

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 1533

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **01.11.1999**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **01.11.1999**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/EP9908317**

(33) Země priority: **WO**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14.08.2002**
(Věstník č. 8/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/EP99/08317**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/32640**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 295/033

A 61 K 31/40

A 61 P 25/08

(71) Přihlašovatel:

MERZ PHARMACEUTICALS GMBH, Frankfurt, DE;

(72) Původce:

Gold Markus, Nauheim, DE;

Danysz Wojciech, Nidderau, DE;

Parsons Christopher Graham Raphael, Praunheim, DE;

Kalvinsh Ivars, Salaspils, LT;

Kauss Valerjans, Riga, LT;

Jirgensons Aigars, Riga, LT;

(74) Zástupce:

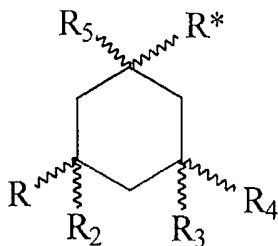
Čermák Karel Dr., Národní třída 32, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**1-cyklické amino-alkylcyklohexanové sloučeniny,
farmaceutické prostředky, které je obsahují a
jejich použití jako antikonvulziv**

(57) Anotace:

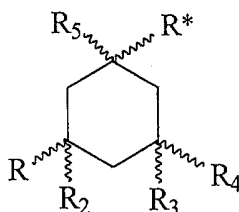
Určité 1-cyklické amino-alkylcyklohexany jsou systémově nekompetitivní NMDA receptorové antagonisty a jsou tudíž vhodné pro zmírnění stavů vznikajících z poruch glutamatergních transmise. Co je důležitější, tyto sloučeniny projevují výjimečnou antikonvulzivní a protizáchvatovou aktivitu, která není sdílána blízkými příbuznými necyklickými aminosloučeninami. Farmaceutické prostředky z nich a způsob pro přípravu zahrnutých účinných 1-cyklických amino-alkylcyklohexanových sloučenin a způsob výroby léčiv z nich.



1-cyklické amino-alkylcyklohexanové sloučeniny, farmaceutické prostředky, které je obsahují a jejich použití jako antikonvulziv

Oblast techniky

Tento vynález se orientuje na 1-cyklické amino-alkylcyklohexanové sloučeniny vybrané ze skupiny sestávající ze sloučenin vzorce



ve kterém R* je $-(CH_2)_n-(CR^6R^7)_m-NR^8R^9$

ve kterém $n+m = 0, 1$ nebo 2

ve kterém R¹ až R⁷ jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z vodíku a (C₁₋₆) nižšího alkylu

a ve kterém R⁸ a R⁹ spolu představují nižší alkylen $-(CH_2)_x-$, kde x je 2 až 5, včetně,

a jejich enantiomerů, optických izomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí, a také na farmaceutické prostředky je obsahující a jejich přípravu a použití jako antikonvulziv pro léčení křečí nebo záchvatů u živočichů.

Dosavadní stav techniky

Zvláště významné jsou sloučeniny již uvedeného vzorce, ve kterém minimálně R¹, R⁴ a R⁵ jsou nižší alkyl a zvláště ty sloučeniny, kde R¹ až R⁵ jsou methyl, ty, kde x je 4 nebo 5 a zvláště sloučenina N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin a jeho optické izomery, enantiomery, hydráty a farmaceuticky přijatelné soli.

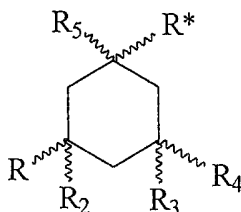
V naší zveřejněné přihlášce WO 99/01416, publikované 14.ledna 1999, uveřejňujeme sloučeniny uvedeného vzorce, kde jsou však R^8 a R^9 vybrány z vodíku a (C_{1-6}) nižšího alkylu, farmaceutické prostředky je obsahující a jejich použití jako antagonisty NMDA receptoru.

Nyní bylo zjištěno, že sloučeniny dříve zmíněného vzorce, ve kterém R^8 a R^9 spolu představují nižší alkylen $-(CH_2)_x-$, kde x je 2 až 5, zahrnující zvláště N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin, a jeho optické izomery, enantiomery, hydráty a farmaceuticky přijatelné soli, mají kromě svých NMDA antagonistických vlastností zcela neočekávaně vysokou míru antikonvulzivní účinnosti v modelu "vznícení", zatímco jiné NMDA antagonisty, navzdory ještě vyšším NMDA antagonistickým schopnostem, nejsou účinné.

Popis vynálezu

Domníváme se tudíž, že obsah tohoto našeho vynálezu lze shrnout, mimo jiné, do následujících slov:

Cyklická amino-alkylcyklohexanová sloučenina vybraná ze skupiny sestávající ze sloučenin vzorce



ve kterém R^* je $-(CH_2)_n-(CR^6R^7)_m-NR^8R^9$

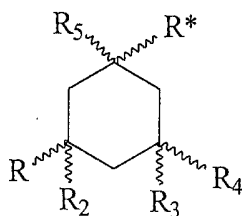
ve kterém $n+m = 0, 1$ nebo 2

ve kterém R^1 až R^7 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z vodíku a (C_{1-6}) nižšího alkylu, minimálně R^1 , R^4 a R^5 jsou nižší alkyl,

a ve kterém R^8 a R^9 spolu představují nižší alkylen $-(CH_2)_x-$, kde x je 2 až 5, včetně,
 a jejich enantiomerů, optických izomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí.
 tato sloučenina, ve které R^1 až R^5 jsou methyl;
 tato sloučenina, ve které x je 4 nebo 5;
 a tato sloučenina vybraná ze skupiny zahrnující
 N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin a jeho optické izomery, enantiomery,
 hydráty a farmaceuticky přijatelné soli.

Farmaceutický prostředek tedy obsahuje účinné množství této sloučeniny
 v kombinaci s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými rozpouštědly, pomocnými
 látkami nebo nosiči;
 tento farmaceutický prostředek, kde účinným množstvím je antikonvulzivně účinné
 množství;
 tento farmaceutický prostředek, kde R^1 až R^5 jsou methyl;
 tento farmaceutický prostředek, kde x je 4 nebo 5;
 a tento farmaceutický prostředek, kde je sloučenina vybraná ze skupiny zahrnující
 N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin a jeho optické izomery, enantiomery,
 hydráty a farmaceuticky přijatelné soli.

