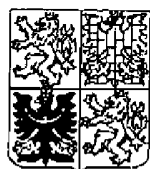


1962-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **13. 12. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **22.12.95**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/9503736**

(33) Země priority: **HU**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14. 10. 98**
(Věstník č. 10/98)

(86) PCT číslo: **PCT/HU96/00075**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/23481**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 D 461/00
A 61 K 31/395

(71) Přihlášovatel:

RICHTER GEDEON VEGYÉSZETI GYÁR RT.,
Budapest, HU;

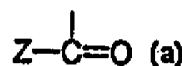
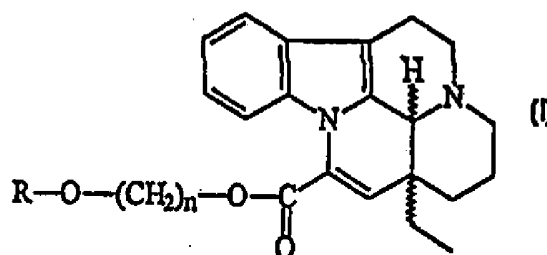
(72) Původce:

Szántay Csaba, Budapest, HU;
Moldvai István, Budapest, HU;
Vedres András, Budapest, HU;
Incze Mária, Budapest, HU;
Kreidl János, Budapest, HU;
Czibula László, Budapest, HU;
Farkas Jenőné Mária, Budapest, HU;
Deutschné Juhász Ida, Budapest, HU;
Gere Anikó, Budapest, HU;
Pellioniszné Paréczai Margit, Budapest, HU;
Lapis Erzsébet, Budapest, HU;
Szekeres András, Szolnok, HU;
Zájerné Balázs Mária, Budapest, HU;
Sarkadi Ádám, Diósd, HU;
Auth Ferenc, Budapest, HU;
Kiss Béla, Budapest, HU;
Kárpáti Egon, Budapest, HU;
Farkas Sándor, Budapest, HU;

(74) Zástupce:

Guttmann Michal JUDr. Ing., Nad Štolou
12, Praha 7, 17000;

čeniny. Vynález se dále týká farmaceutických kompozic obsahujících tyto sloučeniny, stejně jako způsobu přípravy výše uvedených sloučenin a kompozic a navíc i způsobů léčby. Nové sloučeniny vzorce /I/ vykazují zvláště antioxidační, antiischemické a antiamnezické účinky a jsou vhodné pro inhibici peroxidace lipidů a pro ochranu proti ischemii a amnézii a pro jejich léčbu stejně jako pro léčbu různých degenerativních neurologických chorob, například Alzheimerovy choroby.



(54) Název přihlášky vynálezu:

Estery trans-apovinkaminové kyseliny
jako léčiva

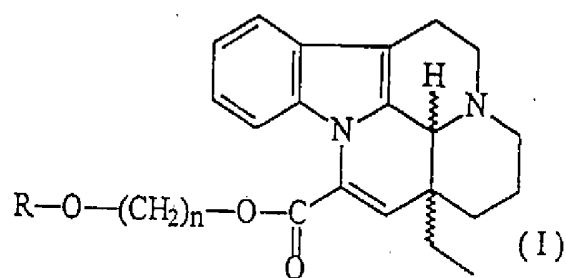
(57) Anotace:

Vynález se týká nových racemických nebo opticky aktivních esterů trans-apovinkaminové kyseliny vzorce /I/, v němž R znamená vodík nebo skupinu /a/, kde Z zastupuje alkylovou skupinu C₁₋₄, volitelně substituovaný aryl, aralkyl, heteroaryl nebo 14-eburnameninylovou skupinu, a n je celé číslo 2, 3 nebo 4, stejně jako terapeuticky použitelné soli této slou-

Estery trans-apovinkaminové kyseliny jako léčiva

Oblast techniky

Tento vynález se týká nových racemických a opticky aktivních esterů apovinkaminové kyseliny vzorce



kde

R znamená vodík nebo skupinu $Z - \overset{|}{C} = O$, přičemž Z zastupuje alkylovou skupinu C_{1-4} , případně substituovaný aryl, aralkyl, heteroaryl nebo 14-eburnameninylovou skupinu a

n je celé číslo 2, 3 nebo 4,

stejně jako jejich terapeuticky použitelné soli a farmaceutické kopozice obsahující tyto sloučeniny. Kromě toho se vynález týká způsobu přípravy výše uvedených sloučenin a kompozic.

Sloučeniny podle vynálezu jsou nové a mají cenné biologické účinky. V podmínkách in vitro vykazují význačné antioxidační účinky (inhibice peroxidace lipidů). Při zkouškách in vivo byly zjištěny pozoruhodné antiischemické a antiamnesické účinky.

Vynález se tudíž týká i způsobu léčení zahrnujícího administraci terapeuticky aktivní dávky sloučeniny vzorce (I) nebo její terapeuticky vhodné soli léčenému pacientovi. Pokud jde o vzorec (I):

Co se týče významu R: Z jako alkylová skupina C_{1-4} může zastupovat nasycené nebo nenasyčené skupiny s přímým nebo rozvětveným řetězcem, jako například skupinu methylovou, ethylovou, n-propylovou, isopropylovou, n-butylovou, sec.-butylovou, terc.-butylovou, isobutylovou, vinylovou, propenylovou a pod.; jako arylová skupina může být jako Z použita například fenylová skupina; jako aralkylová skupina to může být benzylová skupina, difenylmethylová skupina a podobně; jako heteroarylová skupina to může být pěti-, šesti nebo sedmičlenná cyklická skupina obsahující stejné nebo různé heteroatomy, například atom dusíku, kyslíku nebo síry jako například skupinu pyrrolylovou, furylovou, thienylovou, pyridylovou, pyranýlovou, pyrazolylovou,, imidazolylovou, pyrimidinylovou, morfolinylovou a podobně.

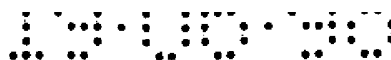
Substituenty výše zmíněných arylových, aralkylových a heteroarylových skupin mohou být halogeny jako fluor, chlor a bróm, alkylové skupiny C_{1-4} a alkoxylové skupiny C_{1-4} , stejně jako hydroxylová, nitro-, amino-, kyano-, trifluormethylová skupina ap.

Terapeuticky přijatelné soli sloučenin vzorce (I) podle vynálezu mohou být kyselé addiční soli nebo kvartérní soli.

Dosavadní stav techniky

Deriváty apovinkaminové kyseliny podle vzorce (II) používané jako výchozí látky lze připravit působením kyselin na vhodné deriváty hydroxyiminoktahydroindol(2,3-a) chinolizinu jak je popsáno v britském patentu GB č. 2,124.214.

Z literatury jsou známé sloučeniny strukturálně příbuzné sloučeninám podle vzorce (I). V maďarském patentu č. 186.891 jsou popsány estery kyseliny trans-apovinkaminové s protizánětlivými, protikřečovými, protiaterosklerotickými



účinky i účinné proti Parkinsonově nemoci. Maďarský patent č. 187.733 popisuje deriváty apovinkaminové kyseliny s postranními řetězci s účinky antihypoxickými nebo vazodilatačními.

Podstata vynálezu

Na rozdíl od výše zmíněných sloučenin známých z literatury, nové estery trans-apovinkaminové kyseliny mají významné účinky antioxidační, anti-amnesické a antiischemické.

Nepřetržitý krevní oběh je nezbytný pro normální funkce centrálního nervového systému (CNS), protože zajišťuje potřebnou saturaci extrémních nároků mozkové tkáně na glukózu a kyslík.

Vlivem ischemie a reperfúze jsou narušeny poznávací pochody: v závislosti na rozsahu a trvání ischemie může dojít k reverzibilnímu i ireverzibilnímu poškození. Poškození struktury a funkce membrán neuronových buněk může vést k zániku neuronu.

