



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA NUMERO	101999900771033
Data Deposito	01/07/1999
Data Pubblicazione	01/01/2001

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	D		
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

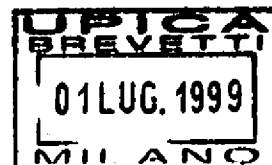
Titolo

ANTAGONISTI SELETTIVI PER I RECETTORI M2 CON STRUTTURA 5H-DIBENZO(B,
F)AZEPINICA.

5863 M Descrizione dell'invenzione industriale avente per titolo:
FM/as "ANTAGONISTI SELETTIVI PER I RECETTORI M_2 CON
STRUTTURA 5H-DIBENZO[B,F]AZEPINICA" MI 99 A 001452

a nome : MEDIOLANUM FARMACEUTICI S.p.A.

con sede in: Milano



* *

La presente invenzione si riferisce a nuovi derivati della 5H-dibenzo[b,f]azepina farmacologicamente attivi, alle composizioni farmaceutiche che li contengono ed al metodo per utilizzarli nel trattamento di disordini cardiovascolari, particolarmente bradicardie e bradiaritmie e nel trattamento di disordini cognitivi come ad esempio la malattia di Alzheimer.

TECNICA ANTERIORE

I recettori colinergici di tipo muscarinico sono presenti in molti tessuti. L'attivazione di questi recettori attraverso il loro neurotrasmettitore, l'acetilcolina, può produrre diversi effetti come l'aumento della motilità gastrointestinale, miosi, aumento della secrezione salivare ed intestinale, stimolo alla minzione, bradicardia. I recettori M_2 , in particolare, sono situati nel tessuto cardiaco a livello post-sinaptico e nell'ippocampo e nella corteccia cerebrale a livello pre-sinaptico (autorecettori inibitori).

I recettori M_2 post-sinaptici hanno un ruolo fondamentale nella regolazione della frequenza cardiaca mediata dal nervo vago. La sovrastimolazione dei recettori M_2 , comportando un aumento del tono parasimpatico, sembra essere un fattore di rischio importante nella malattia del

seno e nel blocco atrioventricolare. Antagonisti dei recettori M_2 , di conseguenza, possono essere utilizzati nel trattamento di disordini funzionali del seno atriale. Sono noti alcuni composti con questo tipo di attività, come ad esempio AF-DX 116 (US 4550107), AQ-RA 741 (EP 312895), YM 47244 (WO 9613488) ma il solo prodotto in commercio è l'atropina, antagonista muscarinico non-selettivo. L'uso di questo prodotto è però limitato dalla sua breve durata d'azione e dall'insorgere di effetti collaterali, dovuti alla sua scarsa selettività, quali secchezza delle fauci, midriasi, diminuita motilità gastrointestinale. E' per questa ragione che esiste la necessità di composti selettivi verso i recettori M_2 , a lunga durata d'azione e privi di effetti collaterali.

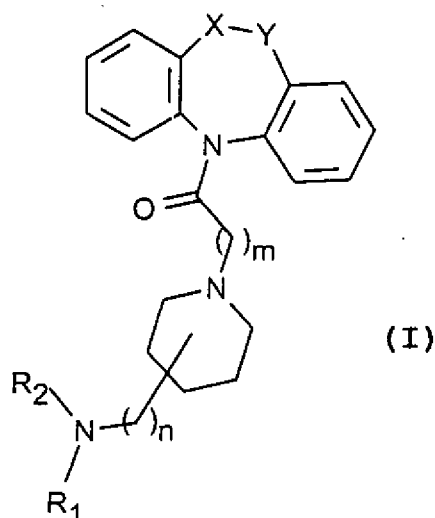
I recettori M_2 pre-sinaptici modificano il rilascio di acetilcolina attraverso un meccanismo di feedback negativo. Bloccando questi recettori con antagonisti selettivi è possibile favorire il rilascio di acetilcolina endogena. L'aumento di acetilcolina può migliorare la performance cognitiva in condizioni di ipofunzionalità del sistema colinergico come ad esempio la malattia di Alzheimer. In questo campo sono stati largamente studiati ed utilizzati gli inibitori dell'acetilcolinesterasi quali tacrina (New Engl. J. Med. 315, 1241-5 (1986)), donepezil (EP 296560), rivastigmina (DE 3805744), eptastigmina (EP 154864) ma con moderato successo in quanto non privi di effetti collaterali anche molto seri. Tacrina induce elevati livelli di transaminasi (JAMA 280, 1777-1782 (1998)) mentre eptastigmina può causare gravi effetti tossici di tipo ematologico (Neurology 52, (4), 700-708 (1999)). La nostra ricerca e quindi la presente invenzione è indirizzata alla scoperta di antagonisti dei recettori muscarinici M_2 che siano in grado di favorire la

trasmissione colinergica centrale senza indurre effetti collaterali gravi.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

Abbiamo ora sintetizzato ed è l'oggetto della presente invenzione, una nuova classe di derivati della 5H-dibenzo[b,f]azepina dotati di una elevata attività e selettività per i recettori muscarinici M_2 , lunga emivita e privi di effetti collaterali. I nuovi composti sono potenzialmente utili nel trattamento di disordini cardiovascolari, in particolare nel trattamento di bradicardia sinusale, malattie del nodo del seno, disturbi della conduzione atrio-ventricolare e bradiaritmie, oppure nel trattamento di disordini cognitivi e malattie neurodegenerative come ad esempio la malattia di Alzheimer.

Questi nuovi derivati hanno la formula generale (I)



dove X-Y rappresenta $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, CH=CH , CH=CR_3 ;

R_1 rappresenta idrogeno o un alchile C_{1-4} lineare o ramificato;

R_2 rappresenta un alchile C_{1-4} lineare o ramificato, un fenile, un benzile o un fenetile;

R_3 rappresenta idrossile, alcossile C_{1-4} lineare o ramificato, fenossile;

m e n rappresentano indipendentemente un numero intero da 1 a 10.

In un gruppo preferito di composti, X-Y rappresenta $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ed il gruppo alchilamminico è sostituito alla piperidina in posizione 2.

In un altro gruppo preferito di composti, X-Y rappresenta $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ed il gruppo alchilamminico è sostituito alla piperidina in posizione 3.

In un altro gruppo preferito di composti, X-Y rappresenta $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ed il gruppo alchilamminico è sostituito alla piperidina in posizione 4.

In un altro gruppo preferito di composti, X-Y rappresenta CH=CH ed il gruppo alchilamminico è sostituito alla piperidina in posizione 2.

In un altro gruppo preferito di composti, X-Y rappresenta CH=CH ed il gruppo alchilamminico è sostituito alla piperidina in posizione 3.

In un altro gruppo preferito di composti, X-Y rappresenta CH=CH ed il gruppo alchilamminico è sostituito alla piperidina in posizione 4.

In un altro gruppo preferito di composti, X-Y rappresenta CH=CR_3 ed il gruppo alchilamminico è sostituito alla piperidina in posizione 2.

In un altro gruppo preferito di composti, X-Y rappresenta CH=CR_3 ed il gruppo alchilamminico è sostituito alla piperidina in posizione 3.

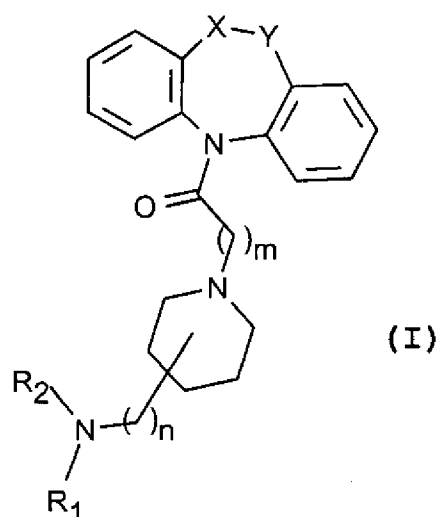
In un altro gruppo preferito di composti, X-Y rappresenta CH=CR_3 ed il gruppo alchilamminico è sostituito alla piperidina in posizione 4.

I composti di formula (I) possono essere salificati con acidi inorganici od organici farmacologicamente accettabili scelti ad esempio tra acido cloridrico, acido solforico, acido fosforico, acido metansolfonico, acido p-toluensolfonico, acido citrico, acido ossalico, acido maleico, acido fumarico, acido tartarico, acido malonico, acido gluconico, acido salicilico, acido succinico, acido lattico ed altri.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Le caratteristiche ed i vantaggi dei derivati della 5H-dibenzo[b,f]azepina utili come antagonisti selettivi dei recettori M_2 secondo la presente invenzione, nonché il procedimento per la loro preparazione, saranno maggiormente evidenziati nel corso della seguente descrizione dettagliata.

I composti della presente invenzione hanno la seguente formula generale:

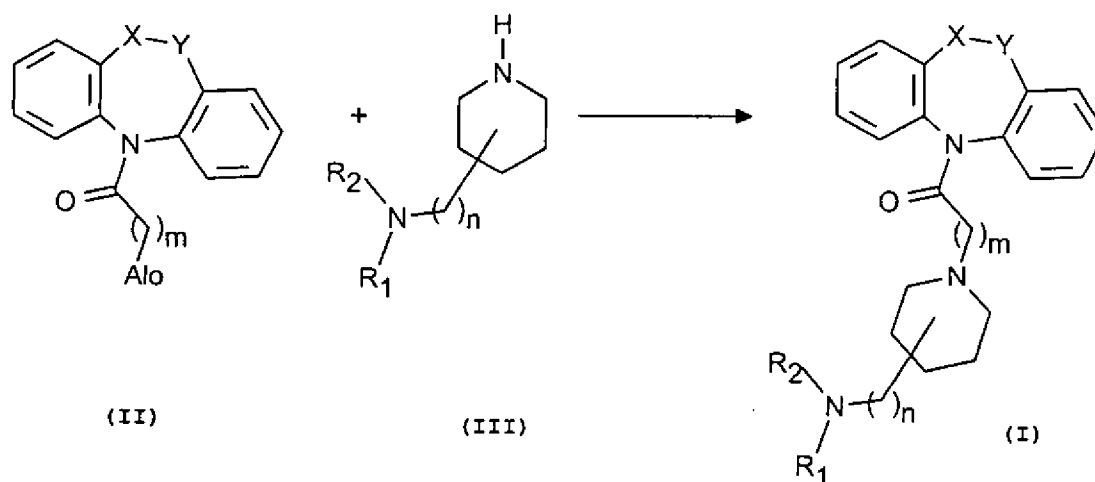


nella quale

X-Y rappresenta CH_2-CH_2 , $CH=CH$, $CH=CR_3$; R_1 rappresenta idrogeno o un alchile C_{1-4} lineare o ramificato; R_2 rappresenta un alchile C_{1-4} lineare o ramificato, un fenile, un benzile o un fenetile; R_3 rappresenta idrossile, alcossile C_{1-4} lineare o ramificato, fenossile;

m e n rappresentano indipendentemente un numero intero da 1 a 10.