Dále způsob léčení křečí nebo záchvatů u živočichů, zahrnující krok podávání
 těmto živočichům množství 1-cyklické amino-alkylcyklohexanové sloučeniny vybrané ze
 skupiny sestávající ze sloučenin vzorce

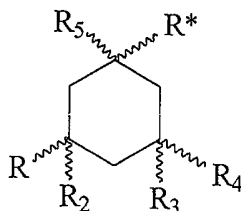


ve kterém R^* je $-(CH_2)_n-(CR^6R^7)_m-NR^8R^9$

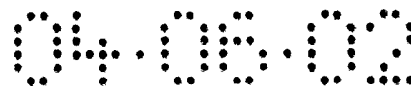
ve kterém $n+m = 0, 1$ nebo 2

ve kterém R^1 až R^7 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z vodíku a (C_{1-6}) nižšího alkylu,
 a ve kterém R^8 a R^9 spolu představují nižší alkylen $-(CH_2)_x-$, kde x je 2 až 5, včetně,
 a jejich optických izomerů, enantiomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí, které jsou užitečné pro tento účel;
 tento způsob, kde minimálně R^1 , R^4 a R^5 jsou nižší alkyl;
 tento způsob, kde R^1 až R^5 jsou methyl;
 tento způsob, kde x je 4 nebo 5;
 tento způsob, kde sloučenina je vybraná ze skupiny zahrnující N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin, a jeho optické izomery, enantiomery, hydráty a farmaceuticky přijatelné soli;
 a tento způsob, kde se sloučenina podává ve formě farmaceutického prostředku, který obsahuje sloučeninu v kombinaci s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými rozpouštědly, pomocnými látkami nebo nosiči.

Dále použití 1-cyklického amino-alkylcyklohexanu vybraného ze sloučenin vzorce



ve kterém R^* je $-(CH_2)_n-(CR^6R^7)_m-NR^8R^9$
 ve kterém $n+m = 0, 1$ nebo 2
 ve kterém R^1 až R^7 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z vodíku a (C_{1-6}) nižšího alkylu,
 ve kterém R^8 a R^9 spolu představují nižší alkylen $-(CH_2)_x-$, kde x je 2 až 5, včetně,
 a jejich optických izomerů, enantiomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí,
 k výrobě léčiva pro léčení živočichů pro zmírnění křečí nebo záchvatů;
 toto použití, kde minimálně R^1 , R^4 a R^5 jsou nižší alkyl;



toto použití, kde R^1 až R^5 jsou methyl;

toto použití, kde x je 4 nebo 5;

toto použití, kde sloučenina je vybraná ze skupiny zahrnující

N -(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin a jeho optické izomery, enantiomery, hydráty a farmaceuticky přijatelné soli;

Dále způsob přípravy této sloučeniny, který zahrnuje krok reagování odpovídajícího 1-nesubstituovaného amino-alkylcyklohexanu s

- (1) s omega-haloalkylnitrem a cyklizace vzniklé N -(omega-cykloalkyl) sloučeniny na odpovídající 1-cyklickou sloučeninu nebo
- (2) s alfa, omega-dihaloalkylovou sloučeninou

Způsoby – chemické složení

Výchozí materiály pro přípravu sloučenin podle tohoto vynálezu jsou známé ze stavu techniky.

V naší dříve publikované přihlášce WO 99/01416, PCT/EP98/04026, jsou uvedeny četné 1-amino-alkylcyklohexylaminové sloučeniny. Pozornost vyvolává, například, Sloučenina 5 na straně 9 a její početné příklady v celé publikaci.

Výchozí sloučeniny pro tento vynález mají vzorec uvedený výše, ve kterém jsou však R^8 i R^9 vodík. Zvláště zajímavá jako výchozí materiál je sloučenina vybraná ze skupiny zahrnující

- 1-amino-1,3,5-trimethylcyklohexan,
- 1-amino-1(trans),3(trans),5-trimethylcyklohexan,
- 1-amino-1(cis),3(cis),5- trimethylcyklohexan,
- 1-amino-1,3,3,5-tetramethylcyklohexan,
- 1-amino-1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexan,
- 1-amino-1,3,3,5-tetramethyl-3-ethylcyklohexan,
- 1-amino-1,5,5-trimethyl-3,3-diethylcyklohexan,
- 1-amino-1,5,5-trimethyl-cis-3-ethylcyklohexan,
- 1-amino-(1S, 5S)cis-3-ethyl-1,5,5-trimethylcyklohexan,

1-amino-1,5,5-trimethyl-trans-3-ethylcyklohexan,
1-amino-(1R, 5S)trans-3-ethyl-1,5,5-trimethylcyklohexan,
1-amino-1-ethyl-3,3,5,5-tetramethylcyklohexan,
1-amino-1-propyl-3,3,5,5-tetramethylcyklohexan
a farmaceuticky přijatelné kyselé adiční soli těchto sloučenin.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu se z nich připravují s dodatečným krokem konvertování volných aminových sloučenin, přednostně ve formě kyselé adiční soli jako je hydrochlorid a podobně, ve dvoukrokovém postupu cyklizace zahrnujícím jako meziprodukt N-kyanoalkylovou sloučeninu a její cyklizaci pro vytvoření požadované 1-cyklické amino-alkylcyklohexanové sloučeniny, kde je 1-amino skupina ve formě cyklické skupiny, jako je pyrrolidin nebo piperidin a podobně, kde tyto sloučeniny jsou předmětem řešení uvedeného vynálezu.

Podrobný popis vynálezu

Následující další podrobnosti a podrobné příklady jsou uvedeny pouze pro ilustraci a nemají být vykládány jako omezující.

Příklady provedení:

1-amino-alkylcyklohexanové sloučeniny, kde 1-amino skupina je cyklická, to znamená, že R^8 a R^9 společně představují nižší alkylen $-(CH_2)_x-$, kde x je 2 až 5, včetně, což reprezentuje 1-amino skupinu $-NR^8R^9$ ve formě cyklického aminu, jsou připraveny podle následujícího způsobu:

Příprava N-(3-kyanopropyl)-1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexylaminu

Směs 1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexylamin hydrochloridu (2,06 g, 10 mmol), 4-brombutyronitrilu (1,55 g, 10,5 mmol) a uhličitanu sodného (3,18 g, 30 mmol) v tetrahydrofuranu (50 ml) se vařila pod zpětným chladičem 85 h, pak se nalila do vody (100 ml) a extrahovala etherem (3x30 ml).

Spojené organické fáze se promyly solným roztokem (20 ml) a sušily pomocí K_2CO_3 . Roztok se zfiltraval a odpařil a hrubý produkt se přečistil chromatografií na silikagelu, eluováním s hexan-etherem (10:1), (6:1), (4:1) a získal se produkt (1,86 g, 86 %) ve formě bezbarvého oleje.

