



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

210641
(11) (B2)

(51) Int. Cl.³
C 07 D 209/44
//A 61 K 31/40

(22) Přihlášeno 13 03 80

(21) [PV 1738-80]

(32) (31) (33) Právo přednosti od 15 03 79
(20991 A/79) Itálie

(40) Zveřejněno 30 04 81

(45) Vydáno 15 06 84

(72)

Autor vynálezu SCALESCIANI JUAN BORIS ALDO, BUENOS AIRES (Argentina)

(73)

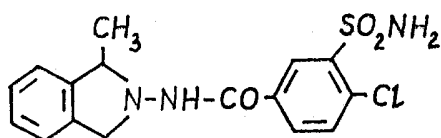
Majitel patentu FARMATIS S.p.A., MILÁN (Itálie)

(54) Způsob výroby 1-methyl-2-(3'-sulfamoyl-4'-chlorbenzamido)isoindolinu

1

2

Vynález se týká nové sloučeniny, kterou je 1-methyl-2-(3'-sulfenyl-4'-chlorbenzamido)isoindolinu obecného vzorce



Tato sloučenina má diuretické, salutarické a hypotenzivní působení a připravuje se:

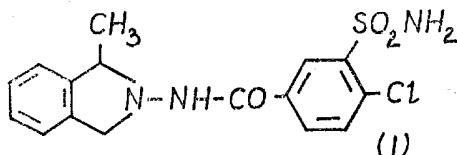
a) reakcí alfa-methyl-alfa,alfa'-dibrom-o-xyleny s terc.butylkarbazátem,

b) rozkladem takto získaného 1-methyl-N-(terc.butylloxykarbonylamino)isoindolinu na odpovídající aminosloučeninu a

c) reakcí 1-methyl-2-aminoisoindolinhydrochloridu s halogenidem 4-chlorsulfamido-benzoové kyseliny.

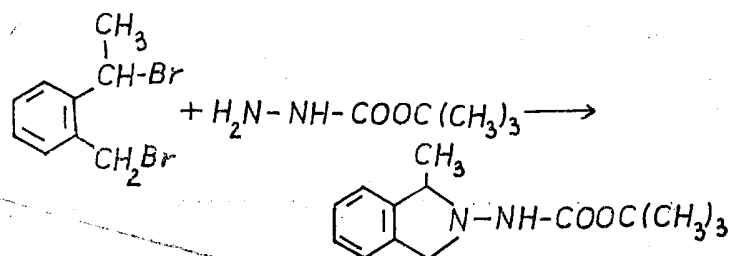
Vynález se týká způsobu přípravy nového derivátu isoindolinu, který má terapeutické použití pro své diuretické, saluretické a hypotenzivní působení.

Nová sloučenina, připravovaná způsobem podle vynálezu, je 1-methyl-2-(3'-sulfamoyl-4'-chlorbenzamido)isoindolin vzorce I

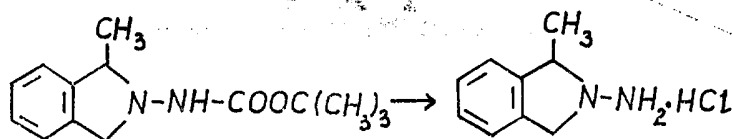


Sloučenina vzorce I se připraví způsobem podle vynálezu zahrnujícím tyto stupně:

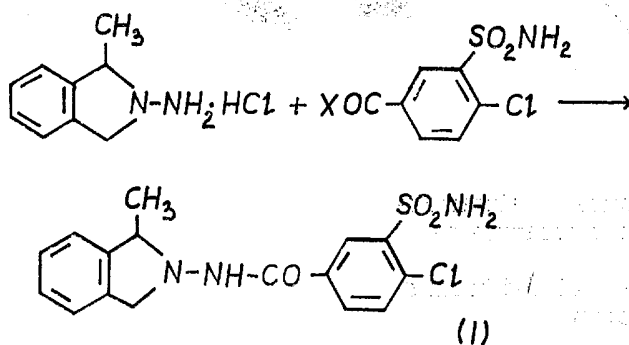
1. reakci alfa-methyl-alfa,alfa'-dibrom-o-xylenu s terc.butylkarbazátem



2. rozklad 1-methyl-N-(terc.butyloxykarbonylamino)isoindolinu na odpovídající aminosloučeninu



3. reakci 1-methyl-2-aminoisoindolinhydrochloridu s halogenidem 4-chlorsulfamidobenzoové kyseliny



Stupeň 1 způsobu podle vynálezu se s výhodou provádí za použití obou výchozích reagentů ve stechiometrickém podílu ve vysoce polárním organickém rozpouštědle mísitelném s vodou, jako je tetrahydrofuran nebo dimethylformamid. Reakce se s výhodou provádí v přítomnosti organické zásady, která váže vytvářející se bromovodík, přičemž se zásada přidává do roztoku postupně alespoň ve stechiometrickém množství se zřetelem na výchozí látku.

