

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **236592**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **421423**

(22) Data zgłoszenia: **26.04.2017**

(51) Int.Cl.

C07D 451/04 (2006.01)

C07D 451/02 (2006.01)

A61K 31/46 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

(54)

Nowa pochodna N-demetyloizopropylotropanu

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

05.11.2018 BUP 23/18

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

25.01.2021 WUP 02/21

(73) Uprawniony z patentu:

**WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY,
Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**JACEK STEFANOWICZ, Warszawa, PL
ZDZIŚŁAWA STEFANOWICZ, Warszawa, PL
BOŻENNA GUTKOWSKA, Warszawa, PL
JADWIGA TURŁO, Warszawa, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Grażyna Padée

PL 236592 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest pochodna tropanu, a dokładniej nortropanu.

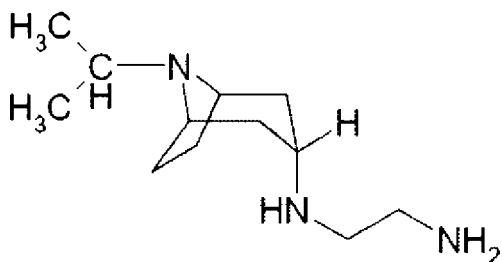
Tropan nie występuje w przyrodzie, natomiast jest kluczowym elementem alkaloidów tropanowych, które są wtórnymi metabolitami roślin, głównie z rodziny Solanaceae, Erythroxylaceae, Convolvulaceae i Euphorbiaceae. Spośród alkaloidów tropanowych o znanym działaniu farmakologicznym należy wymienić przede wszystkim atropinę, kokainę, skopolaminę, hioscyjaminę, homatropinę oraz ich pochodne.

Do nowych pochodnych atropiny mających zastosowanie w leczeniu należą lpratropium i Tiotropium, które w postaci czwartorzędowych soli amoniowych stosowane są w chorobach dróg oddechowych, wykazując słabsze działania niepożądane od innych leków o wymienionej aktywności farmakologicznej, co stanowi poważną ich zaletę.

Należy zaznaczyć, że nadal występują nowe trendy w poszukiwaniu leków pochodnych tropanu o korzystniejszych i nowych właściwościach, innych niż związki stosowane dotychczas, jak również w badaniach mechanizmu ich działania farmakologicznego. Pojawia się coraz więcej doniesień, że pochodne tropanu mogą działać nie tylko na receptory układu przywspółczulnego. Tak np. Tropisetron, selektywny antagonist receptoru serotonergicznego 5HT₃, znalazł zastosowanie jako środek hamujący wymioty pooperacyjne czy wywołane chemioterapią, a ponadto wykazał działanie przeciwzapalne. Podobnie Maraviroc, nie działając w układzie przywspółczulnym, antagonizuje receptor CCR5 i może poprawiać życie pacjentów z HIV. Z kolei Pervileny, alkaloidy wyizolowane z *Erythroxylum pervillei*, wykazują aktywność jako blokery kanałów wapniowych porównywalną z verapamillem, nie przejawiając działania na autonomiczny układ nerwowy. Lekiem o działaniu przeciwbólowym polegającym na rozkurczaniu w obrębie przewodu pokarmowego jest Buscopan (Hyoscini butylbromidum), Scopolan Compositum czy Bellergot. Znane są również pochodne tropanu o działaniu przeciwpsochicznym i przeciwnadciśnieniowym (np. blokery receptorów wazopresynowych).

Z przeglądu leków będących pochodnymi tropanu wynika, że posiadają one bardzo różnorodne zastosowanie w leczeniu wskutek różnych mechanizmów oddziaływania, różnej wiązalności z wieloma receptorami. Autorzy obecnego wynalazku stwierdzili, że nowe pochodne tropanu zawierające w swej budowie układ etano-1,2-diaminy wykazują korzystne właściwości farmakologiczne, a mianowicie obniżające ciśnienie krwi przy stosunkowo niskiej toksyczności, a ponadto przeciwbólowe i przeciwzapalne.

Istotę wynalazku stanowi N-[1-(8-izopropilo-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3 α -ylo)]-etano-1,2-diamina o wzorze 1, oraz jej farmaceutycznie dopuszczalne sole.



Wzór 1

Korzystnie działający związek według wynalazku ma postać zasady albo trichlorowodorku.

Pochodna tropanu według wynalazku wykazuje właściwości hipotensyjne, przeciwbólowe i przeciwzapalne, po podaniu dożylnym i dożołądkowym.