PMR spektrum: ($CDCl_3$, TMS) δ : 0,87 (6H, s, c-Hex 3,5- CH_3); 1,06 (3H, s, c-Hex 1- CH_3); 1,18 (6H, s, 3,5- CH_3); 0,9-1,6 (7H, m, c-Hex protony kruhu a NH); 1,75 (2H, m, - CH_2 -); 2,43 (2H, t, $J = 7$ Hz, CH_2N) a 2,66 ppm (2H, t, $J = 7$ Hz, CH_2CN).

Příprava MRZ 2/705, totiž: N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin hydrochloridu

N-(3-kyanopropyl)-1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexylamin (1,2 g, 5,1 mmol) v ethanolu (120 ml) a konc. HCl (4 ml) se hydrogenovaly na 10% Pd/C (250 mg) při 7 bar po dobu 40 h (po 24 hod se přidal další podíl katalyzátoru (260 mg)).

Katalyzátor se odstranil filtrací přes celitovou destičku a rozpouštědlo se odpařilo. Zbytek zreagoval s acetonitrilem, pevná látka se odfiltravala a filtrát se odpařil. Hrubý produkt se vykrytalizoval z etheru a získal se N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin hydrochlorid (0,67 g, 49 %) s t.t. 156 – 158 °C.

PMR spektrum: ($DMSO-D_6$, TMS) δ : 0,97 (6H, s, 3,5- CH_3); 1,11 (6H, s, 3,5- CH_3); 0,8 – 1,4 (2H, cyklohexan 4- CH_2) 1,41 (3H, s, 1- CH_3); 1,69 (4H, m, cyklohexan 2,6- CH_2); 1,84 (4H, m, pyrrolidin 3,4- CH_2); 3,20 (4H, m, pyrrolidin 2,5- CH_2); 10,9 ppm (1H, br s, HN^*).

Elementární analýza: $C_{15}H_{29}N \cdot HCl \cdot 0,5H_2O$

Stanoveno (%) C 67,7; H 11,5; N 5,5

Vypočteno (%) C 67,0; H 11,6; N 5,2

Další 1-cyklické aminosloučeniny se připraví stejným způsobem vycházejícím z vybraného alkyl-substituovaného cyklohexylaminu, obvykle ve formě kyselé adiční soli jako je hydrochlorid, a z vybraného ω -bromalkylnitrilu, jako je 4-brombutyronitril, 3-brompropionitril, 2-bromacetonitril a 5-bromvaleronitril, způsobem podle předchozí přípravy, nejdříve se vyrobí vybraná N- ω -kyanoalkyl-alkylcyklohexylaminová sloučenina a pak se N- ω -kyanoalkyl-alkylcyklohexylaminová sloučenina cyklizuje na výslednou N-(alkylcyklohexyl)cyklickou aminovou sloučeninu, konkrétně pyrrolidin, piperidin nebo jinou cyklickou aminovou sloučeninu, ve které dusíkový atom a R⁸ a R⁹ spolu tvoří cyklické aminové složky, R⁸ a R⁹ spolu představují nižší alkylenový řetězec vzorce $-(CH_2)_x-$, kde x je 2 až 5, včetně.

Tak se podle vynálezu připraví N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin hydrochlorid nebo jiná kyselá adiční sůl a četné další nižší alkylsubstituované cyklohexany mající 1-pyrrolidino nebo 1-piperidino skupinu nebo jinou 1-cyklickou aminoskupinu, v závislosti na ω -bromalkylnitrilových a alkyl-substituovaných cyklohexylaminových výchozích materiálech, které jsou vybrány pro reakci.

Uvedený způsob může být tedy náležitě popsán krokem reagování odpovídajícího 1-nesubstituovaného amino-alkylcyklohexanu s omega-haloalkylnitrilem a cyklizace výsledné N-(omega-kyanoalkyl) sloučeniny na odpovídající 1-cyklickou amino-alkylcyklohexanovou sloučeninu.

Halogenem je výhodně brom a výchozí amin vstupuje do reakce přednostně ve formě kyselé adiční soli, jako je hydrochlorid.

Použitím výhodných výchozích materiálů, které jsou uvedeny výše, se snadno připraví následující sloučeniny:

N-(1,3,5-trimethylcyklohexyl)pyrrolidin nebo piperidin,

N-[1(trans), 3(trans), 5-trimethylcyklohexyl]pyrrolidin nebo piperidin,

N-[1(cis), 3(cis), 5-trimethylcyklohexyl]pyrrolidin nebo piperidin,

N-(1,3,3,5-tetramethylcyklohexyl)pyrrolidin nebo piperidin,

N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin nebo piperidin,

N-(1,3,5,5-tetramethyl-3-ethylcyklohexyl)pyrrolidin nebo piperidin,

N-(1,5,5-trimethyl-3,3-diethylcyklohexyl)pyrrolidin nebo piperidin,

N-(1,5,5-trimethyl-cis-3-ethylcyklohexyl)pyrrolidin nebo piperidin,
N-[(1S, 5S)cis-3-ethyl-1,5,5-trimethylcyklohexyl]pyrrolidin nebo piperidin,
N-(1,5,5-trimethyl-trans-3-ethylcyklohexyl)pyrrolidin nebo piperidin,
N-[(1R, 5S)trans-3-ethyl-1,5,5-trimethylcyklohexyl]pyrrolidin nebo piperidin,
N-(1-ethyl-3,3,5,5-tetramethylcyklohexyl)pyrrolidin nebo piperidin,
N-(1-propyl-3,3,5,5-tetramethylcyklohexyl)pyrrolidin nebo piperidin,
a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

R^1 až R^7 mohou být například methyl, ethyl, propyl nebo kombinace těchto nižších alkylových skupin, a jak je výše uvedeno, minimálně R^1 , R^4 a R^5 jsou výhodně jednou z těchto skupin, a navíc nejvýhodnější sloučeniny mají jako R^1 až R^5 methyl.

Alternativní postup

Stejně sloučeniny se mohou připravit reakcí odpovídajícího 1-nesubstituovaného amino-alkylcyklohexanu a vybrané alfa,omega-dihaloalkylové sloučeniny, např. 1,3-dibrompropanu, 1,4-dibrombutanu nebo 1,5-dibrompentanu, podle následujících reprezentativních příkladů:

N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin hydrochlorid

1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexylamin hydrochlorid (12 g, 58,3 mmol), uhličitán draselný (48,4 g, 350 mmol) a 1,4-dibrombutan (7,32 ml, 61,3 mmol) se zahřívaly pod zpětným chladičem v acetonitrilu (250 ml) 60 h.

