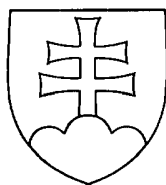


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA
VYNÁLEZU

(21) Číslo dokumentu:

38-98

- (22) Dátum podania: 11.07.96
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 9514465.5
(32) Dátum priority: 14.07.95
(33) Krajina priority: GB
(40) Dátum zverejnenia: 04.11.98
(86) Číslo PCT: PCT/EP96/03025, 11.07.96

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁶:

C 07D 471/14
A 61K 31/395//
(C 07D 471/14,
C 07D 241:00
C 07D 221:00,
C 07D 209:00)

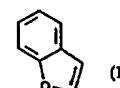
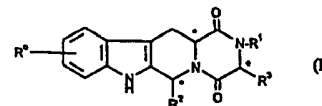
(71) Prihlasovateľ: ICOS CORPORATION, Bothell, WA, US;

(72) Pôvodca vynálezu: Daugan Alain Claude-Marie, Les Ulis, FR;
Gellibert Françoise, Les Ulis, FR;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Cyklické GMC-špecifické inhibítory fosfodiesterázy**

(57) Anotácia:

Zlúčenina všeobecného vzorca (I) a jej solváty, kde R⁰ znamená vodík, halogén alebo C₁₋₆alkyl; R¹ znamená vodík alebo C₁₋₆alkyl; R² znamená bicycklý kruh I, ktorý môže byť výhodne substituovaný jednou alebo viacerými skupinami vybranými z halogénu a C₁₋₃alkylu; a R³ znamená vodík alebo C₁₋₃alkyl, spôsob jeho prípravy, farmaceutický prostriedok s jej obsahom a jej použitie pri liečení stavov, keď je terapeuticky prospešná inhibícia cGMP špecifickej PDE.



Cyklické GMC-špecifické inhibítory fosfodiesterázy

Oblasť techniky

Tento vynález sa týka skupiny tetracyklických derivátov, spôsobov ich prípravy, farmaceutických prípravkov, ktoré ich obsahujú a ich použitia ako terapeutických činidiel. Predovšetkým sa vynález týka tetracyklických derivátov, ktoré sú možnými a selektívnymi inhibítormi cyklickej guanozín 3',5-monofosfátovej špecifickej fosfodiesterázy (cGMP špecifickej PDE), ktoré majú použitie v rôznych terapeutických oblastiach, kedy sa táto inhibícia považuje za výhodnú, vrátane liečenia kárديو-vaskulárnych chorôb.

Doterajší stav techniky

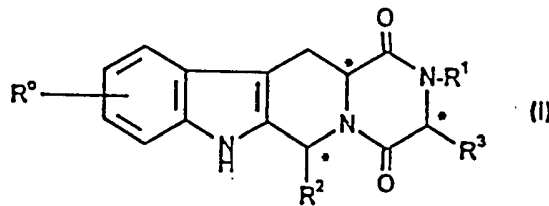
Zlúčeninám podľa vynálezu sa štruktúrou najviac približujú zlúčeniny popísané vo W095/19978, predovšetkým potom v príkladoch 36 až 39, 91 a 92 tejto medzinárodnej prihlášky. V príkladoch 36, 37, 91 a 92 sú konkrétne uvedené zlúčeniny obsahujúce dihydrobenzo[b]furanylové substituenty a v príkladoch 38 a 39 sú potom popísané zlúčeniny obsahujúce etyléndioxyfenylové substituenty.

Oproti tomu zlúčeniny podľa vynálezu neobsahujú ani dihydrobenzofuranylové ani etylénhydroxyfenylové substituenty, ale obsahujú benzofuranylové substituenty.

Benzofuranylové zlúčeniny podľa vynálezu neboli konkrétne popísané ani nárokované v prihláške W095/19978, napriek tomu, že patria do rozsahu zlúčení genericky nárokovaných v tejto prihláške.

Podstata vynálezu

Prvým predmetom predloženého vynálezu je poskytnutie zlúčenín s všeobecným vzorcom (I)

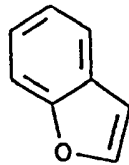


a ich solvátov (ako hydrátov), v ktorých:

R⁰ znamená vodík, halogén alebo C₁₋₄alkyl;

R¹ znamená vodík alebo C₁₋₄alkyl;

R² znamená bicyklický kruh



ktorý môže byť výhodne substituovaný jednou alebo dvoma

skupinami vybranými z halogénů a C₁₋₃alkylu; a

R³ znamená vodík alebo C₁₋₃alkyl.

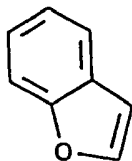
Termín "halogén", ako sa tu používa, znamená bróm, chlór, fluór a jód.

Termíny "C₁₋₃alkyl" a "C₁₋₆alkyl", ako sa tu používajú, znamenajú priamy alebo rozvetvený alkylový reťazec, ako je metyl, etyl, i-propyl, n-butyl, pentyl, hexyl alebo podobné.

Predovšetkým výhodnou podskupinou zlúčenín podľa predloženého vynálezu sú zlúčeniny, kde R⁰ znamená vodík.

Ďalšia výhodná podskupina zahŕňa zlúčeniny, kde R¹ je vybraný z vodíka, metylu a izopropylu.

Výhodne R² znamená nesubstituovaný bicyklický kruh



Ešte ďalšou podskupinou zlúčenín so vzorcom (I) sú zlúčeniny, kde R³ znamená vodík alebo metyl.

Je zrejmé, že predložený vynález pokrýva všetky príslušné kombinácie konkrétnych a výhodných uvedených zoskupení.

