

(19)



(10) **LT IP622 A**

(12) **PARAIŠKOS APRAŠYMAS**

(21) Paraiškos numeris: **IP622**

(51) Int. Cl. (2006): **A61K 31/13**
C07C 215/00

(22) Paraiškos padavimo data: **1993 06 04**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1994 04 25**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —

(30) Prioritetas: **1 88 84/92, 1992 06 08, HU**
1 88 85/92, 1992 06 08, HU

(71) Pareiškėjas:

RICHTER GEDEON VEGYESZETI GYAR RT., Gyomroi ut 19-21, 1475 Budapest, HU

(72) Išradėjas:

Gyorgy DOMANY, HU
Gizella BARTA, HU
Istvan SCHON, HU
Bela HEGEDUS, HU
Ferenc TRISCHLER, HU
Laszlo SZPORNY, HU
Bela KISS, HU
Egon KARPATI, HU
Eva PALOSI, HU
Adam SARKADI, HU

Aniko GERE, HU
Katalin CSOMOR, HU
Judit LASZY, HU
Zsolt SZENTIRMAI, HU
Erzsebet LAPIS, HU
Sandor SZABO, HU
Eszter THUROCZY, HU
Attila CSEHI, HU

(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:

Rita LAURINAVIČIŪTĖ, Gedimino pr. 45-6, LT-01109, Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

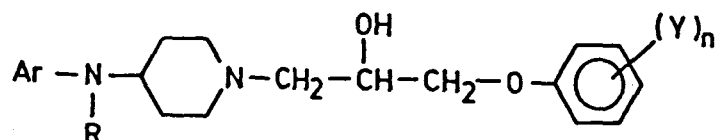
Nauji aminopropanolio dariniai, vaistinės formos, kurių sudėtyje yra šie junginiai ir jų gavimas

(57) Referatas:

—

NAUJI AMINOPROPANOLIO DARINIAI, VAISTINĖS FORMOS, KURIŲ SUDĖTYJE YRA ŠIE JUNGINIAI IR JŲ PARUOŠIMAS

Išradimas surištas su naujais, terapiškai aktyviais aminopropanolio dariniais, kurių formulė



(I)

kur

- R vandenilis arba C₁₋₄ alkilo grupė;
- Ar fenilo grupė, kurioje gali būti pakaitai: daugiausia du halogenai, C₁₋₄ alkilo grupė, C₁₋₄ alkoksi grupė arba nitrogrupė (grupės); arba naftilo grupė;
- Y halogenas, C₁₋₄ alkilo grupė, C₁₋₄ alkoksi grupė, fenilo grupė, 2,3-(CH=CH)₂- arba 3,4-(CH=CH)₂- grupės; ir
- n pasikartojančių grupių skaičius - 0, 1, 2, 3, 4, arba 5

racematu arba optiškai aktyviais junginiais taip pat šių junginių druskomis, kurios gaunamos pridėjus rūgšties ir vaistinėmis formomis į kurių sudėtį įeina šie junginiai. Be to išradimas surištas su šių aukščiau išvardintų junginių ir vaistinių formų sinteze ir paruošimu.

Junginiai, kurių formulė (I) pagal šį išradimą yra nauji ir turi žymų biologinį aktyvumą. In vitro šie junginiai pasižymi reikšmingu antioksidaciniu (lipidų peroksidazinė inhibicija) ir neuronų Ca sugėrimo inhibicijos efektu. Bandymuose in vivo jie iššaukia žymų antihipoksinį ir antikonvulsinį efektą.

Atitinkamai išradimas susietas su išbandymo metodu, į kurį įeina junginių, kurių formulė yra (I), terapiškai efektyvaus naudojimo kiekio parinkimas arba farmaciškai tinkamas rūgšties kiekio pridėjimas iš ko seka patentuojamas lipidų peroksidacinio poveikio inhibavimas ir apsaugojimas nuo Ca priklausomų pakenkimų ir nuo jų sekančių pasekmių.

Formulėje (I) C₁₋₄ alkilo grupė arba pusė grandinės C₁₋₄ alkilo C₁₋₄ alkoksi grupėje gali būti linijinė arba šakota alkilo grupės grandinė. Halogenas tai fluoras, chloras arba bromas.

Yra žinomi iš literatūros junginiai, kurie pagal struktūrą panašūs į junginius, kurių formulė yra (I).

Antihipoksiškai aktyvios medžiagos, kurios panašios į junginius šio išradimo junginius bet turi savo sudėtyje heterocikus (benzoksazolo, benzotiazolo) kurie yra prijungti prie amino grupės 4-aminopiperidino dalyje yra aprašytos Europos patente Nr 184,257.

Analgetiškai aktyvūs 4-akrylamino piperidino dariniai su 4-arilbutil arba 3-aroilpropil ir 3-arylpropil pakaitais prie azoto piperidino

žiede yra aprašyti JAV patententuose Nr 3,686,187 ir Nr 3,691,171.

Analgetiškai aktyvūs 4-(naftilamino)piperidino dariniai su pakaitu 2-ariletil 1 padėtyje piperidino žiede yra Šveicarijos patente Nr 528,507 ir Nr 535,767.

Hipoksija, išemija (bendra, vietinė, lėtinė arba pakartotinis kraujo perpylimas sukelia suvokimo funkcijų sutrikimus [S. N. Weinachter ir kiti : grupinis pranešimas 8: "Hipoksijos ir cerebralinės išemijos modelis" Pharmacopsychiat. 23, 94 - 98 p. (1990)]).

Priklausomai nuo hipoksijos ir išemijos sunkumo ir trukmės išsivysto grįžtami arba negrįžtami pažeidimai: membranų struktūra ir funkcijos pažeidžiamos, to pasekoje žūsta neuronai.

Hipoksijos ir išemijos pasekoje mitochondrinės ATF produkcija nutrūksta ir vystosi aerobinė glikolizė, ko pasekoje išsivysto pieno rūgšties acidozė. Dėl ATF trūkumo jonų siurblių funkcija sustoja. [T.F. Hornbein: "Hipoksija ir smegenys" leidinyje: Plaučiai: Mokslo fondai, 1535-1541 (1991)]. K^+ koncentracija viršląstelinėje erdvėje žymiai padidėja, ko pasekoje membrana depoliarizuojasi ir atsiveria nuo potencialo priklausantys Ca kanalai.

Padidėjus membranų pralaidumui Na^+ indukuojamas didelis ekscitatorinių amino rūgščių (gliutamato, aspartato) išsiskyrimas. Gliutamatas aktyvuoja nuo receptorių priklausomus Ca kanalus per kuriuos Ca taip pat gali pereiti į ląstelę. [B.K. Siesjo ir kiti: Kalcio srautai, kalcio antagonistai ir nuo kalcio priklausoma patologija, esant smegenų išemijai, hipoglikomijai ir Spreading Depression: apjungta hipotezė. J Cereb. Blood Flow Metab. 9, 127-140 p. (1989)].

Ca prasiskverbimas į ląstelę (pre- ir postsinaptinis Ca prasiskverbimas) gali indukuoti katabolitines reakcijas. Viduląstelinio Ca koncentracijos padidėjimas gali inicijuoti reakcijas, kurios žymiai įtakoja ląstelių funkcijoms ir vientisumui.

Ca indukuotos nenormalios reakcijos, tokios kaip lipidų hidrolizė, proteolizė, mikrovamzdelių suardymas, didelis baltymų fosforilinimas, žymių kiekių katecholaminų atpalaidavimas ir laisvų radikalų formavimasis [B.K. Siesjo ir kiti: "Smegenų pakenkimai: Neurocheminiai aspektai" leidinyje J. Povlishock and C. Becker (red.) Central nervous System Trauma-Status report, 513-532 p. (1984)].

Sugebėjimas blokuoti Na ir Ca kanalus gali turėti didelę svarbą cerebroapsaugantiems junginiams.

Tetrodoksino panaudojimas Na kanalų blokavimui yra tinkamas apsisaugojimui nuo išemijos pakenkimų [Y. Yamasaki ir kiti: "Galimas tetrodoksiniui jautrių jonų kanalų pakenkimas esant išstminiam neuronų pažeidimui žiurkių Hippocampus" Neurosci. Lett. 121, 251-254 (1991); taip pat ir D. Ashton ir kiti: "Extracellular Ions During Veratridine-induced Neurotoxicity in Hippocampal Slices: Neuroprotective Effects of Flunarizine and Tetrodotoxin" Brain Res. 528, 212-222 (1990)].

Junginiai, sumažinantys pre- ir postsinaptinį Ca prasiskverbimą arba sukaupiantys Ca viduląstelinėse dalyse, gali turėti terapinę svarbą. Šiuo metu Ca antogonistai yra naudojami išemijos pakenkimams gydyti kurių veikimas bazuojasi poveikiu kraujagyslėms; bet dar svarbiau, kad junginiai turi tokį veikimo mechanizmą, kaip antihiposinis ir antiišeminis efektai dėka Ca srauto į neuronus inhibavimo R. Hall ir

kiti "Smegenų apsaugojimas: Physiological and Pharmacological Consideration" Dalis II: The Pharmacology of Brain Protection" Can. J. Anaesth. 37, 762-777 p. (1991)].