Rozkladný stupeň 2 se provádí suspendováním isoindolinového derivátu v koncentrované chlorovodíkové kyselině a udržování směsi za míchání při teplotě okolí tak dlouho, až se vše dokonale rozpustí. Roztok se potom ve vakuu odpaří k suchu.

Ve stupni 3 se získaný 1-methyl-2-aminoisoindolinhydrochlorid rozpustí v polárním organickém rozpouštědle, jako je tetrahydrofuran, a halogenid 4-chlor-3-sulfamidobenzoové kyseliny se přidá ve stechiometricky

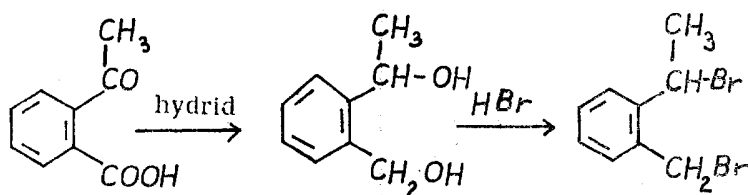
ekvivalentním množstvím v přítomnosti organické zásady, schopné uvolňovat isoindolin z hydrochloridu a k postupnému vázání halogenovodíkové kyseliny, která se při reakci vytváří. Organická zásada musí být alespoň ve stechiometrickém množství, s výhodou je však ve velkém nadbytku.

Reakce se provádí při teplotě okolí. Směs soli halogenovodíkové kyseliny a organické zásady a 1-methyl-2-(3'-sulfamoyl-4'-chlorbenzamido)isoindolinu se vysráží a 1-methyl-2-(3'-sulfamoyl-4'-chlorbenzamido)isoindolin se izoluje zpracováním vodou, která rozpustí halogenovodíkovou sůl, která se tak oddělí

od organické zásady. Další malé množství konečného produktu se může izolovat odpařením tetrahydrofuranového roztoku a smíšením zbytku s ethylalkoholem.

Celkový výtěžek konečného produktu je asi 40 % se zřetelem na alfa-methyl-alfa,alfa'-dibrom-o-xylene, zavedený do reakce.

alfa-Methyl-alfa,alfa'-dibrom-o-xylene, použitý jakožto výchozí látka, se s výhodou připravuje z 2-karboxy-acetofenonu redukcí hydridem a poté zpracováním dihydroxylované sloučeniny bromovodíkem podle následujícího reakčního schématu:

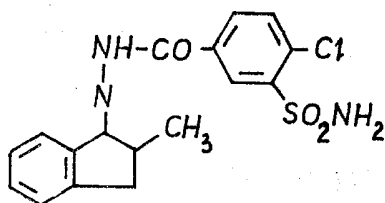


Proces podrobně popsal G. Pifferi a kol. Il Farmaco — Ed. Sci. 27,30 (1972).

Pro lepší názornost je způsob přípravy popsán v připojeném příkladu, který však vynález nijak neomezuje.

Jak bylo shora uvedeno, má 1-methyl-2-(3'-sulfamoyl-4'-chlorbenzamido)isoindolin vzorce I neočekávaně vysoké diuretické, saluretické a hypotenzivní působení, přičemž je prakticky zcela netoxický, čímž je předručen pro velmi zajímavé použití v humánní terapii.

Nejlepší diuretickou hypotenzivní známou látkou, která je také ze strukturálního hlediska velmi blízká nové látce podle vynálezu je Indapamid nebo N-{3-sulfamoyl-4-chlorbenzamido}-2-methylindolin vzorce



Proto se všechny zkoušky aktivity a toxicity nové sloučeniny provádějí ve srovnání s Indapamidem. Ze všech zkoušek jasně vyplývá její použitelnost, přičemž se dále uvádějí jen významné hodnoty.

Pro jednoduchost se sloučenina vzorce I, připravená způsobem podle vynálezu, označuje nadále jakožto CM/1.

Zkoušení akutní toxicity

Akutní toxicita se stanovuje orálně u krys Wistar a u myši švýcarské obou pohlaví.

Živočichové se udržují ve stavu půstu po dobu posledních 12 hodin před zkouškami, mají však volný přístup k vodě. Sloučenina

vzorce I se suspenduje homogenně ve slizy arabské gumy a podává se v řadě dávek v objemu 40 ml/kg gastrooesophageální (žaludečnohltnovou) sondou.

Každá dávka se zkouší na živočiších, z nichž 5 jsou samečci a 5 samičky. Hmotnost krys kolísá od 300 do 350 g u samečků a od 220 do 250 g u samiček. Hmotnost myši obou pohlaví se mění od 28 do 35 g. Pozorování trvá 10 dní.

