

SZABADALMI LEÍRÁS

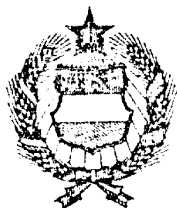
(19) HU

(11)

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG

196 792

B
Nemzetközi
osztályjelzet:
(51) NSZO,



A bejelentés napja: (22) 87.04.09. (21) (1590/87)

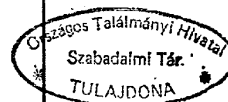
A bejelentés elsőbbsége: (33) US
(32) 86.04.10. 87.01.05.
(31) (850 015), (944 953)

CO7D 401/14
CO7D 403/14
A 61 K 31/40

ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

A közzététel napja: (41) (42) 88.01.26.

Megjelent: (45) 1989. 07. 17.



Feltaláló(k): (72)

MYERS Melvyn John, NICKOLSON Victor
Johannes, Wilmington, Delaware, US

Szabadalmaz: (73)

E. I. Du Pont de Nemours and Co.,
Wilmington, Delaware, US

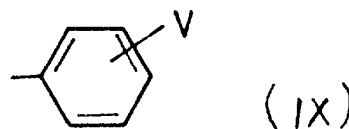
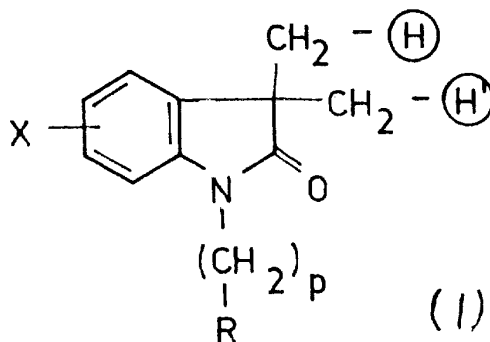
Eljárás 3,3-diszubsztituált indolin-származékok és az azokat tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására

(57)KIVONAT

A találmány az új (I) általános képletű, idegrend-
szeri megbetegedések kezelésére alkalmas 3,3-di-
szubsztituált indolin-származékok -- a képletben
p értéke 0, vagy 1.

R jelentése 1-5 szénatomot tartalmazó alkil-, 2-piri-
dil-, 3-piridil-, 4-piridil- vagy (IX) általános kép-
letű csoport, és az utóbbiban V hidrogén- vagy
halogénatomot vagy trifluor-metilcsoportot jelent,
X jelentése hidrogénatom vagy 1-3 szénatomot tartal-
mazó alkilcsoport.

H és H' egymástól függetlenül piridil-, pirazinil-,
pirimidinil-, vagy piridazinilcsoportot vagy a meg-
felelő N-oxido-csoportot jelentenek és ezek a
csoportok adott esetben halogénatommal mono-
szubsztituáltak lehetnek --
ismert kémiai módszerekkel történő előállítására
vonatkozik.



A találmány tárgya eljárás új 3,3-diszubsztituált indolin származékok és ilyen vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására. A találmány szerinti eljárással előállított vegyületek alkalmasak emlősöknel a kognitív rendellenességek és/vagy a neurológiai funkciók rendellenességei és/vagy kedélyzavarok, például a degeneratív idegrendszeri megbetegedéseknél jelentkező kedélyzavarok kezelésére.

A társadalom részéről egyre növekvő az igény a kognitív és neurológiai rendellenességeket okozó idegrendszeri megbetegedések hatékony kezelésére. Ezek közül a megbetegedések közül számosnak – a növekvő korrall együtt növekvő gyakorisággal – az oka az idegrendszeri degeneratív változásaiban keresendő. Bár egyes megbetegedések korai stádiumaiban bizonyos rendszerek meglehetősen specifikusan vannak érintve (például a kolinerg rendszerek az Alzheimer-kórnál és a myasthenia gravis nevű megbetegedésnél vagy a dopaminerg rendszer a Parkinson-kórnál), ezeknek a megbetegedéseknek a későbbi stádiumaiban általában többszörös neurotranszmitter-rendszerbeli rendellenességek (az acetilkolin, dopamin, noradrenalin és a szerotonin anyagokkal kapcsolatosak) észlelhetők, mely rendellenességek állandóan jelen vannak olyan megbetegedések minden egyes stádiumában, mint például a szenil vagy a multi-infarktusos demencia, Huntington-kór és a mentális visszamaradottság. Ez magyarázhatja az általánosan megfigyelt többszörös szimptomatológiát, amely magába foglalja kognitív, neurológiai és affektív/pszichotikus komponenseket (lásd: Gottfries: Psychopharmacol., 86, 245 (1985)). Az acetilkolinnak az agyban történő szintézisével és felszabadulásával kapcsolatos rendellenességekről általában feltételezik, hogy kognitív képességek romlásával kapcsolatosak (lásd: Francis és munkatársai: New England, J. Med., 313, 7 (1985)), míg a neurológiai megbetegedések (például a Parkinson-féle szimptomák) és a hangulattal kapcsolatos és mentális változások a dopaminerg, illetve szerotonerg rendszerek károsodásával kapcsolatosak. Más neurológiai problémák, például a myasthenia gravis a perifériás idegrendszerben fellépő kolinerg rendellenességekkel kapcsolatosak.

A napjainkig alkalmazott különféle kezelési megoldások közül megemlíthetjük a vazoaktív hatóanyagokat, például a vinkamint és a pentoxifyllint, a „metabolizmust javító” anyagokat, például az ergo-loid mezilátokat, piracetamot és a naftidrofurylt, neurotranszmitter prekursorokat, például 1-DOPA-t, kolint és 5-hidroxi-triptamint, transzmitter metabolizáló enzim-inhibitorokat, például a physostigmine-t, és neuropeptideket, így például az adrenokortikotrop hormonokkal és vazopresszinnel kapcsolatos peptideket. Kivéve a Parkinson-kór 1-DOPA-val és a myasthenia gravis kolinészteráz inhibitorral végzett kezelését ezek a különböző kezelési megoldások általában nem hoztak klinikailag jelentős javulást (Hollister: Drugs, 29, 483 (1985)). Egy másik megoldás ezeknek a többszörös szimptomáknak a kezelésére abban áll, hogy az érintett rendszerek radt funkcióját javítják a neurotranszmitterek ingerindukcióval serkentett kibocsátásával. Elvileg az ilyen fokozott transzmitter-kibocsátás javítaná az információ kémiai úton történő továbbításakor az úgynevezett jel/zaj viszonyt, miáltal csökkentené a hiányokat a megismerési folyamatokkal (kognitív

funkciókkal), neurológiai funkciókkal és a hangulat-szabályozással kapcsolatos folyamatoknál.

5 Napjainkig nem sok olyan szabadalom vagy szakirodalmi publikáció vált ismertté, amely a 3,3-helyzetben heterociklusos csoportokkal diszubsztituált indolin-származékokat ismertetne. A leginkább közelállóknak látszik az 55-129284 számú japán szabadalmi leírás, illetve az M. Ogata és munkatársai által az Eur. J. Med. Chem-Chim. Ther., 16(4). 373–378 (1981) szakirodalmi helyen publikáltak, amely publikációban a (X) általános képletű antifungális vegyületeket – a képletben

10 R jelentése hidrogén vagy halogénatom vagy alkil- vagy alkoxycsoport,

15 R¹ jelentése hidrogénatom vagy alkil-, aril- vagy acilcsoport és

R² jelentése a heterociklusos csoportok közül tienil- vagy imidazolcsoport – ismertetik.

20 Daisley R. W. és munkatársai a J. Heterocyclic Chem., 19, 1013–1016 (1982) szakirodalmi helyen az 1-metil-3,3-dipiperidino-indol-2(3H)-ont írják le, mint a megfelelő (Z)- vagy (E)-2-fenil-metilidén)-indol-3(2H)-on etil-ciano-acetáttal főlös mennyiségű piperidin jelenlétében végzett reagáltatásakor képződött terméket. Nem tesznek azonban említést a vegyület bármiféle hatásáról.

25 Az 59-98896 számú japán szabadalmi leírásból olyan érzékenységgű és nagy stabilitású rögzítő közeg vált ismertté, amely közeli infravörös fényt abszorbeáló anyagként valamely (XI) általános képletű 3,3-diszubsztituált 2-oxo-2,3-dihidro-inol-származékot – a képletben

30 R¹ és R² azonos vagy eltérő jelentéssel nitrogénatomot tartalmazó telített heterociklusos gyűrűk közül morfolino-vagy pirrolidinilgyűrűt is jelenthetnek, míg

35 R³ jelentése hidrogénatom vagy alkilcsoport-tartalmaz.

40 A 4 273 860 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban is leírják a 3,3-bisz(morfolino)-2-oxo-indolt. Adin, A. és munkatársai a Research Disclosures, 184, 446–454 (1979) szakirodalmi helyen ugyanezt a vegyületet mint kobalt (III)-komplexekeket hasznosító fotoinhibitor-kompozíciók destabilizáló komponensét említik.

45 Az 55-129284 számú japán szabadalmi leírástól illetve Ogata, M. és munkatársai által az Eur. J. Med. Chem-Chim. Ther., 16(4). 373–378 (1981) szakirodalmi helyen ismertettek, amelyeknél mindkét heterociklusos helyettesítő telített gyűrűjű. Mindegyik említett publikációban ismertetett vegyületnél a heterociklusos gyűrű gyűrűbeli nitrogénatomon át kapcsolódik az indolingyűrűhöz. Az 55-129284 számú japán szabadalmi leírástól eltekintve egyik publikáció sem javasol gyógyászati felhasználást ezeknek a 3,3-diszubsztituált indolinoknak a vonatkozásában.

