(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 930364 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 930364

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification (IPC^5)
C07D403/12

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **22.07.1991**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **28.01.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **24.03.1993**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - Internationell ansökan - International application **22.07.1991 PCT/US1991/005155**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

31.07.1990 US 560776

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **Allergan, Inc.,** 2525 Dupont Drive, Irvine Cal. 92715, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Gluchowski, Charles,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

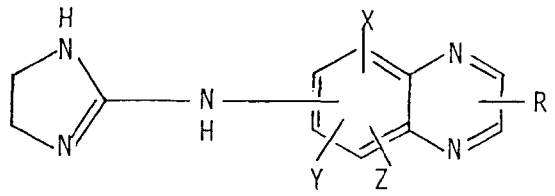
(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention
(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinijohdannaiset ja menetelmät niid en käyttämiseksi
(2-imidazolin-2-ylamino)kinoxalinderivat och förfaranden för användnin g av desamma

(2-imidatsolin-2-yyliamino)kinoksaliinijohdannaisia ja menetelmiä niiden käyttämiseksi - (2-imidatzolin-2-yyliamino)kinoxalinderivat och metoder för att använda desamma

Tämä patenttihakemus on osittain jatkoa ratkaisemattomalle patenttihakemukselle sarjanumero 420 817, jätetty 12. lokakuuta 1989.

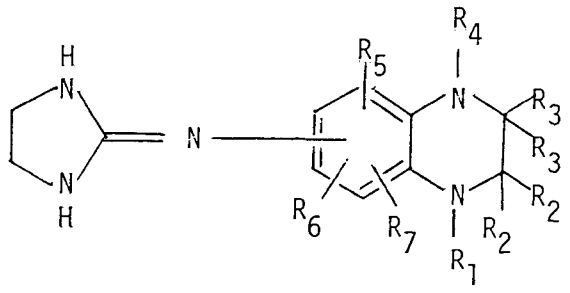
Tämä keksintö koskee uusia kinoksaliinin substituoituja johdannaisia. Tarkemmin sanoen tämä keksintö koskee sellaisia johdannaisia, jotka ovat hyödyllisiä terapeuttisina aineina, esimerkiksi aikaansaamaan silmänsisäisen paineen alentamisen, lisäämään munuaisnesteen virtausta ja aikaansaamaan nesteen siirtonopeuden muutoksen maha-suolistoseudulla.

Erilaisia kinoksaliinijohdannaisia on ehdotettu terapeuttisiksi aineiksi. Esimerkiksi Danielewicz et al. paljastavat U.S. patentissa 3 890 319 sydänverisuonisysteemin säätelijöinä yhdisteitä, joilla on seuraava kaava:



jossa 2-imidatsolin-2-yyliaminoryhmä voi olla missä tahansa kinoksaliinirytimen 5-, 6-, 7- tai 8-asemista; X; Y ja Z voivat olla missä tahansa jäljelle jäävistä 5-, 6-, 7- tai 8-asemista ja ne voi olla valittu vety- tai halogeeniatomeista, alemmista alkyyli-, alemmista alkoksi- tai trifluorimetyyliryhmistä; ja R on valinnainen substituentti joko kinoksaliinirytimen 2- tai 3-asemassa ja voi olla vetyatomi, alempi alkyyliryhmä tai alempi alkoksiryhmä.

Tämän keksinnön uudet yhdisteet ovat niitä, joilla on kaava:



ja niiden farmaeuttisesti hyväksyttäviä happolisäysuoloja, jossa R_1 ja R_4 on toisistaan riippumatta valittu ryhmästä, johon kuuluvat H ja 1 - 4 hiiliatomia sisältävät alkyyliradikaalit, R_2-ryhmät ovat molemmat H-atomeja tai 1 - 4 hiiliatomia sisältäviä alkyyliradikaaleja tai ovat yhdessä oksoryhmä; R_3-ryhmät ovat molemmat H-atomeja tai 1 - 4 hiiliatomia sisältäviä alkyyliradikaaleja tai ovat yhdessä oksoryhmä edellyttäen, että R_2-ryhmät tai R_3-ryhmät ovat alkyyliradikaaleja; 2-imidatsolin-2-yyliaminoryhmä voi olla missä tahansa kinoksaliinirytimen 5-, 6-, 7- tai 8-asemista; ja R_5, R_6 ja R_7 ovat kukin sijoittuneet yhteen jäljelle jäävistä kinoksaliinirytimen 5-, 6-, 7- tai 8-aemista ja on toisistaan riippumatta valittu ryhmästä, johon kuuluvat Cl-, Br- ja H-atomit ja 1 - 3 hiiliatomia sisältävät alkyyliradikaalit.

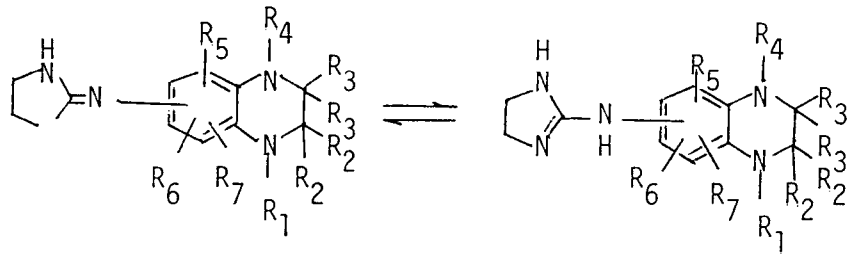
Erityisen hyödyllisiä yhdisteitä ovat ne, joissa R_1 ja R_4 ovat H, 2-imidatsolin-2-yyliaminoryhmä on kinoksaliinirytimen 6-asemassa, R_5 on valittu ryhmästä, johon kuuluvat Cl- ja Br-atomit ja 1 - 3 hiiliatomia sisältävät alkyyliradikaalit, edullisemmin Br-atomi ja se on kinoksaliinirytimen 5-asemassa, ja R_6 ja R_7 ovat H.

Eräässä toteutusmuodossa R_2- tai R_3-ryhmät ovat metyyliradikaaleja. Muut R_2- tai R_3-ryhmistä, ts. ne, jotka eivät ole alkyyli-, esim. metyyliradikaaleja, ovat H-atomeja tai ovat yhdessä oksoryhmä.

