

(19)



(10) **LT 3468 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patentų numeris: **3468**

(51) Int.Cl.⁵: **C07D 233/54,
A61K 31/415**

(21) Paraiškos numeris: **IP1959**

(22) Paraiškos padavimo data: **1994 06 17**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1995 01 31**

(45) Patentų paskelbimo data: **1995 10 25**

(31,32,33) Prioritetas: **9312669, 1993 06 18, GB**

(72) Išradėjas:

**Antti Haapalinna, FI
Maire Eloranta, FI
Seppo Parhi, FI
Arja Leena Karjalainen, FI
Raimo Elnari Virtanen, FI
Arto Johannes Karjalainen, FI**

(73) Patentų savininkas:

Orlon-yhtymä Oy, Orlonintie 1, FIN-02200 Espoo, FI

(74) Patentinis patikėtinis:

**Marius Jakulis-Jason, 3, A.A.A.Baltic Service Company, Rūdninkų g. 18/2-12, 2001
Vilnius, LT**

(54) Pavadinimas:

Nauji optiniai izomerai ir jų gavimo būdas

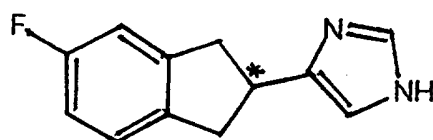
(57) Referatas:

Aprašyti 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo optiniai izomerai ir jų farmaciškai priimtinos druskos, jų panaudojimas ir gavimas. Abu izomerai yra stiprūs vaistai, gydantys pažinimo sutrikimus.

Šis išradimas pateikia naujus 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo optinius izomerus ir jo farmaciškai priimtinas druskas, jų panaudojimą ir gavimą. Abu optiniai izomerai yra stiprūs vaistai gydyti pažinimo sutrikimus, nors jiems gali būti priskirti šiek tiek skirtingi farmakologiniai profiliai. (-)-antipodas yra labiau priimtinas iš tų dviejų antipodų, kadangi jis turi didesnę terapinę veikimo platumą už (+)-antipodą. Tai labai stiprus α_2 adrenoreceptorių antagonistas, bet neturi α_1 agonizmo, tuo tarpu (+)-antipodas turi vidutinį antagonizmą α_2 adrenoreceptoriams ir yra visiškas α_1 agonistas. Abu antipodai turi gerą peroralinį biologinį prieinamumą.

Vertingas α_2 adrenoreceptoriaus antagonistas buvo aprašytas anksčiau, pvz., Europos patentų publikacijose Nr. 183492, 247764 ir 372954. PCT patento publikacijoje Nr. 91/18886 aprašytas kai kurių indanimidazolo darinių, ypač atipamezolo, panaudojimas gydant su amžiumi susijusį atminties susilpnėjimą ir kitus pažinimo sutrikimus. Tarptautinėje paraiškoje Nr. PCT/FI 92/00349 aprašyta naujų ilgai veikiančių 4(5)-pakeistų indanimidazolo darinių grupė, kuri yra naudinga gydant pažinimo sutrikimus. Vienas iš šių indanimidazolo darinių yra 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo racematas, kuris turi asimetrinį anglies indano žiedo 2 pozicijoje:

30



I

Optiškai aktyvūs 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo antipodai gali būti paruošti, pvz., paverčiant raceminį 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolą į diastereoizomerų mišinį ir atskiriant

juos frakcine kristalizacija. Kadangi 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolas yra bazė, jis gali pavirsti į diastereoizomerų druskų mišinį reaguodamas su optiškai aktyviomis rūgštimis, labiau priimtina su
 5 L-(+)-arba D-(-)-vyno rūgštimi. Diastereoizomerai gali būti atskirti pakartotinai kristalinant, pvz., vandeninyje.

Po to kai diastereoizomerai atskirti, druskos, gautos pridėjus rūgšties, gali būti atverstos atgal į laisvas
 10 bazes padarius jų vandeninius tirpalus šarminiais veikiant bazėmis (pvz., natrio šarmu) ir ekstrahuojant išlaisvintas bazes atitinkamu organiniu tirpikliu.