55 Felismertük, hogy az új (I) általános képletű indolin-származékok – a képletben

p értéke 0, vagy 1,

60 R jelentése 1-5 szénatomot tartalmazó alkil-, 2-piridil-, 3-piridil-, 4-piridil- vagy (IX) általános képletű csoport, és az utóbbiban V hidrogén- vagy

halogénatomot vagy trifluor-metilcsoportot jelent, X jelentése hidrogénatom vagy 1-3 szénatomot tartalmazó alkilcsoport,

-H és -H' egymástól függetlenül piridil-, pirazinil-, pirimidinil-, vagy piridazinilcsoportot vagy a megfelelő N-oxido-csoportot jelentenek, és ezek a csoportok adott esetben halogénatommal monoszubsztituáltak lehetnek –

vagy gyógyszerilag elfogadható savaddíciós sóik fokozzák a neurotranszmitterek, különösen az acetilkolin és – ráadásul – idegszövetekben a dopamin és szerotonin ingerindukcióval serkentett kiválasztását, és javítják egy aktív megelőzési feladat tanulását és memorizálásával kapcsolatos folyamatokat.

Az (I) általános képletű vegyületek és említett származékaik így kiváló eredményekkel használhatóak olyan gyógyszeres készítményekben, amelyek terápiásan hatásos mennyiségű hatóanyag mellett a gyógyszergyártásban szokásosan használt hordozó és/vagy egyéb segédanyagokat tartalmaznak.

Az (I) általános képletű vegyületeket a találmány értelmében úgy állítjuk elő, hogy

(i) valamely (II) általános képletű vegyületet – a képletben p, X és R jelentése a korábban megadott – egy bázissal reagáltatunk, majd

(ii) és (i) lépésben kapott terméket valamely D-CH₂-H általános képletű vegyülettel – a képletben -H jelentése a korábban megadott, míg D halogénatomot vagy metán-szulfonát- vagy p-toluol-szulfonátcsoportot jelent – reagáltatjuk, majd

(iii) az (ii) lépésben kapott terméket bázissal és ezután valamely D-CH₂-H' általános képletű vegyülettel – a képletben -H' és D jelentése a korábban megadott – reagáltatjuk, és

kívánt esetben egy kapott (I) általános képletű vegyületből N-oxidot vagy gyógyszerilag elfogadható savaddíciós sót képezünk.

Előnyösek azok az (I) általános képletű vegyületek, amelyek képletében

p jelentése 0, vagy

X hidrogénatomot jelent, vagy

R jelentése metil-, fenil- vagy 3-klór-fenil-csoport, vagy

-H és -H' jelentése egyaránt gyűrűbeli szénatomon át kapcsolódó piridilcsoport.

Inger-indukcióval serkentett acetilkolin kibocsátást fokozó képességre tekintettel különösen előnyösnek tartjuk a következő vegyületeket és gyógyszerilag elfogadható sóikat:

3,3-bisz(2-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on,

3,3-bisz(3-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on,

3,3-bisz(4-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on,

3,3-bisz(4-piridil-metil)-1-metil-indolin-2-on és

3,3-bisz(4-piridil-metil)-1-(3-klór-fenil)-indolin-2-on

Az (I) általános képletű vegyületek tehát az 1. reakcióvázlatban bemutatott módon állíthatók elő. Az 1. reakcióvázlatban X, p, R, -H és H' jelentése a korábban megadott, D kilepő csoportot, például halogénatomot (így például jód-, bróm-, klór- vagy fluoratomot) vagy metán-szulfonát- vagy p-toluol-szulfonátcsoportot jelent. A reakcióvázlat első lépése értelmében valamely (II) általános képletű vegyületet egy alkalmas bázissal reagáltatunk, így a (II) általános képletű oxindol-vegyület 3-helyzetében aniont képezünk. Ez az anion reakcióba lép a

D-CH₂-H általános képletű vegyülettel és a megfelelő, 3-helyzetben monoszubsztituált (III) általános képletű vegyület képződik. Ezt a (III) általános képletű vegyületet elkülöníthetjük a következő lépés előtt, vagy – előnyösen, különösen ha -H és -H' jelentése azonos – az elkülönítés előtt egy további mólekvalens bázissal és reagenssel reagáltatjuk, egy (IV) általános képletű 3,3-diszubsztituált oxindol-vegyületet kapva.

Az anionképzésre alkalmas bázisok közé tartozik például a nátrium-amid, litium-diizopropil-amin, nátrium-hidrid, kálium-terc-butilát, nátrium-alkoholátok, kálium-alkoholátok, litium-alkoholátok, kálium-hidrid, litium-2,2,6,6-tetrametil-piperidid, butil-litium, szek-butil-litium, terc-butil-litium és litium-, nátrium- vagy kálium-hexametil-diszilazid. A reagáltatást aprotikus oldószerben, általában egy éterben, például dietil-éterben, glim-ben, tetrahydrofuranban vagy dioxánban hajthatjuk végre. Ha azonban az oxindol oldható egy nem-poláris oldószerben, akkor a reagáltatást végrehajthatjuk egy szénhidrogénben, például hexánban, heptánban, ciklohexánban, metil-ciklohexánban, benzolban vagy toluolban.

A reagáltatás végrehajtása során az oxindolt feloldjuk egy alkalmas oldószerben, és a bázis erősségétől függően – az oldatot 40°C és szobahőmérséklet közötti hőmérsékletre lehűtjük. Ha erősen reakcióképes bázist, például litium-diizopropil-amidot (a továbbiakban rövidítve: LDA) használunk, akkor az oldatot -30°C-ra hűtjük le, majd beadagoljuk az LDA egy alkalmas oldószerrel, például tetrahydrofuranból készült oldatát cseppenként 15 perc és 1 óra közötti időn belül, az adagolás során a hőmérsékletet -30°C körül tartva.

Ha LDA helyett nátrium-amidra esik a választás, benzol az előnyösen alkalmazható oldószer. A nátrium-amidot szobahőmérsékleten adjuk hozzá az indolinon benzollal készült oldatához. A reakció teljessé tétele céljából a reakcióelegyet visszafolyatjuk hűtő alkalmazásával forraljuk, míg már a reakció során felszabaduló ammónia nem mutatható ki.

Ezután az indolinon-anionhoz hozzáadjuk az elektrofil jellegű D-CH₂-H általános képletű vegyület oldatát. Ismételten megjegyezzük, hogy ha egy igen erős bázist, például LDA-t használtunk az anion képzéséhez, akkor a reakcióelegyet -30°C-ra lehűtjük és az elektrofil vegyületet cseppenként adagoljuk be. Ha kevésbé reakcióképes bázist használtunk az anion képzéséhez, az elektrofil 0°C és szobahőmérséklet közötti hőmérsékleten adagoljuk be, majd a reakcióelegyet visszafolyatjuk hűtő alkalmazásával forraljuk.

Az (I) általános képletű diszubsztituált terméket úgy állíthatjuk elő, hogy az indolinon 3 helyzetében egy második aniont képezünk. Az anionképzést majd az alkilezést ugyanúgy hajthatjuk végre, mint a monoszubsztituált (III) általános képletű vegyület előállítását.

A reagáltatások egymás utáni végrehajtása helyett egyes esetekben eljárhatunk úgy is, hogy az indolinonhoz két mólekvalens bázist, majd két-három mólekvalens alkilezőszert adagolunk. Egyes esetekben – különösen ha -H jelentése azonos -H' jelentésével – célszerű lehet az oxindol alkilezését a fázis-transzfer körülményei között végezni, azaz például egy bázist, például nátrium-hidroxidot víz-

ben oldott állapotban, egy vízzel elegyedő oldószert, például benzolt vagy toluolt, egy fázistranszfer-katalizátort, például benzil-trietil-ammonium-kloridot és két mólekvalens D-CH₂-H általános képletű alkilezőszert használva. Ilyen körülmények között interzív keverés és megemelt reakcióhőmérsékletek, például 60–80°C segíthetik elő a 3,3-dialkilezett oxindollá való átalakítást.

Ha a reakció vékonyrétegkromatográfias vizsgálat tanulsága szerint teljes, a főlös aniont elbontjuk telített ammónium-klorid-oldat adagolása útján, majd a reakcióelegyet egymás után savval és bázissal kezeljük a semleges kiindulási anyagok eltávolítása céljából. A bázikus jellegű termék tisztítását általában hagyományos tisztítási módszerekkel, például flash-kromatografálással, majd szükséges esetben az ezt követő kristályosítással végezhetjük. A tiszta bázist (egyetlen folt vékonyrétegkromatográfias és analitikai nagynyomású folyadékkromatográfias vizsgálatban) dihidrokloridsóvá alakítjuk úgy, hogy kis főlöslégen véve 25%-os sósavoldatot adagolunk oldószertben, például etanolban. Általában azonos térfogatú acetont adva a forrásban levő reakcióelegyhez tiszta szintelen kristályokat kapunk hűtéskor. Kristályos termék előállításához használhatunk más, a szakember számára jól ismert módszereket is. A hidrokloridsót átkristályosíthatjuk izopropanolból, 1-propanolból, etanolból, 95%-os etanolból, metanolból vagy egy alkoholnak acetonnal, etil-acetáttal, izopropil-acetáttal vagy acetonitrilrel alkotott elegyből.

A hidrokloridsót átalakíthatjuk a megfelelő szabad bázissá szerves bázissal, például nátrium-hidroxiddal, kálium-hidroxiddal, nátrium-foszfáttal, ammónium-hidroxiddal vagy kálium-karbonáttal végzett kezelés útján, majd felvehetjük egy szerves oldószertel, például metilén-kloriddal, dietil-éterrel vagy etil-acetáttal és újra kicsaphatjuk egy másik gyógyászati elfogadható savval, például maleinsavval, metán-szulfonsavval, naftalin-2-szulfonsavval, borkőssavval vagy hidrogén-bromiddal alkotott sója formájában.

Miként azt a 2. reakcióvázlatban ábrázoljuk, alternatív módon bázisként használhatunk tallium-(I)-etilátot is. Az indolinot feloldjuk egy alkalmas oldószertben, előnyösen meleg benzolban, majd gyorsan hozzáadunk ekvimoláris mennyiségű tallium(I)-etilátot a kapott oldathoz. Az (V) általános képletű szerves talliumvegyület kicsapódik mérgező, sárgás, kristályos, stabil csapadékként és így szűréssel elkülöníthető, 85–95%-os hozammal. Toxicitásukra tekintettel a talliumvegyületek kezelését igen gondosan kell végezni.