Tämän keksinnön yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä happolisäyssuoloja ovat ne, jotka on muodostettu hapoista, jotka muodostavat myrkyttömiä lisäyssuoloja, jotka sisältävät farmaseuttisesti hyväksyttäviä anioneja, kuten hydrokloridi-, hydrobromidi-, hydrojodidi-, sulfaatti- tai bisulfaatti-, fosfaatti- tai happofosfaatti-, asetaatti-, maleaatti-, fumaraatti-, oksalaatti-, laktaatti-, tartraatti-, sitraatti-, glukonaatti-, sakkaraatti- ja p-tolueenisulfonaattisuolat.

Esillä olevat yhdisteet saavat aikaan yhden tai useampia terapeuttisia vaikutuksia esim. nisäkkäillä. Näin ollen nämä yhdisteet ovat hyödyllisiä nisäkkään hoitomenetelmässä, jossa yhtä tai useampia näistä yhdisteistä annetaan nisäkkäälle riittävä määrä halutun terapeuttisen vaikutuksen aikaansaamiseksi nisäkkäällä. Esillä olevien yhdisteiden aikaansaamia haluttuja terapeuttisia vaikutuksia ovat nesteen siirtonopeuden muuttaminen nisäkkään maha-suolistoseudulla; silmänsisäisen paineen pienentäminen tai ylläpitäminen ainakin nisäkkään toisessa silmässä; ja munuaisten nestevirtauksen lisääminen ainakin nisäkkään toisessa munuaisessa.

Tämän keksinnön yhdisteet ovat edellä kuvatun kaltaisia. Kaikki stereoisomeerit, tautomeerit ja niiden seokset, jotka noudattavat yhden tai usampien esillä olevien yhdisteiden kaavojen ehtoja, sisältyvät tämän keksinnön suojapiiriin. Esimerkiksi molemmat tautomeerit



ovat tämän keksinnön suojapiirin puitteissa.

Esillä olevat yhdisteet voidaan valmistaa saatavilla olevista lähtöaineista. Esimerkiksi 4-nitro-1,2-fenyleenidiamiinin voidaan antaa reagoida asianmukaisen halidisubstituoidun karbonyylihalidin, erityisesti bromidisubstituoidun karbonyylibromidin kanssa. Tämä reaktio, joka saa aikaan yhden fenyleenirenkaassa olevan amiiniryhmän korvaamisen karbonyylihalidilla, on edullista suorittaa liuottimessa ja edullisesti lämpötilavälillä noin 10 - 50 °C, erityisesti noin huoneenlämpötilassa. Reaktiopaine on edullisesti sellainen, että liuotin pysyy oleellisesti nestefaasissa. Reaktio tapahtuu edullisesti ajassa, joka vaihtelee välillä noin 2 - 24 h. Esimerkkejä hyödyllisistä liuottimista ovat metyleenikloridi (CH_2Cl_2), kloroformi ($CHCl_3$), tetrahydrofuraani yms. Trialkyyliamiinia, esim. trietyyliamiinia voidaan käyttää osana liuotinta ja/tai edistämään tai helpottamaan substituointireaktiota.

Saatu haloamidi-isomeerien seos otetaan edullisesti talteen tavanomaisella tekniikalla esim. uuttamalla, pesemällä, kuivaamalla, väkevöimällä, kromatografisesti yms substituointireaktioseoksesta. Tämän jälkeen isomeerit syklisoidaan. Tämä syklisointi on edullista suorittaa lämpötilavälillä noin 10 - 50 °C, erityisesti huoneenlämpötilassa saattamalla isomeerit, edullisesti liuotettuna liuottimeen, kuten metyleenikloridiin, kosketukseen syklisointiaineen, kuten $AgBF_4$:n, $AgNO_3$:n yms kanssa. Reaktiopaine on edullisesti sellainen, että liuotin pysyy oleellisesti nestefaasissa. Reaktio tapahtuu edullisesti ajassa, joka vaihtelee välillä noin 1 - 24 h. Tavanomaista tekniikkaa, esim. edellä mainittuja voidaan käyttää syklisoitujen isomeerien talteenottoon. Kromatografiaa voidaan käyttää isomeerien erottamiseen ja niiden aikaansaamiseen oleellisesti puhtaassa muodossa.

Syklisoitu yhdiste, joka on valmistettu edellä esitetyllä tavalla ja tunnistettu nitrosubstituoiduksi kinoksalinoniksi, hydrataan nitroryhmän muuttamiseksi aminoryhmäksi. Tämä

hydraus tapahtuu edullisesti liuottaen nitrosubstituoitu kinoksalinoni nesteeseen, esim. alempaan alkoholiin, kuten metanoliin, etanoliin tms. Katalyyttiä, joka on tehokas edistämään hydrausta, on edullisesti läsnä. Esimerkkejä tällaisista katalyyteistä ovat platinaryhmän metallit, erityisesti palladium, platinaryhmän metallien yhdisteet, kuten platinaoksidi ja niiden seokset. Vetyä, esim. vapaata molekulaarista vetyä on läsnä vähintään riittävä määrä aikaansaamaan haluttu hydraus, edullisesti ylimäärin siihen nähden, mitä vaaditaan halutun hydrauksen aikaansaamiseen. Lämpötila ja paine, joissa hydraus tapahtuu, valitaan edullisesti pitämään nitrosubstituoitu kinoksalinoni ja hydrattu tuote oleellisesti nestefaasissa. Lämpötilat välillä noin 10 - 100 °C ja paineet välillä noin 50 - 500 kPa aikaansaavat usein hyväksyttävät tulokset. Näitä olosuhteita ylläpidetään riittävä aika halutun hydrausreaktion aikaansaamiseksi. Tämä aika on usein välillä 1 - 16 h. Hydrattu tuote erotetaan hydrausreaktioseoksesta ja otetaan talteen esim. käyttäen tavanomaista tekniikkaa.