Jak u krys, tak u myši se nepozorovalo žádné uhynutí ani nějaká zvláštní toxická symptomatologie při jednotlivých dávkách až do 2500 mg/kg. Hodnota DL_{50} je tedy větší než tato dávka.

Chronická toxicita

Tyto zkoušky se provádějí na samečcích krys Wistar o hmotnosti 188 až 228 g. Živočichové se náhodně rozdělili na skupiny po deseti a ošetřovali se tímto způsobem:

Skupina A

kontrolní — 10 % arabské gumy, 10 ml/kg/den, orální podání gastrooesophageální sondou po 28 po sobě jdoucích dnů

Skupina B

CM/1 20 mg/10 ml 10 % arabské gumy orálně podáno na kg/den gastrooesophageální sondou po 28 po sobě jdoucích dnů

Skupina C

CM/1 40 mg/10 ml 10% arabské gumy orálně podáno na kg/den gastrooesophageální sondou po 28 po sobě jdoucích dnů.

U všech zkoušených skupin měřena denně tělesná hmotnost ve chvíli podání a zaznamenávána v pravidelných intervalech. Zazna-

menávány obecné podmínky a spotřeba potravy a vody a zaznamenána jakákoliv mortalita a symptomatologie.

Mezi 25. a 27. dnem ošetření byly všechny zkoušené skupiny drženy ve vhodných metabolických klecích (jednotlivě) ke shromažďování spontánně vylučované moče a tak ke stanovení jejího složení reaktivními Bili-Labstix pásky společnosti Ames.

Mezi 27. a 29. dnem ošetření všichni živočišové, kteří byli podrobeni 12 hodinovému půstu, avšak s volným přístupem k vodě, byli dekapitováni (za použití malého dekapitátoru pro živočichy společnosti Amer. Instr. Corp.).

V krvi, získané z trupu, byly provedeny tyto zkoušky:

- azotemia (Dell'Aira, v King E. — *Micro-analisi nella Biochimica medica*. Il Pensiero Sci. Ed., ROMA 1961);
- glycemie (Price D. J. — *Analyst* 92; 198, 1967);
- totální bilirubinemia (Jendrassik L. a Grof P. — *Biochem. Z.* 297; 81, 1938);
- totální cholesterolemie (Huan T. C., Chen C. P., Wefler V. a Battey A. — *Anal. Chem.* 33; 1405, 1961);
- totální lipidemia (Zollner N. a Kirsch K. — *Z. ges. Exp. Med.* 135; 545, 1962);
- SGOT a SGPT transaminase (Reitman S. a Frankel E. — *Amer. J. Clin. Path.* 28; 56, 1957);
- totální protidemia biuretovou kolorimetrickou metodou za použití lyofilizovaného Hylandova sera jako standardu;
- sodaemie a potassaemie za použití fotometrického způsobu.

Provedeno také makroskopické vyšetření hlavních orgánů k zjištění jakýchkoliv změn nebo vředových hmot, které by indikovaly neoplazii.

Zvláštní pozornost věnována vyšetření žaludku a střev krys ošetřených nejvyšší dávkou ke zjištění stupně místní snášenlivosti při opakovaném podávání CM/1 po dobu 28 dní gastroenterickou sliznicí. Za tímto účelem se žaludek a střeva zkoušely makroskopicky a mikroskopicky, přičemž se žaludek rozřízl podél většího zakřivení a střevo podél delší osy, promyly se vlažným fyziologickým roztokem, rozložily se a pečlivě se pozorovaly zvětšovacími čočkami ke zjištění hyperemiálních zón se vředy nebo s jinými znaky změn sliznice.

Ve zkoušených orgánech nebyly nalezeny žádné změny ani nebyly zjištěny změny gastroenterické sliznice.

Výsledky všech analýz a pozorování lze

shrnout takto: nebylo záznamováno žádné úmrtí v průběhu 28 denního ošetřování. Nebyla zaznamenána žádná zvláštní symptomatologie. Chování bylo normální i při jímní potravě, zatímco spotřeba vody byla mírně větší než u kontrolních živočichů.

Hodnoty vztahující se k tělesné hmotnosti krys ošetřovaných CM/1 jsou prakticky podobné jako hodnoty kontrolních živočichů. Zkoušené hematické biochemické konstanty byly vždy v rámci normálních hodnot pro krysy zkoušeného kmene, jak u kontrolních, tak u zkoušených živočichů s výjimkou sodaemie a potassaemie, která vykazovala mírné snížení. Hemogramy byly všechny normální bez významnějšího rozdílu mezi kontrolními a zkoušenými živočichy.