A szerves talliumvegyületek általában reakcióba lépnek elektrofil vegyületekkel, monoalkilezett termékeket képezve. Igen erős elektrofil vegyületek, például pikolil-kloridok vagy benzil-kloridok használata esetében azonban 3,3-dialkilezett termékek képződnek, miként ez a 2. reakcióvázlatból és az 1. példából kitűnik.

Valamely (V) általános képletű tallium-indolin-származékot egy elektrofil vegyülettel, például pikolil-kloriddal melegítünk egy közömbös oldószertben, például benzolban vagy toluolban 30°C és az oldószert forráspontja közötti hőmérsékleten néhány óra és 24 óra közötti időn át. Előnyösen

80°C-on 24 órás reakcióidővel dolgozunk. Ha vékonyrétegkromatográfias vizsgálat tanulsága szerint a reakció teljes, a kicsapódott tallium-kloridot kiszűrjük, a visszamaradó szerves oldatot megsavanyítjuk, majd meglúgosítjuk, ezután tisztítjuk és adott esetben sóképzésnek vetjük alá, miként ezt már a korábbiakban ismertettük.

Az 1. és 2. reakcióvázlat szerinti reagáltatássorozatban kiindulási anyagként használt (II) általános képletű oxindol-származékokat a szakirodalomból ismert általános szintetikus módszerek közül számos módszerrel előállíthatjuk. Így például valamely (VI) általános képletű helyettesített anilin-származék klor-acetil-kloriddal való reagáltatása a (VII) általános letű amid-származék előállítása céljából jól ismert. Ezt a reagáltatást a 3. reakcióvázlatban mutatjuk be.

A $p = 0$ értékű, R helyén helyettesített fenil-csoportot tartalmazó (VI) általános képletű diaril-amin előállítása a szakirodalomból jól ismert. A számos ismert módszer közül jónéhánynál egy N-aril-fenilén-diamint diazotálnak, majd a megfelelően helyettesített diaril-aminnal például Sandmeyer-reakcióba visznek. A szerves preparatív kémiában jártas szakember számára nem gond a példákban ismertetett találmány szerinti vegyületek előállításához szükséges megfelelő diaril-aminok szintetizálása. Az e célra a legújabbban ismertté vált szintézismódszerek közé tartozik a Katritzsky és munkatársai által a J. Chem. Soc., Perkin. Trans. I., 2611 (1983) szakirodalmi helyen ismertetett módszer, a Gorwin és munkatársai által a Chem. Commun., 4, 238 (1985) szakirodalmi helyen ismertetett módszer vagy a 4 431 841A számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban ismertetett módszer.

A $p = 1$ értékű (VI) általános képletű N-szubsztituált anilin-származékok is előállíthatók a szerves kémiából jól ismert szintetikus módszerekkel, például a 4. reakcióvázlatban bemutatott módon úgy, hogy valamely megfelelő karbonsav-kloriddal egy anilint reagáltatunk, majd a kapott amidot litium-alumínium-hidriddel vagy diboránnal redukáljuk tetrahidrofuránban 67°C körüli hőmérsékleten.

Miként ugyancsak a 3. reakcióvázlatban bemutatjuk, a találmány szerinti eljárásban kiindulási anyagként használt (II) általános képletű oxincol-származékokat úgy állítjuk elő, hogy egy (VII) általános képletű amid-származékot egy Lewis-sav, például alumínium-klorid jelenlétében gyűrűzárás reakcióba viszünk. Az e célra alkalmazható más Lewis-savakra példaképpen megemlíthetjük az ón-tetra-kloridot vagy a bór-trifluoridot. Ezeket a (VII) általános képletű amid szerkezetétől függően használjuk. Ha egyáltalán használunk oldószert, minőségét a konkrét esetben alkalmazott ciklizálandó (VII) általános képletű vegyület és Lewis-sav milyenségétől függően választjuk meg. E célra gyakran nitro-benzolt, tetraklór-etánt, etilén-dikloridot vagy metilén-kloridot használunk. Általában azonban előnyös az alumínium-klorid használata oldószert nélkül.

Ha az X helyettesítő elektronszomszédos jellegű és elektrofil helyettesítéssel szemben dezaktivál az aromás gyűrűt, amelyhez kapcsolódik és ha V elektrondonor jellegű vagy aktiválja a gyűrűt (amikor R jelentése helyettesített fenilcsoport), akkor a (II) általános képletű oxindol-származékok előállítására más módszerek célszerűbben bizonyulhatnak.

Az oxindolok szintézisében jártas szakember számára ilyen esetben sem gond azonban megfelelő módszer kiválasztása például a következőkben felsorolt módszerek közül.

Igy például a 2. reakcióvázlatban bemutatott, Friedel-Crafts típusú cikloalkilezés mellett az X helyettesítővel szubsztituált oxindolok előállíthatók Gassman általános jellegű „azaszulfónium ion” átrendeződségi módszerével (lásd a 3 897 451, 3 996 264 és 3 972 894 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásokat, illetve a J. Am. Chem. Soc., 96, 5512 (1974) szakirodalmi helyet) vagy bizonyos esetekben 2-nitro-fenil-ecetsavból (lásd Walker: J. Am. Chem. Soc., 77, 3544 (1955) továbbá Hardigger és munkatársai: Helv. Chim. Acta, 39, 514/1956/).

A 3,3-diszubsztituált 2-oxindol-származékok más, még közvetlenebb szintézise végrehajtható N-aril-hidrazidok Brunner-reakciójának használatával (Org. Synthesis, 37, 60 [1957], Rohrscheidt és munkatársai: Liebigs Ann. Chem., 680 [1978]) és helyettesített indolok közvetlen oxidációját magukba foglaló módszerekkel (Lawson és munkatársai: J. Org. Chem., 26, 263 [1961], R. L. Hinman és munkatársai: ibid, 29, 1206 [1964], Lawson és munkatársai: J. Am. Chem. Soc., 82, 5918 [1960], Szabó-Pusztig és munkatársai: Synthesis, 276 [1979]). Az oxindolok előállítására további módszereket ismertetnek a következő szakirodalmi helyeken: A. P. Kozikowski és munkatársai: J. Am. Chem. Soc., 43 (10), 2083 [1978], T. Nakashima és munkatársai: Chem. Pharm. Bull., 17 [11], 2293 [1969], Y Tamura és munkatársai: Synthesis, 534 [1981], J. F. Bunnet: J. Org. Chem., 28, [1], 1 [1963], R. R. Goehring: J. Am. Chem. Soc. 107 [z], 435 [1985], T. Hamada és munkatársai: Chem. Pharm. Bull. 29 [1], 128 [1981], D. Ben-Ishai és munkatársai: Tet. Lett., 21 [5], 569-72 [1976], P. Parimoo: Indian J. Chem. 10 [17], 764 [1972], D. Klamann és munkatársai: Chem. Ber., 100 [6], 1870 [1967].

A találmány szerinti eljárásban kiindulási anyagként használt 2-oxindol-származékok előállítására rendelkezésre álló igen nagy számú módszer közül csupán néhány példa a fentiekben felsorolt szakirodalmi publikációkban ismertetett módszer.

Az 1. és 2. reakcióvázlat szerinti reagáltatásoknál kiindulási anyagként használt, D-CH₂-H általános képletű nitrogéntartalmú heterociklusos vegyületek a heterociklusos vegyületek kémiáját ismertető standard művekből, például Katritzsky és Rees „Comprehensive Heterocyclic Chemistry” c. könyvének 2-5. kötetéből (a könyvt 1984-ben a Pergamon Press New-York-i könyvkiadó gondozásában jelent meg) ismert módszerekkel állíthatók elő. Egyes esetekben a megfelelő hidroxilvegyületek (D = OH) előállítását is ismerteti a szakirodalom, ezeket a megfelelő, az 1. és 2. reakcióvázlatok valamelyike szerinti alkilezésre alkalmas halovegyületekké (például D = Br) alakíthatjuk viszonylag enyhe reagensekkel (például Ph₃P · CBr₄ képletű reagenssel). Alternatív módon a hidroxilvegyületeket a megfelelő szulfonátészterekké (például D jelentése metán-szulfoniloxicsoport) alakíthatjuk úgy, hogy egy megfelelő szulfonil-kloriddal reagáltatjuk őket piridin vagy trietil-amin jelenlétében hűtés közben. Rendszerint 0°C és -20°C közötti hőmérsékletek előnyösek

ezeknek a szulfonátoknak az előállítása céljából.

A találmány szerinti vegyületeket hasznosíthatjuk szabad bázisos formában vagy pedig gyógyszeriatilag elfogadható sóik formájában. A sóképzés szakember számára jól ismert művelet.

A találmányt közelebbről a következő példákkal kívánjuk megvilágítani.

1. példa

3,3-Bisz(2-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on

Nitrogén-atmoszférában 0,1 mól N-fenil-indolin-2-on 200 ml benzollal készült oldatához gyorsan hozzáadunk 0,1 mól tallium(I)-etilátot, majd az így kapott elegyet rövid időre forrásba hozzuk. 50°C körüli hőmérsékleten nehéz csapadék kezd képződni. Visszafolyató hűtő alkalmazásával 5 percen át végzett forralás után a reakcióelegyet lehűtjük, majd 200-300 ml hexánt adunk hozzá a kicsapás teljességé tétele céljából. A csapadékot kiszűrjük, majd szárítjuk. Így 85%-os hozammal az N-fenil-indolin-2-on-talliumsót kapjuk sárga csapadék formájában.