Tässä vaiheessa hydrattu tuote voidaan saattaa yhteen tai useampiin reaktioihin yhden tai useamman ryhmän liittämiseksi haluttaessa yhdisteeseen. Esimerkiksi eräässä toteutusmuodossa on edullista, että tämän keksinnön lopullinen kinoksaliinijohdannainen sisältää vähintään yhden halidiryhmän, erityisesti bromiryhmän aromaattisessa rengasrakenteessa. Tällaisen bromiryhmän aikaansaamiseksi edellä mainittu hydrattu tuote bromataan. Tällainen bromaus voi tapahtua liuottamalla hydrattu tuote sopivaan liuottimeen, esim. jääetikkaan, trifluorietikkahappoon yms ja saattamalla tämä liuos kosketukseen bromin kanssa. Seos on edullista pitää sopivan alhaisessa lämpötilassa, esim. välillä noin 10 - 50 °C niin, että bromausastetta voidaan säätää. Jäähdyttäminen tai lämmön poistaminen reaktioseoksesta saattaa olla toivottavaa. Bromaus huoneenlämpötilassa saa aikaan tyydyttävät tulokset. Reaktiopaine on edullisesti sellainen, että liuotin pysyy oleellisesti nestefaasissa. Reaktio

tapahtuu edullisesti ajassa, joka vaihtelee välillä noin 0,25 - 6 h. Tavanomaista tekniikkaa, esim. alipainesuodatusta voidaan käyttää bromatun tuotteen talteenottamiseen, joka voi olla hydrobromidisuola.

Edellä mainitun hydratun tuotteen tai substituoidun hydratun tuotteen annetaan reagoida 2-imdiatsoliini-2-sulfonihapon kanssa tämän keksinnön 2-imidatsolin-2-yyliaminokinoksaliinijohdannaisen tuottamiseksi. Tällaiset johdannaiset sisältävät oksoryhmän. Tämä reaktio voi tapahtua liuottamalla reagenssit asianmukaiseen liuottimeen, esim. alkoholiin, kuten isobutanoliin ja lämmittämällä tämä liuos refluksoivaksi ilmakehän paineessa. Edulliset reaktiolämpötilat ovat välillä noin 50 - 150 °C. Reaktiopaine on edullisesti sellainen, että liuotin refluksoi tai pysyy oleellisesti nestefaasissa. Reaktio tapahtuu edullisesti ajassa, joka vaihtelee välillä 1 - 24 h. Tavanomaista tekniikkaa, esim. väkevöintiä ja kromatografointia voidaan käyttää halutun kinoksaliinijohdannaisen talteenottoon.

Esillä olevat kinoksaliinijohdannaiset, jotka eivät sisällä oksoryhmää, voidaan saada antamalla edellä kuvattujen oksoryhmän sisältävien kinoksaliinijohdannaisten reagoida oksoryhmän poistamiseksi. Tämä voidaan toteuttaa liuottamalla oksoryhmän sisältävä materiaali asianmukaiseen liuottimeen, esim. tetrahydrofuraaniin, etikkahappoon, trifluorietikkahappoon, dietyylieetteriin yms ja saattamalla tämä liuos alttiiksi hydridipelkistysaineelle, kuten $LiAlH_4$:lle, $NaBH_4$:lle, $NaCNBH_3$:lle yms. Reaktiolämpötiloja välillä noin 20 - 100 °C voidaan käyttää. Tavanomaista tekniikkaa, esim. jäähdytystä, väkevöintiä ja kromatografiaa voidaan käyttää esillä olevan kinoksaliinijohdannaisen aikaansaamiseksi, joka ei sisällä oksoryhmää.

Yhdisteiden saamiseksi, joissa ryhmien R_1 ja/tai R_4 on määrä olla alkyyliryhmiä, kinoksaliinijohdannaisen (jossa ei ole ryhmiä R_1 ja R_4 vastaavia substituentteja) voidaan an-

taa reagoida sopivan hydridipelkistysaineen kanssa valitun aldehydin tai aldehydien läsnäollessa. Käytetty aldehydi tai aldehydit valitaan kulloinkin halutun R_1- ja/tai R_2-alkyyliryhmän tai ryhmien perusteella. Esimerkiksi jos ryhmän R_1 ja/tai R_4 on määrä olla metyyliryhmä, käytetään formaldehydiä ja jos ryhmän R_1 ja/tai R_4 on määrä olla etyyliryhmä, käytetään asetaldehydiä jne. Lämpötilat ja paineet, joissa reaktio tapahtuu, on edullista valita kinoksaliinijohdannaisen ja tuotteen pitämiseksi nestefaasissa. Lämpötilat välillä noin 0-50 °C ja paineet välillä noin 50 - 200 kPa saavat usein aikaan hyväksyttävät tulokset. Reaktioaika on usein välillä noin 1 - 24 h. Käytetty aldehydin määrä voi vaihdella riippuen halutusta lopullisesta yhdisteestä. Reaktio voi tuottaa lopullisten yhdisteiden seoksen, ts. sellaisen joka sisältää yhdistettä, jossa sekä R_1 että R_4 ovat alkyyliryhmiä, ja yhdisteitä, joissa vain joko R_1 tai R_4 on alkyyliryhmä. Yksi tai useampia tämän keksinnön yksittäisiä kinoksaliinijohdannaisia voidaan erottaa ja ottaa talteen tästä seoksesta käyttäen esim. tavanomaista tekniikkaa.

Esillä olevat yhdisteet ovat hyödyllisiä yhden tai useampien terapeuttisten vaikutusten aikaansaamisessa nisäkkäällä. Toivottuja terapeuttisia vaikutuksia ovat nesteen siirtonopeuden muutos, edullisesti pieneneminen nisäkkään mahasuolistoseudulla; silmänsisäisen paineen pieneneminen tai säilyminen ainakin nisäkkään toisessa silmässä; ja munuaisten nestevirtauksen kasvu ainakin nisäkkään toisessa munuaisessa. Näin ollen esillä olevat yhdisteet voivat olla tehokkaita ripulia ehkäisevänä aineena, lääkeaineena, jota käytetään glaukoman hoidossa tai käsittelyssä, ja/tai lääkeaineena, jota käytetään munuaistaudin hoidossa tai käsittelyssä. Monien esillä olevien yhdisteiden eräs tärkeä piirre on, että haluttu terapeuttinen vaikutus saavutetaan vähentyneillä sivuvaikutuksilla, erityisesti vähentyneillä vaikutuksilla sen nisäkkään verenpaineeseen, jolle esillä olevaa yhdistettä annetaan.