Po ochlazení na teplotu místnosti se směs filtrovala a sraženina se promyla diethyletherem (600 ml). Filtrát se zkoncentroval ve vakuu rotačním odpařením a zbytek se destiloval frakční destilací za sníženého tlaku (11 mm/Hg).

Frakce při 129 °C se shromáždila a získal se bezbarvý olej (8,95 g). Ten se rozpustil v diethyletheru (120 ml) a přidal se roztok 2,7M HCl v diethyletheru (30 ml). Vzniklá sraženina se odfiltrovala, promyla diethyletherem (3x30 ml) a vysušila ve vakuu pomocí NaOH a získal se hydrát N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidin hydrochloridu (12,9 g, 68 %) s t.t. 158 °C.

PMR spektrum: (DMSO-d₆, TMS) D: 0,97 (6H, s, 3,5-CH₃); 1,11 (6H, s, 3,5-CH₃);
0,8 – 1,4 (2H, cyklohexan 4-CH₂); 1,41 (3H, s, 1-CH₃); 1,69 (4H, m,
cyklohexan 2,6-CH₂); 1,84 (4H, m, pyrrolidin 3,4-CH₂); 3,20 (4H, m,
pyrrolidin 2,5-CH₂); 10,9 ppm (1H, br s, NH⁺).

Elementární analýza: C₁₅H₂₉N·HCl·H₂O

Stanoveno (%) C 65,0; H 11,7; N 5,0

Vypočteno (%) C 64,8; H 11,6; N 5,0

Farmakologické výsledky

A. Následující Tabulky 1 a 2 představují farmakologické výsledky u sloučeniny
MRZ 2/705 podle tohoto vynálezu. Tabulka ukazuje následující:

Tabulka 1

MRZ 2/	MES ED ₅₀ mg/kg i.p.		TI Trakt	TI Rot.	Min. I.ct-hality mg/kg i.p.
705	9,55	(4,3 – 21,1)	3,9	5,4	> 50

Tabulka 1

Účinek MRZ 2/705 na křeče vyvolané maximálním elektrošokem (MES). Hodnoty ED₅₀ jsou v mg/kg (95% intervaly spolehlivosti jsou ukázány v závorkách). Terapeutický index (TI) byl tedy vypočten jako ED₅₀ pro inhibici poruchy kontrakčního reflexu (Trakt) nebo chyby rotarod testu (Rot.) děleno ED₅₀ pro pomoci MES a následným záchvatem vyvolané křeče.

Tabulka 2

MRZ	MK-801 Ki (μM)	SEM	Propojovací svorka IC ₅₀ (μM)	SEM	Glut Tox IC ₅₀ (μM)	SEM
705	7,14	1,7	25,40	4,1	12,32	1,19

Tabulka 2

Účinek MRZ 2/705 na vázání [³H]-(+)-MK-801, NMDA indukované proudy v experimentech s propojovací svorkou, a glutamátovou toxicitu v kultivovaných kortikálních neuronech. Vázačí Ki hodnoty jsou míněny jako \pm SEM experimentů 3 až 5 a byly stanoveny podle Cheng-Prusoffovy rovnice, kde Kd pro MK-801 je 4,6 nM.

IC₅₀ (\pm SEM) v experimentech s propojovací svorkou a s glutamátovou toxicitou byly stanoveny z údajů minimálně tří koncentrací, vyvolávajících 15 až 85% inhibici a při koncentraci minimálně 5 buněk/jamku.

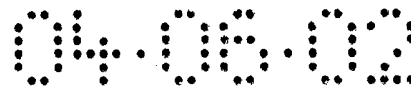
B. Antikonvulzivní účinnost MRZ 2/705 v modelu „vznícení“ v mandlích

Úvod

Látka MRZ 2/705 byla testována v modelu „vznícení“ v mandlích krys. V tomto modelu byla trvale implantovaná zvířata se stimulačními a zaznamenávacími elektrodami v mandlích popsána jako více vnímavá k záchvatům vyvolaným opakovanou počáteční subkonvulzivní elektrickou stimulací (Goddard a kol., 1969, Sato a kol., 1990).

Jakmile se vyvinula zvýšená citlivost, vyznačující se celkovými motorickými záchvaty, říká se, že zvíře se zcela vznítí .

Pro postupy kontroly látek stanovujeme individuální prahovou hodnotu proudu, který indukuje následné výboje na místě stimulace.



Materiály a způsoby

Zvířata

Samičky krys Wistar se nakoupili s tělesnou hmotností 200 – 220 g (Harlan Windelmann Versuchstierzucht, Borchon, Německo) a pak se chovaly za kontrolovaných vnějších podmínek (24 – 25 °C, 50 – 60% vlhkost, 12h cyklus světlo/tma) s volným přístupem ke standardní laboratorní potravě (standardní dieta Altromin 1324) a vodě z vodovodu.

Všechny experimenty byly provedeny ve stejný denní čas ráno pro minimalizování možných účinků střídání dne. Během období experimentů měla zvířata tělesnou hmotnost mezi 265 a 414 g. Tato zvířata byla nejdříve „vznícena“ a použita k testování jiných sloučenin. Období mezi předchozími a stávajícími studii bylo dostatečně dlouhé (minimálně jeden měsíc) tak, aby byl dostatek času pro celkové vyplavení dříve testovaného léčiva.

Implantace elektrod

Pro implantaci „vzněcujících“ elektrod, byly krysy anestetizovány chloralhydrátem (360 mg/kg, i.p.), byl odkryt povrch lebky a bipolární elektroda byla implantována do pravé hemisféry, zaměřena na bazolaterální mandle za použití následujících stereotaxických souřadnic podle atlasu Paxinos a Watson (1986): 2,2 mm kaudální, 4,8 mm laterální, 8,5 mm ventrální (všechny se vztahují ke kraniometrickému bodu).

Elektrody se skládají ze dvou stočených teflonem pokrytých nerezových drátů (průměr 250 μm) na špičce oddělených 0,5 mm. Šroub, který slouží jako uzemňovací elektroda, byl umístěn na levý lebeční kortex. Bipolární a uzemňovací elektrody byly napojeny do zástrčky a montáž elektrod a kotevní šroub byly přidrženy na místě dentálním karylovým cementem naneseným na odhalený povrch lebky. Po chirurgickém zákroku byly krysy 1 týden ošetřovány antibiotiky pro prevenci infekce.

Postup „vznícení“ a experimenty na zcela vznícených zvířatech

Po pooperačním zotavovacím období dvou týdnů, byly jedenkrát denně (pětkrát

za týden) do mandlí dodávány konstantní stimulace proudem (500 μ A, 1 msec, jednofázové obdélníkové vlnové pulzy, 50 Hz za 1 s), dokud nebylo vyvoláno minimálně deset po sobě jdoucích zcela vzněcujících záchvatů 5. stupně.