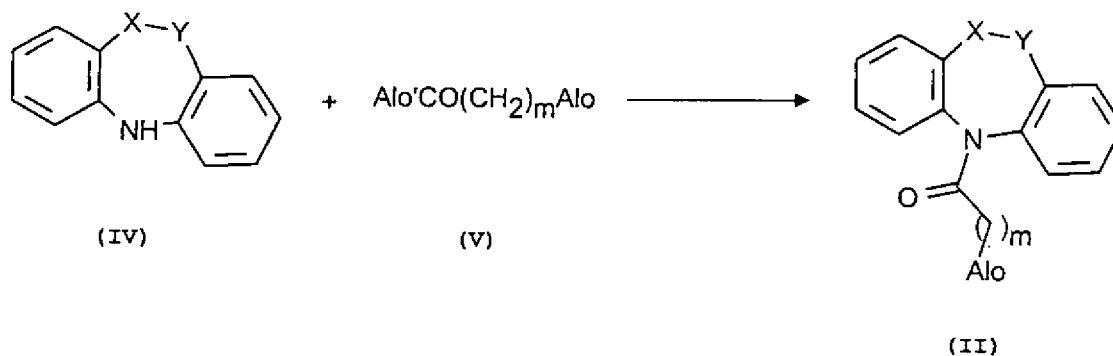
I nuovi derivati dibenzoazepinici secondo la formula (I) sono stati ottenuti per reazione tra gli alogenoacilderivati (II) in cui Alo può essere cloro o bromo o iodio e l'ammina secondaria (III) mediante il seguente processo:



La reazione di amminazione viene condotta in un solvente inerte ad una temperatura compresa tra 0°C e la temperatura di ebollizione del solvente stesso, preferibilmente con due moli di ammina (III) o con da 1 a 2 moli di ammina (III) ed una base ausiliaria. I solventi utilizzati possono essere scelti per esempio tra solventi clorurati come diclorometano, cloroformio, dicloroetano; idrocarburi aromatici come benzene, toluene, clorobenzene, piridina; chetoni come acetone, acetonitrile, dimetilformammide; alcoli come metanolo, etanolo, isopropanolo. La base ausiliaria utilizzata può essere una base organica terziaria come trietilammina, dimetilanilina, piridina, 4-(dimetilammino)piridina oppure una base inorganica come carbonato o idrogenocarbonato di metalli alcalino o alcalino terrosi. La reazione può essere accelerata per aggiunta di quantità catalitiche di ioduri di metalli alcalini. I tempi di reazione possono variare da 30 minuti a 10 ore in relazione alla natura del substrato (II) e dell'ammina (III) utilizzati.

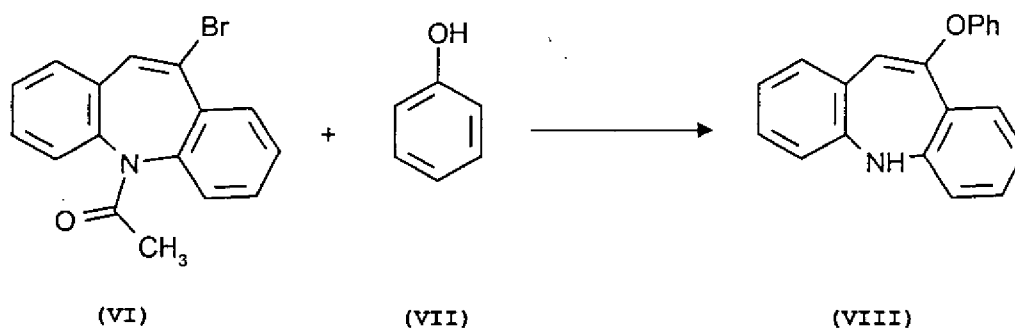
I composti di formula (II) dove X-Y è CH₂-CH₂, m=1 ed Alo è cloro e X-Y è CH=CH, m=1 ed Alo è cloro sono rispettivamente descritti in J. Med. Chem 30,1378-1382 (1987) e nel brevetto GB 849,032 della Geigy.

Per preparare gli altri alogenoacilderivati (II), i derivati azepinici di formula (IV) vengono fatti reagire con acilalogenuri (V) dove Alo', scelto tra cloro, bromo e iodio, può essere uguale o diverso da Alo.



L'acilazione viene condotta in un solvente inerte ad una temperatura compresa tra quella ambiente e la temperatura di ebollizione del solvente stesso, preferibilmente in presenza di una base ausiliaria. I solventi utilizzati possono essere scelti per esempio tra solventi clorurati come diclorometano, cloroformio, dicloroetano; idrocarburi aromatici come benzene, toluene, clorobenzene; eteri aciclici o ciclici come diisopropiletere, tetraidrofurano, diossano. La base ausiliaria utilizzata può essere una base organica terziaria come trietilammia, dimetilanilina, piridina, 4-(dimetilammino)piridina oppure una base inorganica come carbonato o idrogenocarbonato di metalli alcalino o alcalino terrosi.

I composti di formula (IV) dove X-Y è CH=COMe oppure CH=COEt sono descritti in Synthetic Comm. 24, 683-687 (1994). Il composto di formula (IV) dove X-Y è CH=CONBu, è descritto nel brevetto GB 943,277 della Geigy. La dibenzoazepina (IV) dove X-Y è CH=COPh, si può ottenere dalla 5-acetil-10-bromo-5H-dibenzo[b,f]azepina (VI), descritta nel brevetto GB 943,277 della Geigy, secondo il seguente schema:

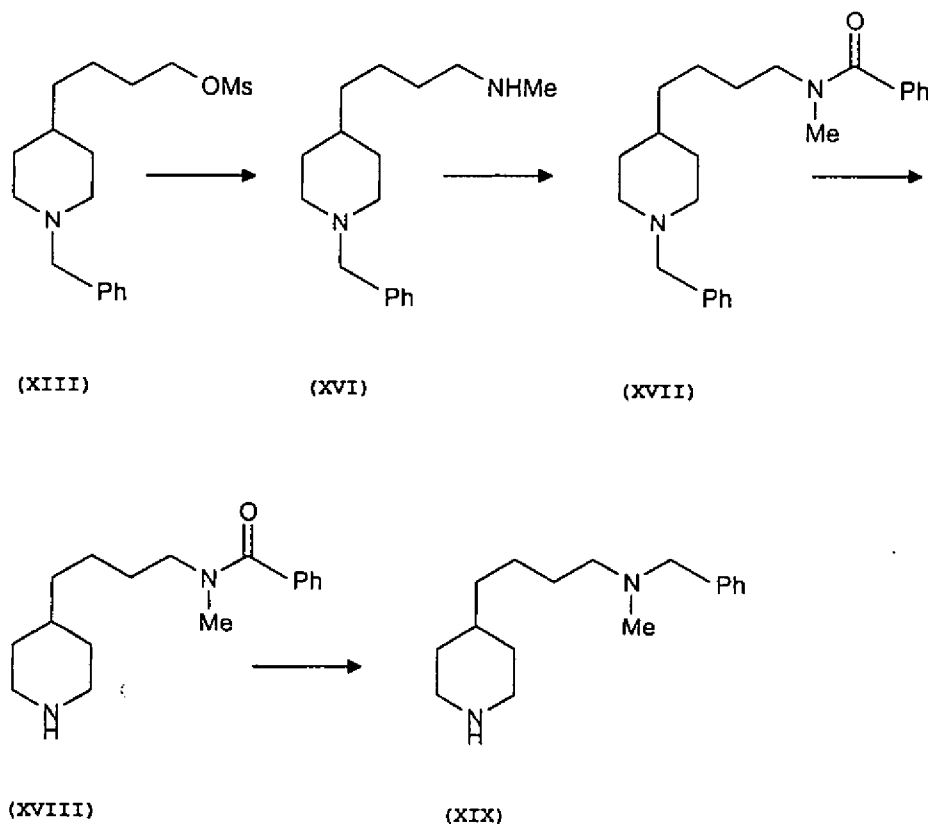


La reazione del bromoderivato (VI) con fenolo (VII) viene condotta a 100°C in presenza di ter-butilato di potassio in dimetilsolfossido come solvente; l'intermedio arinico formatosi per deidroalogenazione di (VI) reagisce con fenolo a dare la 10-fenossi-5H-dibenzo[b,f]azepina (VIII).

Molte ammine secondarie (III) sono già note in letteratura. Ad esempio le ammine (III) dove $n=1$ ed R_1 ed R_2 sono gruppi alchilici sono descritte nel brevetto US 4,550,107 della K. Thomae; l'ammina (III) in cui $n=2$ ed $R_1=R_2$ =Etile è descritta in J. Am. Chem. Soc. 79, 2836-2838 (1957); le ammine secondarie (III) dove $n=3-5$ ed R_1 ed R_2 sono gruppi alchilici sono descritte in Liebigs Ann. Chem. 809-810 (1993). La 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) già nota in letteratura (Liebigs Ann. Chem. 809-810 (1993)) è stata da noi preparata con un metodo differente qui sotto descritto:

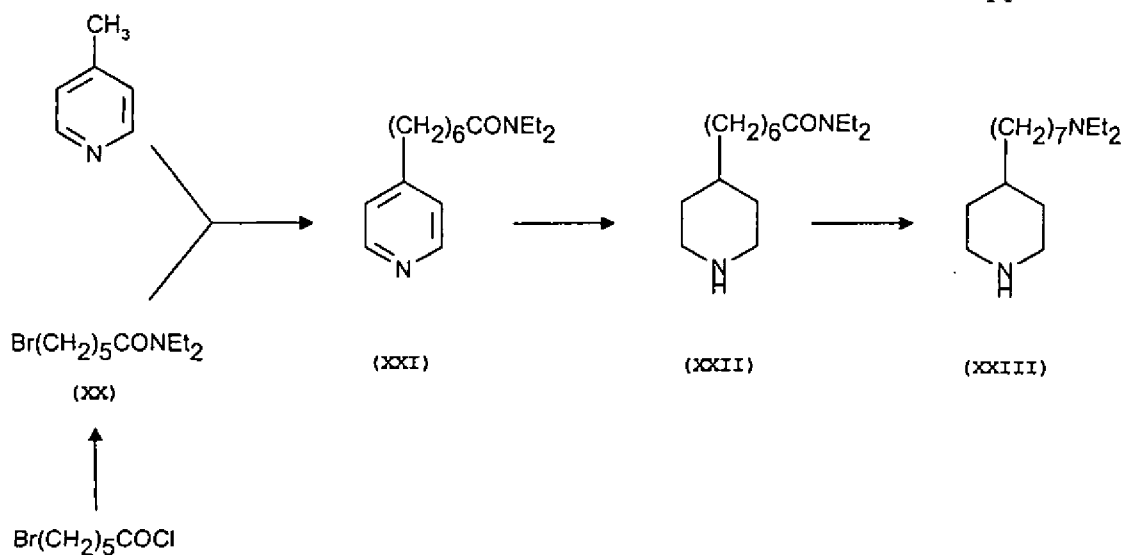
d'idrogeno in metanolo a refluxo porta all'ottenimento dell'ammina desiderata (XV).