Složení moče bylo prakticky podobné u kontrolních i u ošetřovaných živočichů, to znamená, že moč byla prosta patologických složek, jako je glukóza, ketonové látky, bilirubin a přítomnost u většiny kontrolních i ošetřovaných krys stop proteinů a krve je běžná v krysí moči.

Závěrem na základě výzkumů subakutní toxicity prováděné s produktem CM/1 na krysích samečcích je možno konstatovat, že dávky 20 mg/kg a 40 mg/kg podávané po 28 následujících dní nevedly k žádným škodlivým vedlejším vlivům s výjimkou mírného snížení potassaemie a sodaemie, kteréžto změny spadají do normálních hlavních změn krys tohoto kmene a je proto možno konstatovat, že sloučenina CM/1, připravená způsobem podle vynálezu, má velmi nízkou toxicitu, kterou je možno prakticky zcela ignorovat.

Diuretická a saluretická aktivita

Tyto zkoušky se provádějí u krys Wistar obojího pohlaví, jejichž hmotnost je v každém případě uvedena v tabulce, pro srovnání s výsledky za použití Indapamidu. Jak CM/1, tak Indapamid se podávají orálně po vhodném rozpuštění v následujícím rozpouštědle:

polyethylenglykol 400	30 ml
96° alkohol	10 ml
0,2% vodný roztok metahydrogensulfitu sodného	30 ml
kyselina citrónová	0,075 g
fosforečnan sodný s 12 molekulami vody	0,45 g
destilovaná voda k doplnění na	100 ml

Kontrolní skupina ošetřena stejným objemem rozpouštědla. Zkoušky se prováděly na živočíchích, kteří se zpravidla nechali hladovět alespoň 12 hodin, měli však volný přístup k vodě. Sodík a draslík se stanovil fotometrickým způsobem.

Nejdříve stanoven vliv na vylučování sodné soli.

18 samic krys Wistar se použije po rozdělení na tři skupiny, jedna s osmi a dvě

s pěti samičkami a tyto skupiny se ošetřují následujícím způsobem:

Skupina A: kontrolní

1 ml rozpouštědla doplněn na 50 ml 0,9% roztokem chloridu sodného, podán gastrickou sondou na kg tělesné hmotnosti (= 50 ml/kg vyjádřeno objemově);

Skupina B: Indapamidová

5 mg/kg v 1 ml/kg rozpouštědla doplněno na 50 ml/kg roztokem chloridu sodného, podáno gastrickou sondou;

Skupina C: CM/1

5 mg/kg za použití stejného způsobu jako v případě indapamidu.

Krasy se bezprostředně umístí do jednotlivých metabolických klecí pro shromažďování moče po tři hodiny po podání. Množství vyloučené moče se vyjadřuje jako procento podané dávky. Vyloučený sodík a draslík se vyjadřují v mekv/3h. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1. Standardní chyba se vypočítává ze středních hodnot a v případech, kde to bylo přiměřené, byl výpočet stanoven za použití Studentova výpočtu.

Tabulka I

Krysa číslo	Tělesná hmotnost g	Gastrickou sondou podáno ml	Vylučování moči za uvedené hodiny v pro- centech podaného množství kumulativní vylučování			Vylučování sodíku mekv/3h	Vylučování draslíku mekv/3h
			1 hodina	2 hodiny	3 hodiny		
Skupina A							
1	240	12,0	0	25	58,3	0,98	0,25
2	250	12,5	16	40	76	1,06	0,17
3	250	12,0	8	32	60	0,67	0,22
4	240	12,0	16,7	50	66,6	0,75	0,30
5	260	13,0	0	0	46,2	0,51	0,32
6	270	13,5	8	29,4	59,3	0,88	0,24
7	270	13,5	0	14,8	44,4	0,66	0,20
8	270	13,5	14,8	14,8	51,9	0,99	0,27
n=8	256		7,94±1,83	25,75±4,39	57,76±3,69	0,8125±0,068	0,24625±0,0177
Skupina B							
1	240	12,0	16,7	50,0	83,3	1,50	0,36
2	320	16,0	12,5	37,5	81,2	1,45	0,38
3	230	11,5	8,7	26,1	65,2	1,33	0,28
4	260	13,0	6,7	30,8	69,2	1,61	0,31
5	230	11,5	8,7	52,2	100,0	1,55	0,33
n=5	256		10,66±1,77	39,32±5,15	79,78±6,11	1,488±0,047	0,332±0,0177
Skupina C							
1	240	12,0	16,7	68,3	108,8	1,81	0,297
2	270	13,5	14,8	32,2	94,5	1,77	0,310
3	260	13,0	11,5	48,5	109,2	1,56	0,276
4	220	11,0	9,1	64,5	94,8	1,68	0,280
5	310	15,5	12,9	48,7	90,4	1,73	0,284
n=5	260		13,0±1,31	52,44±6,46	99,54±3,93	1,71±0,043	0,2894±0,062

Hodnoty P menší než 0,05 jsou považovány za významné. Z tabulky I je zřejmé, že jak Indapamid, tak produkt CM/1, vyrobený způsobem podle vynálezu, mají význačné diuretické a saluretické působení se zřetelem na kontrolní krysy, že však vliv CM/1 je značně větší.

