztottunk, majd 10 ml/kg dózisértékben orális vagy intraperitoneális úton különféle vegyületekkel (0,3-300 mg/kg) vagy hordozóanyaggal kezeltük. Ezt követően a dózist követő 30. vagy 60. percben az állatokat elektrosokkknak (0,1 másodperc, 50 Hz, sin függvény) vetettük alá. Ezeket szaruhártyába vezetett elektródok segítségével alkalmaztuk. Az átlagos áramot, valamint a standard hibát, amely a tonikus görcsöt okozza, 50 % (CC₅₀) értékben az egérben egy adott kezelt csoport esetében, az úgynevezett "fent és lent" eljárással mértük; Dixon és Mood (1948)². A

hordozóanyag, valamint a hatóanyag által kezelt csoportok közötti statisztikus összehasonlítást a Litchfield és Wilcoxon (1949)³ közleményében leírt eljárással mértük.

A kontroll állatokban a CC_{50} érték általában 11-18 mA, volt. Ebből eredően a kontroll csoportban az első állatot 16 mA értékkel kezeltük. Amennyiben a tonikus görcs nem állt be, akkor a következő egér esetében az áramerőt megnöveltük. Amennyiben a tonikus görcs beállt, akkor az áramerőt csökkentettük, és így addig végeztük ezt a csökkentést, amíg a csoportba tartozó összes állatot nem vizsgáltuk.

A CC_{50} érték növekedési vagy csökkenési százalékát minden állatcsoport esetében összehasonlítottuk a kontroll állatoknál tapasztaltakkal és ebből százalék értéket számítottuk.

A vizsgálatokat egy Hugo Sachs Electronik Constant Current Shock Generator készülékkel végeztük. Egy 0-300 mA érték közötti 2 mA lépésekben változtatható sokk kontrollt alkalmaztunk a készüléken.

A hatóanyagokat 1 % metil-cellulózban szuszpendáltuk.

Referenciák

1. Loscher, W. és Schmidt, D. (1988), *Epilepsy Res.*, 2:145-181
2. Dixon, W. J. és Mood, A. M. (1948), *J. Amer. Stat. Assn.*, 43:109-126
3. Litchfield, J. . és Wilcoxon, F. (1949), *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 96:99-113.

Eredmények

A 17. példa szerinti vegyület a sokk határértéket 105 %-kal 10 mg/kg perorális adagolás esetében megnövelte.

3) X-zavarodottság

Az (I) általános képletű találmány szerinti vegyületeket vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóikat a terápiás felhasználás céljából az alábbi eljárásban vizsgáltuk.

Bevezetés

A X-labirintus tesztvizsgálatot (Handley és Mithani, 1984) közleményben leírtak szerint végeztük és ez azt vizsgálja, hogy naív patkányok milyen felderítő mozgást végeznek egy olyan környezetben, amely részben szorongságos (nyitott karok), részben nem szorongásos (zárt karok) környezetet biztosít a számukra. A nyitott karok felfedezésének szelektív növelése a hatóanyaggal történő kezelés után azt jelenti, hogy a hatóanyag szorongásos hatást eredményez.

Eljárás

70 cm-rel a talaj fölött egy X-labirintust alakítottunk ki, és ez a labirintus két összefüggő karral rendelkezett, amely 45 cm (hosszúság) x 15 cm (szélesség) x 10 cm (magasság) méretű volt, továbbá két nyitott karral rendelkezett, amelyek

45 x 10 x 1 cm méretűek voltak. A két kar úgy volt elhelyezve, hogy ezek egymással szemben helyezkedjenek el. Mindkét kartípus két egyenlő szekcióban helyezkedett el. A patkányokat az X-labirintus közepére helyeztük, majd 10 perc időtartam alatt megfigyeltük mozgásukat. Az alábbi paramétereket vizsgáltuk: 1) a belépések számát, illetve az egyes kamrákban töltött időt (a) nyitott kapuk, (b) zárt kapuk, (c) nyitott kapuk vége és (d) zárt kapuk vége mellett. 2) az adott szekciókon áthaladási számot mértük. Egy félelemszerű viselkedést tapasztaltunk a nyitott kapukon keresztül a zárt kapukhoz viszonyítva és a patkányok általában előnyben részesítették a zárt kapukat. A szorongást csökkentő hatóanyagok általában megnövelték a behaladás számát, illetve a benntartózkodás számát a fél-nyitott kapukon kívül, ezen túlmenően megnövelték a teljesen nyitott kapukon történő áthaladás számát, valamint az ezen történő tartózkodás idejét. A szorongás fenti négy fajtájának mérése alapján, valamint a szekciókon a keresztülhaladás összes idejét mértük és minden egyes állat esetében meghatároztuk. A hatóanyagokat intraperitoneális vagy orális úton adagoltuk 6-12 patkánynak a tesztvizsgálat előtt 30-60 perc értékben. A hordozóanyag, illetve a hatóanyag által kezelt csoportokat összehasonlítottuk és a statisztikus mérést Mann-Whitney "U" tesztvizsgálattal értékeltük (kétsoros tesztvizsgálat).