La 4-[4-(N-benzil-N-metilammino)butil] piperidina (XIX) è stata ottenuta dal mesilderivato (XIII) seguendo la procedura sotto indicata:



Il mesilderivato (XIII) per sostituzione nucleofila con metilammina acquosa al 40% in acetonitrile a temperatura ambiente fornisce l'amminoderivato (XVI). Questo viene benzoilato con benzoil cloruro in acetone a temperatura ambiente utilizzando idrossido di sodio come base a dare l'ammide (XVII). La N-debenzilazione di (XVII) con ammonio formiato e palladio su carbone al 10% in metanolo a refluxo porta al composto (XVIII). La riduzione di (XVIII) con litioalluminio idruro in tetraidrofurano a refluxo fornisce l'ammina desiderata (XIX).

La 4-[7-(dietilammino)eptil] piperidina (XXIII) è stata ottenuta dalla 4-picolina e dal 6-bromo-esanoil cloruro seguendo la procedura sotto indicata:



Per reazione del 6-bromoesanoil cloruro con dietilammina in acetonitrile a 0°C si ottiene l'ammide (XX). Quest'ultima reagendo ad 80°C con l'anione della 4-picolina, ottenuto con sodio ammido al 50% in toluene, produce il derivato (XXI) che viene trasformato in cloridrato per trattamento con una soluzione metanolica di acido cloridrico. L'idrogenazione del cloridrato a pressione e temperatura ambiente in acido acetico glaciale, utilizzando ossido di platino al 5% come catalizzatore, produce il derivato (XXII). La riduzione del gruppo ammidico di (XXII) con litioaluminio idruro in tetraidrofurano a riflusso porta al derivato piperidinico (XXIII).

Per i previsti impieghi terapeutici, i composti dell'invenzione saranno formulati in opportune composizioni farmaceutiche ricorrendo a tecniche ed eccipienti convenzionali. Le composizioni dell'invenzione saranno somministrabili ad esempio per via orale, parenterale, rettale, transdermica in forme quali capsule, compresse, soluzioni, supposte, pomate e simili. La posologia dipenderà da più fattori quali tipo della patologia e condizioni (peso, sesso ed età) del paziente, e sarà determinata con metodi standard sulla base delle caratteristiche farmacocinetiche e tossicologiche di ogni singolo composto. Si può comunque prevedere una posologia media giornaliera compresa fra 0,1 e 10 mg/kg.

ESEMPI

ESEMPIO 1

a) Preparazione di 3-(N-benzil-4'-piperiniliden)acrilato di etile (IX)

17,1 mL (92,2 mmoli) di 1-benzil-4-piperidone e 25,63 g (92,2 mmoli) di trietil 4-fosfonocrotonato al 90% vengono dissolti in 60 mL di etanolo assoluto. Alla soluzione raffreddata a 0-5°C si gocciola, mantenendo in atmosfera inerte, una soluzione di etilato sodico ottenuta sciogliendo 2,76 g (1,3 x 92,2 mmoli) di sodio in 150 mL di etanolo assoluto. Il gocciolamento dura circa 40' e la temperatura deve essere mantenuta tra 0-5°C. Al termine si lascia reagire a freddo per 45' poi a temperatura ambiente per 1 ora. Si versa la miscela in 600 mL di acqua satura di NaCl e si estrae con Et₂O. Gli estratti organici riuniti vengono lavati con H₂O, anidrificati su Na₂SO₄ ed evaporati ottenendo 32 g di olio giallo-scuro. Questo prodotto è stato purificato mediante cromatografia a media pressione utilizzando come eluente ETP/Et₂O 1/1 e come fase stazionaria SiO₂ (230-400 mesh). Dalle frazioni raccolte dopo evaporazione del solvente si ottengono 16,6 g di estere dienico (IX) come olio giallo. Resa 63%.

IR (film, cm⁻¹): 1710 (ν C=O)

¹H-NMR (CDCl₃, ppm): 1,29 (3H, t, CH₂CH₃), 2,25-2,60 (8H, m, H anello piperidinico), 3,51 (2H, s, CH₂Ph), 4,19 (2H, q, CH₂CH₃), 5,80 (1H, d, CHCOOEt), 5,96 (1H, d, CH-CH=CH-COOEt), 7,20-7,35 (5H, m, aromatici), 7,56 (1H, dd, CH=CH-COOEt)

b) Preparazione di 4-[3(etossicarbonil)propil]piperidina (X)

16,48 g (57,7 mmoli) di estere dienico (IX) sciolti in 150 mL di etanolo vengono addizionati di 1,6 g di palladio su carbone al 10% e posti in atmosfera

di idrogeno a pressione e temperatura ambiente per circa 8 ore. Al termine la miscela viene filtrata su celite per eliminare il catalizzatore e la celite lavata con EtOH. Dopo evaporazione del solvente il residuo si riprende con 200 mL di acqua satura di NaCl e si estrae con Et₂O. Gli estratti organici riuniti vengono anidrificati su Na₂SO₄ ed evaporati ottenendo 11,2 g di (X) come olio giallo. Resa 97%.

IR (film, cm⁻¹): 1720 (ν C=O)

¹H-NMR (CDCl₃, ppm): 1,22 (3H, t, CH₂CH₃), 1,55-1,78 (9H, m, CH₂ e CH), 2,25 (2H, t, CH₂COOEt), 2,53 (2H, td, NCH₂_{ax}), 3,01 (2H, d, NCH₂_{eq}), 4,09 (2H, q, CH₂CH₃)

c) Preparazione di 4-[3(etossicarbonil)propil]-1-benzilpiperidina (XI)

11,04 g (55,4 mmoli) di estere debenzilato (X) sciolti in 60 mL di dimetilformammide, vengono addizionati di 5,9 g (55,4 mmoli) di sodio carbonato, 6,4 mL (55,4 mmoli) di benzilcloruro ed una quantità catalitica di sodio ioduro. Si lascia reagire a temperatura ambiente per circa 6 ore ed al termine si versa la miscela in 400 mL di HCl 0,1 N. Si estrae con Et₂O e gli estratti acquosi, basificati con NaOH al 32% vengono riestratti con Et₂O. Gli estratti organici riuniti vengono lavati con H₂O, anidrificati su Na₂SO₄ ed evaporati. Si ottengono 13,85 g di (XI) come olio giallo. Resa 86%.

IR (film, cm⁻¹): 2927 (ν C-H); 1736 (ν C=O); 1454 (δ C-H)

¹H-NMR (CDCl₃, ppm): 1,15-1,35 (8H, m, CH₂ e CH e CH₂CH₃), 1,50-1,70 (4H, m, CH₂ e CH), 1,91 (2H, t, NCH₂_{ax}), 2,27 (2H, t, CH₂COOEt), 2,86 (2H, d, NCH₂_{eq}), 3,46 (2H, s, CH₂Ph), 4,11 (2H, q, CH₂CH₃) 7,20-7,35 (5H, m, aromatici)

d) Preparazione di 4-[(4-idrossi)butil]-1-benzilpiperidina (XII)

Una soluzione costituita da 13,83 g (47,8 mmoli) di estere (XI) sciolti in 60 mL di tetraidrofurano anidro, viene gocciolata ad una sospensione di 2,72 g (1,5 x 47,8 mmoli) di litioalluminio idruro in 40 mL di tetraidrofurano anidro raffreddata ad una temperatura di circa 5°C. Il gocciolamento dura circa 20' e la temperatura deve essere mantenuta tra 5-10°C. Terminata l'aggiunta si porta a temperatura ambiente e si lascia reagire per 1 ora. Al termine della reazione si gocciola una soluzione diluita di NaOH e si filtra su celite il solido ottenuto. Si lava la celite con Et₂O ed al filtrato si aggiunge acqua satura di NaCl. La fase acquosa separata viene riestratta con Et₂O e gli estratti organici riuniti vengono lavati con H₂O. Dopo anidificazione su Na₂SO₄ ed evaporazione si ottengono 11,30 g di (XII) come olio giallino. Resa 96%.

IR (film, cm⁻¹): 3339 (ν O-H); 2928 (ν C-H); 1454 (δ C-H)

¹H-NMR (CDCl₃, ppm): 1,10-1,70 (11H, m, CH₂ e CH), 1,91 (2H, t, NCH₂), 2,86 (2H, d, NCH₂), 3,47 (2H, s, CH₂Ph), 3,61 (2H, t, CH₂OH), 7,20-7,35 (5H, m, aromatici)

e) Preparazione di 4-[4-(dietilammino)butil]-1-benzilpiperidina (XIV)

Una soluzione preparata sciogliendo 11,23 g (45,4 mmoli) di idrossiderivato (XII) in 60 mL di tetraidrofurano viene raffreddata 0°C. Ad essa si aggiungono 6,4 mL (1,01 x 45,4 mmoli) di trietilammina quindi si gocciolano 3,6 mL (1,01 x 45,4 mmoli) di metansolfonil cloruro sciolto in 20 mL di tetraidrofurano. Il gocciolamento dura circa 30' e la temperatura deve essere mantenuta tra 0-5°C. Al termine si lascia reagire a freddo per 45' poi si porta a temperatura ambiente e si diluisce con Et₂O. Si filtra il solido bianco insolubile, si lava il precipitato con Et₂O e si evapora il solvente ottenendo 15,20 g di mesilderivato (XIII) come olio giallino. Il prodotto viene

caratterizzato mediante spettroscopia IR (film, cm^{-1}): 2928 (ν C-H); 1454 (δ C-H); 1355 (ν_{as} SO_2); 1176 (ν_{s} SO_2), quindi posto a reagire immediatamente. 15,03 g (46,2 mmoli) di mesilderivato (XIII) vengono sciolti in 130 mL di acetonitrile, addizionati di 19,1 mL (4 x 46,2 mmoli) di dietilammina e la soluzione così ottenuta viene posta a riflusso per 6 ore. Al termine della reazione si diluisce con acqua satura di NaCl e si estrae con Et_2O . Gli estratti organici riuniti vengono lavati con H_2O , anidrificati su Na_2SO_4 ed il solvente evaporato fornisce 12,94 g di (XIV) come olio giallo-bruno. Resa 94%.