Mitä tahansa sopivaa menetelmää esillä olevan yhdisteen tai yhdisteiden antamiseksi hoidettavalle nisäkkäälle voidaan käyttää. Kulloinkin valittu antamismenetelmä on edullisesti sellainen, joka tekee esillä olevalle yhdisteelle tai yhdisteille mahdolliseksi antaa halutun terapeuttisen vaikutuksen tehokkaalla tavalla, esim. pienellä lääkeainepitoisuudella ja vähäisellä sivuvaikutusten esiintymisellä. Monissa sovellutuksissa esillä olevaa yhdistettä tai yhdisteitä annetaan nisäkkäälle oleellisesti samalla tavoin kuin se, joka käytetään alfa-agonistien, erityisesti alfa-2-agonistien antamiseen saman tai samantapaisen terapeuttisen vaikutuksen saamiseksi.

Esillä olevaa yhdistettä tai yhdisteitä voidaan sisällyttää lääkeainekoostumukseen yhdessä yhden tai useampien muiden komponenttien kanssa lääkeainekoostumuksen aikaansaamiseksi, jota voidaan antaa tehokkaasti potilaalle. Nämä muut komponentit, esim. kantoaineet, antioksidantit, jatkeaineet yms voidaan valita niistä materiaaleista, jotka ovat tavanomaisia ja alalla hyvin tunnettuja esim. siitä, että niitä sisällytetään lääkeainekoostumuksiin yhdessä alfa-2-agonistien kanssa.

Esillä olevia yhdisteitä annetaan usein nisäkkään silmään silmänsisäisen paineen pienentämiseksi tai ylläpitämiseksi seoksen muodossa, joka sisältää silmänhoidossa hyväksyttävää kantoainetta. Mitä tahansa sopivaa, esim. tavanomaista silmänhoidossa hyväksyttävää kantoainetta voidaan käyttää. Tällainen kantoaine on silmänhoidossa hyväksyttävä, jos sillä ei ole oleellisesti mitään pitkäaikaista tai pysyvää haitallista vaikutusta silmään, johon sitä annetaan. Esimerkkejä silmänhoidossa hyväksyttävistä kantoaineista ovat vesi, erityisesti tislattu vesi, suolaliuos yms vesipitoiset väliaineet. Esillä olevia yhdisteitä annetaan edullisesti silmään nesteseoksena yhdessä kantoaineen kanssa. Yhdisteet ovat edullisemmin liukoisia kantoaineeseen niin, että yhdisteitä annetaan silmään liuoksen muodossa.

Kun käytetään silmänhoidossa hyväksyttävää kantoainetta, on edullista, että seos sisältää yhtä tai useampia esillä olevia yhdisteitä määrän välillä noin 0,0001 - 1 % ja edullisemmin noin 0,05 - 0,5 % paino/tilavuus.

Mitä tahansa menetelmää lääkkeiden antamiseksi suoraan nisäkkään silmään voidaan käyttää esillä olevan yhdisteen tai yhdisteiden saamiseksi hoidettavaan silmään. Sanonnalla "annetaan suoraan" tarkoitetaan, että suljetaan pois ne yleiset elimistöön tapahtuvat lääkkeen antamistavat, esim. ruiskutus suoraan potilaan verisuoniin, antaminen suun kautta yms, jotka johtavat yhdisteen tai yhdisteiden olemiseen elimistön käytettävissä. Pääasiallinen vaikutus nisäkkääseen esillä olevan yhdisteen tai yhdisteiden suorasta antamisesta nisäkkään silmään on edullisesti silmänsisäisen paineen aleneminen. Vielä edullisemmin esillä olevaa yhdistettä tai yhdisteitä levitetään ulkoisesti silmään tai ruiskutetaan suoraan silmään. Erityisen hyödyllisiä tuloksia saadaan, kun yhdistettä tai yhdisteitä levitetään ulkoisesti silmään.

Ulkoiset silmänhoitovalmisteet, esimerkiksi silmätipat, geelit tai voiteet ovat etusijalla johtuen levityksen helppoudesta, annostelun helppoudesta ja vähäisemmistä elimistön sivuvaikutuksista. Esimerkki paikallisesta silmänhoitokokoonpanosta esitetään seuraavassa taulukossa I. Lyhenne q.s. tarkoittaa riittävää määrää tuloksen aikaansaamiseen tai tilavuuden täydentämiseen.

Taulukko I

Aineosa	Määrä (% paino/til.)
Esillä oleva kinoksaliini-johdannainen	noin 0,0001 - 1,0
Säilytysaine	0 - 0,10
Kantoaine	0 - 40
Vahvistavuuden säätöaine	1 - 10
Puskurointiaine	0,01 - 10
pH:n säätöaine	q.s. pH 4,5 - 7,5
Antioksidantti	tarpeen mukaan
Puhdistettu vesi	tarpeen mukaan 100%:n täydentämiseksi

Erilaisia säilytysaineita voidaan käyttää edellä taulukossa I kuvatussa silmänhoitovalmisteessa. Edullisia säilytysaineita ovat niihin kuitenkaan rajoittumatta bentsalkoniumkloridi, klooributanoli, timerosali, fenyylielohopea-asetaatti ja fenyylielohopeanitraatti. Niinikään erilaisia edullisia kantoaineita voidaan käyttää tällaisessa silmänhoitovalmisteessa. Näitä kantoaineita ovat niihin kuitenkaan rajoittumatta polyvinyylialkoholi, povidoni, hydroksipropyylimetyyliselluloosa, poloksameerit, karboksimetyyliselluloosa, hydroksietyyliselluloosa ja puhdistettu vesi.

Vahvistavuuden säätöaineita voidaan lisätä tarpeen tai sopivuuden mukaan. Niitä ovat niihin kuitenkaan rajoittumatta erityisesti natriumkloridi, kaliumkloridi, mannitoli ja glyseriini tai mikä tahansa muu sopiva silmänhoidossa hyväksyttävä vahvistavuuden säätöaine.

Erilaisia puskurointiaineita ja välineitä pH:n säätämiseen voidaan käyttää, mikäli saatu valmiste on silmänhoidossa hyväksyttävä. Näin ollen puskurointiaineita ovat niihin kuitenkaan rakoittumatta asetaattipuskurit, sitraattipuskurit, fosfaattipuskurit ja boraattipuskurit. Happoja tai emäksiä voidaan käyttää näiden kokoonpanojen pH:n säätöön

tarpeen mukaan.