4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo (-)-ir (+)-antipodai reaguoja su organinėmis ir neorganinėmis rūgštimis sudarydami atitinkamas druskas, kurios turi tą patį terapinį aktyvumą kaip ir bazės. Taigi jie gali sudaryti daug farmaciškai naudingų
 15 druskų, kaip antai chloridus, bromidus, sulfatus, nitratų, fosfatus, sulfonatus, formiatų, tartratus, malatus, citratus, benzoatus, salicilatus ir askorbino rūgšties druskas.

4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo racematas gali būti paruoštas, pvz., nitrinant 4-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo hidrochloridą stipriai nitrinimo reagentu, kaip antai karbamido nitratu, esant sieros rūgščiai, ir po to redukuojant nitro-
 25 junginį atitinkamu amino junginiu, pvz., atliekant katalitinį hidrinimą, kuriame PtO_2 arba Pd/C naudojami kaip katalizatoriai. Amino junginys toliau prie žemos temperatūros su natrio nitritu fluoboro rūgštyje paverčiamas į atitinkamą diazonio fluoroborata. Dia-
 30 zonio fluoroboratas po to suskaidomas termiškai, kad gautųsi 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo racematas.

Junginiai pagal šią išradimą gali būti įvedami per virškinimo traktą ar parenteraliai. Gydant pažinimo sutrikimus labiau priimtinos dienos dozės yra nuo 0,1 iki 10 mg/kg, ypač priimtinos nuo 0,2 iki 1 mg/kg

5

Ūminis toksiškumas (LD_{50}) abiemis antipodams yra apie 100 mg/kg pelėms (p.o.) ir apie 50 mg/kg žiurkėms.

10 Farmaciniai nešikliai, kurie paprastai vartojami su šio išradimo junginiais gali būti kieto ar skysto būvio ir parenkami turint omenyje planuojamą vartojimo būdą. Pagalbinis preparato ingredientus paprastai parenka asmenys, turintys įprastinius įgūdžius šioje srityje.

15 **1. α adrenoreceptorių selektyvumas in vitro**

α_2 antagonizmas buvo nustatytas panaudojant izoliuotą, elektriškai stimuliuojamą žiurkės ištekamojo vamzdelio preparato prostatos dalį (Virtanen ir kt., Arch. Int. Pharmacodyn et Ther., 297, 190-204, 1989). Šiame mode-
20 lyje α_2 agonistas (detomidinas) blokuoja elektriškai sukeltus raumenų susitraukimus, o α_2 antagonistinis poveikis pastebimas, kai jis įvedamas prieš agonistą ir nustatoma jo pA_2 reikšmė. Žinomas α_2 antagonistas atipamezolas buvo panaudotas kaip palyginamoji medžiaga.
25

Kad gautume informaciją apie antagonistų selektyvumą α_1 - ir α_2 -receptorių atžvilgiu, taip pat buvo nustatytas jo sugebėjimas slopinti ir žadinti α_1 -receptorius, panaudojant izoliuotą žiurkės ištekamojo vamzdelio sėklidės prielipo dalį. α_1 antagonizmui nustatyti buvo indukuojamas raumenų susitraukimas su feniletrinu ir nustatoma tiriamo junginio pA_2 reikšmė kaip aprašyta aukščiau. α_1 agonistinis poveikis pateikiamas kaip pD_2
30 reikšmė (neigiamas logaritmas junginio molinės koncentracijos, kuri sukelia 50 procentų didžiausio susitraukimo). Rezultatai parodyti 1 lentelėje.
35

1 lentelė. 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo racemato ir jo antipodų selektyvumas lyginant su atipamezolu

Junginys	α_2 antagonizmas (pA ₂ prieš detomidiną)	α_1 antagonizmas (pA ₂ prieš fenilefriną)	α_2 agonizmas (pD ₂)
(-)-antipodas	9.1	6.7	nebuvo poveikio
(+)-antipodas	7.9	netirtas	6.0 pilnas agonistas
Racematas	8.0	netirtas	5.5 dalinis agonistas
Atipamezolas	8.0	5.0	nebuvo poveikio

5

2. Poveikis atminčiai

(-)-antipodo poveikis į žiurkių apsimokymą ir atmintį buvo tiriamas užduotyse su tiesinių takų labirintu. Tiesinių takų labirintas tai modifikuotas radialinių takų labirintas, kuris paprastai naudojamas, tiriant žiurkių atmintį. (-)-antipodo hidrochloridas (0,1 mg/kg s.c.) buvo ištirpinamas distiliuotame vandenyje. Vanduo taip pat buvo naudojamas kaip kontrolė. Visos injekcijos buvo daromos po 1 ml/kg.