Ve skutečnosti, zatímco v případě kontrolních krys se vyloučí 50 % dodané kapalinu za tři hodiny, v případě Indapamidu se vyloučí průměrně 80 % a v případě CM/1 toto množství stoupne na 99,5 %.

Rozdíl mezi Indapamidem a CM/1 je statisticky významný. Vyloučení sodíku a draslíku je také podstatně větší než u kontrolních krys, avšak saluretické působení CM/1, které je obecně vyšší než Indapamidu, směřuje spíše k sodíku, takže poměr sodíku k draslíku, vyloučeným v průběhu tří hodin je 3,3 u kontrolních krys, 4,48 v případě krys ošetřených Indapamidem a 5,91 v případě krys ošetřených CM/1. Tato skutečnost má velký význam. Ve skutečnosti je známo, že použití diuretik v terapii buď pro jejich diuretické působení, nebo pro jejich anti-hypertenzivní působení, které je těsně spojeno s diuretickým působením, zvyšuje ztráty draslíku jakožto jeden nežádoucí vedlejší vliv.

Obsah draslíku v séru je špatným znakem modifikací celkově vyměnitelného draslíku zpravidla však odráží ztrátu celkového organického draslíku, jestliže pacient ztratil takové množství draslíku, jak ukazují klinické projevy (anorexia, nausea, tiredness, dizziness). Jestliže se ošetřování arteriální hypertenze provádí po velmi dlouhou dobu, může docházet k tomuto vedlejšímu účinku (snížení celkového obsahu draslíku v organizmu). Možnost použití sloučeniny pro

ošetřování arteriální hypertenze, jako podle vynálezu, která má vysokou sodiuretickou účinnost (základní působení jak z hlediska diuretického působení, tak z hlediska anti-hypertenzivního působení), spojené s menším kaliuretickým působením, než má Indapamid, je bezesporu důležitou skutečností v oboru farmakoterapie hypertenze a obecně zadržování vodných roztoků soli.

Tato zvláštní charakteristika nového produktu, připraveného způsobem podle vynálezu, byla také potvrzena měřením vlivu excrece při podání destilované vody.

Tyto zkoušky se prováděly se stejnou skupinou pěti krys za účelem lepšího charakterizování aktivity zkoušených sloučenin, aby se předešlo individuálním výchyldkám v maximální míře. Postupuje se tímto způsobem:

Skupina 5 vybraných krys (samčí krysy mají hmotnost uvedenou v tabulce) se ošetří shora uvedeným způsobem orálně 1 ml rozpouštědla + 49 ml destilované vody na kg tělesné hmotnosti. Krysy se potom bezprostředně umístí do jednotlivých metabolických klecí. Moč se shromažďuje 4 hodiny. Množství vyloučené moče se vyjadřuje obvyklým způsobem jako procento podaného objemu. Provádí se také analýza na sodík a draslík a zjištěné hodnoty jsou uváděny v mekv/4h.

Po dvou dnech se shora uvedeným způsobem tytéž krysy ošetří Indapamidem a po dalších dvou dnech CM/1. V období mezi jednotlivými zkouškami se krysy chovají a živí normálním způsobem. Použité dávky obou sloučenin jsou stejné jak shora uvedeno, to znamená 5 mg/kg. Výsledky jsou uvedeny v tabulce II.

Tabulka II

Krysa číslo	Tělesná hmotnost g	Orálně podáno ml	Kumulativní procentové vyloučení podané kapaliny za				Vylučování sodíku mekv/4h	Vylučování draslíku mekv/4h
			1 hodinu	2 hodiny	3 hodiny	4 hodiny		
A) Žádné ošetření — podána jen voda								
1	310	15,5	58,1	109,7	109,7	109,7	0,00473	0,00350
2	280	14,0	50,0	75,0	75,0	75,0	0,00202	0,00239
3	280	14,0	0,0	21,4	42,8	71,4	0,00101	0,00135
4	290	14,5	24,1	73,4	85,8	85,8	0,00156	0,00179
5	310	15,5	19,4	64,6	64,6	74,3	0,00113	0,00263
			30,32	68,82	75,58	83,24 ± 7,05	0,00209 ±	0,002332 ±
							± 0,00068	± 0,000368
B) Indapamid 5 mg/kg orálně + voda								
1			25,8	83,9	116,1	138,7	0,01808	0,00998
2			35,7	92,8	107,2	107,2	0,00771	0,00543
3			0,0	42,9	85,8	114,4	0,01403	0,00814
4			27,6	82,8	110,4	110,4	0,01077	0,00692
5			51,6	101,7	121,4	140,5	0,02694	0,01579
			28,14	80,82	108,12	122,24 ± 4,47	0,01551 ±	0,009252
							± 0,00333	± 0,001796
C) CM/1 5 mg/kg orálně + voda								
1			58,1	109,7	116,2	116,2	0,01374	0,00542
2			50,0	78,6	107,2	121,4	0,01362	0,00512
3			7,1	57,1	85,7	114,3	0,01250	0,00603
4			55,2	110,4	134,5	134,5	0,01671	0,00856
5			51,6	125,8	145,2	167,8	0,04889	0,01399
			44,4	96,32	117,76	130,84 ± 9,89	0,02109 ±	0,007824 ±
							± 0,00698	± 0,001656

