

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 243066 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **434002**

(22) Data zgłoszenia: **2020.05.20**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2021.11.22 BUP 34/2021**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.06.12 WUP 24/2023**

(51) MKP:

C07D 403/14 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, Kraków, PL

(72) Twórca(-y) wynalazku:

AGNIESZKA ZAGÓRSKA, Kraków, PL

ADAM BUCKI, Przebieczany, PL

ANNA PARTYKA, Kraków, PL

(74) Pełnomocnik:

Krzysztof Żygadło, Wrocław, PL

(54) Tytuł:

Pochodne chinazoliny o aktywności psychotropowej i prokognitywnej

PL 243066 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są pochodne chinazoliny, o aktywności psychotropowej i prokognitywnej, tj. wykazujące powinowactwo do wybranych receptorów serotoninowych (5-HT_{1A} i 5-HT₇) oraz zdolność do hamowania fosfodiesterazy typu 10 (PDE10A).

W ostatnich dekadach obserwuje się wydłużenie czasu życia i szybkie starzenie się populacji na całym świecie. Dotyczy to również populacji osób chorujących przewlekle na schizofrenię, u których udało się osiągnąć stan remisji. Pomimo znacznych postępów w farmakoterapii, u części pacjentów stwierdza się występowanie przetrwałych objawów, czyli stanu, w którym po opanowaniu epizodu psychotycznego nadal w stopniu umiarkowanym występują objawy pozytywne (urojenia, omamy), negatywne, zaburzenia poznawcze lub afektywne. Wykazano, że przetrwałe objawy schizofrenii występują częściej u osób starszych, u których zmiany w mózgu związane z wiekiem mogą prowadzić do wystąpienia łagodnych zaburzeń poznawczych (*mild cognitive impairment* – MCI). Istotą MCI jest pogorszenie sprawności procesów poznawczych bez towarzyszącego otępienia. Dotyczy to głównie zmian w czynnościach takich jak uwaga, spostrzeganie, pamięć, myślenie i mowa. W przebiegu MCI może dochodzić do zaburzeń podzielności i trwałości uwagi oraz zaburzeń spostrzegania zwłaszcza w rozpoznawaniu twarzy i przedmiotów. Dodatkowo czynności poznawcze związane z pamięcią, kojarzeniem, wnioskowaniem i rozumieniem mogą ulec pogorszeniu. Szybkie i skokowe pogorszenie się procesów poznawczych może prowadzić do otępienia. Dla wczesnego stadium otępienia lub umiarkowanych zespołów otępiennych bardzo charakterystycznym objawem są zaburzenia nastroju (drażliwość, labilność emocjonalna, dysforia) prowadzące do depresji.

Jednym z najistotniejszych farmakologicznie punktów uchwytu działania leków są transmembranowe receptory, sprzężone z białkiem G (ang. G protein-coupled receptors, GPCR). Po przyłączeniu cząsteczki liganda do miejsca wiążącego receptora, dochodzi do interakcji z heterotrimerycznymi białkami regulatorowymi wiążącymi GTP (białko G). Aktywacja jednej z podjednostek tego białka (G_α) prowadzi do aktywacji enzymów syntetyzujących wtórne przekaźniki (ang. *second messengers*). Do grupy podstawowych wtórnych przekaźników zaliczamy cykliczny adenozyno-3',5'-monofosforan (cAMP) i guanozyno-3',5'-monofosforan (cGMP). Lokalizacja, czas działania i stężenia cyklicznych nukleotydów w określonych obszarach subkomórkowych, decydują o dalszym przeniesieniu sygnału chemicznego, regulują jego siłę i specyficzność. Wszystkie zmiany tych parametrów, poprzez sprzężenie zwrotne, mogą przyczynić się do zmian w funkcjonowaniu receptorów. Regulacja poziomu cyklicznych nukleotydów była przedmiotem badań dotyczących wyjaśnienia znaczenia fosfodiesteraz (PDE) – enzymów degradujących cAMP i/lub cGMP poprzez hydrolizę wiązania 3',5'-fosfodiesterowego. PDE tworzą rodzinę białek składającą się z 11 podrodzin, scharakteryzowanych na podstawie sekwencji aminokwasowej, specyficzności substratowej, właściwości farmakologicznych oraz regulacji allosterycznej. Jedną z izoform – PDE10A, występuje w rejonach ośrodkowego układu nerwowego (OUN), kojarzonych z miejscem działania leków psychotropowych.

Serotonina (5-hydroksytryptamina, 5-HT) należy do grupy amin biogennych, wykazuje działanie obwodowe oraz ośrodkowe. Układ serotoninowy jest zaangażowany w regulację m.in. procesów poznawczych i nastroju. Różnorodność działań i efektów, jakie może wywołać 5-HT w organizmie człowieka, jest spowodowana występowaniem siedmiu typów receptorów serotoninowych (5-HT₁₋₇). Receptory serotoninowe 5-HT_{1A} zlokalizowane są w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) głównie w: układzie limbicznym (hipokamp, przegroda boczna), obszarach korowych (kora zakrętu obręczy i kora śródwęczowa), jądrach szwu, jądrach podstawnych i mózdzku. Pobudzenie presynaptycznych receptorów 5-HT_{1A} (autoreceptorów) prowadzi do zahamowania sekrecji endogennej serotoniny do przestrzeni synaptycznej przez sprzężenie zwrotne ujemne, w wyniku czego dochodzi do osłabienia przekaźnictwa w neuronach serotonergicznych. Pobudzenie postsynaptycznych receptorów 5-HT_{1A} (heteroreceptor) powoduje zwiększenie przekaźnictwa w neuronach serotonergicznych, co działa hamująco na inne neurony znajdujące się w różnych obszarach mózgu. Wykazano rolę receptorów 5-HT_{1A} w zaburzeniach takich jak: stany lękowe, depresja, schizofrenia, choroba Parkinsona czy choroba Alzheimera. Wiele z dostępnych leków wykazuje powinowactwo m. in. do receptorów 5-HT_{1A}. Większość stanowią agoniści i częściowi agoniści receptorów 5-HT_{1A}, np. buspiron, aripiprazol, klozapina, dihydroergotamina, gepiron, haloperidol czy olanzapina. Związki będące antagonistami tych receptorów tworzą mniejszą grupę, należą do nich m.in.

risperidon, pindolol, propranolol. Związkiem wykorzystywanym w badaniach nad profilem funkcjonalnym potencjalnych ligandów receptorów 5-HT_{1A} jest LY-293284, agonista receptorów 5-HT_{1A} (K_i = 0,07 nM), będący pochodną ergoliny. Do antagonistów receptorów serotoninowych 5-HT_{1A} wykorzystywanych jako narzędzia farmakologiczne należą związki z grupy pochodnych fenylopipezyny: NAN-190, WAY-100135, WAY-100635.

