



SUOMI-FINLAND
(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT

81794

C (17) 1 000 000 000 000
Patent No. 1000 000 000 000

(51) Kv.lk.5 - Int.cl.5

C 07D 333/20

(21) Patentihakemus - Patentansökning	855158
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	27.12.85
(24) Alkupäivä - Löpdag	27.12.85
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	01.07.86
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	31.08.90
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
31.12.84 US 687628 P	

(71) Hakija - Sökande

1. Merrell Dow Pharmaceuticals Inc., 2110 East Galbraith Road, Cincinnati, Ohio, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Bargar, Thomas M., 125 Lynn Court, Zionsville, Ind., USA, (US)
2. Broersma, Jr., Robert, 1233 Willow Way, Noblesville, Ind., USA, (US)
3. McCarthy, James R., 1100 Maxwell Lane, Zionsville, Ind., USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

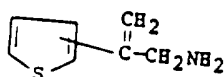
Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisten allyyliamiinin valmistamiseksi
Förfarande för framställning av terapeutiskt användbar allylamin

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

EP A 67105 (C 07C 93/14)

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee uusia β -metyleenitiofeenietanamiineja, joilla on kaava (I),



(I)

I

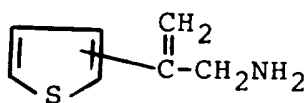
jotka ovat dopamiini- β -hydroksylaasin mekanismiperusteisia inhibiittoreita ja käyttökelpoisia verenpainelääkkeinä. Lisäksi keksintö koskee kaavan (I) mukaisten yhdisteiden ja niiden suolojen valmistusta.

Uppfinningen avser nya β -metylentiofenetanaminer med formeln I, vilka utgör mekanismbaserade inhibitorer av dopamin- β -hydroxilas och är användbara som hypertensiva medel. Sessutom avser uppfinningen framställningen av föreningarna med formeln (I) och av deras salter.

Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisen allyyliamiinin valmistamiseksi

Keksintö koskee menetelmää terapeuttisesti käyttökelpoisen uuden allyyliamiinin valmistamiseksi, jonka kaava on (I)

10



I

15

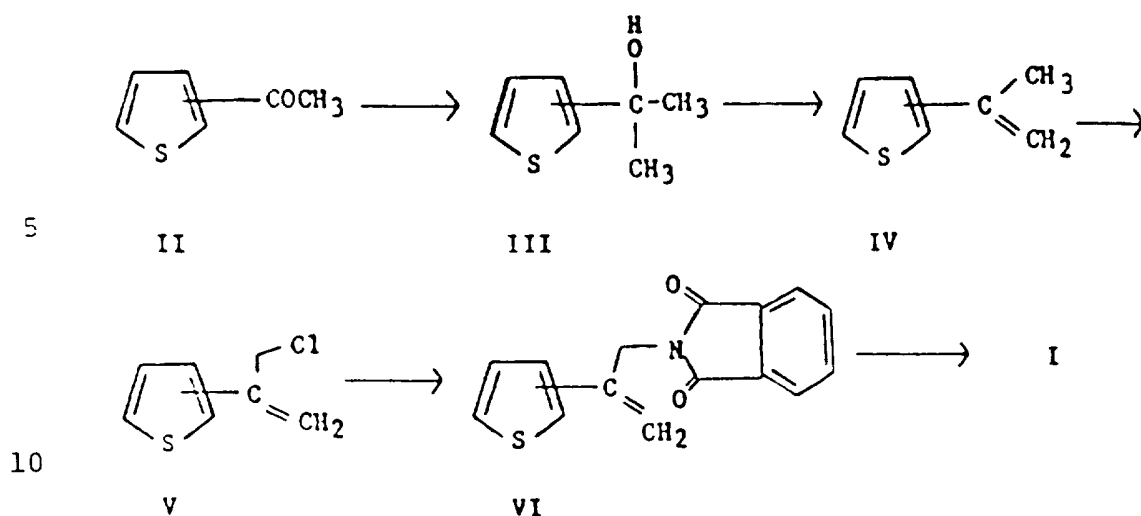
ja sen myrkyttömien, farmaseuttisesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen valmistamiseksi. Vielä tarkemmin määriteltynä tämä keksintö koskee menetelmää β -metyleeni-2-tiofeenietanamiinin ja β -metyleeni-3-tiofeenietanamiinin sekä niiden myrkyttömiä, farmaseuttisesti hyväksyttäviä happoadditiosuolojen valmistamiseksi.

