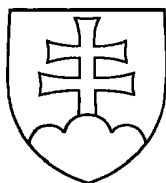


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania: 02.12.1997
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 96/14847
(32) Dátum priority: 04.12.1996
(33) Krajina priority: FR
(40) Dátum zverejnenia: 14.02.2000
(86) Číslo PCT: PCT/FR97/02174, 02.12.1997

(21) Číslo dokumentu:

741-99

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁷:

C 07D 487/08
A 61K 31/495
// (C 07D 487/08
C 07D 241:00
C 07D 241/00)

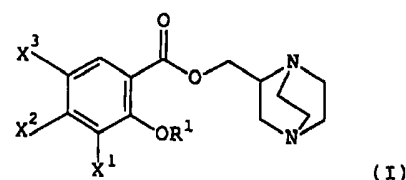
(71) Prihlasovateľ: SYNTHELABO, Le Plessis Robinson, FR;

(72) Pôvodca vynálezu: Jegham Samir, Argenteuil, FR;
Lochead Alistair, Charenton, FR;
Nedelec Alain, Colombes, FR;
Solignac Axelle, Paris, FR;

(74) Zástupca: Čechvalová Dagmar, Bratislava, SK;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Deriváty 1,4-diazabicyklo[2,2,2]okt-2-ylmetylbenzoátu, spôsob ich prípravy, liečivo a farmaceutický prostriedok s ich obsahom**

(57) Anotácia:
Opisujú sa zlúčeniny vzorca (I), kde R¹ je metyl; X¹ je vodík; alebo OR¹ a X¹ spoločne tvoria skupinu -O(CH₂)₂-, -O(CH₂)₃-, -O(CH₂)₂O- alebo -O(CH₂)₃O; X² je vodík alebo aminoskupina a X³ je halogén. Tieto zlúčeniny sú ligandmi serotonínergných receptorov typu 5-HT₃ a/alebo 5-HT₄ a pôsobia ako 5-HT₄ agonisty a/alebo 5-HT₃ antagonisty.



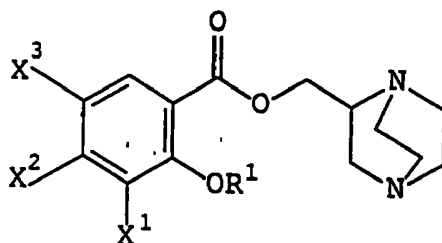
Deriváty 1,4-diazabicyklo[2,2,2]okt-2-ylmetylbenzoátu, spôsob ich prípravy, liečivo a farmaceutický prostriedok s ich obsahom

Oblasť techniky

Predmetom predkladaného vynálezu sú deriváty 1,4-diazabicyklo[2,2,2]okt-2-ylmetylbenzoátu, spôsob ich prípravy a ich použitie pri liečení.

Podstata vynálezu

Zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu majú všeobecný vzorec I



(I)

kde

R¹ je metylová skupina,

X¹ je atóm vodíka, alebo

OR¹ a X¹ spoločne tvoria skupinu vzorca -O(CH₂)₂-, skupinu -O(CH₂)₃-, skupinu -O(CH₂)₂O- alebo skupinu -O(CH₂)₃O-,

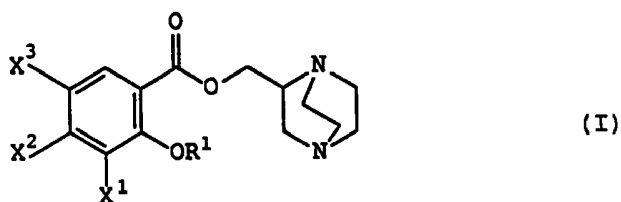
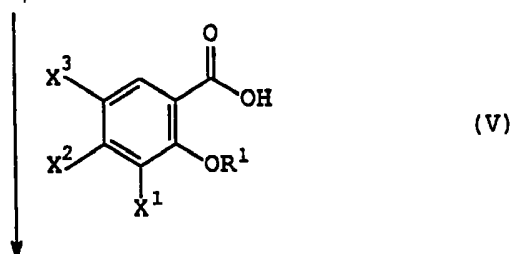
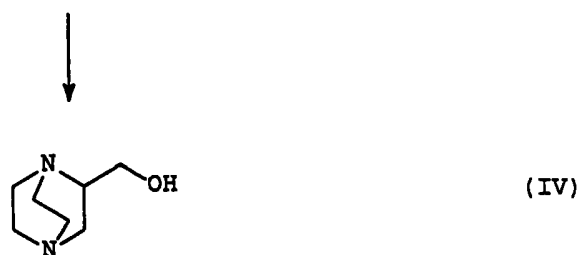
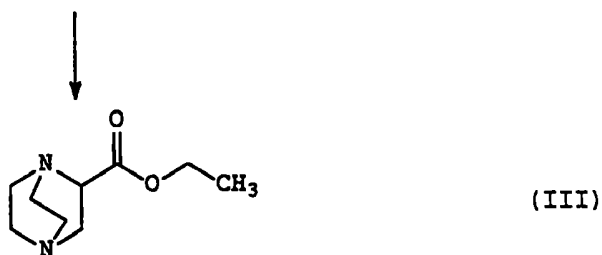
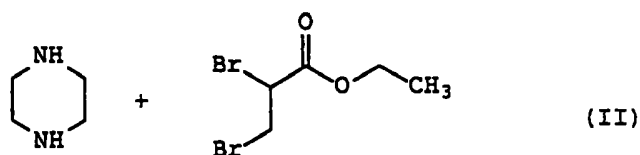
X² je atóm vodíka a alebo aminoskupina a