Stwierdzono, że związek jest stosunkowo nietoksyczny po podaniu dożołądkowym – orientacyjna toksyczność ostra występuje powyżej 3 g/kg, natomiast efekty w zachowaniu badanych zwierząt uzyskano już w dawce 30 mg/kg, a więc w dawce około 100 razy niższej, niż dawka toksyczności ostrej.

Związek według wynalazku wywiera wyraźne działanie hipotensyjne, zarówno po podaniu dożylnym, jak i dożołądkowym, a efekt jest proporcjonalny do podanej dawki. Dynamika działania po podaniu dożylnym charakteryzuje się dość ostrym spadkiem ciśnienia tętniczego krwi, po czym ciśnienie stopniowo wzrasta. Po upływie 120 minut od podania ciśnienie nie osiąga wartości wyjściowych. Działanie hipotensyjne było znacznie silniej wyrażone u zwierząt z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem (SHR) i utrzymywało się nawet po 24 godzinach od momentu podania preparatu.

Przeprowadzona analiza farmakologiczna wykazała, że pierwsza faza działania hipotensyjnego jest spowodowana blokadą zwojów układu wegetatywnego. Pozostała komponenta w mechanizmie działania hipotensyjnego może być związana bądź z układem adrenergicznym bądź z działaniem bezpośrednim na mięśnie gładkie naczyń krwionośnych.

Związek według wynalazku wykazuje aktywność przeciwobrzękową równą aktywności kwasu acetylosalicylowego użytego jako preparat standardowy.

Syntezę związku według wynalazku przeprowadzono zgodnie ze sposobem przedstawionym na schemacie. Niezbędny do syntezy 8-izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]-3-on otrzymano metodą Robinsona w reakcji aldehydu bursztynowego, kwasu acetonodikarboksylowego i izopropylaminy, utrzymując odpowiedni odczyn mieszaniny reakcyjnej (pH 4–5) za pomocą 30% roztworu NaOH i stężonego HCl. Utrzymywanie odpowiedniego pH miało wpływ na wydajność reakcji.

Przedmiot wynalazku został bliżej przedstawiony w przykładach.

Przykład 1

Trichlorowodorek N-[1-(8-izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3 α -yl)]-etano-1,2-diaminy

W aparacie do wysokociśnieniowego uwodornienia umieszczono ampułkę z 10,0 g 8-izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]oktan-3-onu (1a), 7,2 g N-(2-aminoetylo)-acetamidu oraz 0,1 g PtO₂ w 45 ml metanolu. Całość uwodorniano pod ciśnieniem 65 atm w ciągu 4 godzin, w temp. 50°C. Następnie odsączono katalizator, przesącz zagęszczono i otrzymany olej poddano destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem, zbierając frakcję wrzącą w temp. 145°C/0,022 Tor. Uzyskany w ten sposób N-[2-(izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3 α -ylamino)-etylo]-acetamid rozpuszczono w 100 ml rozcieńczonego kwasu solnego (stężony kwas solny : woda 1 : 1) i ogrzewano we wrzeniu przez 3 godziny. Następnie mieszaninę reakcyjną zagęszczono. Brunatną pozostałość rozpuszczono w 100 ml metanolu i ogrzewano we wrzeniu z 1 g węgla aktywnego przez 10 minut. Po odsączeniu węgla i ochłodzeniu z przesączu wykrystalizował biały osad trichlorowodoru N-[1-(8-izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3 α -yl)]-etano-1,2-diaminy, który ponownie przekrystalizowano z metanolu. Otrzymano 10,7 g (53%) produktu o temp. topn. 262–266°C.

Analiza elementarna dla wzoru C₁₂H₂₅N₃ × 3HCl × H₂O m.cz. 338,75

Obl.: C%=42,6, H%=8,9, N%=12,4

Otrz.: C%=42,5, H%=8,9, N%=12,5

Przykład 2

N-[1-(8-izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3 α -yl)]-etano-1,2-diamina

W etanolowym roztworze etanolanu sodu powstałym w wyniku reakcji 0,2 g metalicznego sodu z 20 ml bezwodnego etanolu zawieszono 1,0 g trichlorowodoru N-[1-(8-izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3 α -yl)]-etano-1,2-diaminy (3a) i mieszano mieszadłem magnetycznym przez 10 minut. Powstałą zawiesinę przesączono oddzielając wydzielony chlorek sodu. Przesącz zagęszczano na wyparce do uzyskania stałej masy. Otrzymano 0,59 g (95,2%) N-[1-(8-izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3 α -yl)]-etano-1,2-diaminy.

HRMS: C₁₂H₂₅N₃Na Obl. 234,1949 Otrz. 234,1946 (ppm 1.0).