Pakartotinio perpylimo metu po išemijos, susidaro didelis laisvų radikalų skaičius. Hidroksilo ir peroksido radikalai gali patekti į mitochondrinę kvėpavimo grandinę, arachidinės rūgšties ciklą, įtakodami ciklooksigenazės ir lipooksigenazės funkcionavimui, nes aktyvuoja chantinoksidazę ir kaip rezultatas katecholaminų autooksidacijos [T.F. Hornbein: Hipoksija ir smegenys" leidinyje: R.G. Crystal ir J.B. West (red.). Plaučiai. Mokslo fondai, 1535-1541 (1991)].

Dėka jų lipidų peroksidacijos inhibavimo efekto, antioksidantai įgalina apsaugoti nuo pakenkimų, kurie indukuojami laisvų radikalų esant išemijai ir hipoksiniams sąlygoms. Tagi, antioksidantai, kaip antiišeminiai ir antihipoksiniai junginiai gali būti naudojami gydymui su tokiais klinikiniais požymiais [R.J. Traystman ir kiti: Deguonies radikaliniai mechanizmai smegenų pakenkime išemijos ir pakartotinio perpylimo atvejais" J. Appl. Physiol. 71, 1185-1195 p. (1991)].

Laisvųjų radikalų reakcijos yra išemijos indukuotos tokių pakenkimų, kaip miokardinės išemijos, hemoraginio šoko, cerebrovaskuliariųjų funkcijų sutrikimai lydimi išemijos, išeminiai kepenų pakenkimai ir inkstų išemijos, patogenezės priežastis [R.J. Korthuis ir kiti: "Deguonies radikalų fiziologija" skyrius 17, 217-249 p. (1986)].

Antioksidacinio efekto tyrimai in vitro

Antioksidacinis efektas buvo tiriamas naudojant du metodus.

1. Įtaka NADFH indukuotai lipidų peroksidacijai smegenų mikrosomose.

Šis tyrimas buvo atliktas su mikrosomomis paruoštomis iš smegenų pagal šį metodą: T.J. Player ir A.A. Horton [J. Neurochem. 37, (2), 422-426 (1981)].

Hannover-Wistar žiurkių patinai, kiekvienas sveriantis 150-250 g, buvo naudojami mikrosomų gavimui. Po dekapitacijos visi žiurkių smegenys buvo išimami ir homogenizuojami dešimtkartiname tūryje ledo šaltumo 0.25 M sacharozės tirpale. Homogenizatas buvo centrifuguojamas Hitachi CR 26H centrifūgoje esant pagreičiui 15,000xg ir temperatūrai 4°C 10 minučių, tada supernatantas surenkamas ir centrifuguojamas Hitachi SCP85H centrifūgoje esant 78,000xg pagreičiui ir temperatūrai 4°C 60 minučių. Nuosėdos buvo suspenduojamos 0.15 M KCl tirpale, nustatomas baltymo kiekis ir padaroma taip kad jo koncentracija būtų 10 mg/ml. Taip gautas mikrosomų preparatas buvo užšaldomas vandens ir acetono mišinio pagalba ir saugojamas -70°C temperatūroje iki naudojimo.

Inkubacijos mišinio komponentai: 50 mM TRIS-HCl (pH 6.8), 0.2 mM FeCl₃, 1 mM KH₂PO₄, 0.5 mM ADF, 0.2 mg mikrosomų taip pat testuojami junginiai. Inkubacija vykdoma galutiniame 1 ml tūryje 20 minučių 37°C temperatūroje. Pridėjus 0.4 mM NADFH indukuojamas lipidų peroksidavimas. (Į kontrolinius mėginius nededama NADFH) Reakcija sustabdoma pridėjus 0.375 ml tirpalo į kurio sudėtis: 40% trichloracto rūgšties ir 5 M HCl mišinys santykiu 2:1. Malondialdehido susidarymas nustatomas naudojant tiobarbitūrinę rūgštį. Po reakcijos sustabdymo pridedama į mėginius 1 ml 1% tiobarbitūrinės rūgšties tirpalo, reakcijos

mišinys perkeliamas 10 minučių į vandens vonią, kurios temperatūra apie 100°C. Po to bandiniai centrifuguojami 10 minučių Janetzki K70 centrifūgoje esant pagreičiui 2,000xg ir temperatūrai 4°C. Supernatanto optinis tankis matuojamas 535 nm ilgio bangoje spektrofotometru Hitachi 150-20 naudojant kaip palyginamąjį junginį malonodialdehidbisdiethylacetali.

2. Smegenų homogenizato Fe^{2+} indukuotos lipidų peroksidacijos efektas

Šis tyrimas buvo atliktas su žiurkių smegenų homogenizatu pagal šį metodą: J.M. Braugher ir kiti [J. Biol. Chem. 262, (22), 10438-10440 (1987)].

Po dekapitacijos Hannover-Wistar žiurkių, sveriančių po 150-220 g smegenys homogenizuojamos 9 tūriuose lediniame Krebs-Ringer buferyje (jo sudėtis: 15 mM HEPES (pH 7.4), 140 mM NaCl, 3.6 mM KCl, 15 mM $CaCl_2$, 0.7 mM $MgCl_2$, 1.4 mM KH_2PO_4 ir 10 mM glukozės). Nustatomas baltymo kiekis ir padaroma taip kad jo koncentracija būtų 10 mg/ml. Po tiriamųjų inhibicijos agentų pridėjimo į 5 - 200 mkl homogenizato, mišinys inkubuojamas 37°C 20 minučių. Fe^{2+} indukuotos lipidų peroksidacija įvykdoma pridedant 5 mkl 8 mM $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ tirpalo. Po inkubacijos reakcija sustabdoma pridėjus tirpalo, kurio sudėtis: 0.8 M HCl ir 12.5 % trichloracto rūgšties ir pavyzdžiai centrifuguojami 10 minučių Janetzki K70 centrifūgoje esant pagreičiui 2,000xg ir temperatūrai 4°C.

Į 0.5 ml supernatanto porciją pridedama 1 ml 1% tiobarbitūrinės rūgšties tirpalo ir bandiniai perkeliama 20 minučių į vandens vonią, kurios temperatūra apie 100°C. Optinis tankis matuojamas 535 nm ilgio bangoje spektrofotometru Hitachi 150-20 naudojant kaip palyginamąjį junginį malonodialdehidbisdiethylacetali.

Iš koncentracijos ir tiriamojo efekto koreliacijos duomenų nustatomos tiriamųjų junginių IC_{50} reikšmės; rezultatai pateikiami I lentelėje.

Lentelė I

Junginio Nr	Pavyzdžio Nr	NADPH indukuojamos lipidų peroksidacijos inhibavimas, IC_{50} (mM)	Fe^{2+} indukuojamos lipidų peroksidacijos inhibavimas, IC_{50} (mM)
0107966	1	2.1	7.7
0107968	2	1.8	9.5
0108199	1	1.6	1.2
0108487	2	7.0	57.1
0108534	3	0.5	1.6
0108535	3	0.5	1.6
0108536	2	0.8	1.5
0108651	3	2.4	4.7
0108858	1	0.7	7.8
0108859	1	3.1	37.9
0109001	2	1.7	5.7
0109222	1	2.4	2.5
0109233	2	0.7	2.5

Idebenonas	1.2	12.5
DL-alfa-Tokoferonas	N.I.	10.5
Ellagic rūgštis	39.2	51.0
Silimarinas	197.0	33.2

N.I.: Tiriamos reakcijos nėra inhibuojamos šiuo junginiu.

Iš I lentelėje pateiktų duomenų galima matyti, kad kiekvienas junginys įvairiuose pavyzdžiuose pasižymi antioksidaciniu aktyvumu (lipidų peroksidavimo inhibavimu). Antioksidacinis efektas buvo tiriamas kaip fermentiniu (NADFH indukuotu) taip ir nefermentiniu (Fe^{2+} indukuojamu) lipidų peroksidacijos testu.

Junginių antioksidacionio aktyvumo lygis buvo charakterizuojamas jų IC_{50} dydžiais. Ideberonas, pasižymintis cerebroapsauginčiu poveikiu, natyvus antioksidantas - vitaminas E (DL-ALFA-tokoferonas), priešvėžinė elaginė rūgštis ir hepatoprotektinis silimarinas buvo naudojami kaip palyginamieji junginiai.