Zlúčeniny so vzorcom (I) môžu obsahovať jedno alebo viac asymetrických centier a preto môžu existovať ako enantioméry alebo diastereoizoméry. Musí byť zrejmé, že vynález zahŕňa aj zmesi, aj samostatné jednotlivé izoméry zlúčenín so vzorcom (I). Predovšetkým výhodnými sú 6R a 12aR izoméry.

Konkrétne jednotlivé zlúčeniny zahŕňajú:

(6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2-metyl-
-pyrazino [2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión;

(6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-
-pyrazino [2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión;

(3S, 6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-3-metyl-
-pyrazino [2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión;

(3S, 6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2, 3-
-dimetyl-pyrazino [2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión;

(6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2-izo-
propyl-pyrazino [2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión; a

ich fyziologicky prijateľné solváty (ako hydráty).

Najvýhodnejšou zlúčeninou podľa vynálezu je

(6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2-metyl-
-pyrazino [2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión a jej fyzio-
logicky prijateľné solváty (ako hydráty).

Bolo uvedené, že zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sú
možnými a selektívnymi inhibítormi cGMP špecifickej PDE. Preto sú
zlúčeniny so vzorcom (I) zaujímavé pre použitie pri liečenie,
predovšetkým pri liečení rôznych stavov, kedy je považovaná
inhibícia GMP špecifickej PDE za výhodnú.

V dôsledku selektívnej inhibície PDE 5, vykazovanej
zlúčeninami podľa predloženého vynálezu, sú hladiny cGMP zvýšené,
čo naopak môže viesť k vzostupu prospešných antidoštičkových,
antineutrofilných, antivazospastických, vazodilatačných,
natriuretických a diuretických aktivít, rovnako ako k
potencionizácii účinkov relaxačného faktora (EDRF) odvodeného od
endotelu, nitrovazodilátorov, atriálneho natriuretického faktora
(ANF), mozgového natriuretického peptidu (BNP); C-typu

natriuretického peptidu (CNP) a relaxačného činidla závislého od endotelu, ako je bradykinín acetylcholín a 5-HT₁. Zlúčeniny so vzorcom (I) sú teda vhodné na liečenie mnohých chorôb, vrátane stabilnej, nestabilnej alebo variantnej (Prinzmetal) angíny, hypertenzie, pulmonálnej hypertenzie, venostatického srdcového zlyhania, zlyhania činnosti obličiek, aterosklerózy, stavov zníženej cievnej priechodnosti krvi (ako post-perkutánnej transluminálnej koronárnej angioplastiky), periférnej vaskulárnej choroby, vaskulárnej poruchy ako je Raynaudova choroba, zápalovej choroby, mŕtvice, bronchitídy, chronickej astmy, alergickej astmy, alergickej nádchy, glaukómu, erektilnej disfunkcie a choroby charakterizovanej črevnou motilitou (ako iritabilného črevného syndrómu).

Predpokladá sa, že odkazy tu na liečenie sa vzťahujú na prevenciu, rovnako ako aj na liečenie, daných stavov.

Takisto sa predpokladá, že zlúčeniny so vzorcom (I), alebo ich fyziologicky prijateľné soli alebo solváty, môžu byť podávané ako surové zlúčeniny alebo ako farmaceutické prípravky obsahujúce jedno alebo druhé.

Ďalším predmetom predloženého vynálezu sú zlúčeniny so vzorcom (I) pre použitie pri liečení stabilnej, nestabilnej a variantnej (Prinzmetal) angíny, hypertenzie, pulmonálnej hypertenzie, chronickej obštrukčnej pulmonálnej choroby, venostatického srdcového zlyhania, zlyhania činnosti obličiek, aterosklerózy, stavov zníženej cievnej priechodnosti krvi (ako post-PTCA), periférnej vaskulárnej choroby, vaskulárnej poruchy ako je Raynaudova choroba, zápalovej choroby, mŕtvice, bronchitídy, chronickej astmy, alergickej astmy, alergickej nádchy, glaukómu, erektilnej disfunkcie a choroby črevnej motility (ako IBS).

Ďalším predmetom vynálezu je poskytnutie použitia zlúčeniny so vzorcom (I) pre výrobu liečiva na liečenie stabilnej, nestabilnej a variantnej (Prinzmetal) angíny, hypertenzie,

pulmonálnej hypertenzie, chronickej obštrukčnej pulmonálnej choroby, venostatického srdcového zlyhania, zlyhania činnosti obličiek, aterosklerózy, stavov zníženej cievnej priechodnosti krvi (ako post-PTCA), periférnej vaskulárnej choroby, vaskulárnej poruchy ako je Raynaudova choroba, zápalovej choroby, mŕtvice, bronchitídy, chronickej astmy, alergickej astmy, alergickej nádchy, glaukómu, erektilnej disfunkcie alebo choroby charakterizovanej poruchami črevnej motility (ako IBS).

V ďalšom predmete poskytuje vynález liečenie stabilnej, nestabilnej a premenlivej (Prinzmetal) angíny, hypertenzie, pulmonálnej hypertenzie, chronickej obštrukčnej pulmonálnej choroby, venostatického srdcového zlyhania, zlyhania činnosti obličiek, aterosklerózy, stavov zníženej cievnej priechodnosti krvi (ako post-PTCA), periférnej vaskulárnej choroby, vaskulárnej poruchy ako je Raynaudova choroba, zápalovej choroby, mŕtvice, bronchitídy, chronickej astmy, alergickej astmy, alergickej nádchy, glaukómu, erektilnej disfunkcie alebo choroby charakterizovanej poruchami črevnej motility (ako IBS), tel ľudí alebo zvierat, ktoré zahŕňa podanie týmto objektom terapeuticky účinného množstva zlúčeniny so vzorcom (I).

Zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť podávané akoukoľvek vhodnou cestou, napríklad orálnym, bukálnym, sublingválnym, rektálnym, vaginálnym, nazálnym, topickým alebo parenterálnym (vrátane intravenózneho, intramuskulárneho, subkutánneho a intrakoronárneho) podaním. Obvykle sa dáva prednosť orálnemu podaniu.

Pri podávaní ľuďom pri liečebnom a preventívnom liečení vyššie uvedených chorôb leží orálne dávkovanie zlúčeniny so vzorcom (I) obvykle v rozmedzí od 0,5 do 800 mg denne pre priemerného dospelého pacienta (70 kg). Pre typického dospelého pacienta obsahujú jednotlivé tablety alebo kapsulky od 0,2 do 400 mg účinnej zlúčeniny na vhodnom farmaceuticky prijateľnom vehikule alebo nosiči, pre podanie v jedinej alebo násobných dávkach, raz alebo viackrát denne. Dávkovanie pre intravenózne,

bukálne alebo sublingválne podanie leží typicky v rozmedzí od 0,1 do 400 mg na jedinú dávku, ako je požadované. V praxi stanoví lekár aktuálny režim dávkovania, ktorý bude oveľa vhodnejší pre jednotlivých pacientov a bude sa meniť s vekom, hmotnosťou a odpoveďou konkrétneho pacienta. Vyššie uvedené dávkovania sú exemplárne pre priemerné prípady, ale môžu nastať individuálne situácie, v ktorých sa požadujú vyššie alebo nižšie dávkovacie rozmedzia a ktoré patria do rozsahu vynálezu.

Pri použití pre ľudí môže byť zlúčenina so vzorcom (I) podaná samotná, ale obvykle sa podáva v zmesi s farmaceutickým nosičom zvoleným s ohľadom na uvažovanú cestu podania a štandardnú farmaceutickú prax. Napríklad môže byť zlúčenina podaná orálne, bukálne alebo sublingválne, vo forme tabliet obsahujúcich excipienty, ako je škrob alebo laktóza, alebo v kapsulkách alebo vajíčkach, buď samotná alebo v zmesi s excipientmi, alebo vo forme liečebných nápojov alebo suspenzií obsahujúcich ochuťovadlo alebo farbivá. Takéto kvapalné prípravky môžu byť pripravené s farmaceuticky prijateľnými prísadami, ako sú suspendačné činidlá (ako je metylcelulóza, semisyntetický glycerid, ako je witepsol, alebo zmesi glyceridov, ako je zmes oleja z marhuľových jadriec a esterov PEG-6, alebo zmesi PEG-8 a kaprylových/kaprínových glyceridov). Zlúčenina tiež môže byť injektovaná parenterálne, napríklad intravenózne, intramuskulárne, subkutánne alebo intrakoronárne. Pri parenterálnom podaní sa najlepšie použije zlúčenina vo forme sterilného vodného roztoku, ktorý môže obsahovať ďalšie látky, napríklad soli alebo monosacharidy, ako je manitol alebo glukóza, aby sa pripravil roztok izotonický s krvou.

Ďalším predmetom vynálezu je farmaceutická kompozícia obsahujúca zlúčeninu so vzorcom (I) spoločne s farmaceuticky prijateľným riedidlom alebo ich nosičom.

Predložený vynález ďalej poskytuje spôsob prípravy farmaceutickej kompozície obsahujúcej zlúčeninu so vzorcom (I), pričom spôsob zahŕňa zmiešanie zlúčeniny so vzorcom (I) dokopy

s jej farmaceuticky prijateľným riedidlom alebo nosičom.

Zlúčenina so vzorcom (I) sa takisto môže použiť v kombinácii s inými terapeutickými látkami vhodnými na liečenie vyššie uvedených chorobných stavov. Vynález ďalej poskytuje, ako ďalší predmet, kombináciu zlúčeniny so vzorcom (I) spoločne s inou terapeuticky účinnou látkou.

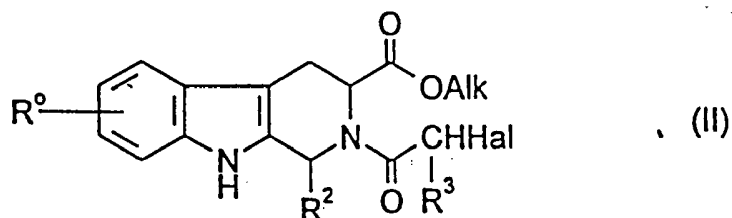
Vyššie uvedená kombinácia sa môže bežne uvádzať pre použitie vo forme farmaceutickej formulácie a preto farmaceutické prípravky obsahujúce kombináciu, ako je definovaná vyššie, spoločne s farmaceuticky prijateľným riedidlom alebo nosičom, predstavujú ďalší predmet vynálezu.

Jednotlivé zložky takejto kombinácie môžu byť tiež podávané buď postupne alebo súčasne v samostatných farmaceutických formuláciách.

Príslušné dávkovania terapeutických činidiel pre použitie v kombinácii so zlúčeninou so vzorcom (I) sú pre odborníka v oblasti techniky ľahko stanoviteľné.

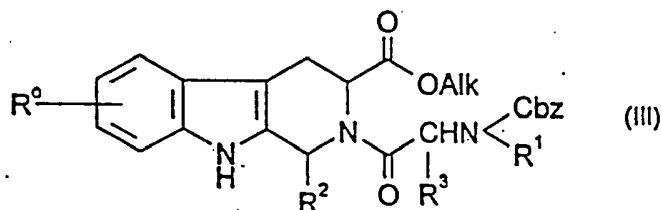
Zlúčeniny so vzorcom (I) môžu byť pripravené akýmkoľvek vhodným postupom známym zo stavu techniky alebo pomocou ďalej uvedených postupov, ktoré tvoria súčasť predloženého vynálezu. V postupoch ďalej znamenajú R^0 , R^1 , R^2 a R^3 to, čo bolo definované vo vzorci (I) vyššie, pokiaľ nie je uvedené niečo iné.

