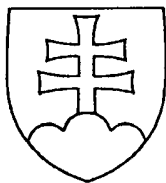


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania: 23.05.94
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 93 10965.0
(32) Dátum priority: 27.05.93
(33) Krajina priority: GB
(43) Dátum zverejnenia: 11.07.95
(86) Číslo PCT:

(21) Číslo dokumentu:

603-94

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 D 233/64,
C 07 C 251/24,
// A 61 K 31/415

(71) Prihlasovateľ: UCB S. A., Avenue Louise Bruxelles, BE;

(72) Pôvodca vynálezu: Michel Philippe, Beersel, BE;
Cossement Eric, Bruxelles, BE;
Gobert Jean Dr., Brusel, BE;
Wulfert Ernst Dr., Brusel, BE;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **2-Hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzén-karboxamidíny, spôsob ich prípravy a oftalmologické kompozície s ich obsahom**

(57) Anotácia:
Zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde R¹ znamená vodík alebo alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka, R² znamená vodík, hydroxylovú skupinu, aminoskupinu alebo alkyl s 1 až 4 atómami uhlíka, R³ znamená vodík alebo R² a R³ spoločne znamenajú skupinu -CH₂-CH₂-, ich adičné soli s netoxickými a oftalmologicky prijateľnými kyselinami, spôsob ich prípravy a ich použitie pri prevencii a liečbe glaukómu. Rovnako sú opísané oftalmologické kompozície obsahujúce uvedené zlúčeniny. Účinné látky navrhovaných oftalmologických kompozícií majú stimulačné vlastnosti voči α₂-adrenergickým presynaptickým receptorom, sú schopné znižovať vnútroočný tlak a nemajú výraznejšie vedľajšie účinky.

2-Hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl] benzénkarboxamidíny, spôsob ich prípravy a oftalmologické kompozície s ich obsahom

Oblasť techniky

Vynález sa týka nových substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov, ich netoxických adičných solí s kyselinou a ich oftalmologicky prijateľných solí, spôsobu ich prípravy a ich použitia pri prevencii a liečbe glaukómu.

Vynález sa rovnako vzťahuje na oftalmologické kompozície, ktoré obsahujú takéto zlúčeniny.

Doterajší stav techniky

V Európskej patentovej prihláške č. 269 599 rovnakého prihlasovateľa sú popísané substituované 1H-imidazoly, z ktorých najrepresentatívnejšie sú 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénmetanoly. Tieto 1H-imidazoly majú kardiálne, cerebrálne a tkanivové antiischemické vlastnosti.

V Európskom patentovom spise č. 341 231, rovnako na meno prihlasovateľa, sú popísané substituované [1-(1H-imidazol-4-yl)-alkyl]-benzamidny, ktoré sa vyznačujú nielen kardiálnymi, cerebrálnymi a tkanivovými antiischemickými vlastnosťami, ale taktiež schopnosťou stimulácie α_2 -adrenergických receptorov. Tieto posledne menované vlastnosti dávajú zlúčeninám možnosť priaznivého terapeutického použitia v liečbe patológií vyvolávajúcich alebo vyplývajúcich z abnormálneho zvýšenia obsahu katecholamínov, ako napríklad pri zlyhaní srdca, pri Raynaudovej chorobe alebo spazmoch koronárnych tepien. Z rovnakého dôvodu tieto zlúčeniny taktiež nachádzajú uplatnenie pri liečbe potiaží sprevádzajúcich žalúdočné a črevné hypersekrécie, ako i pri liečbe abstinenčných príznakov toxikomanov. Tieto zložky sa ďalej vyznačujú určitým diuretickým pôsobením.

Pokračujúce výskumné práce v tejto oblasti teraz priviedli prihlasovateľa k syntéze substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imi-

dazol-4-yl)alkyl]benzénkarboxamidov, ktoré dosiaľ neboli známe a ktoré majú vedľajšie systémové účinky centrálného alebo periferného pôvodu. Preto sa tieto zlúčeniny mohli s výhodou používať na zníženie vnútroočného tlaku a môžu nájsť obzvlášť použitie pri prevencii alebo ošetrovaní glaukómu.

Glaukóm je postihnutie očí vyznačujúce sa zvýšením vnútroočného tlaku, vyvolávajúce stvrdnutie očnej bulvy, atrofiu zrkovéhého nervu s charakteristickým zahĺbením zreničky, zúžením zrkovéhého poľa a viac alebo menej výrazným zmenšením ostrosti videnia. Konečná fáza glaukómu (alebo absolútny glaukóm) je doprevádzaný úplnou slepotou pacienta.

Naliehavá liečba glaukómu spočíva zvyčajne vo vonkajšej aplikácii cholinergických účinných látok, ako je pilocarpin, stimulačne resp. blokačne pôsobiace látky na α - resp. β -adrenergické receptory, ako je clonidin, timolol alebo epinefrín, alebo inhibítory uhličitého zbavovania vody systémovou cestou. Ako posledná možnosť je niekedy potrebné uskutočniť chirurgický zákrok.

Rôzne tradičné postupy liečby glaukómu, ktoré sú v súčasnom období k dispozícii, sú však dopredvádzané vedľajšími účinkami, ktorých povaha a závažnosť sú veľmi premenlivé.

Nakvapkanie cholinergického činidla, ako je pilocarpin, do oka tak môže vyvolať u niektorých pacientov zvracanie, hnačky, svalové kŕče, potenie, slzenie, slinenie atď. Na úrovni samotného oka je možné ďalej pozorovať sťahovanie zrenice (myosis) a ciliárneho svalu, ako i rozširovanie ciev dúhovky a spojivky. Často to má za následok zrkové komplikácie, ako sú akomodačné kŕče, krátkozrakosť alebo zmenšenie ostrosti videnia.

Pri liečbe sympatomimetickým činidlom, ako je dipivalylepinefrín je známe, že vyvoláva často pocity pálenia alebo dráždenia. Okrem toho sú dôležitým vedľajším účinkom týchto látok prejavy srdcových obtiaží ako palpitácia, tachykardia, arytmia atď.

Clonidin, známy ako stimulačne pôsobiaci na adrenergické

α_2 -receptory, vyvoláva mydriázu, ako i počiatočnú fázu očnej hypertenzie (dvojfázový účinok). Okrem toho sú napriek vonkajšiemu podávaniu výrobku pozorované značné systémové účinky, ako je bradykardia a hypotenzia.

Použitie liekov vo forme β -blokátorov vyvoláva rovnako významné systémové účinky, vyplývajúce z neprítomnosti "first-pass efektu" pri ich očnom podávaní. Napríklad timolol vyvoláva bradykardiu alebo hypotenziu. Tieto druhotné systémové reakcie na β -blokujúce lieky môžu dosiahnuť takú mieru závažnosti, že je nutné zastavenie liečby. V spojení s užívaním týchto liekov boli zaznamenané prípady samovražedných depresíí, halucinácií, nočnej mory alebo psychóz vyžadujúcich hospitalizáciu. Okrem toho sa musia tieto zlúčeniny používať s mimoriadnou opatrnosťou u pacientov, ktorí trpia funkčným srdcovými alebo pľúcnyimi ťažkosťami. U tohoto typu pacientov sa okrem iného zaznamenali prípady arytmií, zástavy srdca, astmy, dýchavičnosti a bronchospazmu.

Liečba sympatolytickým činidlom, ako je guanetidín, vyvoláva prekrvenie spojivky a dráždenie, okrem toho, že tieto činidlá majú len malú účinnosť pri znižovaní vnútroočného tlaku.

Nakoniec, pri liečbe glaukómu inhibítory uhličitého zbavovania vody, ako je acetazolamid alebo metazolamid, sú zaznamenávané závažné systémové vedľajšie účinky, ako je depresia centrálného nervového systému, strata hmotnosti a predovšetkým útlm kostnej drene.

Je teda zrejmé, že požívanie klasických hypotenzných činidiel pre liečbu glaukómu je doprevádzané značnými rizikami. Známe lieky nie sú veľmi dobre uspôsobené pre miestnu liečbu a vedľajšie systémové účinky týchto liekov robia ich použitie chúlостivým vzhľadom k tomu, že tieto účinky rozhodne nie sú zanedbateľné a pretože v niektorých prípadoch môžu mať závažné dôsledky.

