

Даний винахід відноситься до нових фармацевтично прийнятних солей N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду у вигляді (R)-енантіомеру, (S)-енантіомеру або рацемата або у вигляді сольватів вказаних солей, способу їх отримання, фармацевтичним композиціям, що містять вказані солі або сольвати, і до використання вказаних активних солей або сольватів в терапії.

Мета винаходу полягає в наданні сполук для терапевтичного використання, особливо сполук, що володіють селективною дією на підгрупу рецепторів 5-гідрокси-триптаміну, що позначаються $h5-HT_{1B}$ -рецептором (колишня назва $h5-HT_{1D\beta}$ -рецептори) у ссавців, включаючи людину, причому з цих сполук легко виготовити фармацевтичні композиції.

Крім того, мета винаходу складається в наданні сполук з терапевтичною дією при оральному введенні.

Різні класи піперазиніл заміщених похідних бензаніліду як антагоністи $5-HT_{1D}$ описуються, крім іншого, в EP 533266, EP 533267, EP 533268, GB 2273930 і WO 95/11243.

WO 94/13659 описує надто широкий клас конденсованих бензосполук, що мають пара-заміщені радикали піперидилу або піперазинілу в ароматичному кільці, причому заявляється, що вказаний клас сполук зв'язується з $5-HT_{1A}$ -рецептором.

WO 94/21619 описує повністю ароматичну нафталінову циклічну систему, яка може бути заміщена піперидильною або піперазинильною групою, причому також заявляється, що вказані сполуки є сильними агоністами і антагоністами серотоніну ($5-HT_1$).

EP 402923 описує заміщені 2-аміноалкілом або алклен-ароматичною групою похідні 1,2,3,4-тетрагідронафталіну, що мають додаткове заміщення азотом в 5 положенні тетралінового кільця, причому вказані сполуки діють як агоністи допаміну.

Різні розлади центральної нервової системи, такі як депресія, страх і т.д., як виявляється, передбачають пошкодження нейротрансмітерів норадреналіну (NA) і/або 5-гідрокситриптаміну ($5-HT$), останній також відомий як серотонін. Вважається, що лікарські препарати, що найчастіше використовуються для лікування депресії, діють, поліпшуючи передачу нервового імпульсу від будь-якого або обох даних фізіологічних агоністів. Виявляється, що збільшення $5-HT$ нейротрансмісії, передусім, впливає на пригнічений настрій і страх, тоді як збільшення норадреналінової нейротрансмісії діє на симптоми загальмованості, що зустрічаються у пацієнтів, схильних до депресії.

Вважають, що активність серотоніну, або $5-HT$, має на увазі в багатьох різних типах психічних розладів. Наприклад, вважають, що збільшення активності $5-HT$ пов'язано зі страхом, в той час як зменшення виділення $5-HT$ пов'язано з депресією. Крім того, серотонін залучений до таких різних станів як розлади харчування, шлунково-кишкових розладів, серцево-судинна регуляція і сексуальна поведінка.

Сполуки формули I, що описуються нижче, в основній формі мають надто низьку розчинність у воді і повільну швидкість вивільнення, причому швидкість вивільнення залежить від pH, тобто швидкість є різною в шлунку і кишечнику. З точки зору фармацевтичної композиції дуже важко розчинити основу досить швидко і підтримувати її в розчиненому вигляді в шлунковому соку, поки не поглинеться достатня кількість речовини.

5-HT рецептори

Різні впливи $5-HT$ можуть бути пов'язані з фактом, що серотонергічні нейрони стимулюють виділення декількох гормонів, наприклад, кортієолу, пролактину, β -ендорфіну, вазопресину і інших. Виявляється, що виділення кожного з цих додаткових гормонів регулюється на специфічній основі декількома різними підтипами рецепторів $5-HT$ (серотоніну). За допомогою методів молекулярної біології до цього часу ці рецептори були класифіковані як $5-HT_1$, $5-HT_2$, $5-HT_3$, $5-HT_4$, $5-HT_5$, $5-HT_6$ і $5-HT_7$, причому $5-HT_1$ рецептор далі поділяється на $5-HT_{1A}$, $5-HT_{1B}$, $5-HT_{1D}$, $5-HT_{1E}$ і $5-HT_{1F}$ підтипи. Кожний підтип рецептора залучений до різної функції серотоніну і має різні властивості.

Регулювання передачі нервового імпульсу $5-HT$

Виділення $5-HT$ на нервових закінченнях регулюється зворотним зв'язком двома підтипами $5-HT$ рецепторів. Інгібіторні $5-HT_{1A}$ ауторецептори знаходяться на клітинних тілах в лінії з'єднання ядер, які при стимулюванні $5-HT$ зменшують тривалість імпульсу в $5-HT$ нейронах, за допомогою чого зменшуючи виділення $5-HT$ на нервових закінченнях. Інший підтип інгібіторних $5-HT$ рецепторів розміщується на $5-HT$ нервових закінченнях, $h5-HT_{1B}$ рецептори (в гризунах $h5-HT_{1B}$ рецептори), які регулюють синаптичну концентрацію $5-HT$, контролюючи кількість $5-HT$, що виділяється. Антагоніст даних кінцевих ауторецепторів, таким чином, збільшує кількість $5-HT$, виділену нервовими імпульсами, що було показано як *in vitro*, так і *in vivo* експериментах.