Remiantis duomenimis, pateiktais I lentelėje, galima pasakyti, kad tiriami junginiai pasižymi didesniu NADFH indukuotos (fermentinės) lipidų peroksidavimo inhibavimo efektu, nei palyginamieji junginiai: DL-alfa-tokoferonas, elaginė rūgštis, silimarinas. Junginių Nr 0107966, 0107968, 0108199 ir 0109001 antioksidacinis efektas yra panašus į idebenonų; kai junginiai Nr 0108534, 0108535, 0108536, 0108858 ir 0109223 pasižymi stipresniu inhibavimo efektu NADFH indukuojamos lipidų peroksidacijos nei idebenonas.

Kiekvienas junginys išvardintas I lentelėje pasižymi daug stipresniu Fe^{2+} indukuotos lipidų peroksidacijos inhibavimo efektu nei palyginamieji junginiai. Junginiai Nr 0108199, 0108534, 0108535 ir 0108536 yra ypatingai aktyvūs, nes jų aktyvumas dešimt didesnis nei idebenonas ar DL-alfa-tokoferonas. Panašiai ir junginiai Nr 0109222, 0109223, 0108651 ir 0109001 žymiai inhibuoja Fe^{2+} indukuotą lipidų peroksidaciją. Junginių Nr 0107966, 0107968 ir 0108858 antioksidacinis aktyvumas taip pat didesnis nei palyginamųjų junginių.

Analizuojant gautus duomenis antioksidaciniuose tyrimuose in vitro, galima pasakyti kad medžiagos Nr 0109223, 0108534, 0108535, 0108536 ir 0108858 pasižymi didesniu lipidų peroksidavimo, indukuoto įvairiais būdais, inhibavimo efektu, nei idebenonas, kuris šiuo metu pasižymi didžiausiu inhibavimo efektu.

Šio išradimo junginiai pasižymi žymiu antioksidaciniu efektu, jie tinkami lipidų peroksidavimo procesui, indukuotam laisvųjų radikalų atsirandančių Fentono reakcijos dėka (katalizuojamos Fe^{2+}) ar NADFH-citochromo-C reduktazės veikimo pasekoje, inhibavimui.

Sutrumpinimai

NADFH beta-Nikotinamido adenindinukleotido fosfatas, redukuota forma

TRIS tris(hidroksimetil)aminometanas

ADF	Adenosin-5'-difosfatas
HEPES	2-[4-(2-hidroksietil)-1-piperazin]-etansulfo rūgštis
Idebenonas	6-(10-Hidroksidecil)-2,3-dimetoksi-5-metyl-1,4-benzhinonas
DL-alfa-tokoronas	[2,5,7,8-tetrametyl-2-(4',8',12'-trimetyl-tridecil)-fechroman-6-olis
Elaginė rūgštis	2,3,7,8-Tetrahidroksi[1]benzopiran[5,4,3cde][1]benzopiran-5,10-dionas
Silimarinas	Silidininas + silidianinas + silichristinas

Ca prasiskverbimo į neuronus inhibavimo tyrimai In vitro

Ca prasiskverbimo į neuronus buvo tiriama sinaptosomose paruoštomis iš žiurkių smegenų žievės pagal metodą, kuris aprašytas P.H. Wu ir kiti [J. Neurochem. 39, 700-708 p. (1982)].

1. Sinaptosominis K⁺ indukuotas ⁴⁵Ca prasiskverbimo efektas

Sinaptosomos buvo išskirtos iš Hannover-Wistar žiurkių patinų, sveriančių po 180 - 200 g. Po žiurkių dekapitacijos smegenys buvo surenkamos ledo šaltumo fiziologiniam tirpale, smegenų žievė buvo atskiriama ir valoma nuo baltosios smegenų medžiagos. gautas audinys buvo homogenizuojamas, naudojant stiklo-teflono homogenizatorių, dešimtkartiname 0.32 M sacharozės tirpalo tūryje. Po 10 minučių centrifūgavimo Janetzki K70 centrifūgoje, esant pagreičiui 1,000xg ir temperatūrai 4°C, supernatantas buvo atskiriamas ir vėl centrifūguojamas 20 minučių Hitachi CR-26H centrifūgoje, esant pagreičiui 12,000xg ir temperatūrai 4°C. Po nuosėdų suspendavimo 0.32 M sacharozės tirpale, nustatoma baltymo koncentracija ir padaroma taip kad baltymo koncentracija būtų lygi 20 mg/ml.

Inkubavimo mišinio, naudojamo K⁺ indukuoto ⁴⁵Ca prasiskverbimo matavimams, sudėtis: 112 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.3 mM, 1.3 mM MgCl₂, 1.2 mM NaH₂PO₄, 1.2 mM CaCl₂, 10 mM glukozės ir 20 mM TRIS. Inkubavimo mišinys buvo prisotinamas anglies dioksidu (mišinys 95% O₂ ir 5% CO₂) iki pH 7.4. Tiriamieji junginiai, kaip ir sinaptosomų preparatas, atitinkantis 1 mg baltymo, buvo įdedami į terpę. galutinis inkubavimo mišinio tūris buvo 1 ml. Mėginiai prieš tyrimus buvo inkubuojami 20 minučių 37°C temperatūroje. Ca prasiskverbimas inicijuojamas, pridėjus 2.8 kBq (75 nCi) ⁴⁵CaCl₂ tirpalo. K⁺ stimuliuojamo ⁴⁵Ca prasiskverbimo tyrimams buvo naudojama 60 mM KCl koncentracija, tos pačios koncentracijos NaCl buvo naudojamas kontroliniuose mėginiuose.

Inkubacija vykdoma 20 minutes. Reakcija sustabdoma, pridėjus 5 ml ledo šaltumo stabdančiojo tirpalo (120 mM NaCl, 5 mM KCl, 5 mM EGTA, 20 mM TRIS-HCl, pH 7.4). Po filtravimo per Whatman GF/C filtrą, baltymo liekanos filtre buvo išplaunamos du kart po 5 ml plovimo tirpalu (132 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.3 mM MgCl₂, 1.2 mM CaCl₂, 20 mM TRIS-HCl, pH 7.4).

Filtrai buvo perkeliami į stiklines kiuvetes ir džiovinami 1 valandą 40°C temperatūroje. Po to į kiekvieną kiuvetę buvo pridėdama po 5 ml scinciliacino mišinio ir mėginių radioaktyvumas buvo įvertinamas naudojant skystinį scinciliacinį spektrofotometrą (1219 Racbeta, LKB Wallace).

2. Sinaptosominis veratrinu stimuliuojamas ^{45}Ca prasiskverbimo efektas

Sinaptosomų preparatų paruošimui buvo naudojami Hannover-Wistar žiurkių patinai, sveriantys po 180 - 200 g. Po žiurkių dekapitacijos smegenys buvo surenkamos ledo šaltumo fiziologiniam tirpale, smegenų žievė buvo atskiriama ir valoma nuo baltosios smegenų medžiagos. Gautas audinys buvo homogenizuojamas, naudojant stiklo-teflono homogenizatorių, dešimtkartiname 0.32 M sacharozės tirpalo tūryje. Po 10 minučių centrifūgavimo Janetzki K70 centrifūgoje, esant pagreičiui 1,000xg ir temperatūrai 4°C, supernatantas buvo atskiriamas ir vėl centrifūguojamas 20 minučių Hitachi CR-26H centrifūgoje, esant pagreičiui 12,000xg ir temperatūrai 4°C. Suspendavus nuosėdas 0.32 M sacharozės tirpale, nustatoma baltymo koncentracija ir padaroma taip, kad baltymo koncentracija būtų 20 mg/ml.

Inkubavimo mišinio, naudojamo veratrinu stimuliuojamo ^{45}Ca prasiskverbimo matavimams, sudėtis: 132 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.3 mM MgCl_2 , 1.2 mM NaH_2PO_4 , 1.2 mM CaCl_2 , 10 mM glukozės, 20 mM TRIS. Inkubavimo mišinys buvo prisotinamas anglies dioksidu (mišinys 95% O_2 ir 5% CO_2) iki pH 7.4. Tiriamieji junginiai, kaip ir sinaptosomų preparatas, atitinkantis 1 mg baltymo, buvo įdedami į terpę. Galutinis inkubavimo mišinio tūris buvo 1 ml. Prieš tyrimus mėginiai buvo inkubuojami 20 minučių 37°C temperatūroje. Ca prasiskverbimas inicijuojamas, pridėjus 2.8 kBq (75 nCi) $^{45}\text{CaCl}_2$ tirpalo. Veratrinu stimuliuojamo ^{45}Ca prasiskverbimo tyrimams buvo naudojama 20 mkM veratrinio koncentracija.

Inkubacija vykdoma 20 minutes. Reakcija sustabdoma, pridėjus 5 ml ledo šaltumo stabdančiojo tirpalo (120 mM NaCl, 5 mM KCl, 5 mM EGTA, 20 mM TRIS-HCl, pH 7.4). Po filtavimo per Whatman GF/C filtrą, baltymo liekanos filtre buvo išplaunamos du kart po 5 ml plovimo tirpalu (132 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.3 mM MgCl_2 , 1.2 mM CaCl_2 , 20 mM TRIS-HCl, pH 7.4).