¹H-NMR(ppm/TMS): 3,40; C1, C5 2H, 2,87 C3H t, ³J₁ = 6,5, J₂ = 0,0, 2,78 C9H₂

t ³J = 6,0, 2,68 C11H sp ³J = 6,0, 2,62 C10H₂ t, ³J = 6,0, 2,05 C6H(E), C7H(E) m, 1,97 C2H(E), C4H(E) pk, 1,87 C6H(A), C7H(A) m, 1,52 NH, NH₂ bs, 1,41; C2H(A), C4H(A)pd, 1,08 C12H₃, C13H_{3d} ³J = 6,0

¹³C-NMR: 54,43 C1, C4, 50,97 C9, 50,02 C11, 45,77 C3, 42,22 C10, 33,22 C2, C4, 27,32 C6, C7, 21,57 C12, C13

Uzyskany w powyższej syntezie trichlorowodorek N-[1-(8-izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3 α -yl)]-etano-1,2-diaminy, zawierający cząsteczkę wody o wzorze C₁₂H₂₃N₃ × 3HCl × H₂O, o masie cząsteczkowej 338,75, poddano badaniom farmakologicznym.

Przykład 3

a. Badanie wpływu na ciśnienie tętnicze krwi i czynność serca u narkotyzowanych szczurów normotensyjnych.

Pomiary prowadzono na szczurach, samicach, szczepu Ipf;RIZ, o ciężarze ciała około 300 g, usypianych uretanem etylowym w dawce 1,2 g/kg ip. Zwierzęta głodzono 24 godz. przed doświadczeniem. Ciśnienie tętnicze krwi mierzono metodą krwawą z tętnicy szyjnej, przy użyciu elektromanometru EMT-31 i przetwornika do pomiaru ciśnienia EMT-35. Elektrokardiogram rejestrowano z odprowadzeń kończynowych przy pomocy elektrod igłowych. Równoczesną rejestrację ciśnienia i ekg prowadzono w sposób ciągły na Mingografie 61.

Badany preparat podawano dożylnie (żyła udowa) w objętości 1 ml/kg, w dawkach: 3,9, 1,3 i 0,43 mg/kg, co stanowiło odpowiednio 1/10, 1/30 i 1/90 część ID_{50} ustalonego dla myszy przy tej samej drodze podania.

W zastosowanych trzech dawkach preparat powodował obniżenie ciśnienia tętniczego krwi wielkości proporcjonalnej do dawki. Spadki ciśnienia były najsilniej zaznaczone po 15 minutach od podania preparatu (około 50%). W okresie 15 minut do 1,5 godziny obserwowano systematyczny wzrost ciśnienia, które jednak do końca obserwacji (3 godziny) utrzymywało się na poziomie około 25% niższym od wartości wyjściowej (Tabela 1).

b. Badanie wpływu na ciśnienie tętnicze krwi i czynność serca u nienarkotyzowanych szczurów normotensyjnych (NR) i z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem (SHR).

Pomiary prowadzono na szczurach, samicach, o ciężarze ciała 220–250 g. Zwierzęta głodzono 24 godz. przed doświadczeniem. Preparat stosowano dożołądkowo, w 0,5% kleiku z gumy arabskiej, w dawce 200 mg/kg w objętości 2 ml/kg. Skurczowe ciśnienie krwi mierzono metodą bezkrwawą na ogonie szczura, przy pomocy przetwornika fotoelektrycznego. Szczury umieszczano w termostatowanej klatce zapewniającej stabilność temperatury wewnętrznej ciała. Mankiet szerokości około 2 cm umieszczano na ogonie bliżej nasady, a poniżej zakładano przetwornik fotoelektryczny. Zasada pomiaru opiera się na jednoczesnej rejestracji zmian ciśnienia w mankiecie zaciskającym i krzywej fali tętna odbieranej z tętnic ogonowych poniżej miejsca ucisku. Zmiany ciśnienia w mankiecie zaciskającym mierzono i rejestrowano za pomocą przetwornika ciśnienia EMT-34 i elektrometru EMT-35. Przebieg linii fali tętna rejestrowano przy pomocy przetwornika fotoelektrycznego własnej konstrukcji włączonego do uniwersalnego wzmacniacza typu EMT-12. Mierzone wielkości ciśnienia w mankiecie zaciskającym i przebieg fali tętna, z której dodatkowo odczytywano częstość skurczów serca rejestrowano na fizjopoligrafie Hingograf 81. Badanie z trzech kolejnych odczytów stanowiło aktualne ciśnienie skurczowe.