Priemonės: Labirintas buvo medinė platforma su dviem kryžiais, išdėstytais vienas už kito. Kamienas (startinis takas) buvo 90 cm ilgio ir 12 cm pločio. Penki kiti takai (tikslų takai) buvo 50 cm ilgio ir 12 cm pločio. Keturi tikslų takai buvo išdėstyti stačiu kampu kamieno ir penkto tako, kuris buvo priešais kamieną, atžvilgiu. Kiekviena kamieno ir takų šone buvo 2,0 cm aukščio sienelė. Kiekvieno tikslų tako gale buvo 1 cm gylio ir 3 cm skersmens skylė, tarnaujanti kaip maisto puodelis. Startinė platforma (20x20 cm) buvo atskirta nuo kamieno giljotininio tipo durelėmis. Durys buvo 12 cm aukščio ir 7 cm pločio durelių staktos buvo 20 cm

aukščio ir 20 cm pločio. Labirintas buvo pakeltas 31 cm virš grindų silpnai apšviestame bandymų kambaryje, kuriame buvo kiti objektai ir bandymų įranga. Tikslo takų gale esančiose skylėse masinimui buvo įdedami trys premijiniai maisto gabaliukai (45 mg gabaliukai Bio Serve Inc).

Procedūros: Dvi dienas prieš treniravimą gyvūnai buvo laikomi be maisto, kad sumažėtų jų kūno svoris iki 90 % pradinio svorio. Per šias dienas žiurkės buvo pratinamos (tris kartus per dieną) bandymų kambaryje elgtis su priziniu maistu. Antrą dieną jos taip pat buvo pratinamos prie labirinto, kuriame nebuvo masalo: nuo trijų iki penkių gyvūnų iš to pačio narvo tuo pačiu metu po dešimt minučių. Trečią dieną tikslo takai buvo masinami ir buvo atliekami apmokymo bandymai su kiekviena žiurke atskirai. Žiurkėms duodavo vaistų arba distiliuoto vandens ir po 60 minučių perkeldavo į startinę platformą. Po dešimt sekundžių durys atsidarydavo ir žiurkė galėdavo tirti labirintą kol surasdavo visus masalus. Pakartotinas įėjimas į taką, kuris jau buvo aplankytas to bandymo metu, buvo laikomas klaida. Buvo registruojamas laikas, per kurį surasdavo visus jaukus ir trukmė teisingų pasirinkimų iki pirmos klaidos. Tuo metu (per apsimokymą) kiekvienai žiurkei buvo leidžiama pasilikti labirinte bent jau penkias minutes. Kitą dieną prasidėjo tikrieji atminties ir apmokymo bandymai ir tęsėsi keturias dienas (nuo 1 iki 4 bandymų dienos). Žiurkėms buvo duodami aštuoni bandymai, po du per dieną. Tarpai tarp bandymų 50 minučių. Vaistai arba distiliuotas vanduo buvo įvedami 30 minučių prieš pirmąją dienos bandymą. Kitais atžvilgiais bandymai sutapo su apmokymo bandymais. Abiejose grupėse buvo po 20 gyvūnų.

35

Statistinė analizė: Rezultatai buvo išreiškiami kaip klaidų per bandymą vidurkis, teisingų pasirinkimų per

bandymą vidurkis ir laiko vienam bandymui (sekundės) vidurkis. Vaistų ir testavimo dienos efektams į apmokymą ir atmintį palyginti buvo panaudota dispersinė analizė su pasikartojančiais duomenimis (ANOVA).