0,22 mól 2-pikolil-klorid-hidrokloridot óvatosan a megfelelő szabad bázissá alakítunk úgy, hogy feloldjuk 30 ml hideg vízben, a kapott oldatot 0-5°C-ra lehűtjük és ammónium-hidroxiddal meglúgosítjuk. A szabad bázist 100 ml benzollal háromszor kiestraháljuk, az extraktumot vízmentes nátrium-szulfát fölött szárítjuk és szűrjük, a hőmérsékletet legfeljebb 10°C-on tartva.

Az így kapott oldathoz hozzáadjuk az N-fenil-indolin-2-on-talliumsót, majd 200 ml benzolt. Az így kapott reakcióelegyet visszafolyató hűtő alkalmazásával egy éjszakán át forraljuk, majd lehűtés után a kivált tallium-kloridot kiszűrjük. A bázikus terméket a szűrletből 0,5 N sósavoldattal kiestraháljuk, majd ammónium-hidroxiddal végzett kezelés útján szabad bázissá visszalakítjuk és metilén-kloriddal kiestraháljuk. Az extraktumot vízmentes kálium-karbonát fölött szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A visszamaradó sűrű, sötétvörös olajat feloldjuk 50 ml dietil-éterben, majd üvegrúddal végzett dörzsölés útján a kristályosítást megindítjuk. A kristályosodás rövid időn belül befejeződik. A kivált csapadékot kiszűrjük, dietil-éterrel mossuk és szárítjuk, 11,2 mennyiségben 107-111°C olvadáspontú terméket kapva. A terméket ezután flash-kromatográfiának vetjük alá 40-60 mikron szemcseméretű „silica gel 60”, tölteten (az E. Merck cég terméke), 250 mm hosszú és 50 mm átmérőjű oszlopot használva. Az eluáláshoz metilén-klorid és metanol 95 : 5 térfogatarányú elegyét és a detektáláshoz 256 um-es Gow-Mac detektort használunk. 100-100 ml-es frakciókat szedünk. Az 5-10. frakcióból 8,2 g mennyiségben a tiszta szabad bázis különíthető el, amelynek olvadáspontja 129-130°C és R¹-értéke 0,33 szilikagélen, futtatószerként metilén-klorid és metanol 95 : 5 gatarányú elegyét használva.

Elemzési eredmények a C₂₆H₂₁N₃O képlet alapján:
számított: C% = 80,05, H% = 5,65, N% = 10,67,
talált: C% = 79,77, H% = 5,41, N% = 10,73,

2. példa

3,3-Bisz(2-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on-dihidroklorid

8,2 g 3,3-bisz(2-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-ont a megfelelő dihidrokloridsóvá alakítunk úgy,

hogyan feloldjuk 25 ml metilén-kloridban, majd az oldathoz 25 ml 25%-os etanolos sósavoldatot adunk. A kapott elegyet bepároljuk, majd az üveges maradékokat 75 ml forrásban lévő acetoneban feloldjuk. Szobahőmérsékletre hűtés, majd dörzsölés hatására megindul a kristályosodás. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 6 órán át, majd 0°C-on egy éjszakán át állni hagyjuk. A terméket ezután kiszűrjük, hideg acetonnal mossuk és vákuumban 1 órán át 60°C-on Granusic márkanevű anyag fölött szárítjuk. Így 8,5 g mennyiségben 250–251°C olvadáspontú terméket kapunk, amelyből izopropanolból végzett átkristályosítás után 8,29 g mennyiségben 250–251°C olvadáspontú anyag nyerhető.

3. példa

3,3-Bisz(3-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on-dihidroklorid

0,3 mól N-fenil-indolin-2-on 300 ml benzollal készült oldatához egyetlen adagban hozzáadunk 0,36 mól nátrium-amidot, majd az így kapott elegyet visszafolyató hűtő alkalmazásával 3 órán át forraljuk (míg az ammóniafejlődés alábbhagy). és ezután szobahőmérsékletre visszahűtjük, 0,5 mól 3-pikolil-kloridot állítunk elő óvatosan a hidrokloridsóból a korábban a 2-pikolil-klorid előállítására ismertetett módon, majd benzollal kiextraháljuk, az extraktumot vízmentes nátrium-szulfát felett szárítjuk és szűrjük. Az így kapott benzolos oldatot ezután cseppenként hozzáadjuk intenzív mechanikai keverés közben nitrogénatmoszférában 20°C-on 30 perc leforgása alatt az N-fenil-indolin-2-onból származó anion oldatához. Az adagolás befejezése után a reakcióelegyet 3 órán át forraljuk, majd szobahőmérsékletre hűtjük és egy adagban hozzáadunk ismét 0,36 mól nátrium-amidot. Miként korábban, most is a reakcióelegyet addig forraljuk visszafolyató hűtő alkalmazásával, amíg az ammóniafejlődés alábbhagy (erre közel 3 órára van szükség).

A reakcióelegyet ezután szobahőmérsékletre lehűtjük, majd 20°C-on 30 perc leforgása alatt cseppenként hozzáadjuk további 0,5 mól 3-pikolil-klorid benzolos oldatát intenzív keverés közben. A 3-pikolil-klorid adagolásának befejezése után a reakcióelegyet visszafolyató hűtő alkalmazásával 3 órán át forraljuk, majd jeges fürdőben lehűtjük és 300 ml 1 N sósavoldatot adunk hozzá intenzív keverés közben. A sósavas fázist elválasztjuk, majd a szerves fázist még kétszer 100–100 ml 1 N sósavoldattal extraháljuk. Az egyesített savas extraktumot meglúgosítjuk, metilén-kloriddal extraháljuk, vízzel mossuk, vízmentes nátrium-szulfát fölött szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A sötét színű olajat dietil-éterrel eldörzsöljük, amikor egy adag tömör kristályt kapunk. Ezt kiszűrjük, majd dietil-éterrel addig mossuk, míg a mosófolyadék színtelen lesz. Így, 3,1 g mennyiségben 136,5–138°C olvadáspontú csapadékot kapunk. Ebből 2,8-g-ot feloldunk 100 ml 25%-os etanolos sósavoldatban. Keparás hatására kristályosodás kezdődik (tömör kristályok), 0°C-on 1 órán át tartós állás után a fehér kristályokat kiszűrjük, majd szárítjuk, 3,2 g mennyiségben a 156°C olvadáspontú cím szerinti vegyületet kapva. A terméket feloldjuk 115 ml forrásban lévő etanolban, majd az oldathoz óvatosan 10 ml forrásban lévő acetont adunk. Az oldatot ezután 8 órán át zavarta-

lanul lehűlni hagyjuk, majd egy éjszakán át 0°C-on tartjuk. A tiszta fehér kristályokat kiszűrjük, etanol és aceton 1 : 1 arányú, hideg eleggyével mossuk és infravörös lámpa alatt szárítjuk. Így 2,6 g mennyiségben a 156–165,5°C olvadáspontú tiszta terméket kapjuk.

4. példa

3,3-Bisz(4-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on-dihidroklorid

Nitrogén-atmoszférában többnyakú edényben feloldunk 0,05 mól N-fenil-indolin-2-on minimális mennyiségű vízmentes tetrahydrofuránban. Száz fülkében egy csepegtető tölcserbe bemérünk 0,05 mól litium-diizopropil-amidot, majd feloldás céljából a tölcserbe vízmentes tetrahydrofuránt adagolunk. A tetrahydrofurános litium-diizopropil-amid-oldatot tartalmazó csepegtető tölcserét eltávolítjuk a fülkéből lezárása után. Az indolin-oldatot lehűtjük 30°C-ra majd 15 perc leforgása alatt cseppenként hozzáadjuk a litium-diizopropil-amid-oldatot –30°C-on. Az adagolás befejezése után a reakcióelegyet szobahőmérsékletre melegedni hagyjuk, majd ismét lehűtjük –30°C-ra és hozzáadunk 0,06 mól 4-pikolil-kloridot cseppenként 30 perc leforgása alatt –30°C-on. A 4-pikolil-kloridot mint szabad bázist ugyanúgy állítjuk elő, mint korábban a 2-pikolil-kloridot, és 25 ml tetrahydrofuránnal alkotott oldata formájában adagoljuk.

Az adagolás befejezése után a reakcióelegyet 30 perc leforgása alatt szobahőmérsékletre melegedni hagyjuk, majd ismét lehűtjük –30°C-ra és hozzáadjuk ezen a hőmérsékleten 15 perc leforgása alatt a litium-diizopropil-amid második adagjának (0,05 mól) tetrahydrofuránnal készült oldatát cseppenként. Az adagolás befejezése után a reakcióelegyet szobahőmérsékletre melegedni hagyjuk. Ezzel egyidejűleg további 0,06 mól 4-pikolil-klorid-hidrokloridból a szabad bázist felszabadítjuk.

A szobahőmérsékletű aniont tartalmazó reakcióelegyet ismét visszahűtjük, –30°C-ra, majd hozzáadjuk ezen a hőmérsékleten 30 perc leforgása alatt cseppenként a második adag 4-pikolil-klorid 25 ml tetrahydrofuránnal készült oldatát. A reakcióelegyet ezután szobahőmérsékletre melegítjük, majd 1–17 órán át szobahőmérsékleten tartjuk. Az esetleg reagálatlan aniont 50 ml telített ammónium-klorid-oldat óvatos adagolása útján elbontjuk. A tetrahydrofuránt ezután elpárologtatjuk, majd a maradékot metilén-kloridban feloldjuk és a metilén-kloridos oldatot 100–100 ml 0,5 N sósavoldattal háromszor extraháljuk. Az egyesített sósavas extraktumot 12 pH-értékre lúgosítjuk, majd 100–100 ml metilén-kloriddal extrahálást végzünk. Az egyesített extraktumot vízmentes nátrium-szulfát fölött szárítjuk, szűrjük és bepároljuk, 20 g mennyiségű terméket kapva. 10–10 g nagyságú adagjait 200 mm hosszú és 50 ml átmérőjű, 40–63 um-es szilikagéllal töltött oszlopon kromatográfiásan tisztítjuk, eluálószerként 69,46% etil-acetáttól, 29,75% hexánból és 0,79% trietil-aminból álló elegyet használva. Így 19,2 g (93%) mennyiségben a 186,0–186,5°C olvadáspontú szabad bázist kapjuk.