Vážnost záchvatu byla bodována podle Racine (1972):

- 1 – nehybnost, zavírání očí, šubání uší, cukání fousů, čichání, faciální šubavá křeč;
- 2 – kývání hlavy spojené s prudší faciální šubavou křečí;
- 3 – šubavá křeč předních končetin;
- 3,5 – oboustranná šubavá křeč bez vzpínání;
- 4 – oboustranná šubavá křeč doprovázená vzpínáním;
- 4,5 – celkové trhavé záchvaty bez vzpínání a kácení se (např. následkem bezprostřední ztráty rovnováhy);
- 5 – vzpínání se a kácení se spojené celkovými trhavými záchvaty.

U těchto zcela vznícených krys byla prahová hodnota následného výboje (ADT) stanovena poskytováním sérií stimulací v 1min intervalech, s postupným zvyšováním předtím aplikovaného proudu asi o 20 %.

Prahová hodnota následného výboje byla definována jako nejnižší intenzita proudu, vyvolávající následný výboj s délkou minimálně 5 s. Stanovení prahové hodnoty následného výboje bylo opakováno dvakrát, aby se prokázala opakovatelnost, dříve než byla zvířata použita pro testování antikonvulzivních léčiv.

Ve všech experimentech byly zaznamenány délka záchvatu a délka následného výboje vedle závažnosti záchvatu a prahové hodnoty následného výboje.

Délka záchvatu 1 (SD1) byl časový interval končetinových a nebo motorických záchvatů. Tvorba záchvatu končetin, která se někdy vyskytne po ukončení druhotně vyvolaných záchvatů, nebyla zahrnuta v délce záchvatu.

Délka záchvatu 2 (SD2) byl časový interval od stimulace do konce postiktální depresní fáze.

Délka následného výboje 1 (ADD1) byla definována jako fáze vyhocení vysoké amplitudy (frekvence minimálně 1 Hz a dvakrát předstimulační amplituda) v elektroencefalogramu (EEG) BLA elektrody, zahrnující dobu stimulace.

Jestliže první fáze vyhocení byla okamžitě následována vyhocením s rozdílnou amplitudou, čas od stimulace do konce vysokého a nízkého amplitudového vyhocení byl brán jako délka následného výboje 2 (ADD2). Druhotné následné výboje, které se někdy vyskytují po období klidné EEG, byly ve všech protokolech označovány jako X.

Experimenty s léčivem

Látka MRZ 2/705 byla rozpuštěna v destilované vodě a podána i.p. Aplikovaným množstvím byly 3 ml/ kg tělesné hmotnosti. Dávky používané v experimentech byly 5, 10 a 20 mg/kg.

Zvířata se ponechala, aby se adaptovala na laboratorní prostředí, pak byla změřena tělesná teplota a zvířata byla umístěna do otevřených klecí pro stálé pozorování. 15 a 30 minut po podání léčiva nebo nosiče byly stanoveny změny chování a tělesná teplota.

Během pozorování v otevřených klecích a v otevřeném prostoru byly obodovány nežádoucí účinky. Navíc byly krysy podrobeny rotarod testu (polypropylenová pěnou pokrytá tyč, o průměru 5 cm, 8 otáček/min). Předpokládalo se, že zvířata neuspěla v testu, když spadla z tyče v každém ze tří za sebou jdoucích 1minutových pokusů.

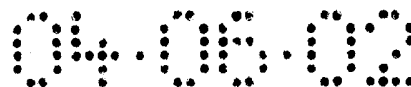
Vedlejší účinky byly obodovány tímto způsobem:

Ataxie: 0 = nepřítomná,

- 1 = mírná ataxie v zadních končetinách,
- 2 = výraznější ataxie s vlečením zadních končetin,
- 3 = další zvětšení ataxie a výraznější vlečení zadních končetin,
- 4 = výrazná ataxie a ztráta rovnováhy během pohybu vpřed,
- 5 = velmi výrazná ataxie s častou ztrátou rovnováhy a
- 6 = trvalá ztráta patřičného reflexu;

Uklidnění: 0 = nepřítomné,

- 1 = mírně zeslabený pohyb vpřed,
- 2 = zmírněný pohyb s obdobími klidu mezi obdobími pohybu,
- 3 = zmírněný pohyb s častějšími obdobími klidu,
- 4 = žádný pohyb vpřed a zvíře sedí klidně se zavřenýma očima;



Další nežádoucí účinky: 0 = nepřítomné,

1 = neprůkazné,

2 = přítomné,

3 = intenzivní

Statistická významnost údajů o záchvatu byla vypočtena Wilcoxonovým testem založeném na rozdílu pořadí pro párová opakování.

Výsledky

Látka MRZ 2/705 ukázala na dávce závislý antikonvulzivní účinek v mandlích vznícených krys.

U rozdílného dávkování jsme zjistili průměrné zvýšení prahové hodnoty následného výboje o 36 % (5 mg/kg), o 50 % (10 mg/kg) a o 95 % (20 mg/kg) nad kontrolní prahovou hodnotu.

Toto zvýšení se ukazuje jako významné u následujících dávkování 10 a 20 mg/kg (Obr. 3).

Kromě zvýšení prahové hodnoty následného výboje nejvyšší testované dávkování (20 mg/kg) významným způsobem zmírnilo závažnost záchvatu, délku motorických záchvatů a délku následného výboje. S nižšími dávkami zůstaly tyto parametry záchvatu nezměněny nebo byly jen mírně ovlivněny.

U všech třech dávek jsme zjistili vedlejší známky zklidnění. Mírná ataxie byla pozorována u následujících dávkování 10 a 20 mg/kg, ale nebyl pozorován žádný neúspěch při překonání rotarod testu.

Závěry

V tomto výzkumu látka MRZ 2/705 silně zvýšila prahovou hodnotu následného výboje u zcela vznícených krys. Mimo to s vyššími dávkami testovaná látka významně zkracuje délku záchvatu, délku následného výboje a závažnost záchvatu, zaznamenané



při ADT proudu. Tyto výsledky ukazují na skutečnost, že MRZ 2/705 má silný antikonvulzivní účinek s inhibicí začátku záchvatu i rozvinutí záchvatu.

Vzhledem k předvídatelnosti modelu vznícení pro účinnost léčiva proti komplexním-částečným záchvatům u lidí (SATO a kol., 1990; Löscher a Schmidt, 1994), naše údaje předpovídají antikonvulzivní působení MRZ 2/705 na epilepsii spánkového laloku.

Kromě toho látka nezpůsobila vážné nepříznivé následky v chování při testovaných dávkách a tudíž má příznivý profil vzhledem k vedlejším účinkům.