Prvý postup (A) prípravy zlúčeniny so vzorcom (I) zahŕňa spracovanie zlúčeniny so vzorcom (II)



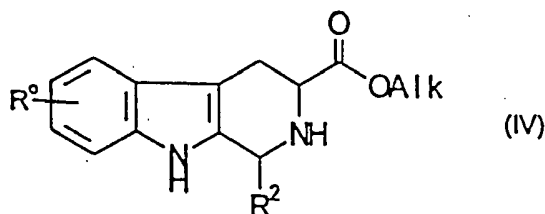
(v ktorom Alk znamená C_{1-2} alkyl, ako je metyl alebo etyl a Hal je atóm halogénu, ako je chlór) s primárnym amínom R^1NH_2 vo vhodnom rozpúšťadle, ako je alkohol (ako je metanol alebo etanol) alebo zmes rozpúšťadiel, vhodne pri teplote od 20 °C do teploty refluxu (teda pri asi 50 °C).

Podľa druhého postupu (B) prípravy zlúčeniny so vzorcom (I) je zahrnutá hydrogenizácia zlúčeniny so vzorcom (III)



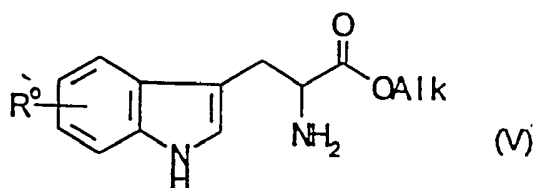
v ktorom je Alk definovaný vyššie a Cbz znamená karbobenzyloxy-skupinu, za prítomnosti katalyzátora, ako je paládium na aktívnom uhlíku, vo vhodnom rozpúšťadle, ako je metanol alebo etanol, pri zvýšenej teplote.

Zlúčeninu so vzorcom (II) je možné vhodne pripraviť spracovaním zlúčeniny so vzorcom (IV)



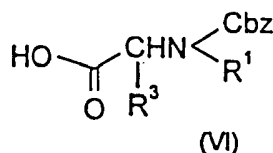
s haloacetylhalogenidom (napríklad chlóracetylchloridom) vo vhodnom rozpúšťadle, ako je halogénovaný uhlíkovodík (napríklad trichlórmetán alebo dichlórmetán) alebo éter (napríklad tetrahydrofurán), výhodne za prítomnosti bázy, ako je organický amín (napríklad trialkylamín, ako je trietylamín) alebo uhličitan alebo hydrogenuhlíčan alkalického kovu (napríklad $NaHCO_3$). Reakcia sa vhodne uskutočňuje pri teplote od -20 °C do +20 °C (napríklad okolo 0 °C).

Zlúčeninu so vzorcom (IV) je možné vhodne pripraviť z alkylesteru tryptofánu so vzorcom (V)



Tento krok zahŕňa Picket-Spenglerovu cyklizáciu medzi zlúčeninou so vzorcom (V) a aldehydom $R^2\text{CHO}$. Reakcia bežne prebieha vo vhodnom rozpúšťadle, ako je halogénovaný uhľovodík (napríklad dichlórmetán) alebo aromatický uhľovodík (napríklad toluén), za prítomnosti kyseliny, ako je kyselina trifluóroctová. Reakcia sa bežne uskutočňuje pri teplote od $-20\text{ }^\circ\text{C}$ do refluxu za tvorby zlúčeniny so vzorcom (III) v jednom kroku. Reakcia sa takisto môže uskutočňovať v rozpúšťadle, ako je aromatický uhľovodík (napríklad benzén alebo toluén), pod refluxom, výhodne použitím Dean-Starkovho prístroja na zachytávanie tvorenej vody. Reakciou sa získa zmes cis a trans izomérov, ktoré môžu byť buď individuálne enantioméry alebo racemáty páru cis alebo trans izomérov v závislosti od toho, či sa ako východiskový materiál použije racemický, alebo enantioméne čistý alkylester tryptofánu. Jednotlivé cis a trans enantioméry sa môžu vhodne oddeliť zo svojej zmesi frakčnou kryštalizáciou alebo chromatografiou (ako je blesková kolónová chromatografia) použitím príslušných rozpúšťadiel a eluentov. Podobne sa môže oddeliť chromatografiou dvojica cis a trans izomérov (napríklad bleskovou kolónovou chromatografiou) použitím príslušných eluens. Opticky čisté trans izoméry môžu byť tiež premenené na opticky čisté cis izoméry použitím vhodných epimerizačných postupov. Jeden takýto postup zahŕňa spracovanie trans izoméru alebo zmesi (napríklad 1:1 zmesi) cis a trans izoméru metanolicným alebo vodným chlorovodíkom pri teplote od $0\text{ }^\circ\text{C}$ do teploty refluxu roztoku. Potom sa zmes podrobí chromatografii (napríklad bleskovej kolónovej chromatografii) s cieľom oddelenia výsledných diastereoizomérov.

Zlúčenina so vzorcom (III) môže byť pripravená reakciou zlúčeniny so vzorcom (IV), ako bola predtým popísaná, so zlúčeninou so vzorcom (VI)



kde Cbz je definované vyššie. Výhodne sa reakcia uskutočňuje za prítomnosti 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (DCC), v rozpúšťadle, ako je halogénovaný uhľovodík (napríklad dichlórmetán) od 0 °C do teploty miestnosti.