Największe skupiska receptorów 5-HT₇ w OUN znaleziono w komórkach wzgórza, hipokampa, podwzgórza oraz kory mózgowej. Receptory znajdujące się w podwzgórzu odpowiadają za regulację rytmu okołodobowego, termoregulację oraz regulację wydzielania dokrewnego. Receptory zlokalizowane we wzgórzu oraz w korze mózgowej odgrywają istotną rolę w regulacji snu oraz nastroju. Lokalizacja w komórkach hipokampa wskazuje na zaangażowanie tych receptorów w procesy uczenia się oraz pamięci. Fizjologicznie receptory 5-HT₇ biorą udział w procesach: regulacji rytmu okołodobowego, fazy snu, wydzielania wewnętrznego oraz w przewodzeniu bólu. Wysokie powinowactwo do receptora 5-HT₇ niektórych leków przeciwpsychotycznych (risperidon, klozapina) oraz specyficzne rozmieszczenie tych receptorów w OUN, sugerują, że może on mieć znaczenie w powstawaniu schorzeń afektywnych. Działanie bezpośrednie leków przeciwdepresyjnych na receptory 5-HT₇ oraz odwrócenie zaburzeń snu występujących u pacjentów cierpiących na depresję sugerują, że antagoniści tego receptora mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu tej choroby. Związki wykazujące antagonistyczną aktywność wewnętrzną wobec receptora 5-HT₇ można podzielić z farmakologicznego punktu widzenia, na związki selektywnie i nieselektywnie blokujące omawiany receptor. Związki te należą do różnych grup chemicznych, spośród których można wyróżnić pochodne długołańcuchowych arylopipezyn i arylopiperydyn (ziprasidon, risperidon, pimozyd) oraz arylosulfonamidowe ligandy receptora 5-HT₇. Należy podkreślić, że atypowe neuroleptyki (risperidon, klozapina, olanzapina, kwetiapina, ziprasidon, aripiprazol) nie redukują upośledzonych funkcji poznawczych towarzyszących schizofrenii. Leki te działają przez antagonizm wobec receptora D₂, co wywołuje w następstwie odhamowanie aktywności cykazy adenylanowej. W neuronach prądkowia, zahamowanie receptora D₂, powoduje zwiększenie poziomu cAMP i cGMP, co odpowiada neurochemicznym efektom inhibicji PDE10A. Dodatkowo, stwierdzono obecność PDE10A w korze przedczołowej, gdzie upośledzenie transmisji cAMP jest odpowiedzialne za osłabienie procesów poznawczych. Jeden z selektywnych inhibitorów

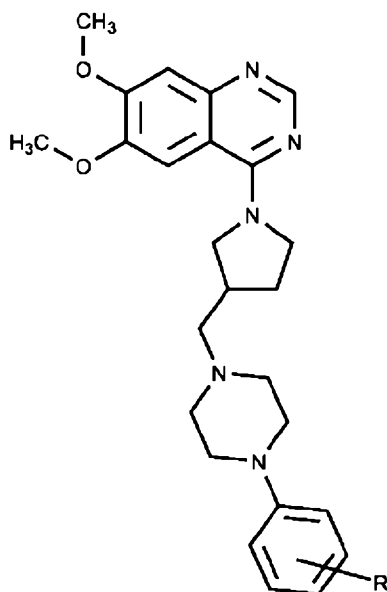
PDE10A – związek PQ-10, badano w teście rozpoznawania nowego obiektu (NORT) u szczurów z deficytem pamięci indukowanym przez podanie skopolaminy lub dizocyliny (MK-801). Związek PQ-10 w dawce 0,3 mg/kg wywoływał odwrócenie objawów indukowanych zarówno przez skopolaminę jak i MK-801. Wydaje się to potwierdzać pogląd, że inhibitory PDE10A mogą być odpowiednimi kandydatami na leki zdolne do poprawy funkcji poznawczych. Ponadto różne warianty PDE10A zostały zidentyfikowane w hipokampie gdzie odgrywają kluczową rolę w komórkowym procesie długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (ang. long-term potentiation, LTP), związanego z uczeniem się i pamięcią.

W międzynarodowym zgłoszeniu patentowym PCT WO03022214A2 opisano pochodne zawierające pierścień piperazyny albo homopiperazyny do zastosowania w leczeniu zakrzepicy. W kolejnym międzynarodowym zgłoszeniu PCT WO2004010929A2 opisano pochodne chinazoliny do poprawy funkcji płuc poprzez podawanie niepeptydowych małych cząsteczkowych inhibitorów TGF-beta specyficznie wiążących się z receptorem TGF-beta typu I (TGFbeta-R1). Natomiast w międzynarodowym zgłoszeniu patentowym PCT WO2012048775A1 opisano inhibitory aminopeptydazy metioninowej do stosowania w leczeniu nowotworów. W innym międzynarodowym zgłoszeniu PCT WO9422839A1 ujawniono pochodne benzoimidazolu podstawione w pozycji 2 ugrupowaniem piperazynylometylovym lub piperazyniloetylovym, będące antagonistami podtypów receptora dopaminowego w mózgu, wykazując selektywne powinowactwo do podtypu receptora dopaminergicznego D4 w stosunku do innych podtypów receptora dopaminowego, które są skuteczne w leczeniu i/lub zapobieganiu zaburzeniom psychicznym, takim jak schizofrenia, przy jednoczesnym przejawianiu nieznacznych mniejszych skutków ubocznych. W publikacji przeglądowej *Phosphodiesterase 10 Inhibitors – Novel Perspectives for Psychiatric and Neurodegenerative Drug Discovery* (Current Medicinal Chemistry, 2018, 25, 3455–3481) przedstawiono liczne związki, będące inhibitorami PDE10, zaczynając od pochodnych typu analogów teofiliny i kofeiny, papaweryny i dimetoksykatecholu, TP-10, MP-10 poprzez pochodne o złożonej budowie, opartych o farmakofory MP-10 /papaweryny/ chinazoliny, a kończąc na najnowszych inhibitorach uzyskanych metodą fragment-based lead discovery (FBLD). Ponadto w publikacji zestawiono ostatnie badania hamowania PDE10A jako

obiecującej strategii terapeutycznej w chorobach psychiatrycznych i neurodegeneracyjnych, oparte na aktywności inhibitorów PDE10A w zwierzęcych modelach schizofrenii, Parkinsona, choroby Huntingtona i Alzheimera.