IR (film, cm^{-1}): 2928 (ν C-H); 1454 (δ C-H)

^1H -NMR (CDCl_3 , ppm): 0,99 (6H, t, NCH_2CH_3), 1,10-1,70 (11H, m, CH_2 e CH), 1,91 (2H, m, NCH_{ax}), 2,38 (2H, t, CH_2NEt_2), 2,50 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,85 (2H, d, NCH_{eq}), 3,46 (2H, s, CH_2Ph), 7,20-7,35 (5H, m, aromatici).

f) Preparazione di 4-[4-(dietilammino)butil] piperidina (XV)

12,93 g (42,7 mmoli) di dietilamminoderivato (XIV) sciolti in 160 mL di metanolo vengono addizionati di 13,5 g (5 x 42,7 mmoli) di ammonio formiato e di 13 g di palladio su carbone al 10%. La sospensione mantenuta in atmosfera inerte viene scaldata a riflusso per 20'. Al termine si raffredda a temperatura ambiente e si elimina il palladio filtrando su celite. Si lava la celite con CHCl_3 , si aggiunge H_2O e si separano le fasi. La fase acquosa viene riestratta con CHCl_3 , gli estratti organici riuniti vengono lavati con H_2O , anidrificati su Na_2SO_4 ed evaporati. Si ottengono 8,13 g di (XV) come olio giallo. Resa 90%.

IR (film, cm^{-1}): 3278 (ν N-H); 2929 (ν C-H); 1466 e 1446 (δ C-H);

^1H -NMR (CDCl_3 , ppm): 0,99 (6H, t, NCH_2CH_3), 1,05-1,75 (12H, m, CH_2 e CH e NH), 2,38 (2H, t, CH_2NEt_2), 2,50 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,55 (2H, m, NCH_{ax}),

3,02 (2H, dt, NCH_{eq}).

g) Preparazione di 5-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]acetil-5H-dibenzo[b,f]azepina

Ad una soluzione costituita da 3 g (1,1 x 12,8 mmoli) di ammina (XV) sciolta in 70 mL di acetonitrile si aggiungono 1,36 g (12,8 mmoli) di sodio carbonato, 3,46 g (12,8 mmoli) di 5-(cloroacetil)-5H-dibenzo[b,f]azepina ed una quantità catalitica di sodio ioduro. La miscela viene scaldata a riflusso per 1,5 ore ed al termine versata in 150 mL di HCl 2 N ed estratta con Et_2O . La fase acquosa è trattata con NaOH al 32% e riestratta con Et_2O . Gli estratti organici riuniti vengono lavati con H_2O , anidrificati su Na_2SO_4 ed evaporati. Si ottengono 5,84 g di olio giallo che vengono purificati mediante cromatografia a media pressione utilizzando SiO_2 (230-400 mesh) come fase stazionaria e ETP/Acetone/TEA 16/4/0,5 come eluente. Poiché nell'eluente è contenuta una certa quantità di trietilammina il residuo ottenuto dopo evaporazione del solvente è stato ripreso con Et_2O e lavato con H_2O . Dopo anidificazione della fase organica con Na_2SO_4 ed evaporazione si ottengono 5,04 g di 5-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]acetil-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallino. Resa 88%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	78,16	8,82	9,43
(trov. %)	78,06	8,90	9,37

IR (film, cm^{-1}): 3024 e 2929 (ν C-H); 1676 (ν C=O); 1490, 1462, 1442 (δ C-H);

^1H -NMR (CDCl_3 , ppm): 0,99 (6H, t, NCH_2CH_3), 1,05-2,00 (13H, m, CH_2 e CH e NCH_{ax}), 2,37 (2H, m, CH_2NEt_2), 2,50 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,68 (2H, d,

NCH_{eq})

2,76 (1H, d, COCHN), 3,07 (1H, d, COCH'N), 6,91 (2H, dd, CH=CH), 7,30-7,50 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 2

a) Preparazione di 4-[4-(metilammino)butil]-1-benzilpiperidina (XVI)

1,65 g (5,1 mmoli) di mesilderivato (XIII) vengono sciolti in 7 mL di acetonitrile, addizionati di 8,7 mL (20 x 5,1 mmoli) di metilammina al 40% in acqua e la soluzione così ottenuta viene mantenuta in agitazione a temperatura ambiente per 15 ore. Al termine della reazione si diluisce con 80 mL di acqua satura di NaCl e si estrae con Et_2O . Gli estratti organici riuniti vengono anidrificati su Na_2SO_4 ed il solvente evaporato fornisce 1,35 g di (XVI) come olio giallo. Resa 98%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,14-1,70 (11H, m, CH_2 e CH), 1,90 (2H, m, NCH_{ax}), 2,41 (3H, s, NHCH_3), 2,54 (2H, t, CH_2NHMe), 2,85 (2H, d, NCH_{eq}), 3,46 (2H, s, CH_2Ph), 7,20-7,35 (5H, m, aromatici).

b) Preparazione di 4-[4-(N-benzoil-N-metilammino)butil]-1-benzilpiperidina (XVII)

Ad una soluzione costituita da 1,30 g (5,0 mmoli) di metilamminoderivato (XVI) in 7 mL di acetone, vengono aggiunti 5,5 mL (1,1 x 5,0 mmoli) di NaOH 1N e quindi gocciolati 0,61 mL (1,05 x 5,0 mmoli) di benzoil cloruro in 3 mL di acetone. Terminata l'aggiunta si lascia reagire a temperatura ambiente per 2 ore. Si versa la miscela in acqua satura di NaCl, si basifica con NaOH 1N e si estrae con Et_2O . Gli estratti organici riuniti, lavati con acqua ed anidrificati su Na_2SO_4 , vengono evaporati ottenendo 1,35 g di olio. Questo prodotto viene purificato mediante cromatografia a media

pressione utilizzando SiO_2 (230-400 mesh) come fase stazionaria e $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 98/2 come eluente; dopo evaporazione del solvente si ottengono 1,50 g di (XVII) come olio giallino. Resa 82%.

IR (film, cm^{-1}): 2900 (ν C-H); 1620 (ν C=O);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,10-2,00 (13H, m, CH_2 e CH e NCH_{ax}), 2,85-3,10 (5H, m, NCH_{eq} e NCH_3), 3,20 (1H, m, CHNCOPh), 3,48 (2H, s, CH_2Ph), 3,51 (1H, m, $\text{CH}'\text{NCOPh}$), 7,20-7,35 (5H, m, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 7,37 (5H, s, COC_6H_5).

c) Preparazione di 4-[4-(N-benzoil-N-metilammino)butil]piperidina (XVIII)

Partendo da 1,08 g di (XVII) ed operando come descritto nell'Esempio 1, paragrafo f) è stato possibile ottenere 0,74 g di (XVIII) come olio giallo. Resa 91%.

IR (film, cm^{-1}): 2890 (ν C-H); 1615 (ν C=O);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 0,90-1,75 (11H, m, CH_2 e CH), 2,07 (1H, s allargato, NH), 2,56 (2H, m, NCH_{ax}), 2,86-3,10 (5H, m, NCH_{eq} e NCH_3), 3,20 (1H, m, CHNCOPh), 3,50 (1H, m, $\text{CH}'\text{NCOPh}$), 7,35 (5H, s, COC_6H_5).

d) Preparazione di 4-[4-(N-benzil-N-metilammino)butil]piperidina (XIX)

Partendo da 0,65 g di (XVIII) ed operando come descritto nell'Esempio 1, paragrafo d) ma scaldando all'ebollizione per 1 ora, è stato possibile ottenere 0,57 g di (XIX) come olio giallo. Resa 92%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 0,90-1,80 (12H, m, CH_2 e CH e NH), 2,17 (3H, s, NCH_3), 2,34 (2H, t, $\text{CH}_2\text{NMeCH}_2\text{Ph}$), 2,56 (2H, td, NCH_{ax}), 3,03 (2H, dt, NCH_{eq}), 3,45 (2H, s, CH_2Ph), 7,20-7,35 (5H, m, aromatici).

e) Preparazione di 5-[4-[4-(N-benzil-N-metilammino)butil]-1-

piperidinil]acetil-5H-dibenzo[b,f]azepina

Partendo da 0,53 g di 5-(cloroacetil)-5H-dibenzo[b,f]azepina ed operando come descritto nell'Esempio 1, paragrafo g) ma utilizzando la 4-[4-(N-benzil-N-metilammino)butil]piperidina (XIX) invece della 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) è stato possibile ottenere 0,92 g di 5-[4-[4-(N-benzil-N-metilammino)butil]-1-piperidinil]acetil-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 95%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	80,28	7,96	8,51
(trov. %)	80,07	8,00	8,49

IR (film, cm^{-1}): 3020 e 2920 (ν C-H); 1670 (ν C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,00-2,00 (13H, m, CH_2 e CH e $\text{NCH}_{2\text{x}}$), 2,15 (3H, s, NCH_3), 2,32 (2H, t, CH_2NMePh), 2,68 (2H, d, $\text{NCH}_{2\text{eq}}$), 2,76 (1H, d, COCHN), 3,07 (1H, d, COCH'N), 3,44 (2H, s, NCH_2Ph), 6,92 (2H, dd, $\text{CH}=\text{CH}$), 7,20-7,45 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 3

Partendo da 0,25 g di 5-(cloroacetil)-5H-dibenzo[b,f]azepina ed operando come descritto nell'Esempio 1 paragrafo g) ma utilizzando la 4-[2-(dietilammino)etil]piperidina invece della 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) è stato possibile ottenere 0,30 g di 5-[4-[2-(dietilammino)etil]-1-piperidinil]acetil-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo scuro. Resa 77%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	77,66	8,45	10,06
(trov. %)	77,50	8,50	10,00

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,00 (6H, t, NCH_2CH_3), 1,05-2,05 (9H, m, CH_2 e CH e

NCH_{2x}), 2,39 (2H, m, CH_2NEt_2), 2,49 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,68 (2H, d, NCH_{2eq}), 2,78 (1H, d, COCHN), 3,07 (1H, d, $\text{COCH}'\text{N}$), 6,92 (2H, dd, $\text{CH}=\text{CH}$), 7,30-7,45 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 4

a) Preparazione della dietilammide dell'acido 6-bromoesanoico (XX)

4,9 mL (5 x 9,37 mmoli) di dietilammina sciolti in 8 mL di acqua e raffreddati a 0°C, vengono addizionati di 2,0 g (9,37 mmoli) di 6-bromoesanoil cloruro sciolti in 4 mL di acetone. Si lascia reagire a 0-5°C per circa 2 ore ed al termine si versa la miscela in acqua satura di NaCl. Si estrae con Et_2O e gli estratti organici riuniti vengono lavati con H_2O , anidrificati su Na_2SO_4 ed evaporati. Si ottengono 2,2 g di (XX) come olio giallo. Resa 94%.