19 g 3,3-bisz(4-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on ezután dihidrokloridsóvá alakítunk 40 ml 25%-os etanolos sósavoldattal végzett kezeléssel útján. A

elegyhez 50 ml izopropanolt adunk, majd az így kapott oldatot forrásba hozzuk. Ezután az oldathoz addig adunk forrásban lévő acetont, míg vékony tűkristályok kezdenek képződni. (az oldószerek összterfogatja 300–250 ml). Az oldatot ezután szobahőmérsékletre hűlni, majd egy éjszakán át 0°C-on állni hagyjuk. A csapadékot kiszűrjük, majd hideg izopropanollal mossuk, 19,5 (84%) mennyiségben a 257–258°C olvadáspontú cím szerinti vegyületet kapva. (Megjegyezzük, hogy a termékben lévő víz mennyisége befolyásolja a dihidrokloridsó olvadáspontját, ha az olvadáspont mérésére szolgáló berendezésben a hőmérsékletet igen lassan emeljük, akkor az olvadáspont értéke 275–276°C) Egy második adag termék nyerhető úgy, hogy a szűrletet bepároljuk, a maradékot izopropanolban oldjuk és az oldathoz közel azonos térfogatú acetont adunk, az így kapott elegyet pedig először egy éjszakán át szobahőmérsékleten, majd 6 órán át 0°C-on állni hagyjuk. Így további 2,8 g 252–253°C olvadáspontú anyagot kapunk. Ha az utóbbi anyagot átkristályosítjuk, 2,4 g 257–258°C olvadáspontú terméket kapunk. A dihidrokloridsó összhozama 21,9 g (94%).

5. példa

3,3-Bisz(4-piridil-metil)-1-metil-indolin-2-on-dihidroklorid

0,05 mól 1-metil-indolin-2-on 50 ml tetrahydrofuránnal készült, –30°C-ra lehűtött oldatához 30 perc leforgása alatt cseppenként hozzáadjuk 0,1 mól litium-diizopropil-amid 100 ml tetrahydrofuránnal készült oldatát. Az adagolás befejezése után a reakcióelegyet szobahőmérsékletre felmelegedni hagyjuk, majd 30°C-ra visszahűtjük. A pikolil-klorid-hidrokloridnak szabad pikolil-klorid bázissá a korábbiakban ismertetett módon óvatosan végrehajtott átalakítását követően 0,21 mól 4-pikolil-klorid 150 ml tetrahydrofuránnal készült oldatát cseppenként hozzáadjuk 60 perc leforgása alatt –30°C-on a reakcióelegyhez.

Az adagolás befejezése után a reakcióelegyet 1 órán belül szobahőmérsékletre melegedni hagyjuk, majd lehűtjük és a reagálatlan aniont telített ammónium-klorid-oldat óvatos adagolása útján elbontjuk.

Az adagolás befejezése után a tetrahydrofuránt elpárologtatjuk, majd a maradékot benzol és 0,5 N sósavoldat adagolása útján elbontjuk. Ezt a maradékot ezután választótölcsérbe visszük és a szerves fázist még kétszer 0,5 N sósavoldattal extraháljuk. Az egyesített savas extraktumokat meglúgosítjuk, benzollal extraháljuk, az extraktumot vízmentes nátrium-szulfát fölött szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A maradékot dietil-éterrel eldörzsöljük, majd

kiszűrjük és kis mennyiségű dietil-éterrel mossuk. Így 2,9 g mennyiségben 149,9–150,9°C olvadáspontú terméket kapunk. Ezt azután hidrokloridsóvá alakítjuk 25%-os etanosos sósavoldattal, majd etanol és acetonelegyből kristályosítjuk. Így 1,9 g mennyiségben a 274,5°C olvadáspontú cím szerinti vegyületet kapjuk.

6. példa

3,3-Bisz(4-piridil-metil)-1-(3-klór-fenil)-indolin-2-on-dihidroklorid

A 3. példában ismertetett módon eljárva N-(3-klór-fenil)-indolin-2-onból, 24%-os hozammal a 275–276°C olvadáspontú cím szerinti vegyület állítható elő.

7. és 8. példák

3,3-Bisz(N-oxido-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on és 3-(4-piridil-metil)-3-(N-oxido-4-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on

Mágneses keverővel végzett keverés közben 3,3-bisz(4-piridil-metil)-1-fenil-indolin-2-on 100 ml metilén-kloriddal készült oldatához cseppenként hozzáadjuk 4,14 g (0,024 mól) 80 85%-os 3-klór-perbenzoesav 50 ml metilén-kloriddal készült oldatát, majd az így kapott reakcióelegyet egy éjszakán át keverjük. Az ekkor megnedvesített keményítő-jód-papírral végzett vizsgálat peroxidra negatív, így a metilén-kloridos oldatot 75–75 ml 5%-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal mossuk, vízmentes nátrium-szulfát fölött szárítjuk, szűrjük és bepároljuk.

A maradékot dietil-éter és etil-acetát 5 : 1 térfogatarányú elegyével eldörzsöljük, amikor 2,14 g mennyiségben olyan csapadékot kapunk, amely a bisz-N-oxidot, a mono-N-oxidot és kis mennyiségű kiindulási anyagot tartalmaz. Ezt a keveréket ezután flash-kromatográfálással, 40 63 µm szemcseméretű szilikagélen, kloroform és metanol 90 : 10 térfogatarányú elegyét használva eluálószerként tisztítjuk. Így 1,18 g mennyiségben fő terméket kapunk, amelynek R_f értéke 0,34 és olvadáspontja –10 ml vízből való átkristályosítás után –265,3–265,7°C. Nagy feloldóképességű tömegspektrum igazolja, hogy a -N-oxidról van szó. m/e 423,1595 (M^+ , 423,1582 számított érték $C_{26}H_{21}N_3O_3$ összegképletre)

A flash-kromatográfálásnál kapott második frakció (200 mg) a mono-N-oxidként azonosítható, $R_f = 0,41$, op. 217,7–218,5°C.

Tömegspektrum: m/e 407,1631 (M^+ , 407,1634 számított érték $C_{26}H_{21}N_3O_2$ összegképletre).

Az 1–8. példák szerinti vegyületek és további, a példákban ismertetett módszerekkel előállított vegyületek adatait ismertetjük az 1. táblázatban.

196 792

A példa száma	X	R	V	I. táblázat		Z	op. °C	
				p	-H			
1	H	(IX) képletű csoport	H	O	2-piridil	2-piridil	0	129–130
2	H	(IX) képletű csoport	H	O	2-piridil	2-piridil)	250–251 (2 HCl)
3	H	(IX) képletű csoport	H	O	3-piridil	3-piridil	O	156–156,5 (2 HCl) 136,5–138 (szabad bázis)
4	H	(IX) képletű csoport	H	O	4-piridil	4-piridil	O	257–258 (2 HCl) 186–186,5 (szabad bázis)
5	H	CH ₃	–	O	4-piridil	4-piridil	O	274–275 (2 HCl) 149–150,9 (szabad bázis)
6	H	(IX) képletű csoport	3-Cl	O	4-piridil	4-piridil	O	275–276 (2 HCl)
7	H	(IX) képletű csoport	Hf	O	N-oxido-4-piridil	N-oxido-4-piridil	O	265,3–265,7
8	H	(IX) képletű csoport	H	O	4-piridil	N-oxido-4-piridil	O	217,7–218,5
9	H	4-piridil	–	1	4-piridil	4-piridil	O	173–174 (3 HCl)
10	H	(IX) képletű csoport	H	O	N-oxido-2-piridil	N-oxido-2-piridil	O	196,1–196,7
11	H	(IX) képletű csoport	H	O	N-oxido-3-piridil	N-oxido-3-piridil	O	201,7–202,0
12	H	(IX) képletű csoport	H	O	4-klór-3-piridil	4-klór-3-piridil	O	230,8–231,4
13	H	CH ₃ CH ₂ CH ₂	–	O	4-piridil	4-piridil	O	227–228 (2 HCl)
14	6-CH ₃	(IX) képletű csoport	H	O	4-piridil	4-piridil	O	217–219
15	H	(IX) képletű csoport	H	O	4-piridil	2-pirazinil	O	167,5–169
16	H	(IX) képletű csoport	H	O	2-pirazinil	2-pirazinil	O	123–124
17	H	(IX) képletű csoport	Hf	O	6-pirimidinil	6-pirimidinil	O	152
18	H	(IX) képletű csoport	H	O	5-piridazinil	5-piridazinil	O	233–235
19	H	(IX) képletű csoport	H	O	4-piridil	6-pirimidinil	O	131–133

Biokémiai kísérleti módszerek

Patkányagy kéregszeletének acetilkolin (ACh) kibocsátására a találmány szerinti eljárással előállított vegyületek által kifejtett hatást vizsgáljuk a Mulder és munkatársai által a Brain Res., 70. 372 (1974) szakirodalmi helyen leírt, illetve a Nickolson és munkatársai által a Naunyn Schmied. Arch. Pharmacol. 319, 48 (1982) szakirodalmi helyen ismertetett módon módosított, úgynevezett kéregszeletszuperfúziós módszert használva.

Kísérleti állatként 175–200 g tömegű, hím Wistar-patkányokat (Charles River) használunk. A kísérlet megkezdése előtt legalább 7 napig olyan állatházban tartjuk az állatokat, amelyben 12–12 órás világosság/sötétség ciklust (a megvilágítást 6 órakor bekapcsolva és 18 órakor kikapcsolva) állítunk be. Az állatoknak tetzés szerint áll rendelkezésükre szokásos összetételű patkánytáp (Purina) és ionmentes víz.

A patkányokat dekapitáljuk és az agyukat azonnal kimetszük. A parietális kéregből 0,3 mm vastag kéregszeleteket készítenk manuálisan, mélyített „Lucite” márkánemű metszetvágót használva és ezután ezt 0,25 . 0,25 mm-es négyzetekre vágjuk.