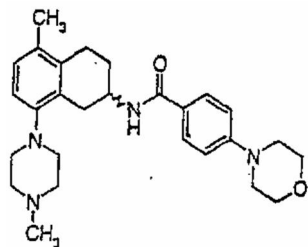
Використання антагоніста кінцевих $h5-HT_{1B}$ ауторецепторів, відповідно, буде збільшувати синаптичну $5-HT$ концентрацію і поліпшувати передачу нервового імпульсу в $5-HT$ системі. Таким чином, це буде створювати антидепресивну дію, роблячи його корисним як лікарський препарат для лікування депресії.

Існують також інші локалізації $h5-HT_{1B}$ підтипу рецептора. Виявляється, що величезна частина даних постсинаптичних рецепторів знаходиться на нервових закінченнях інших нейронних систем (так звані гетерорецептори). Оскільки $h5-HT_{1B}$ рецептор є посередником інгібуючої реакції, антагоніст даного підтипу рецептора також може збільшити виділення інших нейротрансмітерів, відмінних від $5-HT$.

Сполуки, що володіють $h5-HT_{1B}$ активністю, згідно з добре відомими і визнаними фармакологічними тестами, можуть бути розділені на повні агоністи, часткові агоністи і антагоністи.

Мета даного винаходу полягає в наданні сполук, що володіють селективною дією на $h5-HT_{1B}$ рецептор, переважно антагоністичними властивостями, а також що мають хорошу біологічну доступність і з яких можна легко виготовляти фармацевтичні композиції. Сполуки по винаходу несподівано вирішили вищезгадану проблему, оскільки вони досить швидко розчиняються і підтримуються в розчиненому виді в шлунковому соку після того, як вбирається достатня кількість речовини.

Відповідно, даний винахід пропонує фармацевтично прийнятні солі сполуки формули I або сольвати вказаної солі, в яких сполуки формули I знаходиться у вигляді (II)-енантіомеру, (S)-енантіомеру або рацемата,



(I)

за умови, що

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідгідро-(2S, 3S)-тарtrat,

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іла)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідгідро-(2R, 3R)-тарtrat,

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідбензолсульфонат,

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідгідро-1,2-етандисульфат,

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідгідромалеат,

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідгідросульфат,

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамід D-глюконат,

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідгідросукцинат,

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідметансульфонат,

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідгідро-(S)-малеат,

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміддигідроцитрат і

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідгідрохлорид

виключаються,

причому солі виявляють сильну селективну дію на $h5-HT_{1B}$ -рецептор, з них легко виготовляти фармацевтичні композиції, і вони також показують достатню біодоступність при оральному прийомі.

Переважаючими енантіомерами є (R)-енантіомери. Переважаючими сполуками є (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іла)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамід L-лактат, (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іла)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамід дигідро-бромід, (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамід моногідробромід, (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іла)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамід дигідрохлорид.

Для отримання нетоксичних фармацевтично прийнятних адитивних солей кислоти згідно з даним винаходом можна використати як органічні, так і неорганічні кислоти. Прикладами кислот є сірчана, азотна, фосфорна, щавлева, хлористоводнева, мурашина, бромистоводнева, лимонна, оцтова, молочна, винна, дибензоїлвинна, діацетилвинна, памова, етандисульфонова, сульфамінова, янтарна, пропіонова, гліколева, яблучна, глюконова, піровиноградна, фенілоцтова, 4-амінобензойна, антранілова, саліцилова, 4-аміносаліцилова, 4-гідроксibenзойна, 3,4-дигідрокси-бензойна, 3,5-дигідроксибензойна, 3-гідрокси-2-нафтоїна нікотинова, метансульфонова, етансульфонова, гідроксіетансульфонова, бензолсульфонова, п-толуолсульфонова, сульфанілова, нафталінсульфонова, аскорбінова, циклогексилсульфамінова, фумарова, малеїнова і бензойна кислоти. Сполуки формули I може утворити геми-, моно-, полуторні, ди- або потрійні солі або будь-яку іншу проміжну комбінацію солей вищезгаданих кислот, якщо вони підходять. Ці солі легко отримати способами, відомими з рівня техніки.

Переважаючими сольватами згідно з даним винаходом є гідрати. Інші сольвати можна отримати з розчинників, таких як етилацетат, етанол або ацетон. Сольвати солей легко отримати способами, відомими з рівня техніки.