Problemem technicznym stawianym przed wynalazkiem byłoby dostarczenie związków wykazujących powinowactwo do wybranych receptorów serotoninowych (5-HT_{1A} i 5-HT₇) oraz zdolności do hamowania fosfodiesterazy typu 10 (PDE10A), przy czym związki te powinny wykazywać aktywność przeciwpsychotyczną, przeciwdepresyjną i przeciwłkową oraz jednocześnie korzystne działanie prokognitywne.

Przedmiotem wynalazku są pochodne opisane wzorem (I),



(I)

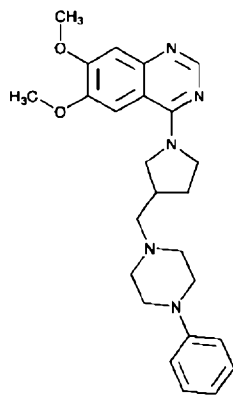
gdzie

– podstawnik R stanowi: grupa alkoksylowa, którą stanowi grupa metoksylowa, jeden atom halogenu albo dwa atomy halogenów wybrane z grupy zawierającej atomy: F, Cl, Br, I; grupa perfluoroalkilowa, którą stanowi grupa trifluorometylowa, jednofunkcyjna grupa zawierająca atom tlenowca, którą stanowi grupa hydroksylowa albo atom wodoru

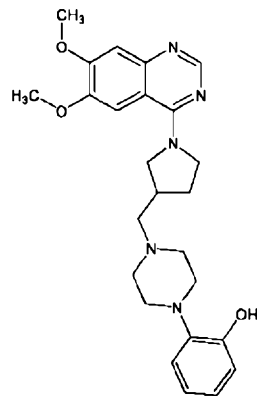
przy czym podstawnik R znajduje się w pozycji 2, 3 i/lub 4

W korzystnej realizacji wynalazku atom lub atomy halogenów stanowi atom chloru albo dwa atomy chloru.

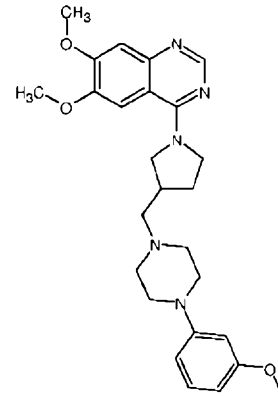
W jeszcze następnej korzystnej realizacji wynalazku pochodne są wybrane ze zbioru zawierającego pochodne opisane wzorami od (II) do (VIII):



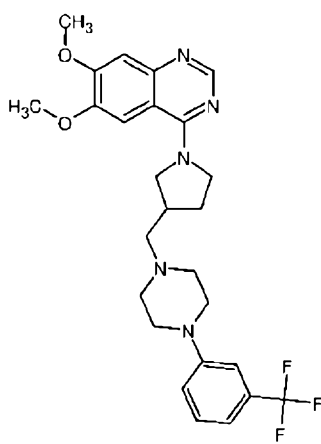
(II)



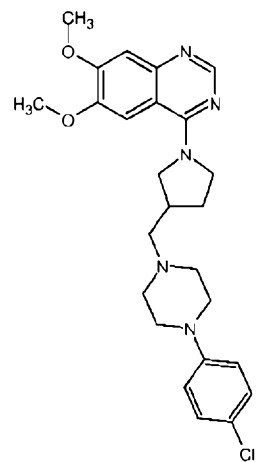
(III)



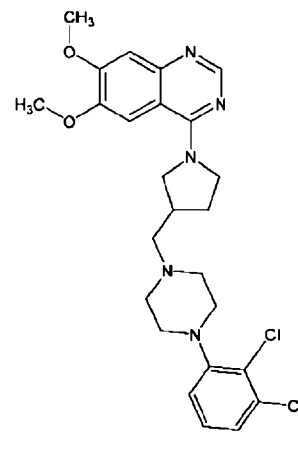
(IV)



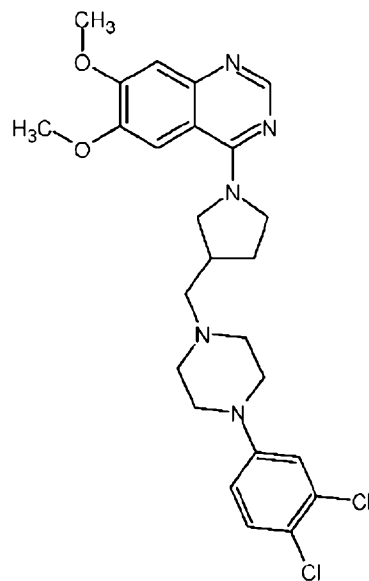
(V)



(VI)

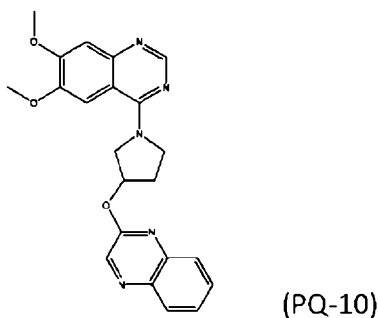


(VII)



(VIII)

Projektowanie struktur, synteza oraz badania farmakologiczne *in vitro* i *in vivo* miały na celu zbadanie właściwości nowych związków w odniesieniu do możliwości wywołania poprawy funkcji poznawczych w modelach zwierzęcych depresji, lęku i schizofrenii. Związki zostały zaprojektowane z wykorzystaniem metod *in silico* w oparciu o modyfikację strukturalną związku PQ-10 – znanego, selektywnego inhibitora PDE10A ($IC_{50} < 6$ nM), poprzez wprowadzenie w odpowiednie położenie PQ-10 (opisanego wzorem jak poniżej) ugrupowania arylopiperazynowego odpowiedzialnego za powinowactwo receptorowe.