Tyypillisiä suoloja ovat myrkyttömien orgaanisten tai epäorgaanisten happojen muodostamat suolat, kuten esimerkiksi seuraavista hapoista muodostetut suolat;

25 kloorivety-, bromivety-, sulfoni-, rikki-, fosfori-, typpi-, maleiini-, fumaari-, bentsoe-, askorbiini-, meripihka-, metaanisulfoni-, etikka-, propioni-, viini-, sitruuna-, maito-, omena-, manteli-, kaneli-, palmitiini-, itakoni- ja bentseenisulfonihappo.

30

Uusia allyyliamiineja (I) voidaan valmistaa helposti seuraavan reaktiokaavion kuvaamalla reaktiosarjalla:



Edellä oleva reaktiokaavio esittää varsinaisesti
 15 tiofeenin 2- tai 3-asetyyli johdannaisten muuttamista vas-
 taaviksi 2- tai 3- propylideenijohdannaisiksi reaktiolla
 metyylimagnesiumbromidin kanssa ja sitä seuraavalla de-
 hydrataatiolla tavanomaisissa Grignard-reaktion olosuhteissa. Isopropylideenijohdannaisille (IV) suoritetaan
 20 allyyliklooraus tavanomaisissa olosuhteissa, ja raaka-
 tuotteet (V) muutetaan tunnetun Gabriel-synteesin avulla
 (ftalimidijohdannaisten (VI) kautta) halutuiksi allyyli-
 amiineiksi, jotka vastaavat kaava (I). Vapaat emäkset
 voidaan muuttaa happoadditiosuoloiksi tai happoadditio-
 25 suolat voidaan muuttaa vapaiksi emäksiksi tavanomaisin
 kemiallisin menetelmin.

Seuraavat erityisesimerkit valaisevat tarkemmin
 edellä esitettyä reaktiokaaviota.

Esimerkki I

30 2-metyyleeni-2-tiofeenietanamiinihydrokloridi

Vaihe A: 2-(1-metyylietenyyli)tiofeeni

211 ml:aan 2,85 M metyylimagnesiumbromidin (0,6 mol)
 eetteriliuosta lisättiin N_2 :n alla pisaroittain 1,5 tunnin
 aikana liuos, joka sisälsi 54,0 ml (0,5 mol) 2-asetyyli-
 35 tiofeenia 100 ml:ssa vedetöntä eetteriä sekoittaen reaktio-

seosta samalla jäähauteessa. Lämpötila pidettiin 30°C :n alapuolella lisäysnopeutta säätelemällä. Muodostui harmaaa sakka. Seoksen annettiin lämmetä 25°C :seen 1 tunnin ajaksi, ja sen jälkeen sitä jäähdytettiin taas jäähauteessa, samalla kun siihen lisättiin varovasti 100 ml kylläistä NaHCO_3 -liuosta. Tulokseksi saatu massa liuotettiin noin 1 l:aan vettä, ja vesifaasi uutettiin kahdesti eetterillä. Yhdistetyt eetteriliuokset uutettiin kyläläisellä NaCl -liuoksella, kuivattiin K_2CO_3 :lla, suodatettiin ja väkevöitiin ilmakehän paineessa keltaiseksi öljyksi. Tähän epäpuhtaaseen alkoholiin lisättiin 0,0 g KHSO_4 :a ja noin 0,1 g 4-t-butyylikatekolia (inhibiittoria), ja seos asetettiin öljyhauteeseen, jota pidettiin ilmakehässä 110°C :ssa. Noin 15 minuutin kuluttua muodostui vesikerros. Jäähdytetty seos uutettiin vesi-eetteriseoksella, ja eetterikerros uutettiin kylläisellä NaCl -liuoksella, kuivattiin K_2SO_3 :lla, suodatettiin, väkevöitiin 1 atm:n paineessa ja tislattiin lyhyen Vigreux-kolonnin läpi, jolloin saatiin 36,0 g (58 %) väritöntä olefiinia, kp. 74 - 78°C 35 torr:n paineessa. Samalla tavalla valmistettiin 3-(1-metyylietenyyli)-tiofeeni. kp. 69 - 79°C 11 torr:n paineessa.