Zlúčeniny so vzorcom (V) a (VI) sú známe zlúčeniny, alebo môžu byť pripravené štandardnými ďalej popísanými postupmi.

Zlúčeniny podľa vynálezu je možné izolovať v spojení s molekulami rozpúšťadla kryštalizáciou z alebo odparením príslušného rozpúšťadla.

Preto ako ďalší predmet vynálezu predkladáme spôsob (C) prípravy zlúčeniny so vzorcom (I) alebo jej solvátu (napríklad hydrátu), ktorý zahŕňa postup (A) alebo (B), ako bol predtým popísaný, nasledovaný

- i) stupňom interkonverzie; a/alebo
- ii) tvorbou solvátu (napríklad hydrátu).

Syntézy zlúčeniny podľa vynálezu a medziproduktov pre ich použitie tu sú ilustrované nasledujúcimi neobmedzujúcimi príkladmi.

Príklady realizácieMedziprodukty 1 a 2

(1R, 3R)-Metyl 1, 2, 3, 4-tetrahydro-1-(5-benzofuranyl)-9H-pyrido-
[3, 4-blindol-3-karboxylát, cis izomér a

(1R, 3R)-Metyl 1, 2, 3, 4-tetrahydro-1-(5-benzofuranyl)-9H-pyrido-
[3, 4-blindol-3-karboxylát, trans izomér

Do miešaného roztoku metylesteru D-tryptofánu (3,73 g) a 5-formyl-benzofuránu¹ (2,5 g) v bezvodom dichlórmetáne (100 ml) ochladenom na 0 °C sa pridá po kvapkách kyselina trifluóroctová (2,63 ml) a roztok sa ponechá reagovať pri teplote okolia. Po 72 hodinách sa roztok premyje nasýteným vodným roztokom NaHCO₃, potom vodou a suší sa nad Na₂SO₄. Organická vrstva sa odparí pri zníženom tlaku a zvyšok sa čistí bleskovou chromatografiou premytím dichlórmetán/etylacetátom (90/10) za vzniku prvého cis izoméru (medziprodukt 1) (3 g) ako amorfnej zlúčeniny, nasledovanej trans izomérom (medziprodukt 2) (2,5 g) ako bielych kryštálov, b.t.:194-195 °C.

¹ Syntéza 5-formyl-benzofuránu je popísaná v Chimie Thérapeutique 4, pp 221-227 (1966).

Medziprodukt 3

(1R, 3R)-Metyl 1, 2, 3, 4-tetrahydro-1-(5-benzofuranyl)-2-chlór-
acetyl-9H-pyrido[3, 4-blindol-3-karboxylát

Do miešaného roztoku medziproduktu 1 (2 g) a trietylamínu (0,88 ml) v bezvodom dichlórmetáne (40 ml) ochladenom na 0 °C sa pridá po kvapkách chlóracetylchlorid (0,5 ml) a roztok sa mieša pri rovnakej teplote počas 1 hodiny. Roztok sa premyje vodou, suší sa nad Na₂SO₄ a odparí sa do sucha a zvyšok kryštalizuje z metanolu za vzniku zlúčeniny uvedenej v názve (1,8 g) ako bledožltých kryštálov.

b.t.: 227-228 °C

Medziprodukt 4

(1R, 3R)-Metyl 1, 2, 3, 4-tetrahydro-1-(5-benzofuranyl)-2-(2-(S)-benzyloxykarbonylamino)propionyl)-9H-pyrido[3, 4-b]indol-3-karboxylát

Do miešaného roztoku kyseliny (S)-2-benzyloxykarbonylamino-propiónovej (1,3 g) a 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (DCC) (1,2 g) v bezvodom dichlórmetáne (50 ml) pri 0 °C sa pridá medziprodukt 1 (1,0 g). Získaná zmes sa mieša počas 72 hodín, potom sa výsledná zrazenina odfiltruje. Filtrát sa odparí do sucha a zvyšok sa purifikuje bleskovou chromatografiou, elúciou cyklohexán/etylacetátom (60/40) za vzniku zlúčeniny uvedenej v názve ako bielych kryštálov (1,4 g).

b.t.: 91-92 °C.

Medziprodukt 5

(1R, 3R)-Metyl 1, 2, 3, 4-tetrahydro-1-(5-benzofuranyl)-2-[2-(S)-benzyloxykarbonyl(metylamino)propionyl]-9H-pyrido[3, 4-b]indol-3-karboxylát

Rovnaký postup, ako bol použitý pri príprave medziproduktu 4, ale s východiskovou kyselinou 2-(S)-(benzyloxykarbonyl-metylamino)propiónovou (0,82 g) a použitím medziproduktu 1 (0,6 g). DCC (0,72 g) a dichlórmetánu (25 ml), poskytné po chromatografii, elúcii s cyklohexán/etylacetátom (70/30) zlúčeninu uvedenú v názve ako bielu penu.

¹H NMR (240MHz, CDCl₃) δ 7,7(s, 1H), 7,6(d, 2H), 7,4-7,05(m, 11H), 6,6(d, 1H), 5,4-5,0(m, 4H), 3,5(d, 1H), 3,0(m, 1H), 2,9-2,7(m, 6H), 2,6(dd, 1H), 1,3(s, 3H).

Príklad 1

(6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-Hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2-metyl-pyrazino[2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión

Do miešanej suspenzie medziproduktu 3 (0,42 g) v metanole (30 ml) sa pridá pri teplote okolia roztok metylamínu (33% v EtOH) (0,47 ml) a získaná zmes sa zhrieva pri 50 °C pod dusíkom počas 72 hodín. Rozpúšťadlo sa odstráni pri zníženom tlaku a rozpustí sa v dichlórmetáne. Po premytí vodou, sušení nad Na₂SO₄ a odparení do sucha sa surový produkt čistí kryštalizáciou z metanolu za vzniku zlúčeniny uvedenej v názve, ako bielych kryštálov (0,21 g).

b.t.: 291–293 °C

Analýza pre C₃₂H₁₉O₃:

Vypočítané: C: 71,68; H: 4,97; N: 10,90;

Zistené: C: 71,5; H: 4,91; N: 10,74%.

