



**URZĄD  
PATENTOWY  
PRL**

Patent dodatkowy  
do patentu nr \_\_\_\_\_

Int. Cl.<sup>3</sup> C07D 327/06  
//A23K 1/16

Zgłoszono: 28.06.78 (P. 207981)

Pierwszeństwo: 30.06.77 Stany Zjednoczone Ameryki

Zgłoszenie ogłoszono: 24.09.79

Opis patentowy opublikowano: 30.06.1984



Twórca wynalazku \_\_\_\_\_

Uprawniony z patentu: Shell Internationale Research Maatschappij B. V.,  
Haga (Holandia)

### **Sposób wytwarzania pochodnych 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiinu i środek inhibitujący lipogenezę u zwierząt ciepłokrwistych**

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych pochodnych 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiinu wykazujących właściwość inhibitowania lipogenezy u zwierząt ciepłokrwistych.

Związki wytwarzane sposobem według wynalazku objęte są wzorem ogólnym 1, w którym n oznacza zero lub jeden, a R związany jest z atomem węgla w pozycji 6 lub 7 i oznacza atom chlorowca, grupę nitrową, metylosulfonyloaminową, trójfluorometylową, aminową, alkilową lub alkoksy, przy czym z tych dwóch ostatnich grup każda zawiera od 1 do 6 atomów węgla, albo oznacza grupę cykloalkilową zawierającą od 3 do 6 atomów węgla, lub grupę fenylową.

Występująca w tych związkach grupa alkilowa lub alkoksy może mieć łańcuch prosty lub rozgałęziony i korzystnie zawiera do trzech atomów węgla. Wyżej użyte określenie „atom chlorowca” obejmuje brom, chlor, fluor lub jod, przy tym brom i chlor uważa się za korzystniejsze od pozostałych.

Konkretne 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiiny o wzorze 1 opisano dalej w przytoczonych przykładach. Z innych typowych związków o tym wzorze wymienia się z następującymi podstawnikami R (czyli we wzorze tym n = 1): 6-fluoro, 6-nitro, 6-trójfluorometylo, 6-metoksy, 6-amino, 6-metylosulfonyloamino, 6-cykoheksylo, 6-fenilo, 7-metylo, 7-nitro, 7-amino, 7-metylosulfonyloamino.

Wynalazek obejmuje sposób wytwarzania związków o wyżej zdefiniowanym wzorze 1 polegający na tym, że 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiinokarboksylan-2 o wzorze 2, w którym R i n mają wyżej podane znaczenia, a R<sup>1</sup> oznacza grupę alkilową, poddaje się reakcji z alliloaminą w obecności rozpuszczalnika. R<sub>1</sub> korzystnie zawiera od 1 do 5 atomów węgla i oznacza korzystnie np. metyl lub etyl. Odpowiednim rozpuszczalnikiem jest np. etanol. Reakcję prowadzi się korzystnie przy zwracaniu par mieszaniny reakcyjnej. Aminę stosuje się z nadmiarem korzystnie czteroszesciokrotnym. Wytworzony produkt o wzorze 1 można wyodrębnić odparowując rozpuszczalnik i nadmiar użytej aminy, a następnie stosując typowe metody takie jak ekstrakcja selektywna, krystalizacja i/lub chromatografia na suchej kolumnie.

Wyjściowe 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiinokarboksylany-2 o wzorze 2 można otrzymać poddając reakcji 2,3-dwubromopropionian alkilu z 2-merkaptofenolem o wzorze 3, w którym R i n mają

wyżej podane znaczenia, w obecności zasady takiej jak węglan potasu i w rozpuszczalniku, np. w acetonie, w temperaturze pokojowej lub nieco podwyższonej. Grupa alkilowa w 2,3-dwubromopropionianie zawiera 1–5 atomów węgla i korzystnie jest to np. metyl lub etyl.