Vaihe B. N-2-(2-tienyyli)propenyyliftalimidi

Liuokseen, jonka sisälsi 12,4 g (0,1 mol) vaiheessa A saatua olefiinia 50 ml:ssa DMF:a, lisättiin pisaroittain sellaisella nopeudella, että lämpötila pysyi 30°C :n alapuolella, liuos, joka sisälsi 1,87 g (0,006 mol) difenyylidiselenidiä ja 16,0 g (0,12 mol) N-kloorisukkinimidiä. Seosta sekoitettiin 25°C :ssa 3 tuntia, jonka jälkeen se uutettiin 5-%:isen $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$:n ja heksaanin seoksella. Heksaanikerros kuivattiin K_2CO_3 :lla ja väkevöitiin alennetussa paineessa. Pääepäpuhtautena oli vastaava vinyylikloridi (11 %). Raakatuotteeseen (joka sisälsi vinyylikloridia) sekoitettiin 200 ml DMF:a, seos asetettiin N_2 :n alle, ja siihen lisättiin 37,0 g (0,2 mol) kaliumftalimidia. Suspen-

- sio, jota sekoitettiin magneettisesti, lämmitettiin 90°C:seen 1 tunnin ajaksi, jolloin TLC (etuenttina heksaani) osoitti, että allyylikloridia ei ollut jäljellä. Jäähdytetty seos kaadettiin 1 l:aan vettä. 10 minuutin kuluttua erottui ruskeata kiinteää ainetta, joka poistettiin suodattamalla, pestiin vedellä ja kiteytettiin uudelleen etanoli-etyyliasetatiseoksesta, jolloin saatiin yhteensä 26,86 g tuotetta, sp. 147,5 - 149,5°C.
- 10 Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_{15}H_{11}NO_2S$
 Laskettu: C, 66,90; H, 4,12; N, 5,20
 Todettu: C, 66,81 H, 4,31; N 5,06
 Samalla tavalla valmistettiin N-(2-(3-tienyyli)propenyylitalimidi, sp. 163 - 164°C.
- 15 Vaihe C: α -metyleeni-2-tiofeenietanamiinihydrokloridi
 Suspensioon, joka sisälsi 26,9 g (0,10 mol) vaiheessa B saatua ftalimidiä 400 ml:ssa CH_3OH :a ja jota sekoitettiin magneettisesti, lisättiin 9,7 ml (0,20 mol) hydratsiinihydraattia, ja reaktioseosta refluksoitettiin N_2 :n alla. 1,5 tunnin kuluttua TLC (eluenttina 20 % etyyliasetattia sisältävä heksaani) osoitti, että lähtöainetta ei ollut jäljellä. Seos jäähdytettiin jäähauteessa, ja saostunut ftaalihappohydratsidi erotettiin suodattamalla ja liuotettiin NaOH:iin. ja liuos uutettiin kahdesti eetterillä. Metanolisuodos väkevöitiin pyöröhaihduttimella, ja jäännös uutettiin eetterin ja 1 N NaOH:n seoksella, Yhdistetyt eetterikerrokset uutettiin yhdellä 100 ml:n ja kahdella 50 ml:n erällä 1 N HCl:a. Yhdistetyt happokerrokset jäähdytettiin jäähauteessa, tehtiin emäksiseksi lisäämällä kiinteätä KOH:a, kyllästettiin sitten NaCl:lla ja uutettiin kolmesti eetterillä. Yhdistetyt eetterikerrokset väkevöitiin, ja jäännös retorttitislattiin 70°C:ssa 0,7 torr:n paineessa, jolloin saatiin 10,78 g (77 %) väritöntä nestettä. Liuokseen, joka sisälsi 6,95 g (0,05 mol)