5

Rezultatai: (-)-antipodo poveikis į apmokymą ir atmintį pateiktas Fig. 1,2 ir 3. Vaistai sumažino klaidų skaičių, t.y. pakartotinių įėjimų į taką, kuris jau buvo aplankytas to bandymo metu, skaičių (Fig. 1). (-)-antipodas taip pat padidino teisingų pasirinkimų, padarytų iki pirmos klaidos per bandymą, skaičių (Fig. 2). Tai reiktų laikyti poveikiu į darbinę atmintį ir sugebėjimą susikoncentruoti bandymams, atitinkamai. Vais-
10 tai taip pat buvo linkę sumažinti uždavinio sprendimo laiką (Fig. 3). Tai galima laikyti poveikiu į spren-
15 dimų, šiuo atveju teisingų pasirinkimų, priėmimo laiką. Klaidų skaičiaus ir laiko sumažėjimas bei teisingų pasirinkimų padidėjimas buvo pastebimas su kiekvienu bandymu, kas rodo apsimokymą ir kontrolinėje grupėje.
20 Nebuvo jokios sąveikos tarp grupės x ir pakartojimų, tai reiškia kad (-)-antipodo poveikis nepriklauso nuo bandymų. Šie rezultatai leidžia daryti prielaidą, kad (-)-antipodas turi skatinantį poveikį suaugusių žiurkių apsimokymui ir atminčiai.

25

3. Optiškai aktyvių izomerų gavimas

4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo racematas

30

Koncentruota sieros rūgštis (58 ml) buvo atšaldoma iki -10°C bei mažomis porcijomis prie šio rūgšties tirpalo pridedamas 4-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo hidrochlorido (Karjalainen, A.J. et al U.S. 4689339;
35 13,8 g, 0,0625 mol) ir karbamido nitrato (7.70 g, 0,0625 mol) mišinys, išlaikant -10°C temperatūrą. Pasi-
baigus reakcijai tirpalas išpilamas ant ledo. Tirpalas

padaromas šarminiu ir tris kartus ekstra-huojamas etilo acetatu. Organiniai ekstraktai su-maišomi, džiovinami ir išgarinami iki sausumo. Išeiga 13,0 g, 91 % 4-(2,3-dihidro-5-nitro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo.

5

4-(2,3-dihidro-5-nitro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo redukcija iki 4-(5-amino-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo buvo atliekama pridedant 1,0 g 10 % paladžio ant anglies į 11,7 g (0,0512 mol) 4-(2,3-dihidro-5-nitro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo 100 ml etanolio bei mišinį kratant vandenilio atmosferoje kambario temperatūroje. Kai redukcija sustoja, katalizatorius pašalinamas. Filtratas koncentruojamas, kad gautųsi 9,63 g (94 %) 4-(5-amino-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo. Gautas produktas buvo gryninamas greitaeige chromatografija išplaunant su metileno chloridu-metanoliu (9.5:0,5).

Kolba su fluoboro rūgštimi (48 % vandeninis tirpalas pagal svorį, 120 ml) ir 9.50 g (0,0457 mol) 4-(5-amino-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo buvo įdedama į ledo-druskos vonią ir atšaldoma iki 0°C. Išlaikant 0°C temperatūrą lėtai buvo supilami 3,30 g (0,0478 mol) natrio nitrato, ištirpinto 10 ml vandens. Mišinys buvo maišomas vieną valandą 0°C temperatūroje ir po to vieną valandą kambario temperatūroje. Reakcijos mišinys du kartus išgarinamas iki sausumo su toluenu. Terminis suskaidymas buvo atliekamas kolboje, kuri buvo kaitinama su elektriniu kaitinimo gaubtu. Kaitinimas buvo sustabdomas, kai nustodavo išsiskirti balti boro trifluorido garai. Neapdorotas produktas ištirpinamas metanolyje, tirpalas nufiltruojamas ir išgarinamas iki sausumo. Neapdoroto 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo išeiga 9,51 g, 99 %. Gautas produktas išgrynintas greitaeige chromatografija (eliuentas metileno chloridas-metanolis (9,5:0,5)).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 2,96-3,08 (2H, m, vienas H-1 ir vienas H-3), 3,19-3,27 (2H, m, kitas H-1 ir kitas H-3), 3,68 (1H, kvintetas, ³J_{HH} 8,3 Hz, H-2), 6,80-6,86 (1H, m, H-6), 6,83 (1H, s, im-5), 6,92 (1H, dd, ³J_{HF} 8,9 Hz, ⁴J_{HH} 2,4 Hz, H-4), 7,16 (1H, dd, ³J_{HH} 8,1 Hz, ⁴J_{HF} 5,3 Hz, H-7), 7,59 (1H, s, im-4).

