



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

235335

(11) (12)

(51) Int. Cl.³

C 07 D 471/04

(22) Přihlášeno 27 07 83
(21) (PV 5633-83)
(32) (31)(33) Právo přednosti od 03 11 82
(438 834) Spojené státy americké

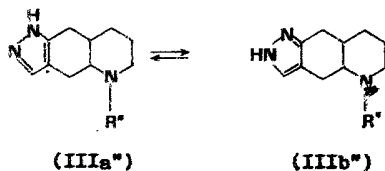
(40) Zveřejněno 31 08 84

(45) Vydáno 15 01 87

(72) Autor vynálezu SCHAUŠ JOHN MEHNERT, INDIANAPOLIS, INDIANA (Sp. st. a.)
(73) Majitel patentu ELI LILLY AND COMPANY, INDIANAPOLIS, INDIANA (Sp. st. a.)

(54) Způsob výroby tautomerních 5-substituovaných 4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)-pyrazolo[3,4-g]chinolinů

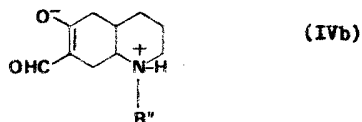
Způsob výroby tautomerních 5-substituovaných 4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)-pyrazolo[3,4-g]chinolinů obecných vzorců IIIa" a IIIb"



ve kterém

R'' znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku,

vyznačující se tím, že se formylderivát obecného vzorce IVb



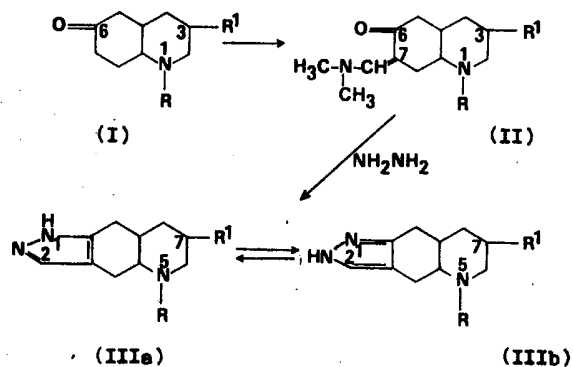
ve kterém

R'' má shora uvedený význam,

nebo jeho tautomer, nechá ve vodném prostředí reagovat s hydrazinem.

Vynález popisuje zlepšený způsob výroby tautomerních 5-substituovaných 4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)-pyrazolo[3,4-g]chinolinů za použití nových intermediárních keto-derivátů.

V americkém patentovém spisu č. 4 198 415, vydaném 15. dubna 1980, a v souvisejícím americkém patentovém spisu č. 4 230 861, vydaném 28. října 1980, je popsána skupina oktahydropyrazolo[3,4-g]chinolinů. V těchto publikacích jsou popsány jak meziprodukty tak finální produkty a jeden z postupů k přípravě těchto látek, popsany ve shora uvedených spisech, je možno znázornit následujícím reakčním schématem:



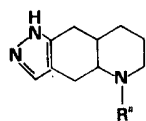
Ve vzorcích uvedených v tomto schématu

- R znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, allylovou skupinu nebo benzylovou skupinu a
 R¹ představuje atom vodíku nebo zbytek vzorce COOZ', kde Z' znamená alkylovou skupinu s 1 nebo 2 atomy uhlíku, benzylovou skupinu, alfa-methylbenzylovou skupinu nebo fenylethylovou skupinu.

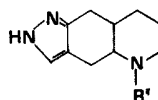
Ty sloučeniny obecného vzorce IIIa nebo IIIb, kde R¹ znamená atom vodíku a R představuje alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku nebo allylovou skupinu, jsou užitečné jako inhibitory sekrece prolaktinu a k léčbě Parkinsonova syndromu. Ty sloučeniny obecného vzorce IIIa nebo IIIb, kde R znamená atom vodíku stejně jako R¹, kde R znamená benzylovou skupinu nebo kde R¹ znamená zbytek vzorce COOZ', jsou užitečné jako meziprodukty. Tyto meziprodukty se na příslušná léčiva převádějí postupy popsanými ve shora citovaných patentních spisech. Činidlem používaným k přeměně 1-substituovaného 6-oxodekahydrochinolinu popřípadě substituovaného v poloze 6, obecného vzorce I, na meziprodukt obecného vzorce II, je dimethylformamid-acetal, jako dimethylformamid-dimethylacetal.

V soulase s vynálezem bylo nyní s překvapením zjištěno, že nové intermediární keto-deriváty poskytují lepší cestu k přípravě určité skupiny sloučenin spadajících do rozsahu shora uvedených obecných vzorců IIIa a IIIb. Výhody spojené s použitím těchto nových meziproduktů spočívají v možnosti použití levnějších reakčních činidel, ve vyšších výtěžcích finálních produktů a v tom, že intermediární ketoderivát není nutno izolovat (i když jej izolovat lze, je-li to žádoucí).