Związki wykazywały nanomolowe powinowactwo wobec receptorów 5-HT_{1A}, z czego 4 związki bardzo silnie wiązały się do omawianego receptora (K_i 5-HT_{1A} < 40 nM). Aktywność wobec receptora 5-HT₇ była zmienna, ale większość związków była aktywna K_i 5-HT₇ < 350 nM. Spośród zbadanych związków, 3 wykazywały zdolność do hamowania PDE10 porównywalną do referencyjnego związku – papaweryny. Wszystkie związki są antagonistami receptorów zarówno 5-HT_{1A} jak i 5-HT₇, przy czym wartości IC_{50} związków dla 5-HT_{1A} były mikro- i nanomolowe. Działanie farmakologiczne dla związków PQA-AZ1, PQA-AZ2, PQA-AZ4, PQA-AZ5, PQA-AZ6, PQA-AZ7 i PQA-AZ8 zostało określone w testach behawioralnych.

Badanie aktywności przeciwpsychotycznej związków w zakresie dawek 2,5–10 mg/kg wykonano przy pomocy testu ruchliwości indukowanej podaniem D-amfetaminy. Znamienne statystycznie wpływ związków na indukowaną D-amfetaminą aktywność ruchową myszy zaobserwowano dla związków (II), (VII) i (VIII) w dawce 2,5 mg/kg, (V) oraz (VI) w dawce 5 mg/kg, natomiast (III) i (IV) nie wpływały statystycznie na indukowaną D-amfetaminą aktywność ruchową myszy. Wzorcowy inhibitor PDE10A, związek PQ-10, wykazał aktywność przeciwpsychotyczną w najniższej badanej w teście dawce 2,5 mg/kg. Referencyjny lek przeciwpsychotyczny, kwetiapina, znosił działanie D-amfetaminy w dawce 5 mg/kg. Aktywność przeciwdepresyjną związków zbadano z użyciem testu wymuszonego pływania. Związki (IV) i (VIII) wykazały aktywność przeciwdepresyjną w dawkach 1,25 i 2,5 mg/kg, skracając w sposób statystycznie istotny czas immobilizacji zwierząt w porównaniu z grupą kontrolną. Związki (III) i (VI) wykazały aktywność przeciwdepresyjną w dawkach 0,625 i 1,25 mg/kg, natomiast związek (II) był aktywny w dawce 5 mg/kg. Dla związków (V) i (VII) w badanych zakresach dawek nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic w średnim czasie bezruchu w porównaniu z grupą kontrolną. Wzorcowy inhibitor PDE10A, związek PQ-10, wykazał aktywność przeciwdepresyjną w dawce 2,5 mg/kg, natomiast kwetiapina nie była aktywna w teście wymuszonego pływania. Badanie aktywności przeciwlękowej przeprowadzono w teście 4-płytek. Związki (III), (IV), (VI) i (VIII) nie wpływały na liczbę przejść karanych prądem w teście 4-płytek, a zatem nie wykazały działania przeciwlękowego. Aktywność przeciwlękową zaobserwowano dla (II) i (VII) w dawce 2,5 mg/kg oraz dla (III) i (V) w dawce 1,25 mg/kg. Wzorcowy inhibitor PDE10A, związek PQ-10, wykazał aktywność przeciwlękową w dawkach 1,25 i 2,5 mg/kg znacząco zwiększając liczbę akceptowanych przez myszy impulsów elektrycznych w porównaniu z grupą kontrolną. Kwetiapina nie wykazała aktywności anksjolitycznej w teście 4-płytek. Badanie aktywności prokognitywnej związków przeprowadzono w NORT u szczurów Wistar. Wszystkim zwierzętom, poza grupą kontrolną otrzymującą rozpuszczalnik, 30 min przed pierwszą fazą testu podano substancję narzędziową zaburzającą pamięć – związek MK-801 w dawce 0,1 mg/kg. Kryterium oceny działania prokognitywnego związku było zwiększenie indeksu dyskryminacji w porównaniu z grupą, która otrzymała MK-801. Związek MK-801 w znaczący sposób zmniejszał indeks dyskryminacji w porównaniu z grupą kontrolną otrzymującą rozpuszczalnik, co świadczy o wywołaniu zaburzeń pamięci u szczurów poddanych działaniu MK-801. Związki (II) i (VIII) w dawce 1 mg/kg, (III) i (VI) w dawce 3 mg/kg, oraz (IV) w dawkach 1 i 3 mg/kg, całkowicie odwracały wywołane podaniem MK-801 deficyty pamięci. Referencyjny inhibitor PDE10A, związek PQ10, był aktywny w NORT we wszystkich badanych

dawkach 0,3, 1 i 3 mg/kg, podczas gdy kwetiapina wykazała działanie prokognitywne tylko w dawce 3 mg/kg.

Dla związków (IV) i (VI) obliczono następnie wstępne parametry farmakokinetyczne korzystając z wykresu krzywej zależności stężeń od czasu w osoczu krwi i wybranych strukturach mózgu, po dootrzewnowym podaniu myszom związków w dawkach aktywnych psychotropowo. Wartości parametrów (AUC, $t_{0,5}$, MRT, C_{max} , t_{max} oraz V_d) wskazują, że związki kumulują się w strukturach mózgu (hipokamp, prążkowie, kora czołowa). Badania farmakologiczne zostały poszerzone o skryning w kierunku farmakologii bezpieczeństwa z uwzględnieniem wpływu związków na masę ciała, poziom glukozy, cholesterolu i trójglicerydów. U zwierząt, którym podawano dootrzewnowo związek (IV) w dawce 1.25 mg/kg obserwowano nieznaczny, istotny statystycznie spadek masy ciała począwszy od 11 dnia podawania. U zwierząt, którym podawano dootrzewnowo związek (VI) w dawce 0.625 mg/kg obserwowano nieznaczny, istotny statystycznie spadek masy ciała począwszy od 6 dnia podawania. Procent masy serca w stosunku do masy całego ciała po 15-krotnym, dootrzewnowym podawaniu związku (VI) w dawce 0.625 mg/kg był istotnie niższy niż u zwierząt kontrolnych. W pozostałym tkankach nie było różnic pomiędzy grupami. W grupie myszy, którym podawano dootrzewnowo związek (IV) w dawce 1.25 mg/kg m.c., istotnie statystycznie podniósł się poziom glukozy, a obniżył poziom trójglicerydów. Podobnie, po dootrzewnowym podawaniu związku (VI) w dawce 0.625 mg/kg m.c. znacznie wzrósł poziom glukozy, a poziom trójglicerydów oraz cholesterolu całkowitego obniżył się. Podawanie dootrzewnowe związków (IV) lub (VI) nie prowadziło do istotnych zmian aktywności ALAT lub γ -GTP w osoczu myszy. Zarówno związek (IV), jak i (VI) podawane dootrzewnowo odpowiednio w dawce 1.25 mg/kg m.c./dzień lub 0.625 mg/kg m.c. dzień nie wpływały istotnie statystycznie na aktywność lokomotoryczną po jednokrotnym lub piętnastokrotnym podawaniu.

