ČESKOSLOVENSKÁ SOCIALISTICKÁ REPUBLIKA
(19)

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

244847

(11) (B2)

(51) Int. Cl.[4]
C 07 D 295/04
/C 07 D 295/04, 295/10, 295/12/

/22/ Přihlášeno 12 06 84
/21/ PV 982-85
/32//31//33/ Právo přednosti od 16 06 83
/504837/ Spojené státy americké

(40) Zveřejněno 17 09 85

(45) Vydáno 14 08 87

(72) Autor vynálezu
DEVLIN JOHN P. dr., POUGHKEEPSIE, NEW YORK, HARGRAVE KARL D. dr., BROOKFIELD CENTER, CONNECTICUT, BARSUMIAN EDWARD L. dr., DANBURY, CONNECTICUT, POSSANZA GENUS J. dr., RIDGEFIELD, CONNECTICUT /Sp. st. a./

(73) Majitel patentu
BOEHRINGER INGELHEIM Ltd., RIDGEFIELD, CONNECTICUT /Sp. st. a./

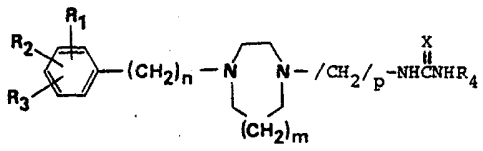
(54) Způsob výroby nových substituovaných fenylalkyl(piperazinyl nebo homopiperazinyl)propylmočovin nebo -thiomočovin

1

Vynález se týká nových substituovaných fenylalkyl/piperazinyl nebo homopiperazinyl/-propylmočovin a -thiomočovin, jejich netoxických adičních solí s kyselinami, způsobu výroby těchto sloučenin, farmaceutických prostředků obsahujících zmíněné sloučeniny jako účinné látky a jejich použití k léčbě imunologických, zánětlivých a alergických chorob.

V DE-OS č. 2 727 469 /1978/ /Chem. Abs., 90, 186989r /1979// jsou popsány mimo jiné 3-substituované 1-fenylpiperazinylpropylmočoviny, které jsou užitečné jako meziprodukty při syntéze 1-fenylpiperazinylpropyl-hexahydropyrimidindionů, jež jsou zase užitečné jako antagonisty serotoninu a jako inhibitory shlukování thrombocytů.

Předmětem vynálezu je způsob výroby nové skupiny fenylalkyl/piperazinyl nebo homopiperazinyl/propylmočovin nebo -thiomočovin obecného vzorce I



/I/

ve kterém

R_1, R_2, R_3 nezávisle na sobě znamenají vždy atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, hydroxylovou skupinu, nižší alkoxyskupinu, nižší alkanoyloxyskupinu, nižší alkanoylovou skupinu, atom halogenu, nitroskupinu, kyanoskupinu, nižší alkoxykarbonylovou skupinu, di/nižší alkyl/aminoskupinu, nižší alkylthioskupinu nebo trihalogenmethylovou skupinu,

R_4 představuje atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 12 atomy uhlíku, cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 atomy uhlíku, allylovou skupinu, benzylovou skupinu, fenylovou skupinu nebo

fenylovou skupinu substituovanou nižší alkylovou skupinou, halogenem, nižší alkoxyskupinou, karboxylovou skupinou, nižší alkoxykarbonylovou skupinou, nižší alkoxyethoxykarbonylovou skupinou, kyanoskupinou, nitroskupinou, nižší alkylthioskupinou, di/nižší alkyl/aminoethoxykarbonylovou skupinou, nižší alkylsulfonylovou skupinou, nižší alkylsulfinylovou skupinou, karbamoylovou skupinou, tetrazolylovou skupinou, sulfamoylovou skupinou, hydroxyskupinou nebo nižší alkanoylovou skupinou,

n je číslo o hodnotě 1, 2, 3 nebo 4,

m je číslo o hodnotě 0 nebo 1,

p je číslo o hodnotě 2, 3 nebo 4 a

X znamená kyslík nebo síru,

a jejich netoxických, farmakologicky přijatelných adičních solí s kyselinami.

Používaným výrazem "nižší alkylová skupina" /ať už samostatně, nebo v kombinacích/ se míní přímá nebo rozvětvená nasycená uhlovodíková skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, například skupina methylová, ethylová, propylová, isopropylová, butylová, isobutylová nebo terc.butylová.

Výrazem "halogen" se míní fluor, chlor, brom a jod. Výrazem "nižší alkoxyskupina" se označují přímé nebo rozvětvené nasycené alifatické etherové zbytky obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, například methoxyskupina, ethoxyskupina, propoxyskupina a butoxyskupina.

Výrazem "nižší alkanoyl" se míní acylový zbytek odvozený od přímé či rozvětvené nasycené alifatické karboxylové kyseliny s 1 až 4 atomy uhlíku, jako zbytek formylový, acetylový nebo propionylový.

Výrazem "nižší alkanoyloxyskupina" se míní nižší alkanoylový zbytek s 1 až 4 atomy uhlíku navázaný na kyslíkatou funkci, jako acetoxyskupina a propionyloxyskupina. Výrazem "nižší alkoxykarbonylová skupina" se míní esterifikovaná karboxylová skupina vzorce R_5-OCO-, kde R_5 znamená přímou nebo rozvětvenou alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, jako methoxykarbonylová skupina, ethoxykarbonylová skupina, propoxykarbonylová skupina a butoxykarbonylová skupina.

Výrazem "nižší alkoxyethoxykarbonylová skupina" se míní zbytek vzorce R_5-OCH_2CH_2OCO-, kde R_5 představuje methylovou nebo ethylovou skupinu. Výrazem "di/nižší alkyl/aminoethylová skupina" se míní zbytek vzorce $/R_7/_2NCH_2CH_2$-, kde R_7 představuje methylovou nebo ethylovou skupinu.

Výrazy "nižší alkylthioskupina", "nižší alkylsulfonylová skupina" a "nižší alkylsulfinylová skupina" se míní skupiny vzorce R_8S-, R_8SO_2 resp. R_8SO-, v nichž R_8 znamená přímou nebo rozvětvenou alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku.

Je pochopitelné, že zbytky označené v obecném vzorci I symboly R_1, R_2 a R_3 mohou být stejné nebo rozdílné. Zbytky představované symboly R_1, R_2 a R_3 mohou být navázány v libovolné možné poloze fenylového kruhu, ale ty sloučeniny, v nichž jeden ze zbytků označených symbolem R_1, R_2 nebo R_3 je přítomen v para-poloze, jsou výhodné.

Rovněž jsou výhodné ty sloučeniny, v nichž R_2 znamená atom vodíku, R_3 představuje jiný zbytek než vodík a R_1 znamená jinou skupinu než vodík, navázanou v para-poloze. Nejvýhodnější jsou ty sloučeniny, v nichž R_2 a R_3 znamenají atomy vodíku a R_1 znamená jinou skupinu než vodík, navázanou v para-poloze.