[α]²⁰_D = + 55,7° (C=1; CHCl₃).

Nasledujúce zlúčeniny boli pripravené podobným spôsobom.

Príklad 2

(6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-Hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-pyrazino-[2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión

Rovnaký postup, ako bol použitý pri príprave v príklade 1, ale s východiskovou látkou amoniakom a medziproduktom 3, poskytne po rekryštalizácii z metanolu zlúčeninu uvedenú v názve ako biele kryštály.

b.t.: 310–311 °C

Analýza pre C₂₂H₁₇N₃O₃ (0,4 MeOH)

Vypočítané: C: 70,03; H: 4,88; N: 10,94;

Zistené: C: 70,01; H: 4,8; N: 10,61%.

[α]²⁰_D = + 60,4° (C=0,5; pyridín).

Príklad 3

(6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-Hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2-izopropyl-pyrazino[2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión

Rovnaký postup, ako bol použitý pri príprave v príklade 1, ale s východiskovou látkou izopropylamínom a medziproduktom 3, poskytne po rekryštalizácii z metanolu zlúčeninu uvedenú v názve ako biele kryštály.

b.t.: 291-292 °C

Analýza pre $C_{25}H_{23}N_3O_3$ (0,6 MeOH)

Vypočítané: C: 71,06; H: 5,92; N: 9,71;

Zistené: C: 70,94; H: 5,62; N: 9,77%.

$[\alpha]^{20}_D = + 37,9^\circ$ (C=1; $CHCl_3$).

Príklad 4

(6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-Hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-3-metyl-pyrazino[2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión

Roztok medziproduktu 4 (0,3 g) za prítomnosti 10% Pd/C (30 mg) v metanole (10 ml) sa mieša pod atmosférou vodíka pri 50 °C počas dvoch hodín. Reakčná zmes sa ochladí, prefiltruje sa cez Celit, filtračný koláč sa premyje metanolom a filtrát sa odparí vo vákuu. Zvyšok sa purifikuje bleskovou chromatografiou, elúciou dichlórmetán/metanolom (98/2) za vzniku zlúčeniny uvedenej v názve ako bielych kryštálov po rekryštalizácii z metanolu (0,15 g).

b.t.: 150-151 °C

Analýza pre $C_{23}H_{19}N_3O_3$ (0,1 MeOH)

Vypočítané: C: 71,39; H: 5,03; N: 10,81;

Zistené: C: 71,08; H: 5,16; N: 10,50%.

$[\alpha]^{20}_D = + 50^\circ$ (C=0,25; $CHCl_3$).

(3S, 6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-Hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2, 3-dimetyl-pyrazino[2', 1':6, 1]pyrido[3, 4-b]indol-1, 4-dión

Rovnaký postup, ako bol použitý pri príprave v príklade 4, ale s východiskovou látkou medziproduktom 5 a použitím 10% Pd/C (50 mg) v metanole (20 ml) poskytne po rekryštalizácii z metanolu zlúčeninu z názvu ako biele kryštály (40 mg).

b.t.: 323-324 °C.

Analýza pre $C_{24}H_{21}N_3O_3$ (0,1 MeOH)

Vypočítané: C: 71,52; H: 5,35; N: 10,43;

Zistené: C: 71,71; H: 5,44; N: 10,39%.

$[\alpha]^{20}_D = + 53^\circ$ (C=0,35; $CHCl_3$).

TABLETY NA ORÁLNE PODANIE

A. Priame lisovanie

1.	mg/tableta
Účinná zložka	50,0
Crospovidon USNF	8,0
Stearát horečnatý	1,0
Bezvodá latkóza	141,0

Účinná zložka sa preoseje a zmieša sa s excipientmi. Získaná zmes sa zlisuje do tabliet.

2.	mg/tabletu
Účinná zložka	50,0
Koloidný oxid kremičitý	0,5
Crospovidon	8,0
Laurylsulfát sodný	1,0
Stearát horečnatý Ph Eu	1,0
Mikrokryštalická celulóza USNF	139,5

Účinná zložka sa preoseje a zmieša sa s excipientmi. Získaná zmes sa zlisuje do tabliet.

B. Mokrú granuláciu

1. mg/tabletu

Účinná zložka	50,0
Polyvinylpyrolidón	150,0
Polyetylén glykol	50,0
Polysorbát 80	10,0
Stearát horečnatý Ph Eu	2,5
Kroskarmelóza sodná	25,0
Koloidný oxid kremičitý	2,5
Mikrokryštalická celulóza USNF	210,0

Polyvinylpyrolidón, polyetylén glykol a polysorbát 80 sa rozpustia vo vode. Výsledný roztok sa použije na granuláciu účinnej zložky. Po usušení sa granulky preosejú, potom sa vytláčajú pri zvýšených teplotách a tlakoch. Extrudát sa melie a/alebo preoseje, potom sa zmieša s mikrokryštalickou celulórou, kroskarmelózou sodnou, koloidným oxidom kremičitým a stearátom horečnatým. Získaná zmes sa zlisuje do tabliet.