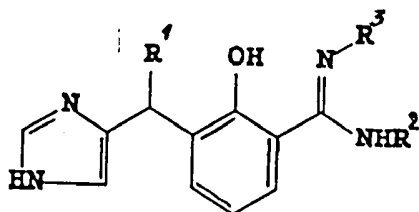
Existuje teda reálna potreba nájsť nové lieky, ktoré sú schopné účinne znížiť vnútroočný tlak a ktoré súčasne nemajú

žiadne tu uvedené systémové vedľajšie účinky, predovšetkým keď sa jedná o liečbu rizikových pacientov, ako sú kardiaci a astmatici.

Podstata vynálezu

Uvedené nové substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)-alkyl]-benzénkarboxamidíny podľa vynálezu dokonale vyhovujú vyššie uvedenej pocitovanej potrebe zodpovedajúceho liečiva. Tieto zložky sú totiž silnými stimulátormi adrenergických presynaptických receptorov. Okrem toho nemajú tieto zlúčeniny vedľajšie systémové účinky centrálného alebo periférneho pôvodu. Pri dávkach, pri ktorých sú tieto zlúčeniny účinné pre znižovanie vnútroočného tlaku sa nepozoruje ani hypotenzia, ani bradykardia, ani mydriáza. Okrem toho tieto zlúčeniny nevyvolávajú odkrvenie v ošetrovanom oku a nepozoruje sa ani vedľajší protichodný účinok na neošetrovanom oku pri vonkajšej aplikácii, čo dobre dokazuje neprítomnosť spojenia buď krvným obehom alebo nervovým systémom. Riziká spojené s použitím klasických terapeutických látok u zlúčenín prakticky nejestvujú, z čoho vyplýva, že substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidíny podľa vynálezu sú predovšetkým vhodné pre liečbu vnútroočnej hypertenzie a predovšetkým glaukómu.

Vynález sa konkrétne vzťahuje na nové substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidíny, zodpovedajúce všeobecnému vzorcu



(I)

kde

R¹ znamená atóm vodíka alebo alkylovú skupinu s 1 až 4 atómami uhlíka

R² znamená atóm vodíka, hydroxylovú skupinu, amínovú skupinu alebo alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka,

R³ znamená atóm vodíka alebo

R² a R³ spolu znamenajú skupinu -CH₂-CH₂-,

ako aj ich adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.

Keď molekula obsahuje asymetrický uhlíkový atóm, môžu byť zlúčeniny všeobecného vzorca I buď vo forme racemickej zmesi alebo vo forme jedného alebo druhého enantioméru. Tieto rôzne formy taktiež patria do rámca vynálezu.

Vynález sa rovnako týka adičných solí substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov všeobecného vzorca I s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami. Je možné použiť akúkoľvek adičnú soľ s kyselinou, pokiaľ je málo toxická a nedráždivá pre oko. Príklady oftalmologicky prijateľných kyselín sú uvedené na str. 2 časopisu Journal of Pharm. Sciences 66 (1), január 1977. Je možné uviesť kyselinu fosforečnú, kyselinu maleínovú, kyselinu boritú, kyselinu uhličítú, atď.

Výhodnými zlúčeninami podľa vynálezu sú:

2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidín,

N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidín,

2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-metylbenzénkarboxamidín,

2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-(1-metyletyl)-benzénkarboxamidín,

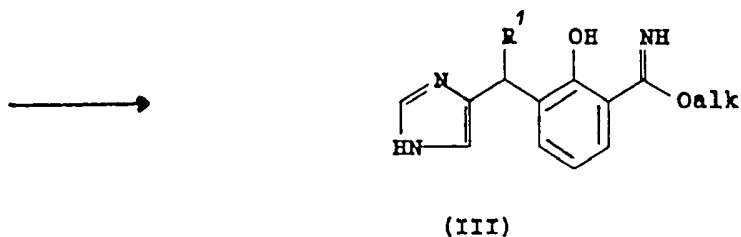
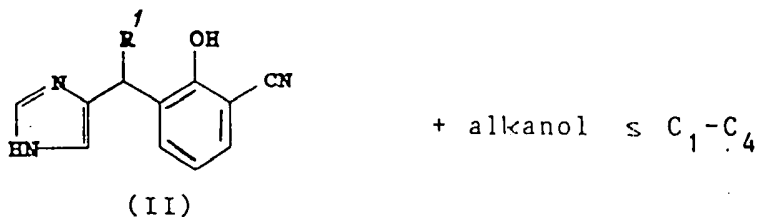
hydrazid kyseliny 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidínovej,

(+)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarboxamidín a

(-)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarboxamidín.

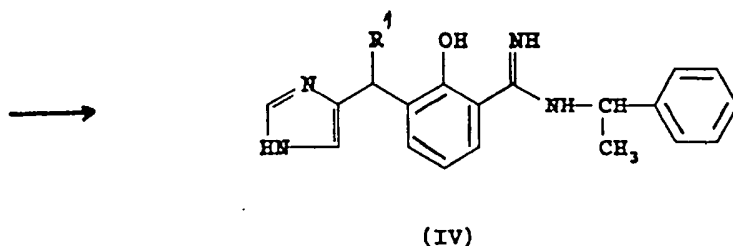
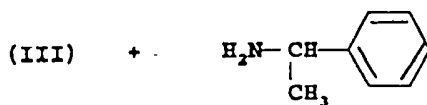
Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidíny všeobecného vzorca I sa môžu pripraviť spôsobom pozostávajúcim z nasledovných stupňov:

(1) Najskôr sa nechá reagovať 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitril všeobecného vzorca II s alkanolom s 1 až 4 atómami uhlíka za prítomnosti plynnej kyseliny chlorovodíkovej podľa rovnice:



Táto reakcia sa vo všeobecnosti uskutočňuje pri teplote v rozmedzí od $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

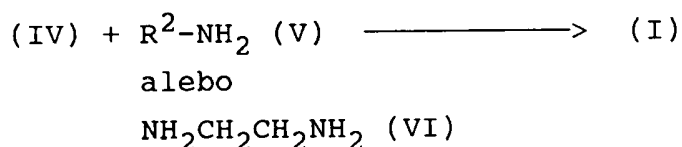
(2) Potom sa nechá reagovať takto získaný alkyl-substituovaný 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboximidát všeobecného vzorca III s jedným z enantiomérov α -metylbenzylamínu podľa rovnice:



(3) Napokon sa nechá reagovať 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-N- α -metylbenzyl-benzénkarboxamidín všeobecného vzorca IV, získaný v predchádzajúcom stupni, s dusíkatou zlúčeninou všeobecného vzorca V



kde R^2 znamená atóm vodíka, hydroxylovú skupinu, amino skupinu alebo alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, keď R^3 predstavuje atóm vodíka, alebo s etyléndiamínom všeobecného vzorca (VI), keď R^2 a R^3 spoločne znamenajú skupinu $-CH_2-CH_2-$, podľa rovnice:



pričom vo všetkých vzorcoch má R^1 vyššie uvedený význam a alk znamená alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka.

Je zrejmé, že pre získanie zlúčenín zodpovedajúcich všeobecnému vzorcu I vo forme optického izoméru sa vopred oddelia N- α -metylbenzylované diastereoizoméry vzorca IV, kde R^1 znamená alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, pred uskutočnením aminolýzovej reakcie v stupni (3).

Tento všeobecný postup je teda veľmi dobre vhodný pre prípravu všetkých zlúčenín zodpovedajúcich všeobecnému vzorcu I bez ohľadu na to, či je v racemickej forme alebo vo forme optického izoméru, keď R^1 predstavuje alkylový radikál, obsahujúci 1 až 4 atómy uhlíka, alebo je v opticky neaktívnej forme, keď molekula neobsahuje asymetrický uhlík ($R^1 = \text{vodík}$).

Podľa špecifického spôsobu uskutočnenia prípravy 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov, zodpovedajúcich všeobecnému vzorcu I, sa syntetizuje najskôr alkyl[2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboximimidát] zodpovedajúci všeobecnému vzorcu III, pričom sa uskutočňuje iba stupeň (1) vyššie popísaného spôsobu a potom sa nechá reagovať

alkyl-benzénkarboximidát všeobecného vzorca III s dusíkatou zlúčeninou všeobecného vzorca V



kde

R^2 znamená atóm vodíka, hydroxylovú skupinu, amínovú skupinu alebo alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka,

keď R^3 je vodík alebo s etyléndiamínom (VI), keď R^2 a R^3 spoločne predstavujú skupinu $-CH_2-CH_2-$.