W celu określenia potencjalnej cytotoksyczności związków (IV) i (VI) zastosowano test MTT. Aktywność cytotoksyczną oszacowano przez określenie stężenia związku, które odpowiada 50% przeżywalności komórek w porównaniu z kontrolą (IC_{50}). Jako związek odniesienia stosowano doksorubicynę, związek o działaniu przeciwnowotworowym. (IV) i (VI) wykazywały mniejszą aktywność wobec rakowej linii komórkowej niż związek odniesienia, jednak ich toksyczność względem/do prawidłowych komórek była znacznie niższa niż doksorubicyny. Badanie to wykazało, że długotrwałe narażenie komórek Ha-CaT na (IV) i (VI) nie powinno powodować nieodwracalnego działania cytotoksycznego ($IC_{50} > 100 \mu M$). Określono również stabilność metaboliczną dla (IV) i (VI) przy zastosowaniu mysiego modelu mikrosomów (*mouse liver microsomes* – MLMs). W warunkach przeprowadzonych eksperymentów związki były stabilne, po 120 min inkubacji obserwowano pojawienie się 1 metabolitu (M1), który strukturalnie przypisano produktowi hydroksylacji pierścienia fenyłowego w układzie arylopiiperazyny.

Związki według wynalazku wykazują jednocześnie działanie hamujące PDE10A i aktywność receptorową (5-HT_{1A}, 5-HT₇). Ponadto w testach farmakologicznych związki wykazywały jednocześnie działanie prokognitywne i charakterystyczne dla leków psychotropowych.

Niniejszy opis, w celu lepszego wyjaśnienia wynalazku, został uzupełniony o załączone rysunki. Na Fig. 1 przedstawiono wyniki badania aktywności przeciwpyschotycznej związków w teście ruchliwości indukowanej podaniem D-amfetaminy. D-amfetamina w sposób istotny statystycznie nasilała ruchliwość myszy w porównaniu z grupą kontrolną otrzymującą rozpuszczalnik (# $p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$). Aktywność badanych związków oraz substancji wzorcowych porównano z grupą, która otrzymała D-amfetaminę (* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$). Na Fig. 2 przedstawiono wyniki badania aktywności przeciwdepresyjnej związków w teście wymuszonego pływania u myszy Swiss albino. Wyniki przedstawiono w postaci % kontroli. Różnice średnich uznano za znamienne statystycznie przy $p < 0,05$ (* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$). Na Fig. 3 przedstawiono wyniki badania aktywności przeciwlękowej w teście 4-płytek u myszy Swiss albino. Wyniki przedstawiono jako % kontroli. Aktywność badanych związków porównano z odpowiednią grupą kontrolną otrzymującą rozpuszczalnik. Różnice średnich uznano za znamienne statystycznie przy $p < 0,05$ (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$). Na Fig. 4 przedstawiono wyniki badania aktywności prokognitywnej związków w NORT u szczurów Wistar.

Przykład 1 Synteza pochodnych (II)-(VIII)

Syntezę przeprowadzono dwuetapowo. Najpierw otrzymywano odpowiednią pochodną pirolidynoarylopiiperazyny, zawierającą niepodstawiony pierścień fenyłowy (II) lub odpowiedni podstawnik latealny (III)-(VIII).

W pierwszym etapie syntezy mieszaninę estru tert-butyłowego kwasu 3-chlorometylopirolidyno-1-karboksylowego (1,0 równoważnika), odpowiednich pochodnych arylopiiperazyny (1,5 równoważnika), węglanu cezu (1,0 równoważnika) i katalitycznej ilości jodku potasu w DMF (5 ml) ogrzewano

w 120°C przez 2 godziny w warunkach promieniowania mikrofalowego. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną ochłodzono do temperatury pokojowej, ekstrahowano octanem etylu (20 ml). Warstwę organiczną przemyto wodą (20 ml), a następnie wysuszono nad bezwodnym siarczanem sodu. Po odparowaniu octanu etylu produkt oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym, stosując jako eluent mieszaninę dichlorometan/acetone (70/30, v/v). Surowe produkty otrzymano po deprotekcji grupy tert-butyloksykarbonylowej, przeprowadzonej zgodnie z ogólną procedurą znaną z literatury.

Następnie otrzymany fragment pirolidynoarylopiperazyny, otrzymany w pierwszym etapie, poddawano reakcji z komercyjnie dostępną 4-chloro-6,7-dimetoksychinazoliną. Mieszaninę 4-chloro-6,7-dimetoksychinazolini (1,0 równoważnika) i odpowiedniej 1-arylo-4-(pirolidyn-3-ylometylo)piperazyny, węglanu potasu (5,0 równoważników) i 10 ml izopropanolu mieszało w 80°C przez 72 godziny. Osad odsączono, mieszaninę reakcyjną zagęszczono i oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym, stosując jako eluent mieszaninę dichlorometan/metanol (9/1, v/v).

Przykład 2 6,7-dimetoksy-4-(3-(fenylo)piperazyn-1-ylo)metylo)pirolidyn-1-ylo)chinazolina

Związek otrzymano zgodnie z ogólną procedurą, w wyniku reakcji 4-chloro-6,7-dimetoksychinazolini (0,36 mmol, 0,09 g) i 1-fenylo-4-(pirolidyn-3-ylometylo)piperazyny (I) (0,36 mmol, 0,088 g). Wydajność 57%, żółtawe ciało stałe, temperatura topnienia 183–185°C.

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 8.50 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.32-7.24 (m, 2H), 6.96-6.81 (m, 4H), 4.04-3.93 (m, 11H), 3.77-3.65 (m, 2H), 3.51-3.37 (m, 1H), 3.20 (t, J=4.98 Hz, 5H), 2.72-2.57 (m, 6H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 178.1, 157.98, 156.50, 151.12, 149.68, 148.06, 146.38, 127.20, 121.89, 120.45, 114.56, 112.12, 107.58, 104.75, 58.58, 53.50, 52.60, 52.52, 50.93, 50.64, 49.73, 47.56, 46.11, 33.69. LC-MS (ESI) obliczone dla C₂₅H₃₂N₅O₂ 434.56 [M+H⁺], uzyskane 434.24 [M+H⁺].