V soulase s tím je předmětem vynálezu způsob výroby tautomerních 5-substituovaných 4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H) pyrazolo[3,4-g]chinolinů obecných vzorců IIIa" a IIIb"



(IIIa'')

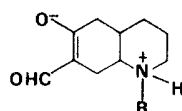


(IIIb'')

ve kterém

R" znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku,

vyznačující se tím, že se formylderivát obecného vzorce IVb



(IVb)

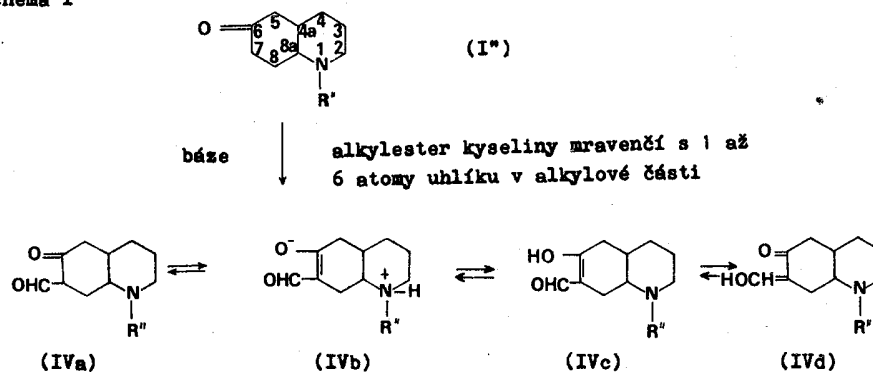
ve kterém

R" má shora uvedený význam,

nebo jeho tautomer, nechá ve vodném prostředí reagovat s hydrazinem.

Výchozí formylderiváty, které mohou existovat v řadě tautomerních forem, lze připravit postupem podle následujícího reakčního schématu I:

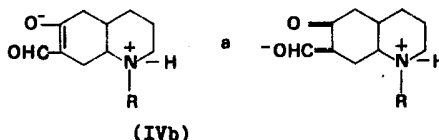
Reakční schéma I



V souladu s reakčním schématem I se trans-dl-1-substituovaný 6-oxodekahydrochinolin obecného vzorce I" formuluje reakcí s alkylesterem kyseliny mravenčí obsahujícím v alkylové části 1 až 6 atomů uhlíku v přítomnosti báze, za vzniku trans-dl-1-subst.6-oxo-7-formyl-dekahydrochinolinu reprezentovaného serií tautomerních struktur (viz vzorce IVa až IVd). Tento meziprodukt se účelně neisoluje (i když je to pochopitelně možné) a neprovádí se jeho charakterizace, ale ihned se nechá in situ reagovat ve smyslu vynálezu s hydrazinem za vzniku směsi tautomerů, tj. trans-dl-5-substituovaného 4,4a,5,6,7,8,8a,9-okta-

hydro-1H-pyrazolo[3,4-g]chinolinu (IIIa") a trans-dl-5-substituovaného 4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-2H-pyrazolo[3,4-g]chinolinu (IIIb").

Formylovaný produkt popsany výše čtyřmi tautomerními strukturami (vzorce IVa až IVd) ve vodném roztoku pravděpodobně existuje převážně jako obojetný iont znázorněný vzorcem IVb. Všechny výše zmíněné tautomerní formy jsou však v dynamické rovnováze a pokud je v tomto textu zakreslena nebo popisována pouze jedna z těchto struktur, zahrnuje vždy i všechny ostatní struktury. Vynález rovněž zahrnuje i resonanční struktury různých vzorců uvedených výše, jako jsou



Postup podle reakčního schématu I je modifikací Claissenovy kondensace, při níž je možno methylenovou skupinu, aktivovanou přítomností sousedící karbonylové skupiny,acylovat v přítomnosti báze. Jako báze se obvykle používá ethoxid sodný, je ovšem samozřejmé, že k danému účelu je možno použít i jiné báze, jako terc.alkoxydy alkalických kovů a hydridy alkalických kovů, konkrétně terc.butoxid draselný, terc.amyloxid draselný nebo natriumhydrid.

Claissenova kondenzační reakce (I"→IV) se obvykle provádí v ethanólickém roztoku, i když je pochopitelně možno jako reakční prostředí použít i jiné nižší alkanoly a podobná polární bezvodá rozpouštědla. Jako příklady vhodných rozpouštědel je možno uvést tetrahydrofuran, diethylether, dimethoxyethan, dioxan, dimethylsulfoxid, dimethylformamid a terc.butanol, s výhodou tetrahydrofuran, který může sloužit i jako rozpouštědlo pro následující cyklizační stupeň. I když teplota při reakci nehraje rozhodující úlohu, pracuje se nicméně s výhodou při teplotě zhruba od -20 °C do varu pod zpětným chladičem, zejména pak v rozmezí od 0 °C do teploty místnosti.