S. L. Handley és S. Mithani, Arch. Pharmacol., (1984) 327:1-5.

4) Keverék kutyaikon végzett késleltetett agyi érgörccs
tesztvizsgálat

Az (I) általános képletű találmány szerinti vegyületeket, valamint gyógyszerészetileg elfogadható sóikat az alábbi tesztvizsgálat szerint, terápiás célra vizsgáltuk:

A vizsgálatokban 25 keverék fajú kutyát alkalmaztunk, amelyek testtömege 9-12 kg volt. Az állatokat a megfelelő kezelési módszerek, illetve az analitikai laboratóriumi vizsgálatokhoz szükséges körülmények között tenyésztettük [DHEW (DHHS), közzétételi szám (NIH) 85-23, ellenőrzött 1985]. A kísérletben alkalmazott valamennyi laboratóriumi tesztvizsgálatnak alávetett állatot az Institutional Animal Care and Use Committee of Smith Kline Beecham Pharmaceutical általi módszerrel vizsgáltuk, és ezek alkalmazását jóváhagytuk. Valamennyi állatot pentobarbital (35 mg/kg, iv) injekció segítségével érzéstelenítettük és ezt követően egy fűtött tesztvizsgálati lapra helyeztük hanyattfekvő állapotban. Valamennyi állat esetében légcsőmetszést, majd érzéstelenítést végzünk (tubocurarine; 0,1 mg/kg i.v.), és az állatokat szobai levegővel mesterségesen lélegeztetjük. A végső belélegzett levegőt (CO₂-tartalom vonatkozásában) mértük, illetve artériás vérvizsgálatot végeztünk időszakonként abból a célból, hogy az egyes kísérletek során az artériás vér gázellátását biztosítsuk. A bal külső nyaki vénába polietilén kanült és a jobb combi artériába, illetve vénába is kanült helyeztünk. Ezeken keresztül adagoltuk a hatóanyagot, az artériás vérnyomást mértük, továbbá vérmintákat vettünk. A combi

katéterezés során a bal vertebrális artériába egy bal combi artérián keresztül öt Lehman dakron katétert helyeztünk (Bard, Tewksbury MA). Amennyiben szükséges, további érzéstelenítést gyakoroltunk pentobarbital (5 mg/kg, i.v.) segítségével a kísérlet megkezdése előtt.

A találmány szerinti vegyületek akut agyi érgörcsre való hatását 15 kutyán vizsgáltuk. Valemennyi állat esetében kontroll digitális angiogram levonást végeztünk az elülső gerincartéria, illetve a basilaris artéria területén, miután az intravertebrális radiokontrast anyag injektálását elvégeztük (Omnipaque 300). Minden egyes kutya esetében ezután 4 ml cerebrospinalis folyadékmintát vettünk a dorsalis cisternából az alhasi csigolyán keresztül végzett tűszúrással az alhasi csigolyamembránon keresztül. Ezt követően 4 ml autolog vénás vért injektáltunk. Ezután minden egyes kutya esetében az angiogram mérését elvégeztük az intracisternális véradagolás után 30 perccel és mértük az akut érgörcs kialakulást basiliáris, illetve elülső gerinci artériákban és ennek mennyiségi értékét is meghatároztuk. A hordozóanyag (10 % polietilén-glikol 200) adagolása 30 percen át nem fejtett ki hatást az akut érgörcsre. A tesztvizsgálati vegyület 30 percen át történő infúziója az akut érgörcsöt megfordította a basilaris és az elülső gerincartériákban.