Filtrai buvo perkeliami į stiklines kiuvetes ir džiovinami 1 valandą 40°C temperatūroje. Po to į kiekvieną kiuvetę buvo įpilama po 5 ml scinciliacino mišinio ir mėginių radioaktyvumas buvo įvertinamas naudojant skystinį scinciliacinį spektrofotometrą (1219 Racbeta, LKB Wallace).

IC_{50} reikšmės buvo nustatomos remiantis tiriamųjų junginių koncentracijos/efekto koreliacija ir yra pateikti II lentelėje.

II lentelė

Junginio Nr	Mėginio Nr.	K^+ indukuotas ^{45}Ca prasiskverbimas	Veratrinu indukuotas ^{45}Ca prasiskverbimas
0108651	3	27.0 (3)	4.1 (2)
0108536	2	5.4 (2)	2.6 (2)

0108487	2	15.3 (3)	1.9 (2)
0108534	3	33.0 (2)	1.7 (2)
0108489	2	13.2 (3)	2.7 (2)
0107966	1	24.0 (2)	1.1 (3)
0108048	1	30.5 (2)	2.3 (3)

Sabeluzolas		13.6 (2)	0.7 (2)
Nimodipinas		208.0 (2)	6.7 (3)
Flunarizinas		22.6 (2)	1.3 (3)

Skliausteliuose pateikta matavimų pakartojimų skaičius

K⁺ indukuoto ⁴⁵Ca prasiskverbimo tyrimuose membranos depoliarizacija sustiprėja, didėjant kalio jonų koncentracijai viršląstelinėje erdvėje. Dėl to atsiveria nuo potencialo priklausantys Ca kanalai.

Veratrinu indukuoto ⁴⁵Ca prasiskverbimo tyrimuose membranos depoliarizacija sustiprėja, mažėjant natrio jonų koncentracijai viduląstelinėje erdvėje, kadangi stabdoma Na kanalų inaktyvacija. Tokiu būdu indukuotas membranos depoliarizavimas panašiai atveria Ca kanalus.

Junginių Ca antagonistinis efektas charakterizuojamas IC₅₀ reikšmėmis. Cerebro apsaugojantys nimopidinas, flunarizinas ir sabeluzolas buvo naudojami kaip palyginamosios medžiagos.

Iš II lentelėje pateiktų duomenų galima matyti, kad visi junginiai (jų sintezė aprašyta žemiau įvairiuose pavyzdžiuose) pasižymi Ca prasiskverbimo inhibavimo efektu.

II lentelėje pateikti junginiai inhibuoja K⁺ indukuotą ⁴⁵Ca prasiskverbimą stipriau nei nimopidinas. Junginiai 0108536, 0108489 ir 0108487 ypatingai efektyvūs. K⁺ indukuoto ⁴⁵Ca prasiskverbimo tyrimuose šių junginių Ca prasiskverbimo inhibavimo efektas didesnis net už flunarizino Ca antogonistinį efektą. Junginys 0108536 inhibuoja K⁺ indukuotą ⁴⁵Ca prasiskverbimą du kart efektyviau nei cerebro apsaugantis salubezolas, kuris yra efektyviausias tarp palyginamųjų junginių.

Mūsų tyrimai naudojant šiuos testus, rodo, kad šio išradimo junginiai inhibuoja nuo potencialo priklausančių Ca kanalų funkciją.

Tiriant veratrinu indukuojamą ⁴⁵Ca prasiskverbimą, visi šio išradimo junginiai pasižymi aukštesniu aktyvumu lyginant su nimopidinu. Junginių Nr. 0108487 ir 0108534 veratrinu indukuojamo ⁴⁵Ca prasiskverbimo inhibavimo efektas artimas tada, kai junginio Nr. 0107966 aktyvumas viršija flunarizino.

Remiantis veratrinu indukuojamo ⁴⁵Ca prasiskverbimo tyrimais taip pat galima paskyti, kad šio išradimo junginiai gali įtakoti Na kanalų funkcionavimui.

Sutrumpinimai:

EGTA	Etilenglikolbis(2-aminoetil)esterio N,N'-tetraacto rūgštis
TRIS	Tris(hidroksimetyl)aminometanas
Nimodipinas	1,4-Dihidro-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3,5-piridin-

56

dikarboksilinės rūgšties 2-metoksietil 1-metilesteris

Flunarizinas 1-[bis(4-fluorfenil)metil]-4-(3-fenil-2-propenil)-piperazinas

Sabeluzolas N-Metil-N-{1-[3-(4-fluorfenoksi)-2-hidroksipropil]-piperidin-4-il}-benzotiazol-2-aminas

junginių farmakologinis efektas pasireiškia biocheminiuose tyrimuose in vitro ir patvirtinamas in vivo tyrimais.

Junginių efektas buvo tiriamas CFLP/LATI pelių patinams, sverantiems po 18 - 22 g. Tiriami junginiai 5% Tween 80 suspensijoje 10 ml/kg pelių svorio buvo įvedami per burną. Nimopidinas ir flunarizinas buvo naudojami kaip palyginamieji junginiai. Kontrolinėms pelių grupėms buvo duodamas ditiliuotas vanduo su 5% Tween 80.

Citotoksinis hipoksijos (KCN) testas

Sušėrus tiriamus junginius po 1 valandos gyvuliukams į veną (i.v.) įvedama 5 mg/kg kalio cianido (KCN). Išgyvenimo laikas buvo nustatomas nuo kalio cianido įvedimo iki paskutinio kvėpimo judesio.

Gyvuliukai, kurių išgyvenimo laikas didesnis 30% nei vidurkis išgyvenimo laiko kontrolinės grupės buvo vertinama kaip apsaugojimas.

ED₅₀ reikšmės (reikšmės (tai yra dozė, kuri efektyvi 50% gyvuliukų) buvo apskaičiuotos iš išgyvenusiųjų gyvuliukų procento naudojant bandomąją analizę.

Metrazolo konvulsija

Sušėrus tiriamus junginius po 1 valandos gyvuliukams po oda (s.c.) suleidžiama 125 mg/kg pentylentetrazolo (metrazolo) dozė. Konvulsijų išnykimas ir išgyvenimas buvo įvertinami kaip apsaugantis efektas.

ED₅₀ reikšmės buvo apskaičiuotos iš apsaugotų gyvuliukų procento naudojant bandinių analizę.

Rezultatai susumuoti III lentelėje.

III lentelė

Junginio Nr.	Pavyzdžio Nr.	ED ₅₀ mg/kg p.o.	
		KCN	Metrazolas
0107966	1	49.3	18.4
0108048	1	47.3	21.2
0108487	2	45.7	8.2
0108489	2	33.9	5.2
0108534	3	49.2	15.5
0108535	3	19.6	22.0
0108536	2	18.7	7.9
0108651	3	50.0	14.4

Flunarizinas	58.3	12.3
Nimodipinas	85.3	47.0

Medžiagų antioksidacinis Ca^{2+} prasiskverbimo inhibavimo efektas nustatytas in vitro sąlygomis buvo ištirtas dvejais farmakologiniais metodais in vivo sąlygomis.

Cerebroapsauginis efektas paremtas KCN letaliniu inhibavimo efektu; tada kai Ca^{2+} prasiskverbimo inhibavimo efektas įrodomas metrazolo iššauktų konvulsijų inhibavimo efektu.

Blokuojant cytochromo C oksidazę, KCN trukdo ląstelės metabolizmui ir išsivysto pieno rūgšties acidozė ir cititoksinė hipoksija; tuo pačiu metu didelis kiekis Ca^{2+} jonų patenka ląstelėn.

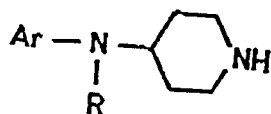
Citotoksinės hipoksijos atveju junginiai Nr 01087535 ir 0108536 3-4.5 karto, junginys Nr. 0108489 1.7-2.5 karto aktyvesni nei palyginamosios medžiagos. Pagal šį išradimą kitų junginių efektai taip pat palankesni šiame teste.

Nagrinėjant apsaugojimą nuo konvulsijų, junginių Nr. 0108487, 0108489 ir 0108536 antikonvulsinis efektas 1.5-2.4 kartus ryškiau išreikštas nei flunarizino, kurio aktyvumas 4 kartus didesnis už nimodipino. Kitų junginių antikonvulsiniai efektai artimi flunarizino antikonvulsiniam efektui ir apytikriai 2.0-2.5 karto stipresni nei nimodipino. Junginiai, kurie turi kartu žymų antioksidacinį ir Ca prasiskverbimo inhibavimo efektus in vitro tyrimuose, efektyvūs taip pat ir antikonvulsiniuose testuose.