Z tabulky je jasné zřejmé, že jak Indapamid, tak produkt CM/1, vyrobený způsobem podle vynálezu, mají výrazné diuretické a saluretické působení. Produkt CM/1 se jeví aktivnější než Indapamid, avšak hlavní význam má skutečnost, že poměr sodíku ke draslíku vylučovanému je jasné příznivější pro produkt CM/1, přičemž tento poměr má střední hodnotu 0,0896 pro kontrolní krysy, 1,6764 pro krysy po ošetření Indapamidem a 2,6955 pro krysy po ošetření CM/1.

Ještě se určuje vliv nového produktu na spontánní diurezi.

Při zkouškách se používá 15 samic krys Wistar o tělesné hmotnosti 230 až 260 g a rozdělených náhodně na tři skupiny po pěti. Krysy se udržují jednotlivě v metabolických klecích přes noc po dobu 12 hodin ke shromáždění spontánně vyloučené moči. Jedna skupina se ošetřuje, jak je běžné 1 ml/kg rozpouštědla gastrickou sondou a druhé dvě se ošetřují 5 mg/kg Indapamidu a 5 mg/kg CM/1. Ve shromážděné moči se běžným způsobem určuje sodík a draslík. Výsledky jsou uvedeny v tabulce III.

Tabulka III

Krysa číslo	Moč shromážděná za 12 hodin ml	Vylučování sodíku mekv/12h	Vylučování draslíku mekv/12h	Poměr vyloučený sodík/draslík
Skupina A kontrolní				
1	9,0	1,278	2,601	0,491
2	6,0	1,782	1,776	1,003
3	4,0	0,892	1,808	0,493
4	8,0	1,552	2,728	0,569
5	16,0	1,424	2,384	0,597
n=5	8,6±2,03	1,3856±0,148	2,2594±0,198	0,6306±0,0954
Skupina B Indapamid				
1	11,5	5,335	4,560	1,170
2	13,7	4,756	3,356	1,417
3	18,6	6,780	3,760	1,803
4	14,5	7,775	5,776	1,346
5	15,5	6,767	4,352	1,555
n=5	14,76±1,16 (+71,6 %)	6,2826±0,544	4,3608±0,413	1,4582±0,106
Skupina C CM/1				
1	10,5	6,123	3,708	1,651
2	17,5	6,880	3,042	2,262
3	21,0	8,906	3,911	2,277
4	16,6	7,675	3,508	2,188
5	15,0	5,989	3,430	1,746
n=5	16,12±1,71 (+87,4 %)	7,114±0,539	3,5198±0,145	2,0248±0,134

Z tabulky vyplývá, že jak Indapamid, tak produkt CM/1, vyrobený způsobem podle vynálezu, mají výrazné diuretické působení které je výraznější v případě produktu CM/1 diureza vzrůstá o asi 72 % v případě Indapamidu a o asi 87 % v případě produktu CM/1 se zřetelem na kontrolní krysy. Vylučování sodíku a draslíku se také zvýší oběma produkty, avšak také poměr vylučovaného sodíku ke draslíku je vyšší ve skupině ošetřené produktem CM/1 a rozdíl dosahuje statistického významu.

Hypotenzivní aktivita

Vliv subakutního orálního ošetřování produktem CM/1 na arteriální tlak krysy se spontánní hypertenzí (SHR) se sleduje na 10 geneticky hypertenzivních (SHR) krysích

samečcích získaných z Charles River.

Tyto krysy se nahodile rozdělí na dvě skupiny po pěti krysách a ošetřují se tímto způsobem:

Skupina A: kontrolní

10 % arabská guma, 5 ml/kg/den orálně podané použitím gastrooesophageální sondy

Skupina B: CM/1

2,5 mg/5 ml arabské gumy/kg/den orálně podané použitím gastrooesophageální sondy.