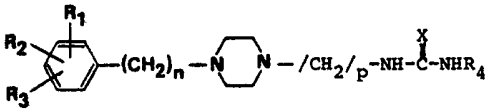
Mezi tyto nejvýhodnější sloučeniny spadají ty látky, v nichž R_2 a R_3 představují atomy vodíku a R_1 znamená atom chloru, s výhodou navázaný v para-poloze.

Substituovaný fenylový zbytek ve významu symbolu R_4 může obsahovat jeden až pět, s výhodou jeden až tři substituenty vybrané z výše zmíněné skupiny. Tyto substituenty mohou

na fenylovém kruhu zaujímat libovolnou možnou polohu, s výjimkou substituce nižší alkoxykarbonylovou skupinou nebo/a karbonylovou skupinou.

Tyto substituenty nemohou být navázány v ortho-poloze fenylového kruhu. Shora definované významy mají výše zmíněné výrazy i v celém následujícím textu.

Je zřejmé, že znamená-li m v obecném vzorci I číslo 0, pak sloučeninami obecného vzorce I jsou piperazinové deriváty odpovídající obecnému vzorci Ia

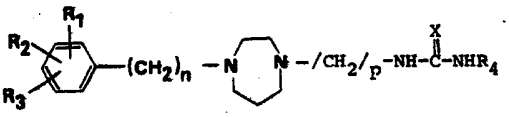


/Ia/

ve kterém

R_1, R_2, R_3, R_4, X, n a p mají shora uvedený význam.

Pokud m v obecném vzorci I má hodnotu 1, jsou sloučeninami obecného vzorce I homopiperaziny odpovídající obecnému vzorci Ib



/Ib/

ve kterém

R_1, R_2, R_3, R_4, X, n a p mají shora uvedený význam.

Výhodné jsou piperazinové deriváty obecného vzorce Ia.

Do rozsahu vynálezu spadají následující skupiny shora popsaných sloučenin a jejich netoxické, farmaceuticky upotřebitelné soli:

/a/ Sloučeniny obecného vzorce Ia nebo Ib,

kde

R_1, R_2 a R_3 nezávisle na sobě znamenají vždy atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, hydroxylovou skupinu, nižší alkoxyskupinu, nižší alkanoyloxyskupinu, nižší alkanoylovou skupinu, atom halogenu, nitroskupinu, kyanoskupinu, nižší alkoxykarbonylovou skupinu, di/nižší alkyl/aminoskupinu nebo trihalogenmethylovou skupinu,

R_4 představuje atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 12 atomy uhlíku, cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 atomy uhlíku, fenylovou skupinu nebo fenylovou skupinu substituovanou nižší alkylovou skupinou, halogenem, nižší alkoxyskupinou, karboxylovou skupinou, nižší alkoxykarbonylovou skupinou, kyanoskupinou nebo nitroskupinou,

n je číslo o hodnotě 1, 2, 3 nebo 4,

p má hodnotu 3 a

X znamená kyslík nebo síru.

/b/ Sloučeniny obecného vzorce Ia nebo Ib,

kde

R_1 znamená chlor,

R_2 a R_3 představují atomy vodíku,

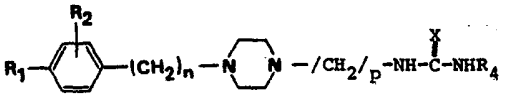
R_4 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 12 atomy uhlíku, cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 atomy uhlíku, allylovou skupinu, fenylovou skupinu nebo fenylovou skupinu substituovanou nižší alkylovou skupinou, halogenem, nižší alkoxyskupinou, karboxylovou skupinou, nižší alkoxykarbonylovou skupinou, nižší alkoxyethoxykarbonylovou skupinou, kyanoskupinou, nitroskupinou, nižší alkylthioskupinou, di/nižší alkyl/aminoethoxykarbonylovou skupinou, nižší alkylsulfonylovou skupinou, nižší alkylsulfinylovou skupinou, karbamoylovou skupinou, tetrazolylovou skupinou, sulfamoylovou skupinou, hydroxylovou skupinou nebo nižší alkanoylovou skupinou,

n má hodnotu 1,

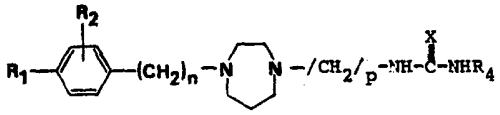
p má hdonotu 3 a

X představuje kyslík nebo síru.

c/ Sloučeniny obecného vzorce IIa nebo IIb



/IIa/



/IIb/

ve kterém

R_1 a R_2 nezávisle na sobě znamenají vždy atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, hydroxylovou skupinu, nižší alkoxyskupinu, nižší alkanoyloxyskupinu, nižší alkanoylovou skupinu, atom halogenu, nitroskupinu, kyanoskupinu, nižší alkoxykarbonylovou skupinu, di/nižší alkyl/-aminoskupinu, nižší alkylthioskupinu nebo trihalogenmethylovou skupinu,

R_4 představuje atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 12 atomy uhlíku, allylovou skupinu, cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 atomy uhlíku, fenylovou skupinu nebo fenylovou skupinu substituovanou nižší alkylovou skupinou, halogenem, nižší alkoxyskupinou, karboxylovou skupinou, nižší alkoxykarbonylovou skupinou, nižší alkoxyethoxykarbonylovou skupinou, kyanoskupinou, nitroskupinou, nižší alkylthioskupinou, di/nižší alkyl/aminoethoxykarbonylovou skupinou, nižší alkylsulfonylovou skupinou, nižší alkylsulfinylovou skupinou, karbamoylovou skupinou, tetrazolylovou skupinou, sulfamoylovou skupinou, hydroxylovou skupinou nebo nižší alkanoylovou skupinou,

n je číslo o hodnotě 1, 2, 3 nebo 4,

p je číslo o hodnotě 2, 3 nebo 4 a

X znamená kyslík nebo síru.

/d/ Sloučeniny obecného vzorce IIa nebo IIb,

kde

R_1 a R_2 nezávisle na sobě znamenají vždy atom vodíku, nižší alkylovou skupinu, hydroxylovou skupinu, nižší alkoxyskupinu, nižší alkanoyloxyskupinu, nižší alkanoylovou skupinu, atom halogenu, nitroskupinu, kyanoskupinu, nižší alkoxykarbonylovou skupinu, di/nižší alkyl/-aminoskupinu nebo trihalogenmethylovou skupinu,

R_4 představuje atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 12 atomy uhlíku, cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 atomy uhlíku, fenylovou skupinu nebo fenylovou skupinu substituovanou nižší alkylovou skupinou, halogenem, nižší alkoxyskupinou, karboxylovou skupinou, nižší alkoxykarbonylovou skupinou, kyanoskupinou nebo nitroskupinou,

n je číslo o hodnotě 1, 2, 3 nebo 4,

p má hodnotu 3 a

X znamená kyslík nebo síru.