Preparat w dawce 2200 mg/kg obniżał ciśnienie tętnicze krwi w sposób istotny, zarówno u szczurów normotensyjnych, jak i z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem. Działanie hipotensyjne było silniej wyrażone u szczurów SHR i utrzymywało się nawet po 24 godzinach (około -25%) od momentu podania preparatu. W tym samym czasie u szczurów normotensyjnych obserwowano powrót do wartości wyjściowych (Tabela 2).

Spadkom ciśnienia u szczurów normotensyjnych w pierwszych dwóch godzinach obserwacji towarzyszyła tachykardia, a następnie rytm pracy serca utrzymywał się na poziomie zbliżonym do wyjściowego. U szczurów SHR w czasie całego okresu obserwacji stwierdzono zwolnienie rytmu pracy serca (Tabela 2).

Przykład 4

Badanie właściwości przeciwzapalnych.

Przeciwzapalne właściwości oceniano na biologicznym modelu ostrego stanu zapalnego w teście karageninowym.

Test karageninowy wykonywano na głodzonych szczurach obu płci stada szczepu Ipf;RIZ, o ciężarze ciała od 100 do 150 g. Grupy zwierząt liczyły po 10 sztuk. Ostry stan zapalny wywoływano przez wstrzyknięcie do tylnej łapy szczura 0,1 ml 1% roztworu karageniny wg metody Wintera i Lance. Na 1 godzinę przed wstrzyknięciem karageniny podawano szczurom dożołądkowo, w formie zawiesiny w 5% kleiku z gumy arabskiej zawierającego badany związek w dawce 50 mg/kg c.c. ($1/10 LD_{50}$). Wszystkie preparaty podawano w objętości 1 ml/100 g c.c. szczura. Grupa kontrolna otrzymywała na 1 godzinę przed wstrzyknięciem karageniny sondą dożołądkowo roztwór 5% gumy arabskiej w objętości 1 ml/100 g c.c. Jako lek standardowy stosowano kwas acetylosalicylowy w dawce 37,5 mg/kg c.c. ($1/10 LD_{50}$). Kwas acetylosalicylowy podawano per os w formie zawiesiny w 5% kleiku z gumy arabskiej w objętości 1 ml/100 g c.c. Pomiarów objętości łap szczurów dokonywano trzykrotnie: przed oraz po 2 i 4 godzinach od wstrzyknięcia karageniny. Stopień hamowania obrzęku wyrażono w procentach. Wyniki przedstawiono w Tabeli 3.

Badany związek wykazywał działanie przeciwzapalne przejawiające się hamowaniem obrzęku łapy szczura po 2 godzinach o 31,60%, a po 4 godzinach o 29,43%. Różnice pomiędzy wielkością przyrostów objętości łap szczurów otrzymujących związek według wynalazku, a wielkością przyrostów objętości łap szczurów kontrolnych były statystycznie istotne po 2 i 4 godzinach.

Przykład 5

Badanie właściwości przeciwbólowych.

Aktywność przeciwbólowa w teście „przeciągania się” u myszy.

Badany związek podany dożołądkowo w dawkach 15, 30, 45 oraz 60 mg/kg zmniejszał liczbę przeciągnięć w odpowiedzi na chemiczny bodziec drażniący. Liczba zwierząt w grupie 6–8.

Najsilniejszy efekt przeciwbólowy w tym teście związek wykazał w dawce 60 mg/kg zmniejszając statystycznie znamienne liczbę przeciągnięć w odpowiedzi na chemiczny bodziec drażniący o 92,4%. Podany w dawce 45 mg/kg statystycznie znamienne zmniejszał liczbę przeciągnięć o 74,3% a w dawce 30 mg/kg o 54,5%. W dawce najniższej 15 mg/kg obserwowano najłagodniejszy, statystycznie nieznamienne efekt przeciwbólowy. (Wartość ED₅₀ wynosi 27,7 mg/kg, a indeks teragentyczny 108,3)

Aktywność przeciwbólowa w teście „gorącej” płytki.

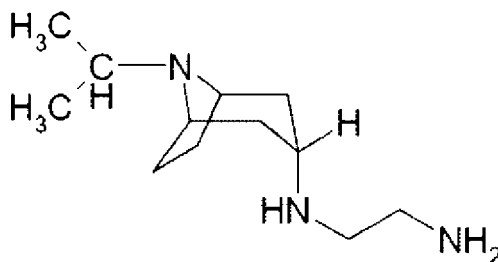
Badany związek podany dożołądkowo w dawkach 30,45 oraz 60 mg/kg nie zmieniał czasu reakcji na bodziec termiczny.