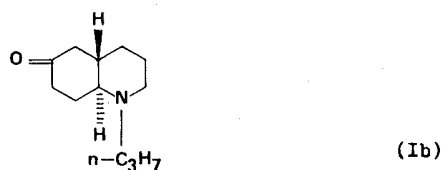
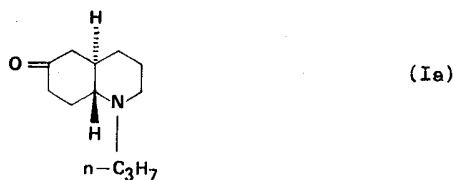
U cyklizačního stupně (IV→IIIa" + IIIb") podle vynálezu je jako konkrétní reakční činidlo uveden hydrazin, se stejným výsledkem však lze použít i hydrazin-hydrát nebo soli hydrazinu. Vhodnými rozpouštědly pro tento cyklizační stupeň jsou voda, alkanoly s 1 až 4 atomy uhlíku, zejména terc.butanol, tetrahydrofuran, dimethylsulfoxid, dimethoxyethan, dioxan a diethylether. Reakci je možno uskutečnit při teplotě zhruba od 0 °C do varu pod zpětným chladičem, přičemž výhodná je teplota místnosti.

Výhodou syntetického postupu popsaneho výše je, že jak formylaci tak cyklizaci je možno uskutečnit v téže reakční nádobě. S výhodou se tedy používají rozpouštědla vhodná pro obě tyto reakce, jako tetrahydrofuran, dimethylsulfoxid, terc.butanol, dimethoxyethan, diethylether a dioxan, zejména tetrahydrofuran. Je-li to žádoucí, lze k reakčnímu systému přidat vodu nebo alkanol s 1 až 4 atomy uhlíku. Reakci je možno provádět při pH v rozmezí zhruba od 13 do 0, s výhodou při pH cca 9. Výhodného pH okolo hodnoty 9 se dosáhne přidáním 10% roztoku kyseliny chlorovodíkové (1 mol) do reakční směsi. I když je možno použít teplotní rozmezí zhruba od 0 °C do varu pod zpětným chladičem, je nicméně výhodná teplota místnosti.

Druhá výhoda způsobu podle vynálezu spočívá v tom, že výtěžky tautomerních pyrazolů (IIIa" + IIIb") jsou vyšší než výtěžky dosahované při práci postupem podle dosavadního stavu techniky, při němž se jako reakční činidlo používá dimethylformamid-dimethylacetal. Další předností je, že s výhodou používané formylační činidlo - mravenčan ethylnatý - je relativně levné v porovnání s dimethylformamid-dimethylacetalem.

Je třeba poznamenat, že číslování výchozího ketonu obecného vzorce I" se liší od číslování finálního pyrazolového produktu obecného vzorce III". Tak tedy asymetrický uhlík spojující kruhy v sousedství chinolinového dusíku je ve výchozím ketonu očíslován 8a, zatímco v pyrazolovém derivátu 4a. Druhý asymetrický uhlík spojující kruhy je pak v ketoderivátu očíslován 4a, zatímco ve finálním produktu 8a. Racemické páry vzorců IIIa" a IIIb" jsou obvykle označovány jako cis-dl-pár a trans-dl-pár. Konfigurace molekuly na C_{4a} a C_{8a} v cis-dl-páru tedy bude 4aR,4aS a 4aS,8aR, a v trans-dl-páru 4aR,8aR a 4aS,8aS. Konfigurace ve výchozích látkách pochopitelně zůstávají během syntézy pyrazolochinolinu zachovány, protože Claisenova kondenzace a následující cyklizace za použití hydrazinu neovlivňují konfiguraci na těchto optických centrech.

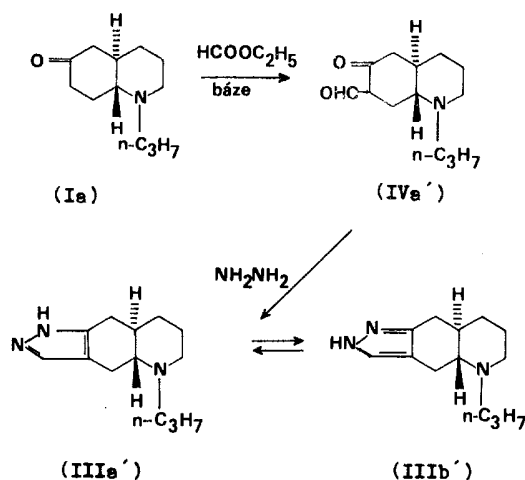
V našem souvisejícím československém patentovém spisu č. 234 050 je popsán způsob separace trans-dl-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinu odpovídajícího obecnému vzorci I", ve kterém R znamená n-propylovou skupinu, na individuální stereoisomery vzorce Ia (4aR,8aR) a Ib (4aS,8aS).



Shora popsaný způsob je možno použít jak v případě oddělených isomerů (Ia a Ib) tak v případě trans-dl-racemátu, jak je uvedeno v reakčním schématu I.

Postup podle reakčního schématu I s navazující cyklizací podle vynálezu je uveden v následujícím reakčním schématu II, kde se používá isomer, tj. 4aR,8aR-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolin, k přípravě žádaného 4aR,8aR-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)pyrazolo[3,4-g]chinolinu.