/e/ Sloučeniny obecného vzorce IIa nebo IIb,
kde

R_1 znamená chlor,

R_2 představuje vodík,

R_4 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 12 atomy uhlíku, cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 atomy uhlíku, allylovou skupinu, fenylovou skupinu nebo fenylovou skupinu substituovanou nižší alkylovou skupinou, halogenem, nižší alkoxyskupinou, karboxylovou skupinou, nižší alkoxykarbonylovou skupinou, nižší alkoxyethoxykarbonylovou skupinou, kyanoskupinou, nitroskupinou, nižší alkylthioskupinou, di/nižší alkyl/aminoethoxykarbonylovou skupinou, nižší alkylsulfonylovou skupinou, nižší alkylsulfinylovou skupinou, karbamoylovou skupinou, tetrazolylovou skupinou, sulfamoylovou skupinou, hydroxylovou skupinou nebo nižší alkanoylovou skupinou,

n má hodnotu 1,

p má hodnotu 3 a

X znamená kyslík nebo síru.

/f/ Sloučeniny obecného vzorce IIa nebo IIb,
kde

R_1 znamená chlor,

R_2 představuje vodík,

R_4 znamená fenylovou skupinu substituovanou nižší alkylovou skupinou, halogenem, nižší alkoxyskupinou, karboxylovou skupinou, nižší alkoxykarbonylovou skupinou, kyanoskupinou, nitroskupinou, nižší alkanoylovou skupinou, nižší alkoxyethoxykarbonylovou skupinou, di/nižší alkyl/aminoethoxykarbonylovou skupinou, nižší alkylthioskupinou, nižší alkylsulfonylovou skupinou, nižší alkylsulfinylovou skupinou, karbamoylovou skupinou, tetrazolylovou skupinou, sulfamoylovou skupinou, hydroxylovou skupinou nebo nižší alkanoylovou skupinou,

n má hodnotu 1,

p má hodnotu 3 a

X znamená kyslík.

/g/ Sloučeniny obecného vzorce IIa nebo IIb,
kde

R_2 znamená vodík,

R_3 představuje chlor,

R_4 znamená fenylovou skupinu substituovanou karboxylovou skupinou nebo nižší alkoxykarbonylovou skupinou,

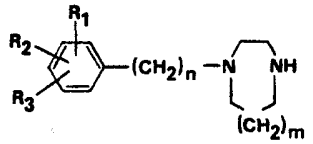
n má hodnotu 1,

p má hodnotu 3 a

X znamená kyslík.

Z výše popsaných sloučenin jsou výhodné ty látky, v nichž X znamená kyslík. Výhodné jsou rovněž ty sloučeniny, ve kterých n má hodnotu 1 nebo/a p má hodnotu 3. Pokud symbol R_4 ve shora uvedených sloučeninách představuje nižší alkylovou skupinu, obsahuje řetězec této alkylové skupiny s výhodou 1 až 6 atomů uhlíku.

V souladu s vynálezem se sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce I připravují tak, že se sloučenina obecného vzorce II



/II/

ve kterém

R_1, R_2, R_3, n a m mají shora uvedený význam,

nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III

$$Y - /CH_2/_p - NHCNH - R_4 \qquad /III/$$

ve kterém

R_4, p a X mají shora uvedený význam a

Y představuje reaktivní substituent reagující s aminem za vzniku vazby uhlík-dusík, například halogen, zbytek aktivovaného esteru, hydroxylovou skupinu, esterový zbytek kyseliny sírové, esterový zbytek sulfonové kyseliny apod.

Reakci podle vynálezu je možno provádět v přítomnosti nebo nepřítomnosti rozpouštědla. K danému účelu je možno používat vodná nebo organická inertní rozpouštědla, a to v závislosti na charakteru reakčních složek.

Mezi tato rozpouštědla náležejí uhlovodíková rozpouštědla, dioxan, tetrahydrofuran, dimethylsulfoxid, dimethylformamid, ethoxyethanol a nižší alkanoly obsahující do 5 atomů uhlíku, a to bez přídavku nebo s přídavkem vody. Je výhodné, ne však nutné, provádět reakci v přítomnosti činidla vázajícího kyselinu, jako triethylaminu nebo uhličitanu alkalického kovu.

Sloučeniny obecného vzorce I jsou zásadité a proto tvoří adiční soli s anorganickými nebo organickými kyselinami. Jako příklady netoxických, farmakologicky přijatelných adičních solí s kyselinami jsou soli tvořené s halogenovodíkovými kyselinami, zejména s kyselinou chlorovodíkovou nebo bromovodíkovou, s kyselinou dusičnou, kyselinou sírovou, kyselinou orthofosforečnou, kyselinou citronovou, kyselinou maleinovou, kyselinou fumarovou, kyselinou propionovou, kyselinou máselnou, kyselinou octovou, kyselinou jantarovou, kyselinou methansulfonovou, kyselinou benzensulfonovou, kyselinou p-toluensulfonovou apod.

Reakci podle vynálezu je možno provádět v přítomnosti nebo nepřítomnosti rozpouštědla. K danému účelu je možno používat vodná nebo organická inertní rozpouštědla, a to v závislosti na charakteru reakčních složek.

Mezi tato rozpouštědla náležejí uhlovodíková rozpouštědla, dioxan, tetrahydrofuran, dimethylsulfoxid, dimethylformamid, ethoxyethanol a nižší alkanoly obsahující do 5 atomů uhlíku, a to bez přídavku nebo s přídavkem vody.

Je výhodné, ne však nutné, provádět reakci v přítomnosti činidla vázajícího kyselinu, jako triethylaminu nebo uhličitanu alkalického kovu.

Sloučeniny obecného vzorce I jsou zásadité a proto tvoří adiční soli s anorganickými nebo organickými kyselinami. Jako příklady netoxických, farmakologicky přijatelných adičních solí s kyselinami jsou soli tvořené s halogenovodíkovými kyselinami, zejména s kyselinou chlorovodíkovou nebo bromovodíkovou, s kyselinou dusičnou, kyselinou sírovou, kyselinou orthofosforečnou, kyselinou citronovou, kyselinou maleinovou, kyselinou fumarovou, kyselinou propionovou, kyselinou máselnou, kyselinou octovou, kyselinou jantarovou, kyselinou methansulfonovou, kyselinou benzensulfonovou, kyselinou p-toluensulfonovou apod.

Výchozí látky pro práci způsobem podle vynálezu jsou buď známé, nebo je lze připravit o sobě známým způsobem.

S výjimkou sloučenin, v nichž R_4 znamená alkylovou skupinu se 7 až 12 atomy uhlíku, inhibují látky obecného vzorce I in vitro histaminem vyvolané kontrakce izolovaného ilea morčete a jsou užitečné u teplokrevných živočichů k antagonisování účinku histaminu na na H_1-receptory histaminu.

V souhlase s tím je možno sloučeniny obecného vzorce I používat jako natihistaminika k léčbě alergických chorob, například alergické rýmy, vasomotorické rýmy, alergického zánětu spojivek, senné rýmy, kopřivky a alergií na potraviny.

Určité sloučeniny obecného vzorce I nevyvolávají vedlejší účinky na centrální nervový systém, jako sedaci, které se normálně vyskytují při léčbě antihistaminiky. Bylo zjištěno, že zejména 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-karboxyfenyl/močovina a 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piprazin-1-yl]propyl/-3-/4-ethoxykarbonylfenyl/močovina při standardních neurofarmakologických testech na myších nevykazují výraznější účinky na centrální nervový systém.