Samalla tavoin silmänhoidossa hyväksyttäviä antioksidantteja ovat niihin kuitenkaan rajoittumatta natriummetabisulfiitti, natriumtiosulfaatti, asetyylikysteiini, butyloitu hydroksianisoli ja butyloitu hydroksitolueeni.

Muita apuainekomponentteja, joita voidaan sisällyttää taulukossa I kuvattuun, esimerkkinä olevaan silmänhoitovalmisteeseen, ovat kelatointiaineet, joita voidaan lisätä tarpeen mukaan. Edullinen kelatointiaine on edetaattidinatrium, vaikka muitakin kelatointiaineita voidaan käyttää sen sijasta tai yhdessä sen kanssa.

Seuraavat ei-rajoittavat esimerkit valaisevat tiettyjä tämän keksinnön kohtia.

Esimerkki 1

1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-6-nitro-3-(4H)-kinoksalinonin ja 3,4-dihydro-3,3-dimetyyli-6-nitro-2-(1H)-kinoksalinonin valmistus

Hämmennettyyn liuokseen, jossa on 4-nitro-1,2-fenyleenidiamiinia (Aldrich, 5,0 g, 32,6 mmol) ja trietyyliamiinia (5,05 g, 50 mmol) CH_2Cl_2:ssa (50 ml), lisätään 2-bromi-2-metyylipropionyylibromidia (Aldrich 7,49 g, 32,6 mmol) tipoittain. Seosta hämmennetään huoneenlämpötilassa, kunnes lähtöaine (4-nitro-1,2-fenyleenidiamiini) on kulutettu. Reaktio sammutetaan NH_4Cl:n vesiliuoksella ja orgaaninen materiaali uutetaan CH_2Cl_2:lla. Orgaaninen uute pestään H_2O:lla (20 ml), kuivataan $MgSO_4$:lla ja väkevöidään alipaineessa. Jäännös kromatografoidaan piihappogeelillä eluoiden heksaaneilla ja etyyliasetaatilla, jolloin saadaan bromiamidi-isomeerien seos. Tämä seos liuotetaan CH_2Cl_2:iin (30 ml) ja sitä käsitellään $AgBF_4$:llä (Aldrich, 6,36 g, 32,6 mmol) huoneenlämpötilassa syklisoinnin aikaansaamiseksi. Sen jälkeen, kun lähtöaineena ollut bromiamidi-isomeerit on kulutettu, reaktio sammutetaan NH_4Cl:n vesiliuoksel-

la ja orgaaninen materiaali uutetaan CH_2Cl_2:lla. Orgaaninen uute pestään vedellä (10 ml), kuivataan $MgSO_4$:lla ja väkevöidään alipaineessa. Jäännös kromatografoidaan piihappogeelillä eluoiden heksaaneilla ja etyyliasetaatilla, jolloin saadaan otsikon yhdisteitä puhtaassa muodossa. Tämä kromatografointi erottaa otsikon yhdisteet toisistaan ja tekee mahdolliseksi niiden molempien talteenoton erikseen.

Esimerkki 2

6-amino-1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-6-(2-imidatsolin-2-yyli-amino)-3-(4H)-kinoksalinonin synteesi

Liuosta, jossa on 1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-6-nitro-3-(4H)-kinoksalinonia (663 mg, 3 mmol) CH_3OH:ssa (10 ml), hydrataan 345 kPa:n H_2-paineella (kaasu) huoneenlämpötilassa katalyytin läsnäollessa, joka koostuu 10 painoprosenttisesta hiilelle tuetusta palladiumista (50 mg). Sen jälkeen, kun lähtöaine on kulutettu loppuun, liuos suodatetaan ja väkevöidään alipaineessa, jolloin saadaan 6-amino-1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-3-(4H)-kinoksalinonia.

Esimerkki 3

6-amino-5-bromi-1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-3-(4H)-kinoksalinonin hydrobromidin synteesi

Liuos, jossa on 6-amino-1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-3-(4H)-kinoksalinonia (250 mg, 1,31 mmol) jääetikassa (4 ml), jäähdytetään käyttäen vesihaudetta. Bromia (210 mg, 1,31 mmol) etikkahapossa (0,25 ml) lisätään tipoittain 5 minuutin aikana. Seosta hämmennetään huoneenlämpötilassa 4 tuntia ja saatu sakka kerätään talteen alipainesuodatuksella. Otsikon yhdiste saadaan puhtaassa muodossa alipainekuivauksen jälkeen.

Esimerkki 4

2-imidatsoliini-2-sulfonihapon synteesi

2-imidatsolidiinitionia (66,3 g, 650 mmol), Na_2MoO_4 (5 g, 227 mmol) ja NaCl (15 g, 256 mmol) lisättiin 300 ml:aan H_2O. Vaikka jonkin verran liukenemista tapahtui, kiinteä

jäännös pysyi seoksen nesteessä. Seos jäähdytettiin -10 °C:seen käyttäen upotusjäähdytintä. 500 ml 30 prosenttista (paino/tilavuus) H_2O_2:n vesiliuosta asetettiin vaipalla varustettuun, hallitun tiputusnopeuden lisäyssuppiloon ja jäähdytettiin 0 °C:seen käyttäen jää/H_2O-haudetta. H_2O_2:n vesiliuos lisättiin seokseen nopeudella 60 tippaa/min. Seosta hämmennettiin 16 tuntia -10 °C:ssa. Tänä aikana seos muuttui valkoisesta suspensiosta tummansiniseksi liuokseksi ja edelleen vaaleansiniseksi suspensioksi. 16 tunnin kulluttua kiinteä aine suodatettiin suspensiosta ja kuivattiin alipaineessa. Lisäpuhdistusta ei tarvittu. Saatiin talteen 57,8 g (52,3%:n saanto) otsikon yhdsitettä valkoisena kiinteänä aineena, joka tunnistettiin spektroskooppisesti. Tämä kiinteä aine oli stabiili, kun sitä säilytettiin pimeässä 0 °C:ssa vähintään 6 kuukautta.

Esimerkki 5

5-bromi-1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)-3-(4H)-kinoksalinonin synteesi

Seosta, jossa on 6-amino-5-bromi-1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-3-(4H)-kinoksalinonin hydrobromidia (479 mg, 1 mmol) ja 2-imidatsoliini-2-sulfonihappoa (224 mg, 1,5 mmol) isobutanolissa (5 ml), kuumennetaan refluksoiden, kunnes lähtöaineena oleva hydrobromidimateriaali on kulutettu loppuun. Liuotin poistetaan alipaineessa ja jäännös kromatografoidaan piidioksidigeelillä eluoiden NH_3:lla (kaasu) kyllästetyllä $ChCl_3$:n ja CH_3OH:n seoksella, jolloin saadaan otsikon yhdistettä.