A találmány szerinti vegyületek hatását ezen túlmenően krónikus kutya-modellekben is vizsgáltuk, amelyek késleltetett celebrális érgörcsben szenvedtek (két haemorrhagiás modell, amely cerebrális érgörcsben szenved). A modellben kontroll vertebrális angiogrammot mértünk és autolog vért adagoltunk

intracisternás módon az első napon (a fentiek szerint). A harmadik napon a vér intracisternális adagolását megismételtük és így súlyos késleltetett érgörcsöt mértünk és angigráfiás módon a 7. napon az összes állatban ezt kvantitatív módon is kimutattuk. Az infúziós hordozóanyag (10 % polietilén-glikol 200) 60 percen át történő alkalmazása nem befolyásolta a késleltetett érgörcsöt, amelyet a balisiliaris és az első gerinci artériákban megfigyelhetünk (n = 5). A tesztvizsgálati vegyületek infúziója megfordított a jelentősen csökkentett cerebrális érgörcsöt, amely azt jelenti, hogy a hatóanyagok aktívak ebben a szimptomában.

5) Az (I) általános képletű vegyületeket vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóikat terápiás szempontból az alábbiak szerint vizsgáltuk:

1) Anti-Parkinson aktivitás

6-hidroxi-dopamin-sérült patkány modell

A tesztvizsgálatot leírták a Ungerstedt, U, 1971, Acta Physiol. Scand 367:49-68 és/vagy

Ungerstedt, U, 1971, Acta Physiol Scand. 367:69-93 közleményben és így meghatározhatjuk az (I) általános képletű vegyület vagy gyógyszerészetileg elfogadható sói Parkinson-kór ellenes hatását.

2) Anti-pszichotikus aktivitás

Amfetamin-indukált patkány hipermozgási modell

A tesztvizsgálatot a Kokkindis L. és Anisman, M, 1980, Psychological Bulletin, 88:551-579 közlemény szerinti eljárással hajtottuk végre, és így meghatároztuk az (I) általános képletű vegyületek vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóik anti-pszichotikus hatását.

3) Migrén-ellenes aktivitásKérgi terjedő depresszió és migrén

A tesztvizsgálatot Wahl és munkatársai, 1987, Brain Research, 411:72-80 közlemény szerint végeztük és így meghatároztuk az (I) általános képletű vegyületek vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóik migrén ellenes hatását.

Állatok előkészítése

A kísérleteket 2,5-3,3 kg testtömegű nőtény vagy hím macskákon végeztük, amelyeket a kísérlet előtt éjszakán át éhezttünk, de vízzel szabadon elláttunk. Az érzéstelenítést 4-5 %-os halotán segítségével indukáltuk, majd ezt intravénás adagolással α -kloralóz (90-110 mg/kg) adagolással fenntartottuk. A rektális hőmérsékletet, valamint a sav-bázis egyensúlyt a fiziológiai határértéken belül tartottuk. A jobb combi artériát, valamint vénát kanüllel láttuk el azért, hogy sorrendben a vérnyomást mérjük, illetve az artériás vérmintavételt, valamint a hatóanyagadagolást megoldjuk. A szívverés sebességét ugyancsak a vérnyomás értékből mértük és ezt rögzítettük. A jobboldali koponyacsont-fali lékelés elvégzése után, illetve a bemetszés elvégzésével az agyat előre me-

legített 37°C hőmérsékletű ásványi olajjal fedtük. Az eredmény átmérőjnek változását mértük egy életállapotban végrehajtott videomikroszkópikus mérés segítségével és videoszalagon rögzítettük.

A kéregelterjedésű depresszió indukálása

CSD anyagot indukáltunk kis mennyiségben (30 mg kristály) KCl formában a suprasylvianus területre, amely a mérő elektródoktól, megfigyelt erektől és egyéb vérerektől távoli. Ezt követően, amint az agyat meleg ásványi olajjal fedtük, a KCl lassan az agyba oldódott 5 perc adagolási időtartam alatt. Ezt követően a maradék KCl anyagot az agy felületéről fiziológiás sóoldattal lemostuk. Az extracelluláris potenciál, illetve az artériában és a vénában mérhető átmérő változását mértük 120 percen át.

Hatóanyagkezelés

A 17. példa szerinti vegyület szuszpenzióját (10 mg/kg, i.p.) vagy a hordozóanyagot (1 % labrasol i.p.) adagoltuk a CSD indukálás előtt 90 perccel.