S výjimkou těch látek, v nichž R_4 znamená fenylový zbytek substituovaný karboxylovou skupinou, sloučeniny obecného vzorce I rovněž inhibují in vitro uvolňování histaminu z leukocytů /basofilů/ lidské periferní krve a z žírných buněk krysího peritonea, zprostředkované IgE a jsou u teplokrevných živočichů použitelné k inhibici antigenem vyvolaného uvolňování histaminu nebo/a jiných mediátorů alerických reakcí z buněk.

Uvolňování mediátorů v případě basofilů a tukových buněk se předpokládá u četných alergických a zánětlivých chorob, jako jsou alergické astma, alergická rýma, alergický zánět spojivek, senná rýma, kopřivka, alergie na potraviny apod.

K farmaceutickým účelům se sloučeniny podle vynálezu podávají teplokrevným živočichům místně, orálně, parenterálně nebo prostřednictvím dýchacích cest jako účinné složky v běžných farmaceutických prostředcích, tj. v prostředcích sestávajících v zásadě z inertního farmaceutického nosiče a účinného množství aktivní látky. Výhodná je orální a místní aplikace.

K orální aplikaci je možno sloučeniny podle vynálezu zpracovávat na sirupy, tablety, kapsle, pilulky apod. S výhodou jsou tyto prostředky v jednotkových dávkovacích formách

nebo v takové formě, která umožňuje, aby si pacient sám mohl jednotkovou dávku aplikovat. K přípravě prostředku ve formě tablety, prášku nebo pastilky je možno použít libovolný farmaceutický nosič vhodný pro výrobu pevných prostředků.

Jako příklady takovýchto nosičů lze uvést různé škroby, laktosu, glukosu, sacharosu, dihydrogenfosforečnan vápenatý a křídu. Popisované prostředky mohou rovněž být ve formě kapslí /například želatinových/ obsahujících žádanou účinnou látku ve formě sirupů, kapalných roztoků nebo suspenzí.

Mezi vhodné kapalné farmaceutické nosiče náležejí ethylalkohol, glycerin, vodný roztok chloridu sodného, voda, propylenglykol a roztok sorbitolu. Tyto nosiče je možno spolu s aromatickými přísadami a barvivy používat k přípravě sirupů.

Sloučeniny podle vynálezu lze rovněž aplikovat jinou než orální cestou a pro tento způsob podání je možno, v souladu se standardní farmaceutickou praxí, připravovat příslušné prostředky, například pro rektální aplikaci čípky, nebo injekční preparáty ve formě vodných či nevodných roztoků, suspenzí či emulzí ve farmaceuticky přijatelné kapalině, jako je sterilní apyrogenní voda nebo parenterálně přijatelný olej nebo směs kapalin, kteréžto kapaliny mohou obsahovat bakteriostatická činidla, antioxidanty, ochranné látky, pufry nebo další rozpustné látky k úpravě roztoku do isotonického stavu s krví, zahušťovadla, suspendační činidla nebo jiné farmaceuticky upotřebitelné přísady.

Tyto prostředky se vyrábějí v jednotkových dávkovacích formách, jako jsou ampule nebo pohotovostní injekční preparáty, nebo v zásobnících obsahujících několik dávek, jako jsou lahvičky, z nichž je možno příslušnou dávku vždy odebrat, nebo ve formě pevného preparátu či koncentrátu, který je možno použít k přípravě injekčního prostředku.

Sloučeniny podle vynálezu lze rovněž vhodně upravovat pro aplikaci pomocí dýchacích cest, například jako aerosoly nebo roztoky pro aplikaci ve formě mlhy, nebo jako mikrojemný prášek pro vdechování, kde může být účinná látka obsažena buď samotná nebo v kombinaci s inertním nosičem, jako laktosou.

V takovémto případě mají mít částice účinné látky účelně průměr nižší než 20 µm, s výhodou nižší než 10 µm. Je-li to žádoucí, mohou tyto preparáty obsahovat rovněž malá množství jiných antialergických činidel, antiastmatik a bronchodilatačních činidel, například sympatomimeticky působících aminů, jako jsou isoprenalin, isoetharin, metaproterenol, salbutamol, fenylefrin, fenoterol a efedrin, xanthinových derivátů, jako jsou theofylin a aminofylin, a kortikosteriodů, jako jsou prednisolon a adrenální stimulantia, jako adreno-kortikotropní hormon /ACTH/.

Sloučeniny podle vynálezu mohou být rovněž přítomny v mastích, krémech, lotionech, gelech, aerosolech a roztocích pro místní aplikaci na kůži, do nosu nebo do oka. Kromě těchto dávkovacích forem je možno k aplikaci na kůži vyrábět rovněž kožní nátěry.

Roztoky k místní aplikaci do nosu a oka mohou kromě sloučenin podle vynálezu obsahovat ještě vhodné pufry, činidla k úpravě tonicity, ochranné látky proti mikrobům, antioxidanty a činidla zvyšující viskositu ve vodném prostředí.

Jako příklady těchto činidel zvyšujících viskositu se uvádějí polyvinylalkohol, deriváty celulosy, polyvinylpyrrolidon, polysorbáty nebo glycerin. Používané ochranné látky proti mikrobům mohou zahrnovat benzalkonium-chlorid, thimerosal, chlorbutanol nebo fenylethylalkohol.

Prostředky k místní aplikaci do oka mohou mít rovněž formu mastí, kde je účinná látka obsažena ve vhodném inertním masťovém základu tvořeném minerálním olejem, přírodní vaselinou, polyethylenglykoly nebo deriváty lanolinu, spolu s antimikrobiálními činidly.

Ve všech systemických prostředcích může vhodná jednotková dávka účinné látky činit 1 až 500 mg, přičemž výhodná je jednotková dávka od 1 do 200 mg. Účinná dávka sloučeniny podle vynálezu závisí na příslušné sloučenině, na charakteru ošetřované choroby a na jejím rozsahu, na stavu pacienta a na četnosti a způsobu podání.

Obecně se systemická dávka pro pacienta o tělesné hmotnosti zhruba 70 až 80 kg pohybuje v rozmezí cca 1 až 200 mg/den. Výhodná je denní dávka v rozmezí od 1 do 100 mg.

K místní aplikaci se s výhodou používají prostředky obsahující 0,001 až 1,0 % účinné látky, s výhodou 0,01 až 0,1 % účinné látky.

Pro přípravu farmaceutických prostředků se sloučeniny obecného vzorce I obvyklým způsobem mísí s příslušnými farmaceutickými nosnými látkami, aromatickými přísadami a barvivy, a zpracovávají se například na tablety či kapsle nebo se, za přídavku příslušných pomocných látek, suspendují nebo rozpouštějí ve vodě nebo oleji, například kukuřičném oleji.

Sloučeniny podle vynálezu je možno aplikovat orálně nebo parenterálně v kapalné nebo pevné formě. Jako injekční prostředí se s výhodou používá voda obsahující stabilizační činidla, solubilizační činidla nebo/a pufry běžně používané k přípravě injekčních roztoků.