X³ je atóm halogénu.

Môžu existovať vo forme voľných zásad alebo adičných solí s kyselinami. Ďalej môžu obsahovať asymetrický atóm uhlíka v diazabicyklooktánovom kruhu a môžu preto existovať vo forme čistých enantiomérov alebo zmesí enantiomérov.

Podľa predkladaného vynálezu sa zlúčeniny všeobecného vzorca I pripravujú podľa spôsobu uvedeného v nasledujúcej schéme.

Schéma



Etyl-1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktán-2-karboxylát všeobecného vzorca III (opísaný v Helv. Chimica Acta (1962), diel XLV, časť VII, č. 273 2383) sa najprv pripraví reakciou medzi piperazínom a etyl-2,3-dibrómpropanoátom v inertnom rozpúšťadle, napríklad v toluéne alebo benzéne a prípadne v prítomnosti organickej zásady, napríklad trietylamínu, potom sa získaný ester redukuje na 1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktán-2-

-metanol všeobecného vzorca IV (opísaný v Khim. Farm. Zh. (1989), 23, 30,35 a v Khim. Geterosikl. Soedin. (1980), 10, 1404-1407), napríklad pomocou lítiumalumíniumhydridu a nakoniec získaný alkohol reaguje s derivátom kyseliny benzoovej vzorca V, kde R^1 , x^1 , x^2 a x^3 sú definované vyššie, podľa známych esterifikačných spôsobov, napríklad pomocou aktivácie kyseliny imidazolínom a kondenzácie tohto produktu s alkoholom, ktorý sa predtým previedol na alkoxid, napríklad použitím butyllítia.

Piperazín a 2,3-dibrómpropanoát sú komerčne dostupné. Niektoré deriváty kyseliny benzoovej vzorca V sú komerčne dostupné, iné sa môžu pripraviť podľa spôsobov opísaných v J. Med. Chem. (1993), 36, 4124-4123 a v patentovej prihláške EP-0234872, WO-9305038 a EP-2019042 alebo zmydelnením zodpovedajúcich esterov, ako je opísané v patentoch DE-3001328 a DE-36433103.

Nasledujúci príklad podrobne ilustruje prípravu zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu. Elementárne analýzy, IČ a NMR spektra zodpovedajú štruktúram získaných zlúčenín.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad

(1,4-Diazabicyklo[2,2,2]okt-2-yl)metyl 8-amino-7-chlór-2,3-dihydro-1,4-benzodioxín-5-karboxylát

1. Etyl-1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktán-2-karboxylát

16,9 ml (116 mmol) etyl-2,3-dibrómpropanoátu rozpusteného v 250 ml toluénu, 10 g (116 mmol) piperazínu a 49 ml (348 mmol) trietylamínu rozpusteného v 150 ml toluénu sa postupne umiestni do banky s okrúhlym dnom a zmes sa zohrieva na 80 °C za miešania s magnetickým miešadlom cez noc. Zmes sa ochladí, odfiltruje sa hydrobromid trietylamínu, premyje sa etyl-

-acetátom, z filtrátu sa pri zníženom tlaku odparia rozpúšťadlá a zvyšok sa destiluje pri normálnom tlaku. Získa sa 6,91 g zlúčeniny, ktorá sa použije v nasledujúcom kroku.