Šio išradimo junginiai gali būti naudojami Ca priklausomiems pakenkimams indukuotiems išemijos, hipoksijos arba pakartotinu perpylimu, apsaugojimui arba pasekmių gydymui. Papildomai, ištirti junginiai gali būti naudojami gydymui, esant klinikiniais sindromams kur laisvieji radikalai turi įtaką etiologiniams faktoriams, pavyzdžiui cerebralinė ir nugaros traumos, apopleksija, sutrenkimas, cerebrovaskuliarinės kilmės išeminiai pakenkimai, hipoksija po jos sekanti aterosklerozė taip pat įvairių degeneracinių neurologinių ligų atveju tokių kaip, pavyzdžiui, Alzheimerio arba Parkinsono ligos.

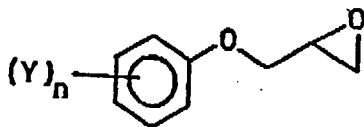
Anksčiau minėtų klinikinų sindromų atveju galimos terapinės išradimo junginių dozės gali būti tarp 0.1 ir 40 mg/kg kūno svorio, naudojami kartą į dieną dalimis per burną.

Pagal išradimą nauji aminopropanolio dariniai, kurių formulė (I) kaip ir jų druskos, gaunamos pridėjus rūgšties, gali būti susintetinti iš 4-aminopiperidino darinio, kurio formulė



(II)

kur R ir Ar yra anksčiau minimi pakaitai, ir racemato arba optiškai aktyvaus epoksidinio darinio, kurio formulė



(III)

kur Y ir n yra anksčiau apibrėžta, ir jei pageidaujama, gaunami junginiai, kurių formulė (I) ir/arba jei pageidaujama, pervesti į šių junginių druskas.

Vėliau šio išradimo naujų junginių, kurių formulė (I), gamyba bus detalai aprašoma.

Pagal šį išradimą aminopiperidino darinys, kurio formulė (II), jungiamas su racematu arba optiškai aktyviu epoksidiniu dariniu, kurio formulė (III), kurio imamas iki 20% perteklius, protoniniame arba aprotoniniame tirpiklyje, pavyzdžiui, alkoholiai arba eterio tipo tirpikliai, halogeninti arba aromatiniai angliavandeniliai, tokie kaip toluolas arba ksilolas, naudojamo tirpiklio virimo temperatūroje. Reakcija trunka apie 10 valandų. Geriausia junginius, kurių formulė (I), gauti išsodinant iš reakcijos mišinio atšaldant arba jie gali būti atskirti po nugarinimo. Kai kuriuos junginius reikia gryninti, naudojant chromatografiją kolonėlėse. Naudojant optiškai aktyvius epoksidinius darinius, kurių formulė (III), junginiai, kurių formulė (I), gaunami, suprantama, optiškai aktyvūs. Reaguojant racematiniams junginiams, kurių formulė (III), gaunami racematų mišiniai junginių, kurių formulė (I), kurie, jei pageidaujama, gali būti atskirti į atskirus švarius enantiomerus, naudojant žinomus atskyrimo metodus.

Yra žinoma kur sinezės pradine medžiaga naudojami 4-aminopiperidino dariniai, kurių formulė (II), pavyzdžiui, N-metil-N-(3-metilfenil)-4aminopiperidinas (žiūr. Europos patentas Nr. 156,433), N-fenil-4-aminopiperidinas [Chem. Pharm. Bull. 33, (5) 1826-1835 (1985)], N-(2,6-dimetilfenil)-4-aminopiperidinas (Jungtinių Valstijų patentas Nr. 4,126,689), N-(4-metoksifenil)-4-aminopiperidinas, N-(4-chlorfenil)-4-aminopiperidinas ir N-(4-fluorfenil)-4-aminopiperidinas (Jungtinių Valstijų patentas Nr. 3,686,187). Kiti reikalingi dariniai gali būti sintetinami pagal metodikas, aprašytas aukščiau išvardintoje literatūroje.

4-naftilaminopiperidino dariniai, kurių formulė (II), pavyzdžiui, 4-(1-naftil)-aminopiperidinas yra aprašyti Šveicarijos patente Nr. 535,767. Kiti norimi dariniai gali būti susintetinti pagal ten aprašytas metodikas.

Epoksidiniai dariniai, kurių formulė (III) yra žinomi junginiai, daugeliu iš jų yra prekiaujama. Optiškai aktyvios medžiagos, kurių formulė (III), gali būti paruošti, pavyzdžiui, pagal metodiką publikuotą J. Org. Chem. 54, 1298-1304 (1989).

Jei pageidaujama, racematas arba optiškai aktyvūs junginiai, kurių formulė (I), gali būti žinomu būdu pervesti į jų druskas, gaunamas pridėjus rūgšties.

Druskų susidarymas turi būti vykdomas inertiniam organiniam tirpiklyje, pavyzdžiui, ištirpinus junginį, kurio formulė (I), pasirinktame tirpiklyje, porcijomis pridėdama tinkama rūgštis į šį tirpalą kol mišinio pH netaps stipriai rūgštinis (pH apie 1). Taip pat druskos gali būti gaunamos pridėjus apskaičiuotą kiekį norimos rūgšties, ištirpintos išsirinktame tirpiklyje, į anksčiau minėtą tirpalą. Susidariusios druskos nuosėdos atskiriamos nuo reakcijos mišinio preinamu būdu, pavyzdžiui, filtravimu.

Aktyvūs agentai, kurių formulė (I), gali būti naudojami vaistinėse formose sumaišant juos su netoksiškais, inertinėmis, kietais arba skystais nešėjais ir arba papildomais, įprastai naudojamais terapijoje įvedant vaistinius preparatus. Naudotini nešėjai yra, pavyzdžiui vanduo, želatina, talkas, augalinis aliejus, tokie kaip žemės riešutų aliejus, alyvų aliejus, ir panašūs. Veiklioji medžiaga gali būti realizuota farmakologinėmis priemonėmis, ypač kietomis kompozicijomis, kaip, pavyzdžiui, tabletės, dražė arba kapsulės, tokia, kaip želatinos kapsulė, žirnelis, žvakutė ir panašios. Nebūtinai šių kompozicijų sudėtyje gali būti kiti įprastai farmacijoje naudojami priedai, pavyzdžiui stabilizatoriai, konservantai, paviršiaus aktyvios medžiagos, emulgatoriai ir panašūs. Kompozicijos gali būti paruoštos žinomais būdais, pavyzdžiui, sijoiant, maišant, granuliuojant ir presuojant komponentus kietų kompozicijų atveju. Kompozicijos gali būti apdorojamos kitomis įprastinėmis farmacinės technologijos operacijomis, pavyzdžiui, sterilizavimu.

Išradimas taip pat apima lipidų peroksidacinio inhibavimą taip pat ir visus iš to išplaukiančius variantus, apsaugojimą nuo Ca priklausomų pakenkimų ir pakenkimų gydymą. Šis metodas apima terapiškai efektyvaus atyvaus agento, kurio formulė (I) kiekio arba farmaciškai priimtinos rūgšties druskos pacientui vartojimą.

Išradimas detaliai iliustruojamas Pavyzdžiais.

1 Pavyzdys

(+/-)-1-fenoksi-3-{4-[(1-naftil)amino]-piperidin-1-il}-2-propanolio [(I), Ar = 1-naftil, R = H, Y = H; junginys Nr. 0107966] sintezė

Suspendavus 11.7 g (0.030 mol) 4-[(1-naftil)amino]piperidino dichlorido [(II), Ar = 1-naftil, R = H] 240 ml chloroformo, įpilama 120 ml 4 N vandeninio natrio hidroksido tirpalo į gautą suspensiją, mišinys maišomas kol ištirpsta medžiaga. Po dviejų fazių atskyrimo iš vandeninio sluoksnio ekstrahuojama 30 ml chloroformu, apjungta organinė fazė plaunama 30 ml vandens. Chloroformo tirpalas džiovinamas ir nu-garinamas vakuume. Į aliejų panaši liekana ištirpinama 120 ml ksilolo, pridėdama į tirpalą 6.1 ml (0.045 mol) (+/-)-1-fenoksi-2.3-epoksipropano [(III), Y = H], reakcijos mišinys verdamas su grįžtamu šaldytuvu 10 valandų, maišant. Po atšaldymo, iškritęs į nuosėdas produktas filtruojamas ir perkristalinamas iš 200 ml acetonitrilo. Nurodyto junginio gaunama 9.0 g (85.5%), lydymosi temperatūra: 160-162°C.

Pagal aukščiau aprašytą procesą susintetinti išvardinti (+/-) dariniai, kurių formulė (I), gaunami reaguojant atitinkamiems piperidino

junginiams, kurių formulė (II), su tinkamais epoksi junginiais, kurių formulė (III).