Reakční schéma II



Výhodnost postupu popsaného reakčním schématem II spočívá ve skutečnosti, že namísto cyklizace příslušného trans-dl-racemátu a štěpení výsledného trans-dl-pyrazolochinolinu se rozštěpí trans-dl-keton vzorce I a čistý 4aR,8aR-stereoisomer (Ia) se cyklizuje na opticky aktivní trans-4aR,8aR-oktahydropyrazolo[3,4-g]chinolin. Protože během štěpení odpadne nejméně polovina racemické směsi, je pochopitelně mnohem ekonomičtější odpadne-li polovina výchozího materiálu než polovina výsledného produktu, zejména pak s přihlédnutím k tomu, že organické reakce, jako je cyklizace ketochinolinu na pyrazolochinolin, nikdy neprobíhají kvantitativně.

Vynález ilustrují následující příklady provedení, jimiž se však rozsah vynálezu v žádném směru neomezuje.

Příklad 1

Do suché baňky s kulatým dnem, o objemu 250 ml, se naváží 1,5 g terc.butoxidu draselného, který se rozpustí přidáním 25 ml tetrahydrofuranu. K tomuto roztoku terc.butoxidu se přidá roztok 0,81 ml ethyl-formiátu a 0,97 g trans-dl-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinu v 10 ml tetrahydrofuranu, reakční směs se cca 45 minut nechá reagovat při teplotě místnosti, načež se k ní přidají 2 ml hydrazinu a příslušné množství 15% vodné kyseliny chlorovodíkové k snížení pH zhruba na hodnotu 9. Výsledná směs se 30 minut míchá při teplotě místnosti, po kteréžto době svědčí chromatografie na tenké vrstvě o tom, že není přítomen již žádný výchozí ketoderivát. Reakční směs se vylije do 10% vodného hydroxidu sodného a zásaditá směs se extrahuje stejným objemem methylenchloridu. Extrakt se vysuší a rozpouští se odpaří ve vakuu. Získá se 1,31 g žlutého oleje tvořeného surovým trans-dl-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)pyrazolo-[3,4-g]chinolinem.

Příklad 2

Do baňky s kulatým dnem, o objemu 25 ml, se vnese příslušné množství 55% suspenze natriumhydridu v minerálním oleji, obsahující 360 mg (15 mmol) natriumhydridu a minerální olej se odstraní trojnásobným promytím hexanem. Zbylý natriumhydrid se suspenduje v 6 ml tetrahydrofuranu, k suspenzi se přidá nejprve 740 ml ethyl-formiátu a 1 kapka bezvodého ethanolu, a pak 975 mg trans-dl-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinu ve 4 ml tetrahydrofuranu.

Reakční směs, která začne téměř okamžitě vřít pod zpětným chladičem, se zhruba 45 minut udržuje ve varu pod zpětným chladičem. Po této době neobsahuje reakční směs podle chromatografie na tenké vrstvě již žádný výchozí materiál. Po přidání 50 ml vody a 4 ml hydrazinu se zředěnou vodnou kyselinou chlorovodíkovou upraví pH zhruba na hodnotu 9 a směs se přes noc míchá při teplotě místnosti, přičemž se z ní vyloučí sraženina. Izolací této sraženiny se získá 373 mg trans-dl-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)pyrazolo[3,4-g]chinolinu ve formě bílého prášku tajícího při 78 až 84 °C.

Analýza: pro $C_{13}H_{21}N_3$

vypočteno	71,19 % C,	9,65 % H,	19,16 % N;
nalezeno	70,89 % C,	9,15 % H,	19,34 % N.

Další materiál se získá tak, že se filtrát vylije do zředěného vodného roztoku hydroxidu sodného a tento alkalický roztok se několikrát extrahuje methylen-dichloridem. Methylen-dichloridové extrakty se vysuší a zahustí se, čímž se získá 623 mg bílého pěnitého materiálu, který se vyčistí chromatografií na silikagelu za použití tetrahydrofuranu se stopovým množstvím hydroxidu amonného jako elučního činidla. Zpočátku vymyté frakce obsahující žádaný pyrazolo[3,4-g]chinolin se spojí a po odpaření rozpouštědla se z nich získá 437 mg bezbarvého olejovitého materiálu.

Tento olejovitý materiál se převede na dihydrochlorid, který po překrystalování ze směsi methanolu a acetonu taje při 252 až 263 °C.

Shora popsany pokus se opakuje s tím, že se použije 125 mg trans-4aR,8aR-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinu a příslušné nižší množství ethyl-formiátu a báze (natriumhydrid namísto terc.butoxidu draselného). Po prakticky úplném ukončení reakce (daném vymizením výchozího materiálu z chromatogramu vzorku reakční směsi na tenké vrstvě) se reakční směs vylije do zředěného vodného roztoku hydroxidu sodného a zásaditá směs se extrahuje methylen-dichloridem. Po vysušení methylen-dichloridového extraktu a následujícím odpaření rozpouštědla ve vakuu se získá zhruba 144 mg bezbarvého viskosního oleje, který při chromatografii na tenké vrstvě dává pouze jednu skvrnu. Tento olejovitý materiál se rozpustí v methanolu a k roztoku se přidá 3,2 ml 0,20N vodné kyseliny chlorovodíkové. Zahustěním vzniklého žlutého roztoku se získá polotuhá žlutě zbarvená látka, která se rozpustí v methanolu. Methanolicke roztok se odbarví aktivním uhlím a to se odstraní filtrací přes křemelinu. Po odpaření rozpouštědla a překrystalování zbytku ze směsi methanolu a ethylacetátu se získá 80 mg maslově žlutého práškového 4aR,8aR-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)pyrazolo[3,4-g]chinolinu o optické rotaci $\alpha_D^{25} = -121,76^\circ$ (voda, c = 1).