Podľa variantu, vyhradeného pre prípravu 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov zodpovedajúcich všeobecnému vzorcu I, v ktorom R^2 znamená hydroxylovú skupinu a R^3 znamená atóm vodíka, sa nechá reagovať hydroxylamín s 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitrilom vzorca II, kde R^1 má vyššie uvedený význam.

V konkrétnom prípade prípravy 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov zodpovedajúcich všeobecnému vzorcu I, v ktorom R^1 znamená alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, R^2 a R^3 obidva znamenajú atóm vodíka, vo forme ich optických izomérov, sa syntetizuje najskôr 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-N- α -metyl-benzyl-benzénkarboxamidín všeobecného vzorca IV, pričom sa uskutočnia iba stupne (1) a (2) vyššie popísaného spôsobu, oddelia sa získané N- α -metylbenzylované diastereoizoméry všeobecného vzorca IV a potom sa odstráni α -metylbenzylová skupina každého takto oddeleného diastereoizoméru hydrolýzou pomocou koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej pri teplote od 80 °C do 110 °C.

Adičné soli s netoxickými oftalmologicky prijateľnými kyselinami sa môžu pripraviť na báze 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov všeobecného vzorca I spôsobmi, ktoré sú samé o sebe dobre známe.

2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitrily vzorca II, používané ako východiskové produkty, sa môžu pripraviť spôsobom popísaným v Európskom patentovom spise č. 341 231.

Ako bolo uvedené vyššie, substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidíny všeobecného vzorca I, ako aj ich adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami, majú stimulačný účinok voči α_2 -adrenergickým presynaptickým receptorom, sú schopné znižovať vnútroočný tlak a nemajú výraznejšie vedľajšie účinky.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Ďalej uvedené farmakologické testy preukazujú rôzne výhodné vlastnosti:

Farmakologickým testom sa podrobili nasledovné zlúčeniny:

- 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidín, (zlúčenina A, pripravená v príklade 2.1),
- 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-metyl-benzénkarboxamidín (zlúčenina B, pripravená v príklade 2.2),
- N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidín, (zlúčenina C, pripravená v príklade 3),
- (+)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarboxamidín, (zlúčenina D, pripravená v príklade 4),
- (-)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarboxamidín, (zlúčenina E, pripravená v príklade 4),
- 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-(1-metyletyl)-benzénkarboxamidín, (zlúčenina F, pripravená v príklade 5.2),
- hydrazid kyseliny 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidovej (zlúčenina G, pripravená v príklade 2.6).

Výsledky boli porovnané s výsledkami získanými s clonidom, látkou stimulujúcou α_2 -adrenergické receptory, ktorý sa ako určité jeho deriváty používa pri liečbe glaukómu.

1. Stimulačná schopnosť α_2 -adrenergických presynaptických receptorov

Stimulovanie svalu čreva morčáťa

Schopnosť stimulácie α_2 -adrenergických presynaptických receptorov u zlúčenín podľa vynálezu sa preukazuje zabraňovaním sťahovania izolovaného svalu čreva morčáťa, vyvolávaného elektrickým stimulovaním.

Fragmenty pozdĺžnych svalov, pripojené k indikátoru izometrickej sily sú ponorené do roztoku Tyrodu a sú napínané silou 1 g (G. M. Drew, Brit. J. Pharmacol., 64, (1978)), 293 - 300, M. Andrejak a kol., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 314, (1980), 83 - 87).

Elektrická stimulácia prívodných parasympatických nervov k fragmentom svalu čreva vyvoláva sťahovanie svalu. Toto sťahovanie je znížené v prítomnosti presynaptického α_2 -stimulátora a zníženie závisí od koncentrácie použitého stimulátora. Proti tomuto účinku je pôsobené súčasnou prítomnosťou α_2 -blokačnej zlúčeniny, ako je alfa-johimbin.

Zlúčeniny určené ku štúdiu boli skúmané pri vzrastajúcej koncentrácii medzi 10^{-10} a 10^{-3} mol/liter. Určuje sa koncentrácia (IC_{50} v móloch), ktorá znižuje o 50 % intenzitu sťahovania svalov.

V tabuľke I sú uvedené koncentrácie IC_{50} (v móloch/l) získané pre zlúčeniny podľa vynálezu, až na zlúčeninu G, pre ktorú je udávaná koncentrácia IC_{30} . Tieto výsledky ukazujú, že zlúčeniny sú dobre účinné pri veľmi malej koncentrácii.

Tabuľka I

Bránenie sťahovania svalu čreva morčata

Zlúčenina	IC ₅₀ (v móloch/l)
A	6,2 x 10 ⁻⁸
B	2,5 x 10 ⁻⁶
C	1,4 x 10 ⁻⁷
D	3,9 x 10 ⁻⁹
E	2,0 x 10 ⁻⁷
F	6,4 x 10 ⁻⁶
G	2,5 x 10 ⁻⁶ (IC ³⁰)
clonidin	1,7 x 10 ⁻⁸

2. Hypotenzná vnútroočná aktivita

Účinok znižovania vnútroočného tlaku zlúčenín je preukázaný u králika (novozélandský biely) normovo natiahnutého v bdelom stave meraním výchylky vnútroočného tlaku po jednostrannej aplikácii zlúčenín do ľavého oka zvierata. Tri králiky (hmotnosť: 2 - 2,5 kg) oboch pohlaví dostávajú všetky skúmané dávky podľa experimentálneho protokolu "krížená permutácia", v ktorom každé zviera slúži taktiež kontrolnej skupine. Študované zlúčeniny, rovnako ako clonidin, sú podávané v roztoku, vopred ponechaného pri laboratórnej teplote počas 30 minút, v 30 mikrolitroch sterilnej destilovanej vody (collyre) pri koncentráciách v rozmedzí od 0 (referenčné) do 0,5 % (v hmotnosti na objem). Meranie vnútroočného tlaku sa uskutočňuje pomocou pneumatometra BIORAD (DIGILAB MODULAR ONE) po lokálnej anestézii pomocou 2 kvapiek chlórhydrátu oxybuprokaínu pri 0,4 % (v hmotnosti na objem).

Ďalej uvedená tabuľka II ukazuje výchylky tlaku pozorované pri aplikácii zlúčenín podľa vynálezu, ako i clonidinu. V tejto tabuľke je v 1. stĺpci uvádzaná skúmaná zlúčenina, v 2. stĺpci koncentrácia zlúčeniny v percentách (v hmotnosti na objem) a v 3. až 7. stĺpci výchylka vnútroočného tlaku delta P vyjadrená v percentách, vzhľadom na zviera liečené destilovanou vodou (collyre)

bez prítomnosti skúmanej zlúčeniny, merané po 30 minútach, 1, 2, 3 a 6 hodinách.

Tabuľka II

Zníženie vnútroočného tlaku

Zlúče- nina	Konc. %	delta P 30min,%	delta P 1h,%	delta P 2h,%	delta P 3h,%	delta P 6h,%
A	0,05	-5,9		-18,6		-1,1
	0,1	-9,2		-21,2		-16,1
B	0,5	-5,5	-10,8	-13,3	-12,8	-7,6
D	0,01	-14,1		-17,7		-15,1
E	0,5	-11,6	-12,6			-6,6
clonidin	0,01	+8		-8,8		-9,2
	0,1	+23,4		+36,2	+11,4	
	0,5	+31,4		+39,4	+8,6	

Z tejto tabuľky vyplýva, že zlúčeniny podľa vynálezu majú dobrú hypotenznú vnútroočnú účinnosť, v protiklade ku clonidinu, ktorý vyvoláva zo začiatku hypertenziu liečeného oka, ktorej účinok sa zvyšuje súčasne s koncentráciou použitej látky. Tento dvojfázový účinok sa nepozoruje u zlúčenín podľa vynálezu.

Okrem toho sa u zlúčenín podľa vynálezu nepozoruje pokles vnútroočného tlaku v druhom oku liečeného zvierata. Naopak u clonidinu sú namerané nasledujúce výchylky vnútroočného tlaku v druhom oku:

- pri koncentrácii 0,01 % je delta P -9,5 % po 2 hodinách,
-9,2 % po 6 hodinách,
- pri koncentrácii 0,1 % je delta P -10,2 % po 2 hodinách,
+2,6 po 6 hodinách,
- pri koncentrácii 0,5 % je delta P -26,3 % po 2 hodinách a
+15 % po 6 hodinách.

Toto poukazuje na neprítomnosť spojenia buď krvným obehom alebo nervovým systémom u zlúčenín podľa vynálezu. Naproti tomu poukazujú tieto výsledky na obtiažnosť dosiahnutia poklesu vnútroočného tlaku s clonidinom z dôvodu jeho dvojfázového účinku.