Obrázek 3 shrnuje data vznícení rozdílných dávek testované látky MRZ 2/705. Údaje jsou průměrnými hodnotami \pm SEM. Jednotlivé grafy poskytují výsledky u prahové hodnoty následného výboje (ADT), vážnosti záchvatu (SS), délky záchvatu (SD) a délky následného výboje (ADD).

Popis obrázků na výkresech:

Obr. 1A a obr. 1B ukazují hodnoty získané z účinků z Tabulky 1 a 2 použitím MRZ 2/705.

Obr. 2 ukazuje hodnoty získané pro různé blízce příbuzné ale necyklické aminosloučeniny a MRZ 2/705 i referenční standardy ve specifickém [^3H]-MK-801 vázacím testu, zakreslené proti koncentraci.

Obr. 3 shrnuje data vznícení různých dávek testované látky MRZ 2/705.

Sloučeniny podle vynálezu tak nalézají uplatnění při léčení poruch těla živočichů, zvláště lidí, v NMDA a ne-NMDA indikacích, navíc k jejich výjimečnému antikonvulzivnímu a protizáchvatovému působení, jak je zvláště ukázáno v modelu vznícení.

Způsob léčení těla živočichů sloučeninou podle vynálezu pro zmírnění dříve označených potíží, zvláště křečí nebo záchvatů, je uskutečnitelný jakoukoliv normálně akceptovanou farmaceutickou cestou, používající vybrané dávkování, které je účinné pro zmírnění jednotlivých obtíží, které vyžadují zmírnění.



Použití sloučenin podle vynálezu pro výrobu léčiva nebo léčení živočichů pro zmírnění vybraných obtíží, zvláště křečí a záchvatů, je uskutečněno obvyklým způsobem zahrnujícím krok smíchání účinného množství sloučeniny podle vynálezu s farmaceuticky přijatelným ředidlem, pomocnou látkou nebo nosičem, a způsob léčení, farmaceutické prostředky a použití sloučeniny podle tohoto vynálezu pro výrobu léčiva jsou všechny ve shodě se zveřejněním naší dřívější přihlášky WO 99/01416 pro příbuzné 1-necyklické aminosloučeniny a reprezentativní kyselé adiční soli a jejich způsoby přípravy jsou rovněž uveřejněny v naší dříve zveřejněné přihlášce pro odpovídající 1-necyklické amino-alkylcyklohexanové sloučeniny.

Charakteristické farmaceutické prostředky připravené smísením účinné látky s vhodnou farmaceuticky přijatelnou pomocnou látkou, ředidlem nebo nosičem, zahrnují tablety, kapsle, roztoky pro injekce, tekuté orální přípravky, aerosolové přípravky, transdermální přípravky a nanočásticové přípravky, tedy k přípravě léčiv pro orální, injekční nebo dermální použití, také ve shodě s příklady farmaceutických prostředků uvedených v naší zveřejněné přihlášce WO 99/01416 pro odpovídající 1-necyklické amino-alkylcyklohexany.

Typický farmaceutický prostředek je tedy vyrobený smísením následujících složek do tabletového přípravku zahrnutím 1-cyklické amino-cyklohexanové účinné složky podle vynálezu.

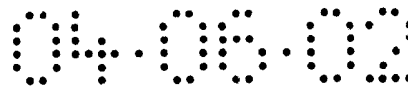
Tabletový přípravek

Vhodná směs pro tabletu obsahující 10 miligramů účinné složky je následující:



	mg
účinná složka	10
laktóza	63
mikrokrytalická celulóza	21
talek	4
stearát hořečnatý	1
koloidní oxid křemičitý	1

Rozumí se, že vynález není omezen na přesné detaily postupu, nebo na určité prostředky, způsoby, postupy nebo ztělesnění ukázaná a popsaná, jako zřejmé modifikace a ekvivalenty budou zjevné odborníkovi v oboru, a vynález je proto omezen jen na celý rozsah, který se může zákonitě shodovat s připojenými patentovými nároky.



Odkazy

Goddard, G.V., D.C. McIntyre a C.K. Leech, 1969, "A permanent change in brain function resulting from daily stimulation", *Exp. Neurol.* 25: 295-330.

Löscher, W. a D. Schmidt, 1994, "Strategies in antiepileptic drug development: Is rational drug design superior to random screening and structural variation?", *Epilepsy Res.* 17: 95-134.

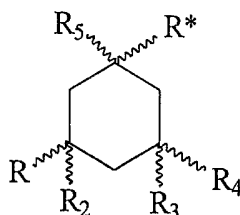
Racine, R.J., 1972, "Modification of seizure activity by electrical stimulation", II. Motor seizure Electroencephalograph. *Clin. Neurophys.* 32: 295-299.

Sato, M., R.J. Racine a D.C. McIntyre, 1990, "Kindling: Basic mechanisms and clinical validity", *Electroencephalograph. Clin. Neurophys.* 76: 459-472.

Viz také: Ebert a Löscher, "Pathophysiology of the Kindling phenomenon: Implications for the development of new antiepileptic drugs", *Neuroforum* 3/99, str. 76.

Patentové nároky

1. 1-cyklická amino-alkylcyklohexanová sloučenina vybraná ze skupiny sestávající ze sloučenin vzorce



ve kterém R^* je $-(CH_2)_n-(CR^6R^7)_m-NR^8R^9$

ve kterém $n+m = 0, 1$ nebo 2

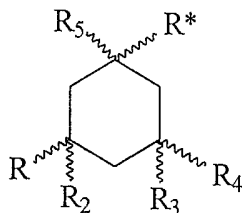
ve kterém R^1 až R^7 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z vodíku a (C_{1-6}) nižšího alkylu, minimálně R^1, R^4 a R^5 jsou nižší alkyl,

a ve kterém R^8 a R^9 spolu představují nižší alkylen $-(CH_2)_x-$, kde x je 2 až 5 , včetně,

a jejich enantiomerů, optických izomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí.

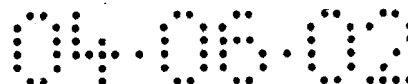
2. Sloučenina podle nároku 1, ve které R^1 až R^5 jsou methyl.
3. Sloučenina podle nároku 1, ve které x je 4 nebo 5 .
4. Sloučenina podle nároku 2, ve které x je 4 nebo 5 .
5. Sloučenina podle nároku 1, kde sloučenina je vybrána ze skupiny sestávající ze N -(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidinu a jeho optických izomerů, enantiomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí.