P ř í k l a d 3

K roztoku 59,8 g terc.butoxidu draselného v 600 ml tetrahydrofuranu, předem ochlazenému na cca 0 °C, se přidá roztok 52 g opticky čistého 4aR,8aR-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinu a 79 g ethyl-formiátu ve 250 ml tetrahydrofuranu. Během přidávání se uvolňuje plyn. Reakční směs se míchá nejprve 0,5 hodiny při teplotě cca 0 °C a pak další hodinu při teplotě místnosti, načež se k ní přidá 25,6 g hydrazinu a pH roztoku se přidáním zhruba 500 ml 10% vodné kyseliny chlorovodíkové upraví na pH cca 9. Výsledná směs se 2 hodiny intenzívně míchá při teplotě místnosti, pak se vylije do vody a vodná směs se silně zalkalizuje (pH cca 13) zředěným vodným hydroxidem sodným. Zásaditá směs se extrahuje methylen-dichloridem, methylen-dichloridový extrakt se vysuší a rozpouštědlo se odpaří. Žlutý pěnivý zbytek obsahuje podle chromatografie na tenké vrstvě žádaný pyrazolochinolin spolu s malým množstvím jediné nečistoty.

Tento zbytek se rozpustí v 1 litru horkého methanolu, k němuž se přidá 250 ml 1M vodné kyseliny chlorovodíkové. Po zahuštění roztoku se získá 65,4 g 4aR,8aR-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)pyrazolo[3,4-g]chinolin-hydrochloridu ve formě nažloutlého pevného materiálu, který po překrystalování ze směsi methanolu a ethylacetátu poskytne 51,7 g (výtěžek 76 %) nažloutlé pevné látky o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -121,0^\circ$ (voda, c = 1); $[\alpha]_{365}^{25} = -377,40$ (voda, C = 1).

Analýza:

vypočteno	61,04 % C,	8,67 % H,	16,43 % N,	13,68 % Cl;
nalezeno	61,32 % C,	8,53 % H,	16,22 % N,	14,08 % Cl.

Příklad 4

K roztoku 3,6 g terc.butoxidu draselného v 50 ml tetrahydrofuranu se při teplotě 0 °C přidá roztok 5,0 g trans-dl-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinu a 2,36 g ethyl-formiátu ve 25 ml tetrahydrofuranu. Výsledný roztok se míchá 15 minut při teplotě 0 °C a pak 17 hodin při teplotě místnosti, vyloučená žlutá sraženina se odfiltruje ve vakuu a po promytí tetrahydrofuranem se vysuší ve vakuu. Získá se draselná sůl trans-dl-1-n-propyl-6-oxo-7-formyldekahydrochinolinu.

NMR (deuteriumoxid, hodnoty δ): 9,00 (singlet, 1H, CHO), 3,02 - 0,99 (multiplet, 16H), 0,84 (triplet, J = 7, 3H, $-\text{CH}_3$ z $\text{n-C}_3\text{H}_7$).

Shora připravený 7-formylderivát je možno výše popsaným způsobem podle vynálezu převést na odpovídající produkt obecného vzorce IIIa" resp. IIIb".

V následující části jsou uvedeny příklady štěpení výchozích látek a produktů na individuální opticky aktivní isomery, příprava opticky aktivních produktů z odpovídajících opticky aktivních výchozích látek a výsledky testů farmakologické účinnosti finálních sloučenin.

Příklad 5

10 g trans-(+)-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)pyrazolo[3,4-g]chinolin-dihydrochloridu se rozpustí ve vodě a vodný roztok se salkalizuje přidáním pevného uhlíčitanu draselného. Vodná fáze se několikrát extrahuje chloroformem k odstranění volné báze, která je v alkalické vrstvě nerozpustná a vyloučí se z ní. Extrakty se spojí, vysuší se a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Izoluje se 4,7 g čirého oranžového oleje tvořeného trans-(+)-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)pyrazolo[3,4-g]chinolinu ve formě volné báze, vzniklé při shora popsané neutralizaci.

1,8 g této volné báze se rozpustí v methanolu a k tomuto roztoku se přidá horký methanolickeý roztok 1,5 g (+)-vinné kyseliny. Reakční roztok se 5 minut zahřívá k varu a pak se nechá zchladnout na teplotu místnosti. Vysráží se bezbarvá krystalická látka obohacená solí 4aS,8aS-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)pyrazolo[3,4-g]chinolinu s (+)-vinnou kyselinou. Sraženina se odfiltruje a filtrační koláč se promyje etherem, čímž se získá 1,46 g pevného produktu. Tato frakce má optickou rotaci $[\alpha]_D^{25}$ (voda) = +32,76° a taje při 173 až 177 °C. Tento pevný materiál poskytne po překrystalování z horkého methanolu 0,70 g bezbarvé krystalické látky, která má optickou rotaci $[\alpha]_D^{25}$ (voda) = +58,44° a taje při 185 až 186 °C. Tato pevná látka se překrystaluje z horkého methanolu, čímž se získá 0,15 g čisté soli a 4aS,8aS-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)pyrazolo[3,4-g]chinolinu s (+)-vinnou kyselinou ve formě bezbarvého krystalického produktu o optické rotaci $[\alpha]_D^{25}$ (voda) = +93,88° a teplotě tání 201 až 202 °C. Dalším překrystalováním se ani teplota tání ani optická rotace již nezlepší.