2. 1,4-Diazabicyklo[2,2,2]oktán-2-metanol

0,21 g (5,43 mmol) lítiumalumíniumhydridu suspendovaného v dietyléteri sa umiestni do banky s okrúhlym dnom, suspenzia sa s použitím ľadového chladiaceho kúpeľa ochladí na 0 °C a pomaly sa za miešania magnetickým miešadlom pridá 1 g (5,43 mmol) etyl 1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktán-2-karboxylátu rozpusteného v 10 ml dietyléteru a zmes sa mieša 1 hodinu pri teplote miestnosti. Prebytok hydridu sa hydrolyzuje pomocou pomalého pridania 0,2 ml vody, 0,2 ml 15% vodného roztoku hydroxidu sodného a potom znovu 0,6 ml vody, pevné zložky sa odfiltrujú, premyjú sa chloroformom a filtrát sa odparí pri zníženom tlaku. Po destilácii sa získa 0,43 g olejovitého produktu.

3. (1,4-Diazabicyklo[2,2,2]okt-2-yl)metyl 8-amino-7-chlór-2,3-dihydro-1,4-benzodioxín-5-karboxylát

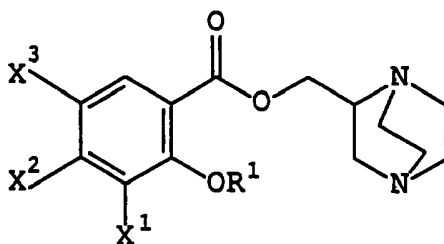
0,69 g (3,03 mmol) 8-Amino-7-chlór-2,3-dihydro-1,4-benzodioxín-5-karboxylovej kyseliny suspendovanej v 5 ml bezvodého tetrahydrofuranu sa zavedie do banky s okrúhlym dnom a pod dusíkovou atmosférou pri teplote miestnosti sa pridá 0,49 g (3,03 mmol) N,N'-karbonyldiimidazolu a zmes sa mieša 2 hodiny. Do inej banky s okrúhlym dnom sa zavedie 0,43 g (3,02 mmol) 1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktán-2-metanolu rozpusteného v 20 ml tetrahydrofuranu a pod dusíkovou atmosférou sa za miešania magnetickým miešadlom pomaly pridá 1,21 ml (3,02 mmol) 2,5M roztoku butyllítia v hexáne a zmes sa mieša 1 hodinu.

Roztok kyseliny pripravený vyššie sa potom pomaly pridá pomocou striekačky k roztoku butyllítia a miešanie pokračuje 1 hodinu 10 minút pri teplote miestnosti. Rozpúšťadlo sa odparí pri zníženom tlaku, zvyšok sa prevedie do etylacetátu a vody a

organická vrstva sa oddelí a niekoľkokrát premyje vodou.

Po sušení, odparení, prevedení zvyšku do dietyléteru a rekryštalizácii z etanolu sa izoluje 0,35 g bielej pevnej látky. Teplota topenia je 217 °C.

Chemické štruktúry a fyzikálne vlastnosti niektorých zlúčenín podľa predkladaného vynálezu sú uvedené nižšie v tabuľke.



Č.	OR ¹	X ¹	X ²	X ³	Soľ	T.t. (°C)
1	-OCH ₃	H	H	Cl	-	121-124
2	-OCH ₃	H	-NH ₂	Cl	-	168-171
3	-O(CH ₂) ₂ -	H	H	Cl	HCl (1:2)	247-250
4	-O(CH ₂) ₂ O-	-NH ₂	-NH ₂	Cl	-	217
5	-O(CH ₂) ₃ O-	-NH ₂	-NH ₂	Cl	HCl (1:2)	191-198

V stĺpci soľ znamená značka "-", že zlúčenina je vo forme zásady a "2HCl" znamená, že zlúčenina je vo forme dihydrochloridu.

Zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu boli predmetom testov, ktoré demonštrujú ich výhodnosť ako látok, ktoré majú liečebnú aktivitu.

Ich afinita k 5-HT₃ serotonínergným receptorom sa demonštrovala pomocou náhrady väzby špecificky značeného ligandu, [³H]-(S)-zacopridu.