A mintegy 100 mg nedves tömegű kéregszeleteket 10 ml Krebs-Ringer (KR) táptalajban inkubáljuk. Ez a táptalaj 116 millimól nátrium-kloridot, 3 millimól kálium-kloridot, 1,3 millimól kalcium-kloridot, 1,2 millimól magnézium-kloridot, 1,2 millimól kálium-dihidrogén-szulfátot, 1,2 millimól nátrium-szulfátot, 25 millimól nátrium-hidrogén-karbonátot és 11 millimól glükózt tartalmaz. A táptalajhoz előzetesen 90 μ Ci 3 H-kolint (fajlagos aktivitása közel 35 Ci/millimól, NEN) és 10 nanomól nem jelzett kolint adunk, így a kolin végső koncentrációja 10^{-6} . Az inkubálást 30 percen át 37°C -on végezzük 95 térfogat% oxigént és 5 térfogat% szén-dioxidot tartalmazó gázelegy állandó átáramoltatása mellett. Ilyen körülmények között a felvett radioaktív kolin egy részét rádióaktív ACh-ná alakítják a szinaptikus vezikulumokban tárolt és a nagy káliumion-tartalmú közeg általi depolarizálódás következtében felszabadult kolinerg idegvégződések.

Az ACh készlet jelzése után a kéregszeleteket nem-rádióaktív KR táptalajjal háromszor mossuk, majd a hatóanyagoknak az ACh kibocsátására kifejtett hatását vizsgálандó szuperfúziós készülékbe helyezzük. A szuperfúziós berendezés 10 darab, 5 mm átmérőjű termosztált üvegoszlopból áll, mindegyik oszlop el van látva GF/F üvegszálalás szűrőkkel a kéregszeletek elhelyezése (közel 10 mg szövet jut egy oszlopba) céljából. A szuperfúziót 0,3 ml/perc sebességgel áramoltatott, 10^{-5} mól hemikolinium-3 (HC-3) anyagot tartalmazó KR-táptalajjal végezzük. A HC-3 megakadályozza a kolin felvételt, amely foszfolipidekből és a felszabadult ACh-ból (amely nem jelzett ACh-vá alakulna át, és amelynek kibocsátása előnyben részesülne az előzetesen előállított, jelzett ACh-hoz képest) a szuperfúzió során szabadul fel. A táptalajt 25 csatornás perisztaltikus szivattyúval (Ismatec, Brinkman) mozgatjuk és a szuperfúziós oszlopokba való belépése előtt 37°C -ra felmelegítjük termosztált, rozsdamentes acélból készült csökigyóban. Mindegyik oszlopot ellátjuk olyan négyutas osztószeleppel (Beckmann Instruments), amely lehetővé teszi a gyors váltást alacsony káliumiontartalmú KR-táptalajról magas káliumion-

tartalmú KR-táptalajra, továbbá két olyan 10 csatornás, háromutas szeleppel, amelyek lehetővé teszik a váltást hatóanyagmentesről hatóanyagot tartalmazó, alacsony és magas káliumiontartalmú KR-táptalajokra.

A nem-specifikusan kötött radioaktivitás 15 percen át tartó kimosását követően megkezdjük 4 perces frakciók gyűjtését. Három négyperces frakció eltelte után a KR-táptalajt olyan KR-táptalajra cseréljük, amelyben a kálium-klorid koncentrációját 25 millimólra növeltük (magas káliumiontartalmú KR-táptalaj, S1). Ennek a táptalajnak a hatására történő, a depolarizáció kiváltásával stimulált kibocsátás 4 percen át tart. A hatóanyagmentes alacsony és magas káliumiontartalmú közeg után hatóanyag- vagy hordozóanyag-tartalmú, alacsony és magas káliumiontartalmú KR-közeggel váltjuk fel és a szuperfúziót folytatjuk az alacsony káliumiontartalmú KR-táptalaj esetén három négyperces frakciót, magas káliumiontartalmú KR-táptalaj (S2) esetén 1 négyperces frakciót és ismét alacsony káliumiontartalmú KR-táptalaj esetén 2 négyperces frakciót szedve.

A hatóanyagot 0,9% vizes nátrium-klorid-oldattal készült, kívánt koncentrációjú oldatainak alacsony vagy a magas káliumiontartalmú KR-táptalajjal végzett 100-szoros hígítása után használjuk.

Mindegyik szuperfúziós frakciót folyadékcintillációs számlálóüvegcsébe gyűjtjük. A szuperfúziót után a kéregszeleteket eltávolítjuk a szuperfúziós oszlopokból és 1,0 ml 0,1 N sósavoldattal extraháljuk. A szuperfúziós frakciókhoz és az extraktumokhoz 12–12 ml Liquiscint márkanevű szcintillációs számlálófolyadékot (NEN) adunk, majd a mintákat Packard Tricarb Liquid Scintillation Counter elnevezésű szcintillációs számlálóban vizsgáljuk. Nem hajtunk végre korrekciót a kvencselés miatt.

Az S2/S1 arány (olyan kontrollhoz hasonlítva, amelynél S2 időszakban nincs hatóanyag) fedezi ki a hatóanyagok azt a képességét, hogy ingerrel kiváltott acetilkolin felszabadítást növeli vagy csökkenti. Az in vitro ACh felszabadítási adatokat a 2. táblázatban foglaljuk össze.

2. Táblázat

A példa	In vitro patkány agyszövetében inger-stimulált ACh-felszabadítás, %-os növekedése		
	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4} (M)
1	—	—	+349 ^x
2	+ 11	+ 61 ^x	+265 ^x
3	+06	+88 ^x	+238 ^x
4	+ 94 ^x	+457 ^x	+433 ^x
5	+ 14	+ 78 ^x	+355 ^x
6	+195 ^x	+313 ^x	—
7	—	0	+ 30 ^x
8	—	+ 37 ^x	+429 ^x
9	0	+ 54 ^x	+275 ^x
13	+ 01	+ 47 ^x	—
14	+ 34 ^x	+323 ^x	—
15	+ 34 ^x	+210 ^x	—
16	—	+ 12	+ 97 ^x
17	+ 20	+218 ^x	—
18	+ 16 ^x	+ 49 ^x	—

x szignifikánsan különbözik a kontrolltól = $P < 0,05$ (Student-féle t-teszt)

Hasonló körülmények között vizsgálva megállapítható, hogy a 2. és 4. példák szerinti vegyületek fokozzák az acetilkolin felszabadulását hippocampus-szeletekből, továbbá az acetilkolin és a dopamin felszabadulását caudális mag (nucleus caudalis) metszetekből in vitro. A 4. példa szerinti vegyület ráadásul képes a szerotonin felszabadulását is növelni kéregszelvényekből.

Magatartási változások vizsgálata

A vizsgált hatóanyagok aktív elhárító (rúd-mázás) tanulási teljesítményére gyakorolt hatását a következőképpen vizsgáltuk. 150–200 g közötti testtömegű him Sprague-Dawley (Charles River) patkányokat alkalmaztunk, amelyek naponta kétszer (éjjel 1 órakor, délután 1 órakor) kapták az 5-5 társításból álló kísérleti blokkokat. Egy társítás a patánynak a kondicionáló ketrecbe (E 10-10 Coulbourn Model, áthelyezhető sokkoltó rácspadlózattal) való helyezéséről a rúd (fából készült, a ketrec plafonrészből kiemelkedő, párhuzamosan elhelyezett átlós bevésésekkel) eléréséig tartott. A társítás a ketrec ajtajának bezárásával és a ketrecvilágítás bekapcsolásával kezdődött. 10 szekundum elteltével 10 szekundum időtartamú elektromos sokkot alkalmaztunk a rácspadlózaton keresztül Colbourn EL3-08 Model sokkoltó segítségével. A lábra adott sokk intenzitása 0,6 és 1,2 mA közötti volt.

A társítás végén a fényt és sokkot kikapcsoltuk és az állatot kivettük a kondicionáló ketrecből. Ha a patkány a sokk bekapcsolását megelőzően felugrott a rúdra, a választ elhárítónak, ha csak a sokk bekapcsolását követően ugrott fel, a választ menekülőnek tekintettük. 6–9 patkányból álló csoportokat szubkután adott, különböző dózisú hatóanyaggal kezeltük 30 perccel mindegyik kísérleti blokk első társítását megelőzően.

Az aktív elhárító tanulási teljesítmény elemzését regresszió analízis (lásd Snedecor és Cochran, Statisztikai Módszerek, 6. kiadás. 432 oldal) segítségével végeztük el az elhárítások kumulatív száma versus a társítási blokkok görbe alapján. A görbe száma versus a társítási blokkok görbe alapján. A görbe SEM (az átlagtól való sztenderd eltérés) értékét és átlag meredekségét mindegyik kezelt csoportban kiszámítottuk és mint az aktív elhárító tanulási teljesítmény mértékét használtuk. A gyógyszerhatást a meredekség százalékos változásában fejeztük ki a kontroll görbe meredekségéhez hasonlítva. Az eredményeket a 3. táblázatban összesítettük.

3. táblázat

Az aktív elhárító tanulási teljesítmény %-ban kifejezett növekedése patkányokon Hatóanyag dózis (mg/kg szubkután)							
Példa	0,1	0,3	1	3	5	10	20
2					54 ^x	53 ^x	21
4	+59 ^x	+91 ^x	+84 ^x	+57	—	—	—

X A kontrolltól $P < 0,05$ szinten szignifikánsan eltér a Student-féle t-teszt alapján.