Analýza: pro $C_{17}H_{27}N_3O_6$

vypočteno 55,27 % C, 7,37 % H, 11,37 % N;
nalezeno 55,00 % C, 7,13 % H, 11,19 % N.

P ř í k l a d 6

Níže popsaným postupem se rozštěpí trans-(+)-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolin.

10 g (-)-di-p-toluoylvinné kyseliny se rozpustí v 75 ml teplého methanolu a tento roztok se přidá k roztoku 5,05 g trans-(+)-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinu v 15 ml methanolu. Reakční směs se zahřeje k varu a pak se nechá zchladnout na teplotu místnosti, při které se nechá stát přes noc. Naočkováním krystalky autentické sloučeniny se vyvolá krystalizace, krystalický tartrát se izoluje filtrací a filtrační koláč se promyje methanolem. Získá se 2,813 g (18,7 %) bílé krystalické látky tvořené (-)-di-p-toluoyltartrátem 4aR,8aR-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinu o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = -107,49^\circ$ (methanol, c = 1).

Filtráty a matečné louhy z předcházejícího postupu nebo z analogických postupů prováděných ve větším měřítku se spojí, čímž se získá roztok 1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinu obohaceného o 4aS,8aS-isomer, se sníženým obsahem 4aR,8aR-isomeru. Na tento roztok se shora popsaným postupem působí monohydrátem (+)-ditoluoylvinné kyseliny, čímž se získá 4aS,8aS-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolin-(+)-ditoluoyltartrát o optické čistotě zhruba 80 %. 20 g této soli poskytne po krystalizaci z 250 ml methanolu 12 g bílého krystalického prášku tajícího za rozkladu při 167,5 až 169,5 °C, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = +106,3^\circ$ (methanol, c = 1,0); $[\alpha]_{365}^{25} = +506,7^\circ$ (methanol, c = 1,0). Tyto údaje svědčí o optické čistotě zhruba 90 %. Druhý podíl produktu, získaný z matečných louhů z výše popsané krystalizace poskytne 2,3 g bílé pevné látky tající za rozkladu při 166,0 až 166,5 °C, o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = 106,6^\circ$; $[\alpha]_{365}^{25} = +510,8^\circ$ (v obou případech methanol, c = 1,0), což svědčí o optické čistotě cca 94 %. Po překrystalování prvního a druhého podílu krystalů z methanolu se získá bílý pevný materiál, z něhož se standardním postupem připraví volná báze. Tato volná báze poskytne destilací 4,14 g bezbarvého oleje vroucího při 82 až 86 °C/17,3 Pa, tvořeného 4aS,8aS-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinem o optické rotaci $[\alpha]_D^{25} = +86,2^\circ$; $[\alpha]_{365}^{25} = +376,6^\circ$ (v obou případech methanol, c = 1,0) o optické čistotě zhruba 98 %.

4,04 g shora připravené volné báze se rozpustí v 10 ml methanolu, k němuž se přidá roztok 8,35 g monohydrátu (+)-ditoluoylvinné kyseliny v 65 ml methanolu. Výsledný roztok se zahustí na objem 50 ml, kdy se z něj začne vylučovat sraženina. Reakční směs se nechá přes noc stát při teplotě místnosti, během kteréžto doby dojde k další krystalizaci. Po odfiltrování krystalů se získá 10,87 g bílé práškové látky tající při 167,0 až 167,5 °C. Tato sůl se převede na volnou bázi, která destiluje při 82 až 86 °C/17,3 Pa a má optickou rotaci $[\alpha]_D^{25} = 86,9^\circ$; $[\alpha]_{365}^{25} = 378,8^\circ$ (v obou případech methanol, c = 1,0), což svědčí o optické čistotě cca 98 %.

Alternativně je možno trans-(+)-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolin přímo působit (+)-di-p-toluoylvinnou za vzniku 4aS,8aS-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolin-(+)-di-p-toluoyltartrátu, který se vyčistí způsobem výše pro sůl 4aR,8aR-isomeru.

P ř í k l a d 7

4aS,8aS-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolin, připravený shora popsaným postupem, se následujícím způsobem převede na 4aS,8aS-5-n-propyl-3,4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(e 2H)-pyrazolo [4,3-g] chinolin.