vapaata emästä 100 ml:ssa eetteriä, lisättiin pisaroittain kylläistä, vedetöntä HCl:n eetteriliuosta, kunnes sakkaa ei enää muodostunut. Seosta sekoitettiin jäähau-
 teessa 15 minuuttia, jonka jälkeen se suodatettiin, ja
 5 talteenotettu suola kiteytettiin uudelleen etanolin ja 2-propanolin seoksesta, jolloin saatiin 6,86 g vaaleanhar-
 maita neulasia, sp. 140 - 145°C (hajosi).

Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_7H_9NS.HCl$
 10 Laskettu: C, 47,86; H, 5,74; N, 7,97
 Todettu: C, 47,81; H, 5,75; N, 8,08

Samalla tavalla valmistettiin β -metyyleeni-3-tio-
 feenietanamiinihydrokloridi, sp. 181 - 182°C.

15 Alkuaineanalyysi yhdisteelle $C_7H_9NS.HCl$
 Laskettu: C, 47,86; H, 5,74; N, 7,97
 Todettu: C, 47,68; H, 5,96; N, 7,76

Tämän keksinnön mukaiset allyyliamiinit (I) ovat
 dopamiinihydroksylaasi-inhibiittoreita (DBH-inhibiittoreita)
 20 mekanismiperusteisesti inaktivaation ollessa ajasta, pitoi-
 suudesta ja askorbaatista riippuvainen. Entsyymi inakti-
 voituu suoraan, so. aktiivisessa kohdassa, ja siten kaavaa
 (I) vastaavien yhdisteiden odotetaan olevan arvokkaita
 25 terapeuttisia aineita, jotka soveltuvat verenpainetaudin
 hoitoon.

Tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden dopamiini- β -
 hydroksylaasi-inhibitoiset ominaisuudet voidaan määrittää
 helposti tavanomaisia ja tunnettuja menettelytapoja,
 kuten US-patenttijulkaisussa 4 415 191 esitettyjä menet-
 30 telytapoja, käyttäen. Esimerkiksi sen määrittämistä,
 salliiko DBH-inhibitio ajasta riippuvan kinetiikan, va-
 laisee proseduuri, jossa määritetään DBH:n aiheuttama
 entsyymaattinen hapettuminen vesiliuoksessa molekulaarisen
 hapen, elektroneja luovuttavan aineen, kuten askorbaatin,
 35 ja entsyymille välttämättömien kofaktorien ollessa mukana,

- pH:ssa 5 ja 20 - 40°C:n, edullisesti 37°C:n, lämpötilassa. Testattava yhdiste lisätään haluttuna pitoisuutena, ja systeemiä inkuboidaan. Ero pituisten aikojen kuluttua erotetaan määrätty osa, ja mitataan DBH-aktiivisuus käyttäen substraattina tyramiinia, ja reaktiota seurataan mittaamalla hapen vastaanottoa polarografista elektrodia ja happimonitoria käyttäen menetelmällä, jonka ovat esittäneet S. May et al., J. Biol. Chem. 256 (1981) 2258. Inhibitiovakiot kunkin yhdisteen aiheuttamalle DBH:n inaktivoitumiselle määritetään sitten tavanomaisin menettelytavooin, kuten menetelmällä, jonka ovat esittäneet Kitz ja Wilson, J. Biol. Chem. 237 (1962) 3245. Testattaessa taulukossa I esitettyjä yhdisteitä edellä esitettyä menettelytapaa noudattaen DBH-inhinatorinen vaikutus lisääntyi inkubointiajan funktiona. Aktiivisuuden alenemisen alkunopeus kasvoi inhibiittoripitoisuuden kasvaessa. Taulukossa I esitetyt tulokset osoittavat, että β -metyleeni-2-tiofeenietanamiini on voimakastehoisempi isomeeri mistä on osoituksena suuri inaktivoitumisnopeus (k_{inakt}) ja alhainen inhibitiovakio (K_I).

Taulukko I

DBH-inhinatorinen aktiivisuus in vitro

25	<u>Yhdiste</u>	K_I (mM)	$K_{\text{inakt.}}$ (min ⁻¹)
	β -metyleeni-2-tiofeenietanamiini	2	,02
30	β -metyleeni-3-tiofeenietanamiini	2	,004

- Tämän keksinnön mukaisten kyky alentaa verenpainetta voidaan määrittää in vivo rottia, joilla on korkea verenpaine, käyttäen tavanomaisin ja tunnetuin menettelytavooin.

Testattavaa yhdistettä annetaan rotille intraperitoneaalisesti (ip) tai suun kautta (po), ja verenpainetta seurataan jatkuvasti. Koska DBH on tärkein entsyymi katekolamiinisynteesiketjussa, olisi odotettavissa, että inhibiittorin läsnäolo vaikuttaisi syntyvien katekolamiinien määrää vähentäen ja siten verenpainetta alentavasti. Tulokset tätä verenpainetta alentavaa vaikutusta koskevista testeistä on esitetty taulukossa II.

10

Taulukko II

Verenpainetta alentava vaikutus in vivo

<u>Yhdiste</u>	<u>Annos</u>	<u>Keskimääräinen verenpaineen maksimimuutos (%)</u>
15	β -metyleeni-2-	10 (ip)
	tioteenietanamiini	30 (ip)
		100 (ip)
		50 (ip)
		11
20		100 (po)
		14
		200 (po)
		14

Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet käsitettiin samanlaisiksi mekanismiperusteisiksi (DBH-inhibiittoreiksi kun ne, joista S. May, J. Biol. Chem. 256 (1981) 2258, on raportoinut. Nämä yhdisteet muistuttavat jossakin määrin katekolamiineja, jotka tuhoutuvat monoamiinioksidaasi-entsyymien (MAO-entsyymien) vaikutuksesta, jolloin neurotransmissio päättyy. Rakenteellisen samankaltaisuutensa vuoksi suhteessa katekolamiineihin ne voivat toimia MAO:n substraatteina ja siten MAO:n katekolamiineja tuhoavan vaikutuksen estäjinä. Näitä yhdisteitä arvioitiin mono-oksigenaasien mekanismiperusteisina inhibiittoreina käyttäen menetelmää, jonka ovat esittäneet A. Christmas et al., Br. J. Pharmacol, 45 (1972) 490.

β -metyleeni-2-tiofeenietanamiinin voimakas DBH-inhibitorinen aktiivisuus verrattuna heikkoon MAO-inhibitoriseen aktiivisuuteen käy ilmi taulukosta III.

Taulukko III

5

DBH-inhibitio suhteessa MAO-inhibitioon

Vaikutus puhdistettuun DBH:hon

10

Ajasta riippuva inhibitio

$t_{1/2}=7$ min loppupitoisuudella 5×10^{-5} M

Vaikutus rotan aivojen mitokondrio - MAO:een

Heikko ajasta riippuva MAO-inhibiittori

15

MAO A Ki $3,2 \times 10^{-4}$ M $\tau = \tau_{50}$ 2,6 min

MAO B Ki $1,1 \times 10^{-4}$ M $\tau = \tau_{50}$ 4,9 min

20

Näiden ja muiden tavanomaisten laboratoriomenetelmien, jotka ovat tunnettuja dopamiini- β -hydroksylaasi-inhibiittoreiden arvionnissa, perusteella, tavanomaisilla myrkyllisyystesteillä ja tavanomaiselle farmakologisella testillä, joka on tarkoitettu verenpainetta alentavan vaikutuksen määrittämiseen nisäkkäillä, sekä vertaamalla näitä tuloksia tunnetuilla verenpainelääkkeillä saatuihin tuloksiin voidaan siten määrittää helposti tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden tehokas verenpainetta alentava annos. Tehokas verenpainetta alentava vaikutus voidaan yleensä saavuttaa suunnilleen annoksella 5 - 100 mg kehon painokiloa kohden vuorokaudessa. Kullekin potilaalla soveltuvat alku- ja jatkoannostusohjeet vaihtelevat luonnollisesti verenpaineaudin luonteen ja vakavuuden mukaan, ja ne määrittelee hoitava lääkäri.