V důsledku ischemie může dojít k různým patologickým pochodům jako je vznik volných radikálů. Vznik volných radikálů má za následek oxidaci nenasycených mastných kyselin (peroxidace lipidů), které tvoří důležitou složku membrán. Toto je méně specifický proces destrukce buněk změnami nebo poškozováním biomolekul. Takto lze poškodit funkce různých vrstev buněk, orgánů a celých organismů.

Reakce volných radikálů jsou pravděpodobně příčinou patogeneze některých traumat vyvolaných ischemií jako jsou ischemická střevní onemocnění, ischemie myokardu, hemoragický šok, poruchy cerebrovaskulárních funkcí vázané na ischemii, ischemická onemocnění jater, ledvinová ischemie a podobně.

V důsledku inhibice peroxidace lipidů antioxidační sloučeniny zajišťují ochranu proti traumatům vyvolaným volnými radikály v podmínkách ischemie. Proto mohou být antioxidyanty použitelné jako antiischemické sloučeniny v léčení výše zmíněných patologických nálezů.

Zkoušky in vitro zjišťující antioxidační účinky

Antioxidační účinky byly studovány za použití dvou metod.

1. Účinek na peroxidaci lipidů v mozkových mikrozómech vyvolanou NADPH

J.M.Braughler a další: Nové 21-aminosteroidy jako účinné inhibitory peroxidace lipidů v přítomnosti železa. (J. Biol. Chem., sv. 262, s. 10.438-10.440, 1987).

T.J.Player a A.A.Horton: Enzymová peroxidace lipidů v mikrozomální frakci mozku krysy. (J.Neurochem., sv. 37, 422-426, 1981).

Pro přípravu mikrozómů bylo použito samců krysy Hannover-Wistar s tělesnou hmotností 150-259 g. Po dekapitaci byl vyjmut celý mozek a homogenizován v desetinasobku ledově studeného roztoku sacharózy koncentrace 0,25 M. Homogenát byl 10 minut odstředován na zařízení Hitachi CR 26H při 15.000 g a 4 °C, supernatant (kapalina nad usazeninou) byl potom spojen a 60 minut odstředován na zařízení Hitachi SCP 85H při 78.000 g a 4 °C. Po suspendování precipitátu v roztoku KCl koncentrace 0,15 M byl určen obsah bílkovin v získaném roztoku a upraven na koncentraci 10 mg/ml. Takto získaný mikrozóm byl zmražen ve směsi suchého ledu a acetonu a skladován do použití při -70 °C. Inkubovaná směs měla složení: 50 mM TRIS-HCl (pH 6,8), 0,2 mM chloridu železitého, 1 mM dihydrogenkaliumfosfátu, 0,5 mM ADP, 0,2 mg mikrozómů a testovaná sloučenina. Inkubace byla provedena s konečným množstvím 1 ml při

inkubační době 20 minut a teplotě 37 °C. Lipidová peroxidace byla vyvolána přidáním 0,4 mM NADPH. (Srovnávací vzorky neobsahovaly NADPH). Reakce byla zastavena přidáním roztoku obsahujícího trichlóroctovou kyselinu koncentrace 40 % a HCl koncentrace 5 M v poměru 2:1.

Vznik malondialdehydu byl zjištěn kyselinou thiobarbiturovou. Po uvedeném ukončení reakce byl ke každému vzorku přidán 1 ml 1% roztoku thiobarbiturové kyseliny a vzorky byly na 10 minut umístěny ve vodní lázni teploty asi 100 °C. Potom byly vzorky 10 minut odstředovány při 2.000 g v zařízení Janetzki K70 při teplotě 4 °C. Hodnoty absorbance barevné kapalné fáze z odstředění (supernatantu) byly měřeny na spektrofotometru Hitachi 150-20 při 535 nm. Jako referenční sloučeniny bylo použito malondialdehyd-bis-diethylacetalu.

2. Účinek na peroxidaci lipidů vyvolanou Fe^{2+} v mozkovém homogenátu.

Po dekapitaci krys Hannover-Wistar hmotnosti 150-250 g byl celý mozek homogenizován v 9 objemech ledového ústoje Krebs-Ringer obsahujícího 15 mM HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyethansulfonová kyselina) (pH 7,4), 140 mM NaCl, 3,6 mM KCl, 1,5 mM $CaCl_2$, 0,7 mM $MgCl_2$, 1,4 mM K_2HPO_4 a 10 mM glukózy. Potom byl stanoven obsah proteinu v roztoku a upraven na koncentraci 10 mg/ml.

Po přidání testovaného inhibičního činidla v objemu 5 μ l až 200 μ l homogenátu byla inkubační směs 20 minut inkubována při 37 °C. Peroxidace lipidů vyvolaná Fe^{2+} byla provedena přidáním 5 μ l roztoku $Fe_2(NH_4)_2(SO_4)_2$ koncentrace 8 mM. Po ukončení inkubační doby byla reakce zastavena přidáním 1 ml roztoku obsahujícího HCl v koncentraci 0,8 M a 12,5% kyseliny trichlóroctové, a potom byly vzorky 10 minut

odstředovány při 2.000 g v zařízení Janetzki K70 při 4 °C.

K dávce 0,5 ml supernatantu se přidal 1 ml roztoku 1% thiobarbiturové kyseliny, pak se vzorky umístily na 20 minut ve vodní lázni teploty 100 °C. Intenzita vzniklého zbarvení se stanovovala spektrofotometrem Hitachi 150-20 při 535 nm s použitím bis-diethylacetalu malondialdehydu jako referenční sloučeniny.

Na základě korelací koncentrace/účinek zkoušených sloučenin byly stanoveny hodnoty IC_{50} a tyto výsledky jsou uvedeny pro obě metody v tabulce 1.

TABULKA 1

Sloučenina č.	Příklad č.	AEI (IC_{50} μ M)	ANI (IC_{50} μ M)
2705279	2	6,3	4,8
1010885	1	9,7	15,5
1010962	8	7,5	5,7
1010960	6	7,4	5,7
1010961	7	5,9	5,3
1011005	9	10,3	11,9
2705283	3	11,2	6,8
2705284	4	20,4	6,8
1011008	10	6,0	21,2
1010887	13	12,6	7,2
1010886	18	7,6	7,7
1011038	16	8,4	8,7
1011036	14	7,7	9,3
1011037	13	3,2	11,4
1011047	17	5,9	16,1
Idebenon		1,2	18,9
Vitamin E		406,3	12,1
Silymarin		191,0	54,9

Z údajů v tabulce 1 je zřejmé, že testované sloučeniny vykazovaly mnohem vyšší inhibiční aktivitu vůči peroxidaci lipidů vyvolané NADPH (enzymaticky) než referenční sloučeniny, jak vyplývá z jejich mnohem nižších hodnot IC_{50} než jsou hodnoty IC_{50} DL- α -tokoferolu nebo silymarinu. Vedle sloučenin, jež se projevily jako velice účinné, antioxidační účinek sloučenin č. 2705279, 1010961, 1011008, 1011037 a 1011047 byl srovnatelný s antioxidačním účinkem idebenonu. Sloučeniny č. 1010885, 1010962, 1010960, 1011005, 1010887, 1010886, 1011038, 1011036 a 2705283 inhibují peroxidaci lipidů vyvolanou NADPH asi dvacetkrát účinněji než silymarin.

Převažující většina sloučenin uvedených v tabulce 1 vykazala mnohem silnější inhibiční účinek na peroxidaci lipidů vyvolanou Fe^{2+} (neenzymaticky) než referenční sloučeniny. Zvláště aktivní byly sloučeniny č. 2705279, 2705283, 2705284, 1010962, 1010960, 1010961, 1010887, 1010886, 1011038 a 1011036, a to dvakrát více než idebenon nebo DL- α -tokoferol. Sloučeniny č. 1011005 a 1011037 mají účinek podobný jako DL- α -tokoferol. Sloučeniny č. 1010885 a 1011047 inhibují peroxidaci lipidů vyvolanou ionty Fe^{2+}

účinnější než idebenon. Antioxidační aktivita sloučeniny č. 1011008 rovněž předčí aktivitu silymarinu.

Lze konstatovat na základě údajů získaných při obou řadách testů *in vitro*, že sloučeniny č. 2705279, 1010962, 1010960, 1010961, 1010886, 101138 a 1011036 velmi významně inhibují peroxidaci lipidů vyvolanou různými způsoby (ionty Fe^{2+} nebo NADPH), takže hodnoty IC_{50} těchto sloučenin se nalézají pod koncentrací 10 μM . Poněvadž žádná ze srovnávaných sloučenin nevykazovala takovou účinnost při obou druzích testů (inhibovaly v různém stupni peroxidaci lipidů vyvolanou buď NADPH nebo ionty Fe^{2+}), lze sloučeniny podle vynálezu uznat za účinnější než referenční sloučeniny.

Všechny zkoumané sloučeniny vykazují značnou antioxidační aktivitu, protože jsou schopny inhibovat peroxidaci lipidů způsobenou volnými radikály vzniklými ve Fentonově reakci (katalyzované Fe^{2+}) nebo působením enzymu NADPH-cytochrom *c* reduktáza.

Zkratky:

NADPH:	redukována forma fosfátu nikotinamid-adenindinukleotidu
TRIS:	tris(hydroxymethyl)aminomethan
ADP:	adenosin-5'-difosfát
idebenon:	6-(10-hydroxydecyl)-2,3-dimethoxy-5-methyl-1,4-benzochinon
DL- α - tokoferol:	2,5,7,8-tetramethyl-2-(4',8',12'-trimethyltridecyl)-6-chromanol
ellagová kyselina:	2,3,7,8-tetrahydroxy(1)benzopyrano(5,4,3-cde)(1)benzopyran-5,10-dion
silymarin:	silybinin + silydianin + silychristin
AEI:	zkouška peroxidace lipidů vyvolaná enzymaticky (NADPH)

ANI: zkouška peroxidace lipidů vyvolaná
neenzymaticky (Fe^{2+})

**Zkoušky in vitro použité pro zjištění antiischemických
a antiamnesických účinků**

**1. Antiischemický účinek (na modelu oboustranně
podvázané cévy)**

N.Himori a další: Model mozové ischemie s aktivací receptoru NMDA a poruchy schopnosti učení a paměti s použitím myši při plném vědomí. (J.Pharmacol.Meth., sv. 23, s. 311-327, 1990).

Tabulka 2

Sloučenina č.	Příklad č.	Úmrtnost, %
2705279	2	10
1010885	1	60
1010960	6	20
1010961	7	60
1010962	8	40
1011005	9	70
1010887	13	30
1010886	13	30
1011036	14	50
1011037	15	50
1011038	16	60
1011047	17	50
Idebenon		40
Vitamin E		70
Kontrola		70

Karotidy (krční tepny) myši (hmotnosti 30 až 32 g) se za narkózy oboustranně vystavily intraperitoneálnímu (i.p.)

působení chloralhydrátu v dávce 450 mg/kg. Sympatické a bludné nervy se oddělily a karotidy se oboustranně volně podvázaly. Oba konce úvazku byly vyvedeny na hřbet za uši. Příštího dne byly při plném vědomí myši oba konce úvazku utaženy a tím byl přerušen přívod krve krčními tepnami. Tento stav se udržoval 5 minut a pak bylo podvázání uvolněno s cílem obnovit prokrvení (reperfúzi). Počet zvířat uhynulých během prvních 5 minut a v následujících 24 hodinách byl zaznamenáván. Výpočet a vyhodnocení se provedlo testem χ^2 . 30 minut před podvázáním se intraperitoneálně (i.p.) podávaly zkoušené sloučeniny. Tabulka 2 ukazuje vliv dávek 2 mg/kg těchto sloučenin i.p. na úmrtnost způsobenou oboustranným podvázáním tepen.

Tabulka 3 ukazuje hodnoty ED_{50} referenčních sloučenin i nejúčinnějších sloučenin podle vynálezu podávaných intraperitoneálně.

Tabulka 3

Sloučenina	ED_{50} i.p. (mg/kg)
Idebenon	4,50 (0,96-9,38)
Vitamin E	17,80 (8,46-41,8)
2705279	0,76 (0,2-1,27)

Biologická aktivita in vivo sloučenin s výrazným antioxidačním účinkem ($IC_{50} < 10 \mu M$) in vitro byla zjišťována na modelu cerebrální ischémie vyvolané oboustranné podvázáním tepny. Přechodný dramatický pokles přívodu krve do mozku, posléze počátek reperfúze (opětovné prokrvování) vede ke vzniku mimořádně toxických kyslíkatých volných radikálů (superoxidový radikál, peroxid vodíku). Sloučeniny s antioxidačními vlastnostmi jsou velice účinné v ochraně proti toxickým účinkům uvolněných radikálů. Pětiminutové

Antiamnesická účinnost sloučenin podle vynálezu byla potvrzena následujícím pokusem.

C. L. Broekamp a další: Srovnání účinků benzodiazepinů, progabidu a PK 9084 na získání pasivní inerce (passive avoidance) u myši. [Psychopharmacology (Berlin), sv. 83, s. 122-125, 1984.]

Testy paměti se prováděly na myších NMRI s hmotností mezi 25 a 28 g za použití metody pasivní inerce (avoidance), což je metoda založená na geneticky založeném nyktofilním chování hlodavců. V periodě učení se předem vybraná zvířata (myši vstupující z osvětleného prostoru do tmavého prostoru během 30 vteřin) umístila v osvětleném prostoru. Po vstupu

do tmavého prostoru dostala zvířata během 30 vteřin elektrický šok na plantu (intenzita 1 mA za 3 min.), potom se zaznamenávala perioda latence, doba před vstupem do tmavého prostoru. Po 24 hodinách byla zvířata opět umístěna v osvětleném prostoru a měřila se doba potřebná ke vstupu do tmavého prostoru (retenční doba = T s časovým limitem do 300 sekund). Pro vyvolání anterográdní amnézie byla zvířata 30 minut před učením opatřena dávkou 3 mg/kg diazepamu.

Sloučeniny byly podávány perorálně v dávkách 0,1 resp. 10 mg/kg 1 hodinu před učením. Procentuální hodnota ochranného účinku (P%) byla vypočítána pomocí následujícího vzorce a v tabulce 4 je uvedena pro sloučeniny podle vynálezu:

$$P\% = [(T_{\text{sloučenina}} + \text{DIA}) - (T_{\text{placebo}} + \text{DIA})] \times 100 : [(T_{\text{placebo}}) - (T_{\text{placebo}} + \text{DIA})]$$

Tabulka 4

Účinek sloučenin v modelové anterográdní amnézii vyvolané diazepamem

Sloučenina		Inhibice amnézie vyvolané diazepamem, %	
č.	příklad č.	0,1 mg/kg p.o.	0,1 mg/kgmp.o.
1010885	1	74	65
2705279	2	79	119
1010960	6	0	0
1010961	7	3	15
1010962	8	16	4
1010887	13	50	56
1010886	18	72	44
1011038	16	64	24
1011036	14	23	16
Vinpocetin		0	123

Sloučeniny s antioxidační aktivitou vykazují významný

ochranný účinek v případech mozkové ischemie (přechodný ischemický atak (TIA), mrtvice), kde k poškození schopnosti učit se a paměti může dojít spolu s neurologickými symptomy různé intenzity. Amnezický účinek sloučenin podle vynálezu byl studován na modelu anterográdní amnézie vyvolané diazepamem s použitím vinpocetinu jako referenční sloučeniny, který je strukturálně podobný a užívá se v klinické praxi. Aktivní sloučeniny byly nalezeny mezi deriváty jak trans- α -ethylapovinkaminové kyseliny tak trans- β -ethylapovinkaminové kyseliny. Jako zvláště účinné byly shledány sloučeniny č. 2705279, 1010886, 1011038 a 1010887. Nejaktivnější látkou byla sloučenina č. 2705279 s výrazným ochranným účinkem v obou užívaných dávkách a s aktivitou daleko překračující aktivitu vinpocetinu. Antiamnesický účinek sloučeniny 2705279 byl potvrzen i v jiných modelech amnézie: vykázal ochranný účinek při orálně podávané dávce v rozmezí 0,1 až 10 mg/kg na modelu retrográdní amnézie a chránil proti zhoršení paměti vyvolanému ischemií při perorálně podávané dávce v rozmezí 1 až 10 mg/kg. Její antiamnezický účinek mohl být dobře měřen i na krysách.

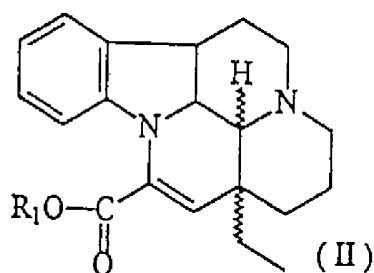
Shrnutí

Nové deriváty trans-apovinkaminové kyseliny podle vynálezu mají značné antioxidační a antiischemické účinky. Antioxidační aktivita sloučeniny č. 2705279, jež byla shledána jako nejúčinnější, předčí in vitro i in vivo aktivitu idebenonu resp. vinpocetinu, používaných jako srovnávací sloučeniny. Kromě antioxidačních a antiischemických účinků vykazují sloučeniny podle vynálezu i antiamnesický účinek různé intenzity. Sloučenina č. 2705279 je nejméně aktivní i v tomto ohledu.

Sloučeniny podle vynálezu jsou díky svým antioxidačním, antiischemickým a antiapoplektickým účinkům použitelné při léčbě patologických obrazů, kde se volné radikály uplatňují buď v akutní fázi onemocnění nebo při vývinu pozdějších následků. Jsou to cerebrovaskulární ischemická poškození, mrtvice, apoplexie, cerebrální nebo spinální traumata, subarachnoidální nebo intracerebrální hemoragie stejně jako různé neurodegenerativní choroby jako Alzheimerova choroba. Díky své antiischemické aktivitě mohou být tyto sloučeniny použitelné pro léčbu nejen ischemického poškození mozku, ale i jiných orgánů jako ku příkladu jater, srdce nebo svalstva.

Při výše zmíněných klinických syndromech jsou předpokládané dávky sloučenin podle vynálezu mezi 0,1 a 40 mg/kg tělesné hmotnosti, a podávají se jednou denně nebo v několika dělených dávkách perorálně nebo parenterálně.

V souladu s vynálezem lze připravit nové deriváty esteru trans-apovinkaminové kyseliny formule (I) stejně jako jejich terapeuticky použitelné soli transesterifikací racemického nebo opticky aktivního derivátu esteru trans-apovinkaminové kyseliny vzorce



kde R_1 představuje alkylovou skupinu C_{1-4} ve vhodném glykolu v přítomnosti bazického katalyzátoru a v případě potřeby acylací takto získané sloučeniny vzorce (I) kde R je vodík, a/nebo podle přání štěpením racemické sloučeniny vzorce (I) a/nebo podle přání konverzí sloučeniny vzorce (I) na její

terapeuticky přijatelné soli.

V dalším bude podrobně popsána příprava nových terapeuticky aktivních sloučenin podle vynálezu.

Ve způsobu podle vynálezu pro přípravu sloučeniny vzorce (I), kde R zastupuje vodík, se sloučenina vzorce (II) podrobí transesterifikaci. Tato reakce se provádí v nadbytku transesterifikačního alkoholu, například vhodného glykolu, s výhodou ethylenglykolu, v bezvodých podmínkách a v přítomnosti katalytického množství silné báze. Jako báze lze užít hydridy alkalického kovu nebo alkoxidy alkalického kovu, za vhodné se považují terciární alkoxidy, s výhodou například terciární butoxid draslíku. Transesterifikace se děje v teplotním rozsahu mezi 80 °C a 140 °C, s výhodou mezi 110 °C a 120 °C. Podle přání je možno reakční produkt této reakce použít v příštím reakčním stupni bez předběžné izolace; případně jej lze izolovat i tím způsobem, že se reakční směs vlije do vody a po filtraci se sraženina může přechistit překrystalováním; nebo lze reakční směs po zředění vodou extrahovat inertním s vodou nemísitelným organickým rozpouštědlem jako je dichlormethan nebo chlorbenzen a pak se produkt izoluje odpařením nebo jako sůl. Sloučeniny formule (I), kde R je vodík, lze acylací transformovat na

sloučeniny vzorce (I), kde R je skupina $Z - \overset{|}{\text{C}} = \text{O}$.

Acylační reakce se může provést kteroukoliv organickou karboxylovou kyselinou obsahující vhodnou acylovou skupinu, nebo použitím jejího reaktivního derivátu jako je například acylhalogenid, výhodně acylchlorid nebo anhydrid kyseliny nebo podobně a to známým způsobem, podle přání v přítomnosti činidla vázajícího kyselinu.

Při acylaci vhodnou karboxylovou kyselinou se reakce provádí v inertním organickém rozpouštědle, například v

dipolárním aprotickém rozpouštědle jako je dimethylformamid (DMF), dimethylsulfoxid (DMSO), acetonitril a podobně v přítomnosti kondenzačního činidla. Vhodnými kondenzačními činidly jsou například karbodiimidové deriváty jako například dicyklohexylkarbodiimid nebo karbonyldiimidazol. Reakce se provádí při teplotách od 0 °C do 40 °C, s výhodou při pokojové teplotě.

Provádí-li se acylace pomocí acylhalogenidu, vhodný je například acylchlorid, reakce probíhá v inertním organickém rozpouštědle jako je alifatický nebo cyklický éter, například diethyléter nebo tetrahydrofuran (THF), nebo v chlorovaném uhlovodíku, například v chloroformu, nebo v aromatickém uhlovodíku, například benzenu, chlorbenzenu nebo toluenu, nebo v organické bázi, například pyridinu, výhodně v přítomnosti činidla vázajícího kyselinu. Organické báze použité v reakci, například pyridin, mohou současně hrát dvojí roli, rozpouštědla i činidla vázajícího kyselinu.

Sloučeniny vzorce (I), kde R zastupuje skupinu $Z - \overset{|}{C} = O$, lze izolovat z rozpouštědla tak, že po odstranění rozpouštědla nebo podle přání nadbytku reagentu a činidla vázajícího kyselinu se získaný zbytek rozpustí ve směsi vody a rozpouštědla nemísitelného s vodou, jako je ethylacetát, chloroform, dichlormethan, benzen, diethyléter a podobně a potom se v případě potřeby přidáním vodného hydroxidu amonného nebo vodného roztoku hydrogenuhličitanu alkalického kovu nastaví pH na slabě alkalickou hodnotu (pH 8 až 9) a fáze se oddělí. Organická fáze se promyje vodou, vysuší a rozpouštědlo se za sníženého tlaku oddělí, takže se získá požadovaná sloučenina.

Sloučeninu vzorce (I) podle vynálezu lze případně převést na kvartérní soli. Pro tuto konverzi se používá o

něco vyšší než evimolekulární množství alkylhalogenidu, výhodně chloridu, bromidu, jodidu nebo alkylsulfátu. Reakci lze uskutečnit v inertním organickém aprotickém a dipolárním rozpouštědle.

Podle potřeby lze sloučeniny (I) podle vynálezu převést na jejich kyselé addiční soli známým způsobem s použitím jakékoliv kyseliny vhodné pro vznik terapeuticky použitelné kyselé addiční soli.

Volitelně se mohou sloučeniny vzorce (I) připravené způsobem podle vynálezu nebo jejich soli dodatečně přečišťovat, například překrystalováním. Výčet rozpouštědel použitelných pro překrystalování závisí na vlastnostech určujících rozpustnost a krystalizaci rekrystalovaných sloučenin.

Nové estery trans-apovinkaminové kyseliny vzorce (I) podle vynálezu mohou být racemické nebo opticky aktivní. Při použití opticky aktivních sloučenin vzorce (II) jako výchozích surovin se získají opticky aktivní sloučeniny formule (I), zatímco použití racemických sloučenin vzorce (II) jako výchozích sloučenin vede ke vzniku racemických sloučenin vzorce (I). Z racemátů vzorce (I) se získají opticky aktivní sloučeniny jejich štěpením známým způsobem.

Nové racemické nebo opticky aktivní estery trans-apovinkaminové kyseliny vzorce (I) nebo jejich soli se převedou na farmaceutické kompozice smíšením s netoxickými, inertními, pevnými nebo kapalnými nosiči a/nebo ostatními přísadami běžně používanými v terapii pro parenterální nebo enterální administraci. Použitelné nosiče jsou například voda, želatina, laktóza, škrob, pektin, stearát hořečnatý, stearová kyselina, talek, rostlinné oleje jako podzemnicový olej, olivový olej a podobně. Aktivní složku lze formulovat v podobě jakékoliv farmaceutické kompozice, zvláště jako

pevnou kompozici, například tabletu, dražé, tobolku, čípek a podobně. Množství pevného nosiče se může pohybovat v širokých limitech, výhodně mezi 25 mg a 1 g. Podle přání mohou tyto kompozice obsahovat také další běžně přísady používané ve farmacii, například stabilizátory, konzervační prostředky, smáčedla, povrchově aktivní prostředky, emulgační činidla a podobně. Tyto kompozice se mohou připravovat známým způsobem kteroukoliv běžnou farmaceutickou technologií a podle přání se mohou podrobit dalším běžným operacím jako například sterilizaci.

Příklady provedení vynálezu

Vynález je podrobně ilustrován pomocí následujících příkladů, které nemají limitující význam.

PŘÍKLAD 1

Příprava 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)

15 g (0,045 molu) methylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) se v 300 ml ethylenglykolu v přítomnosti 1 g terc.butoxidu draselného za míchání zahřívá 5 hodin při 120 °C a pak se reakční směs ochladí na pokojovou teplotu. Směs se vlije do 1 l ledově studené vody, krystalická sraženina se sfiltruje, dvakrát promyje 50 ml vody a usuší s výtěžkem 15,9 g (97 %) produktu uvedeného v titulku s teplotou tání 82-87 °C.

$[\alpha]_D^{20} = -138,7^\circ (c=0,2; \text{chloroform})$.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 0,65 (3H), t, CH_3CH_2); 0,66-3,2 (14H, m, skeletální protony, OH);

3,85 (2H, m, HO-CH_2); 4,43 (2H, m $\text{CH}_2\text{-O-C=O}$); 6,35 (1H, s, H-15); 7,00-7,55 (4H, m, aromatické protony).

Rozbor:

Pro $C_{22}H_{26}N_2O_3$ (molekulová hmotnost 366,44):

vypočteno: C 72,10; H 7,15; N 7,65 %;

nalezeno: C 71,89; H 7,15; N 7,62 %;

Příklad 2

Příprava 2-acetoxyethylestermonohydrochloridu /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)

K roztoku obsahujícímu 3,66 g (0,01 mol) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) v 50 ml bezvodého pyridinu se po kapkách přidá 5 ml (0,052 molu) acetanhydridu, reakční směs se nechá přes noc stát při pokojové teplotě, pak se za sníženého tlaku odpaří do sucha. Po rozpuštění odpařeného zbytku ve směsi 100 ml ethylacetátu se přidá 30 ml vody a 50 ml nasyceného roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného a fáze se oddělí. Organická vrstva se třikrát promyje 20 ml vody a usuší nad bezvodým síranem sodným.

Roztok zbytku z odpařování v 30 ml isopropanolu se okyslí na pH 4 přidáním roztoku chlorovodíku v ethanolu, ponechá stát přes noc v chladničce a pak se krystalická sraženina sfiltruje a usuší s výtěžkem 2,8 g (62 %) produktu uvedeného v nadpisu s teplotou tání 179-189 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -118,9^\circ$ (c=0,2, methanol).

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 0,75 (3H, t, CH_2CH_3); 2,1 (3H, s, CH_3CO);

4,28 (1H, s, H-3); 6,28

(1H, s, H-15); 4,30-4,70 (4H, m, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$); 7,05-7,60

(4H, m, aromatické protony).

Příklad 3

Příprava 2-(2-thifenoyloxi)ethylestermonohydrochloridu /-/-

K roztoku připravenému při pokojové teplotě z 3,66 g (0,01 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) ve 20 ml bezvodého pyridinu se přidají 4,2 g (0,0225 molu) 4-nitrobenzoylchloridu a reakční směs se ponechá stát přes noc. Po zředění reakční směsi 150 ml ethylacetátu se přidá 50 ml vody a 3 ml koncentrovaného vodného roztoku hydroxidu amonného. Fáze se oddělí, potom se organická fáze promyje čtyřikrát dávkou 25 ml vody a usuší

nad bezvodým síranem sodným. Po filtraci se roztok za sníženého tlaku odpaří do sucha, olejovitý zbytek se rozpustí v 50 ml horkého isopropanolu, vyčeří aktivovaným uhlím a po sfiltrování se nechá několik hodin stát. Krystalická sraženina se sfiltruje, promyje 10 ml isopropanolu a usuší s výtěžkem 2,6 g (58 %) produktu uvedeného v nadpisu, s teplotou tání 139-142 °C; $[\alpha]_D^{20} = -86,7^\circ$ ($c=0,2$; chloroform).

Příklad 5

Příprava 2-(nikotinoyloxy)ethylesterdihydrochloridu /-/- trans-apovinkaminové kyseliny (3β, 16α)

K roztoku obsahujícímu 2,4 g (0,0065 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3β, 16α) ve 20 ml bezvodého pyridinu se po kapkách přidá 2,15 g (0,015 molu) nikotinoylchloridu rozpuštěného v 10 ml pyridinu, reakční směs se míchá 3 hodiny při pokojové teplotě a za sníženého tlaku odpaří do sucha. Po rozpuštění zbytku z odpařování ve směsi 150 ml ethylacetátu a 50 ml nasyceného roztoku hydrogenuhličitanu sodného se fáze oddělí. Organická vrstva se dvakrát promyje dávkami 20 ml vody a usuší nad bezvodým síranem sodným. Po sfiltrování se roztok odpaří za sníženého tlaku do sucha, zbytek po odpaření se rozpustí v 30 ml isopropanolu a roztok se okyselí na pH 4 přidáním roztoku chlorovodíku v ethylalkoholu. Po odpaření do sucha za sníženého tlaku se zbytek nechá krystalizovat z 50 ml ethylacetátu s výtěžkem 1,30 g (36 %) sloučeniny uvedené v nadpisu s teplotou tání 158-164 °C; $[\alpha]_D^{20} = -69,5^\circ$ ($c=0,2$; chloroform).

Rozbor:

Pro $C_{28}H_{29}N_3O_4 \cdot 2HCl$ (molekulová hmotnost 544,47):

vypočteno: C 61,76; H 5,73; N 7,71; Cl 13,02 %;
nalezeno: C 61,73; H 6,05; N 7,69; Cl 12,90 %;

PŘÍKLAD 6

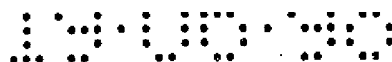
Příprava 2-(benzoyloxy)ethylesterhydrochloridu /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)

K roztoku 4,4 g (0,012 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) v 60 ml chlorbenzenu se přidá 1,83 g (0,018 molu) triethylaminu a 2,5 g (0,018 molu) benzoylchloridu. Směs se 30 minut míchá při 40 °C, potom se zalkalizuje na pH 8 přidáním 15 ml 10% roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Po oddělení fází se organická fáze dvakrát promývá dávkami 20 ml vody a usuší nad bezvodým síranem hořečnatým. Po odfiltrování sušidla a dvojnásobném promytí dávkami 3 ml chlorbenzenu se přidá roztok chlorovodíku v dioxanu, čímž se pH změní na 3-4, krystalická sraženina se při 0 °C odfiltruje, důkladně rozetře ve studeném acetonu a sfiltruje s výtěžkem 4,8 g (79 %) produktu uvedeného v titulku s teplotou tání 216-217,5 °C; $[\alpha]_D^{20} = -86,6^\circ$ (c=1; methanol).

PŘÍKLAD 7

Příprava 2-(4-chlorbenzoyloxy)ethylestermethansulfonátu /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)

Po rozpuštění 4,4 g (0,012 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) v 60 ml dichlormethanu se přidá 1,83 g (0,018 molu) triethylaminu a 3,15 g (0,018 molu) 4-chlorbenzoylchloridu a reakční směs se míchá 30 minut při 40 °C. Po ochlazení na 10 °C se přidá 25 ml vody a pH směsi se upraví na 8 přidáním 15 ml 10% roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Po oddělení se organická fáze



dvakrát promývá 20 ml vody a usuší nad bezvodým síranem hořečnatým. Po sfiltrování sušidla a dvojnásobném promytí 5 ml dichlormethanu se organická fáze odpaří do úplného odstranění rozpouštědla. Zbytek se rozpustí v 35 ml acetonu a okyselí na pH 4 přidáním methansulfonové kyseliny. Krystalická sraženina se sfiltruje při 0 °C, promyje studeným acetonem a usuší s výtěžkem 5,85 g (81 %) soli uvedené v titulku s teplotou tání 197-199 °C; $[\alpha]_D^{20} = -73,3^\circ$ (c = 1; methanol).

PŘÍKLAD 8

Příprava 2-(propionyloxy)ethylesterhydrochloridu /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3β, 16α)

K roztoku obsahujícímu 4,4 g (0,012 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinakaminové kyseliny (3β, 16α) ve 100 ml chlorbenzenu se přidá 5,33 g (0,04 molu) anhydridu kyseliny propionové a 1,4 g (0,014 molu) triethylaminu. Po čtyřhodinovém míchání reakční směsi při 80 °C se oddestiluje za sníženého tlaku 40 ml chlorbenzenu a přebytek propionové kyseliny. Po přidání 25 ml vody ke zbytku při pokojové teplotě se upraví pH na 8 přidávkem 20 ml 10% roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Po oddělení fází se organická fáze dvakrát promyje dávkami 20 ml vody a usuší nad bezvodým síranem hořečnatým. Sušidlo se odfiltruje a dvakrát promyje dávkami 3 ml chlorbenzenu. Po odpaření organické fáze za sníženého tlaku do úplného odstranění rozpouštědla se zbytek rozpustí ve 40 ml acetonu a okyselí na pH 4 přidáním roztoku chlorovodíku v dioxanu. Krystaly se sfiltrují při 5 °C, promjí acetonem a suší s výtěžkem 4,2 g (76 %) hydrochloridu uvedeného v titulku s teplotou tání 219-220 °C; $[\alpha]_D^{20} = -111,9^\circ$ (c=1; methanol).

PŘÍKLAD 9**Příprava 2-(3,4,5-trimethoxy-benzoyloxy)ethylesterhydrochloridu /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)**

K roztoku obsahujícímu 5,1 g (0,014 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) v 80 ml dichlorethanu se přidají 2 g (0,02 molu) triethylaminu a 4,6 g (0,02 molu) 3,4,5-trimethoxybenzoylchloridu. Směs se 1 hodinu míchá při 50 °C, pak se při pokojové teplotě přidá 50 ml vody a směs se alkalizuje na pH 8 přidávkem 20 ml 10% roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného. Po oddělení fází se organická fáze dvakrát promyje dávkami 25 ml vody a usuší nad bezvodým síranem hořečnatým. Po odfiltrování sušidla a promytí dvakrát dávkou 5 ml dichlorethanu se filtrát odpaří při sníženém tlaku do sucha, zbytek se rozpustí v 25 ml ethylacetátu a okyselí na pH 4 roztokem chlorovodíku v dioxanu. Krystalická sraženina se zfiltruje při 10 °C a promyje acetonem s výtěžkem 6,2 g (76 %) hydrochloridu uvedeného v titulku s teplotou tání 191-194 °C; $[\alpha]_D^{20} = -96,2^\circ$ (c=1; methanol).

PŘÍKLAD 10**Příprava ethylenglykolesterdihydrochloridu /-/-bis-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)**

K roztoku obsahujícímu 5,1 g (0,014 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) v 100 ml dichlorethanu se přidá 6 g (0,06 molu) triethylaminu, potom za chlazení 7,54 g (0,02 molu) hydrochloridu (-)-trans-apovinkaminylchloridu a pak se reakční směs míchá dvě hodiny při pokojové teplotě. Po

přidání 50 ml vody a 20 ml 10% roztoku hydrogenuhličitanu sodného ke směsi pro zvýšení pH na 8 a oddělení fází se organická fáze dvakrát promyje dávkami 25 ml vody, usuší nad bezvodým síranem hořečnatým, sfiltruje a dvakrát promyje dávkami 5 ml dichlorethanu. Organická vrstva se odpaří do odstranění všeho rouzpouštědla. Zbytek se rozpustí v 60 ml acetonu a okyselí na pH 3,5 přidavkem chlorovodíku rozpuštěného v dioxanu. Krystalická sraženina se sfiltruje při 5 °C a promyje acetonem s výtěžkem 6,55 g (63 %) dihydrochloridu uvedeného v titulku.

Teplota tání 222-225 °C; $[\alpha]_D^{20} = -131,5^\circ$ (C=1; methanol).

Příklad 11

Příprava 2-(acetoxylestermethansulfonátu /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3β, 16α)

K roztoku obsahujícímu 7,3 g (0,02 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3β, 16α) v 100 ml dichlorethanu se přidají 2,2 g (0,022 molu) triethylaminu a 2,42 g (0,03 molu) acetylchloridu. Směs se 15 minut míchá při 50 °C, pak se při pokojové teplotě přidá 50 ml vody a směs se alkalizuje na pH 8 přidavkem 20 ml 10% roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Po oddělení fází se organická fáze dvakrát promyje dávkami 25 ml dichlorethanu a usuší nad bezvodým síranem hořečnatým. Po odfiltrování sušidla a promytí dvakrát dávkou 5 ml dichlorethanu se filtrát odpaří při sníženém tlaku do sucha, zbytek se rozpustí v 40 ml ethylacetátu a okyselí na pH 3 methansulfonovou kyselinou. Krystalická sraženina se sfiltruje při 0 °C a promyje ethylacetátem a usuší s výtěžkem 7,75 g (77 %) soli uvedené v titulku s teplotou tání 130-133 °C.

$[\alpha]_D^{20} = -92,2^\circ$ ($c=1$; methanol).

PŘÍKLAD 12

Příprava 2-(acetoxy)ethylesterbenzensulfonátu /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)

Způsobem popsáním v příkladu 11 se provede příprava soli s použitím benzensulfonové kyseliny místo methansulfonové kyseliny při pH 3,5. Benzensulfonová ať se získá ve výtěžku 7,9 g (70 %), teplota tání je 180,5 až 183 °C; $[\alpha]_D^{20} = -90,3^\circ$ ($c=1$; methanol).

PŘÍKLAD 13

Příprava 2-hydroxyethylesteru /+/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)

Roztok obsahující 16,88 g (0,05 molu) methylesteru /+/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) v 335 ml ethylenglykolu se míchá 5 hodin s 1 g terc.butoxidu draselného při 120 °C. Po ochlazení na pokojovou teplotu se reakční směs pomalu vleje do 1 litru ledově studené vody. Sraženina se sfiltruje, třikrát promyje dávkami 500 ml vody a usuší s výtěžkem 17,6 g (96 %) sloučeniny uvedené v titulku; teplota tání je 85-90 °C; $[\alpha]_D^{20} = +131,2^\circ$ ($c=1$; chloroform).

PŘÍKLAD 14

Příprava 2-(benzoyloxy)ethylesterhydrochloridu /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)

Při aplikaci způsobu popsaného v příkladu 6 se 4,4 g (0,12 molu) 2-hydroxyethylesteru /+/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) použijí místo 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) s výtěžkem 4,7 g (77

$$^{\circ}\text{C}; [\alpha]_{\text{D}}^{20} = +84,9; (c=1; \text{methanol}).$$

Příklad 15

Příprava 2-(4-chlorobenzoyloxy)ethylestermethansulfonátu /+/-
trans-apovinkaminové kyseliny (3β, 16α)

Aplikuje se způsob popsáný v příkladu 7, ale místo 4,4 g (0,12 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3β, 16α) se použije 4,4 g (0,12 molu) 2-hydroxyethylesteru /+/-trans-apovinkaminové (3β, 16α) s výtěžkem 5,5 g (76 %) soli uvedené v titulku s teplotou tání 199-200 °C;

$[\alpha]_D^{20} = +73,3^\circ (c=1; \text{methanol})$.

PŘÍKLAD 16

Příprava 2-(propionyloxy)ethylesterhydrochloridu +/-trans-
apovinkaminové kyseliny (3β, 16α)

Aplikuje se způsob popsáný v příkladu 8, ale místo 4,4 g (0,012 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3β, 16α) se použije 4,4 g (0,012 molu) 2-hydroxyethylesteru /+/-trans-apovinkaminové kyseliny (3β, 16α) s výtěžkem 4,35 g (79 %) hydrochloridu uvedeného v titulku s teplotou tání 220-221 °C;

$[\alpha]_D^{20} = +109,7^\circ (c=1; \text{methanol}).$

PŘÍKLAD 17

Příprava 2-(3,4,5-trimethoxybenzoyloxy)ethylesteru /+/-
trans-apovinkaminové kyseliny (3β, 16α)

Aplikuje se způsob popsáný v příkladu 9, ale místo 5,1 g (0,14 mol) 2-hydroxyethylesteru /-/-trans-apovinkaminové

kyseliny (3 β , 16 α) se použije 5,1 g (0,14 molu)
 2-hydroxyethylesteru /+/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β ,
 16 α) s výtěžkem 6,2 g (76 %) hydrochloridu uvedeného v
 titulku s teplotou tání 192-195 °C;
 $[\alpha]_D^{20} = +95,3^\circ$ (c=1; methanol).

Příklad 18

Příprava 2-(acetoxy)ethylesterhydrochloridu /+/-trans- apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)

K roztoku 7,3 g (0,02 molu) 2-hydroxyethylesteru /-/-
 trans-apovinakaminové kyseliny (3 β , 16 α) v 100 ml
 dichlorethanu se přidají 2,2 g (0,022 molu) triethylminu a
 2,42 g (0,03 molu) acetylchloridu. Míchá se 25 minut při 40
 °C, přidá se 50 ml vody při pokojové teplotě a pak se
 přidávkem 20 ml 10% roztoku hydrogenuhličitanu sodného
 upraví pH na 8. Po oddělení fází se organická fáze dvakrát
 promyje dávkami 25 ml vody a usuší nad bezvodým síranem
 hořečnatým. Po sfiltrování se sušidlo dvakrát promyje
 dávkami 5 ml dichlorethanu a filtrát se za sníženého tlaku
 odpaří do odstranění rozpouštědla. Zbytek se rozpustí ve 40
 ml ethylacetátu a okyselí na pH 4 přidáním roztoku
 chlorovodíku v dioxanu. Krystalická sraženina se odfiltruje
 při 0 °C, promyje ethylacetátem a usuší s výtěžkem 6,95 g
 (78 %) hydrochloridu uvedeného v titulku s teplotou tání
 221-224,5 °C;
 $[\alpha]_D^{20} = +107,4$; (c=1; methanol).

PŘÍKLAD 19

Příprava 2-hydroxyethylesterhydrochloridu racemické trans- apovinakaminové kyseliny

Aplikuje se způsob popsáný v příkladu 13, ale místo

16,8 g (0,05 molu) methylesteru /+/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) se použije 16,8 g (0,05 molu) methylesteru racemické trans-apovinkaminové kyseliny za vzniku hydrochloridu racemátu uvedeného v titulku s výtěžkem 17,4 g (95 %) s teplotou tání 97-101 °C.

Příklad 20

Příprava 2-(acetoxi)ethylesterhydrochloridu racemické trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)

Aplikuje se způsob popsáný v příkladu 18, ale místo 7,3 g (0,02 molu) 2-hydroxyethylesteru /+/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) se použije 7,3 g (0,02 molu) 2-hydroxyethylesteru racemické trans-apovinkaminové kyseliny za vzniku hydrochloridu uvedeného v titulku s výtěžkem 7,1 g (80 %) s teplotou tání 187-189 °C.

PŘÍKLAD 21

Příprava 3-hydroxypropylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)

Aplikuje se způsob popsáný v příkladu 1, ale použije se 300 ml propylenglykolu místo 300 ml ethylenglykolu. Po vlití do vody se získaný olej nemísitelný s vodou rozpustí v 100 ml dichlormethanu a dvakrát se promyje dávkami 20 ml vody. Organická fáze se suší nad bezvodým síranem hořečnatým a sfiltruje. Sušidlo se dvakrát promyje dávkami 5 ml dichlormethanu a filtrát se odpaří za sníženého tlaku do odstranění rozpouštědla. Sloučenina uvedená v titulku se získá s výtěžkem 16,8 g jako světle žlutý viskozní olej. Po překrystalování z acetonu hydrochlorid taje při 216-218 °C; $[\alpha]^{20}_D = -122,2^\circ$ (c=1; methanol).

PŘÍKLAD 22**Příprava 3-(acetoxy)propylesterhydrochloridu /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α)**

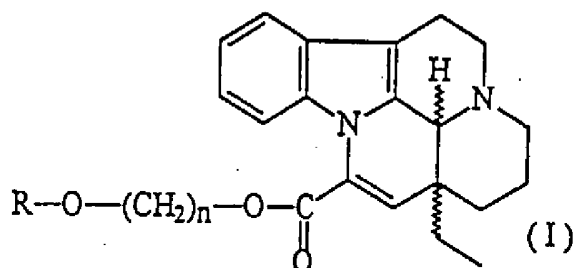
Aplikuje se způsob popsáný v příkladu 18, ale místo 7,3 g (0,02 molu) 2-hydroxyethylesteru /+/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) se použije 7,6 g (0,02 molu)

3-hydroxypropylesteru /-/-trans-apovinkaminové kyseliny (3 β , 16 α) s výtěžkem 7,0 g (76 %) hydrochloridu uvedeného v titulku s teplotou tání 205-207 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -113,2^\circ$ (c=1; methanol).

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Nové racemické a opticky aktivní estery apovinkaminové kyseliny vzorce

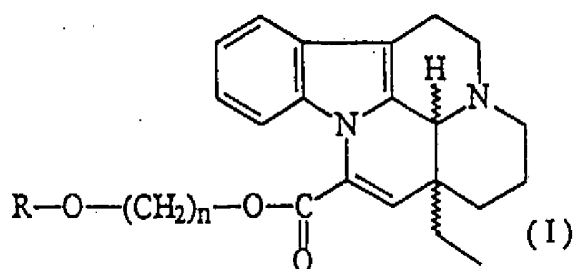


kde R znamená vodík nebo skupinu $Z - \overset{|}{\underset{O}{\text{C}}} = O$, kde Z zastupuje alkylovou skupinu C_{1-4} , případně substituovaný aryl, aralkyl, heteroaryl nebo 14-eburnameninylovou skupinu a

n je celé číslo 2, 3 nebo 4,
stejně jako jejich terapeuticky použitelné soli.

2. 2-(acetoxy)ethylester (-)-trans-apovinkaminové kyseliny (3β , 16α) a jeho terapeuticky použitelné soli.

3. Farmaceutické kompozice, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako aktivní složku obsahují sloučeninu vzorce



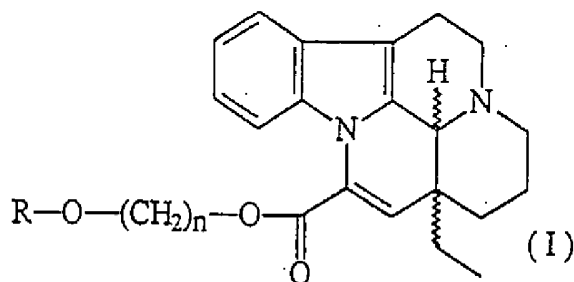
kde

R znamená vodík nebo skupinu $Z-\overset{|}{\text{C}}=\text{O}$, přičemž Z zastupuje alkylovou skupinu C_{1-4} , případně substituovaný aryl, aralkyl, heteroaryl nebo 14-eburnameninylovou skupinu a

n je celé číslo 2, 3 nebo 4,

nebo její terapeuticky použitelnou sůl s příměsí nosiče a/nebo ostatních přísad běžně užívaných ve farmaceutickém průmyslu.

4. Způsob přípravy nových esterů racemické a opticky aktivní trans-apovinkaminové kyseliny vzorce

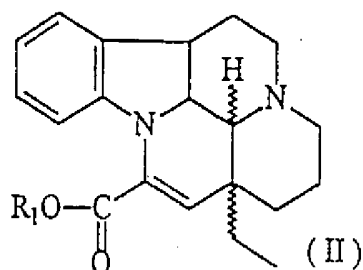


kde

R znamená vodík nebo skupinu $Z-\overset{|}{\text{C}}=\text{O}$, přičemž Z zastupuje alkylovou skupinu C_{1-4} , případně substituovaný aryl, aralkyl, heteroaryl nebo 14-eburnameninylovou skupinu a

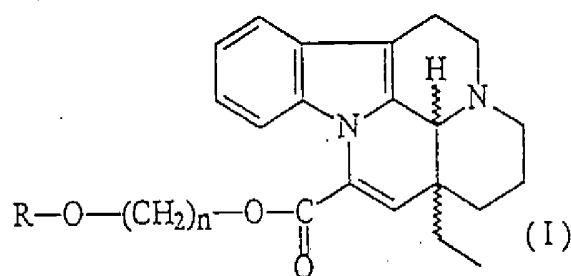
n je celé číslo 2, 3 nebo 4,

stejně jako jejich terapeuticky použitelné soli, vyznačující se tím, že zahrnuje transesterifikaci esteru racemické nebo opticky aktivní trans-apovinkaminové kyseliny vzorce



kde R představuje alkylovou skupinu C_{1-4} , v rozpouštědle glykolového typu a v přítomnosti bazického katalyzátoru; a podle potřeby acylaci sloučeniny vzorce (I), kde R je vodík, a/nebo volitelně štěpení racemické sloučeniny vzorce (I), a/nebo volitelně převedení sloučeniny vzorce (I) na její terapeuticky použitelnou sůl.

5. Způsob přípravy farmaceutické kompozice, vyznačující se tím, že zahrnuje smíšení nového esteru racemické nebo opticky aktivní trans-apovinkaminové kyseliny vzorce

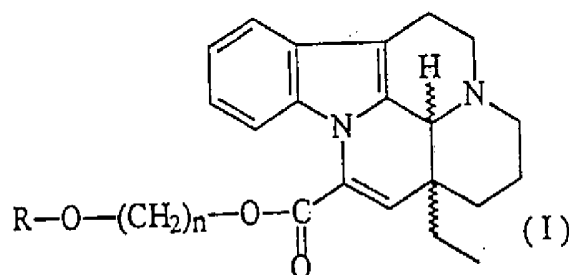


kde

R znamená vodík nebo skupinu $Z-\overset{|}{\text{C}}=\text{O}$, přičemž Z zastupuje alkylovou skupinu C_{1-4} , případně substituovaný aryl, aralkyl, heteroaryl nebo 14-eburnameninylovou skupinu a

n je celé číslo 2, 3 nebo 4,
nebo jeho terapeuticky použitelné soli jako aktivní složky s
nosičem a/nebo jinými přísadami běžně užívanými ve
farmaceutickém průmyslu, a převedení směsi na farmaceutickou
kompozici.

6. Způsob inhibice peroxidace lipidů a ochrany proti
ischémii nebo amnézii nebo jejich léčby a léčby různých
neurodegenerativních chorob jako je Alzheimerova choroba,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje podávání
léčenému pacientovi terapeuticky aktivního množství esteru
racemické nebo opticky aktivní trans-apovinkaminové kyseliny
vzorce

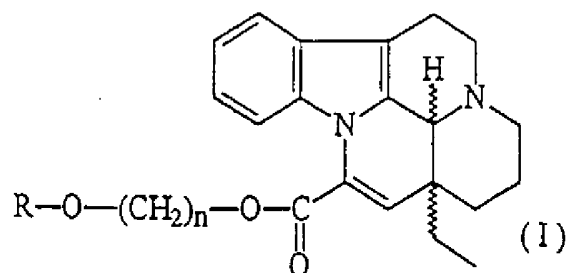


kde

R znamená vodík nebo skupinu $Z-\overset{|}{\text{C}}=\text{O}$, přičemž Z
zastupuje alkylovou skupinu C_{1-4} , případně
substituovaný aryl, aralkyl, heteroaryl nebo
14-eburnameninylovou skupinu a

n je celé číslo 2, 3 nebo 4,
nebo jeho terapeuticky použitelnou sůl samotnou nebo ve
formě farmaceutické kompozice.

7. Použití sloučeniny vzorce

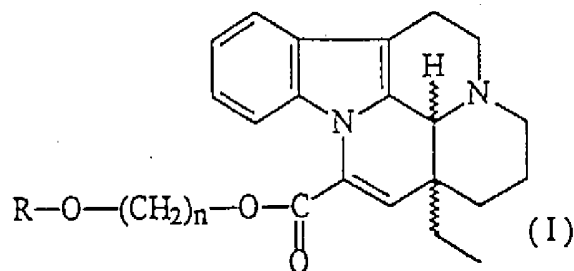


kde

R znamená vodík nebo skupinu $Z-\overset{\textstyle |}{\text{C}}=\text{O}$, přičemž Z zastupuje alkylovou skupinu C_{1-4} , případně substituovaný aryl, aralkyl, heteroaryl nebo 14-eburnameninylovou skupinu a n je celé číslo 2, 3 nebo 4, nebo její terapeuticky použitelné soli pro přípravu farmaceutické kompozice

pro inhibici peroxidace lipidů a ochranu proti ischemii a amnézii a jejich léčbu, a léčení různých neurodegenerativních chorob jako je Alzheimerova choroba.

8. Použití sloučeniny vzorce



kde

R znamená vodík nebo skupinu $Z-\overset{\textstyle |}{\text{C}}=\text{O}$, přičemž Z zastupuje alkylovou skupinu C_{1-4} , případně substituovaný aryl, aralkyl, heteroaryl nebo 14-eburnameninylovou skupinu a

n je celé číslo 2, 3 nebo 4,
nebo její terapeuticky použitelné soli,
pro inhibici peroxidace lipidů a ochranu proti ischemii a
amnézii a jejich léčbu, a léčení různých
neurodegenerativních chorob jako je Alzheimerova choroba.