7,7 g terc.butoxidu draselného se rozpustí v 85 ml tetrahydrofuranu, výsledný roztok se ochladí zhruba na 0 °C a přidá se k němu směs 6,7 g 4aS,8aS-1-n-propyl-6-oxodekahydrochinolinu a 10,2 g ethyl-formiátu ve 40 ml tetrahydrofuranu. Během přidávání dochází k vývoji plynu. Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a její vzorek se podrobí chromatografii na tenké vrstvě, z níž vyplývá, že již není přítomen žádný výchozí materiál. Přidá se 6 ml hydrazin-hydrátu a pak se 10% kyselinou chlorovodíkovou upraví hodnota pH zhruba na 9. Směs se intenzívně míchá při teplotě místnosti tak dlouho, až v ní podle chromatografie na tenké vrstvě není přítomen žádný intermediární formylketon. Reakční směs se vlije do zředěného vodného roztoku hydroxidu sodného a zásaditá směs se extrahuje methylenchloridem. Methylenchloridový extrakt se vysuší a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu, čímž se získá 9 g bezbarvého pěnovitého produktu. Tento pěnovitý materiál se rozpustí ve 100 ml methanolu, k němuž bylo přidáno ekvivalentní množství 1M vodné kyseliny chlorovodíkové. Výsledný roztok se zahustí, čímž se získá bílý pevný materiál, který po překrystalování ze směsi methanolu a ethylacetátu poskytne 5,69 g 4aS,8aS-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)-pyrazolo(3,4-g)chinolin-hydrochloridu.

Sloučeniny popsané ve shora uvedených příkladech projevují svoji účinnost jako D-1 agonisty dopaminu různým způsobem. Tak například 4aS,8aS-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)-pyrazolo(4,3-g)chinolin stimuluje tvorbu cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny ve striatální membráně krysy.

Tato účinnost se stanovuje postupem, který popsali Wong a Reid v Communications in Psychopharmacology, 4, 269 (1980). 4aS,8aS-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)-pyrazolo(4,3-g)chinolin, odpovídající 4aR,8aR-enantiomer a odpovídající racemát se testují co do schopnosti aktivovat adenylát-cyklasu ve striatální membráně krysy, kterážto aktivace se měří jako vzestup koncentrace cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny. Výsledky tohoto stanovení jsou uvedeny v tabulce 1. Jako pozitivní kontrolní látka se používá dopamin. V prvním sloupci tabulky 1 je uvedena testovaná látka, ve druhém sloupci koncentrace testované látky a ve třetím sloupci produkce cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny v procentech oproti kontrole.

T a b u l k a 1

Testovaná látka	Koncentrace (μ mol)	Produkce cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny v % oproti kontrole
Dopamin	10	149,7 $\pm$ 7,2 $\%$ *)
	50	215,5 $\pm$ 28,8 $\%$ *)
	100	183,8 $\pm$ 12,5 $\%$ *)
Racemát	50	116,5 $\pm$ 13,3
4aR,8aR-enantiomer	50	114,2 $\pm$ 10,4
4aS,8aS-enantiomer	50	141,8 $\pm$ 9,3 $\%$ *)

V přítomnosti 10 μ mol guanosin-trifosfátu činí základní hodnota aktivity adenylát-cykasy v striatálních membránách krysy ($\pm$ standardní odchylka) 134,9 $\pm$ 6,1 pmol/min/mg proteinu. Sloučeniny se testují ve třech nebo více separátních experimentech. Významné ($p < 0,025$) produkce cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny je označeno hvězdičkou (*).

Podle údajů uvedených v tabulce 1 pouze 4aS,8aS-enantiomer významně zvyšuje produkci cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny, což svědčí o účinnosti D-1 agonisty dopaminu.

Druhým, zvláště citlivým indikátorem D-1 agonistické účinnosti je uvolňování cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny z tkáňových řezů za použití postupu, který popsali Stoof a Kebebian (ibid.). Při tomto postupu se striatální tkáň oddělí od mozku krysy a rozřeže se na fragmenty o velikosti 0,3 mm x 0,03 mm. Fragmenty tkáně se suspendují ve vhodném pufrovaném systému (například Earlov vyvážený solný roztok) a do suspenze se za udržování teploty na 37 °C kontinuálně uvádí proud plynu sestávajícího z 95 dílů kyslíku a 5 dílů oxidu uhličitého. Těsně před vlastním použitím se fragmenty tkáně přenesou do čerstvého prostředí, k němuž se přidá albumin hovězího séra (2,5 mg/ml) a 3-isobutyl-1-methylxanthin (1 mmol) k zamezení rozkladu cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny. Fragmenty tkáně se inkubují v pufru bez přidavku testovaných látek a pak se přenesou do téhož prostředí, do něhož však byla přidána testovaná sloučenina. Vzorky inkubačních prostředí (bez přidavku a s přidavkem testované látky) se za použití specifického radioimunologického postupu zkoumají co do koncentrace cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny. Účinek testované látky nebo látek na uvolňování cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny se vyjadřuje v procentech, vztažených na stav u kontrolního pokusu.