Przykład 3 2-(4-((1-(6,7-Dimetoksychinazolin-4-ylo)pirolidyn-3-ylo)-metylo)piperazyn-1-ylo)fenol (III)

Związek otrzymano zgodnie z ogólną procedurą, w wyniku reakcji 4-chloro-6,7-dimetoksychinazolini (0,36 mmol, 0,09 g) i 2-(4-(pirolidyn-3-ylometylo)piperazyn-1-ylo)fenolu (II) (0,36 mmol, 0,093 g). Wydajność 67%, żółtawe ciało stałe, temperatura topnienia 144–145°C.

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 8.50 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.09 (d, J=2.34 Hz, 2H), 6.99-6.91 (m, 3H), 4.21-3.90 (m, 11H), 3.79-3.64 (m, 2H), 3.56-3.35 (m, 5H), 3.20 (t, J=4.98 Hz, 4H), 2.72-2.57 (m, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 178.1, 157.98, 156.50, 151.12, 149.68, 148.06, 146.38, 129.6, 121.89, 120.45, 119.6, 114.56, 112.12, 107.58, 104.75, 58.58, 53.50, 52.60, 52.52, 50.93, 50.64, 49.73, 47.56, 46.11, 33.69. LC-MS (ESI) obliczone dla C₂₅H₃₂N₅O₃ 450.56 [M+H⁺], uzyskane 450.26 [M+H⁺].

Przykład 4 6,7-Dimetoksy-4-(3-((4-(3-metoksyfenylo)piperazyn-1-ylo)metylo)pirolidyn-1-ylo)chinazolina (IV)

Związek otrzymano zgodnie z ogólną procedurą, w wyniku reakcji 4-chloro-6,7-dimetoksychinazolini (0,36 mmol, 0,09 g) i 1-(3-metoksyfenylo)-4-(pirolidyn-3-ylometylo)piperazyny (III) (0,36 mmol, 0,099 g). Wydajność 84%, żółtawe ciało stałe, temperatura topnienia 119–120°C.

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 8.50 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.29-7.10 (m, 4H), 4.11-3.90 (m, 10H), 3.79 (s, 3H), 2.72-2.54 (m, 6H), 1.42-1.13 (m, 8H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 157.98, 156.50, 151.12, 150.68, 150.06, 146.38, 146.01, 144.61, 127.20, 107.58, 106.26, 104.75, 102.09, 101.82, 99.92, 58.58, 53.50, 52.60, 52.52, 50.93, 50.64, 49.73, 47.56, 46.52, 46.11, 33.69.

LC-MS (ESI) obliczone dla C₂₆H₃₄N₅O₃ 464.58 [M+H⁺], uzyskane 464.28 [M+H⁺].

Przykład 5 6,7-Dimetoksy-4-(3-((4-(3-trifluorometylofenylo)piperazyn-1-ylo)metylo)pirolidyn-1-ylo)chinazolina (V)

Związek otrzymano zgodnie z ogólną procedurą, w wyniku reakcji 4-chloro-6,7-dimetoksychinazolini (0,36 mmol, 0,09 g) i 1-(3-trifluorometylofenylo)-4-(pirolidyn-3-ylometylo)piperazyny (IV) (0,36 mmol, 0,133 g). Wydajność 79%, żółty olej.

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 8.51 (s, 1H), 7.54-7.41 (m, 2H), 7.40-7.30 (m, 1H), 7.29-7.24 (m, 1H), 7.24-7.18 (m, 1H), 7.16-6.98 (m, 2H), 4.16-3.91 (m, 12H), 3.79 (s, 3H), 3.24 (t, J=7.8 Hz, 2H), 2.80-2.56 (m, 6H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 178.1, 157.98, 156.50, 151.12, 149.68, 146.38, 132.06, 129.6, 127.20, 141.89, 120.45, 114.56, 112.12, 107.58, 104.75, 58.58, 53.50, 52.60, 52.52, 50.93, 50.64, 49.73, 47.56, 46.11, 33.69.

LC-MS (ESI) obliczone dla $C_{26}H_{31}F_3N_5O_2$ 502.23 $[M+H]^+$, uzyskane 502.17 $[M+H]^+$.

Przykład 6 4-(3-((4-(4-chlorofenylo)piperazyn-1-ylo)metylo)pirolidyn-1-ylo)-6,7-dimetoksychinazolina (VI)

Związek otrzymano zgodnie z ogólną procedurą, w wyniku reakcji 4-chloro-6,7-dimetoksychinazoliny (0,36 mmol, 0,09 g) i 1-(4-chlorofenylo)-4-(pirolidyn-3-ylometylo)piperazyny (V) (0,36 mmol, 0,1 g). Wydajność 84%, żółtawe ciało stałe, temperatura topnienia 171–172°C.

1H NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ 8.50 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.23-7.19 (m, 4H), 4.08-3.91 (m, 12H), 3.17-3.14 (m, 2H), 2.70-2.45 (m, 10H).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 181.56, 159.09, 153.63, 153.38, 151.96, 149.84, 148.81, 147.13, 128.93, 124.51, 120.77, 117.18, 110.21, 107.45, 104.61, 66.73, 64.90, 61.10, 56.06, 55.02, 53.39, 50.09, 49.19, 36.21, 30.15.

LC-MS (ESI) obliczone dla $C_{25}H_{31}ClN_5O_2$ 468.20 $[M+H]^+$, uzyskane 468.21 $[M+H]^+$.

Przykład 7 4-(3-((4-(2,3-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo)metylo)pirolidyn-1-ylo)-6,7-dimetoksychinazolina (VII)

Związek otrzymano zgodnie z ogólną procedurą, w wyniku reakcji 4-chloro-6,7-dimetoksychinazoliny (0,36 mmol, 0,09 g) i 1-(2,3-dichlorofenylo)-4-(pirolidyn-3-ylometylo)piperazyny (VI) (0,36 mmol, 0,113 g). Wydajność 59%, żółty olej.

1H NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ 8.56 (s, 1H), 7.29-7.11 (m, 4H), 4.06-3.94 (m, 8H), 3.79-3.59 (m, 8H), 1.47-1.16 (m, 8H).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 178.1, 157.98, 156.50, 151.12, 150.68, 146.38, 133.22, 129.6, 127.20, 123.89, 120.45, 117.56, 112.12, 107.58, 104.75, 58.58, 53.50, 52.60, 52.52, 50.93, 50.64, 49.73, 47.56, 46.11, 33.69.

LC-MS (ESI) obliczone dla $C_{25}H_{30}Cl_2N_5O_2$ 503.43 $[M+H]^+$, uzyskane 503.11 $[M+H]^+$.