A kontroll állatokban a KCl-indukált reprodukálható CSD hatást mértük (n = 4) a megfigyelési időtartam alatt. Ezzel szemben a 17. példa szerinti vegyületekkel kezelt állatok (n = 3) esetében csak a kezdeti CSD hatást mértük a KCl adagolás vonatkozásában. A kontroll és a kezelt állatcsoportokban a CSD esetek összes átlagos (minimum - maximum) száma sorrendben 5,5 (4-9) és 2 (1-2) érték volt. A CSD - hasonló események hossza általában $6,3 \pm 6$ perc (n = 4) volt a kont-

roll állatokban és ez jelentősen csökkent ($p < 0,05$) a 17. példa szerinti vegyületekkel kezelt állatokban ($n = 3$) $13,7 \pm 0,3$.

4) Agyi ischaemia

a) Mongol egér tesztvizsgálat

Az in vivo tesztvizsgálatot felnőtt mongol egereken (Tumblebrook Farm (MA) amelyek 60-80 g testtömegűek) hajtottuk végre. Átmeneti előagyi ischemiát idéztünk elő úgy, hogy bilaterális nyaki verőér elköttést alkalmaztunk 2,5 % izoflurán 100 %-os oxigénben történő anesztézia alkalmazásával és az állatokat olyan melegítő lapra helyeztük, amely a testhőmérsékletet 37°C értéken tartotta. Az együttes nyaki verőér artériákat aneurisma klippekkel zártuk, és ezeket mindkét artériába behelyezzük bizonyos időtartam alatt, amelyet az ábra jeleiben megjelöltünk. Bólus formában PBN fiziológiai sóoldatban készült oldatát adagoltuk intraperitoneális úton az elzáródás előtt 30 perccel (előkezelés) vagy közvetlenül a reperfúzió után, illetve a reperfúziót követő 6. órában.

Ugyanazt a dózist alkalmaztuk, b.i.d. 2 napon át (utókezelés). Az állatokat az ischemia után 7 nappal a CA1 neuronok mennyiségi meghatározása számára elpusztítottuk, majd pufferelt formalinnal perfúziót hajtottunk végre. Ezt követően az agyakat eltávolítottuk, majd 3 napon át formaliban tároltuk. Az az oldat paraffinba ágyazott volt. Ezt követően az elegyet $7\text{ }\mu\text{m}$ vastag körös szekciókra ($1,5\text{-}1,9\text{ mm}$ a koponyatető előtt és után¹⁵) metszettük és tioninnal festettük. Az érintetlen neuronokat, - amelyek nagyobb, mint $750\text{ }\mu\text{m}$ CA1 ré-

teghosszúságúak a hippokampális oldalon -, a három metszetben minden egyes állat esetében számoltuk.

b) MCAO eljárás

A vizsgálatban érett, hím patkányokat (SHR) alkalmaztunk, amelyeket kereskedelembe szereztünk be (Taconic Farms, Germantown, NY; Charles River, Danvers, MA; és Charles River). Az állatok 18 hetesek voltak és testtömegük 250-300 g volt. Az állatokat a felhasználás előtt 2-4 héten át klimatizálásként tároltuk. Abból a célból, hogy meghatározzuk, hogy az állatok törzse megfelelő, ezeket vizsgálatnak vetettük alá, és megállapítottuk, hogy ezek magasvérnyomású vagy normális vérnyomású minták, és ezután az egyes törzsekből származó állatokat 2 % izofluránnal érzéstelenítettük (Anaquest, Madison, WI), majd krónikus állapotba vittük aszeptikus körülmények között abból a célból, hogy a vérnyomást megállapíthassuk. A combi artériába kanült helyeztünk egy polietilén cső segítségével (PE60; Clay Adams. Parsippany, NJ), amely a lemenő aorta területéig terjedt ki. A csővezeték az artériától terjedt és a lapocka irányába haladt, amely a nyak mögött helyezkedett el, és ezt steril izotóniás sóoldattal tisztítottuk/töltöttük. A bemetszéseket 2-0 selyem varrattal láttuk el, majd 5 %-os lidokain kenőccsel kezeltük (Astra Pharmaceuticals, Westborough, M.A.). A sebészeti beavatkozásból, illetve érzéstelenítésből az állatok 5 percen belül feléledtek. Ezt követően a sebészeti beavatkozás után az átlagos artériás vérnyomást mértük 4-5 órán keresztül 5 perc/patkány gyakorisággal. Minden egyes patkányt külsőleg megfelelő Statham nyomásátalakítóra kötöttünk

(P2.3Db; Statham Medical Instruments, Los Angeles, CA).