Antipodų atskyrimas

10 D-(-)-vyno rūgštis (,44 g, 0,00293 mol) buvo ištirpinama 2,5 ml vandens prie 60 °C. Buvo pridedama 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo racemato (1, 1,03 g, 0,00509 mol) ir 178 µl koncentruotos druskos rūgšties 60°C temperatūroje. Mišinys maišomas
15 temperatūroje kol jis tapo skaidriu tirpalu. Po to tirpalui leidžiama lėtai atšalti. Nuosėdos surenkamos ir perkristalinamos penkis kartus vandenyje, kad gautųsi (-)-antipodo D-(-)-vyno rūgšties druska: lydymosi temperatūra 186-187°C.

20 D-(-)-vyno rūgšties ir (-)-antipodo aduktas ištirpintas vandenyje 60°C temperatūroje ir pridedamas etilo acetatas. Tirpalas padaromas šarminiu (pH 10), panaudojant atskiestą natrio šarmą. Etilo acetato fazė atskiriama
25 ir vandens fazė ekstrahuojama du kartus etilo acetatu. Sumaišius organines fazes, jos praplaunamos vandeniu. Etilo acetatas garinamas iki sausumo ir kas liko, kristalinama iš etilo acetato. Gautas produktas filtruojamas nusiurbiant ir praplaunamas šaltu etilo
30 acetatu: lydymosi temperatūra 139°C (DSC), lyginamasis sukimas prie 20°C metanolio tirpale -3,7°C (c=20 mg/ml).

(-)-antipodo bazė ištirpinama etilo acetate ir filtruojama su Millipore. Filtratas parūgštinamas (pH 1)
35 bevandeniu hidrochloro rūgšties-etilo acetato tirpalu ir atšaldomas iki -10°C. Nuosėdos filtruojamos ir praplaunamos etilo acetatu. Perkristalinus iš etilo ace-

tato gaunama druskos rūgštis 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo druska balto kristalinio kietojo kūno pavidale: lydymosi temperatūra 191°C (DSC); chromatografinis grynumas 99,8 % (HPLC); optinis švarumas 99,9 % (HPLC); lyginamasis sukimas aplinkos temperatūroje vandeniniame tirpale -3,5° (c=20 mg/ml).

(+)-antipodas buvo ištirpintas panašiai kaip ir (-)-izomeras, panaudojant L-(+)-vyno rūgštį kaip tirpinantį reagentą, kad gautųsi L-(+)-vyno rūgštis ir (+)-antipodo aduktas; lydymosi temperatūra 187-189°C. Bazė ir druskos rūgštis druska (lydymosi temperatūra 190°C) buvo padarytos kaip aprašyta aukščiau. Druskos rūgštis druskos chromatografinis grynumas 98,7 % (HPLC); optinis švarumas 99,6 % (HPLC); lyginamasis sukimas prie aplinkos temperatūroje vandeniniame tirpale +3,2° (c=20 mg/ml).

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo
(-)-antipodas ir jo farmaciškai priimtinos druskos.
5
2. 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo
(-)-antipodo gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad paverčia 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-
1H-imidazolo racemata į diastereoizomerų druskos mišini,
10 ni, paveikdami optiškai aktyviomis rūgštimis, ir po to
perskiria diastereoizomerinių druskų mišinį frakcinio
kristalinimo būdu bei paverčia atskirtą 4-(5-fluor-2,3-
dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo druskos (-)-antipo-
dą į laisvą bazę.
15
3. Būdas pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad optiškai aktyvi rūgštis yra D-(-)-vyno rūgš-
tis.
- 20 4. 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo
(+)-antipodas ir jo farmaciškai priimtinos druskos.
5. 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo
(+)-antipodo atskyrimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad paverčia 4-(5-fluor-2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-
25 1H-imidazolo racemata į diastereoizomerų druskos mišini,
ni, paveikdami optiškai aktyviomis rūgštimis, ir po to
perskiria diastereoizomerinių druskų mišinį frakcinio
kristalinimo būdu bei paverčia atskirtą 4-(5-fluor-2,3-
dihidro-1H-inden-2-il)-1H-imidazolo druskos (+)-anti-
30 podą į laisvą bazę.
6. Būdas pagal 5 punktą, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad optiškai aktyvi rūgštis yra L-(+)-vyno rūgš-
tis.