6. Farmaceutický prostředek obsahující účinné množství sloučeniny podle nároku 1 v kombinaci s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými ředidly, pomocnými látkami nebo nosiči.
7. Farmaceutický prostředek podle nároku 6, kde účinné množství je účinné antikonvulzivní množství.
8. Farmaceutický prostředek podle nároku 6, kde R^1 až R^5 jsou methyl.
9. Farmaceutický prostředek podle nároku 6, kde x je 4 nebo 5.
10. Farmaceutický prostředek podle nároku 8, kde x je 4 nebo 5.
11. Farmaceutický prostředek podle nároku 6, kde sloučenina je vybrána ze skupiny sestávající ze N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidinu a jeho optických izomerů, enantiomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí.
12. Způsob léčení křečí nebo záchvatů u živočichů zahrnující krok podávání uvedeným živočichům množství 1-cyklické amino-alkylcyklohexanové sloučeniny vybrané ze skupiny sestávající ze sloučenin vzorce

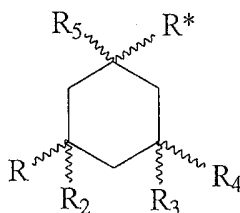


ve kterém R^* je $-(CH_2)_n-(CR^6R^7)_m-NR^8R^9$

ve kterém $n+m = 0, 1$ nebo 2



- ve kterém R^1 až R^7 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z vodíku a (C_{1-6}) nižšího alkylu,
ve kterém R^8 a R^9 spolu představují nižší alkylen $-(CH_2)_x-$, kde x je 2 až 5, včetně,
a jejich enantiomerů, optických izomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí, která je účinná pro tento účel.
13. Způsob podle nároku 12, kde minimálně R^1 , R^4 a R^5 jsou nižší alkyl.
14. Způsob podle nároku 13, kde R^1 až R^5 jsou methyl.
15. Způsob podle nároku 12, kde x je 4 nebo 5.
16. Způsob podle nároku 14, kde x je 4 nebo 5.
17. Způsob podle nároku 12, kde sloučenina je vybrána ze skupiny sestávající z N-(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidinu a jeho optických izomerů, enantiomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí.
18. Způsob podle nároku 17, kde sloučenina se podává ve formě farmaceutického prostředku zahrnujícího sloučeninu v kombinaci s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými ředidly, pomocnými látkami nebo nosiči.
19. Použití 1-cyklického amino-alkylcyklohexanu vybraného ze skupiny sestávající ze sloučenin vzorce



ve kterém R^* je $-(CH_2)_n-(CR^6R^7)_m-NR^8R^9$

ve kterém $n+m = 0, 1$ nebo 2

ve kterém R^1 až R^7 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z vodíku a (C_{1-6}) nižšího alkylu,

ve kterém R^8 a R^9 spolu představují nižší alkylen $-(CH_2)_x-$, kde x je 2 až 5 , včetně,

a jejich optických izomerů, enantiomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí, k výrobě léčiva k léčení živočicha pro zmírnění křečí nebo záchvatů.

20. Použití podle nároku 19, kde minimálně R^1 , R^4 a R^5 jsou nižší alkyl.

21. Použití podle nároku 20, kde R^1 až R^5 jsou methyl.

22. Použití podle nároku 19, kde x je 4 nebo 5 .

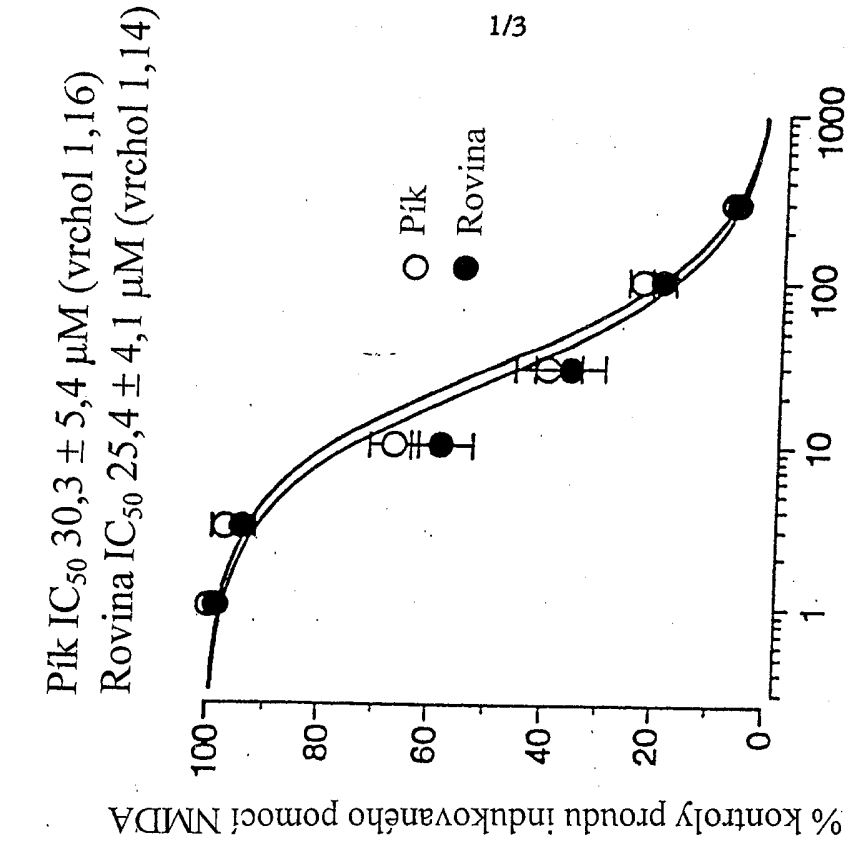
23. Použití podle nároku 20, kde x je 4 nebo 5 .

24. Použití podle nároku 19, kde sloučenina je vybrána ze skupiny sestávající z N -(1,3,3,5,5-pentamethylcyklohexyl)pyrrolidinu a jeho optických izomerů, enantiomerů, hydrátů a farmaceuticky přijatelných solí.