2. mg/tabletu

Účinná zložka	50,0
Polysorbát 80	3,0
Laktóza Ph Eur	178,0
Škrob BP	45,0
Predgélovaný kukuričný škrob BP	22,5
Stearát horečnatý BP	1,5

Účinná zložka sa preoseje a zmieša s laktózou, škrobom a predgélovaným kukuričným škrobom. Polysorbát 80 sa rozpustí v purifikovanej vode. Pridá sa príslušný objem roztoku polysorbátu a prášok sa granuluje. Po usušení sa granulát preoseje a zmieša sa so stearátom horečnatým. Potom sa granulát zlisuje do tabliet.

Tablety s inou účinnosťou sa pripravujú v príslušnom pomere účinnej zložky k ostatným excipientom.

TABLETY POTIAHNUTÉ FILMOM

Vyššie uvedené tabletovacie zmesi boli potiahnuté filmom.

Poťahovacia suspenzia	% hmot./hmot.
"Opadry" biela†	13,2
Purifikovaná voda Ph Eu	do 100,0*

* Voda sa neobjavila v konečnom výrobku. Maximálna teoretická hmotnosť pevnej látky aplikovanej počas poťahovania bola 20 mg/tabletu

† "Opadry" biela je chránený materiál získateľný od Colorcon Limited, UK, ktorý obsahuje hydroxypropylmetylcelulózu, oxid titaničitý a triacetín

Tablety boli potiahnuté filmom použitím poťahovej suspenzie v bežnom zariadení na poťahovanie filmom.

KAPSULKY

1.	mg/kapsulka
Účinná zložka	50,0
Laktóza	148,5
Polyvinylpyrolidón	100,0
Stearát horečnatý	1,5

Účinná zložka sa preoseje a zmieša sa s excipientmi. Zmes sa naplní do tvrdých želatínových kapsuliek s veľkosťou č. 1 použitím vhodného zariadenia.

2.	mg/kapsulka
Účinná látka	50,0
Mikrokryštalická celulóza	233,5
Laurylsíran sodný	3,0
Crospovidon	12,0
Stearát horečnatý	1,5

Účinná zložka sa preoseje a zmieša sa s excipientmi. Zmes sa naplní do tvrdých želatínových kapsuliek s veľkosťou č. 1 použitím vhodného zariadenia.

Je možné pripraviť aj iné dávkovania zmenami pomeru účinnej látky k excipientu, hmotnosti náplne a, ak je to nevyhnutné, veľkosťou kapsuliek.

3.	mg/kapsulka
Účinná látka	50,0
Labrafil M1944CS	do 1,0 ml

Inhibičný účinok na cGMP-PDE

cGMP-PDE účinnosť zlúčenín z predloženého vynálezu sa meria použitím jednostupňovej skúšky prispôbenej Wellsom a kol. (Wells, J.N., Baird, C.E., Wu, Y.J. a Hardman, J.G., Biochim. Biophys. Acta 384, 430 (1975)). Reakčné médium obsahovalo 50 mM Tris-HCl, pH 7,5, 5 mM Mg-acetátu, 250 µg/ml 5'-nukleotidázy, 1 mM EGTA a 0,15 µM 8-[³H]-cGMP. Použitým enzýmom bol ľudský rekombinantný PDE V (ICOS, Seattle USA).

Zlúčeniny podľa vynálezu boli rozpustené v DMSO, nakoniec prítomnom v 2 % v teste. Inkubačná doba bola 30 minút, počas ktorej celková konverzia substrátu nepresiahla 30 %.

Hodnoty IC_{50} testovaných zlúčenín boli stanovené z príslušných koncentračných kriviek použitím obvyklých koncentrácií v rozmedzí od 10 nM do 10 μ M. Testy oproti iným PDE enzýmom používajúcich štandardné metódy tiež ukazujú, že zlúčeniny z vynálezu sú vysoko selektívne pre cGMP špecifický PDE enzým.

Meranie hladín cGMP

Boli použité bunky z potkanieho aortálneho hladkého svalstva (RSMC) pripravené podľa Chamleya a kol., v Cell Tissue Res. 177, 503-522 (1977) medzi 10. a 25. priechodom v sútoku v 24-priehlbňových kultivačných nádobách. Kultivačné médium bolo odsaté a prenesené PBS (0,5 ml) obsahujúcim testovanú zlúčeninu v príslušnej koncentrácii. Po 30 minútach pri 37 °C boli častice guanylatcyklázy stimulované prídavkom ANF (100 nM) počas 10 minút. Na konci inkubácie bolo prostredie odobrané a boli uskutočnené dve extrakcie prídavkom 65% etanolu (0,25 ml). Dva etanolické extrakty boli spojené a odparené do sucha použitím Speed-vac systému. c-GMP bola meraná po acetylácii scintilačným proximitným imunotestom (AMERSHAM). Hodnoty EC_{50} sú vyjadrené ako dávky poskytujúce polovičnú stimuláciu pri koncentráciách nasýtenia.

Biologické dáta

Bolo zistené, že zlúčeniny podľa predloženého vynálezu typicky vykazujú IC_{50} hodnotu menšiu ako 500 nM a hodnoty EC_{50} menšie ako 5 μ M. Dáta testovaná in vitro pre reprezentatívne zlúčeniny podľa vynálezu sú uvedené v nasledujúcej tabuľke:

Tabuľka 1 Výsledky *in vitro*

Príklad č.	IC ₅₀ nM	EC ₅₀ µM
1	15	0,6
2	20	<1
3	30	<1
4	8	<1
5	8	<1

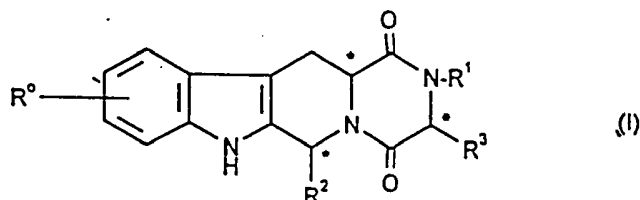
Hypotenzné účinky zlúčenín podľa predloženého vynálezu, ako sú uvedené v tabuľke 2, boli študované na spontánne hypertenzných potkanoch pri vedomí (SHRs). Zlúčeniny boli podávané orálne v dávke 5 mg/kg v zmesi 5 % DMF a 95 % olivového oleja. Katétrom, umiesteným do krčnej tepny, bol meraný krvný tlak a zaznamenávaný 5 hodín po podaní. Výsledky sú vyjadrené ako plocha pod krivkou ("Area Under the Curve" AUC od 0 do 5 hodín, mmHg.hod) poklesu krvného tlaku s časom.