Potrzebny do powyższej reakcji 2-merkaptofenol można otrzymać przez (a) zdwuazowanie odpowiedniego R-podstawionego-2-aminofenolu, (b) potraktowanie tak wytworzonej soli dwuazoniowej etyloksantogenianem potasu i (c) poddanie redukcji wytworzonego ksantogenianu wodorkiem litowo-glinowym, prowadząc każdy z tych etapów według metody, którą opisali Djerassie et. al., J. Am. Chem. Soc., 77, 568–571 (1955). 2-Amino-4-(trójfluorometylo)fenol otrzymano następująco:

87,6 g dokładnie sproszkowanego wodorotlenku sodu dodano w ciągu 8 godzin do mieszanego roztworu 164,0 g 2-nitro-4-(trójfluorometylo)chlorobenzenu w 220 ml sulfotlenku dwumetylowego, w temperaturze pokojowej. Mieszaninę odstawiono na noc, a następnie wylano do 1,5 l zimnej wody. Całość zakwaszono do pH 1 dodając stężony kwas solny. Wytworzony tak olej oddzielono i rozpuszczono w eterze etylowym, wysuszono siarczanem magnezu i odparowano rozpuszczalnik pod obniżonym ciśnieniem. Pozostałość wymieszano z zimnym roztworem wodorotlenku sodu i ekstrahowano eterem naftowym. Warstwę wodną zakwaszono stężonym kwasem solnym, po czym wytworzony olej oddzielono i rozpuszczono w eterze etylowym. Roztwór osuszono ( $\text{MgSO}_4$ ) i odparowano rozpuszczalnik pod obniżonym ciśnieniem, otrzymując 2-nitro-4-(trójfluorometylo)fenol (A).

82,2 g (A) rozpuszczono w 300 ml etanolu, dodano 0,5 g tlenku platyny jako katalizatora i uwodorniono pod ciśnieniem 450 kPa. Otrzymany roztwór przesączono i zatężono, po czym krystalizowano z wody, otrzymując 2-amino-4-(trójfluorometylo)fenol.

Odpowiednie związki z podstawnikiem R oznaczającym grupę aminową można otrzymać przez uwodornienie pośredniego estru, w którym R oznacza grupę nitrową. Uwodornienie można przeprowadzić w typowy sposób, np. rozpuszczając ester w rozpuszczalniku takim jak etanol i traktując wodorem w obecności takiego katalizatora jak pallad na węglu.

Związki R-metylosulfonyloamino można otrzymać traktując wyjściowy ester R-amino chlorkiem metanosulfonylowym w rozpuszczalniku, np. w chlorku metylenu i w obecności związku wiążącego chlorowcowodór, np. w obecności trójetyloaminy, w temperaturze obniżonej, np. w zakresie 0–5°C.

2,3-dihydro-1,4-benzoksatiiny o wzorze 1 mogą być stosowane do przeciwdziałania wytwarzania się tłuszczu u takich zwierząt ciepłokrwistych jak zwierzęta domowe, zwierzęta w ogrodach zoologicznych, inwentarz żywy, zwierzęta futerkowe, w tym (lecz bez ograniczenia do wymienionych zwierząt) psy, koty, norki, owce, kozy, świnie, bydło, konie, muły, osły i drób.

Zatem wynalazek obejmuje środek inhibitujący lipogenezę u zwierząt ciepłokrwistych zawierający 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiin o wyżej określonym wzorze 1 i farmaceutycznie dopuszczalny nośnik.

Środek podaje się zwierzętom konwencjonalnymi metodami, a więc przez wlewanie do gardła lub inkubację, w karmie tych zwierząt lub wodzie, w dodatkach uzupełniających karmę lub też w postaci środka zestawionego specjalnie do tego celu. Typowymi postaciami takiego zestawionego środka są roztwory, zawiesiny, emulsje, tabletki, duże pigułki, proszki, granulki, kapsułki, syropy i aromatyzowane roztwory alkoholowe. Do podawania pozajelitowego środek może być w postaci roztworu, zawiesiny lub emulsji. Środek można podawać jako wszczep lub w postaci środka o przedłużonym działaniu. Można stosować także nośnik obojętny pod względem farmaceutycznym, przy tym może to być jeden lub więcej nośników, takich jak woda, olej jadalny, żelatyna, laktoza, skrobia, stearynian magnezu, talk i dekstryna.