Štúdiá sa uskutočňuje *in vitro* na 5-HT₃ receptoroch mozgovej kôry krýs, čo je opísané v Barnes N.M. a kol., J. Pharm. Pharmacol. (1988), 40, 548-551. Samci krýs Sprague-Dawley (OFA, Iffa Credo, Lyons, Francie), s hmotnosťou 200 až 250 g sa humane usmrtili a vybral sa im mozog. Mozgová kôra sa potom rozrezala a homogenizovala s použitím homogenizéra PolytronTM (poloha 7, 20 s) v 20 objemoch pufru Tris (25 mM, pH = 7,4, pri 22 °C), homogenát sa odstreďoval pri 45 000 g 10 minút pomocou odstredivky SorvallTM vybavenej rotorom SS34 a sediment sa suspendoval v 10 objemoch Tris pufru a inkuboval sa za miešania pri 37 °C 10 minút.

Suspenszia sa zriedila na 20 objemov pufrom Tris a znovu sa odstredila pri rovnakých podmienkach a potom sa sediment znovu suspendoval v 5 objemoch pufru Tris a rozdelil sa na 5 ml alikvótne diely, ktoré sa zmrazili pri -80 °C.

V deň pokusu sa prostriedky nechali rozmraziť pri +4 °C a potom sa zriedili 1,2 krát inkubačným pufrom Tris-NaCl (Tris 25 mM, NaCl 150 mM, pH - 7,4 pri 22 °C).

Suspenszia membrán (100 µl, 1 mg proteínov) sa potom inkubovala pri 25 °C 25 minút v prítomnosti 0,5 nM [³H]-(S)-zacopridu (špecifická aktivita 75-85 mCi/mmol, Amersham, Little Chalfont, Veľká Británia) v konečnom objeme 500 µl pufru Tris-NaCl v prítomnosti alebo neprítomnosti testovanej zlúčeniny.

Inkubácia sa ukončila pomocou filtrácie cez filtre Whatman GF/B predupravené 0,1% polyetylénimínom. Každá reakčná skúmavka sa vopred zriedila 4 ml pufru Tris-NaCl a potom sa trikrát premyla 4,5 ml pufru Tris-NaCl.

Pred sušením v sušiarňi (120 °C, 5 minút) sa filtre rozrezali. Rádioaktivita, ktorá zostala na filtroch, sa určila pomocou kvapalinovej scintigrafie. Nešpecifická väzba sa

určila v prítomnosti 10 μM MDL 72222 (ligand opísaný v citovanom článku). Pre všetky koncentrácie študovanej zlúčeniny sa určila percentuálna inhibícia špecifickej väzby [^3H]- (S)-zacopridu a potom sa koncentrácia IC_{50} , čo je koncentrácia tejto zlúčeniny, ktorá inhibuje 50 % špecifických väzieb.

Hodnoty IC_{50} zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu ležia v rozsahu 0,1 až 0,5 μM .

Zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu sa testovali na afinitu vzhľadom na 5-HT₄ receptory v průzkovanom telese morčiat podľa spôsobu opísaného v Grossman a kol., Br.J. Pharmacol., (1993) 109, 618-624.

Morčatá (Hartley, Charles River, Francie) s hmotnosťou 300 až 400 g, sa humánne usmrtili, vybral sa im mozog, vyrezala sa striata a zmrazila sa pri -80 °C.

V deň pokusu sa tkanivá rozmrazili pri +4 °C v 33 objemoch pufra HEPES-NaOH (50 mM, pH = 7,4 pri 20 °C) a homogenizovali sa pomocou homogenizéra PolytronTM, homogenát sa odstredil pri 40 000 g 10 minút, sediment sa vybral, znovu sa suspendoval a odstredil pri rovnakých podmienkach, ako je uvedené vyššie a nakoniec sa sediment znovu suspendoval v pufri HEPES-NaOH, v pomere 30 mg tkaniva na ml. 100 μl tejto suspenzie membrán sa inkubovalo pri 0 °C 120 minút v prítomnosti [^3H]GR113808 (ligand opísaný vo vyššie uvedenom článku, špecifická aktivita 80-85 Ci/mmol) v konečnom objeme 1 ml pufra HEPES-NaOH (50 mM, pH = 7,4), v prítomnosti alebo neprítomnosti testovanej zlúčeniny. Inkubácia sa ukončila filtráciou cez filter Whatman GF/B, ktorý sa vopred upravil 0,1% polyetylénom, každá skúmavka sa premyla 4 ml pufra pri 0 °C, znovu sa uskutočnila filtrácia a pomocou kvapalinovej scintigrafie sa určila zvyšná rádioaktivita na filtri.