Ošetření se provádí 28 po sobě jdoucích dnů. Arteriální tlak se zaznamenává v pravidelných intervalech bezkrvavým způsobem za použití zařízení „BP Recorder 8005” spo-

lečnosti „W + W Electronic“. Měření se provádí tímto způsobem:

Ocas živočichů se pečlivě zbaví chlupů a potom se vloží do pouzdra vhodného průměru sojeného trubici s čerpadlem a tlakovým čidlem. Ocas se poté vloží do prstencového převáděcího zařízení spojeného s počítačem pulzů.

Při zapnutí zařízení vzrůstá tlak v pouzdře tak dlouho, až se tok krve zastaví. Nyní se tlaky odečtou na tlakovém čidle.

Před započítáním zkoušky se krysy podrobí po dobu jednoho týdne shora uvedenému postupu, aby si na toto ošetření zvykly.

Výsledky měření tlaku uvedených deseti krys jsou podrobně uvedeny v tabulce IV.

Tabulka IV

Krysa číslo	Bazický systolický arteriální tlak kPa	Systolický arteriální tlak (kPa) měřený bezkrvavým způsobem následující dny po ošetření			
		7 dní	14 dní	21 dní	28 dní
Skupina A					
1	29,3	31,3	14,0	28,6	26,6
2	32,6	33,9	31,3	31,3	31,3
3	35,9	37,2	35,9	34,6	34,6
4	29,9	31,9	32,6	31,9	31,3
5	31,9	31,3	31,9	31,9	32,6
n=5	32,6 $\pm$ 1,2	31,1 $\pm$ 1,2	31,8 $\pm$ 1,4	31,7 $\pm$ 1,0	31,3 $\pm$ 1,3
Skupina B					
1	31,3	27,9	25,9	25,9	24,5
2	28,6	27,3	28,6	27,9	27,9
3	34,6	32,6	31,3	29,3	27,3
4	35,2	27,9	26,6	24,0	24,5
5	33,3	29,9	29,3	27,9	27,3
n=5	32,6 $\pm$ 1,2	29,1 $\pm$ 1,0	28,3 $\pm$ 1,0	27,0 $\pm$ 0,9	26,3 $\pm$ 0,7

Jak je z tabulky jasně zřejmé, snižuje ošetření CM/1 významně systolický arteriální tlak maximálně o 20 % (zaznamenáno 28. den).

Na základě výsledků shora popsaných zkoušek se tedy může konstatovat:

1. produkt CM/1, připravený způsobem podle vynálezu, je novou sloučeninou prakticky prostou akutní toxicity (DL₅₀ je vyšší než 2,5 g/kg tělesné hmotnosti u krysy a myši při orálním podání) a subakutní toxicity (denní dávky až do 40 mg/kg při orálním podání byly dobře snášeny po dobu 4 týdnů, přičemž tyto dávky jsou 560 násobkem maximální denní dávky v humánní terapii);

2. produkt CM/1 vykazuje antihypertenzivní aktivitu u krys se spontánní hypertenzí (SNR);

3. produkt CM/1 má diuretickou a saluretickou aktivitu vyšší než Indapamid, zvláště však produkt CM/1 vykazuje ve srovnání s Indapamidem schopnost výrazného natriuretického působení a méně intenzivního kaliuretického působení, takže jeho použití v humánní terapii je prosté nežádoucího vedlejšího působení způsobujícího nadměrné ztráty draslíku, které jsou zpravidla spojeny s použitím jiných antihypertenzivních diuretik.

Tyto vlastnosti určují 1-methyl-2-(3'-sulfamoyl-4'-chlorbenzamido)isoindolinu vzorce 1, připravený způsobem podle vynálezu, za produkt, který je dokonale původní ve srovnání s podobnými produkty, používanými již v terapii. Nový produkt se může podávat orálně v dávce 2,5 až 5 mg/den v závislosti na použití pro antihypertenzivní nebo diuretické působení. Produkt vzorce I se může podávat ve formě pilulek nebo tablet.

Příklad 1

5,6 ml triethylaminu se přidá do roztoku 5 g (0,018 mol) alfa-methyl-alfa,alfa'-dibrom-o-xyleny a 2,38 g (0,018 mol) terc.butylkarbanátu v 15 ml dimethylformamidu zahřátého na teplotu 50 až 60 °C. Po ukončení přidání se směs míchá po dobu tří hodin při teplotě okolí, objem roztoku se potom upraví na asi 60 ml zředěním vodou a roztok se míchá po dobu další hodiny za míchání. Pevný produkt, který se vytvoří, se odfiltruje, promyje se vodou a suší se, čímž se získá 3,14 g (70 %) 1-methyl-N-(terc.butylkarbonylamino)isoindolinu o teplotě tání 143 až 145 °C. Produkt je dostatečně čistý pro další operaci.