A fentiekben ismertetett kísérleti eredmények alapján megállapítható, hogy a találmány szerinti el-

járással előállított vegyületek felhasználhatók a kognitív funkciók zavarának és/vagy neurológiai funkciókieséseknek és/vagy a kedélybeli és mentális zavaroknak a kezelésére olyan betegeknél, akik idegrendszeri megbetegedésekben, mint például Alzheimer-kórban, Parkinson-kórban, szenil- vagy multi-infarctusos demenciában, Huntington-kórban, mentális retardációban vagy myasthenis gravis-ban szenvednek. Bármely olyan módszerrel beadhatók, amely biztosítja, hogy a hatóanyag egy emlős testében érintkezésbe kerüljön, az inhibítálandó anyaggal. Beadhatók tehát bármely, gyógyszerek beadására szokásosan alkalmazott módszerrel és formában, vagy egyetlen terápiás anyagnaként vagy más terápiás anyagokkal kombinációban. Beadhatók ráadásul önmagukban is, legtöbbször azonban a beadás választott módjától és a szokásos gyógyszergyártási gyakorlatától függően megválasztott hordozóanyagokkal és/vagy segédanyagokkal készített készítmények formájában történik beadásuk.

Az alkalmazott dózis különböző ismert tényezőktől, így például az adott vegyület farmakodinamikai jellemzőitől, beadásának módjától és útjától, a recipiens korától, egészségétől, és súlyától, a szimpptomák jellegétől, és mértékétől, az egyidejűleg végzett kezelés jellegétől, a kezelés gyakoriságától és az elérni kívánt hatástól függően változhat. Általában a hatóanyag napi dózisa testtömegkilogrammonként mintegy 0,001–100 mg. Rendszerint az elérni kívánt eredmények biztosítása céljából elegendő testtömegkilogrammonként napi 0,01–10 mg beadása napi 1–4 alkalommal vagy készletetett hatóanyagleadású készítmény formájában.

Az internális beadásra alkalmas készítmények (kompozíciók) egységként mintegy 1–100 mg hatóanyagot tartalmaznak. Ezekben a gyógyszerhatóanyagokban a hatóanyag a készítmény össztömegére vonatkoztatva mintegy 0,5–95 tömeg% mennyiségben jelen lehet.

A hatóanyagot beadhatjuk orálisan szilárd készítmények, például kapszulák, tabletták és porok, vagy folyékony készítmények, például elixírek, szirupok és szuszpenziók formájában. Beadható továbbá parenterálisan steril folyékony készítmény formájában, inhalálással nazális spray vagy tudóinhaláló formájában vagy topikálisan kenőcs, krém vagy borogatóvíz formájában alkalmazható.

A zselatinkapszulák a hatóanyag mellett poralakú hordozóanyagokat, például laktózt, szacharózt, manitot, keményítőt, cellulóz-származékokat, magnézium-sztearátot vagy sztearinsavat tartalmaznak. Hasonló hígítóanyagokat használtunk. A sajtoló tabletták előállításához. Mind a tabletták, mind a kapszulák elkészíthetők készletetett hatóanyagleadású termékeként, hogy biztosítani lehessen több órán át a hatóanyag folyamatos leadását. A sajtoló tabletták cukorral vagy filmmel lehetnek bevonva kellemetlen íz elfedése, illetve a tablettának a légkörtől való megvédése céljából. El lehetnek a tabletták látva úgynevezett enterális bevonattal is, amely a gasztroin-tesztinális traktusban szelektív szétválasztást tesz lehetővé.

Az orális beadásra alkalmas folyékony készítmények a kedvezőbb bevehetőség biztosítása céljából színező és ízesítő komponenseket tartalmazhatnak.

A parenterális készítményekhez használható hordozóanyagokra például a vizet, alkalmas olajfésle-

ket, sóoldatot, vizes dextrózoldatot (glükózoldatot) és hasonló cukrot oldatait, valamint a glikolokat, például a propilén-glikolt vagy a polietilén-glikolt említhetjük. A parenterális beadásra alkalmas oldatok hatóanyagot, alkalmas stabilizálószeret és szükséges esetben pufferanyagokat tartalmaznak. Alkalmas stabilizálószer az antioxidánsok, például a nátrium-hidrogén-szulfít, nátrium-szulfít vagy az aszkorbinsav önmagában vagy kombinációban. Használhatók továbbá az ecetsav és sói, valamint az etilén-diamin-tetraecetsav-nátriumsó. A parenterális oldatok tartalmazhatnak még konzerválószerket, például benzalkónium-kloridot, metil- vagy propil-parabént és klór-butanolt.

Alkalmas gyógyszergyártási hordozóanyagokat ismertetnek például a „Remington's Pharmaceutical Sciences” c. kézikönyvben, mely ezen a területen az egyik standard referenciászöveg.

A találmány szerinti gyógyszerkészítményekre az alábbi receptszerű példákat adjuk meg:

Kapszulák

Nagy számú kapszulát állítunk elő úgy, hogy szabványos méretű, két részből álló, kemény zselatinkapszulák mindegyikébe 100 mg porított hatóanyagot, 150 mg laktózt, 50 mg cellulózt és 6 mg nátrium-sztearátot töltünk.

Lágy zselatinkapszulák

Elkészítjük a hatóanyag emészthető olajjal például szójaolajjal, gypotmagolajjal, vagy olívaolajjal alkotott oldatát, majd az oldatot kényszerleke-tű szivattyúval zselatinba injektáljuk, 100-100 mg hatóanyagot tartalmazó, lágy zselatinkapszulákat kapva. A kapszulákat mossuk, majd szárítjuk.

Tabletták

Nagy számú tablettát állítunk elő hagyományos módon úgy, hogy egy tablettá 100 mg hatóanyagot, 0,2 mg kolloid szilícium-dioxidot, 5 mg magnézium-sztearátot, 275 mg mikrokristályos cellulózt, 11 mg keményítőt, és 98,8 mg laktózt tartalmazzon. A tablettára alkalmas bevonatot vihetünk fel a bevétel kellemessé tétele vagy az abszorpció késleltetése céljából.

Injektálható oldat

Injektálásra alkalmas parenterális készítményt állítunk elő úgy, hogy 1,5 tömeg% hatóanyagot 10 térfogat%-os vizes propilén-glikol-oldatban oldunk keverés útján. A kapott oldatot szokásos módszerrel sterilizáljuk.

Szuszpenzió

Orális beadásra alkalmas vizes szuszpenziót készí-tünk úgy, hogy 5 ml-nyi mennyisége 100 mg finom-ra aprított hatóanyagot, 100 mg karboxi-metil-cellulóz-nátriumsót, 5 mg nátrium-benzoátot, 1,0 g amerikai egyesült államokbeli gyógyszerkönyvi minőségű szorbit-oldatot és 0,025 ml vanillint tartalmaz.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás az (I) általános képletű indolin-szár-mazékok - a képletben

p értéke 0, vagy 1

R jelentése 1-5 szénatomot tartalmazó alkil-, 2-pi-ridil-, 3-piridil-, 4-piridil- vagy (IX) általános képletű csoport, és az utóbbiban V hidrogén- vagy halogénatomot vagy trifluor-metilcsoportot jelent,

X jelentése hidrogénatom vagy 1-3 szénatomot tar-talmazó alkilcsoport,

-H és -H' egymástól függetlenül piridil-, pirazinil-, pirimidinil-, vagy piridazinilcsoportot vagy a meg-felelő N-oxido-csoportot jelentenek és ezek a csoportok adott esetben halogénatommal mono-szubsztituáltak legyenek -

15 valamint gyógyszeratilag elfogadható savaddíciós sóik előállítására, azzal je l l e m e z v e, hogy

(i) valamely (II) általános képletű vegyületet a képletben p, X és R jelentése a korábban megadott - egy bázissal reagáltatunk, majd

(ii) és (i) lépésben kapott terméket valamely D-CH₂-H általános képletű vegyülettel a képletben - H jelentése a korábban megadott, míg D halo-génatomot vagy metán-szulfonát- vagy p-toluol-szulfonátcsoportot jelent reagáltatjuk, majd

(iii) az (ii) lépésben kapott terméket bázissal és ezután valamely D-CH₂-H általános képletű vegyü-lettel a képletben - H' és D jelentése a koráb-ban megadott reagáltatjuk,

és kívánt esetben egy kapott (I) általános képletű vegyületből N-oxidot vagy gyógyszeratilag elfogad-ható savaddíciós sóit képezünk (Elsőbbsége: 1987. 01.05.)

2. Eljárás az (I) általános képletű indolin-szárma-zékok a képletben

p értéke 0 vagy 1,

R jelentése 1-5 szénatomot tartalmazó alkil- vagy (IX) általános képletű csoport, és az utóbbiban V hidrogén- vagy halogénatomot vagy trifluor-metil-csoportot jelent,

X jelentése hidrogénatom vagy 1-3 szénatomot tar-talmazó alkilcsoport,

-H és -H' egymástól függetlenül piridil-, pirazinil-, pirimidinil-, vagy piridazinilcsoportot vagy a meg-felelő N-oxido-csoportot jelentenek és ezek a cso-portok adott esetben halogénatommal mono-szubsztituáltak lehetnek -

valamint gyógyszeratilag elfogadható savaddíciós sóik előállítására, azzal je l l e m e z v e, hogy

(i) valamely (II) általános képletű vegyületet - a képletben p, X és R jelentése a korábban megadott - egy bázissal reagáltatunk, majd

(ii) az (i) lépésben kapott terméket valamely D-CH₂-H általános képletű vegyülettel - a képletben - H jelentése a korábban megadott, míg D halo-génatomot vagy metán-szulfonát- vagy p-toluol-szulfonátcsoportot jelent reagáltatjuk, majd

(iii) az (ii) lépésben kapott terméket bázissal és ezután valamely D-CH₂-H' általános képletű vegyü-lettel - a képletben - H' és D jelentése a koráb-ban megadott - reagáltatjuk,

és kívánt esetben egy kapott (I) általános képletű vegyületből N-oxidot vagy gyógyszeratilag elfogad-ható savaddíciós sóit képezünk (Elsőbbsége: 1986. 04.10.)