3. Účinky na priemer zrenice oka liečeného oka a druhého oka.

Účinok zlúčenín podľa vynálezu na priemer zrenice je preukázaný u králika (novozélandský biely) oboch pohlaví (hmotnosť 2 - 2,5 kg), normovo natiahnutého v bdelom stave, meraním zmeny priemeru zrenice oboch očí po vonkajšej aplikácii zlúčenín na ľavé oko zvierťa. Študované zlúčeniny, ako i clonidin, boli podávané v roztoku vopred ponechaného pri laboratórnej teplote počas 30 minút v 30 mikrolitroch sterilnej destilovanej vody (collyre) s koncentraciami v rozmedzí od 0 (referenčné) do 0,5 % (v hmotnosti na objem). Priemer zrenice sa meria vizuálne v bode maximálneho zvislého priemeru pomocou kovového milimetrového meradla.

Zlúčeniny podľa vynálezu nevyvolávajú žiadnu alebo len veľmi malú zmenu priemeru zrenice pri dávkach, znižujú očný tlak (tabuľka II) bez ohľadu na to, ktoré oko je pozorované (liečené alebo neliečené druhé oko). Maximálne rozdiely medzi nameraným priemerom zrenice pred vkvapávaním skúšanej zlúčeniny a priemerom zrenice nameraným v čase pozorovania medzi 30 minútami a 6 hodinami po nakvapkaní skúšanej látky sa v skutočnosti pohybujú v rozmedzí od -4,2 % do +4,7 %.

Tabuľka III ukazuje výsledky pozorované v rovnakých podmienkach s clonidinom. V tejto tabuľke je v 1. stĺpci udávaná koncentrácia clonidinu v percentách (hmotnosť/objem), v 2. stĺpci maximálna odchýlka pozorovaná medzi priemerom zrenice liečeného oka (ipsilaterálneho), nameraná pred nakvapkaním clonidinu, a priemerom zrenice toho istého oka nameranom v čase pozorovania od 30 minút do 6 hodín po nakvapkaní, a v 3. stĺpci maximálna odchýlka pozorovaná za rovnakých podmienok na priemere zrenice druhého oka (kontralaterálneho).

Tabuľka III

Účinok clonidinu na priemer zrenice

Koncentrácia clonidinu (%)	Max. výchylka (ipsi- laterálne oko) (%)	Max. výchylka (kontra- laterálne oko) (%)
0,01	-5,6	-2,8
0,1	+9,7	-2,7
0,5	+23,9	-6,9

Táto tabuľka ukazuje, že v protiklade k zlúčeninám podľa vynálezu je pri použití clonidinu pozorovaná značná mydriáza ipsilaterálneho oka pri koncentráciách (0,1 a 0,5 %), kde nedochádza k poklesu vnútroočného tlaku.

4. Účinky na sliznicu liečeného oka (odkrvenie)

Účinok zlúčenín podľa vynálezu na sliznicu liečeného oka sa preukazoval u králiká (novozélandského bieleho) oboch pohlaví (hmotnosť 2 - 2,5 kg) normovo natiahnutého v bdelom stave, vizuálnym vyšetrením spojiviek za účelom zistenia eventúálnych znakov zmien alebo reakcie na liečbu po vonkajšej aplikácii zlúčenín na oko zvierata. Odkrvenie sa prejavuje nedostatočným prítokom krvi do spojivky, ktoré môže vyvolať lokálne nevratné ischemické zmeny. Zlúčeniny určené ku štúdiu boli podávané ako vo vyššie uvedených skúškach v roztoku, vopred ponechaného pri laboratórnej teplote počas 30 minút, v 30 mikrolitroch sterilnej destilovanej vody (collyre) pri koncentráciách v rozmedzí od 0 (referenčná) do 0,5 % (v hmotnosti na objem).

Pri účinných dávkach pre zaistenie poklesu vnútroočného tlaku, napríklad 0,1 % pre zlúčeninu A alebo 0,5 % pre zlúčeninu E nevyvolávajú zlúčeniny podľa vynálezu nedokrvenie. Naopak, pre clonidin sa pri koncentrácii 0,01 % pozoruje po 30 minútach zbelenie spojiviek, pričom tento účinok je ešte prítomný po 1 hodine pre clonidin pri koncentrácii 0,1 %.

5. Účinky na frekvenciu tepu srdca

Účinok na frekvenciu tepu srdca je preukazovaný u králika (novozélandského bieleho) oboch pohlaví (hmotnosť 2 - 2,5 kg), normovo natiahnutého v bdelom stave, meraním tepu srdca v úrovni tepny po vonkajšej aplikácii zlúčenín na ľavé oko zvierťa. Študované zlúčeniny boli podané v roztoku, vopred ponechaného pri laboratórnej teplote počas 30 minút, v 30 mikrolitroch sterilnej destilovanej vody (collyre) pri koncentráciách v rozmedzí od 0 (referenčná) do 0,5 % (v hmotnosti na objem).

Nepozorujú sa výrazné účinky na tep srdca u zvierat ošetrovaných zlúčeninami podľa vynálezu. Naopak, u zvierat ošetrovaných clonidinom pri koncentrácii 0,01 % sa pozoruje výrazné spomaľovanie tepu srdca o 10,7 % po 3 hodinách a u zvierat ošetrovaných clonidinom pri koncentrácii 0,1 % sa pozoruje výrazný pokles frekvencie tepu srdca o 17,9 % po 1 hodine.

6. Toxicita

Toxicita zlúčenín podľa vynálezu sa stanovila u samca myši NMRI pomocou Irwinovej skúšky (S. Irwin, Psychopharmacologie, 13, (1968), 222 - 257). Progresívne dávky študovanej látky sa podávajú intraperitoneálnou cestou skupinám troch myší až pokým sa nedosiahne smrteľná dávka (dávka vyvolávajúca smrť dvoch zvierat z troch počas 24 hodín).

V nasledujúcej tabuľke IV je uvedená smrteľná dávka, pozorovaná pre zložky podľa vynálezu. Z tabuľky vyplýva, že tieto zlúčeniny sú veľmi málo toxické.

Tabuľka IV

Toxicita

Zlúčenina	Smrteľná dávka (v mg/kg)
A	>216
B	230
C	232
D	25
E	248
F	155
G	416

Zlúčeniny podľa vynálezu sa s výhodou podávajú vo forme očnej farmaceutickej kompozície usporiadanej pre vonkajšie podávanie do oka, napríklad vo forme roztoku alebo mastí alebo vo forme pevného implantátu priložiteľného na oko. Percentuálny podiel účinnej látky vo farmaceutických kompozíciách sa môže pohybovať od 0,01 do 1 % a s výhodou od 0,05 do 0,5 % hmotnosti. Pokiaľ sa nejedná o denné dávkovanie, zlúčeniny podľa vynálezu sa zvyčajne podávajú do oka v dávke od 1 µg do 1 mg a s výhodou od 50 µg do 0,5 mg účinnej látky, samotnej alebo v zmesi.

V očných farmaceutických kompozíciách sa môžu zlúčeniny podľa vynálezu spájať s jedným alebo viacerými netoxickými oftalmologicky prijateľnými vehikulami v pevnom alebo v kvapalnom stave. Oftalmologicky prijateľnými vehikulami sú napríklad voda, zmesi vody a rozpúšťadiel miešateľných s vodou, ako sú alifatické alebo nižšie aralifatické alkoholy, rastlinné oleje, polyalkylén-glykoly, etylcelulóza, etyloleát, karboxymetylcelulóza, polyvinylpyrolidín, izopropylmyristát alebo aj iné zvyčajné vehikulá. Očné kompozície môžu okrem toho obsahovať pomocné netoxické látky, ako emulgátory, konzervačné činidlá, zmáčadlá, atď., ako napríklad polyetylén-glykoly 200, 300, 400, 600, 1000, 1500, 4000, 6000 a 10 000, baktericídne činidlá, ako kvartérne amóniové zlú-

čeniny alebo fenylortuťnaté soli, známe svojimi sterilizačnými schopnosťami za studena a tým, že nemajú škodlivé účinky, metylparabén, propylparabén, benzylalkohol, 2-fenyletanol, tlmivé roztoky na báze chloridu sodného, boritanu sodného, acetátu sodného, glukonátové tlmivé roztoky, atď.

Okrem toho sa môžu používať vhodné oftalmologicky prijateľné kvapalnú vehikulá. Príklady kvapalných vehikúl sú pufrované roztoky na báze fosfátu, izotonické roztoky kyseliny boritej, chloridu sodného, boritanu sodného, atď.

Očné kompozície sa taktiež môžu vyskytovať vo forme pevného implantátu, ktorý sa aplikuje na oko. V tomto prípade je možné napríklad použiť ako nosič pre liek pevný polymér rozpustený vo vode. Použitým polymérom pre tvorenie implantátu môže byť akýkoľvek netoxický polymér rozpustný vo vode, napríklad deriváty celulózy, ako metylcelulóza, natrium-karboxymetylcelulóza, hydroxyalkylcelulózy s nižšími alkylmi, ako hydroxymetylcelulóza, hydroxypropylcelulóza, akryláty, ako kyselina akrylová alebo polyakrylamidy, prírodné produkty, ako želatína, algináty, pektíny, guma na báze tragantu, deriváty amidonu, ako acetát amidonu, hydroxyetylamidon, hydroxypropylamidon, ako aj iné syntetické deriváty, ako polyvinylalkohol, polyvinylpyrolidon, polyvinylmetyléter, polyetylénoxid a zmesi týchto polymérov.

V prípade, keď sa používa pevný implantát pre priloženie na oko, pripravuje sa s výhodou tento implantát na báze derivátov celulózy, ako je metylcelulóza, hydroxymetylcelulóza, hydroxypropylcelulóza alebo hydroxypropylmetylcelulóza, alebo na báze iných syntetických materiálov, ako je polyvinylalkohol, polyvinylpyrolidón, polyvinyloxid alebo polyvinylmetyléter.

Ako neobmedzujúci príklad kompozície obsahujúcej kompozíciu podľa vynálezu sa ďalej uvádza príklad sterilného roztoku pre vonkajšiu aplikáciu vo forme sterilnej destilovanej vody:

zložky	množstvo (% hm./obj.)
účinná zlúčenina	0,01 až okolo 1 %
polyvinylalkohol	0 až 40 %
benzalkóniumchlorid	0 až 0,15 %
chlorid sodný	0 až 10 %
tlmivý roztok	0,01 až 10 %
steril. destilovaná voda	zvyšok do 100 %

Nasledujúce príklady slúžia pre ilustráciu vynálezu, avšak bez toho, aby ho obmedzovali. V týchto príkladoch boli teploty topenia určované diferenciálnou skanovacou kalorimetriou (D.S.C.) s teplotným spádom 20 °C. Spektrá nukleárnej magnetickej rezonancie (RMN) boli stanovené Brukerovým prístrojom s 250 MHz v dimetylsulfoxide pri použití tetrametylsilánu ako vnútornej štandardu. Chemické posuny sú uvedené v δ (ppm). Písmená s, d, dd, t, q, b a m znamenajú postupne singlet, dublet, dvojitý dublet, triplet, kvadruplet, rozšírený vrchol a multiplet.

Príklad 1

Príprava východiskových 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitrilov vzorca II

1. 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzonitril

Prípraví sa zlúčenina spôsobom popísaným v príklade 3.1 Európskeho patentového spisu č. 341 231.

2. 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzonitril

Prípraví sa zlúčenina spôsobom popísaným v príklade 3.2 Európskeho patentového spisu č. 341 231.

Príklad 2

Príprava substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov všeobecného vzorca I

1. 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidín

a) Suspenzia 10 g (0,050 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzonitrilu (pripraveného vo vyššie uvedenom príklade 1.1.) v 200 ml metanolu sa ochladí na teplotu $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ a nasýti plynou kyselinou chlorovodíkovou. Teplota sa nechá znova vystúpiť na $0\text{ až }5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a reakčná zmes sa udržiava na tejto teplote počas 20 hodín. Roztok sa odparí na 9/10 objemu, pridá sa zvyšok 300 ml ľadovej vody a neutralizuje sa pomocou vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Roztok sa extrahuje štyrikrát 150 ml etylacetátu a organické vrstvy sa spoja. Organická fáza sa premyje so 100 ml nasýteného vodného roztoku chloridu sodného a potom sa suší nad síranom horečnatým, prefiltruje a odparí za zníženého tlaku.

b) Získaný zvyšok sa vyberie so 150 ml absolútneho etanolu. Roztok sa ochladí pod teplotu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a nasýti amoniakom. Teplota roztoku sa nechá vystúpiť na laboratórnu teplotu a reakčná zmes sa udržiava na tejto teplote počas 15 hodín. Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku. Pevný zvyšok sa vyčistí kvapalinovou preparatívnou chromatografiou (oxid kremičitý: 600 g, eluent: zmes 77,5 : 20 : 2,5 (v/v/v) dichlórmetán-metanol-amoniak). Izoluje sa 8 g pevného bieleho produktu, ktorý sa rekryštalizuje z metanolu. Získa sa 4,55 g 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidínu.

Výťažok: 42 %.

Teplota topenia: $248,71\text{ }^{\circ}\text{C}$.

RMN: δ : 3,68 (2H, s), 6,13 (1H, dd), 6,61 (1H, s), 6,95 (1H, dd), 7,41 (1H, dd).

Analýza pre $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}$ v %:

vypočítané: C 61,10 H 5,59 N 25,91

zistené: 61,18 5,62 26,07

2. 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-metyl-benzénkarboxamidín

a) Plynnou kyselinou chlorovodíkovou sa nasýti suspenzia 19,9 g (0,1 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzonitrilu (pripraveného vo vyššie uvedenom príklade 1.1.) v 600 ml metanolu ochladeného na teplotu 10 °C. Pridá sa 60 ml vody, suspenzia sa ochladí na teplotu -25 °C a nasýti sa znova plynnou kyselinou chlorovodíkovou. Reakčná zmes sa udržiava na tejto teplote počas 15 hodín. Roztok sa odparí a zvyšok sa vyberie s 500 ml ľadovej vody a neutralizuje sa pomocou vodného roztoku hydrogénuhličitanu sodného. Roztok sa extrahuje štyrikrát s 250 ml etylacetátu a organické vrstvy sa spoja. Organická fáza sa premyje s 200 ml nasýteného vodného roztoku chloridu sodného, potom sa vysuší nad síranom sodným, prefiltruje a odparí. Získa sa 19,1 g metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidátu], ktorý sa použije ako taký v nasledujúcom stupni.

b) Rozpustí sa 9,55 g (0,0413 mol) metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidátu] v 100 ml absolútneho etanolu. Roztok sa ochladí na teplotu 10 °C a pridá sa 1,28 g (0,0413 mol) metylamínu. Teplota roztoku sa nechá vystúpiť na laboratórnu teplotu a nechá sa reagovať počas 15 hodín. Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku. Pevný zvyšok sa vyčistí kvapalinovou preparatívnou chromatografiou (oxid kremičitý: 600 g, eluent: zmes 78 : 20 : 2 (v/v/v) etylacetát-metanol-amoniak). Izoluje sa 9,49 g produktu, ktorý sa preprepáva v 100 ml acetonitrilu pri teplote 50 °C počas 30 minút. Odfiltruje sa pevný produkt a rekryštalizuje sa z metanolu. Získa sa 4,5 g 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-metyl-benzénkarboxamidínu.

Výťažok: 47 %.

Teplota topenia: 235,84 °C.

RMN: δ : 2,94 (3H, s), 3,70 (2H, s), 6,20 (1H, dd), 6,60 (1H, dd), 7,41 (1H, d), 7,47 (1H, dd), 8,47 (2H, m), 14,1 (1H, m).

Analýza pre $C_{12}H_{14}N_4O$ v %:

vypočítané: C 62,59 H 6,15 N 24,73

zistené: 62,53 6,15 24,30

3. 2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-6-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-
-fenol

a) Metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarbox-
-imidát] sa pripraví podľa 2.a), ako je uvedené vyššie a použije
sa v nasledujúcom stupni.

b) Rozpustí sa 9,55 (0,0413 mol) produktu pripraveného
v stupni 3.a) v 100 ml absolútneho etanolu a pridá sa 6,65 ml
(0,0826 mol) etyléndiamínu. Roztok sa pretrepáva 1 hodinu pri la-
boratórnej teplote a potom sa nechá reagovať počas 15 hodín. Vy-
tvorená zrazenina sa odfiltruje (1. prúd). Filtrát sa odparí za
zníženého tlaku a získaný zvyšok sa čistí kvapalinovou prepa-
ratívnou chromatografiou (oxid kremičitý: 400 g, eluent: zmes
78 : 20 : 2 (v/v/v) etylacetát-metanol-amoniak). Izuluje sa
1,7 g pevnej bielej zlúčeniny (2. prúd). Obidva prúdy sa spoja
a dvakrát rekryštalizujú z metanolu. Získa sa 3,3 g 2-(4,5-di-
hydro-1H-imidazol-2-yl)-6-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-fenolu.

Výťažok: 33 %.

Teplota topenia: 260,92 °C.

RMN: δ : 3,71 (3H, s), 3,77 (2H, s), 6,53 (1H, t), 6,64 (1H, s),
7,07 (1H, d), 7,40 (1H, dd), 7,45 (1H, s), 11,1 (2H, m), 11,7
(1H, m).

Analýza pre $C_{13}H_{14}N_4O$ v %:

vypočítané:	C 64,46	H 5,82	N 23,13
zistené:	64,46	5,86	23,14

4. 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarboxamidín

a) Suspenzia 10 g (0,047 mol) 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-
-4-yl)etyl]-benzonitrilu, pripravená vo vyššie uvedenom príklade
1.2., v 100 ml metanolu, sa ochladí na teplotu -40 °C a nasýti sa
plynnou kyselinou chlorovodíkovou. Teplota sa nechá znova vystú-
piť až na 5 °C a reakčná zmes sa udržiava pri tejto teplote počas
24 hodín. Roztok sa odparí za studena na 3/4 svojho objemu
a k zvyšku sa pridá 200 ml vody a 150 ml etylacetátu a uskutoční
sa neutralizácia pomocou vodného roztoku hydrogénuhličitanu sod-

ného. Roztok sa extrahuje trikrát so 100 ml etylacetátu a organické fázy sa spoja. Organická fáza sa premyje so 100 ml nasýteného vodného roztoku chloridu sodného a potom sa vysuší nad síranom sodným, prefiltruje a rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku pri laboratórnej teplote.

b) Získaný zvyšok sa vyberie s 50 ml etanolu, roztok sa ochladí pod teplotu 10 °C a nasýti sa plynným amoniakom. Teplota roztoku sa nechá znova vystúpiť na laboratórnu teplotu a reakčná zmes sa udržiava pri tejto teplote počas 6 hodín. Potom sa rozpúšťadlo odparí za zníženého tlaku. Pevný zvyšok sa vyčistí kvapalinovou preparatívnou chromatografiou (oxid kremičitý: 500 g, eluent: zmes 78 : 20 : 2 (v/v/v) dichlórmetán-metanol-amoniak). Produkt získaný po odparení rozpúšťadiel sa rekryštalizuje dvakrát v zmesi 90/10 (v/v) voda-metanol. Získa sa 8,75 g 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]benzénkarboxamidínu.

Výťažok: 81 %.

Teplota topenia: 190,6 °C.

RMN: δ : 1,40 (3H, s), 4,48 (1H, q), 6,14 (1H, dd), 6,63 (1H, s), 6,68 (1H, dd), 7,40 (1H, s), 7,41 (1H, dd).

Analýza pre $C_{12}H_{14}N_4O$ v %:

vypočítané:	C 62,59	H 6,13	N 24,33
zistené:	62,58	6,12	24,37

5. N,2-Dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-yl)metyl -benzénkarboxamidín

a) Suspenzia 14,1 g (0,071 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-yl)metyl)-benzonitrilu, pripravená vo vyššie uvedenom príklade 1.1., v 420 ml metanolu sa ochladí na teplotu -40 °C a nasýti sa plynnou kyselinou chlorovodíkovou. Teplota sa nechá znova vystúpiť až na 10 °C a reakčná zmes sa udržiava pri tejto teplote počas 20 hodín. Roztok sa zahustí až na 200 ml, ku koncentrovanému roztoku sa pridá 300 ml ľadovej vody a 300 ml etylacetátu a neutralizuje sa vodným roztokom hydrogénuhličitanu sodného. Prefiltruje sa a vodná fáza sa oddelí od organickej fázy, potom sa vodná fáza dvakrát extrahuje s 300 ml etylacetátu a tri organické fázy sa spoja. Organická fáza sa premyje nasýteným vodným roztokom chloridu sodného, potom sa suší nad

síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku. Získa sa 15,4 g metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidátu] vo forme blede hnedého pevného produktu, ktorý sa vyberie s 210 ml absolútneho etanolu.

b) K 70 ml roztoku metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidátu] v absolútnom etanole pripravenom vo vyššie uvedenom príklade 5.a) sa pridá 1,53 g (0,022 mol) chlórhydrátu hydroxylamínu a 3,06 ml (0,22 mol) trietylamínu. Reakčná zmes sa nechá reagovať počas 1 hodiny pri teplote 20 °C. Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku a pod ultrazvukom sa olejový zvyšok vyberie do 100 ml vody. Izoluje sa 4,5 g bieleho pevného produktu, ktorý sa dvakrát rekryštalizuje z metanolu. Získa sa 3,4 g N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidínu.

Výťažok 62 %.

Teplota topenia: 227,81 °C.

RMN: δ : 3,83 (2H, s), 6,24 (2H, s), 6,67 (1H, s), 6,75 (1H, t), 7,05 (1H, d), 7,49 (1H, s), 7,51 (1H, d), 10,07 (1H, m), 11,7 (1H, m), 12,5 (1H, m).

Analýza pre $C_{11}H_{12}N_4O_2$ v %:

vypočítané:	C 56,88	H 5,21	N 24,13
zistené:	56,83	5,25	24,09

6. Hydrazid kyseliny 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidovej

a) Suspenzia 14,1 g (0,071 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzonitrilu, pripravená vo vyššie uvedenom príklade 1.1., v 400 ml metanolu sa ochladí na teplotu -45 °C a nasýti sa plynnou kyselinou chlorovodíkovou. Teplota sa nechá znova vystúpiť až na 10 °C a plynná kyselina chlorovodíková sa nechá ešte prebublávať cez suspenziu pri tejto teplote počas 4 hodín. Suspenzia sa ochladí na teplotu 5 °C a udržiava sa pri tejto teplote počas 20 hodín. Zrazenina, ktorá sa vytvorí sa prefiltruje a získa sa 11,4 g metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidátu] vo forme bieleho pevného produktu, ktorý sa použije v nasledujúcej fáze.

b) Naraz sa pridá roztok 2 g (0,0066 mol) metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidátu] pripraveného v stupni 6.a) v 20 ml metanolu k roztoku 1,52 ml (0,033 mol) hydrátu hydrazínu v 20 ml metanolu. Látky sa nachajú reagovať 15 minút a potom sa pridá 40 ml dietyléteru. Zrazenina, ktorá sa vytvorila, sa odlitruje a filtrát sa zahustí za zníženého tlaku. Zvyšok po odparení sa prečistí kvapalinovou preparatívnou chromatografiou (oxid kremičitý: 400 g, eluent: zmes 89 : 10 : 1 (v/v/v) dichlórmetán-metanol-amoniak). Pevný bledožltý produkt, získaný po odparení rozpúšťadiel, sa rekryštalizuje z metanolu. Získa sa 1,2 g hydrazidu kyseliny 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidovej.

Výťažok: 80 %.

Teplota topenia: 187,8 °C.

RMN: δ : 3,77 (2H, s), 5,09 (2H, b), 6,34 (2H, b), 6,56 až 6,64 (2H, m), 6,97 (1H, d), 7,44 (2H, m), 11,7 (1H, b), 14,7 (1H, b).

Analýza pre $C_{11}H_{13}N_5 \cdot H_2O$ v %:

vypočítané:	C 54,98	H 5,87	N 29,15
zistené:	54,96	5,89	28,39

Príklad 3

Príprava

N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidínu

Rozpustí sa 3 g (0,015 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzonitrilu, pripraveného v príklade 1.1., v 100 ml metanolu a pridá sa 1,15 g (0,0165 mol) chlórhydrátu hydroxylamínu a 1,84 g acetátu sodného. Zmes sa zahrieva na teplotu refluxu počas 20 hodín. Odparí sa metanol za zníženého tlaku a zvyšok sa vyberie s 100 ml vody. Vodný roztok sa neutralizuje na pH 7 pridaním vodného roztoku hydrogénuhličitanu sodného. Biela zrazenina, ktorá sa vytvorí, sa filtruje, suší za vákua a rekryštalizuje sa v metanole. Získa sa 1,6 g N,2-dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidínu, t.j. zlúčeniny, ktorá je tožná so zlúčeninou pripravenou v príklade 2.5.

Výťažok: 46 %.

Príklad 4

Príprava opticky aktívnych 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarboxamidínov

(-)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarboxamidín a

(+)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarbamidín

a) Metyl-[2-hydroxy-3-/1-(1H-imidazol-4-yl)etyl/-benzénkarboximidát] sa pripraví ako v príklade 2.2. a) z východiskových 32 g (0,150 mol) 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzonitrilu (pripraveného v príklade 1.2). Surový zvyšok metyl-[2-hydroxy-3-/1-(1H-imidazol-4-yl)etyl/-benzénkarboximidátu] sa použije v nasledujúcej fáze.

b) Zvyšok získaný vyššie v a) sa vyberie do 150 ml absolútneho etanolu a k nemu sa pridá 38,7 ml (0,3 mol) S-(-)- α -metylbenzylamínu. Látky sa nechajú reagovať pri laboratórnej teplote počas 15 hodín, potom sa rozpúšťadlo odparí za zníženého tlaku. Získaný zvyšok sa prečistí kvapalinovou preparatívnou chromatografiou (oxid kremičitý: 1 kg, eluent: zmes 95,6 : 4,0 : 0,4 (v/v/v) chloroform-metanol-amoniak).

c) Zmes diastereoizomérov, čiastočne vyčistených, sa potom chromatografuje podielom 5 g (oxid kremičitý: 1 kg, eluent: zmes 95,6 : 4,0 : 0,4 (v/v/v) etylacetát-metanol-amoniak) pre vyvolanie úplnej separácie diastereoizomérov. Obidva prakticky čisté diastereoizoméry sa ešte chromatografujú napokon za rovnakých podmienok. Takto sa získa 18,9 g (výťažok 33 %) diastereoizoméru A, najmenej polárnej a teda prvej vylúhovanej zložky a 27,3 g (výťažok 47 %) diastereoizoméru B, najpolárnejšej a teda poslednej eluovanej zložky. Obidve zlúčeniny sa zavedú do fázy konečnej debenzylácie.

RMN diastereooméru A:

δ : 1,40 (3H, d), 1,51 (3H, d), 4,53 (1H, q), 4,99 (1H, q), 6,29 (1H, dd), 6,65 (1H, s), 6,91 (1H, dd), 7,2 až 7,5 (7H, m), 7,75 (1H, m).

RMN diastereoméru B:

δ : 1,40 (3H, d), 1,52 (3H, d), 4,53 (1H, q), 4,99 (1H, q), 6,27 (1H, dd), 6,67 (1H, s), 6,89 (1H, dd), 7,2 až 7,5 (7H, m), 7,75 (1H, m).

d) (-)-2-Hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarboxamidín

Pod spätným chladičom sa počas 24 hodín zahrieva roztok obsahujúci 30 g diastereoizoméru A (izolovaného vo vyššie uvedenom kroku c)) v 300 ml vodného roztoku kyseliny chlorovodíkovej 12 N a 30 ml toluénu. Po eliminácii zvyškovej pevnej zložky filtráciou sa dekantuje organická fáza a vodná fáza sa premyje malým množstvom toluénu. Vodná fáza sa potom alkalizuje na pH 9 vodným roztokom hydroxidu sodného 1N. Tento vodný roztok sa extrahuje zmesou 80 : 20 (v/v) etylacetát- metanol. Odparenie organických extrakčných rozpúšťadiel poskytuje pevný zvyšok (1. prúd). Odparí sa taktiež vodná fáza a získaný zvyšok sa vyberie s 30 ml amoniaku 2,5 N v izopropylalkohole. Nerozpustné soli sa odfiltrujú a odparí sa izopropylalkohol pre získanie pevného zvyšku (2. prúd). Obidva spojené prúdy sa čistia dvoma kvapalinovými preparatívnymi chromatografiami (oxid kremičitý: 1 kg, eluent: zmes 78 : 20 : 2 (v/v/v) dichlórmetán-metanol-amoniak). Izoluje sa 10 g bieleného pevného produktu, ktorý sa rekryštalizuje z vody. Získa sa 7,18 g monohydratovaného (-)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarboxamidín.

Výťažok: 32 %.

Teplota topenia: 125,18 °C.

RMN: δ : 1,40 (3H, d), 4,44 (1H, q), 6,16 (1H, t), 6,65 (1H, s), 6,90 (1H, dd), 7,41 (1H, dd), 7,44 (1H, s).

$(\alpha)_D^{25} = -232,36^\circ$ (c=1, metanol)

Analýza pre $C_{12}H_{14}N_4O \cdot H_2O$ v %:

vypočítané: C 58,04 H 6,49 N 22,57

zistené: 57,86 6,54 22,65

e) (+)-2-Hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-benzénkarboxamidín

Pod spätným chladičom sa zahrieva počas 24 hodín roztok obsahujúci 27,3 g diastereoizoméru B (izolovaného vo vyššie

uvedenom kroku c)) v 270 ml vodného roztoku kyseliny chlorovodíkovej 12 N a 27 ml toluénu. Eliminuje sa organická fáza dekantáciou a vodná fáza sa premyje malým množstvom toluénu. Vodná fáza sa odparí za zníženého tlaku a zvyšok sa vyberie do 100 ml etanolu. Potom sa etanolový roztok neutralizuje so 40 ml roztoku amoniaku 2,5 N v izopropylalkohole. Nerozpustné soli sa odfiltrujú a filtrát sa odparí. Zvyšok sa prečistí dvoma kvapalinovými preparatívnymi chromatografiami, uskutočňovanými po sebe za rovnakých podmienok (oxid kremičitý: 800 g, eluent: zmes 78 : 20 : 2 (v/v/v) dichlórmetán-metanol-amoniak). Izoluje sa 6,22 g bieleho pevného produktu, ktorý sa rekryštalizuje z vody. Získa sa 4,93 g monohydrátovaného (+)-2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)etyl]benzénkarboxamidínu.

Výťažok: 24 %.

Teplota topenia: 139,07 °C.

RMN: δ : 1,40 (3H, d), 4,48 (1H, q), 6,14 (1H, t), 6,63 (1H, s), 7,40 (1H, s), 7,41 (1H, dd).

$(\alpha)_D^{25} = +237,44^\circ$ (c=1, metanol)

Analýza pre $C_{12}H_{14}N_4O \cdot H_2O$ v %:

vypočítané: C 58,04 H 6,49 N 22,57

zistené: 58,11 6,53 22,65

Príklad 5

Príprava substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov všeobecného vzorca I

1. 2-Hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl]-benzénkarboxamidín

a) Pridá sa 11,3 ml (0,088 mol) S(-)- α -metylbenzylamínu ku 140 ml roztoku metyl-[2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl]-benzénkarboximidátu] v absolútnom alkohole, pripravenému vo vyššie uvedenom príklade 2.5 a). Nechá sa reagovať počas 15 hodín pri teplote 20 °C a potom sa odparí rozpúšťadlo za zníženého tlaku. Získaný zvyšok sa prečistí kvapalinovou preparatívnou chromatografiou (oxid kremičitý: 1 kg, eluent: 94,5 : 5 : 0,5 (v/v/v) etylacetát-metanol-amoniak). Získa sa 13,9 g 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl]-benzénkarboxamidínu.

dazol-4-ylmetyl)-N- α -metylbenzyl-benzénkarboxamidínu, ktorý sa používa v nasledujúcej fáze.

b) Pre účely analýzy sa podrobí chromatografii ešte dvakrát 2 g 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N- α -metylbenzyl-benzénkarboxamidínu pripraveného podľa a) (oxid kremičitý: 500 g, eluent: 92,3 : 7 : 0,7 (v/v/v) dichlórmetán-metanol-amoniak) RMN: δ : 1,52 (3H, d), 3,74 (2H, m), 5,00 (1H, q), 6,28 (1H, t), 6,64 (1H, s), 6,96 (1H, dd), 7,25 až 7,45 (6H, m), 7,51 (1H, dd), 7,80 (1H, b).
 $(\alpha)_D^{25} = +225^\circ$ (c=1, metanol)

c) Do digestora sa vloží 1,0 g (0,0031 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N- α -metylbenzyl-benzénkarboxamidínu pripraveného vo vyššie uvedenom príklade 1.a) a 15 ml amoniaku a zahrieva sa pri teplote 100 °C počas 40 hodín. Rozpúšťadlo sa odparí a zvyšok sa vyčistí kvapalinovou preparatívnou chromatografiou (oxid kremičitý: 200 g, eluent: zmes 78 : 20 : 2 (v/v/v) dichlórmetán-metanol-amoniak). Po odparení rozpúšťadiel sa získa 0,5 g 2-hydroxy-3-(1H-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidínu, t.j. zlúčeniny totožnej so zlúčeninou pripravenou v príklade 2.1. Výtťažok: 75 %.

2. 2-Hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-(1-metyletyl)-benzénkarboxamidín

Do digestora sa vloží 5 g (0,0156 mol) 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N- α -metylbenzyl-benzénkarboxamidínu pripraveného vo vyššie uvedenom príklade 5.1 a) a 50 ml 2-propánamínu a zahrieva sa pri teplote 80 °C počas 54 hodín a potom pri teplote 100 °C počas 46 hodín. Rozpúšťadlo sa odparí a zvyšok sa čistí kvapalinovou preparatívnou chromatografiou (oxid kremičitý: 600 g, eluent: zmes 89 : 10 : 1 (v/v/v) dichlórmetán-metanol-amoniak). Po odparení rozpúšťadiel sa získa 3,6 g bledožltého pevného produktu, ktorý sa rekryštalizuje dvakrát z acetonitrilu. Získa sa 1,25 g 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-(1-metyletyl)-benzénkarboxamidínu.

Výťažok: 31 %.

Teplota topenia: 138 - 139 °C (rozklad).

RMN: δ : 1,24 (6H, d), 3,70 (2H, s), 3,91 (1H, m), 6,20 (1H, t),
6,60 (1H, s), 6,94 (1H, d), 7,43 (1H, s), 7,48 (1H, dd), 7,98
(1H, b), 11,7 (1H, b).

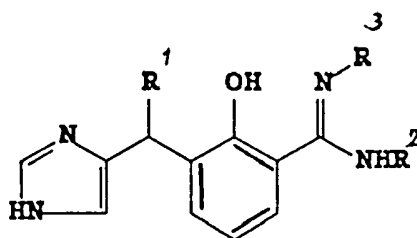
Analýza pre $C_{14}H_{18}N_4O \cdot H_2O$ v %:

vypočítané: C 60,85 H 7,30 N 20,28

zistené: 60,62 7,67 19,88

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Substituované 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidíny, ich optické izoméry a ich racemické zmesi zodpovedajúce všeobecnému vzorcu



(I)

kde

R^1 znamená atóm vodíka alebo alkylovú skupinu s 1 až 4 atómami uhlíka

R^2 znamená atóm vodíka, hydroxylovú skupinu, amínovú skupinu alebo alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka,

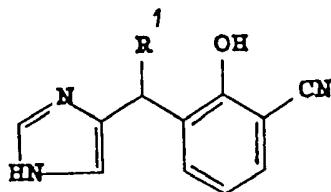
R^3 znamená atóm vodíka alebo

R^2 a R^3 spolu znamenajú skupinu $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$,

ako aj ich adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.

2. 2-Hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidín a jeho adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.
3. N,2-Dihydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboxamidín a jeho adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.

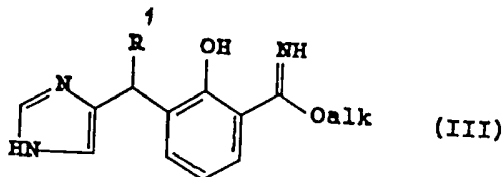
4. 2-Hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-metyl-benzénkarboxamidín a jeho adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.
5. 2-Hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)-etyl]-benzénkarboxamidín a jeho adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.
6. (+)-2-Hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)-etyl]-benzénkarboxamidín a jeho adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.
7. (-)-2-Hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)-etyl]-benzénkarboxamidín a jeho adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.
8. 2-(4,5-Dihydro-1H-imidazol-2-yl)-6-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-fenol a jeho adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.
9. 2-Hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-N-(1-metyletyl)-benzénkarboxamidín a jeho adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.
10. Hydrazid kyseliny 2-hydroxy-3-(1H-imidazol-4-ylmetyl)-benzénkarboximidovej a jeho adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.
11. Spôsob prípravy substituovaných 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov a ich solí, definovaných v nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa:
 - a) (1) nechá reagovať 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzonitril všeobecného vzorca II



(II)

kde R¹ má význam uvedený v nároku 1,
s alkanolom obsahujúcim 1 až 4 atómy uhlíka za prítomnosti
plynnej kyseliny chlorovodíkovej,

(2) potom sa nechá reagovať takto získaný alkyl-[2-hy-
droxy-3-/1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl/benzénkarboximidát]
všeobecného vzorca III

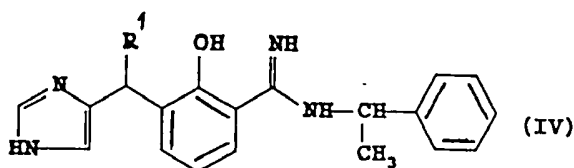


(III)

kde
R¹ má význam uvedený v nároku 1 a

alk znamená alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka,
s jedným z enantiomérov α-metylbenzylamínu, a

(3) napokon sa nechá reagovať takto získaný 2-hydroxy-3-
-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-N-α-metylbenzylbenzén-
karboxamidín všeobecného vzorca IV



kde R^1 má význam uvedený v nároku 1,

s dusíkatou zlúčeninou všeobecného vzorca V



kde R^2 znamená atóm vodíka, hydroxylovú skupinu, amínovú skupinu alebo alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka,

keď R^3 predstavuje vodík, alebo s etyléndiamínom všeobecného vzorca (VI),

keď R^2 a R^3 spoločne znamenajú skupinu $-CH_2-CH_2-$, a pokiaľ je žiadúce získanie zlúčeniny vzorca I vo forme optického izoméru, vopred sa oddelia N- α -metylbenzylované diastereoizomémerne deriváty všeobecného vzorca IV, kde R^1 znamená alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, alebo

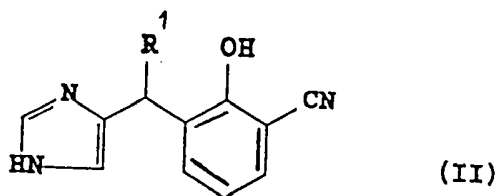
b) sa nechá reagovať alkyl-[2-hydroxy-3-/1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl/benzénkarboximidát] všeobecného vzorca III, získaný spôsobom popísaným vo vyššie uvedenej časti a), s dusíkatou zlúčeninou všeobecného vzorca V



kde R^2 znamená atóm vodíka, hydroxylovú skupinu, amínovú skupinu alebo alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka,

keď R^3 je vodík, alebo s etyléndiamínom všeobecného vzorca (VI), keď R^2 a R^3 spoločne predstavujú skupinu $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ alebo

- c) pre prípravu 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov zodpovedajúcich všeobecnému vzorcu I, v ktorom R^2 znamená hydroxylovú skupinu a R^3 znamená atóm vodíka, sa nechá reagovať hydroxylamín s 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]benzonitrilom všeobecného vzorca II



kde R^1 má význam uvedený v nároku 1, alebo

- d) pre prípravu 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidínov zodpovedajúcich všeobecnému vzorcu I, v ktorom R^1 znamená alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 atómy uhlíka, R^2 a R^3 obidva znamenajú atóm vodíka, vo forme svojich optických izomérov, sa oddeľujú diastereoizomérne 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-N- α -metylbenzylbenzénkarboxamidíny všeobecného vzorca IV, získané spôsobom popísaným vo vyššie uvedenej časti a), a potom sa eliminuje α -metylbenzyllová skupina každého takto oddeleného diastereoizoméru hydrolyzou pomocou koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej pri teplote od 80 °C do 110 °C a
- e) popripade sa prevedú takto získané 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidíny všeobecného vzorca I na svoje adičné soli s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.

12. 2-Hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]-benzénkarboxamidíny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 10 alebo niektorá z ich adičných solí s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami.

13. Oftalmologické kompozície pre znižovanie vnútroočného tlaku, v y z n a č u j ú c e s a t ý m, že obsahujú účinné množstvo jedného alebo väčší počet 2-hydroxy-3-[1-(1H-imidazol-4-yl)alkyl]benzénkarboxamidínov podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 10 alebo niektorú z ich adičných solí s netoxickými, oftalmologicky prijateľnými kyselinami, spolu s jedným alebo väčším počtom pevných alebo kvapalných, netoxických, oftalmologicky prijateľných pomocných látok.