Nešpecifická väzba sa určila v prítomnosti 30 μM

serotonínu. Špecifická väzba predstavuje 90 % celkovej rádioaktivity získanej na filtri. Pre každú koncentráciu testovanej zlúčeniny sa určila percentuálna inhibícia špecifickej väzby [^3H]GR113808 a potom hodnota IC_{50} , čo je koncentrácia testovanej zlúčeniny, ktorá inhibuje 50 % špecifickej väzby.

Hodnoty IC_{50} zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu ležia v rozsahu 0,015 až 5 μM .

Zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu sa tiež testovali vzhľadom na ich agonistické alebo antagonistické pôsobenie k 5-HT_4 receptorom v pažeráku krýs podľa spôsobu opísaného v Baxter a kol., Naunyn Schmied. Arch. Pharmacol., (1991) 343, 439. Použili sa samci krýs Sprague-Dawley s hmotnosťou 300 až 450 g. Z koncovej časti pažeráka sa rýchle vybral 1,5 cm fragment, svalová vrstva sa odstránila a vnútorný svalový obal sliznice sa pozdĺžne otvoril, fragment sa pripevnil do orgánovej nádoby obsahujúcej Krebs-Henseleitov roztok pri 32 °C okysličený prúdom karbogénu (95 % kyslík a 5 % oxid uhličitý) a pripojil sa k izometrickému meniču pri bazálnom tlaku 0,5 g. Stiahnutie tkaniva sa vyvolalo pridaním 0,5 μM karbacholu, počkalo sa 15 minút, kým sa stabilizovala koncentrácia, a potom sa prostriedok vystavil serotonínu (1 μM), čím sa stanovila maximálna relaxácia. Tkanivo sa premylo a po 20 minútach sa znovu pridalo 0,5 μM karbacholu a prostriedok sa vystavil študovanej zlúčenine pri rastúcich koncentráciách 0,1 až 1 μM . Zlúčeniny, ktoré vyvolali relaxáciu, sa charakterizovali ako 5-HT_4 agonisty.

Pre zlúčeniny, ktoré nevyvolávajú relaxáciu, sa prostriedky vystavili serotonínu pri rastúcich koncentráciách od 0,1 nM do koncentrácie vyvolávajúcej maximálnu relaxáciu a relaxačná krivka vyvolaná serotonínom, v prítomnosti študovanej zlúčeniny, sa potom porovnala s kontrolnou krivkou v neprítomnosti uvedenej zlúčeniny. Pokiaľ prítomnosť tejto zlúčeniny vyvolá posun krivky smerom doprava, testovaná zlúčenina

je charakterizovaná ako 5-HT₄ antagonista.

Nakoniec sa zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu testovali vzhľadom na ich antagonistické pôsobenie na 5-HT₃ receptory zostupnej hladkej svaloviny časti hrubého čreva izolovanej z morčáťa podľa spôsobu opísaného v Grossman a kol., Br.J.Pharmacol. (1989), 97, 451.

Serotonín (0,1 až 100 μ M), po blokovaní receptorov typu 5-HT₁ a 5-HT₂ (0,1 μ M metysergid) a znecitlivení 5-HT₄ receptorov (10 μ M 5-metoxytryptamín), spôsobuje stiahnutie hladkej svaloviny zostupnej časti hrubého čreva morčiat pomocou stimulácie 5-HT₃ receptorov v závislosti na koncentrácii. Koncentrácia sa zaznamenáva pomocou izometrie.

Antagonistický účinok zlúčeniny na 5-HT₃ serotonínerné receptory sa stanoví pomocou merania posunu kontrolnej krivky koncentračného efektu (neaditívnej vzrastajúcej následnej koncentrácie), pri koncentráciách zlúčeniny 1 nM až 0,1 μ M, pri inkubácii 30 minút.

Výsledky biologických testov uskutočnených na zlúčeninách podľa predkladaného vynálezu ukazujú, že sú ligandy serotonínerných receptorov typu 5-HT₃ a/alebo 5-HT₄, a že pôsobia ako 5-HT₄ agonisty alebo antagonisty a/alebo ako 5-HT₃ antagonisty.

Zlúčeniny sa môžu preto použiť na liečenie a prevenciu porúch, v ktorých sú zahrnuté 5-HT₃ a/alebo 5-HT₄ receptory, v oblasti centrálnej nervovej sústavy, gastrointestinálneho systému, kardiovaskulárneho systému alebo močového systému.