Tabuľka 2 Výsledky *in vivo*

Príklad č.	AUC PO (mmHg.h)
1	137
2	93
3	108
4	101
5	89

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Zlúčenina so vzorcom I

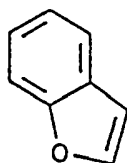


a jej solváty, kde:

R⁰ znamená vodík, halogén alebo C₁₋₄alkyl;

R¹ znamená vodík alebo C₁₋₄alkyl;

R² znamená bicyklický kruh



ktorý môže byť výhodne substituovaný jednou alebo viacerými skupinami vybranými z halogénu a C₁₋₃alkylu; a

R³ znamená vodík alebo C₁₋₃alkyl.

2. Zlúčenina podľa nároku 1, kde R⁰ znamená vodík.

3. Zlúčenina podľa nároku 1 alebo 2, kde R¹ je vybraný z vodíka, metylu a izopropylu.

4. Zlúčenina podľa niektorého z nárokov 1 až 3, kde R³ znamená vodík alebo metyl.

5. (6R, 12aR)-2, 3, 6, 7, 12, 12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2-

-metyl-pyrazino [2',1':6,1]pyrido[3,4-b]indol-1,4-dión;

(6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-
-pyrazino [2',1':6,1]pyrido[3,4-b]indol-1,4-dión;

(3S,6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-3-metyl-
-pyrazino [2',1':6,1]pyrido[3,4-b]indol-1,4-dión;

(3S,6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2,3-
-dimetyl-pyrazino [2',1':6,1]pyrido[3,4-b]indol-1,4-dión;

(6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2-izo-
propyl-pyrazino [2',1':6,1]pyrido[3,4-b]indol-1,4-dión; a

ich fyziologicky prijateľné solváty.

6. (6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahydro-6-(5-benzofuranyl)-2-
-metyl-pyrazino [2',1':6,1]pyrido[3,4-b]indol-1,4-dión a jeho
fyziologicky prijateľné solváty.

7. Zlúčenina podľa niektorého z nárokov 1 až 6 pre použitie
pri liečení.

8. Zlúčenina podľa niektorého z nárokov 1 až 6 pre použitie
pri liečení stavov, kedy je terapeuticky prospešná inhibícia cGMP
špecifickej PDE.

9. Použitie zlúčeniny podľa niektorého z nárokov 1 až 6 pre
výrobu liečiva na liečenie stavov, kedy je terapeuticky prospešná
inhibícia cGMP špecifickej PDE.

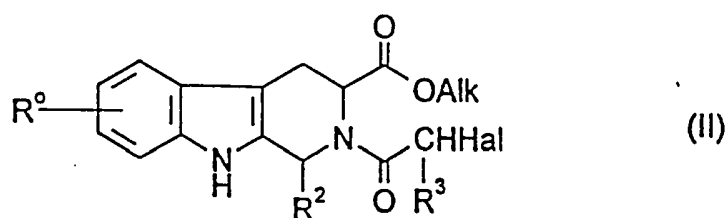
10. Spôsob liečenia stavov ľudí alebo zvierat, kedy je
terapeuticky prospešná inhibícia cGMP špecifickej PDE, ktorý
zahrnuje podanie uvedenému objektu terapeuticky účinného množstva
zlúčeniny podľa niektorého z nárokov 1 až 6.

11. Farmaceutický prípravok obsahujúci zlúčeninu podľa

niektorého z nárokov 1 až 6, spoločne s jej farmaceuticky prijateľným riedidlom alebo nosičom.

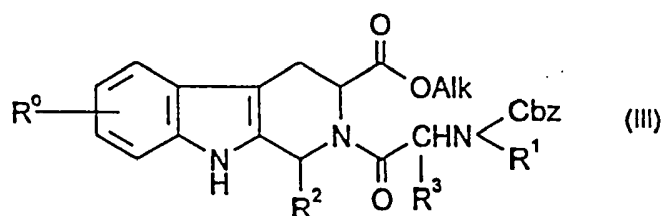
12. Spôsob prípravy farmaceutického prípravku obsahujúceho zlúčeninu podľa niektorého z nárokov 1 až 6, v y z n a č u j ú - c i s a t ý m, že zahrnuje zmiešanie uvedenej zlúčeniny spolu s jej farmaceuticky prijateľným riedidlom alebo nosičom.

13. Spôsob (A) prípravy zlúčeniny podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahrnuje spracovanie zlúčeniny so vzorcom (II)



v ktorom Alk znamená C_{1-6} alkyl a Hal je atóm halogénu, s primárnym amínom R^1NH_2 ; alebo

spôsob (B) zahrnujúci hydrogenovanie zlúčeniny so vzorcom (III)



v ktorom Alk je definovaný ako vyššie a Cbz znamená karbobenzyl-oxyskupinu, za prítomnosti katalyzátora vo vhodnom rozpúšťadle, ako je alkohol, pri zvýšenej teplote; alebo

spôsob (C), ktorý zahrnuje spôsob (A) alebo (B) nasledovaný

- i) stupňom interkonverzie; a/alebo
- ii) tvorbou solvátu.