Dawka 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiinu potrzebna do powstrzymania lipogenezy zależy będzie od konkretnego związku i od zwierzęcia, któremu ten związek będzie podawany. Na ogół zadowalające wyniki uzyskuje się przy dawkach 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiinu od 1 do 500 mg na kg wagi zwierzęcia. Ilość tę można podawać w jednej dawce lub w kilku dawkach, tego samego dnia lub rozdzielonych na szereg dni. Dla danego zwierzęcia sposób podawania powinien być dobierany indywidualnie pod fachową kontrolą w zależności od tego jaki lub jakie konkretnie 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiiny się stosuje jako inhibitory i jaki się chce uzyskać efekt.

Wynalazek ilustrują niżej przytoczone przykłady. W przykładach dotyczących preparatyki związków o wzorze 1 lub ich prekursorów identyfikację tych związków przeprowadzono na podstawie odpowiednich analiz chemicznych i spektralnych.

**Przykład I.** Wytworzenie 2,3-dihydro-N-allilo-1,4-benzoksatiino-2-karboksamidu (1).

Do mieszaniny składającej się z 41,6 g 2,3-dwubromopropionianu etylu, 400 g suchego acetonu i 11,1 g węglanu potasu, podczas mieszania, wkroplono przy 27°C roztwór 19,5 g o-merkaptofenolu w 75 ml acetonu. Po zakończeniu wkraplania całość mieszano w temp. pokojowej przez 10 minut, po czym dodano jeszcze 50,9 g węglanu potasu. Mieszaninę reakcyjną ogrzewano pod chłodnicą zwrotną przez 2 godziny i odstawiono na noc w temp. pokojowej. Osad odsączono, przemyto acetonem i przemywki dodano do przesączu. Z przesączu odparowano aceton a pozostałą ciecz rozpuszczono w chlorku metylenu.

Tak otrzymany roztwór przemyto wodą, wysuszono ( $\text{MgSO}_4$ ) i odparowano rozpuszczalnik. Ciekłą pozostałość chromatografowano na suchej kolumnie z żel krzemionkowym, stosując jako eluent mieszaninę 4:16:80 tetrahydrofuranu, octanu etylu i heksanu (rozpuszczalnik 1). Otrzymano ester etylowy kwasu 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiinokarboksylowego-2 (1A) w postaci jasnożółtej cieczy.

Roztwór 4,5 g (1A) i 3,4 g alliloaminy w 25 ml etanolu przez 20 godzin utrzymywano we wrzeniu pod chłodnicą zwrotną, następnie odparowano rozpuszczalnik i nadmiar aminy, a pozostałość chromatografowano na suchej kolumnie z żel krzemionkowym, stosując rozpuszczalnik 2 jako eluent. Po ekstrakcji i usunięciu rozpuszczalnika otrzymano (1) w postaci żółtej kleistej cieczy.

**Przykład II.** Wytworzenie 6-metylo-2,3-dihydro-N-allilo-1,4-benzoksatiino-2-karboksamidu (2).

Do mieszaniny składającej się z 40,2 g 2,3-dwubromopropionianu etylu i 10,2 g węglanu potasu w 400 ml acetonu dodano powoli podczas mieszania w temp. pokojowej roztwór 20,0 g 4-metylo-2-merkaptofenolu w 75 ml acetonu. Całość mieszano w temp. pokojowej jeszcze przez 10 minut, a następnie przez 16 godzin utrzymywano we wrzeniu pod chłodnicą zwrotną. Mieszaninę przesączono, osad przemyto acetonem, z przesączu odparowano aceton, a pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu, przemyto wodą, wysuszono ( $\text{MgSO}_4$ ) i odparowano rozpuszczalnik. Pozostałość chromatografowano na suchej kolumnie (żel krzemionkowy) stosując rozpuszczalnik (2) jako eluent. Pierwsze pasmo (wysokie  $R_f$ ) zebrano i ekstrahowano eterem etylowym. Po odparowaniu z ekstraktu rozpuszczalnika pozostałość wysuszono pod próżnią (w ciągu 24 godzin) i przekrystalizowano z heksanu. Otrzymano ester etylowy kwasu 2,3-dihydro-6-metylo-1,4-benzoksatiinokarboksylowy-2 (2A), w postaci białych igieł o t. t. 41–43°C.

Mieszaninę 10,4 g (2A) i 15 g alliloaminy w 20 ml etanolu przez 24 godziny mieszano w temp. pokojowej, po czym odparowano rozpuszczalnik pod próżnią, a pozostałość przekrystalizowano z heksanu. Otrzymano (2) w postaci substancji stałej o t. t. 88–88°C.