A jelzőberendezést poligráfra kötöttük (Model R711; Beckman Instruments, Inc., Fullerton. CA).

Góc-Stroke eljárás

Az MCAO vagy ál beavatkozás sebészeti folyamatát a SHR, SD patkányokban végeztük nátrium-pentobarbitállal végzett (65 mg/kg i.p. és szükség szerint további adagolt) érzéstelenítés mellett. Valamennyi állatnak szabadon táplálékot és vizet biztosítottunk a sebészeti beavatkozás előtt, valamint ezt követően. Az állatok testhőmérsékletét melegítő pad segítségével a sebészeti eljárás során 37°C hőmérsékleten tartottuk. A sebészeti beavatkozást a korábban leírt (2.4) eljárásnak megfelelően hajtottuk végre. A patkányon borotváltuk és providon-jóddal előkészítettük a dorsális felületet, majd a patkányt sztereotaxikus eszközbe helyeztük (David Kopf Instruments, Tujunga, CA). A sebészeti beavatkozást a fej felső területének jobb oldalán végeztük. A szemüreg és az externális hallójárat között 1-2 cm méretű bemetszést végeztünk. A halánték izmot a koponyából kimetszettük, majd a járomcsont vagy az állkapcsi ideg megsértése nélkül kivontuk. Egy működő mikroszkóp alatt fiziológiai sóoldattal történő átöblítés után 2-3 mm kraniotomiát végeztünk és így csak a járomcsonti-pikkelyes koponyavarrat melletti rostrális metszetet készítettünk. A kemény agyburkot felnyitottuk az artéria fölött egy módosított tű segítségével, amely egy 30-méretű tű. A permanens jobb MCAO előállítása céljából elektrokoagulációt végeztünk (Force 2 Electrosurgical Generator, Valley Lab Inc., Boulder, CO). Az artériát

párhuzamosan lezártuk és a dorsalist az oldal szaglási traktusból metszettük az alsó cerebrális véna szintjén. Kis méretű steril fiziológiás sóoldattal mosott darab Gelfoam-ot (Upjohn, Kalamazoo, MI) ezután a kraniotomia fölé helyeztünk, majd a halánték izmot és bőrt két rétegben lezártuk. Az állatokat hagytuk érzéstelenítésből felébredni egy melegítő lámpa alatt, majd ezt követően a ketreceikbe visszahelyeztük őket. Az MCAO operációt követően az állatokat 24 órával elpusztítottuk, majd az agyat kipreparáltuk reaktív hisztológiai vizsgálat céljából.

Ischaemiás károsodás mérése

A neurológiai értékelést követően (24 órával a sebészeti beavatkozás után) a patkányokat eutanalizáltuk nátrium-pentobarbitál túladagolás segítségével. 2-3 percen belül az agyakat eltávolítottuk és 6 coronalis előagyi metszetet (2 mm vastag) készítettünk. A metszeteket a szaglászervi szervek szintjén készítettük a kéreg-cerebelláris kapcsolódás területen egy patkány agy metsző segítségével [(59); Zivic-Miller Laboratories Inc., Allison Park, PA]. A kapott előagyi metszeteket azonnal 1 %-os trifenil-tetrazólium-klorid (TTC) foszfátpufferben készült oldatba merítettük 37°C hőmérsékleten és 20-30 percen át (6,78) ebben tartottuk. Ezt követően a festett szöveteket fixáltuk 10 %-os foszfát-pufferelt formalin oldat segítségével. Minden egyes TTC-festett metszet két oldalát színes fotóval lefotóztuk polaroid kamera segítségével. A fényképeket az ischaemiás sérülés szempontjából méréssel analizáltuk ábra analízisrendszer segítségével (Amersham RAS 3000;

Loats Associates, Inc.).