IR (film, cm^{-1}): 1610 ($\nu \text{C}=\text{O}$)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,12 (6H, m, NCH_2CH_3), 1,35-1,75 (4H, m, CH_2), 1,87 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 2,29 (2H, t, $\text{CH}_2\text{CONEt}_2$), 3,20-3,46 (6H, m, NCH_2CH_3 e CH_2Br).

b) Preparazione della dietilammide dell'acido 7-(4-piridinil)eptanoico (XXI)

0,75 g (1,5 x 6,4 mmoli) di sodio ammidato al 50% in toluene vengono addizionati ad una soluzione di 0,93 mL (1,5 x 6,4 mmoli) di 4-picolina in 10 mL di toluene anidro. La sospensione viene scaldata ad 80°C per 30 minuti, raffreddata a temperatura ambiente ed addizionata mediante gocciolamento di 1,6 g (6,4 mmoli) di ammidato (XX) sciolta in 6 mL di toluene anidro. La reazione viene riportata ad 80°C per 6 ore. Al termine si versa la miscela in acqua satura di NaCl e si estrae con Et_2O . Gli estratti organici riuniti vengono lavati con H_2O , anidrificati su Na_2SO_4 ed evaporati. Il prodotto ottenuto come

olio marrone deve essere purificato mediante cromatografia a media pressione utilizzando SiO_2 (230-400 mesh) come fase stazionaria ed ETP/acetone 65/35 come eluente. Dopo evaporazione del solvente si ottengono 0,51 g di (XXI) come olio giallo. Resa 30%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,12 (6H, m, NCH_2CH_3), 1,27-1,80 (8H, m, CH_2), 2,26 (2H, t, $\text{CH}_2\text{CONEt}_2$), 2,58 (2H, t, $\text{CH}_2\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$), 3,32 (4H, m, NCH_2CH_3), 7,08 (2H, d, H piridina), 8,45 (2H, d, H piridina).

c) Preparazione della dietilammide dell'acido 7-(4-piperidinil)eptanoico (XXII)

0,47 g di piridinilderivato (XXI) vengono sciolti in 20 mL di HCl 1,9 M in metanolo e lasciati reagire per 40 minuti a temperatura ambiente. Il solvente viene evaporato ed il residuo è dissolto in 15 mL di acido acetico glaciale ed addizionato di 25 mg di platino ossido. La sospensione viene mantenuta in atmosfera di idrogeno a pressione e temperatura ambiente per 24 ore. Al termine la miscela viene filtrata su celite per eliminare il catalizzatore e la celite viene lavata con H_2O . Il filtrato viene basificato con NaOH al 32% ed estratto con Et_2O . Gli estratti organici riuniti vengono lavati con H_2O , anidrificati su Na_2SO_4 ed evaporati. Si ottengono 0,41 g di (XXII) come olio giallo. Resa 85%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,12 (6H, m, NCH_2CH_3), 1,20-1,80 (16H, m, CH_2 e CH e NH), 2,27 (2H, t, $\text{CH}_2\text{CONEt}_2$), 2,55 (2H, td, NCH_{ax}), 3,02 (2H, m, NCH_{eq}), 3,32 (4H, m, NCH_2CH_3)

d) Preparazione di 4-[7-(dietilammino)eptil]piperidina (XXIII)

Partendo da 0,35 g di dietilammide (XXII) ed operando come descritto nell'Esempio 1 paragrafo d) ma scaldando all'ebollizione per 2 ore è stato

possibile ottenere 0,32 g di (XXIII) come olio giallo. Resa 96%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,01 (6H, t, NCH_2CH_3), 1,10-1,80 (18H, m, CH_2 e CH e NH), 2,39 (2H, t, CH_2NEt_2), 2,51 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,55 (2H, m, NCH_{ax}), 3,03 (2H, dt, NCH_{eq})

e) Preparazione di 5-[4-[7-(dietilammino)eptil]-1-piperidinil]acetil-5H-dibenzo[b,f]azepina

Partendo da 0,29 g di 5-(cloroacetil)-5H-dibenzo[b,f]azepina ed operando come descritto nell'Esempio 1 paragrafo g) ma utilizzando la 4-[7-(dietilammino)eptil]piperidina (XXIII) invece della 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) è stato possibile ottenere 0,32 g di 5-[4-[7-(dietilammino)eptil]-1-piperidinil]acetil-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 61%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	78,80	9,30	8,62
(trov. %)	78,75	9,31	8,59

IR (film, cm^{-1}): 3015 e 2900 (ν C-H); 1665 (ν C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,00 (6H, t, NCH_2CH_3), 1,05-2,05 (19H, m, CH_2 e CH e NCH_{ax}), 2,37 (2H, m, CH_2NEt_2), 2,49 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,68 (2H, d, NCH_{eq}), 2,78 (1H, d, COCHN), 3,07 (1H, d, COCH'N), 6,92 (2H, dd, CH=CH), 7,30-7,45 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 5

Partendo da 0,20 g di 5-(cloroacetil)-5H-dibenzo[b,f]azepina ed operando come descritto nell'Esempio 1 paragrafo g) ma utilizzando la 2-[(dietilammino)metil]piperidina invece della 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) è stato possibile ottenere 0,26 g di 5-[2-

[(dietilammino)metil]-1-piperidinil]acetil-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 87%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	77,38	8,24	10,41
(trov. %)	77,24	8,30	10,27

IR (film, cm^{-1}): 3020 e 2920 (ν C-H); 1670 (ν C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 0,95 (6H, m, NCH_2CH_3), 1,10-2,80 (15H, m, NCH_2 e H anello piperidinico), 2,98 (0,5H, d, COCH_2N), 3,27 (0,5H, d, COCH_2N), 3,46 (0,5H, d, COCH_2N), 3,72 (0,5H, d, COCH_2N), 6,95 (2H, s, $\text{CH}=\text{CH}$), 7,25-7,45 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 6

a) Preparazione di 5-(cloroacetil)-10-metossi-5H-dibenzo[b,f]azepina

Ad una soluzione costituita da 2,61 g (11,7 mmoli) di 10-metossi-5H-dibenzo[b,f]azepina in 40 mL di tetraidrofurano si aggiungono 1,55 mL (1,05 x 20,7 mmoli) di N,N-dimetilanilina e 0,98 mL (1,05 x 20,7 mmoli) di cloroacetilcloruro quindi si scalda a riflusso per 2 ore. Al termine la miscela viene versata in acqua satura di NaCl ed estratta con Et_2O . Gli estratti organici riuniti vengono lavati prima con HCl 0,1 N poi con NaOH 0,1 N ed infine con H_2O . Si anidrifica la fase organica su Na_2SO_4 e si evapora il solvente ottenendo 3,50 g di 5-(cloroacetil)-10-metossi-5H-dibenzo[b,f]azepina come solido giallino. Resa quantitativa.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 3,75 (1H, dd, COCHCl), 3,89 (3H, d, OCH_3), 4,00 (1H, dd, COCHCl), 6,14 (1H, dd, $\text{CH}=\text{OCH}_3$), 7,25-7,55 e 7,78 (8H, m, aromatici).

b) Preparazione di 5-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]acetil-10-

metossi-5H-dibenzo[b,f]azepina

Partendo da 3,3 g di 5-(cloroacetil)-10-metossi-5H-dibenzo[b,f]azepina e da 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) ed operando come descritto nell'Esempio 1 paragrafo g) è stato possibile ottenere 4,8 g di 5-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]acetil-10-metossi-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 92%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	75,75	8,69	8,83
(trov. %)	75,61	8,70	8,78

IR (film, cm^{-1}): 3065 e 2929 (ν C-H); 1674 (ν C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,00 (6H, t, NCH_2CH_3), 1,08-2,03 (13H, m, CH_2 e CH e NCH_2), 2,39 (2H, m, CH_2NEt_2), 2,52 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,60-3,15 (4H, m, COCH_2N e NCH_2), 3,86 (3H, d, OCH_3), 6,11 (1H, d, $\text{CH}=\text{COCH}_3$), 7,20-7,80 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 7

Partendo da 0,2 g di 5-(cloroacetil)-10-etossi-5H-dibenzo[b,f]azepina, preparato secondo la procedura descritta nell'Esempio 6 paragrafo a), e da 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) ed operando come descritto nell'Esempio 1 paragrafo g) è stato possibile ottenere 0,21 g di 5-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]acetil-10-etossi-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 67%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	76,03	8,85	8,58
(trov. %)	75,88	8,92	8,60

IR (film, cm^{-1}): 3065 e 2929 (ν C-H); 1674 (ν C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,00 (6H, t, NCH_2CH_3), 1,08-2,05 (16H, m, CH_2 e CH e OCH_2CH_3 e NCH_{ax}), 2,37 (2H, m, CH_2NEt_2), 2,49 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,60-3,15 (4H, m, COCH_2N e NCH_{eq}), 4,05 (2H, q allargato, OCH_2CH_3), 6,11 (1H, d, $\text{CH}=\text{COEt}$), 7,20-7,80 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 8

Partendo da 0,38 g di 5-(cloroacetil)-10-n-butossi-5H-dibenzo[b,f]azepina, preparata secondo la procedura descritta nell'Esempio 6 paragrafo a), e da 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) ed operando come descritto nell'Esempio 1 paragrafo g) è stato possibile ottenere 0,41 g di 5-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]acetil-10-n-butossi-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 71%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	76,55	9,15	8,12
(trov. %)	76,35	9,20	8,10

IR (film, cm^{-1}): 3065 e 2930 (ν C-H); 1674 (ν C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,00 (9H, t, NCH_2CH_3 e $\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$), 1,05-2,05 (17H, m, CH_2 e CH e $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ e NCH_{ax}), 2,37 (2H, m, CH_2NEt_2), 2,49 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,60-3,15 (4H, m, COCH_2N e NCH_{eq}), 4,00 (2H, s allargato, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$), 6,11 (1H, m, $\text{CH}=\text{COBu}$), 7,15-7,80 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 9

a) Preparazione di 10-fenossi-5H-dibenzo[b,f]azepina (VI)

1,02 g (3 x 3,0 mmoli) di potassio t-butilato vengono addizionati ad una soluzione di 0,43 g (1,5 x 3,0 mmoli) di fenolo in 8 mL di dimetilsolfossido anidro. La soluzione viene agitata per 30 minuti a temperatura ambiente,

quindi addizionata di 0,95 g (3,0 mmoli) di 5-acetil-10-bromo-5H-dibenzo[b,f]azepina (VII). Si scalda a 90°C per 20 ore, al termine si versa la miscela in acqua e si estrae con Et₂O. Gli estratti organici riuniti vengono lavati con NaOH 2N per eliminare il fenolo e poi con H₂O. Si anidrifica su Na₂SO₄ e dopo evaporazione si ottengono 0,17 g di derivato (VI) come olio giallo. Resa 20%.