Esimerkki 6

5-bromi-2,2-dimetyyli-6-(2-imdiatsolin-2-yyliamino)-1,2,3,4-tetrahydrokinoksaliinin valmistus

Suspensiota, jossa on 5-bromi-1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)-3-(4H)-kinoksalinonia (150 mg, 0,45 mmol) ja $LiAlH_4$ (17 mg, 0,45 mmol) tetrahydrofuraanissa (3 ml), lämmitetään ja pidetään 50 - 80 °C:n lämpötilassa, kunnes lähtöaine on kulutettu loppuun. Seos jäähdyte-

tään 0 °C:seen, 2 - 3 tippaa H_2O lisätään ja seos suodatetaan. Liuos väkevöidään alipaineessa, jolloin saadaan jäännös, joka kromatografoidaan piidioksidigeelillä eluoiden NH_3:lla (kaasu) kyllästetyllä $CHCl_3$:n ja CH_3OH:n seoksella, jolloin saadaan otsikon yhdistettä.

Esimerkki 7

5-bromi-3,4-dihydro-3,3-dimetyyli-6-(2-imidatsolin-2-yyli-amino)-2-(1H)-kinoksalinonin valmistus

Sarjalla reaktiovaiheita, jotka ovat analogisia edellä esimerkeissä 2 - 5 kuvattujen vaiheiden kanssa, valmistetaan otsikon yhdistettä lähtien 3,4-dihydro-3,3-dimetyyli-6-nitro-2-(1H)-kinoksalinonista 1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-6-nitro-3-(4H)-kinoksalinonin sijasta.

Esimerkki 8

5-bromi-3,4-dihydro-3,3-dimetyyli-6-(2-imidatsolin-2-yyli-amino)-1,2,3,4-tetrahydrokinoksaliinin valmistus

Käyttäen esimerkissä 6 kuvattua menettelyä valmistetaan otsikon yhdistettä lähtien 5-bromi-3,4-dihydro-3,3-dimetyyli-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)-2-(1H)-kinoksalinonista 5-bromi-1,2-dihydro-2,2-dimetyyli-6-(2-imidatsolin-2-yyliamino)-3-(4H)-kinoksalinonin sijasta.

Esimerkit 9 - 12

Esimerkkien 5 - 8 mukaisesti valmistetut neljä (4) kinoksaliinijohdannaista testataan tarkoituksena määrittää, mikä vaikutus, jos mikään, näillä materiaaleilla on silmänsisäiseen paineeseen.

Jokaista näistä materiaaleista liuotetaan tislattuun veteen 0,1 %:n (paino/tilavuus) väkevyydeksi. Jokaista näistä liuoksista annetaan ulkoisesti ja yksipuolisesti lääkkeelle koskemattoman, nukuttamattoman Uudenseelannin valkokaniinin toiseen silmään yksi 50 mikrolitran tippa. Toinen silmä sai yhtä suuren tilavuusmäärän suolaliuosta ennen silmänsisäisen paineen määrittämistä sen jälkeen, kun kyseistä seosta

on annettu. Samoin noin 10 mikrolitraa 0,5-prosenttista (paino/tilavuus) proparakaiinia (paikallispuudutusaine) levitetään jokaisen kaniinin sarveiskalvoille ennen silmänsisäisen paineen määrittämistä. Tarkistuskokeessa kuutta (6) muuta lääkkeelle koskematonta, nukuttamatonta Uudenseelannin valkokaniinia käsitellään ja testataan edellä kuvatulla tavalla paitsi, että mitään kinoksaliinijohdannaista ei sisällytetä silmiin annettaviin liuoksiin.

Silmänsisäinen paine määritetään kunkin kaniinin kummastakin silmästä ennen liuoksen antamista ja sen jälkeen. Nämä silmänsisäisen paineen mittaukset suoritetaan tavanomaiseen tapaan käyttäen tavanomaista laitteistoa.

Tulokset näistä silmänsisäisen paineen määrityksistä osoittavat, että esimerkeissä 5 - 8 valmistetut neljä (4) kinoksaliinijohdannaista ovat tehokkaita alentamaan silmänsisäistä painetta käsitellyssä kaniinin silmässä, ts. silmässä, johon aktiivista materiaalia annettiin suoraan.

Esimerkit 13 - 16

Esimerkeissä 5 - 8 valmistetut kinoksaliinijohdannaiset testataan aktiivisuuden suhteen käyttäen seuraavia in vitro-menetelmiä.

Kaniinin siemenjohdin: Alfa 2 adrenergiset reseptorit

Uudenseelannin valkokaniineja (2 - 3 kg) surmataan CO_2-hengityksellä ja siemenjohtimet poistetaan. Siemenjohtimien eturauhaspäät (2 - 3 cm:n pituudet) asennetaan platinarengaselektrodien väliin 9 ml:n elinhauteisiin ja haudotaan Krebsin bikarbonaattiliuoksessa, jolla on seuraava koostumus (millimolaarisuuksina): NaCl 118,0; KCl 4,7; $CaCl_2$ 2,5; $MgSO_4$ 1,2; KH_2PO_4 1,2; glukoosi 11,0; $NaHCO_3$ 25,0; jota liuosta pidetään 35 °C:ssa ja jonka läpi puhalletaan 95 % O_2 ja 5 % CO_2. Siemenjohtimen alkujännitys on 4,9 mN. Kudokset jätetään tasapainottumaan 30 minuutiksi, ennenkuin kiihotus aloitetaan. Siemenjohtimia kenttäkiihotetaan (0,1 Hz, 2 ms:n pulssileveys 90 mA:n virralla) käyttäen neliö-

aaltokiihotinta (WPI A310 Accupulser, jossa A385-ärsyke). Kudoksen supistukset rekisteröidään isometrisesti käyttäen Grass FT03 voima-siirtymäantureita ja ilmaisimena Grass Model 7D-polygrafia. Kumulatiivinen väkevyys-reagointiriippuvuus saadaan testattavalla kinoksaliinijohdannaisella 4 minuutin kosketusajalla joka väkevyydellä. Jokainen esimerkkien 5 - 8 kinoksaliinijohdannaisista on tehokas pienentämään reagointikorkeutta. Tämän vuoksi nämä yhdisteet voidaan oikeutetusti luokitella alfa 2-vaikuttajiksi.