Ar	R	Y	T _{lyd} , °C	Kristalinimo tirpiklis	Junginio Nr.
1-naftil	H	3,4-(CH=CH) ₂	162-163	etilacetatas	0108199
1-naftil	H	4-Br	162-165	etilacetatas	0108958
1-naftil	CH ₃	H	127-128	ksilolas	0109402
1-naftil	H	C ₆ H ₅	162-164	ksilolas	0109574
4-Cl-fenil	H	H	119-120	etanolis	0108048
4-Cl-fenil	H	3,4-(CH=CH) ₂	163-165	toluolas	0108200
4-Cl-fenil	H	4-Br	145-150	metanolis	0108859
4-F-fenil	H	H	120-122	ksilolas	0108943
4-F-fenil	H	4-F	126-128	etanolis	0108874
4-F-fenil	H	4-Cl	136-138	etanolis	0108875
1-NO ₂ -fenil	H	H	156-157	etanolis	0108737
4-NO ₂ -fenil	H	4-F	153-154	etanolis	0108738
fenil	H	H	116-117	etanolis	0108648
fenil	H	4-F	136-138	toluolas	0108685
4-CH ₃ O-fenil	H	H	118-120	ksilolas	0109222

Panašiai, pagal aukščiau aprašytą metodiką susintetinamas (+/-)-1-(4-fluorfenoksi)-3-{4-[(2-naftil)amino]piperidin-1-il}-2-propanolis [(I), Ar = 2-naftil, R = H, Y = 4-F] [lydymosi temperatūra: 166-168°C (po perkristalinimo iš etil acetato), junginys Nr. 0108650] iš 4-[(2-naftil)amino]piperidino dichlorido [(II), Ar = 2-naftil, R = H] ir (+/-)-1-(4-fluorfenoksi)-2,3-epoksipropano [(III), Y = 4-F].

2 Pavyzdys

(+/-)-1-(4-chlorfenoksi)-3-{4-[(1-naftil)amino]-piperidin-1-il}-2-propanolio [(I), Ar = 1-naftil, R = H, Y = 4-Cl; junginys Nr. 0108536] sintezė

Įdėjus 200 ml 4 N vandeninio natrio hidroksido tirpalo į suspensiją, kurios sudėtis 15.0 g (0.050 mol) 4-[(1-naftil)amino]-piperidino dichlorido [(II), Ar = 1-naftil, R = H] ir 400 ml chloroformo, maišoma kol ištirpsta medžiaga. Po dviejų fazių atskyrimo iš vandeninio sluoksnio ekstrahuojama su 50 ml chloroformo, apjungta organinė fazė plauinama 50 ml vandens. Chloroformo tirpalas džiovinamas ir nugarinamas vakuume. Į aliejų panaši liekana ištirpinama 200 ml ksilolo, pridedama į tirpalą 10.2 g (0.055 mol) (+/-)-1-(4-chlorfenoksi)-2,3-epoksipropano [(III), Y = 4-Cl], reakcijos mišinys verdamas su grįžtamu šaldytuvu 10 valandų, maišant. Po atšaldymo, tirpalas nugarinamas vakuume, liekana perkristalinama iš 100 ml etanolio. Nurodyto junginio gaunama 19.2 g (93.5%), lydymosi temperatūra: 165-167°C.

Pagal aukščiau aprašytą procesą susintetinti žemiau išvardinami (+/-) dariniai, kurių formulė (I), gaunami reaguojant atitinkamiems piperidino junginiams, kurių formulė (II), su norimus pakaitus turin-

čiais epoksijunginiais, kurių formulė (III).

Ar	R	Y	T _{lyd} , °C	Kristalinimo tirpiklis	Junginio Nr.
1-naftil	H	2,3,4,5,6-penta-F	123-124	metanolis	0107968
1-naftil	H	4-Cl	100-102	diizopropilo eteris	0109403
4-CH ₃ -fenil	H	4-F	140-142	etanolis	0108880
4-Cl-fenil	H	4-F	136-138	etanolis	0108487
4-Cl-fenil	H	4-Cl	146-148	etanolis	0108489
4-Cl-fenil	H	2,3,4,5,6-penta-F	100-102	etanolis	0108179
4-Cl-fenil	H	3,4-(CH=CH)-	139-141	etanolis	0108488
2-Cl-fenil	H	H	92-94	eteris	0108864
2-Cl-fenil	H	4-F	108-110	etanolis	0108865
2-Cl-fenil	H	4-Cl	101-103	etanolis	0108866
2-Cl-fenil	H	H	124-126	etanolis	0108867
3-Cl-fenil	H	4-F	126-128	etanolis	0108868
3-Cl-fenil	H	4-Cl	131-133	etanolis	0108869
2,5-di-Cl-fenil	H	H	107-108	etanolis	0109006
2,5-di-Cl-fenil	H	4-F	105-106	etanolis	0108947
2,5-di-Cl-fenil	H	4-Cl	119-121	eteris	0108948
4-Br-fenil	H	H	103-104	etanolis	0108876
4-Br-fenil	H	4-F	123-125	etanolis	0108877
4-Br-fenil	H	4-Cl	143-145	etanolis	0108878
4-CH ₃ -fenil	H	H	121-123	etanolis	0108879
4-CH ₃ -fenil	H	4-Cl	126-128	eteris	0109001
4-CH ₃ O-fenil	H	4-Cl	141-143	etanolis	0109223
4-CH ₃ -fenil	CH ₃	H	72-73	diizopropilo eteris	0109326
4-Cl-fenil	CH ₃	C ₆ H ₅	135-136	metanolis	0109537

Panašiai, pagal aukščiau aprašytą metodiką susintetinamas (+/-)-1-(3-fenoksi)-3-{4-[(2-naftil)amino]piperidin-1-il}-2-propanolis [(I), Ar = 2-naftil, R = H, Y = H; junginio Nr. 0508649] iš 4-[(2-naftil)amino]piperidino dichlorido [(II), Ar = 2-naftil, R = H] ir (+/-)-1-(4-fenoksi)-2,3-epoksipropano [(III), Y = H]. Nustatyta junginio lydymosi temperatūra - 156-157°C (po perkristalinimo iš etanolio).

3 Pavyzdys

(+/-)-1-(1-naftiloksi)-3-{4-[(1-naftil)amino]-piperidin-1-il}-2-propanolio [(I), Ar = 1-naftil, R = H, Y = 2,3-(CH=CH)₂-; junginio Nr. 0108535] sintezė

Įpylus 40 ml 4 N vandeninio natrio hidroksido tirpalo į suspensiją,

62

kurios sudėtis - 3.9 g (0.010 mol) 4-[(1-naftil)amino]-piperidino dihidrobromido [(II), Ar = 1-naftil, R = H] ir 80 ml chloroformo, maišoma kol ištirpsta medžiaga. Po dviejų fazių atskyrimo iš vandens sluoksnio ekstrahuojama 10 ml chloroformo, apjungta organinė fazė plaunama du kart po 10 ml vandens. Chloroformo tirpalas džiovinamas ir nugarinamas vakuume. Į aliejų panaši liekana ištirpinama 40 ml toluolo, pridėdama į šį tirpalą 2.2 g (0.011 mol) (+/-)-1-(1-naftiloksi)-2.3-epoksiopropano [(III), Y = 2,3-(CH=CH)₂], reakcijos mišinys verdamas su grįžtamu šaldytuvu 10 valandų, maišant. Po tirpalo nugarinamo vakuume, liekana chromatografiškai gryninama silikagelio kolonėlėje (dalelių dydis 0.063-0.200 mm) naudojant eliuentu chloroformo ir metanolio mišinį santykiu 9:1. Frakcijos, kuriose yra grynas produktas, nugarinamos, o liekana perkristalinama iš 30 ml etanolio. Duoto junginio gaunama 1.8 g (42%), lydymosi temperatūra: 111-113°C.

Pagal aukščiau aprašytą procesą susintetinti žemiau išvardinami (+/-) dariniai, kurių formulė (I), gaunami reaguojant atitinkamiems 4-aminopiperidino dariniams, kurių formulė (II), su norimus pakaitus turinčiais epoksi junginiais, kurių formulė (III).