A sebészeti beavatkozást követő morfológiai változásokat a teljes előagyban minden egyes állat esetében vizsgáltuk (összesen 11 sík felületen). Minden egyes állat esetében 11 sík ábrát nyerünk a sík felületekről. A 11 sík ábrát a hat 2 mm vastag metszetek mindkét oldaláról nyertük és ez körülbelül 1 mm méretű metszetfelület + 5 mm - 5 mm kopanyatető metszet (97) mérésének felel meg és egyben a teljes előagyat tartalmazza. Ezeket a planáris képeket és felületeket a fényképekről digitalizáltuk és az Image Analysis Sistem segítségével planimetriás meghatározást végeztünk az infarktus méretéről, illetve a duzzadásról. Az MCAO következtében létrejött ischemiás károsodás két paraméterét minden egyes metszet esetében meghatároztuk a korábban leírtak szerint (2,4,98,122).

A "hemiszférás duzzadást" az ugyanazon oldali méretnövekedés (azaz a sebészeti oldali) hemiszféra százalékos növekedésben adtuk meg az ellenkező oldali (normál) hemiszférával összehasonlítva és ezt az alábbiak szerint számítottuk:

$$\text{hemiszféra} = \frac{\text{ugyanazon oldali hemiszféra terület} - \text{ellenkező oldali hemiszféra terület}}{\text{ellenkező oldali hemiszféra terület}} \times 100$$

Az "infarctus méretet" úgy számítottuk, hogy a referencia állatban az ellenkező oldali (normál) hemiszféra infarctus %-át mértük és az alábbiak szerint számítottuk:

$$\begin{array}{l} \text{hemiszféra} \\ \text{infarctus} = \\ \text{méret \%} \end{array} = \frac{\text{infarctusos terület}}{\text{ellenkező oldali hemiszféra terület}} \times 100$$

A duzzadást, valamint az infarctus méretet az ellenkező oldali hemiszférára vonatkoztatva adtuk meg (azaz az ugyanazon oldali ischemiás sérülést normáltuk a normál ellenkező oldali hemiszférára vonatkoztatva. Ezeket a paramétereket minden egyes metszetre meghatároztuk abból a célból, hogy az egész előagyon keresztül a sérülés profilt meghatározzuk (azaz "előagy profilt" adjunk meg), továbbá, hogy meghatározzuk az "összes" előagy változást úgy, hogy minden egyes metszet adatait összegeztük ezekben a képletekben.

Az MCAO-t követő agy ödéma előfordulást, amely a hemiszféra duzzadással jár együtt, meghatároztuk úgy, hogy megmértük a nedves/száraz tömeget a korábbiakban leírtaknak megfelelően (45,118). A patkányokat a nátrium-pentobarbitál túladagolásával öltük meg 24 órával a MCAO sebészti beavatkozást, illetve az álkísérletet követően. Az agyakat gyorsan eltávolítottuk a cerebelláris csatlakozásnál izoláltuk és két hemiszférára metszettük. Minden egyes előagy hemiszférát Mettler típus H5 kémiai mérlegen (Mettler Instruments Corp. Hightstown, NJ) mértük a lefejezést követő 2 perc elteltével. A száraz tömeget ugyanezen a skálán mértük, miután a hemiszférát 80°C hőmérsékleten 48-72 órán át szárítottuk. Minden egyes hemiszféra víztartalmát meghatároztuk a nedves és a száraz tömeg összehasonlításával és a nedves tömeg százalékos értékében fejeztük ki az alábbiak szerint:

$$\text{víztartalom \%} = \frac{\text{nedves tömeg} - \text{száraz tömeg}}{\text{nedves tömeg}} \times 100$$

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Az alábbi vegyületek vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóik:

cisz-6-acetil-4S-(2,3-diklór-benzoil-amino)-3,4-dihidro-
-2H-1-benzopirán-3S-ol,

transz-6-acetil-4S-(2,3-diklór-4-fluor-benzoil-amino)-
-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(3,5-diklór-benzoil-amino)-3,4-
-dihidro-2,2-dimetil-2H-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(3,5-difluor-benzoil-amino)-3,4-
-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-Acetil-4-(2-tiofén-karbonil-amino)-3,4-dihidro-
-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol,

transz-6-acetil-4S-(3-tiofén-karbonil-amino)-3,4-dihidro-
-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(2,5-diklór-3-tiofén-karbonil-amino)-
-3,4-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

cisz-6-acetil-4S-(2,5-diklór-3-tiofén-karbonil-amino)-
-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol,