Aktywność przeciwbólowa w teście wicia się wg. Witkina.

Badany związek i Ansolysen podano myszom dożołądkowo w dawkach z 60 mg/kg i 15 mg/kg. Po 30 min wstrzykiwano dootrzewnowo 0,2 ml/mysz 0,5% kwasu octowego. Natychmiast po wstrzyknięciu liczono liczbę skrętów ciała zwierząt w ciągu 20 minut. Wyniki odnoszono do grupy kontrolnej. Oba związki wywierały podobne działanie przeciwbólowe, lecz badany związek – silniejsze.

Zastrzeżenia patentowe

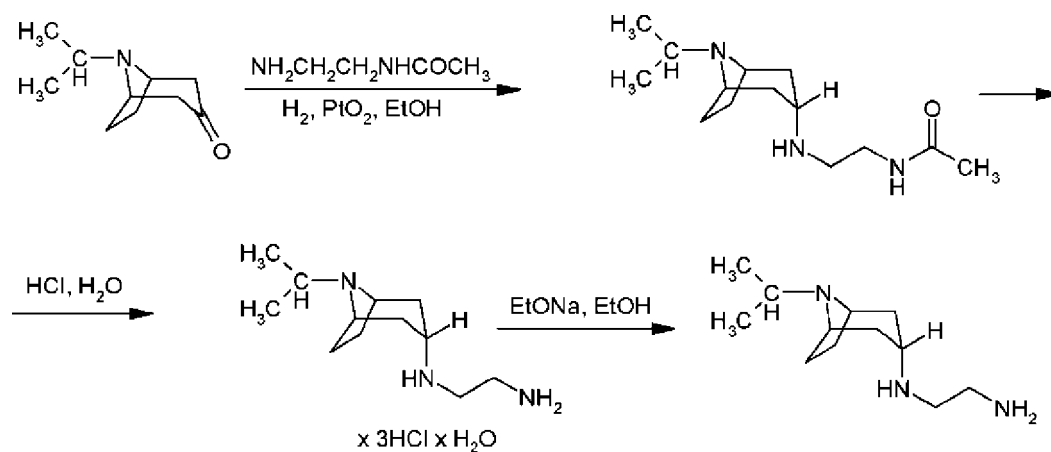
1. N-[1-(8-izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3 α -yl)]-etano-1,2-diamina o wzorze 1, oraz jej farmaceutycznie dopuszczalne sole.



Wzór 1

2. Związek według zastrz. 1 w postaci zasady albo trichlorowodoru.
3. N-[1-(8-izopropyl-8-azabicyklo[3.2.1]okt-3 α -yl)]-etano-1,2-diamina do zastosowania jako środek hipotensyjny, przeciwbólowy i przeciwzapalny.

Rysunki



Schemat

Tabela 1

Czas Dawka mg/kg	0	5 min	15 min	30 min	60 min	90 min	2 h	3 h
3,9	75,0±5,7	45,0±3,9	35,0±5,5	38,0±4,6	51,0±7,3	58,0±8,8	60,0±8,5	57,0±5,4
1,3	86,7±6,5	49,4±4,1	41,1±2,9	48,3±3,6	64,4±5,2	66,7±4,8	61,7±5,4	61,7±3,8
0,43	88,9±4,2	56,7±3,3	58,9±3,5	73,9±5,9	76,1±6,1	73,9±5,1	75,0±4,4	70,6±3,9

Tabela 2

Czas	0	1h	2h	3h	4h	5h	6h	12h	24h
Ciśnienie tętnicze krwi mmHg Szczury normotensyjne	112,8 ±2,9	94,8 ±5,5	92,8 ±7,2	92,8 ±4,3	90,4 ±1,2	92,4 ±2,3	95,1 ±2,2	96,1 ±2,9	109,2 ±3,1
Ciśnienie tętnicze krwi mmHg Szczury SHR	182,2 ±5,2	166,4 ±6,2	136,1 ±6,7	113,1 ±6,5	118,9 ±6,2	117,0 ±4,5	114,7 ±6,1	118,9 ±5,4	139,6 ±5,9

Tabela 3

preparat	dawka mg/kg	liczba zwierząt	Przyrost objętości łapy		hamowanie obrzęku %
			2 godz.	4 godz.	
kontrola	-	10	2,12±0,11	2,14±0,10	2h – 0% 4h – 0%
Kwas acetylosalicylowy	37,5	10	1,42±0,08	1,44±0,07	2h – 33,02% 4h – 32,71%
Związek według wynałazku	50,00	10	1,45±0,09	1,51±0,08	2h – 31,60% 4h – 29,43%