Mezi přísady tohoto typu náležejí například vinanové, citrátové a acetátové pufry, ethanol, propylenglykol, polyethylenglykol, složitější sloučeniny shora uvedených látek /například ethylendiamintetraoctová kyselina/, antioxidanty /jako siřičitan sodný, pyrosiřičitan sodný nebo askorbová kyselina/, polymery o vysoké molekulové hmotnosti /jako kapalné polyethylenoxidy/ k úpravě viskosity, a polyethylenové deriváty anhydridů sorbitolu.

Je-li to nutné, lze přidávat také ochranné látky, jako jsou kyselina benzoová, methyl- nebo propylparaben, benzalkonium-chlorid a jiné kvarterní amoniové sloučeniny.

Mezi použitelné pevné nosiče náležejí například škrob, laktosa, mannitol, methylcelulosa, mikrokrystalická celulosa, mastek, oxid křemičitý, dikalciumfosfát a polymery s vysokou molekulovou hmotností /jako polyethylenglykol/.

Prostředky určené k orálnímu podání mohou popřípadě obsahovat chuťové přísady nebo/a sladidla. K místní aplikaci lze sloučeniny podle vynálezu rovněž používat ve formě prášků nebo mastí. K tomuto účelu se tyto sloučeniny mísí například s práškovými, fyzilogicky snášitelnými ředidly nebo běžnými masťovými základy.

Vynález ilustrují následující příklady provedení, jimiž se však rozsah vynálezu v žádném směru neomezuje.

P ř í k l a d 1

Dihydrochlorid 1-/3-[4- [3-/4-chlorfenyl/propyl]piperazin-1-yl]propyl/-3-n-hexylmočoviny

a/ K směsi 39 g /0,3 mol/ chlorpropylamin-hydrochloridu, 38,2 g /0,3 mol/ n-hexylisokyanátu a 500 ml methylenchloridu se pomalu přidá 35 g /35 mmol/ triethylaminu. Výsledný roztok se 1 hodinu míchá, načež se rozpouštědlo odpaří ve vakuu.

Zbytek se rozmíchá s etherem a bezbarvý pevný produkt se odfiltruje. Etherický roztok se promyje vodou, vysuší se síranem hořečnatým a zahustí se. Získá se 57,0 g /výtěžek 86 %/ čisté 1-/3-chlorpropyl/-3-n-hexylmočoviny ve formě bezbarvých krystalů o teplotě tání 48 až 50 °C.

b/ Směs 2,21 g /10 mmol/ 1-/3-chlorpropyl/-3-n-hexylmočoviny, 2,39 g /10 mmol/ 1-[3-/4-

-chlorfenyl/propyl]piperazinu, 1,01 g /10 mmol/ triethylaminu a 25 ml alkoholu se 18 hodin zahřívá k varu pod zpětným chladičem. Ochlazená reakční směs se zředí etherem, promyje se vodou, vysuší se síranem sodným a zahustí se ve vakuu. Žlutý viskózní olejovitý odparek se vyčistí chromatografií na sloupci silikagelu za použití směsi methylenchloridu a methanolu /93 : 7/ jako elučního činidla.

Po vysrážení etherickou kyselinou chlorovodíkovou se získá 1,6 g /výtěžek 38 %/ sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvých krystalů o teplotě tání 213 až 216 °C.

P ř í k l a d 2

Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-[3-/4-chlorfenyl/propyl]piperazin-1-yl]propyl/-3--/4-kyanfenyl/močoviny

a/ K směsi 17,8 g /137 mmol/ 3-chlorpropylamin-hydrochloridu, 19,7 g /137 mmol/ 4-kyanfenylisokyanátu a 200 ml methylenchloridu se pomalu přidá 13,8 g /137 mmol/ triethylaminu. Výsledný roztok se míchá až do odeznění mírně exothermní reakce, načež se rozpouštědlo odpaří ve vakuu.

Produkt se rozpustí v etheru, roztok se promyje vodou a po vysušení se část etheru odpaří. Vysrážené bezbarvé krystaly se odfiltrují a vysuší se. Získá se 17,5 g /výtěžek 54 %/ 1-/3-chlorpropyl/-3-/4-kyanfenyl/močoviny. Po překrystalování malého vzorku produktu z vodného acetonu se získá čistý produkt tající při 95 až 97 °C.

b/ Směs 3,57 g /15 mmol/ 1-/3-chlorpropyl/-3-/4-kyanfenyl/močoviny, 3,58 g /15 mmol/ 1- 3-/4-chlorfenyl/propyl piprazinu, 1,52 g /15 mmol/ triethylaminu a 100 ml ethanolu se 35 hodin zahřívá k varu pod zpětným chladičem.

Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu, k zbytku se přidá voda a produkt se extrahuje etherem. Extrakt se vysuší a zahustí se ve vakuu. Výsledný červenavě žlutý olej se vyčistí chromatografií na sloupci silikagelu, za použití směsi methylenchloridu a methanolu /9 : 1/ jako elučního činidla.

Ve výtěžku 2,8 g /42 %/ se získá produkt ve formě volné báze, který se rozpustí v etheru a etherickou kyselinou chlorovodíkovou se vysráží sloučenina uvedená v názvu, která po překrystalování z vody rezultuje ve formě bezbarvých krystalů o teplotě tání 219 až 221 °C.

P ř í k l a d 3

Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-karbamoylfenyl/močoviny

Roztok 10,0 g /19,9 mmol/ monohydrátu dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin--1-yl]propyl/-3-/4-kyanfenyl/močoviny, 120 ml ledové kyseliny octové a 80 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové se 30 minut zahřívá na 80 °C.

Reakční směs se vylije na led, zalkalizuje se vodným roztokem hydroxidu draselného a produkt se extrahuje methylenchloridem. Extrakt se vysuší síranem sodným a etherickou kyselinou chlorovodíkovou se vysráží žádaná sůl. Po několikerém překrystalování z ethanolu se získá 3,54 g /výtěžek 38 %/ sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvých krystalů o teplotě tání 224 až 226 °C.

P ř í k l a d 4

Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-terc.butylfenyl/močoviny

K roztoku 2,98 g /20 mmol/ 4-terc.butylanilinu ve 25 ml etheru se přidá roztok 4,22 g /20 mmol/ 3-jodpropylisokyanátu ve 25 ml etheru a výsledný roztok se 3 hodiny zahřívá k varu pod zpětným chladičem.

Po odpaření rozpouštědla se k odparku přidá 4,18 g /20 mmol/ 4-chlorbenzylpiperazinu v 50 ml ethanolu a výsledný roztok se 24 hodiny zahřívá k varu pod zpětným chladičem. K směsi se přidá vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného a produkt se extrahuje methylenchloridem.

Extrakt se vysuší síranem sodným a etherickou kyselinou chlorovodíkovou se vysráží žádaná sůl. Po několikanásobném překrystalování z ethanolu se získá 3,73 g /výtěžek 33 %/ sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvých krystalů o teplotě tání 240 až 241 °C.