¹H-NMR (CDCl₃, ppm): 5,17 (1H, s allargato, NH), 6,23 (1H, s, CH=OPh), 6,64, 6,88, 6,95-7,40 (13H, m, aromatici).

b) Preparazione di 5-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]acetil-10-fenossi-5H-dibenzo[b,f]azepina

Partendo da 0,11 g di 5-(cloroacetil)-10-fenossi-5H-dibenzo[b,f]azepina, preparata secondo la procedura descritta nell'Esempio 6 paragrafo a), e da 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) ed operando come descritto nell'Esempio 1 paragrafo g) è stato possibile ottenere 0,11 g di 5-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]acetil-10-fenossi-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 67%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	78,18	8,06	7,81
(trov. %)	77,99	8,10	7,75

¹H-NMR (CDCl₃, ppm): 1,00 (6H, t, NCH₂CH₃), 1,05-2,10 (13H, m, CH₂ e CH e NCH₂), 2,38 (2H, m, CH₂NEt₂), 2,51 (4H, q, NCH₂CH₃), 2,60-2,96 (3H, m, COCHN e NCH₂), 3,12 (1H, d, COCHN), 6,54 (1H, d, CH=COPh), 6,95-7,84 (13H, m, aromatici).

ESEMPIO 10

Partendo da 0,3 g di 5-(6-bromoesanoil)-5H-dibenzo[b,f]azepina,

preparata secondo la procedura descritta nell'Esempio 6 paragrafo a), e da 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) ed operando come descritto nell'Esempio 1 paragrafo g) è stato possibile ottenere 0,29 g di 5-[6-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]esanoil]-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 71%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	78,99	9,44	8,37
(trov. %)	78,80	9,55	8,25

IR (film, cm^{-1}): 3024 e 2929 (ν C-H); 1679 (ν C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,00 (6H, t, NCH_2CH_3), 1,08-1,98 (20H, m, CH_2 e CH e NCOCH e NCH_{ax}), 2,20 (3H, m, NCOCH' e $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{CH}$), 2,38 (2H, m, CH_2NEt_2), 2,50 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,82 (2H, d allargato, NCH_{eq}), 6,92 (2H, dd, $\text{CH}=\text{CH}$), 7,27-7,45 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 11

Partendo da 0,8 g di 5-(10-bromodecanoil)-5H-dibenzo[b,f]azepina, preparata secondo la procedura descritta nell'Esempio 6 paragrafo a), e da 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) ed operando come descritto nell'Esempio 1 paragrafo g) è stato possibile ottenere 0,36 g di 5-[10-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]decanoil]-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 34%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	79,66	9,94	7,53
(trov. %)	79,45	9,90	7,50

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,00 (6H, t, NCH_2CH_3), 1,07-2,00 (28H, m, CH_2 e CH e NCOCH e NCH_{ax}), 2,20 (3H, m, NCOCH' e $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{CH}$), 2,40

(2H, m, CH_2NEt_2), 2,51 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,88 (2H, d allargato, NCH_{eq}), 6,92 (2H, dd, $\text{CH}=\text{CH}$), 7,27-7,45 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 12

Partendo da 0,22 g di 5-(cloroacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[b,f]azepina e da 2-[(dietilammino)metil]piperidina ed operando come descritto nell'Esempio 1, paragrafo g) è stato possibile ottenere 0,31 g di 5-[2-[(dietilammino)metil]-1-piperidinil]acetil-10,11-diidro-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 94%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	77,0	8,70	10,36
(trov. %)	75,6	8,62	10,00

IR (film, cm^{-1}): 3020 e 2920 (ν C-H); 1670 (ν C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 0,92 (6H, m, NCH_2CH_3), 1,10-1,85, 2,04, 2,42, 2,81, 3,00-3,95 (21H, m, NCH_2 e COCH_2N e $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ e H anello piperidinico), 7,05-7,45 (8H, m, aromatici).

ESEMPIO 13

Partendo da 2,9 g di 5-(cloroacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[b,f]azepina e da 4-[4-(dietilammino)butil]piperidina (XV) ed operando come descritto nell'Esempio 1, paragrafo g) è stato possibile ottenere 4,0 g di 5-[4-[4-(dietilammino)butil]-1-piperidinil]acetil-10,11-diidro-5H-dibenzo[b,f]azepina come olio giallo. Resa 84%.

Analisi Elementare	C	H	N
(teor. %)	77,81	9,23	9,39
(trov. %)	77,58	9,17	9,42

IR (film, cm^{-1}): 3028 e 2928 (ν C-H); 1673 (ν C=O)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): 1,00 (6H, m, NCH_2CH_3), 1,05-2,15 (13H, m, CH_2 e CH e NCH_{ax}), 2,37 (2H, m, CH_2NEt_2), 2,50 (4H, q, NCH_2CH_3), 2,60-3,55 (8H, m, COCH_2N e $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ e NCH_{eq}), 7,10-7,45 (8H, m, aromatici).

SPERIMENTAZIONE FARMACOLOGICA

Test in vitro

L'affinità di legame e la selettività per i recettori muscarinici dei composti esemplificati è stata valutata utilizzando recettori umani clonati. Per lo studio sono state utilizzate membrane di linee cellulari transfettate (CHO), vendute congelate da Receptor Biology, (Beltsville, MD, USA) esprimenti uno dei seguenti recettori muscarinici: M_1 , M_2 , M_3 , M_4 . Le membrane vengono sospese in tampone Tris-HCl 10 mM (pH 7.2) contenente EDTA 2 mM e 10% di saccarosio per i recettori M_1 , M_3 , M_4 oppure in tampone Tris-HCl 10mM (pH 7.2) contenente EDTA 2 mM per i recettori M_2 e coincubate con $^3\text{H-NMS}$ e concentrazioni crescenti (10 concentrazioni variabili da 10^{-10}M a 10^{-5}M) di composto da testare. La concentrazione finale di radioligando è 0,5 nM per i recettori M_1 , M_2 , M_4 e 0,1 nM per il recettore M_3 . L'incubazione a 25°C per i recettori M_1 , M_2 e 27°C per M_3 , M_4 ha la durata di 1 ora e viene effettuata in duplicato. Il legame non-specifico è stato valutato in presenza di atropina alla concentrazione 2,5 μM per i recettori M_1 , 1 μM per i recettori M_2 , 0,5 μM per i recettori M_3 e M_4 . L'incubazione è conclusa per rapida filtrazione in vuoto attraverso un filtro GF/B della Whatman che viene poi lavato per 4-5 volte con lo stesso tampone di sospensione raffreddato. Il filtro viene addizionato di 25 mL di Betaplate scint® (Wallac) e per la conta della radioattività si utilizza il 1205 Betaplast® della Wallac.

I risultati sono stati analizzati con il programma EBDA (McPerson,

Elsevier Biosoft, Cambridge, U.K.) allo scopo di determinare i valori di affinità recettoriale (K_i).

Nella tabella 1 seguente sono indicati i valori di K_i stimati per i 4 recettori muscarinici e la selettività ottenuta. Di alcuni esempi è stata determinata la K_i del solo recettore M_2 in quanto essendo risultati scarsamente attivi sarebbe stato inutile valutarne la selettività.

I nostri composti sono stati valutati in confronto con AF-DX 116. I dati mostrano che i composti degli Esempi 1, 6, 7, 10 e 13 sono risultati più attivi di AF-DX 116 sul recettore M_2 e che la selettività di Esempio 1 e 13 verso gli altri tre recettori è paragonabile o superiore a quella di AF-DX 116.

Tabella 1

ESEMPIO	hM_1 K_i (nM)	hM_2 K_i (nM)	hM_3 K_i (nM)	hM_4 K_i (nM)	M_1/M_2	M_3/M_2	M_4/M_2
1	310	2,6	290	100	120	110	38
2	1020	55	1100	550	18	20	10
3	nt	620	nt	nt	-	-	-
4	nt	90	nt	nt	-	-	-
5	nt	110	nt	nt	-	-	-
6	360	20	420	100	18	21	5
7	1600	34	560	400	47	16	12
8	nt	120	nt	nt	-	-	-
9	nt	120	nt	nt	-	-	-
10	13	9,4	52	8,8	1,4	5,5	0,9
11	18	14	280	49	1,3	20	3,5
12	nt	150	nt	nt	-	-	-
13	810	12	110	370	67	92	31
AF-DX 116	2900	71	7700	1200	41	108	17

nt: non testato

Microdialisi

In questo studio si è valutato l'effetto di antagonisti muscarinici selettivi M_2 sul rilascio extracellulare di acetilcolina nella corteccia cerebrale di ratto.

Per gli esperimenti sono stati utilizzati ratti maschi Sprague-Dawley del peso di 260 ± 20 g.