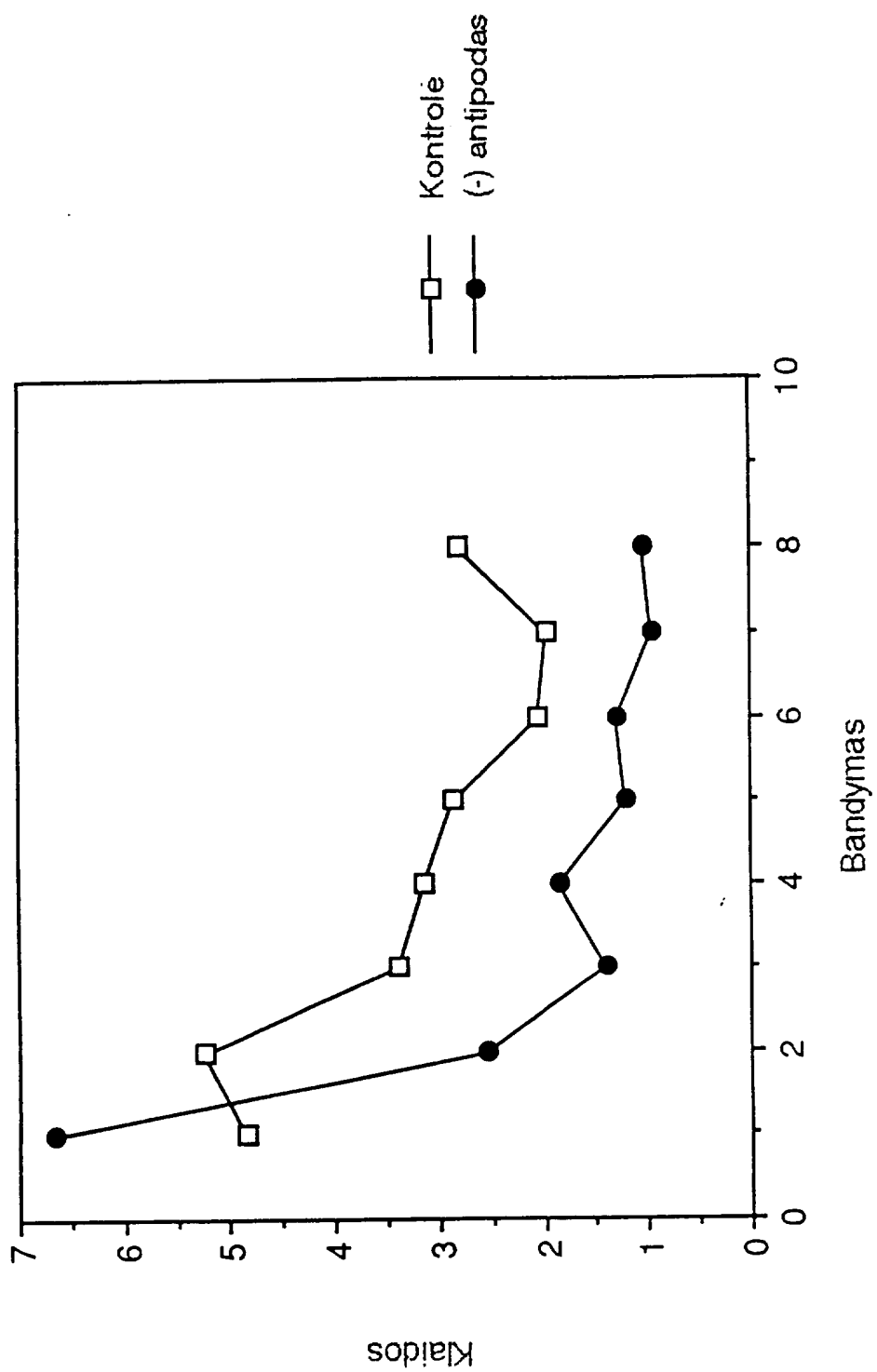


Fig 1