transz-6-acetil-4S-(2,3,5-triklór-benzoil-amino)-3,4-di-
hidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(2,3,4-trifluor-benzoil-amino)-3,4-di-
hidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-benzoil-amino-3,4-dihidro-2,2-dimetil-
-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(3-jód-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(5-fluor-2-metil-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4S-(5-klór-2-metoxi-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4-(2,3-dimetil-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol,

cisz-6-acetil-4S-(2,3-diklór-4-fluor-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol,

cisz-6-acetil-4S-(3-klór-4-fluor-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol,

transz-6-acetil-4S-(2-fluor-5-piridin-karbonil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

transz-6-acetil-4-(2-fenoxi-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol,

transz-7-acetil-4-(4-fluor-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3-ol,

transz-6-acetil-4S-(2-klór-5-fluor-2-tiofén-karbonil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3R-ol,

cisz-6-acetil-4S-(2-klór-5-fluor-2-tiofén-karbonil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol, és

cisz-6-acetil-4S-(2,3,4-trifluor-benzoil-amino)-3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-1-benzopirán-3S-ol.

2. Gyógyszerkészítmény, amely alkalmas szorongás, mánia, depresszió, szubarachnoid haemorrhagiával vagy idegi sokkal

kapcsolatos betegségek, kokain, nikotin, alkohol és benzodiazepin hatóanyagok túlzott használata után bekövetkeztő megvonási tünetek, görcsoldó szerekkel kezelhető vagy megelőzhető betegségek, mint például epilepszia, Parkinson-kór, pszichózis, migrén, agyi ischaemia, Alzheimer-kór, skizofrénia és/vagy agresszió kezelésére és/vagy megelőzésére, azzal jellemezve, hogy az 1. igénypont szerinti vegyületet vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóját, valamint gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyagot tartalmaz.

3. Eljárás szorongás, mánia, depresszió, szubarachnoid, haemorrhagiával vagy idegi sokkal kapcsolatos betegségek, kokain, nikotin, alkohol és benzodiazepin hatóanyagok túlzott használata után bekövetkeztő megvonási tünetek, görcsoldó szerekkel kezelhető vagy megelőzhető betegségek, mint például epilepszia, Parkinson-kór, pszichózis, migrén, agyi ischaemia, Alzheimer-kór, skizofrénia és/vagy agresszió kezelésére és/vagy megelőzésére, azzal jellemezve, hogy az ilyen kezelést igénylő betegnek az 1. igénypont szerinti vegyület vagy gyógyszerészetileg elfogadható sója hatásos vagy megelőzésben hatásos mennyiségét adagoljuk.

4. Az 1. igénypont szerinti vegyület vagy gyógyszerészetileg elfogadható sója alkalmazása gyógyszer előállítására, amely alkalmas szorongás, mánia, szubarachnoid hemorrhagiával vagy idegi sokkal kapcsolatos betegség, kokain, nikotin, alkohol és benzodiazepin túlzott fogyasztása után bekövetkező megvonási tünetek, görcsellenes szerekkel kezelhető vagy

megelőzhető betegségek, mint például epilepszia, Parkinson-kór, pszichózis, migrén, agyi ischaemia, Alzheimer-kór, skizofrénia és/vagy agresszió kezelésére és/vagy megelőzésére.

5. Gyógyszerkészítmény, azzal jellemezve, hogy az 1. igénypont szerinti vegyületet vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóját és gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyagot tartalmaz.

6. Az 1. igénypont szerinti vegyület vagy gyógyszerészetileg elfogadható sója alkalmazása terápiás szerként, különösen szorongás, mánia, depresszió, szubarachnoid haemorrhagiával vagy idegi sokkal kapcsolatos betegségek, kokain, nikotin, alkohol és benzodiazepin hatóanyagok túlzott használata után bekövetkeztő megvonási tünetek, görcsoldó szerekkel kezelhető vagy megelőzhető betegségek, mint például epilepszia, Parkinson-kór, pszichózis, migrén, agyi ischaemia, Alzheimer-kór, skizofrénia és/vagy agresszió kezelésére.

Dr. J. Katalin
10

A meghatalmazott

Dr. J. Katalin
[Signature]
Dr. J. Katalin
1111 Budapest, Andrássy út 143.
Telefon: 34 24 951, fax: 34 24 951