Przykład 8 4-(3-((4-(3,4-dichlorofenylo)piperazyn-1-ylo)metylo)pirolidyn-1-ylo)-6,7-dimetoksychinazolina (VIII)

Związek otrzymano zgodnie z ogólną procedurą, w wyniku reakcji 4-chloro-6,7-dimetoksychinazoliny (0,36 mmol, 0,09 g) i 1-(3,4-dichlorofenylo)-4-(pirolidyn-3-ylometylo)piperazyny (VII) (0,36 mmola, 0,113 g). Wydajność 72%, żółty olej.

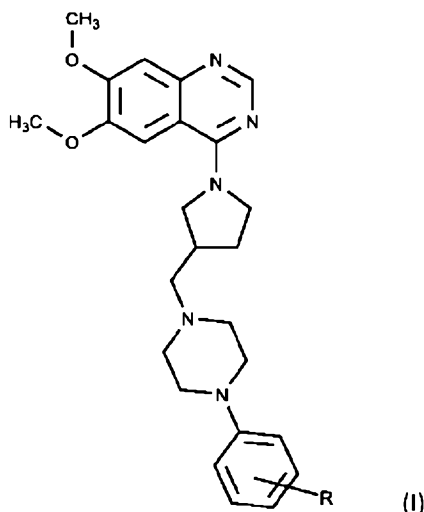
1H NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ 8.50 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.21-7.18 (m, 3H), 4.07-3.80 (m, 8H), 3.79-3.59 (m, 8H), 1.46-1.17 (m, 8H).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 178.1, 157.98, 156.50, 151.12, 147.68, 146.38, 131.22, 129.6, 127.20, 122.89, 120.45, 113.86, 112.12, 107.58, 104.75, 58.58, 53.50, 52.60, 52.52, 50.93, 50.64, 49.73, 47.56, 46.11, 33.69.

LC-MS (ESI) obliczone dla $C_{25}H_{30}Cl_2N_5O_2$ 503.43 $[M+H]^+$, uzyskane 503.10 $[M+H]^+$

Zastrzeżenia patentowe

1. Związek o wzorze (I):

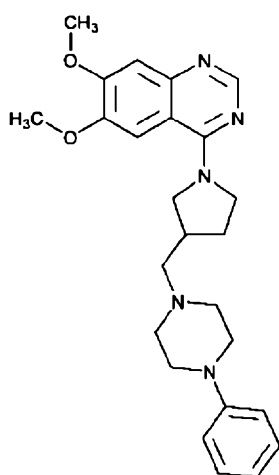


gdzie:

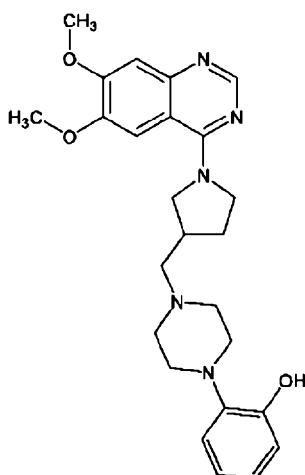
- podstawnik R stanowi: grupa alkoksylova, którą stanowi grupa metoksylova, jeden atom halogenu albo dwa atomy halogenów wybrane z grupy zawierającej atomy: F, Cl, Br, I; grupa perfluoroalkilowa, którą stanowi grupa trifluorometylova, jednofunkcyjna grupa zawierająca atom tlenowca, którą stanowi grupa hydroksylova albo atom wodoru

przy czym podstawnik R znajduje się w pozycji 2, 3 i/lub 4

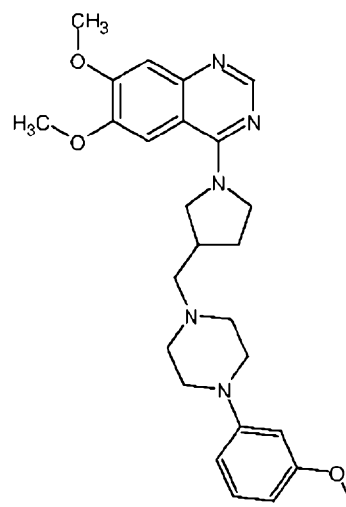
2. Związek według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jeden atom halogenu albo dwa atomy halogenów stanowi jeden atom chloru lub dwa atomy chloru.
3. Związek według zastrz. od 1 do 3, **znamienny tym**, że został wybrany ze zbioru zawierającego pochodne opisane wzorami od (II) do (VIII).



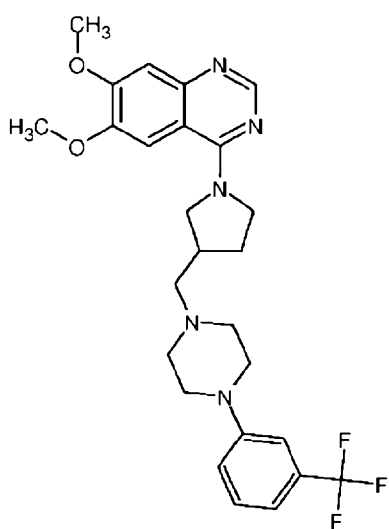
(II)



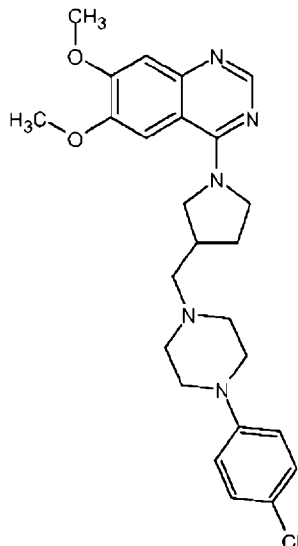
(III)



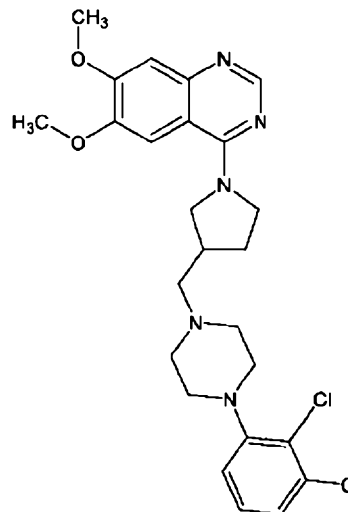
(IV)