P ř í k l a d 5

Hydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-karboxyfenyl/močoviny

Roztok 2,59 g /5,6 mmol/ hydrochloridu 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/--3-/4-ethoxykarbonylfenyl/močoviny v 75 ml methanolu se 8 hodin zahřívá k varu pod zpětným chladičem s 10 ml 1N vodného hydroxidu sodného.

Reakční směs se zahustí ve vakuu, zbytek se rozpustí ve vodě, roztok se zfiltruje a okyselí se kyselinou chlorovodíkovou. Vysrážený pevný produkt se shromáždí a promyje se methanolem. Získá se 1,92 g /výtěžek 80 %/ sloučeniny uvedené v názvu, ve formě bezbarvých krystalů o teplotě tání 244 až 246 °C.

P ř í k l a d 6

Analogickým způsobem jako v předcházejících příkladech je možno připravit rovněž následující sloučeniny:

A. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-karboxyfenyl/močoviny,

B. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-ethoxykarbonylfenyl/močoviny o teplotě tání 240 až 243 °C,

C. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-karbamoylfenyl/-močoviny,

D. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-hydroxy-4-karbamoylfenyl/močoviny,

E. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-hydroxy-4-ethoxykarbonylfenyl/-močoviny o teplotě tání 245 až 247 °C,

F. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-hydroxy-4-karboxyfenyl/močoviny,

G. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-methoxy-3-ethoxykarbonylfenyl/močoviny,

H. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-methoxy-4-karboxyfenyl/močoviny,

I. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-karboxy-4-hydroxyfenyl/-močoviny,

J. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-ethoxykarbonyl-4--hydroxyfenyl/močoviny,

K. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-karboxy-4-methoxyfenyl/močoviny,

L. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/3-ethoxykarbonyl--4-methoxyfenyl/močoviny,

M. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-kyanbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-kyanfenyl/močoviny o teplotě tání 220 až 223 °C,

N. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-sulfamoylfenyl/-močoviny o teplotě tání 245 až 246 °C,

O. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-kyanbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-ethoxykarbonylfenyl/-močoviny o teplotě tání 241 až 245 °C,

P. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-methoxybenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-ethoxykarbonylfenyl/močoviny o teplotě tání 215 až 218 °C,

R. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-methylthiobenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4--ethoxykarbonylfenyl/močoviny o teplotě tání 200 až 222 °C,

S. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-methylbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-ethoxykarbonylfenyl/močoviny o teplotě tání 226 až 229 °C,

T. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-trifluormethylbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3--/4-ethoxykarbonylfenyl/močoviny o teplotě tání 240 až 243 °C,

U. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-ethoxykarbonylbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/--3-/4-ethoxykarbonylfenyl/močoviny o teplotě tání 235 až 237 °C,

V. Dihydrochlorid 1-/2-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]ethyl/-3-/4-kyanfenyl/močoviny o teplotě tání 217 až 219 °C,

X. Hemihydrát dihydrochloridu 1-/4-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]butyl/-3-/4-ethoxykarbonylfenyl/močoviny o teplotě tání 227 až 228 °C,

Y. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-cyklohexylmočoviny o teplotě tání 184 až 187 °C,

Z. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-methylmočoviny o teplotě tání 193 až 207 °C,

AA. Hemihydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-n-butylmočoviny o teplotě tání 222 až 223 °C,

AB. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-n-hexylmočoviny o teplotě tání 214 až 215 °C,

AC. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-n-oktylmočoviny o teplotě tání 229 až 230 °C,

AD. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-fluorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-cyklohexylmočoviny o teplotě tání 203 až 206 °C,

AE. Dihydrochlorid 1-[3-/4-benzylpiperazin-1-yl/propyl]-3-cyklohexylmočoviny o teplotě tání 202 až 213 °C,

AF. 1-[3-/4-benzylpiperazin-1-yl/propyl]-3-fenylmočovinu o teplotě tání 45 až 47 °C,

AG. 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-fenylmočovinu o teplotě tání 135 až 137 °C,

AH. Hydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl-3-/4-chlorfenyl/močoviny o teplotě tání 241 °C,

AI. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-methylfenyl/močoviny o teplotě tání 131 až 132 °C,

AJ. Hydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-methoxyfenyl/močoviny o teplotě tání 237 až 238 °C,

AK. Hydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-ethoxykarbonylfenyl/-močoviny o teplotě tání 233 až 234 °C,

AL. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-fluorfenyl/močoviny o teplotě tání 225 až 228 °C,

AM. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-nitrofenyl/močoviny o teplotě tání 230 až 231 °C.

AN. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/homopiperazin-1-yl]propyl/-3-cyklohexylmočoviny o teplotě tání 167 až 175 °C,

AO. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/homopiperazin-1-yl]propyl/-3-fenylmočoviny o teplotě tání 125 až 135 °C,

AP. 1-/3-[4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-cyklohexylthiomočovinu o teplotě tání 127 až 128 °C,

AR. 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-fenylthiomočovinu o teplotě tání 155 až 156 °C,

AS. Hemihydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-n-hexylthiomočoviny o teplotě tání 182 až 186 °C,

AT. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-benzylmočoviny o teplotě tání 203 až 206 °C,

AU. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorfenethyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-n-hexylmočoviny o teplotě tání 230 až 233 °C,

AV. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-kyanfenyl/močoviny o teplotě tání 236 až 238 °C,

AX. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/3-trifluormethyl-4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3--n-hexylmočoviny o teplotě tání 216 až 219 °C,

AY. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-allylmočoviny o teplotě tání 232 až 234 °C,

AZ. Dihydroát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-acetylfenyl/močoviny tající za rozkladu nad 197 °C,

BA. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4-ethoxyfenyl/-močoviny o teplotě tání 225 až 227 °C,

BB. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-[4-/methylthio/fenyl]močoviny o teplotě tání 212 až 214 °C,

BC. Monohydrát dihydrochloridu 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/2-chlorfenyl/močoviny o teplotě tání 222 až 224 °C,

BD. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/2,6-dichlorfenyl/-močoviny o teplotě tání 246 až 248 °C,

BE. Dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/n-dodecyl/močoviny o teplotě tání 215 až 222 °C.

P ř í k l a d 7

Inhibiční účinnost sloučenin obecného vzorce I na uvolňování histaminu z lidských leukocytů /basofilů/ a z žírných buněk krysího peritonea in vitro je možno doložit následujícími biochemickými testy:

A. Stanovení inhibice uvolňování histaminu in vitro z lidských leukocytů /basofilů/

1. Separace leukocytů

Používá se modifikovaná metoda, kterou popsali L. Lichtenstein a A. Osler, J. Exp. Med. 120, 507 /1964/. 80 až 100 ml lidské krve s přídavkem heparinu se smísí v odstředivkových kyvetách z polypropylenu s 20 ml 0,2% solného roztoku obsahujícího 0,6 g dextrosy a 1,2 g dextranu.

Směs se nechá 60 až 90 minut stát při teplotě místnosti k oddělení erythrocytů od supernatantu obohaceného destičkami a leukocyty. Supernatant se shromáždí a 8 minut se za studena odstřeďuje při 110 g.