V oblasti centrálneho nervového systému tieto poruchy a ťažkosti zahrňujú najmä neurologické a psychiatrické poruchy, ako sú poruchy rozpoznania, psychózy, nutkavé alebo obsedantné správanie a stavy depresie a úzkosti. Medzi poruchy rozpoznania patria napríklad nedostatky pamäte a pozornosti, stavy demen-

cie (starecká demencia typu Alzheimerovej choroby alebo demencia súvisiaca s vekom), cerebrovaskulárne nedostatočnosti alebo Parkinsonova choroba. Medzi psychózy patrí napríklad paranoja schizofrénia, mánia a autizmus. Medzi nutkavé a obsedantné správanie patria napríklad poruchy spojené s jedlom, ako strata chuti alebo bulímia. Medzi stavy depresie a úzkosti patria napríklad úzkosti anticipujúceho typu (pred chirurgickou operáciou, pred zubným ošetrovaním, a podobne), úzkosti spôsobené závislosťou na alkohole alebo drogách alebo ich odobratím, mánia, sezónne citové poruchy, migrény alebo zdvíhanie žalúdka.

V oblasti gastrointestinálneho systému tieto poruchy a ťažkosti zahŕňujú najmä zvracanie vyvolané protinádorovým liečením, priame alebo nepriame poruchy gastrointestinálnej pohyblivosti pažeráka, žalúdka alebo čriev alebo špecifické choroby, ako je dispepsia, vredy, gastroezofagiálny reflux, nadúvanie, dráždivý črevný syndróm, poruchy črevného vylučovania alebo hnačka, napríklad vyvolaný cholerou alebo karcinoidným syndrómom.

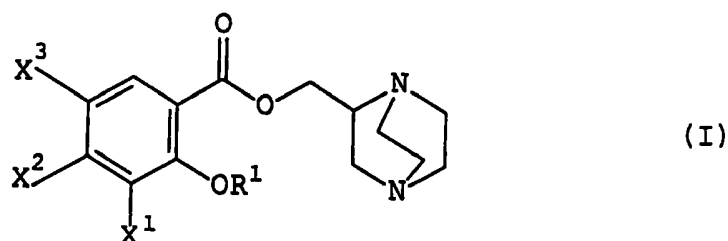
V oblasti kardiovaskulárneho systému tieto poruchy a problémy zahŕňujú najmä ochorenia súvisiace priamo alebo nepriamo so srdcovými arytmiami.

V oblasti močového systému tieto poruchy a problémy zahŕňujú najmä inkontinencie všetkého druhu, rovnako ako ich príčiny alebo následky, napríklad infekcia, kamene alebo poškodenie obličiek.

Zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu môžu byť prítomné vo všetkých formách prostriedkov vhodných na enterálne alebo parenterálne podávanie, ako sú tabletky, dražé, tobolky, vrátane želatínových toboliek, suspenzie alebo roztoky na prehĺtanie alebo na injekčné podávanie, ako sú sirupy alebo ampulky a podobne, v kombinácii s vhodnými prísadami a v dávkach, ktoré umožňujú denné podávanie 0,005 až 20 mg/kg.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Zlúčenina vo forme čistého 'enantioméru' alebo zmesi enantiomérov všeobecného vzorca I



kde

R^1 je metylová skupina,

X^1 je atóm vodíka, alebo

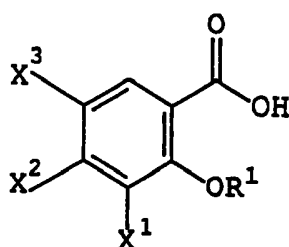
OR^1 a X^1 spoločne tvoria skupinu vzorca $-O(CH_2)_2-$, skupinu $-O(CH_2)_3-$, skupinu $-O(CH_2)_2O-$ alebo skupinu $-O(CH_2)_3O-$,

X^2 je atóm vodíka a alebo aminoskupina a

X^3 je atóm halogénu,

vo forme voľnej zásady alebo adičnej soli s kyselinou.

2. Spôsob prípravy zlúčenín podľa nároku 1, v y z n a č u - j ú c i s a t ý m, že sa najprv pripraví etyl-1,4-diaza-bicyklo[2,2,2]oktán-2-karboxylát reakciou piperazínu a etyl-2,3-dibrómpropanoátu, potom sa získaný ester redukuje na 1,4-diazabicyklo[2,2,2]oktán-2-metanol a nakoniec získaný alkohol reaguje s derivátom kyseliny benzoovej všeobecného vzorca V



kde R^1 , X^1 , X^2 a X^3 sú definované v nároku 1.

3. Liečivo, v y z n a č u j ú c e s a t ý m, že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1.

4. Farmaceutický prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1 v kombinácii s vhodnou prísadou.