25

30

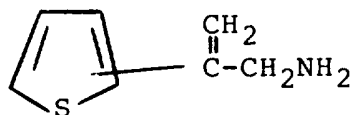
35

Käytettäessä yhdisteitä terapeuttisina aineina ne on edullista antaa kohde-eläimelle enteraalisesti tai

parenteraalisesti annettavaksi soveltuvaan, hyväksyttävään farmaseuttiseen kantaja-aineeseen sekoitettuna mainitun kantaja-aineen muodostaessa pääosan sekoitusta. Sellaiset valmisteet voivat olla esimerkiksi tabletteina, 5 kapseleina tai peräpuikkoina tai nestemäisessä muodossa, kuten esimerkiksi tinktuuroina, emulsioina, suihkeina tai ruiskeliuoksina, Farmaseuttisten valmisteiden formuloinnissa voidaan käyttää sellaisia aineita, jotka eivät regoi vaikuttavan aineen kanssa, kuten esimerkiksi vettä, 10 gelatiinia, laktoosia, tärkkelyksiä, magnesiumstearaattia, talkkia, kasviöljyä, bentsyylialkoholia, kumeja, polyalkyleeniglykoleja, vaseliinia ja vastaavia. Vaikuttavan aineen paino-osuus sellaisissa farmasutissa valmisteissa on edullisesti 0,1 - 50 %.

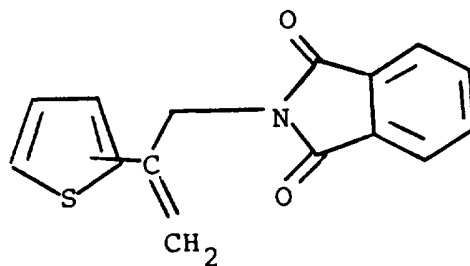
Patenttivaatimukset

1. Menetelmä terapeuttisesti käyttökelpoisen allyyliamiinin valmistamiseksi, joka vastaa kaavaa (I)



I

ja sen myrkyttömien, farmaseuttisesti hyväksyttävien happoadditiosuolojen valmistamiseksi, tunnettu siitä, että yhdiste, joka vastaa kaava (II)



II

hydrolysoidaan.

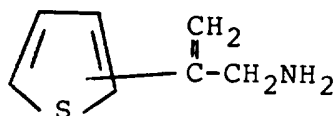
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että hydrolyysi toteutetaan kuumentamalla kaavaa (II) vastaavaa yhdistettä hydratsiinin kanssa alkoholin ollessa mukana.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan β-metyleen-2-tiofeenietanamiinia.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että valmistetaan β-metyleen-3-tiofeenietanamiinia.

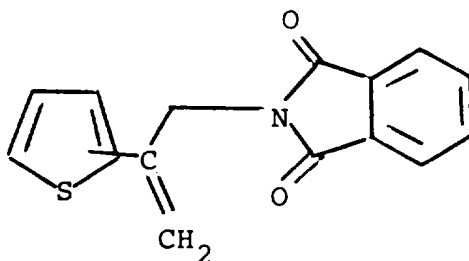
Patentkrav

1. Förfarande för framställning av terapeutiskt användbar allylamin motsvarande formeln (I)



I

och dess icke-toxiska, farmaceutiskt godtagbara syraadditionssalter, k ä n n e t e c k n a t därav, att en förening motsvarande formeln (II)



II

hydrolyseras.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att hydrolysen genomföres genom upphettning av föreningen motsvarande formeln (II) med hyrazin i närvaro av en alkohol.

3. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att man framställer β -metylen-2-tiofenetanamin.

4. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att man framställer β -metylen-3-tiofenetanamin.