Peletka leukocytů, získaná odstředěním, se dvakrát promyje tris-pufrem a pak se v koncentraci 1-2 x 10^6 buněk/ml suspenduje ve 150 až 180 ml tris-ACM pufru.

2. Reakční směs

Reakce se provádí ve zkumavkách z plastické hmoty /12x75 mm/, v celkovém objemu 1,25 ml. Reakční prostředí sestává z 0,05 ml králičího protilidského IgE /antigen/, 0,2 ml roztoku testované látky ve vodě o koncentraci 10 až 1 000 μM a 1,0 ml suspenze leukocytů.

Reakční směs se za třepání 60 minut inkubuje na vodní lázni o teplotě 37 °C. Po ukončení reakce se zkumavky vloží do odstředivky, odstředí se a supernatanty se shromáždí. Vysrážením 0,2 ml 8% kyseliny chloristé se ze supernatantů odstraní protein.

3. Zkouška na histamin

Uvolňování histaminu se měří pomocí automatisované fluorometrické metody, kterou popsali W. Siraganian a W. Hook v kapitole 102 knihy "Manual of Clinical Immunology", druhé vydání, Ed. R. Rose a H. Friedman, American Society for Microbiology Washington D. C. 1980.

Inhibice v procentech se vypočte podle následujícího vztahu:

$$\frac{\text{/kontrolní - slepý pokus/} - \text{/testovaný - slepý vzorek pokus/}}{\text{/kontrolní pokus - slepý pokus/}} \times 100$$

Koncentrace způsobující 50% inhibici /IC_{50}/ uvolňování histaminu se zjistí interpolací z grafu inhibice v procentech proti logaritmu koncentrace testované látky.

B. Stanovení inhibice uvolňování histaminu z žírných buněk krysího peritonea

1. Získání peritoneálních žírných buněk

Krysy se usmrtí etherem a do jejich peritonea se injikuje 20 ml MEM /Minimum Essential Meidum/ obsahujících 20 jednotek/ml heparinu. Abdomen se 1 minutu hněte a vytékající tekutina se shromažďuje. Peritoneální buňky se získají osmiminutovým odstřeďováním za studena při 1 800 otáček/min. Po dvojnásobném promytí tris-A pufrem se buňky suspendují v tris-ACM pufru v koncentraci 2-4 x 10^6 buněk/ml.

2. Reakční směs

Reakce se provádí ve zkumavkách z plastické hmoty /12x75 mm/, v celkovém objemu 1,25 ml. Reakční směs sestává z 0,5 ml /10 až 1 000 /ug/ ovčího protikrysího IgE nebo ovalbuminu, 0,2 ml roztoku testované látky ve vodě o koncentraci 10 až 1 000 /uM, 0,5 ml roztoku fosfatidyl-serinu /20 až 60 /ug do každé zkumavky/ a 0,5 ml suspenze buněk.

Reakční směs se za třepání 60 minut inkubuje na vodní lázni o teplotě 37 °C. Po ukončení reakce se zkumavky vloží do odstředivky, odstředí se a supernatanty se shromáždí. Vysrážením 0,2 ml 8% kyseliny chloristé se ze supernatantů odstraní protein.

3. Zkouška na histamin

Uvolňování histaminu se měří pomocí automatisované fluorometrické metody /viz výše uvedenou citaci/.

Koncentrace způsobující 50% inhibici uvolňování histaminu /IC_{50}/ se zjišťuje stejným způsobem jako v odstavci A.

Výsledky testů účinnosti sloučenin obecného vzorce I co do inhibování uvolňování histaminu z lidských leukocytů /basofilů/ podle shora popsaného postupu A, jsou uvedeny v následující tabulce A:

T a b u l k a A

testovaná látka /příklad číslo/	inhibice IC_{50} /uM/
1	10
2	20
5	> 1 000
6Y	50
6Z	300
6AA	50
6AB	8

pokračování tabulky A

testovaná látka /příklad číslo/	inhibice IC_{50} /µM/
6AC	16
6AD	50
6AE	240
6AF	400
6AG	78
6AH	30
6AI	37
6AJ	80
6AK	190
6AL	20
6AM	30
6AN	13
6AO	15
6AP	26
6AR	37
6AS	int[x]
6AT	112
6AU	16
6AV	81
6AX	int[x]
6AY	120
6AZ	115
6BA	35

Legenda:

[x] int = interference s testovacím postupem

Výsledky testů účinnosti sloučenin obecného vzorce I co do inhibování uvolňování histaminu z žírných buněk krysího peritonea podle shora popsaného postupu B, jsou uvedeny v následující tabulce B:

T a b u l k a B

testovaná látka /příklad číslo/	inhibice IC_{50} /µM/
6Y	108
6AB	110
6AC	210
6AG	> 1 000
6AV	150

P ř í k l a d 8

Účinnost sloučenin obecného vzorce I na antagonisování účinků histaminu na kontrakci izolovaného ilea morčete je možno stanovovat postupem, který popsali G. Possanza, A. Bauen a P. Stewart, Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 49, 289 /1975/.

Stupeň inhibice se stanovuje jako rozdíl mezi kontrakcí způsobenou samotným histaminem /finální koncentrace 0,2 µg/ml/ a kontrakcí, k níž dochází v přítomnosti jak histaminu, tak testované sloučeniny.

Inhibiční účinnost testované látky se vyjadřuje jako koncentrace sloučeniny způsobující 50% potlačení kontrakce /IC_{50}/.

Při shora popsaném testu byly pro jednotlivé sloučeniny obecného vzorce I zjištěny výsledky uvedené v následující tabulce C:

T a b u l k a C

testovaná látka příklad číslo/	inhibice IC_{50} /µM/
1	0,13
2	0,11
5	0,21
6Y	0,015
6Z	0,63
6AA	0,07
6AB	0,05
6AC	0,75
6AD	0,11
6AE	0,32
6AF	0,21
6AG	0,05
6AH	0,15
6AI	0,065
6AJ	0,015
6AK	0,11
6AL	0,06
6AM	0,018
6AN	0,15
6AO	0,55
6AP	0,11
6AR	0,10
6AS	0,08
6AT	0,23
6AU	0,02
6AV	0,008
6AX	0,09
6AY	0,17
6AZ	0,02
6BA	-

P ř í k l a d 9

Tablety

Složení:

složka	množství
hydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/--3-/4-karboxyfenyl/močoviny	0,010 dílu
kyselina stearová	0,010 dílu
dextrosa	1,890 dílu
celkem	1,910 dílu

Příprava:

Jednotlivé složky se běžným způsobem smísí a ze směsi se vylisují tablety o hmotnosti 1,91 g, z nichž každá představuje jednotkovou dávku pro orální podání, obsahující 10 mg účinné látky.

P ř í k l a d 10

Mast

Složení:

složka	množství
hydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/-3-/4--methoxyfenyl/močoviny	2,000 dílu
dýmavá kyselina chlorovodíková	0,011 dílu
pyrosiřičitan sodný	0,050 dílu
směs stejných dílů cetylalkoholu a stearylalkoholu	20,000 dílu
bílá vaselina	5,000 dílu
syntetický bergamotový olej	0,075 dílu
destilovaná voda doplnit do	100,000 dílu

Příprava:

Shora uvedené složky se vhodným způsobem promísí do homogenity za vzniku masti, která ve 100 g obsahuje 2,0 g účinné látky.