**Przykład III.** Wytworzenie 6-chloro-2,3-dihydro-N-allilo-1,4-benzoksatiino-2-karboksamidu (3).

Postępując jak opisano w przykładzie I lub II otrzymano kwas 6-chloro-2,3-dihydro-1,4-benzoksatiinokarboksylowy-2 (3A) w postaci substancji stałej o t. t. 64–66°C. Wydajnościowym związkiem był 4-chloro-2-merkaptofenol.

Związek (3A) poddano reakcji z alliloaminą, otrzymując produkt (3) w postaci stałej, t. t. 98–100°C.

**Przykład IV–VI.** Testy na wykazanie inhibitowania lipogenezy.

Skuteczność związków o wzorze 1 potwierdzono przez zanurzenie na jakiś czas próbek wieprzowej tkanki tłuszczowej w ośrodku ciekłym zawierającym glukozę radioaktywną oraz testowany związek, a następnie oddzielenie tłuszczu z testowanej tkanki i oznaczenie ilości pobranego węgla aktywnego metodą liczenia scyntytacji. Testy te przeprowadzono z wieprzową tkanką tłuszczową, gdyż u świń głównym miejscem, gdzie zachodzi lipogeneza, jest właśnie tkanka tłuszczowa.

A oto dokładniejszy opis ogólnego postępowania:

150 mg ścianki wieprzowej tkanki tłuszczowej inkubowano przez 2 godziny w 37°C, wytrząsając z 3 ml wodorowęglanowego roztworu Krebsa-Ringera zawierającego 0,5 n stężenie jonów

wapnia, 60 mikromoli glukozy, 0,5 mikrokiura glukozy- $U^{14}C$ , 300 mikrojednostek insuliny i 5% dwumetylosulfotlenku (DMSO). Związek testowany dodawano w postaci roztworu lub zawiesiny w DMSO i w takiej ilości, aby stężenie tego związku w mieszaninie inkubowanej wynosiło 100 mikrogramów w ml.

Na zakończenie inkubacji dodawano 0,25 ml 1n kwasu siarkowego, po czym mieszaninę ekstrahowano przy użyciu w sumie 25 ml mieszaniny chloroform:metanol w stos. obj. 2:1. Ekstrakty przemywano według Folch'a et. al. (J. Biol. Chem. **226**, 497-509 /1957/) suszono na powietrzu i liczono w scyntylatorze cieczowym przy użyciu 15 ml rozpuszczalnika (2 części toluenu zawierającego 0,4% wag./obj. New England Nuclear Omnifluor i 1 część Triton X-100). Próby wykonywano trzykrotnie i po jednej próbie kontrolnej, która różniła się od właściwych prób tylko tym, że nie występował w niej testowany związek. Z otrzymanych danych obliczono procentowe inhibitowanie lipogenezy przez testowany związek w stosunku do próby kontrolnej:

| Przykład | Związek | Procentowe inhibitowanie |
|----------|---------|--------------------------|
| IV       | 1       | 63                       |
| V        | 2       | 63                       |
| VI       | 3       | 54                       |

Przykład VII. Środek według wynalazku w postaci granulatu, zawierający jako składnik aktywny wyżej opisany związek 1, 2 lub 3:

|                                              | % wag. |
|----------------------------------------------|--------|
| składnik aktywny                             | 10     |
| „Plasdone“ (środek ułatwiający granulowanie) | 4      |
| laktoza (nośnik)                             | 86     |

Środek ten można podawać zwierzętom np. w ilości odpowiadającej dziennej dawce 25 mg na kg wagi zwierzęcia, dogodnie przez wymieszanie tego środka z pokarmem, np. dla świni można wymaganą dawkę wymieszać z 1,2 kg karmy.

#### Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiinu o wzorze ogólnym 1, w którym n oznacza zero lub jeden, a R jest podstawnikiem przy atomie węgla w pozycji 6 lub 7 i oznacza atom chlorowca, grupę nitrową, metylosulfonyloaminową, trójfluorometylową, aminową, alkilową lub alkoksy o 1-6 atomach węgla, cykloalkilową o 3-6 atomach węgla lub fenylową, **znamienny tym**, że 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiinokarboksylan-2 o wzorze 2, w którym n i R mają wyżej podane znaczenia, a  $R^1$  oznacza grupę alkilową, poddaje się reakcji z alliloaminą w obecności rozpuszczalnika.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosuje się związek wyjściowy o wzorze 2, w którym  $R^1$  oznacza grupę alkilową o 1-5 atomach węgla, a n i R mają wyżej podane znaczenia.

3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 2, w którym  $R^1$  oznacza grupę metylową lub etylową.

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 2, w którym R oznacza atom bromu lub chloru przy atomie węgla w pozycji 6, a n i  $R^1$  mają wyżej podane znaczenia.

5. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosuje się związek o wzorze 2, w którym R oznacza grupę metylową przy atomie węgla w pozycji 6, a n i  $R^1$  mają wyżej podane znaczenia.

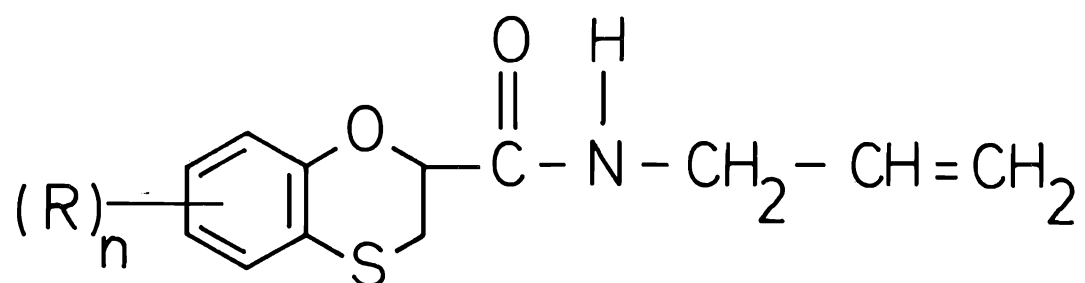
6. Środek inhibitujący lipogenezę u zwierząt ciepłokrwistych, **znamienny tym**, że jako związek aktywny zawiera 2,3-dihydro-1,4-benzoksatiin o wzorze ogólnym 1, w którym n oznacza zero lub jeden, a R oznacza podstawnik przy atomie węgla w pozycji 6, taki jak atom chlorowca, grupa nitrowa, metylosufonyloaminowa, trójfluorometylowa, aminowa, alkilowa lub alkoksy o 1–6 atomach węgla, cykloalkilowa o 3–6 atomach węgla lub fenylowa, oraz nośnik dopuszczalny farmaceutycznie.

7. Środek według zastrz. 6, **znamienny tym**, że zawiera związek o wzorze 1, w którym R oznacza atom bromu lub chloru, a n ma wyżej podane znaczenie.

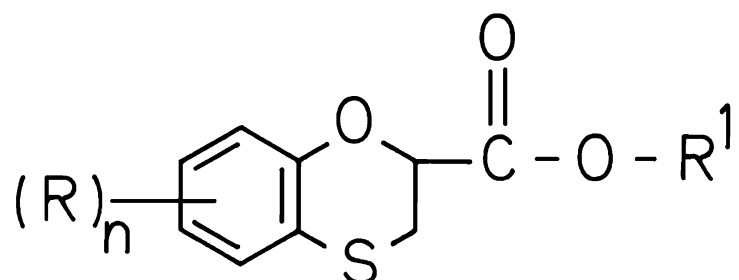
8. Środek według zastrz. 6, **znamienny tym**, że jako związek aktywny zawiera 2,3-dihydro-N-allilo-1,4-benzoksatiino-2-karboksamid.

9. Środek według zastrz. 6, **znamienny tym**, że jako związek aktywny zawiera 6-metylo-2,3-dihydro-1,4-benzoksatiino-2-karboksamid.

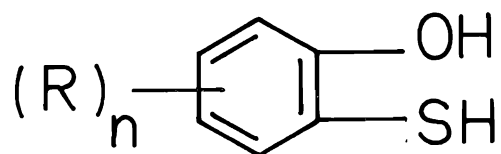
10. Środek według zastrz. 6, **znamienny tym**, że jako związek aktywny zawiera 6-chloro-2,3-dihydro--N-allilo-1,4-benzoksatiino-2-karboksamid.



WZÓR 1



WZÓR 2



WZÓR 3