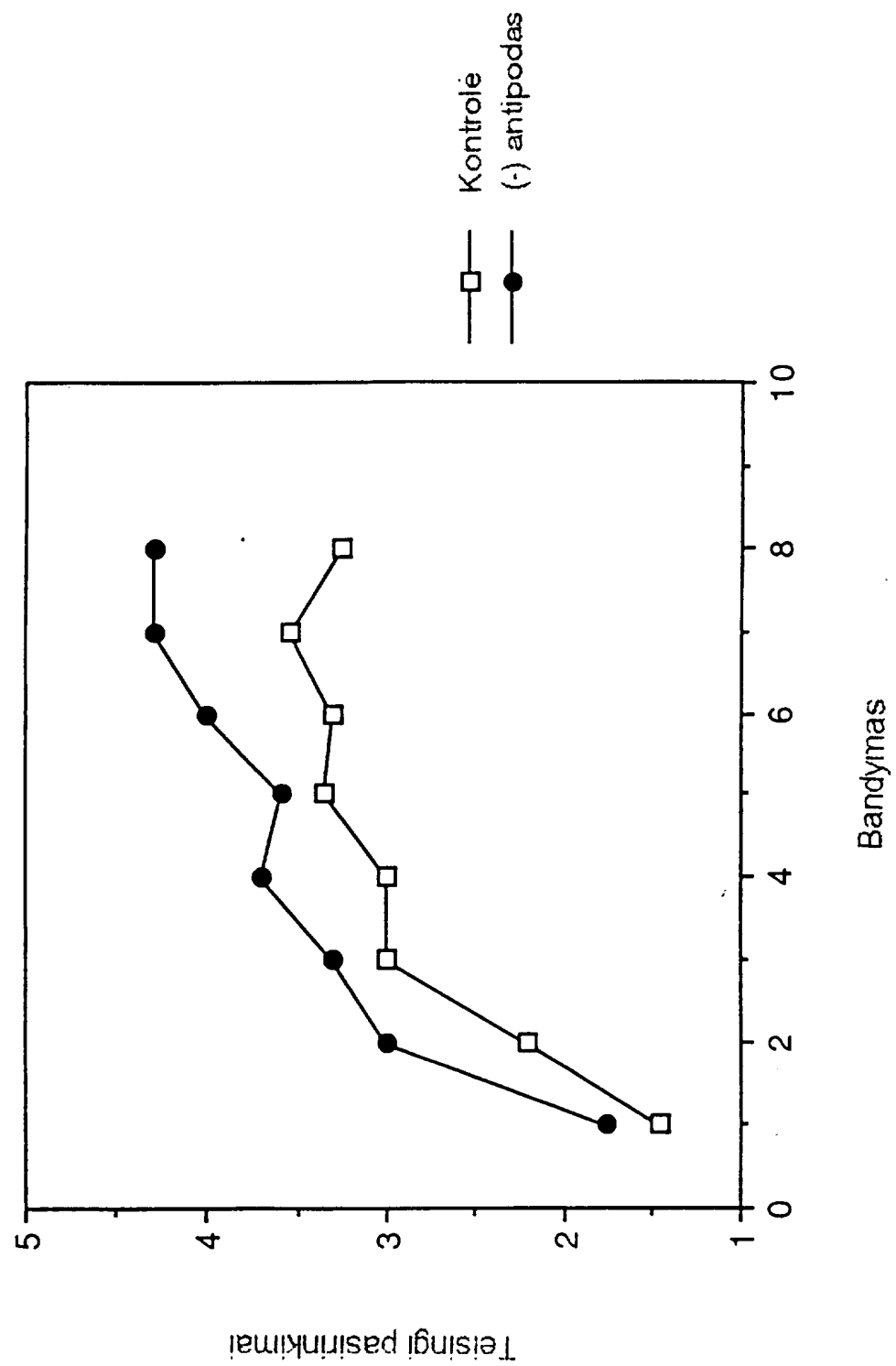


Fig 2