Esimerkit 17 - 20

Jokainen esimerkeissä 5 - 8 tuotetuista kinoksaliinijohdannaisista testataan munuais- ja verenpainevaikutusten suhteen käyttäen seuraavaa menetelmää.

Käytetään nuoria koiraspuolisia (20 - 24 viikon vanhoja) Sprague-Dawley-rottia. Ketamiini- (60 mg/kg ruumiinpainoa, lihaksensisäisesti) ja pentobarbitaalinukutuksessaa (vatsankalvonsisäisesti tehostavasti) lääketieteellistä laatua olevat muoviputket istutetaan vatsa-aorttaan ja onttolaskimoon reisisuonten kautta. Lisäksi Silastic-päällysteinen ruostumaton teräskanyyli ommellaan virtsarakkoon. Leikkauksen jälkeen rottia pidetään omissa häkeissään ja niille sallitaan vapaa ravinnon ja veden saanti koepäivään asti.

Noin 7 - 10 vuorokauden ajan ennen leikkausta ja toipumisen aikana rottia totutetaan vangitsemishäkkiin sijoittamalla ne häkkiin 2 - 3 tunniksi joka toinen ja kolmas vuorokausi. Häkki on suunniteltu munuaisten selvityskykytutkimuksia varten (malli G Restrainer, jota myy Braintree Scientific, Inc., Braintree, Massachusetts). Eläimen sopeutumista häkkiin arvioidaan verenpaineen ja sydämen lyöntinopeuden stabiilisuudesta.

Koetta varten rotta asetetaan vangitsemishäkkiin ja valtimolinja ja yhdistetään Statham-paineanturiin ja Beckman Dynograph R 61-laitteeseen tarkoituksena seurata valtimon

keskiverenpainetta, josta käytetään jäljempänä lyhennettä MAP. Laskimolinja yhdistetään nesteruiskepumppusysteemiin korvaavan nesteen ruiskutusta varten. Kinoksaliinijohdannaista annetaan pohjukaissuolensisäisesti kanyylin avulla. Rakkokanyyliä oli jatkettu Silastic-putkella virtsan keräämisen helpottamiseksi ennalta punnittuihin putkiin. Virtsan määrä mitataan gravimetrisesti. Ruumiinpaino rekisteröidään ennen koetta ja sen jälkeen.

Koko kokeiden ajan eläimiin tiputetaan 0,9 %:sta NaCl:a, joka sisältää 10 % polyfruktosaania (Inutest) ja 1 % natrium-PAH:a, nopeudella 20 µl/min. 60 minuutin tasapainotusjaksoa seuraa kaksi peräkkäistä 30 minuutin tarkistusselvityskykyjaksoa. Sen jälkeen kinoksaliinijohdannaista annetaan 10 minuutin ajan. Virtsan kerääminen aloitetaan uudelleen 10 minuuttia kinoksaliinijohdannaisen antamisen aloituksen jälkeen. Tähän mennessä rakkokanyylin kuolleen tilan (noin 200 µl) huuhtoutuminen on tapahtunut. Tehdään vielä kolme selvityskykymittausta. Verinäytteet (150 µl) kerätään virtsankeräysten puolivälissä. Plasma erotetaan ja säästetään analyysejä varten ja solut suspendoidaan uudelleen suolaliuokseen ja palautetaan eläimiin. Vesi- ja natriumhäviö korvataan huolellisesti suonensisäisesti nopeussäätöisellä infuusiopumpulla.

Näiden kokeiden tulokset osoittavat, että esillä olevat kinoksaliinijohdannaiset saavat aikaan munuaisvaikutuksia, esim. kasvaneen munuaisnesteen virtauksen. Näiden johdannaisten vaikutus verenpaineeseen on rajoitettu verrattuna näihin munuaisvaikutuksiin.

Esimerkit 21 - 24

Jokaista esimerkeissä 5 - 8 valmistettua kinoksaliinijohdannaista testataan ripulia ehkäisevien vaikutusten ja verenpainevaikutusten suhteen käyttäen seuraavaa menetelmää.

Sitomattomille rotille tehdään umpisuoliavanne tavanomai-

seen tapaan. Rotat, joille on tehty umpisuoliavanne, asetetaan verkkopohjaisiin häkkeihin, jotka on sijoitettu puhtaiden paperiarkkien yläpuolelle, ja niiltä estetään ravinnon ja veden saanti kokeen kestoajaksi. MAP-arvoa seurataan esimerkeissä 17 - 20 kuvatulla tavalla koko kokeen ajan. Rotille annetaan kahden tunnin sopeutusmisaika ennen kokeen aloittamista, jotta eliminoitaisiin pelosta johtuvan ulostamisen yksittäiset kohtaukset. Tämän jakson aikana todetaan myös papanaulosteiden yhdenmukainen esiintyminen; eläin, joka tuottaa muuta kuin papanaulostetta, hylätään tutkimuksesta.

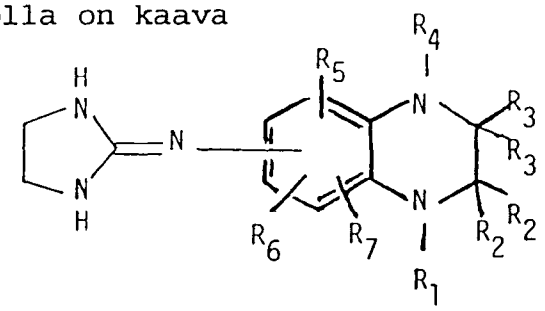
Ripuli aiheutetaan antamalla suun kautta 16,16-dimetyyliprostaglandiini-E_2:a ($dmPGE_2$) 3,5 %:sessa etanoliliuoksessa. Kinoksaliinijohdannaista annetaan letkuruokintana ripulikohtausten alkamisen jälkeen. Häkkipaperit poistetaan ja ne tarkastetaan 30 minuutin välein $dmPGE_2$:n aiheuttaman ripulin suhteen. Ulostetuotos rekisteröidään jokaisen ajanjakson kohdalla ja ulosteen konsistenssille annetaan numeroarvo jokaisessa koeryhmässä seuraavasti: 1 = normaalit papanaulosteet; 2 = pehmeän muotoiset ulosteet: 3 = vesiuloste ja/tai ripuli. Ulostetuotosindeksi (FOI) määritellään ulostuskohtausten lukumäärän ja ulosteiden arvostellun konsistenssiarvon summana tarkastelujakson aikana.