Test se provádí za použití následujícího prostředí:

Složka	Koncentrace (mg/litr)
chlorid sodný	4 800
chlorid draselný	402,6
hydrogenuhlíčan sodný	2 201,1
dihydrogenfosforečnan sodný	137,99
heptahydrát síranu hořečnatého	147,88
d-glukosa	1 009
dihydrát chloridu vápenatého	191,1
fenolová červen	10

Při shora popsaných pokusech používají Stoof a Kebebian sulpiridu k potlačení negativního (anti D-1) účinku všech látek působících jako D-2 agonisty dopaminu. Zmínění autoři prokázali, že D-2 agonist potlačuje produkci cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny (účinek protikladný účinku, který vyvolává D-1 agonist). Je známo, že sulpirid je antagonistou D-2 receptorů hypofýzy. Přidáním sulpiridu do pokusného systému, jako do systému při shora popsaném testu, se blokují všechny D-2 účinky testované látky ve smyslu snížení produkce cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny. Stoof a Kebebian prokázali ztrátu účinku sulpiridu na produkci cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny ve striatální tkáni krysy za použití SKF 38393 jako čistého D-1 agonisty, což svědčí o tom, že se neuplatňují D-2 receptory, a že sloučenina není účinná jako D-2 agonist.

Výsledky jednoho takového stanovení za použití 4aS,8aS-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)-pyrazolo[3,4-g]chinolin-dihydrochloridu (sloučenina A) jsou uvedeny v tabulce 2. Ve sloupci 1 této tabulky je uvedena přidávaná sloučenina (pokud se nějaké používá), ve sloupci 2 koncentrace této sloučeniny, ve třetím sloupci koncentrace přítomné cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny a ve čtvrtém sloupci zvýšení koncentrace cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny vyjádřené v procentech.

T a b u l k a 2

Testovaná látka	Koncentrace	Koncentrace cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny	Zvýšení (%) koncentrace cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny
-	-	$71,6 \pm 8,2$	0
A	$5 \times 10^{-7} \text{M}$	$131,0 \pm 9,2$	83
A	$5 \times 10^{-6} \text{M}$	$160,1 \pm 23,8$	124
A + sulpirid (10^{-6}M)	$5 \times 10^{-7} \text{M}$	$143,7 \pm 6,2$	100

Z výše uvedené tabulky vyplývá, že sulpirid nemá žádný účinek na zvýšení vylučování cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny.

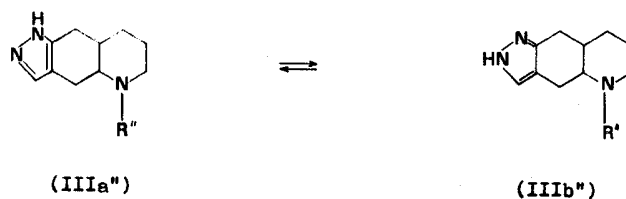
Ve shora zmíněné práci zjistili Stoof a Keababian, že racemát, tj. trans-(+)-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)-pyrazolo-[4,3-g]chinolin (LY141865) snižuje koncentraci cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny (viz str. 367, graf G práce shora uvedených autorů). Přídavek sulpiridu má jen malý nebo vůbec žádný účinek, a v nejlepším případě vrací koncentraci cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny na kontrolní hladinu. Tátáž racemická sloučenina redukuje účinek SKF38393 spočívající ve zvýšení hladiny cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny o $57 \pm 8 \%$ (viz obrázek 3 na straně 368 práce shora citovaných autorů). Přídavek sulpiridu tento účinek potlačuje a hladiny cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny jsou v podstatě stejné jako v případě použití samotného SKF38393.

Údaje, které předložili Stoof a Keababian se v podstatě shodují se závěry, že 4aR,8aR-enantiomer, který je známým D-2 agonistou, je účinnou komponentou racemátu (LY141865) pokud jde o snižování produkce cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny, kterýžto účinek je opět potlačován sulpiridem. Trans-(+)-isomer při testu D-2 agonistické účinnosti nevykazuje aktivitu jako D-2 agonist.

V separátním, ale obdobném pokusu bylo potvrzeno, že SKF38393 zvyšuje produkci cyklické adenosinmonofosforečné kyseliny (145 % v koncentraci 10^{-6}M). Tento účinek snižuje přídavek 4aR,8aR-5-n-propyl-4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)-pyrazolo[4,3-g]chinolinu, trans-(-)-enantiomeru a D-2 agonisty v dávce $0,5 \times 10^{-6} \text{mol}$ (ze 145 % na 42 %). Tento účinek je potlačován přidáním sulpiridu (10^{-6}M) k systému.

P R E D M Ě T V Y N Á L E Z U

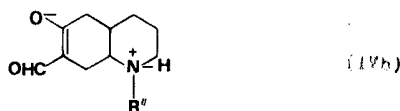
1. Způsob výroby tautomerních 5-substituovaných 4,4a,5,6,7,8,8a,9-oktahydro-1H(a 2H)-pyrazolo[3,4-g]chinolinů obecných vzorců IIIa" a IIIb"



ve kterém

R" znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku,

vyznačující se tím, že se formylderivát obecného vzorce IVb



ve kterém

R" má shora uvedený význam,

nebo jeho tautomer, nechá ve vodném prostředí reagovat s hydrazinem.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se použije výchozí ketoderivát obecného vzorce IVb v konfiguraci 4aR,8aR.

3. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se použije výchozí ketoderivát obecného vzorce IVb v konfiguraci 4aS,8aS.