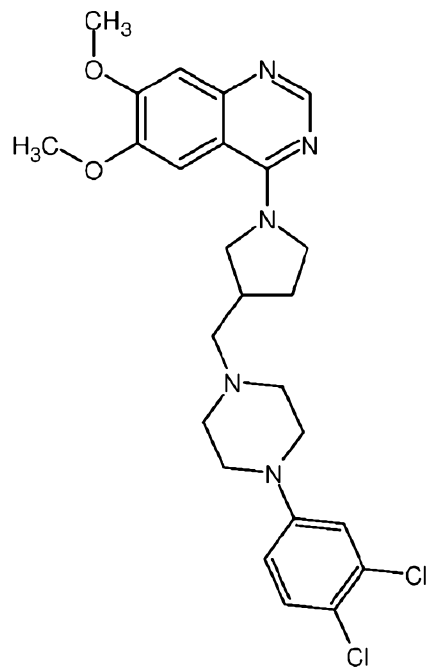
(V)



(VI)



(VII)



(VIII)

Rysunki

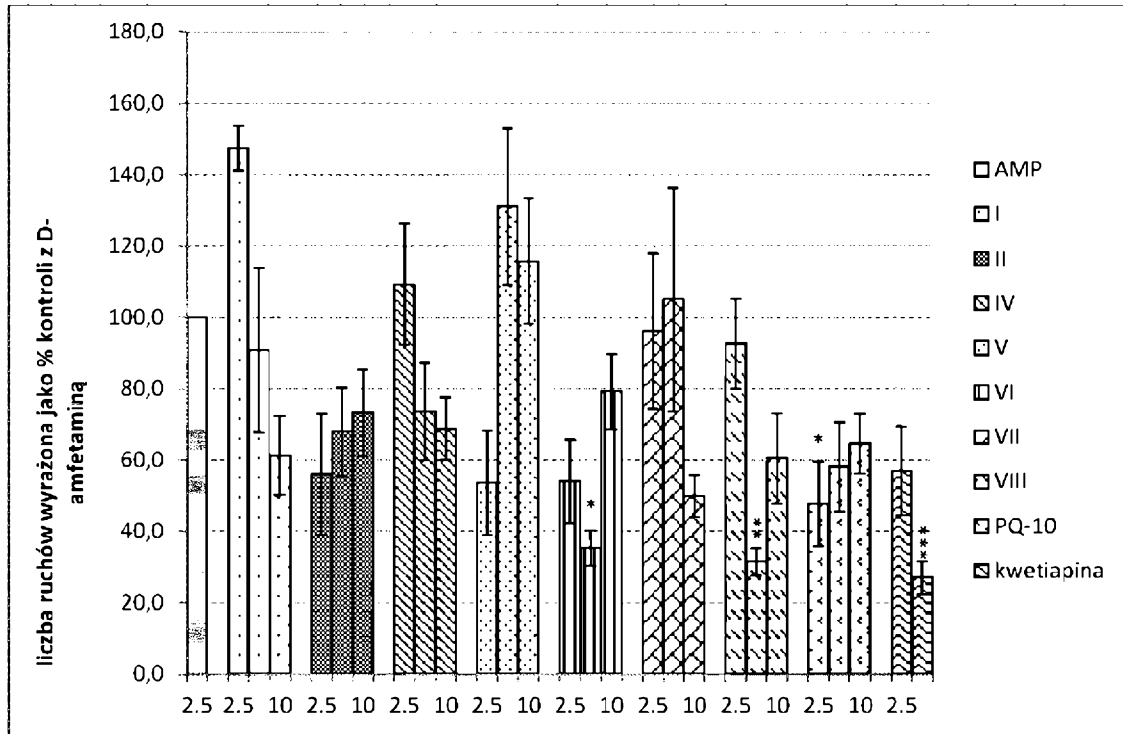


Fig. 1

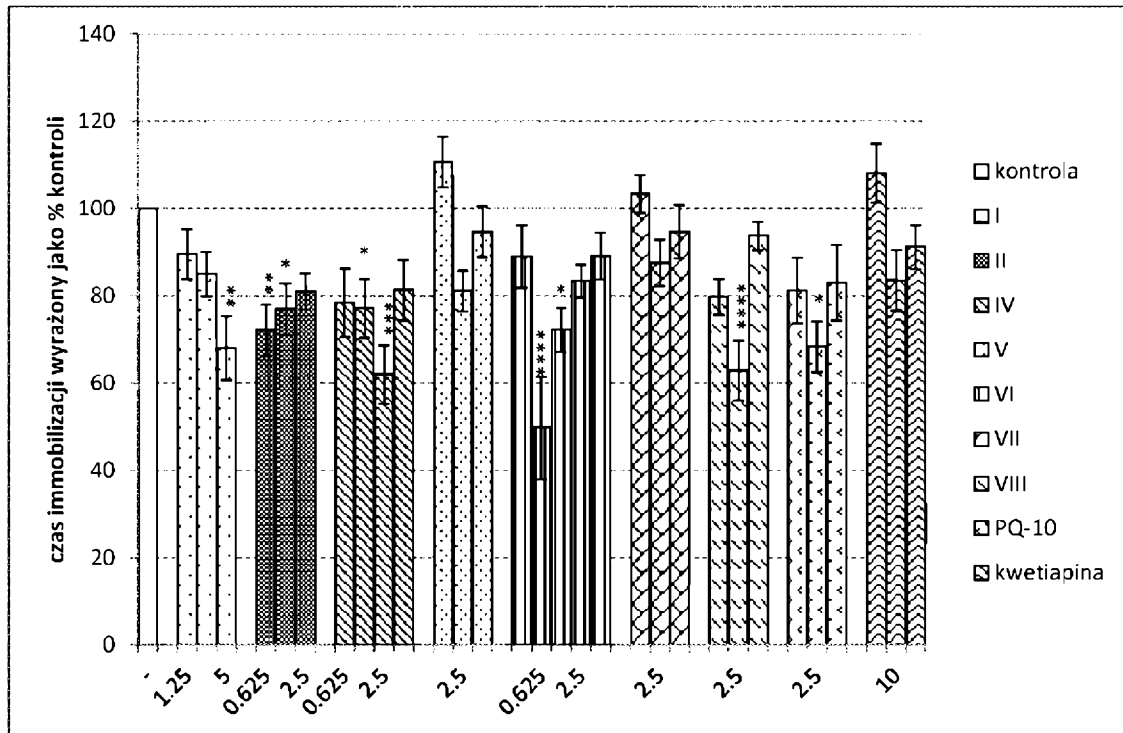


Fig. 2