Gli animali vengono anestetizzati con nembutal (50 mg/kg, i.p.) e posizionati su di una apparecchiatura stereotassica. L'osso parietale viene esposto e perforato con un trapano alle coordinate bregma A +1,0 e V -2,0. Si infila la membrana da dialisi (probe) tramite una cannula guida, la si fissa e si chiude l'incisione con punti metallici. Dopo aver verificato la pervietà dell'impianto con un'iniezione di soluzione tampone, si collega l'animale al "freely moving system CMA120" e lo si pone in un largo e trasparente contenitore di plexiglass con acqua e cibo ad libitum. Dopo 24 ore si collega il probe ad una pompa di perfusione Harvard 22 mediante un tubicino e si perfonde ad un flusso di 3 μ L/min con il tampone di Ringer (NaCl 147 mM, KCl 4,0 mM, $CaCl_2$ 4,0 mM) contenente donepezil 3 μ M o con prodotto da testare addizionato di donepezil 3 μ M sciolto nello stesso tampone. L'uscita del probe è collegata ad un raccoglitore di frazioni refrigerato CMA170. La rilevazione dei valori basali di acetilcolina viene effettuata 90, 60 e 30 minuti prima della somministrazione dei prodotti. Dopo il trattamento, i livelli di neurotrasmettitore vengono rilevati ad intervalli regolari di 30 minuti per un totale di 5 ore e mezza.

La concentrazione di acetilcolina nei campioni di dializzato viene determinata mediante un sistema di cromatografia liquida ad alta pressione accoppiato ad un detector elettrochimico (HPLC-ECD). I campioni sono auto-

iniettati mediante una pompa ESA-580 in una colonna C18 a fase inversa (Prodigy ODS(3), 5 μ m, 150 x 3,2 mm, Phenomenex) ed eluiti con una soluzione costituita da: Na_2HPO_4 100 mM, tetrametilammonio cloruro 0,5 mM, acido 1-ottansolfonico sale sodico 2 mM, EDTA 150 μ M, pH 8.0. Per prevenire crescite batteriche, alla fase mobile è stato aggiunto lo 0,005% di reagente antimicrobico MB. L'eluente, contenente acetilcolina e colina separate, viene immediatamente fatto passare attraverso un reattore enzimatico (IMER, BAS, West Lafayette, IN) a valle della colonna. Questo reattore contenente gli enzimi acetilcolinesterasi e colino-ossidasi, opportunamente immobilizzati, trasforma l'acetilcolina e la colina in perossido d'idrogeno. Questa sostanza viene rilevata da un detector elettrochimico Coulochem II (ESA, Bedford, MA, USA) equipaggiato con un elettrodo al platino che lavora ad un potenziale di + 300 mV. I dati vengono acquisiti ed elaborati dal Data System 450 della Kontron Instruments.

Nello studio è stato utilizzato il donepezil, un inibitore dell'acetilcolinesterasi, nel fluido di perfusione per permettere la rilevazione di acetilcolina (Brain Res. Bull. 41, 221-226, (1996)). Il composto di Esempio 1, sciolto come sale maleato alla concentrazione di 0,1 mg/mL in tampone, è stato somministrato nel liquido di perfusione attraverso la membrana di dialisi posizionata nella corteccia frontale. Sono state testate 3 concentrazioni crescenti di prodotto (3, 15, 50 μ M) e per ognuna sono stati utilizzati 12 animali.

In Figura 1 sono riportati in ordinata la concentrazione di acetilcolina (nM) ed in ascissa la durata dell'esperimento in ore. E' evidente che il composto di Esempio 1 è in grado di aumentare i livelli di acetilcolina

extracellulare in modo dose dipendente.

Test multidimensionale

Allo scopo di valutare se il composto di Esempio 1 fosse dotato di importanti effetti farmacologici secondari è stato intrapreso presso Huntingdon Life Science (Huntingdon, England) un test multidimensionale. Esso comprende il test di Irwin e 14 differenti esperimenti di cui 2 condotti in vitro e 12 in vivo.

Nel test di Irwin nessun segno di anormalità è stato riscontrato in topi trattati per via orale alla dose di 30, 100 e 300 mg/kg e nessuna morte nei 7 giorni di osservazione successivi al trattamento.

I risultati dei 14 esperimenti sono riassunti nella seguente tabella 2:

Tabella 2

Attività valutata	Dose utilizzata (mg/kg)	Risultato
Anti-aggressiva	100	Inattivo
Anti-convulsivante	100	Inattivo
Anti-depressiva	30	Inattivo
Analgesica	100	Inattivo
Anti-Parkinson	300	Inattivo
Anoretica	30	Inattivo
Anti-ipertensiva	100	Inattivo
Anti-aritmica	100	Inattivo
Anti-aggregante	100 µg/mL	Inattivo
Tromboembolica polmonare	100	Inattivo
Diuretica	30	Inattivo
Anti-infiammatoria	100	Inattivo
Broncodilatativa	300 µg/mL	Inattivo
Immunostimolante o Immunosoppressiva	20 mg/kg/giorno	Inattivo

Come mostrato in tabella il composto è risultato inattivo in tutti gli esperimenti perciò privo di effetti secondari importanti.

Modello di bradicardia nel ratto dopo somministrazione intraduodenale singola

La bradicardia, indotta nel ratto per somministrazione di acetilcolina, viene monitorata mediante un misuratore di pressione e frequenza cardiaca collegato al ratto per mezzo di un catetere.

Per gli esperimenti sono stati utilizzati ratti maschi Sprague-Dawley del peso di 315 ± 3 g. Gli animali vengono anestetizzati con uretano (1,5 mg/kg, i.p.) e mantenendo la loro temperatura a 37°C con un lettino termoriscaldato, gli viene effettuata un'incisione al centro del collo per l'inserimento di un tubo da tracheotomia. Nella carotide isolata viene introdotto un catetere riempito con soluzione salina sterile e 5 unità/mL di eparina che è collegato ad un trasduttore. I parametri emodinamici, pressione sistolica e frequenza, vengono registrati e analizzati mediante il software HEM. I prodotti da testare ed il veicolo vengono somministrati tramite un ulteriore catetere introdotto nel duodeno. A 10 minuti dall'operazione viene somministrata acetilcolina (30 $\mu\text{g/kg}$) in bolus, successivamente vengono somministrati sempre in bolus o il veicolo (soluzione salina, 1 mg/kg) o il composto di Esempio 1 (alla dose 1, 5, 15 mg/kg) o AF-DX 116 (alla dose 1, 5, 15 mg/kg) direttamente nel duodeno. 45 minuti dopo la somministrazione dei composti da testare viene iniettata nuovamente acetilcolina (30 $\mu\text{g/kg}$) in bolus. I parametri vengono registrati durante tutto l'esperimento. Sono stati utilizzati 10 animali per gruppo ed i composti sono stati somministrati come sali maleati (4 mg/mL) in soluzione salina.

In Figura 2 vengono riportate: in ascissa le dosi dei prodotti espresse in mg/kg; in ordinata la differenza dei valori di frequenza cardiaca rilevati dopo e prima il trattamento, in risposta all'acetilcolina (30 µg/kg). La presomministrazione del composto di Esempio 1 riduce l'entità della bradicardia indotta dall'acetilcolina. L'effetto risulta dose dipendente e superiore alla dose di 15 mg/kg a quello prodotto da AF-DX 116.

Modello di bradicardia nel cane dopo somministrazione orale singola

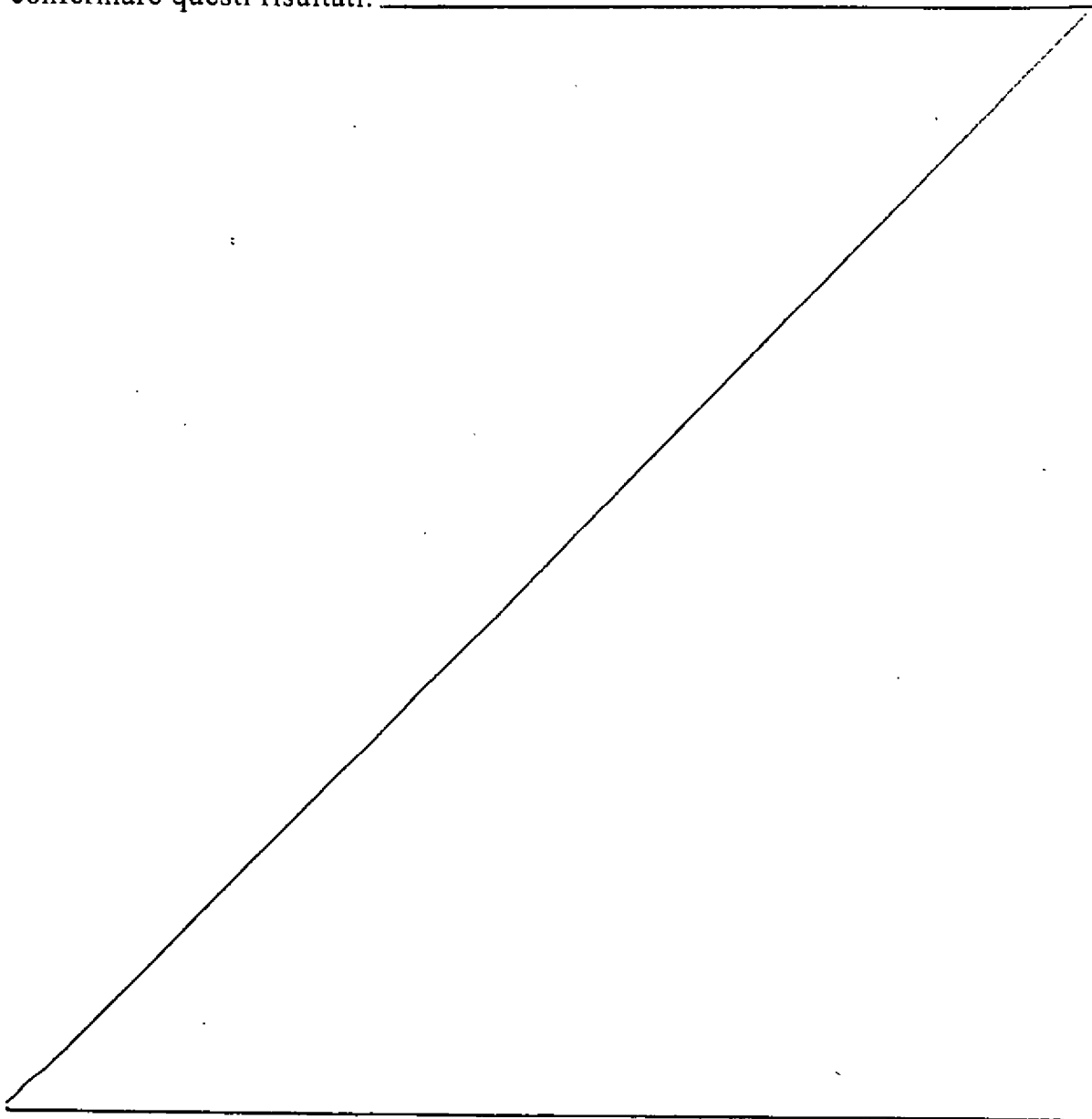
La bradicardia notturna spontanea nel cane viene monitorata mediante un trasmettitore telemetrico dopo singola somministrazione orale.