Ar	R	Y	T _{lyd} , °C	Kristalinimo tirpiklis	Junginio Nr.
1-naftil	H	4-F	168-170	etilacetatas	0108534
1-naftil	H	2-CH ₃ O	111-113	izopropanolis	0108651
1-naftil	H	3-CH ₃	131-133	etanolis	0108652
4-Cl-fenil	H	3-CH ₃ O	102-103	etanolis	0108653
4-Cl-fenil	H	3-CH ₃	129-130	etanolis	0108654
4-Br-fenil	CH ₃	H	97-986	petrolis eteris	0109327

4 Pavyzdys

(+/-)-1-(4-fluorfenoksi)-3-{4-[(2,6-dimetilfenil)amino]-piperidin-1-il}-2-propanolio dichlorido [(I), Ar = 2,6-di-CH₃-fenil, R = H, Y = 4-F; junginio Nr. 0108945] sintezė

Pagal metodiką, aprašytą 1 pavyzdyje, 3.70 g (0.010 mol) 4-[(2,6-dimetilfenil)amino]-piperidino dihidrobromido [(II), Ar = 2,6-dimetilfenil, R = H] pervedama į laisvos bazės formą. Ištirpinus nugarintą liekaną 40 ml ksilolo ir pridėjus 1.85 g (0.011 mol) (+/-)-1-(4-fluorfenoksi)-2.3-epoksiopropano [(III), Y = 4-F], reakcijos mišinys verdamas su grįžtamu šaldytuvu 10 valandų, maišant. Atšaldžius, tirpalas nugarinamas vakuume, liekana chromatografiškai gryninama silikagelio kolonėlėje (dalelių dydis 0.063-0.200 mm), naudojant eliuentą chloroformo ir metanolio mišinį santykiu 95:5. Frakcijos, kuriose yra grynas produktas, nugarinamos, o į alyvą panaši liekana ištirpinama 20 ml eterio į kuri lašinama etilacetato tirpalas, kuriame yra druskos rūgšties, kol pasiekiamas pH = 1. Nuosėdos filtruojamos ir išdžiovinamos ore. Duoto junginio gaunama 3.3 g (74%), lydymosi tempe-

ratūra: 111-113°C.

Pagal aukščiau aprašytą procesą susintetinti žemiau išvardinami (+/-) darinių hidrochloridai, kurių formulė (I), gaunami reaguojant atitinkamom pradinėm medžiagoms, kurių formulė (II) ir (III).

Ar	R	Y	T _{lyd} , °C	Kristalinimo tirpiklis	Junginio Nr.
1-naftil	H	H	250-252		
2,6-dimetil-fenil	H	H	186-188		0108944
2,6-dimetil-fenil	H	4-CL	111-113		0108946
4-Cl-fenil	CH ₃	4-Cl	216-218	izopropanolis	0109170

5 Pavyzdys

(+)-1-fenoksi-3-{4-[(1-naftil)amino]-piperidin-1-il}-2-propanolio [(I), Ar = 1-naftil, R = H, Y = H;] sintezė

Įpylus 40 ml 4 N vandeninio natrio hidroksido tirpalo į suspensiją, kurios sudėtis - 3.0 g (0.010 mol) 4-[(1-naftil)amino]-piperidino dihidrochlorido [(II), Ar = 1-naftil, R = H] ir 80 ml chloroformo, maišoma kol ištirpsta medžiaga. Po dviejų fazių atskyrimo iš vandeninio sluoksnio ekstrahuojama 10 ml chloroformo, apjungta organinė fazė plaunama du kart po 10 ml vandens. Chloroformo tirpalas džiovinamas ir nugarinamas vakuume. Į aliejų panaši liekana ištirpinama 40 ml ksilolo, pridedama į šį tirpalą 1.65 g (0.011 mol) (+)-1-fenoksi-2.3-epoksipropano [(III), Y = H], reakcijos mišinys verdamas su grįžtamu šaldytuvu 10 valandų, maišant. tirpalas atšaldomas, nuosėdos filtruojamos ir perkristalinamos iš 20 ml etilacetato. Duoto junginio gaunama 1.8 g (42%), lydymosi temperatūra: 111-113°C, $[\alpha]_D^{25} = +5.8^\circ$ (c = 1, dimetilformamidas).

Pagal aukščiau aprašytą procesą susintetinamas (-)-1-fenoksi-3-{4-[(1-naftil)amino]-piperidin-1-il}-2-propanolis [(I), Ar = 1-naftil, R = H, Y = H], lydymosi temperatūra (perkristalinus iš etilacetato) - 162-164°C, $[\alpha]_D^{25} = -4.8^\circ$ (c = 1, dimetilfomamidas) iš pradinių medžiagų: 4-[(1-naftil) amino]-piperidino dihidrochlorido [(II), Ar = 1-naftil, R = H] ir (-)-1-fenoksi-2.3-epoksipropano [(III), Y = H]

6 Pavyzdys

(-)-1-fenoksi-3-[4-{[N-(1-naftil)-N-metil]amino}piperidin-1-il]-2-propanolio [(I), Ar = 1-naftil, R = CH₃, Y = H;] sintezė

Po laisvos bazės susidarymo iš 3.2 g (0.010 mol) 4-{[N-metil-N-(1-naftil)]amin}piperidino dihidrochlorido 20 [(II), Ar = 1-naftil, R = CH₃] pagal 5 pavyzdyje aprašytą būdą į alyvą panaši liekana ištirpinama 40 ml ksilolo ir po to pridedama 1.65 g (0.011 mol) (-)-1-fenoksi-2.3-epoksipropano [(III), Y = H], reakcijos mišinys verdamas su grįžtamu šaldytuvu 10 valandų, maišant. Nugarinus tirpalą vakuume, liekana chromatografiškai gryninama silikagelio kolonėlėje (dalelių

64

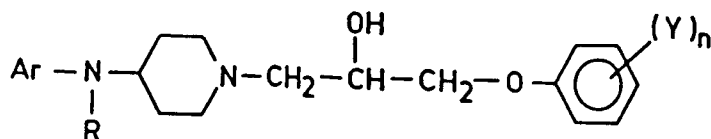
dydis 0.063-0.200 mm). Eliuentu naudojamas acetonas. Frakcijos, kuriose yra grynas produktas, nugarinamos, liekana perkristalinama iš 20 ml etanolio. Šio junginio gaunama 0.82 g (21%), lydymosi temperatūra: 115-117°C, $[\alpha]_D^{25} = -10.8^\circ$ (c = 1, dimetilformamidas).

Pagal aukščiau aprašytą procesą susintetinamas (+)-1-fenoksi-3-[4-{[N-(1-naftil)-N-metil]amino}-piperidin-1-il]-2-propanolis iš 4-{[N-metil-N-(1-naftil)]amin}piperidino dihidrochlorido [(II), Ar = 1-naftil, R = CH₃] ir (+)-1-fenoksi-2.3-epoksipropano [(III), Y = H]. Šio junginio lydymosi temperatūra - 120-122°C, $[\alpha]_D^{25} = -4.8^\circ$ (c = 1, dimetilfomamidas).

65

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Aminopropanolio dariniai, kurių formulė



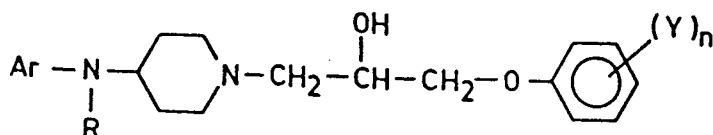
(I)

kur

- R vandenilis arba C₁₋₄ alkilo grupė;
 Ar fenilo grupė, kurioje gali būti pakaitai: daugiausia du halogenai, C₁₋₄ alkilo grupė, C₁₋₄ alkoksi grupė arba nitro grupė grupės); arba naftilo grupė;
 Y halogenas, C₁₋₄ alkilo grupė, C₁₋₄ alkoksi grupė, fenilo grupė, 2,3-(CH=CH)₂- arba 3,4-(CH=CH)₂- grupės; ir
 n pasikartojančių grupių skaičius - 0, 1, 2, 3, 4, arba 5 racematai arba optiškai aktyvūs junginiai taip pat šių junginių druskos, kurios gaunamos pridėjus rūgšties.

2. 1 apibrėžtyje junginiai išrinkti iš grupės, turinčios
 1-(4-chlorfenoksi)-3-{4-[(1-naftil)amino]piperidin-1-il}-2-propanolis,
 1-(1-naftiloksi)-3-{4-[(1-naftil)amino]piperidin-1-il}-2-propanolis,
 1-(4-fluorfenoksi)-3-{4-[(1-naftil)amino]piperidin-1-il}-2-propanolis,
 1-(4-fluorfenoksi)-3-{4-[(4-chlorfenil)amino]piperidin-1-il}-2-propanolis,
 1-(4-chlorfenoksi)-3-{4-[(4-chlorfenil)amino]piperidin-1-il}-2-propanolis,
 racematai arba optiškai aktyvūs junginiai taip pat šių junginių druskos, kurios gaunamos pridėjus rūgšties.