Suspenze 2,6 g (0,0104 mol) isoindolinového derivátu v 7 ml koncentrované chlorovodíkové kyseliny se smíchá při teplotě okolí po dobu jedné hodiny. Konečný produkt se odpaří k suchu ve vakuu za zahřívání na

teplotu 60 až 70 °C, čímž se získá pevný zbytek (1,97 g), který vykřystaluje ze směsi ethylalkoholu a ethylenoxidu (1 : 1), čímž se získá 1,5 g (77,6 %) 1-methyl-2-aminoisoindolinhydrochloridu o teplotě tání 140 až 145 °C. 3,44 g (0,0135 mol) chloridu 4-chlor-3-sulfamidobenzoové kyseliny se přidá do roztoku 2,5 g (0,0135 molu) 1-methyl-2-aminoisoindolinhydrochloridu a 3,5 g (0,0314 molu) triethylaminu v 30 ml tetrahydrofuranu. Směs se míchá při teplotě okolí po dobu 15 hodin. Pevná látka, která se ve značném množství oddělí, se odfiltruje a suspenduje se ve vodě k odstranění obsaženého triethylaminu.

Zbytek se oddělí filtrací a suší se v sušárně, čímž se získá 3,0 g 1-methyl-2-(3'-sulfamoyl-4'-chlorbenzamid)isoindolinu o teplotě tání 208 až 210 °C. Další množství (0,4 g) produktu se může izolovat odpařením tetrahydrofuranového reakčního roztoku, smícháním olejovitého zbytku s ethylalkoholem a necháním krystalovat v chladničce.

Celkový výtěžek je 3,4 g, tj. 68,6 % teorie. Analytický vzorek vykřystaluje z 10 obje-

mového násobku ethylalkoholu a má teplotu tání 210 až 212 °C.

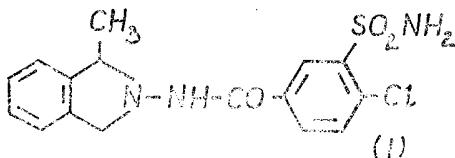
Infračervené spektrum se zaznamenává Perkin-Elmerovým Mod. 297 spektrofotometrem emulgováním vzorku v nujolu. Hlavní absorpční pásy a příslušné významy jsou tyto: cm^{-1} 3350 (SO_2NH_2), 3280 (NHCO), 1660 (NHCO), 1600 a 1560 (fenyly), 1340, a 1180 (SO_2NH_2).

Nukleární magnetické rezonanční spektrum se zaznamenává spektrometrem Hitachi-Perkin Elmer R24 v roztoku deuteroacetonu s TMS jakožto inertním referenčním prostředím. Vrcholy (píky) (s = singlet, d = dublet, m = multiplet) a příslušné významy jsou tyto:

1,43 (d, $J = 6$ Hz, CH_3), 2,95 (s, který zmizí po přidání D_2O , SO_2NH_2), 4,45 a 4,48 (m, CH v 1 a CH_2 ve 3), 6,85 (rozšířený singlet, (zdánlivý singlet, 4 H aromatické isoindoliny, který zmizí po přísadě D_2O , NHCO), 7,20 nového systému), 7,60 až 8,60 (multiplet, 3 H aromatické sulfonamidového systému).

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby 1-methyl-2-(3'-sulfamoyl-4'-chlorbenzamid)isoindolinu vzorce I



vyznačený tím, že se alfa-methyl-alfa,alfa'-dibrom-o-xylene nechává reagovat s terc.butylkarbazátem, vzniklý 1-methyl-N-(terc.butyloxykarbonylamino)isoindolin se rozloží na odpovídající aminoderivát, 1-methyl-2-aminoisoindolinhydrochlorid se nechává reagovat s 4-chlor-3-sulfamidobenzoovou kyselinou a potom se oddělí 1-methyl-2-(3'-sulfamoyl-4'-

-chlorbenzamid)isoindolin, který je v reakčním prostředí nerozpustný.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se reakce alfa-methyl-alfa,alfa'-dibrom-o-xylenu s terc.butylkarbazátem provádí za použití reakčních složek ve stechiometrickém množství v polárním organickém rozpouštědle v přítomnosti organické zásady.

3. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se 1-methyl-N-(terc.butyloxykarbonylamino)isoindolin rozkládá suspendováním v koncentrované chlorovodíkové kyselině a udržováním suspenze při teplotě okolí za míchání tak dlouho, až dojde k dokonalému rozpuštění.

4. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se reakce 1-methyl-2-aminoisoindolinhydrochloridu s halogenidem 4-chlor-3-sulfamidobenzoové kyseliny provádí ve stechiometrickém množství složek v polárním rozpouštědle v přítomnosti organické zásady.