In condizioni asettiche di anestesia generale viene applicato sul fianco sinistro di un cane Beagle un trasmettitore telemetrico per la misurazione di pressione e frequenza cardiaca. L'anestesia viene indotta con tiopental (20 mg/kg) somministrato per via endovenosa seguito dall'1 al 1,5% di alotano. Il trasmettitore deve essere impiantato almeno 10 giorni prima della somministrazione del prodotto da testare. Le misurazioni di pressione sistolica e diastolica e di frequenza cardiaca vengono effettuate per mezzo di un ricevitore biotelemetrico RLA2000. Il prodotto viene somministrato per via orale, in una capsula di gelatina non gastro-resistente, alle ore 22.00 e le misure vengono effettuate ogni 5 minuti per le 24 ore successive al trattamento. Il cane durante tutto il periodo è in condizioni cosce e libero di muoversi.

E' stato fatto un esperimento preliminare con un solo cane utilizzando il composto di Esempio 1 alla dose di 2 mg/kg e 10 mg/kg in confronto al placebo.

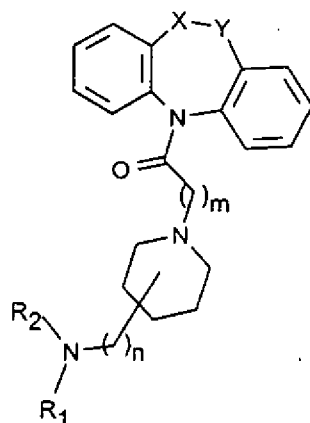
In Figura 3 sono riportati in ordinata la frequenza cardiaca espressa

come battiti per minuto ed in ascissa la durata dell'esperimento in ore. Dopo somministrazione di placebo si è osservata, durante il periodo notturno (22:00-07:00), una diminuzione della frequenza cardiaca del 26% rispetto al periodo diurno. Dopo somministrazione di 2 mg/kg la diminuzione della frequenza cardiaca era del 17%. La dose di 10 mg/kg ha determinato invece un aumento della frequenza cardiaca nel periodo notturno del 34%. L'effetto si è prolungato per tutte le 24 ore di osservazione (+ 37%) e non è stato riscontrato nessun tipo di effetto collaterale. Sono in corso ulteriori esperimenti per confermare questi risultati.



RIVENDICAZIONI

1. Un composto di formula:



dove X-Y rappresenta $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, CH=CH , CH=CR_3 ;

R_1 rappresenta idrogeno o un alchile C_{1-4} lineare o ramificato;

R_2 rappresenta un alchile C_{1-4} lineare o ramificato, un fenile, un benzile o un fenetile;

R_3 rappresenta idrossile, alcossile C_{1-4} lineare o ramificato, fenossile;

m e n rappresentano indipendentemente un numero intero da 1 a 10,

e sali, di ciascuno dei detti composti, ottenuti per addizione di acidi inorganici o organici farmacologicamente accettabili.

2. Composizione farmaceutica contenente una dose efficace di un composto di formula (I) secondo la rivendicazione 1 oppure di un suo sale, in combinazione con diluenti ed eccipienti farmacologicamente accettabili.

3. Uso dei composti della rivendicazione 1 per la preparazione di medicinali per il trattamento di disordini cardiovascolari, disordini cognitivi e malattie neurodegenerative.

Milano, 1 luglio 1999

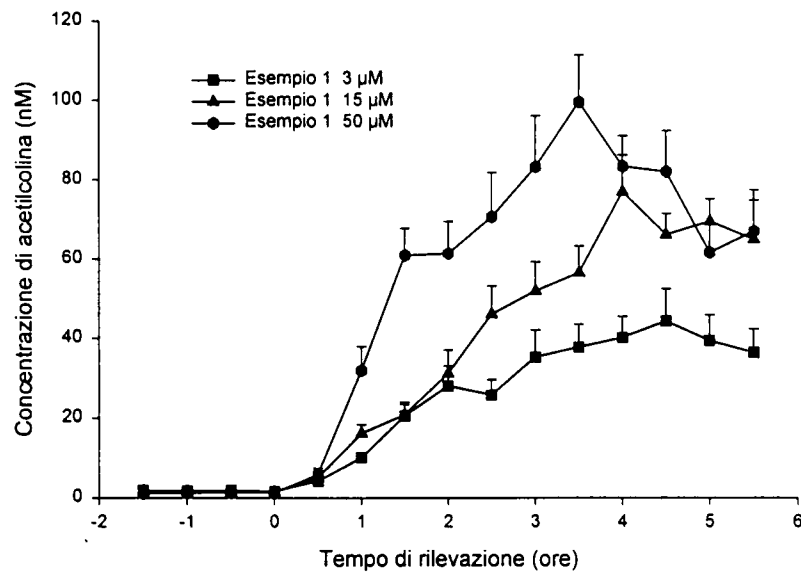
Il Mandatario
(Minoja Fabrizio)
di Bianchetti • Bracco • Minoja S.r.l.



Figura 1

Concentrazioni extracellulari di acetilcolina
dopo somministrazione intracorticale

(media $\pm$ e.s.)

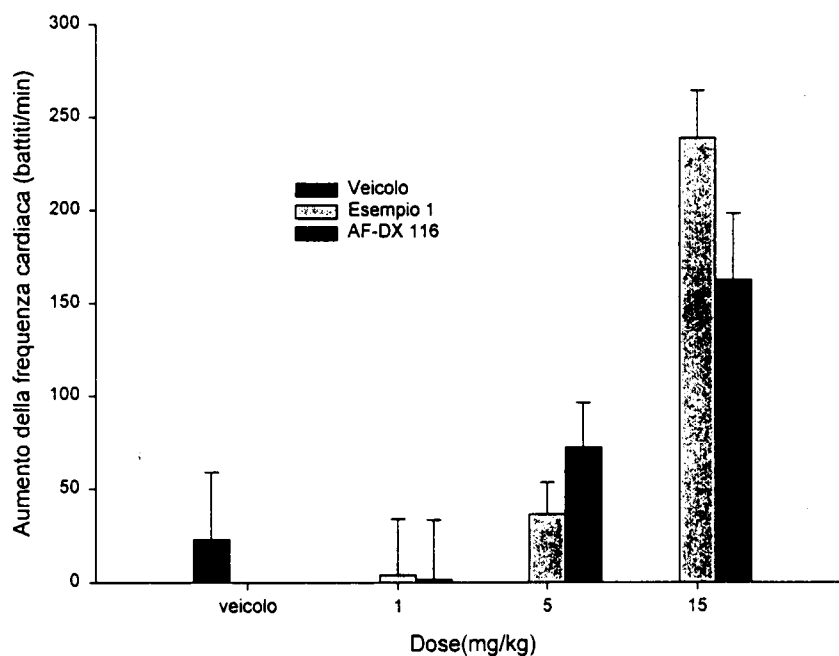


Il Mandatario
(Minoja Fabrizio)
di Bianchetti • Bracco • Minoja S.r.l.

Fabrizio Minoja



Figura 2
Attività antibradicardica nel ratto
dopo singola somministrazione intraduodenale
(media $\pm$ e.s.)



Il Mandatario
(Minoja Fabrizio)
di Bianchetti • Bracco • Minoja S.r.l.

F. Minoja

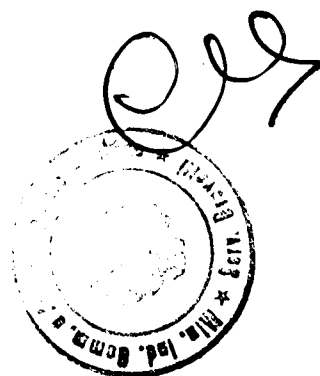
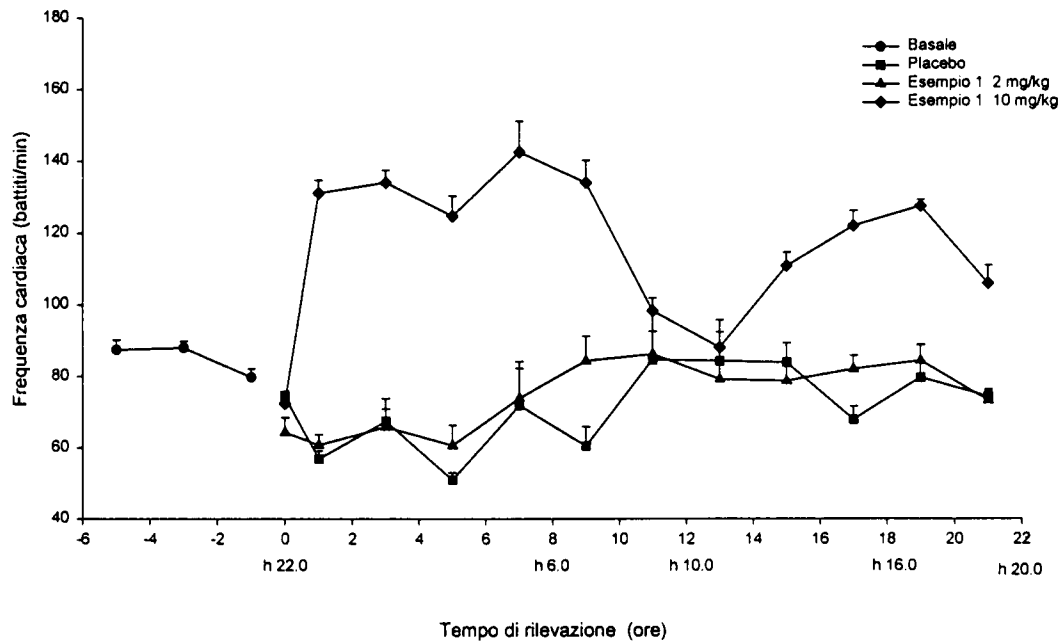


Figura 3

Attività antibradicardica nel cane conscio dopo singola somministrazione orale

(media $\pm$ e.s. delle misurazioni ripetute nell'arco di due ore)

Il Mandatario
(Minoja Fabrizio)
di Bianchetti • Bracco • Minoja S.r.l.

Fabrizio Minoja