P ř í k l a d 11

Inhalační aerosol

Složení:

složka	množství
dihydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/--3-n-hexylmočoviny	1,00 dílu
sojový lecitin	0,20 dílu
směs hnacích plynů /Freon 11, 12 a 14/ doplnit do	100,00 dílu

Příprava:

Shora uvedené složky se obvyklým způsobem smísí a vzniklým prostředkem se plní aerosolové zásobníky opatřené dávkovacím ventilem, který při jednom stisku uvolní 0,5 až 2,0 mg účinné látky.

P ř í k l a d 12

Složení:

složka	množství
hydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/--3-/4-karboxyfenyl/močoviny	5,0 dílu
pyrosiřičitan sodný	1,0 dílu
sodná sůl ethylendiamintetraoctové kyseliny	0,5 dílu
chlorid sodný	8,5 dílu
redestilovaná voda doplnit do	1 000,0 dílu

Příprava:

Jednotlivé složky se rozpustí v dostatečném množství redestilované vody, roztok se dalším množstvím redestilované vody zředí na shora uvedenou koncentraci, filtrací se zbaví suspendovaných částic a filtrátem se plní za aseptických podmínek ampule o objemu 1 ml, které se pak sterilizují a zataví. Každá ampule obsahuje 5 mg účinné látky.

Příklad 13

Roztok k místní aplikaci /oční nebo nosní/

Složení:

složka	množství
hydrochlorid 1-/3-[4-/4-chlorbenzyl/piperazin-1-yl]propyl/--3-/4-kyanfenyl/močoviny	0,020 dílu
monohydrogenfosforečnan dvojsodný	0,758 dílu
dihydrogenfosforečnan sodný	0,184 dílu
chlorid sodný	0,365 dílu
polyvinylalkohol	3,500 dílu
benzalkonium-chlorid	0,10 dílu
destilovaná voda doplnit do	100,000 dílu

Příprava:

Shora uvedené složky se obvyklým způsobem rozpustí na vodný roztok, který se zfiltruje s tím, že roztok pro oční aplikaci vyžaduje sterilní filtraci. Každý mililitr výsledného roztoku obsahuje 0,2 mg účinné látky.

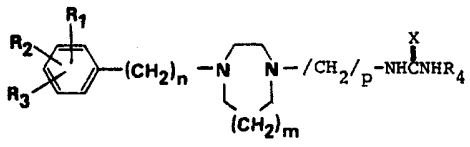
V příkladech 9 až 13 je možno příslušnou účinnou látku vždy nahradit kteroukoli ze sloučenin obecného vzorce I nebo její solí. Obdobně i množství účinných látek, uváděná v těchto ilustrativních příkladech je možno měnit tak, aby se získala jednotková dávka spadající do shora uvedeného rozmezí.

Aby se vyhovělo konkrétním požadavkům, je možno měnit rovněž množství a charakter inertních farmaceutických nosičů a pomocných látek.

Způsob podle vynálezu byl ilustrován několika konkrétními provedeními, je ovšem pochopitelné, že vynález není nikterak omezen pouze na tato provedení, ale že je možno provádět různé změny a modifikace, které se nevymykají z ducha vynálezu a z rozsahu následující definice předmětu vynálezu.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby nových substituovaných fenylalkyl/piperazinyl nebo homopiperazinyl/-propylmočovin nebo -thiomočovin obecného vzorce I



/I/

ve kterém

R_1, R_2 a R_3 nezávisle na sobě znamenají vždy atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, hydroxylovou skupinu, alkoxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkanoyloxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkanoylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkanoylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, atom halogenu, nitroskupinu, kyanoskupinu, alkoxykarbonylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, dialkylaminoskupinu obsahující v každé alkylové části vždy 1 až 4 atomy uhlíku, alkylthioskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo trihalogenmethylovou skupinu,

R_4 představuje atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 12 atomy uhlíku, cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 atomy uhlíku, allylovou skupinu, benzylovou skupinu, fenylovou skupinu nebo fenylovou skupinu substituovanou jedním až třemi stejnými či rozdílnými substituenty vybranými ze skupiny zahrnující alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, atomy halogenů, alkoxyskupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, karboxylovou skupinu, alkoxykarbonylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, alkoxyethoxykarbonylové skupiny, kde alkoxylovou částí je methoxyskupina nebo ethoxyskupina, kyanoskupinu, nitroskupinu, alkylthioskupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, dialkylaminoethoxykarbonylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku v každé alkylové části, alkylsulfonylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, alkylsulfinylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, karbamoylovou skupinu, tetrazolylovou skupinu, sulfamoylovou skupinu, hydroxyskupinu a alkanoylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku,

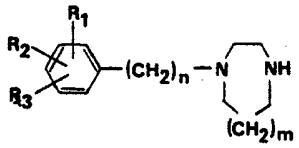
n je číslo o hodnotě 1, 2, 3 nebo 4,

m je číslo o hodnotě 0 nebo 1,

p je číslo o hodnotě 2, 3 nebo 4 a

X znamená kyslík nebo síru,

a jejich netoxických, farmakologicky přijatelných adičních solí s kyselinami, vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce II

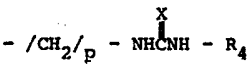


/II/

ve kterém

R_1, R_2, R_3, n a m mají shora uvedený význam,

nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III



/III/

ve kterém

R_4, p a X mají shora uvedený význam a

Y představuje reaktivní substituent reagující s aminem za vzniku vazby uhlík-dusík, například halogen, zbytek aktivovaného esteru, hydroxylovou skupinu, esterový zbytek kyseliny sírové, esterový zbytek sulfonové kyseliny,

a výsledný produkt se popřípadě převede na svoji netoxickou, farmakologicky přijatelnou adiční sůl s kyselinou.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se použijí odpovídající výchozí látky,

za vzniku sloučenin shora uvedeného obecného vzorce I, ve kterém

R_1, R_2 a R_3 nezávisle na sobě znamenají vždy atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, hydroxylovou skupinu, alkoxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkanoyloxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkanoylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, atom halogenu, nitroskupinu, kyanoskupinu, alkoxykarbonylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, dialkylaminoskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v každé alkylové části nebo trihalogenmethylovou skupinu,

R_4 představuje atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 12 atomy uhlíku, cykloalkylovou skupinu se 3 až 8 atomy uhlíku nebo fenylovou skupinu, popřípadě substituovanou jedním až třemi stejnými či rozdílnými substituenty vybranými ze skupiny zahrnující alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, atomy halogenů, alkoxyskupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, karboxylovou skupinu, alkoxykarbonylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, kyanoskupinu a nitroskupinu,

n je číslo o hodnotě 1, 2, 3 nebo 4,

m je číslo o hodnotě 0 nebo 1,

p je číslo o hodnotě 3 a

X znamená kyslík nebo síru,

a jejich netoxických, farmakologicky přijatelných adičních solí s kyselinami.