3. Farmacinės kompozicijos, k u r i a s s u d a r o kaip aktyvus ingredientas racematas arba optiškai aktyvus aminopropanolio darinys, kurio formulė



(I)

kur

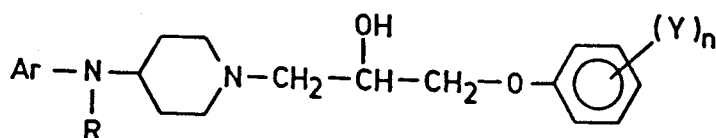
- R vandenilis arba C₁₋₄ alkilo grupė;
 Ar fenilo grupė, kurioje gali būti pakaitai: daugiausia du

halogenai, C_{1-4} alkilo grupė, C_{1-4} alkoksi grupė arba nitro grupė (grupės); arba naftilo grupė;

Y halogenas, C_{1-4} alkilo grupė, C_{1-4} alkoksi grupė, fenilo grupė, 2,3-(CH=CH)₂- arba 3,4-(CH=CH)₂- grupės; ir

n pasikartojančių grupių skaičius - 0, 1, 2, 3, 4, arba 5
arba farmaciškai tinkamos rūgšties pridėjimas mišinyje su nešėju ir/
arba kitais priedais, kurie įprastai naudojami farmacijos promonėje.

4. Gamybos procesas naujų aminopropanolio darinių, kurių formulė



(I)

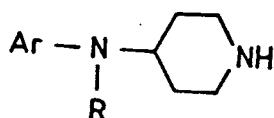
kur

R vandenilis arba C_{1-4} alkilo grupė;

Ar fenilo grupė, kurioje gali būti pakaitai: daugiausia du halogenai, C_{1-4} alkilo grupė, C_{1-4} alkoksi grupė arba nitro grupė (grupės); arba naftilo grupė;

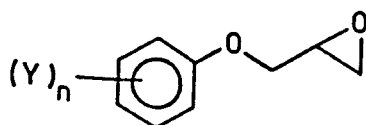
Y halogenas, C_{1-4} alkilo grupė, C_{1-4} alkoksi grupė, fenilo grupė, 2,3-(CH=CH)₂- arba 3,4-(CH=CH)₂- grupės; ir

n pasikartojančių grupių skaičius - 0, 1, 2, 3, 4, arba 5
racematų arba optiškai aktyvių junginių ir tų junginių druskų, kurios gaunamos pridėjus rūgšties, k u r i s u d a r o reakcija tarp 4-aminopiperidino darinių, kurių formulė



(II)

kur R ir Ar apibrėžti aukščiau su racematais arba optiškai aktyviais epoksi dariniais, kurių formulė



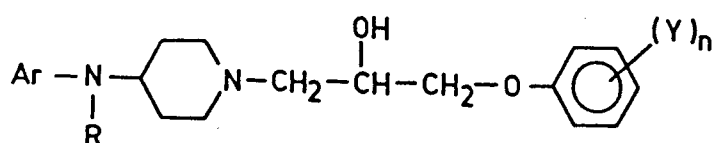
(III)

kur Y ir n apibrėžti anksčiau ir, jei norima, galima gauti junginius, kurių formulė (I) ir arba, jei pageidaujama pervesti į šių junginių druskas, pridėdant rūgštis.

5. Procesas, aprašytas 4 apibrėžtyje, kurį sudaro 4-aminopiperidino darinių, kurių formulė (II) reakcija su epoksi dariniais, kurių formulė (III) pertekliumi.

6. Procesas, aprašytas 4 apibrėžtyje, kurį sudaro darinių, kurių formulė (II) reakcija su dariniais, kurių formulė (III) vykdoma protoniniuose ir aprotoniniuose organiniuose tirpikliuose, tirpiklių virimo temperatūroje.

7. Farmacinės kompozicijos gynybos procesas, kurį sudaro aktyvaus ingrediento, naujo racemato arba optiškai aktyvaus aminopropanolio darinio, kurio formulė



(I)

kur

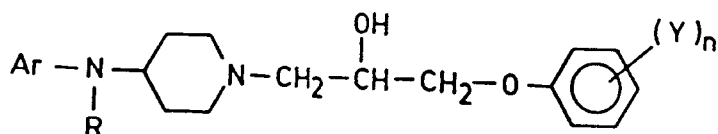
R vandenilis arba C₁₋₄ alkilo grupė;

Ar fenilo grupė, kurioje gali būti pakaitai: daugiausia du halogenai, C₁₋₄ alkilo grupė, C₁₋₄ alkoksi grupė arba nitro grupė (grupės); arba naftilo grupė;

Y halogenas, C₁₋₄ alkilo grupė, C₁₋₄ alkoksi grupė, fenilo grupė, 2,3-(CH=CH)₂- arba 3,4-(CH=CH)₂- grupės; ir

n pasikartojančių grupių skaičius - 0, 1, 2, 3, 4, arba 5 arba farmaciškai priimtinos rūgštis šių junginių druskų maišymas su nešėju ir arba kitais priedais, įprastai naudojamais farmacijos ramonėje, paverčiant mišinį farmacine kompozicija.

8. Lipidų peroksidacijos inhibavimo metodas ir pasekmių gydymas taip pat ir apsaugojimas nuo pasekmių Ca inicijuotų pakenkimų indukuotų, pavyzdžiui išemijos, hipoksijos ar pakartotinos perfuzijos ir įvairių degeneratyvių neurologinių ligų gydymui tokių kaip, pavyzdžiui, Alzheimerio liga ar Parkinsono liga, kurį sudaro aminopropanolio darinių, optiškai aktyvių ar racematų, kurių formulė



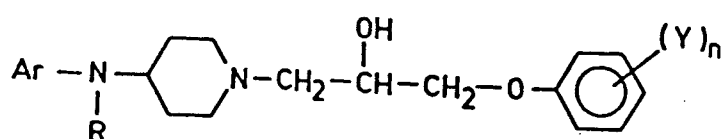
(I)

68

kur

- R vandenilis arba C_{1-4} alkilo grupė;
 Ar fenilo grupė, kurioje gali būti pakaitai: daugiausia du halogenai, C_{1-4} alkilo grupė, C_{1-4} alkoksi grupė arba nitro grupė (grupės); arba naftilo grupė;
 Y halogenas, C_{1-4} alkilo grupė, C_{1-4} alkoksi grupė, fenilo grupė, 2,3-(CH=CH)₂- arba 3,4-(CH=CH)₂- grupės; ir
 n pasikartojančių grupių skaičius - 0, 1, 2, 3, 4, arba 5
 arba farmaciškai priimtinos rūgšties šių darinių druskų ar farmacinės kompozicijos terapiškai efektyvaus vartojamo pacientų kiekio parinkimą.

9. Junginių, kurių formulė

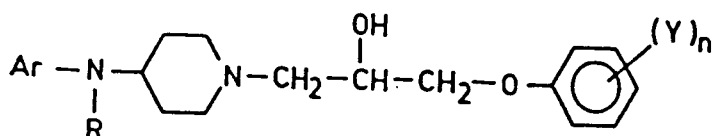


(I)

kur

- R vandenilis arba C_{1-4} alkilo grupė;
 Ar fenilo grupė, kurioje gali būti pakaitai: daugiausia du halogenai, C_{1-4} alkilo grupė, C_{1-4} alkoksi grupė arba nitro grupė (grupės); arba naftilo grupė;
 Y halogenas, C_{1-4} alkilo grupė, C_{1-4} alkoksi grupė, fenilo grupė, 2,3-(CH=CH)₂- arba 3,4-(CH=CH)₂- grupės; ir
 n pasikartojančių grupių skaičius - 0, 1, 2, 3, 4, arba 5
 arba farmaciškai priimtinos rūgšties šių darinių druskų paruošimo būdas farmacinių kompozicijų gamyboje lipidų peroksidacijos inhibavimui ir pasekmių gydymui taip pat ir apsaugojimui nuo pasekmių Ca inicijuotų pakenkimų indukuotų, pavyzdžiui išemijos, hipoksijos ar pakartotinos perfuzijos ir įvairių degeneratyvių neurologinių ligų gydymui tokių kaip, pavyzdžiui, Alzheimerio liga ar Parkinsono liga.

10. Junginių, kurių formulė



(I)

kur

- R vandenilis arba C_{1-4} alkilo grupė;
 Ar fenilo grupė, kurioje gali būti pakaitai: daugiausia du

halogenai, C_{1-4} alkilo grupė, C_{1-4} alkoksi grupė arba nitro grupė (grupės); arba naftilo grupė;

Y halogenas, C_{1-4} alkilo grupė, C_{1-4} alkoksi grupė, fenilo grupė, $2,3-(CH=CH)_2$ - arba $3,4-(CH=CH)_2$ - grupės; ir

n pasikartojančių grupių skaičius - 0, 1, 2, 3, 4, arba 5

arba farmaciškai priimtinos rūgšties šių darinių druskos, naudojamos farmacinių kompozicijų gamyboje lipidų peroksidacijos inhibavimui ir pasekmių gydymui taip pat ir apsaugojimui nuo pasekmių Ca inicijuotų pakenkimų indukuotų, pavyzdžiui išemijos, hipoksijos ar pakartotinos perfuzijos ir įvairių degeneratyvių neurologinių ligų gydymui tokių kaip, pavyzdžiui, Alzheimerio liga ar Parkinsono liga.