3. Eljárás gyógyszeratilag készítmények előállítására, azzal je l l e m e z v e, hogy valamely, az 1. igény-pont szerinti eljárással előállított (I) általános kép-

letű indolin-származékot – a képletben

p értéke 0, vagy 1,

R jelentése 1-5 szénatomot tartalmazó alkil-, 2-piridil-, 3-piridil-, 4-piridil- vagy (IX) általános képletű csoport, és az utóbbiban V hidrogén- vagy halogénatomot vagy trifluor-metilcsoportot jelent,

X jelentése hidrogénatom vagy 1-3 szénatomot tartalmazó alkilcsoport,

-H és -H' egymástól függetlenül piridil-, pirazinil-, pirimidinil- vagy piridazinilcsoportot vagy a megfelelő N-oxido-csoportot jelentenek és ezek a csoportok adott esetben halogénatommal monoszubsztituáltak lehetnek –

vagy gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sóját a gyógyszergyártásban szokásosan használt hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokkal összekeverve gyógyászati készítménnyé alakítjuk. (Elsőbbsége 1987. 01.05.)

4. Eljárás gyógyászati készítmények előállítására,

5

azzal j e l l e m e z v e, hogy valamely, a 2. igénypont szerinti eljárással előállított (I) általános képletű indolin-származékot – a képletben

p értéke 0 vagy 1,

R jelentése 1-5 szénatomot tartalmazó alkil- vagy (IX) általános képletű csoport, és az utóbbiban V hidrogén- vagy halogénatomot vagy trifluor-metil-csoportot jelent,

10

X jelentése hidrogénatom vagy 1-3 szénatomot tartalmazó alkilcsoport,

-H és -H' egymástól függetlenül piridil-, pirazinil-, pirimidinil- vagy piridazinilcsoportot vagy a megfelelő N-oxido-csoportot jelentenek és ezek a csoportok adott esetben halogénatommal monoszubsztituáltak lehetnek –

15

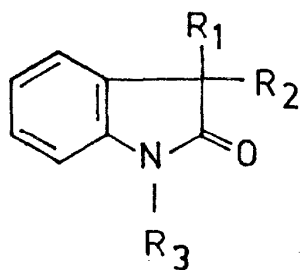
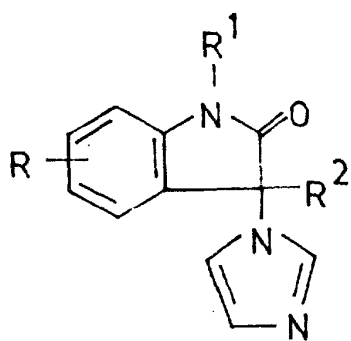
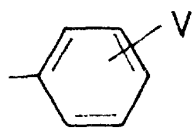
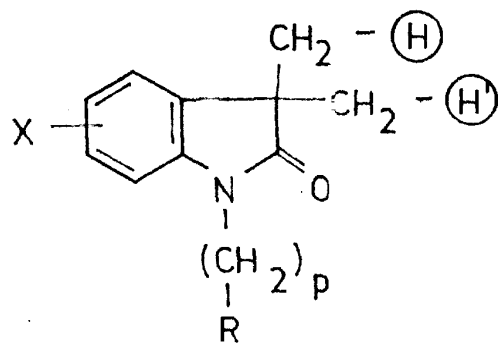
vagy gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sóját a gyógyszergyártásban szokásosan használt hordozó- és/vagy egyéb segédanyagokkal összekeverve gyógyászati készítménnyé alakítjuk (Elsőbbsége: 1986. 04.10.)

20

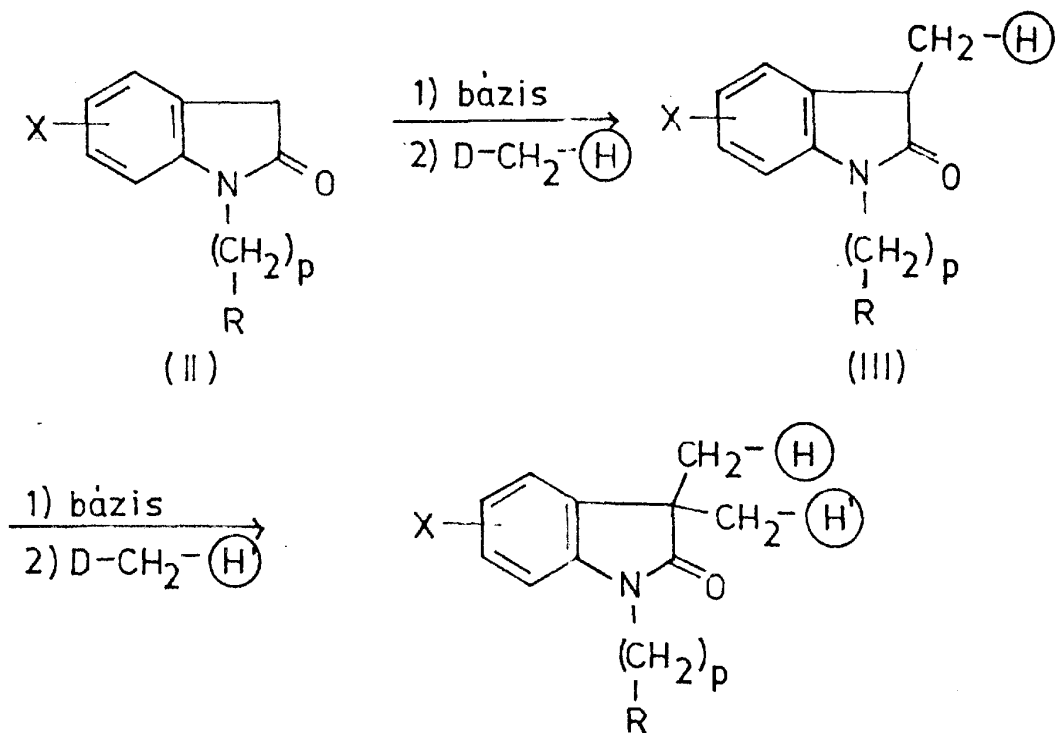
3 db rajz

Kiadja: Országos Találmányi Hivatal
Felelős kiadó: Himer Zoltán o.v.

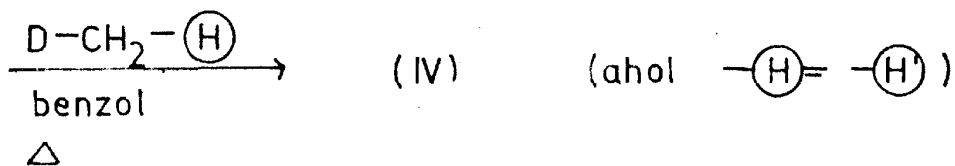
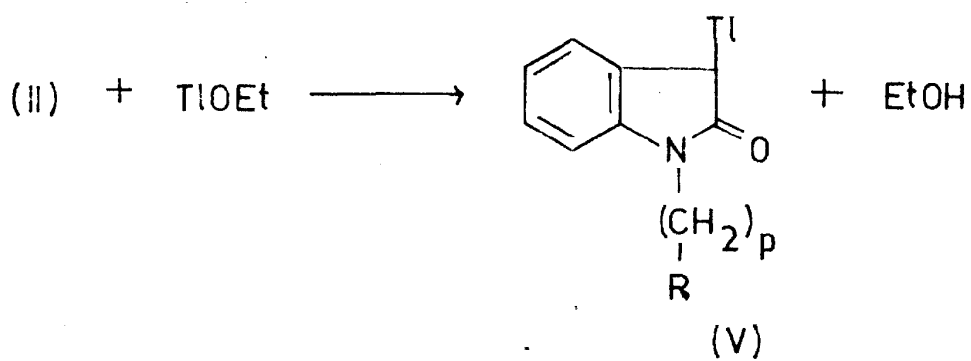
KÓDEX



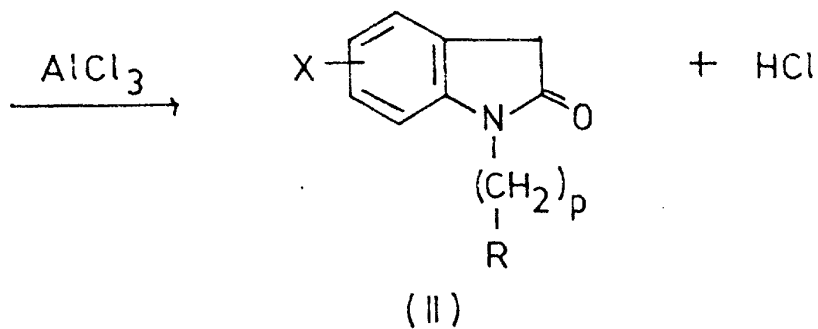
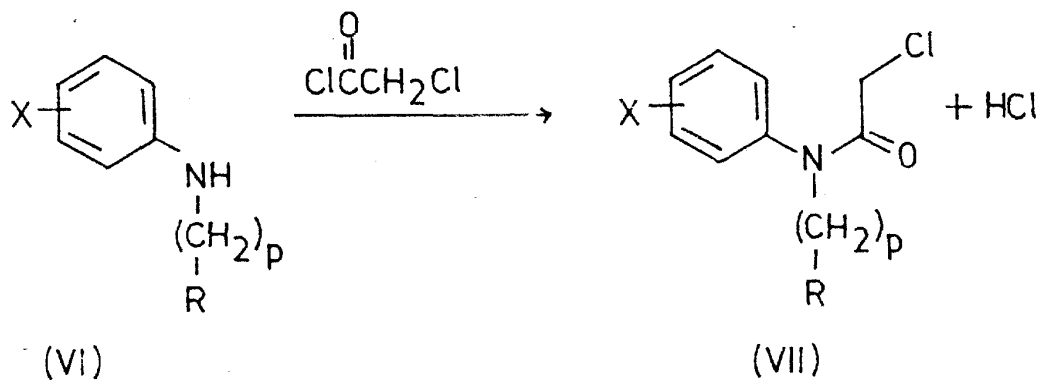
1) reakcióvázlat



2) reakcióvázlat



3) reakcióvázlat



4) reakcióvázlat