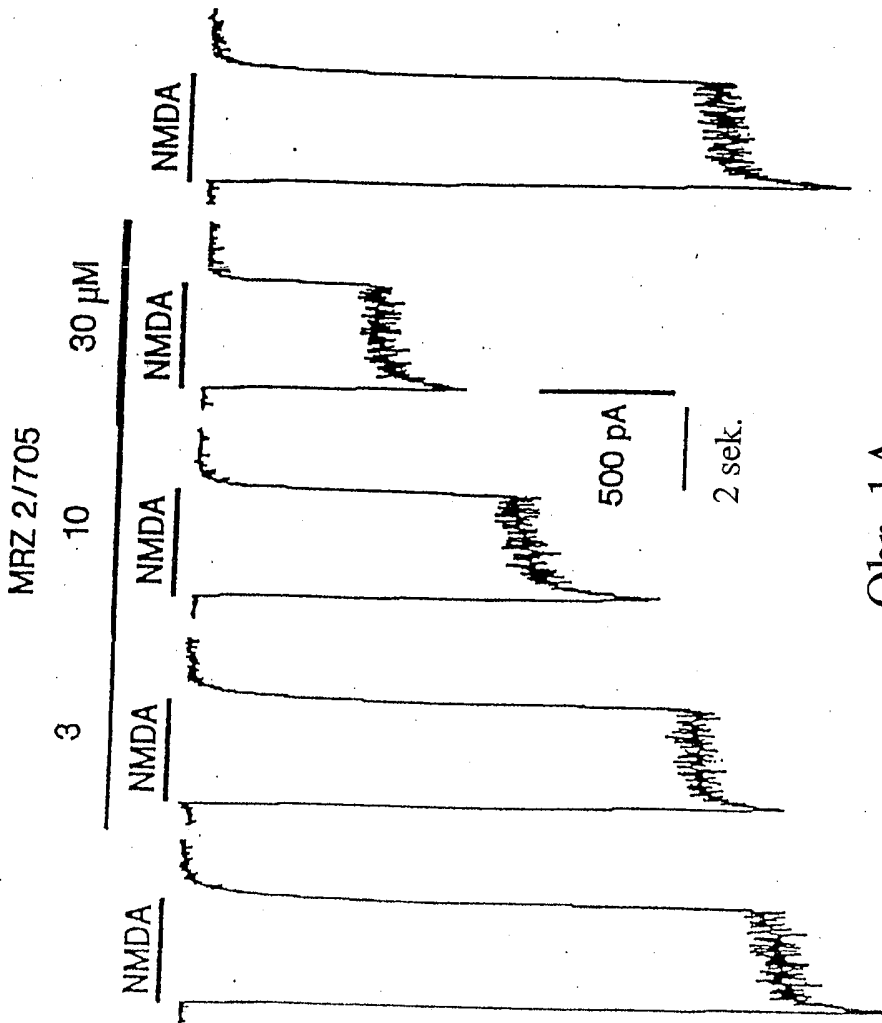
25. Způsob přípravy sloučeniny podle nároku 1, který zahrnuje krok reagování odpovídajícího 1-nesubstituovaného amino-alkylcyklohexanu s (1) omega-haloalkylnitridem a cyklizace výsledné N -(omega-kyanoalkyl) sloučeniny na odpovídající 1-cyklickou amino-alkylcyklohexanovou sloučeninu nebo (2) s alfa, omega-dihaloalkylovou sloučeninou.

04.08.02

2002-1533



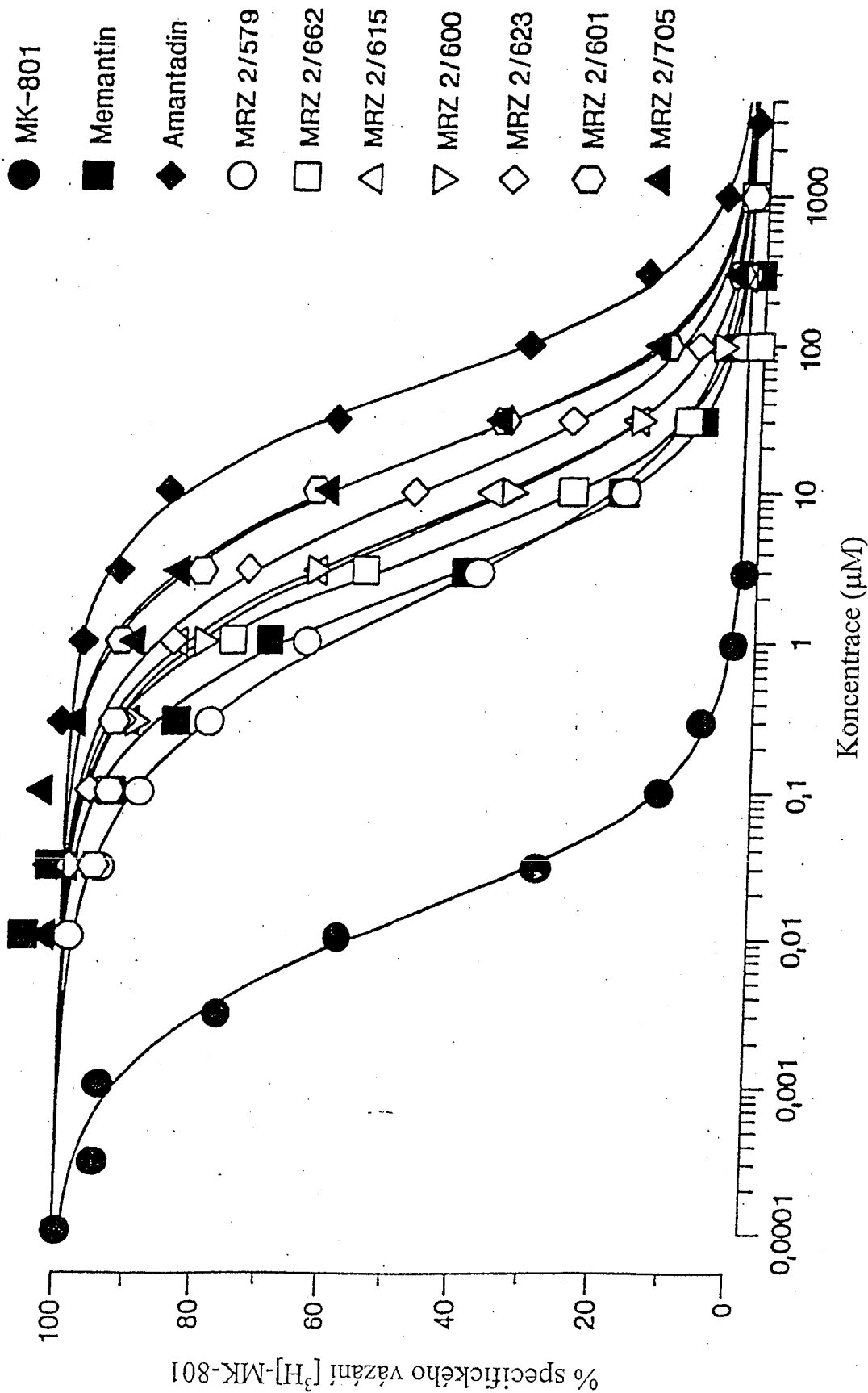
Obr. 1B



04.08.02

2002 - 1533

2/3



Obr. 2

Obř. 3