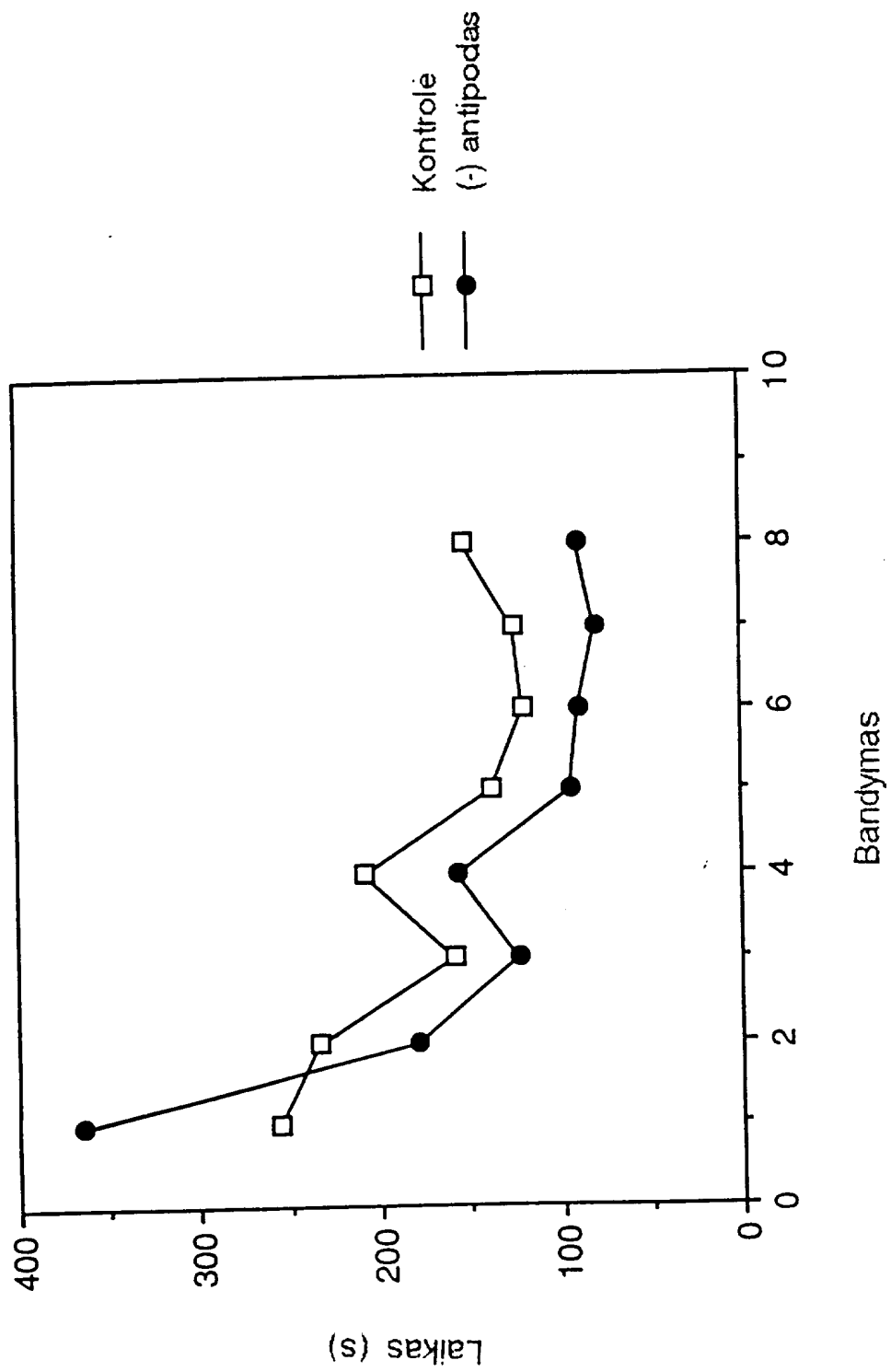


Fig 3