Näiden kokeiden tulokset osoittavat, että esimerkeissä 5 - 8 valmistetut kinoksaliinijohdannaiset saavat aikaan oleellisia ripulia ehkäiseviä vaikutuksia. Lisäksi tällaiset ripulia ehkäisevät vaikutukset saadaan aikaan ilman vaikutuksia tai suhteellisen rajoitetuin vaikutuksin verenpaineeseen.

Vaikka tätä keksintöä on kuvattu erilaisten erikoisesimerkkien ja toteutusmuotojen suhteen, on ymmärrettävä, ettei keksintö rajoitu niihin ja että se voidaan toteuttaa eri tavoin seuraavien patenttivaatimusten suojapiirin puitteissa.

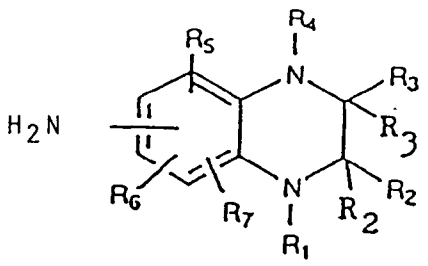
Patenttivaatimukset

1. Menetelmä farmaseuttisesti aktiivisen yhdisteen valmistamiseksi, jolla on kaava



I

tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävien happolisäyssuolojen valmistamiseksi, jossa kaavassa R_1 ja R_4 on toisistaan riippumatta valittu ryhmästä, johon kuuluvat H-atomi ja 1 - 4 hiiliatomia sisältävät alkyyliradikaalit; ryhmät R_2 ovat molemmat H-atomeja tai 1 - 4 atomia sisältäviä alkyyliradikaaleja tai ovat yhdessä oksoryhmä; ryhmät R_3 ovat molemmat H-atomeja tai 1 - 4 hiiliatomia sisältäviä alkyyliradikaaleja tai ovat yhdessä oksoryhmä edellyttäen, että mainitut ryhmät R_2 tai ryhmät R_3 ovat alkyyliradikaaleja; 2-imidatsolin-2-yyliaminoryhmä voi olla missä tahansa kinoksaliiniytimen 5-, 6-, 7- tai 8-asemista; ja jokainen ryhmistä R_5, R_6 ja R_7 sijaitsee jossakin jäljelle jääneistä kinoksaliiniytimen 5-, 6-, 7- tai 8-asemista ja on toisistaan riippumatta valittu ryhmästä, johon kuuluvat Cl-, Br- ja H-atomit ja 1 - 3 hiiliatomia sisältävät alkyyliradikaalit, **tunnettu** siitä, että yhdiste, jolla on kaava II



II

jossa R_1-R_7 tarkoittavat samaa kuin edellä, saatetaan reagoimaan 2-imidatsoliini-2-sulfonihapon kanssa kaavan I mukaisen 2-imidatsolin-2-yyliaminokinoksaliinijohdannaisen muodostamiseksi, ja haluttaessa, saatu kaavan I mukainen yhdiste muutetaan toiseksi kaavan I mukaiseksi yhdisteeksi, esimerkiksi poistamalla oksoryhmä oksoryhmän sisältävästä 2-imidatsolin-2-yyliaminokinoksaliinijohdannaisesta 2-imidatso-

liaminokinoksaliinijohdannaisen muodostamiseksi, joka ei sisällä oksoryhmää ja/tai saattamalla 2-imidatsolin-2-yyliaminokinoksaliinijohdannainen, joka sisältää oksoryhmän tai ei sisällä oksoryhmää, reagoimaan hydridiä pelkistävän aineen kanssa yhden tai useamman aldehydin läsnäollessa 2-imidatsolin-2-yyliaminokinoksaliinijohdannaisen muodostamiseksi, jossa toinen tai molemmat ryhmistä R_1 ja R_4 on alkyyli, ja/tai muodostamalla farmaseuttisesti hyväksyttävä happoadditiosuola.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa 2-imidatsolin-2-yyliaminoryhmä on kinoksaliiniytimen 6-asemassa, R_5 on kinoksaliiniytimen 5-asemassa ja on valittu ryhmästä, johon kuuluvat Cl- ja Br-atomit ja 1 - 3 hiiliatomia sisältävät alkyyliradikaalit, ja R_6 ja R_7 ovat molemmat H-atomeja.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa kumpikin ryhmistä R_1 ja R_4 on H-atomi.

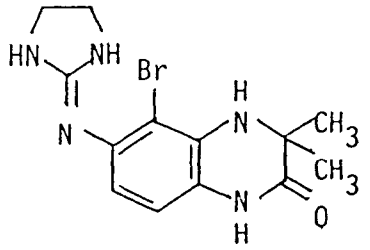
4. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa ryhmät R_2 tai ryhmät R_3 ovat metyyliradikaaleja.

5. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa ryhmät R_2 tai ryhmät R_3 ovat H-atomeja.

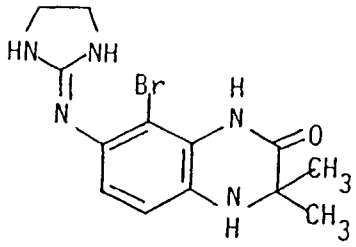
6. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa ryhmät R_2 tai ryhmät R_3 ovat yhdessä oksoryhmä.

7. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan kaavan I mukainen yhdiste, jossa R_5 on Br-atomi.

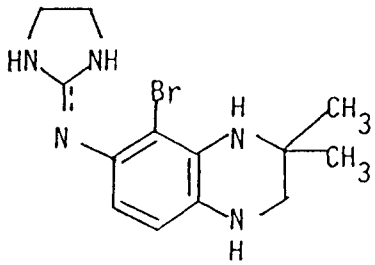
8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan yhdiste, jolla on kaava:



9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan yhdiste, jolla on kaava:



10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan yhdiste, jolla on kaava:



11. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan yhdiste, jolla on kaava:

