PATENTOVÝ SPIS

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2000 - 3114

(22) Přihlášeno: 17.02.1999

(30) Právo přednosti:

25.02.1998	GB	1998/9803992
06.05.1998	WO	1998/GB9801307
12.11.1998	GB	1998/9824896

(40) Zveřejněno: 17.01.2001
(Věstník č. 1/2001)

(47) Uděleno: 26.11.2002

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 15.01.2003
(Věstník č. 1/2003)

(86) PCT číslo: PCT/GB99/00485

(87) PCT číslo zveřejnění: WO 99/043677

(11) Číslo dokumentu:

291 302

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.[7]:

C 07 D 487/04
A 61 K 31/502
A 61 P 25/28
//(C 07 D 487/04, C 07 D 249:08, C 07 D 237:30)

(73) Majitel patentu:
MERCK SHARP & DOHME LIMITED, Hoddesdon, GB;

(72) Původce vynálezu:
Carling William Robert, Harlow, GB;
Ladduwahetty Tamara, Harlow, GB;
Macleod Angus Murray, Harlow, GB;
Merchant Kevin John, Harlow, GB;
Moore Kevin William, Harlow, GB;
Sternfeld Francine, Harlow, GB;
Street Leslie Joseph, Harlow, GB;

(74) Zástupce:
Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1, 11000;

(54) Název vynálezu:

Substituovaný 1,2,4-triazolo[3,4-a]ftalazinový derivát

(57) Anotace:

Substituovaný triazoloftalazinový derivát, použití při léčení pro zlepšení vnímání, farmaceutické prostředky s jeho obsahem a způsoby jeho výroby.

CZ 291302 B6

Substituovaný 1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazinový derivát

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká substituovaného triazoloftalazinového derivátu, jeho použití v lékařství, farmaceutických prostředků s jeho obsahem a způsobu jeho výroby.

Dosavadní stav techniky

Autoři vynálezu nyní zjistili, že je možné získat léčiva s účinky na zlepšení vnímání, která je možno používat s menším rizikem podpory křečových účinků, které byly dříve popsány s částečnými nebo úplnými inverzními agonisty benzodiazepinového receptoru. Výhodné jsou látky s inverzním agonistickým účinkem na α5 receptor, které jsou současně relativně prosté aktivity na vazebných místech receptoru α1, α2 a α3.

Evropské patentové přihlášky EP 0 085 840 a EP 0 134 946 popisují příbuznou řadu derivátů 1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazinu, o kterých se uvádí, že účinkují proti úzkosti. V žádné z těchto publikací se však neuvádí ani nenavrhuje, že by měly sloučeniny podle předkládaného vynálezu, ani sloučeniny popisované ve výše uvedených přihláškách, účinky zlepšující vnímání.

Dokument WO 98 04 560 (Merck Sharp & Dohme Ltd.) jehož části se týkají stavu techniky z hlediska novosti, popisuje třídu derivátů triazolo[3,4–a]ftalazinu s účinky zlepšujícími vnímání. Tyto sloučeniny však mají podstatně odlišný kruh fúzovaný k pyridazinovému kruhu.

Podstata vynálezu

Předkládaný vynález poskytuje sloučeninu, která je 3–(5–methylizoxazol–3–yl)–6–(1–methyl–1,2,3–triazol–4–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin.

Zlepšení vnímání je možno ukázat testováním sloučeniny v testu Morrisova vodního bludiště, jak se uvádí v článku McNamara a Skelton, Psychobiology, 21: 101 – 108. Účinky na funkci různých subtypů receptorů mohou být vypočteny použitím metody popsané ve WO–A–96 25 948.

Sloučenina podle předkládaného vynálezu může být tedy například použita při celé řadě poruch centrálního nervového systému. Mezi tyto poruchy patří delirium, demence, a amnestické a jiné kognitivní poruchy. Příklady deliria mohou být delirium v důsledku intoxikace nebo odebrání určité látky, delirium v důsledku vícečetných příčin a delirium NOS (= jinak nespecifikované). Příklady demence jsou demence Alzheimerova typu s časným nástupem, která může být nekomplikovaná nebo spojená s deliriem, utkvělými bludy nebo depresivní náladou, demence Alzheimerova typu s pozdním nástupem, která může být nekomplikovaná nebo spojená s deliriem, utkvělými bludy nebo depresivní náladou; vaskulární demence, která může být nekomplikovaná nebo spojená s deliriem, utkvělými bludy nebo depresivní náladou; demence způsobená onemocněním HIV; demence v důsledku poranění hlavy; demence v důsledku Parkinsonovy choroby; demence v důsledku Huntingtonovy choroby; demence v důsledku Pickovy choroby; demence v důsledku Creutzfeld–Jakobovy choroby; demence indukovaná určitými látkami nebo s vícečetnou etiologií; a demence NOS. Příklady amnestických poruch jsou amnestické poruchy způsobené určitým chorobným stavem nebo indukované některými látkami nebo jde o amnestické poruchy NOS.

Předkládaný vynález také poskytuje farmaceutické prostředky obsahující sloučeninu podle předkládaného vynálezu a farmaceuticky přijatelný nosič. Tyto prostředky jsou s výhodou v jednotkových dávkových formách, jako jsou tablety, pilulky, kapsle, prášky, granule, sterilní

parenterální roztoky nebo suspenze, odměřovací aerosoly nebo rozstřikovače kapaliny, kapky, ampule, transdermální náplasti, autoinjekční zařízení nebo čípky; pro orální, parenterální, intranazální, sublingvální nebo rektální podávání, nebo pro podávání inhalací nebo insuflací. Pro přípravu pevných farmaceutických prostředků jako jsou tablety se míchá hlavní účinná látka s farmaceutickým nosičem, například běžnými tabletovacími složkami jako je kukuřičný škrob, laktóza, sacharóza, sorbitol, talek, kyselina stearová, stearan hořečnatý, hydrogenfosforečnan vápenatý nebo gumy nebo povrchově aktivní látky, jako je sorbitanmonooleát, polyethylenglykol a jiná farmaceutická ředidla, jako je například voda, za vytvoření pevné předsměsi s obsahem homogenní směsi sloučeniny podle předkládaného vynálezu nebo její farmaceuticky přijatelné soli. Jestliže se tyto předsměsi označují jako homogenní, znamená to, že účinná složka je ve směsi rovnoměrně rozptýlena tak, že může být směs snadno rozdělena na stejně účinné jednotkové dávkové formy, jako jsou tablety, pilulky a kapsle. Tato pevná předsměs se potom dělí do jednotkových dávkových forem výše popsaného typu s obsahem od 0,1 do přibližně 500 mg účinné složky podle předkládaného vynálezu. Typické jednotkové dávkové formy obsahují od 1 do 100 mg, například 1, 2, 5, 10, 25, 50 nebo 100 mg účinné složky. Tablety nebo pilulky nového farmaceutického prostředku mohou být potahovány nebo jinak upravovány přídavkem dalších látek za poskytnutí dávkovací formy umožňující výhodu prodlouženého působení. Například tableta nebo pilulka může obsahovat složku vnitřní dávky a vnější dávky, přičemž složka vnější dávky je ve formě obalu pokrývajícího vnitřní dávku. Tyto dvě složky mohou být odděleny enterosolventní vrstvou, která slouží pro zabránění rozpadu v žaludku a umožňuje nerušený průchod vnitřní složky do dvanáctníku nebo její zpožděné uvolňování. Pro tyto enterosolventní vrstvy nebo povlaky je možno použít řadu látek, přičemž mezi tyto látky patří celá řada polymerních kyselin a směsí polymerních kyselin s látkami, jako je šelak, cetylalkohol a acetát celulózy.

Kapalné formy, ve kterých mohou být přítomny nové farmaceutické prostředky podle předkládaného vynálezu pro orální nebo injekční podávání, obsahující vodné roztoky, vhodně ochucené sirupy, vodné nebo olejové suspenze a ochucené emulze s jedlými oleji, jako je bavlníkový olej, sezamový olej, kokosový olej nebo podzemnicový olej, stejně jako elixíry a podobná farmaceutická vehikula. Mezi vhodné dispergující nebo suspendující prostředky pro přípravu vodných suspenzí patří syntetické a přírodní gumy, jako je tragakant, akácie, alginát, dextran, sodná sůl karboxymethylcelulózy, methylcelulóza, polyvinylpyrrolidon nebo želatina.

Předkládaný vynález dále poskytuje použití sloučeniny podle předkládaného vynálezu při výrobě farmaceutického prostředku pro zlepšení vnímání, zvláště u lidí trpících některým onemocněním způsobujícím demenci, jako je Alzheimerova choroba.

Pro zlepšení vnímání je vhodné dávkování přibližně 0,01 až 250 mg/kg za den, s výhodou přibližně 0,01 až 100 mg/kg za den a zvláště přibližně 0,01 až 5 mg/kg tělesné hmotnosti za den. Sloučenina může být podávána jednou až čtyřikrát za den. V některých případech může však být použito dávkování mimo tyto limity.

Výhodné je, když je sloučenina podle předkládaného vynálezu před formulací rozemleta, například použitím paličky a třecí misky nebo průmyslového ekvivalentu, na velikost částic mezi 1 a 10 μm s výhodou méně než 5 μm. Sloučenina může být mikronizována nebo sonikována v oboru známými způsoby nebo nanonizována, například způsoby popsanými v US–A–5 145 684.

Předkládaný vynález také poskytuje způsob výroby sloučeniny podle předkládaného vynálezu, který zahrnuje reakci methylačního činidla, jako je lithiumhexamethyldisilazid s 3–(5–methylizoxazol–3–yl)–6–(1H–1,2,3–triazol–5–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazinem.

Reakce se obvykle provádí v rozpouštědle jako je DMF, obecně při teplotě nižší než 0 °C, se zahříváním na přibližně teplotu místnosti a obecně pod inertním plynem jako je dusík. Reakční

směs se obvykle ponechá stát 4 až 12 hod. Požadovaný produkt se obecně čistí od dalších reakčních produktů běžnou separační technikou, jako je preparativní HPLC.

V průběhu kteréhokoli z výše uvedených způsobů syntézy může být nezbytné a/nebo žádoucí chránit citlivé nebo reaktivní skupiny na jakékoliv z molekul, které se účastní reakce. To je možno dosáhnout pomocí běžných ochranných skupin jako jsou například skupiny popisované v *Protective Groups in Organic Chemistry*, ed. J. F. W. McOmie, Plenum Press, 1973; a T. W. Greene & P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, 1991. Ochranné skupiny mohou být odstraněny ve vhodném následném kroku použitím v oboru známých metod.

Sloučenina podle předkládaného vynálezu silně inhibuje vazbu [^{3}H]–flumazenilu na benzodiazepinové vazebné místo lidských receptorů $GABA_A$ obsahujících podjednotku α5 stabilně exprimovanou v buňkách Ltk.

Reagencie

- Fyziologický roztok s fosfátovým pufrem (PBS).
- Testovací pufr: 10 mM KH_2PO_4, 100 mM KCl, pH 7,4 při pokojové teplotě.
- [^{3}H]–Flumazenil (18 nM pro buňky α1β3γ2; 18 nM pro buňky α2β3γ2; 10 nM pro buňky α3β3γ2; 10 nM pro buňky α5β3γ2) v testovacím pufru.
- Flunitrazepam 100 M v testovacím pufru.
- Buňky resuspendované v testovacím pufru (1 tác na 10 ml).

Sklizeň buněk

Z buněk se odstraní supernatant. Přidá se PBS (přibližně 20 ml). Buňky se seškrábou a vloží do 50 ml centrifugační kyvety. Postup se opakuje s dalšími 10 ml PBS, aby se zajistilo, že se odstraní většina buněk. Buňky se oddělí centrifugací 20 min při 3 000 ot/min na stolní centrifuze a potom se v případě potřeby zmrazí. Biomasa se resuspenduje v 10 ml pufru na tác (25 cm x 25 cm) buněk.

Test

Test je možno provádět v hlubokých 96–jamkových destičkách nebo ve zkumavkách. Každá zkumavka obsahuje:

- 300 µl testovacího pufru.
- 50 µl [^{3}H]–flumazenilu (konečná koncentrace pro α1β3γ2: 1,8 nM; pro α2β3γ2: 1,8 nM; pro α3β3γ2: 1,0 nM; pro α5β3γ2: 1,0 nM).
- 50 µl pufru nebo nosného rozpouštědla (např. 10% DMSO), jestliže se sloučenina rozpouští v 10% DMSO (celková koncentrace); testovaná sloučenina nebo flunitrazepam (pro stanovení nespecifické vazby), 10 µM konečná koncentrace.
- 100 µl buněk.

Materiál se při testech inkubuje 1 hod při 40 °C, potom se filtruje s použitím vybavení pro sklizeň buněk Tomtec nebo Brandel na skleněných filtrech GF/B s následným opláchnutím 3 x 3 ml

ledového testovacího pufru. Filtry se suší a zjišťuje se počet impulzů kapalným scintilačním počítáním. Očekávané hodnoty pro úplnou vazbu jsou 3 000 – 4 000 dpm (rozpadu/minuta) pro celkové počty a méně než 200 dpm pro nespecifickou vazbu při použití metody kapalné scintilace, nebo 1 500 – 2 000 dpm pro celkové počty a méně než 200 dpm pro nespecifickou vazbu, jestliže se používá pevného scintilátoru meltilex. Vazebné parametry se stanoví nelineární regresní analýzou metodou nejmenších čtverců, ze které je možno vypočíst pro testovanou sloučeninu inhibiční konstantu K_i.

Sloučenina podle předkládaného vynálezu silně inhibuje vazbu [^{3}H]–flumazenilu na benzodiazepinové vazebné místo lidských receptorů $GABA_A$ obsahujících podjednotku α5 stabilně exprimovanou v buňkách Ltk.

Sloučenina v přiložených příkladech byla testována výše popsaným testem a bylo zjištěno, že má hodnotu K_i pro vytěsnění [^{3}H]Ro 15 – 1788 z podjednotky α5 lidského receptoru $GABA_A$ 100 mM nebo nižší.

Bylo ukázáno, že sloučenina podle předkládaného vynálezu zvyšuje vnímání u krysy v testu vodného bludiště (Morris, Learning and Motivation, 1981, 12, 239ff). Další podrobnosti týkající se metod demonstrujících, že sloučeniny podle předkládaného vynálezu zvyšují vnímání, mohou být nalezeny ve WO–A–96 25 948. To bylo ukázáno při minimální účinné dávce 0,3 mg/kg, při které sloučenina podle předkládaného vynálezu zabere receptor ze 40 %. Tento účinek byl také ukázán při dávce 3 mg/kg.

Sloučenina podle předkládaného vynálezu může být vyráběna podle popisu v následujících příkladech. Přesné podrobnosti reakčních podmínek a zjevné modifikace postupu reakce mohou být prováděny v rámci schopnosti odborníka v oboru.

Meziprodukt 1

6–Chlor–3–(5–methylizoxazol–3–yl)–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin

a) 1–Chlor–4–hydrazinftalazin

1,4–Dichlorftalazin (20,0 g, 0,100 mol) byl přidán k vroucímu roztoku monohydrátu hydrazinu (37,3 ml, 0,765 mol) v ethanolu (500 ml) a směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 0,5 hod. Směs byla ochlazena na pokojovou teplotu a pevná látka byla oddělena filtrací a promyta etherem. Materiál byl převeden do n–butanolu a roztoku amoniaku (hustota 910 kg/m^3) a zahříván, dokud se pevná látka nerozpustila. Organická vrstva byla oddělena, odpařena ve vakuu a zbytek byl azeotropně destilován s xylenem (2 x) a sušen ve vakuu za získání v názvu uvedeného hydrazinu (11,5 g, 59 %), ^{1}H NMR (250 MHz, d^{6}DMSO) δ 7,84 – 8,04 (3H, m, Ar–H), 8,20 (1H, m, Ar–H); MS (ES^+) m/e 194 $[MH]^+$.

b) Kyselina 5–methylizoxazol–3–karboxylová

Směs acetonylacetonu (10 g, 88 mmol) a kyseliny dusičné (hustota 1420 kg/m^3)/voda (2:3) (50 ml) byla opatrně přivedena k varu pod zpětným chladičem v proudu dusíku a byla vařena 1 hod. Roztok byl ochlazen na pokojovou teplotu a ponechán zrát přes noc. Získaná pevná látka byla oddělena filtrací, promyta chladnou vodou (2 x 7 ml) a hexanem a sušena ve vakuu za získání v názvu uvedené kyseliny (4,4 g, 40 %), ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 2,50 (3H, d, J = 0,8 Hz, Me), 6,41 (1H, d, J = 0,8 Hz, Ar–H).

c) 6–Chlor–3–(5–methylizoxazol–3–yl)–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin

Kyselina 5–methylizoxazol–3–karboxylová (5,24 g, 41,3 mmol), bis(2–oxo–3–oxazolidinyl)–fosfinchlorid (10,5 g, 41,2 mmol) a triethylamin (11,5 ml, 82,5 mmol) byly postupně přidávány

k míchané suspenzi 1–chlor–4–hydrazinoftalazinu (8,00 g, 41,2 mmol) v dichlormethanu (1 l) při 0 °C v atmosféře dusíku. Směs byla míchána při 0 °C 2 hod a při pokojové teplotě přes noc. Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu, zbytek byl rozetřen s vodou a pevná látka byla odfiltrována, promyta hexanem a sušena ve vakuu za získání ketohydrazinu (11 g), MS (ES^+) m/e 304 $[MH]^+$. Roztok ketohydrazinu (11 g) a hydrochloridu triethylaminu (2,2 g, 20 % hmotnostních) v xylenu (500 ml) byl zahříván pod zpětným chladičem 3 hod. Směs byla ochlazena na pokojovou teplotu a rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu. Zbytek byl rozpuštěn v dichlormethanu, promyt vodou (2 x), sušen ($MgSO_4$) a odpařen ve vakuu, a pevná látka byla rekrystalizována (dichlormethan/hexan) za získání v názvu uvedené sloučeniny (6,8 g, 58 %), ^1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$) δ 2,59 (3H, s, Me), 6,90 (1H, s, Ar–H), 7,95 (1H, m, Ar–H), 8,07 (1H, m, Ar–H), 8,34 (1H, m, Ar–H), 8,78 (1H, s, Ar–H); MS (ES^+) m/e 286 $[MH]^+$.

Referenční příklad 1

3–(5–Methylizoxazol–3–yl)–6–(2–pyridyl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin

Hydrid sodný (244 mg 60% disperze v oleji, 6,10 mmol) byl přidán k míchanému roztoku 2–pyridylkarbinolu (470 mg, 4,27 mmol) v DMF (60 ml) při pokojové teplotě v atmosféře dusíku a směs byla míchána 0,25 hod. Potom byl přidán meziprodukt 1 (1160 mg, 4,07 mmol) a směs byla míchána 2 hod. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a zbytek byl rozpuštěn v dichlormethanu, promyt vodou (2 x), sušen ($MgSO_4$) a odpařen ve vakuu. Blesková chromatografie na silikagelu s elucí 3% směsí methanol/dichlormethan a rekrystalizace (dichlormethan/hexan) poskytly v názvu uvedený produkt (640 mg, 44 %), teplota tání 234 – 236 °C; ^1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$) d 2,59 (3H, d, J = 0,8 Hz, Me), 5,77 (2H, s, CH_2), 6,82 (1H, d, J = 0,8 Hz, Ar–H), 7,30 (1H, m, Ar–H), 7,74 – 7,85 (3H, m, Ar–H), 7,95 (1H, m, Ar–H), 8,33 (1H, d, J = 7,8 Hz, Ar–H), 8,64 – 8,72 (2H, m, Ar–H); MS (ES^+) m/e 359 $[MH]^+$; Anal. nalezeno C, 62,93; H, 3,56; N, 22,94. $C_{19}H_{14}N_6O_2$ 0,05 (CH_2Cl_2), vypočteno C, 63,10; H, 3,92; N, 23,17 %.

Referenční příklad 2

6–(6–Brompyridin–2–yl)methyloxy–3–(5–methylizoxazol–3–yl)–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin

V názvu uvedená sloučenina byla vyrobena z meziproduktu 1 a 2–brompyridin–6–methanolu (*Tetrahedron Lett.*, 1996, 50, 2537) podle postupu uvedeného v referenčním příkladu 1. Produkt byl izolován přidáním vody k reakční směsi a získaná sraženina byla odfiltrována. Blesková chromatografie na silikagelu s elucí ethylacetátem a rekrystalizace (ethylacetát–methanol) poskytly v názvu uvedený ftalazin, teplota tání 247,5 – 249 °C; ^1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$) δ 2,61 (3H, d, J = 0,7 Hz, Me), 5,73 (2H, s, CH_2), 6,82 (1H, d, J = 0,7 Hz, Ar–H), 7,48 (1H, d, J = 7,8 Hz, Ar–H), 7,63 (1H, t, J = 7,7 Hz, Ar–H), 7,76 (1H, d, J = 7,4 Hz, Ar–H), 7,84 (1H, t, J = 8,4 Hz, Ar–H), 7,98 (1H, t, J = 8,4 Hz, Ar–H), 8,31 (1H, d, J = 8,5 Hz, Ar–H), 8,70 (1H, d, Ar–H); MS (ES^+) m/e 437 $[MH]^+$; Anal. nalezeno C, 52,27; H, 2,85; N, 19,14. $C_{14}H_{13}N_6O_2Br$. 0,1 H_2O, vypočteno C, 51,98; H, 3,03; N, 18,60 %.

Meziprodukt 2

6–Hydroxy–3–(5–methylizoxazol–3–yl)–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin

Roztok hydroxidu sodného (0,67 g, 17 mmol) ve vodě (7,5 ml) byl přidán k míchanému roztoku meziproduktu 1 (1,0 g, 3,5 mmol) v dioxanu (37,5 ml) a směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 4 hod. Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu a zbytek byl rozdělen mezi vodu a diethylether. Vodná vrstva byla oddělena, promyta etherem (1 x) a potom okyselena 2N kyselinou chlorovodíkovou, až bylo dosaženo pH 2. Pevná látka, která se vysrážela z roztoku byla odfiltrována a vodný filtrát byl extrahován dichlormethanem (3 x). Spojené extrakty byly sušeny ($MgSO_4$) a odpařeny ve vakuu a spojeny se sraženinou za získání v názvu uvedeného produktu (0,45 g, 48 %), ^1H NMR (250 MHz, d^6–DMSO) 8 2,58 (3H, d, J = 0,7 Hz, Me), 7,07

(1H, d, J = 0,9 Hz, Ar–H), 7,94 (1H, m, Ar–H), 8,08 (1H, m, Ar–H), 8,24 (1H, d, J = 7,4 Hz, Ar–H), 8,54 (1H, d, J = 7,4 Hz, Ar–H), 13,3ě (1H, br s, NH); MS (ES^+) m/e 268 $[MH]^+$.

Referenční příklad 3

3–(5–Methylizoxazol–3–yl)–6–(1H–1,2,3–triazol–5–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin

a) 5–Formyl–1–[2–(trimethylsilyl)ethoxylmethyl–1,2,3–triazol

n–Butyllithium (6,8 ml, 1,6 M roztok v hexanech, 10,9 mmol) bylo přikapáno v průběhu 0,08 hod k míchanému roztoku 1–[2–(trimethylsilyl)ethoxy]methyl–1,2,3–triazolu (J. Heterocycl. Chem., 1992, 29, 1203) (2,077 g, 10,42 mmol) v THF (30 ml) při –78 °C v atmosféře dusíku. Roztok byl ponechán ohřát na –60 °C v průběhu 0,67 hod., potom byl znovu ochlazen na –78 °C a byl přidán DMF (0,9 ml, 11,6 mmol). Směs byla ponechána ohřát na pokojovou teplotu a byla míchána 16,5 hod. Byl přidán nasycený roztok chloridu amonného (50 ml) a reakční směs byla extrahována diethyletherem (3 x 80 ml). Spojené etherové extrakty byly sušeny ($MgSO_4$), odpařeny ve vakuu, a zbytek byl chromatografován na silikagelu s elucí směsí 30% ethylacetát/hexan, za získání v názvu uvedeného triazolu (1,713 g, 72 %), ^1H NMR (360 MH_2, $CDCl_3$) δ 0,01 (9H, s, Me_3Si), 0,92 – 0,99 (2H, m, CH_2), 3,64 – 3,69 (2H, m, CH_2), 6,05 (2H, s, CH_2), 8,31 (1H, s, Ar–H), 10,12 (1H, s, CHO).

b) 5–Hydroxymethyl–1–[2–(trimethylsilyl)ethoxy]methyl–1,2,3–triazol

Borohydrid sodný (0,284 g, 7,51 mmol) byl přidán k míchanému roztoku výše získaného triazolu (1,704 g, 7,495 mmol) v methanolu (8 ml) při 0 °C v atmosféře dusíku. Směs byla míchána při 0 °C 0,5 hod a při pokojové teplotě 0,5 hod. Byla přidána voda a směs byla rozdělena mezi dichlormethan a nasycený roztok soli. Vodná vrstva byla oddělena a dále extrahována dichlormethanem (2 x). Spojené organické vrstvy byly sušeny ($MgSO_4$) a odpařeny ve vakuu a zbytek byl chromatografován na silikagelu s elucí 70% ethylacetát/hexan, za získání v názvu uvedeného produktu (1,34 g, 78 %). ^1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$) δ 0,00 (9H, s, Me_3Si), 0,90 – 0,95 (2H, m, CH_2), 3,58 – 3,63 (2H, m, CH_2), 4,84 (2H, s, CH_2), 5,80 (2H, s, CH_2), 7,68 (1H, s, Ar–H).

c) 3–(5–Methylizoxazol–3–yl)–6–{1–[2–(trimethylsilyl)ethoxymethyl–1,2,3–triazol–5–yl}-methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin

V názvu uvedená sloučenina byla vyrobena z meziproduktu 1 a výše získaného alkoholu postupem popsaným v příkladu 1, 360 MHz (360 MHz, $CDCl_3$) δ 0,00 (9H, s, Me_3Si), 0,88 – 0,93 (2H, m, CH_2), 2,63 (3H, s, Me), 3,61 – 3,66 (2H, m, CH_2), 5,92 (2H, s, CH_2), 5,97 (2H, s, CH_2), 6,89 (1H, s, Ar–H), 7,86 (1H, m, Ar–H), 8,02 (1H, t, J = 7,7 Hz, Ar–H), 8,18 (1H, s, Ar–H), 8,23 (1H, d, J = 8,0 Hz, Ar–H), 8,76 (1H, d, J = 8,0 Hz, Ar–H); MS (ES^+) m/e 479 $[MH]^+$.

d) 3–(5–Methylizoxazol–3–yl)–6–(1H–1,2,3–triazol–5–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]-ftalazin

Směs výše získaného produktu, ethanolu (10 ml) a 2N HCl (20 ml) byla zahřívána na 50 °C 15,25 hod. Roztok byl zalkalizován na pH 12 nasyceným roztokem uhličitanu sodného a rozpouštědla byla odpařena ve vakuu. Zbytek byl azeotropně destilován s ethanolem (2 x) a chromatografován na silikagelu, s elucí směsí 0 – 4 % methanol/dichlormethan (gradientová eluce), za získání v názvu uvedeného produktu. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,65 (3H, s, Me), 5,73 (2H, s, CH_2), 7,02 (1H, s, Ar–H), 7,87 (1H, t, J = 7,8 Hz, Ar–H), 7,99 – 8,03 (2H, m, 2 z Ar–H), 8,24 (1H, d, J = 8,2 Hz, Ar–H), 8,72 (1H, d, J = 7,9 Hz, Ar–H); MS (ES^+) m/e 349 $[MH]^+$.

Příklad 1

3–(5–Methylizoxazol–3–yl)–6–(1–methyl–1,2,3–triazol–5–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]-ftalazin,

3–(5–methylizoxazol–3–yl)–6–(2–methyl–1,2,3–triazol–4–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]-ftalazin, a

3–(5–methylizoxazol–3–yl)–6–(1–methyl–1,2,3–triazol–4–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]-ftalazin

Lithiumhexamethyldisilazid (1,83 ml 1M roztok v THF, 1,63 mmol) byl po kapkách přidán k míchanému roztoku 3–(5–methylizoxazol–3–yl)–6–(1H–1,2,3–triazol–5–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazinu (241 mg, 0,626 mmol), připravenému jako v referenčním příkladu 3, v DMF (50 ml) při –31 °C v atmosféře dusíku. Směs byla zahřáta na –23 °C v průběhu 1,5 hod, po kapkách byl přidán methyljodid (0,10 m, 1,6 mmol) a reakční směs byla ponechána ohřát na pokojovou teplotu přes noc. Byla přidána voda a rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu. Zbytek byl rozdělen mezi dichlormethan a vodu a vodná fáze byla oddělena a znovu extrahována dichlormethanem (1 x). Spojené organické extrakty byly promyty roztokem soli (1 x), sušeny ($MgSO_4$) a odpařeny ve vakuu. Chromatografie zbytku na silikagelu, eluce 0 – 5% směsí methanol/dichlormethan (gradientová eluce), následná preparativní HPLC (YMC Sil column, 250 x 20 mm) s elucí směsí 5% methanol/1–chlorbutan, oddělila izomery triazolu:

Nejméně polární izomer (systém rozpouštědel HPLC): 3–(5–methylizoxazol–3–yl)–6–(2–methyl–1,2,3–triazol–4–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,59 (3H, s, Me), 4,21 (3H, s, Me), 5,73 (2H, s, CH_2), 6,89 (1H, s, Ar–H), 7,79 (1H, m, Ar–H), 7,94 (1H, m, Ar–H), 8,10 (1H, s, Ar–H), 8,22 (1H, d, J = 8,0 Hz, Ar–H), 8,67 (1H, d, J = 8,0 Hz, Ar–H); MS (ES^+) m/e 363 $[MH]^+$.

Izomer se střední polaritou: 3–(5–methylizoxazol–3–yl)–6–(1–methyl–1,2,3–triazol–4–yl)-methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,60 (3H, s, Me), 4,09 (3H, s, Me), 5,78 (2H, s, CH_2), 6,90 (1H, d, J = 0,8 Hz, Ar–H), 7,80 (1H, m, Ar–H), 7,94 (1H, m, Ar–H), 8,25 (1H, d, J = 8,0 Hz, Ar–H), 8,65 (1H, d, J = 8,0 Hz, Ar–H), 8,73 (1H, s, Ar–H); MS (ES+) m/e 363 $[MH]^+$.

Nejpolárnější izomer (systém rozpouštědel HPLC): 3–(5–methylizoxazol–3–yl)–6–(1–methyl–1,2,3–triazol–5–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo[3,4–a]ftalazin ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,56 (3H, s, Me), 4,19 (3H, s, Me), 5,76 (2H, s, CH_2), 6,82 (1H, s, Ar–H), 7,80 (1H, m, Ar–H), 7,96 (1H, m, Ar–H), 8,04 (1H, s, Ar–H), 8,12 (1H, d, J = 8,8 Hz, Ar–H), 8,67 (1H, d, J = 8,0 Hz, Ar–H); MS (ES^+) m/e 363 $[MH]^+$.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. 3–(5–Methylizoxazol–3–yl)–6–(1–methyl–1,2,3–triazol–4–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo-[3,4–a]ftalazin.

2. Farmaceutický prostředek, **vyznačující se tím**, že obsahuje sloučeninu podle nároku 1 a farmaceuticky přijatelný nosič.

3. 3–(5–Methylizoxazol–3–yl)–6–(1–methyl–1,2,3–triazol–4–yl)methyloxy–1,2,4–triazolo-[3,4–a]ftalazin pro použití při léční člověka nebo zvířete.

4. Použití sloučeniny podle nároku 1 pro výrobu farmaceutického prostředku pro zlepšení vnímání.

Konec dokumentu