Фармацевтичні композиції

У другому аспекті даний винахід пропонує фармацевтичні композиції, що легко виготовляються, що включають як активний інгредієнт терапевтично ефективну кількість фармацевтично прийнятної солі сполуки формули I або сольвату вказаної солі у вигляді енантіомеру або рацемата, або комбінації таких солей і/або сольватів, необов'язково разом з розріджувачами, наповнювачами або інертними носіями.

Відповідно до даного винаходу сполука згідно з винаходом буде звичайно вводитися орально, ректально або ін'єкцією, у вигляді фармацевтичної препаративної форми, що включає активний інгредієнт або у вигляді фармацевтично прийнятної нетоксичної адитивної солі кислоти, наприклад, гідрохлоридів, гідробромідів, лактатів, ацетатів, фосфатів, сульфатів, сульфаматів, цитратів, тарtratів, оксалатів і аналогічних, або у вигляді сольвату такої солі в фармацевтично прийнятній дозованій формі. Дозована форма може являти собою твердий, напівтвердий або рідкий препарат. Звичайно активна речовина буде складати між 0,1 і 99% від маси препарату, більш конкретно між 0,5 і 20% від маси препаратів, передбачуваних для ін'єкції, і між 0,2 і 50% від маси препаратів, відповідних для орального введення.

Щоб виготовити фармацевтичні препаративні форми, що містять сполуку згідно з винаходом, в дозованих одиницях для орального використання, вибрану сполуку можна змішати з твердим наповнювачем, наприклад, лактозою, сахарозою, сорбітом, манітом, крохмалем, таким як картопляний

крохмаль, кукурудзяний крохмаль або амілопектин, похідними целюлози, зв'язуючою речовиною у вигляді желатину або полівінілпіролідону, і змащуючою речовиною, такою як стеарат магнію, стеарат кальцію, поліетиленгліколь, віск, парафін і аналогічне, і потім пресувати в таблетки. Якщо потрібні таблетки з оболонкою, ядра, приготовані, як описано вище, можна покрити концентрованим розчином цукру, який містить, наприклад, аравійську камедь, желатин, тальк, діоксид титана і аналогічне. Альтернативно, таблетки можна покрити полімером, відомим фахівцям в даній області, розчиненим в легко летючому органічному розчиннику або суміші органічних розчинників. До цих покриттів можна додати барвники, щоб легко розрізняти таблетки, що містять відмінні активні речовини або різні кількості активної сполуки.

Для виготовлення м'яких желатинових капсул активну речовину можна змішати, наприклад, з жирниною олією або поліетиленгліколем. Тверді желатинові капсули можуть містити гранули активної речовини, використовуючи будь-який вказаний вище наповнювач для таблеток, наприклад, лактозу, сахарозу, сорбіт, маніт, крохмаль (наприклад, картопляний крохмаль, кукурудзяний крохмаль або амілопектин), похідні целюлози або желатин. Крім того, рідкими або напівтвердими лікарськими препаратами можна заповнювати тверді желатинові капсули.

Дозовані лікарські форми для ректального введення можуть являти собою розчини або суспензії, або можуть бути приготовані в формі супозиторіїв, що включають активну речовину в суміші з нейтральною жирною основою, або желатинових ректальних капсул, що включають активну речовину в суміші з рослинною олією або парафіновим маслом. Рідкі препарати для орального введення можуть бути в формі сиропів або суспензій, наприклад, розчинів, що містять приблизно від 0,1% до приблизно 20% по масі активної речовини, що описується тут, причому залишком є цукор і суміш етанолу, води, гліцерину і пропіленгліколю. Необов'язково, такі рідкі препарати можуть містити барвники, коригенти, сахарин і карбоксиметилцелюлозу як згущувач або інші наповнювачі, відомі фахівцям в даній області.

Розчини для парентерального введення ін'єкцією можна приготувати у вигляді водного розчину водорозчинної фармацевтично прийнятної солі активної речовини, переважно з концентрацією приблизно від 0,1% до приблизно 10% по масі. Ці розчини можуть також містити стабілізуючі речовини і/або буферні агенти і можуть бути зручно надані в ампулах з різними уніфікованими дозами.

Відповідні денні дози сполуки згідно з винаходом при терапевтичному лікуванні людей рівні приблизно 0,01-100 мг/кг маси тіла при пероральному введенні і 0,001-100 мг/кг маси тіла при парентеральному введенні.

Сполуку згідно з винаходом можна використати в комбінації з інгібітором повторного поглинання 5-HT, таким як флуоксетин, пароксетин, циталопрам, клоніпрамін, сертралін, алапроклат або флувоксамін, переважно пароксетин або циталопрам. Іншою можливою комбінацією є використання сполуки згідно з винаходом разом з інгібітором моноаміноксидази, таким як моклобемід, транілципрамін, брофаромід або фенелзин, переважно моклобемід або фенелзин. Іншою можливою комбінацією є сполука згідно з винаходом разом з 5-HT_{1A} речовиною-антагоністом, таким як сполуки, що описуються в WO 96/33710, переважно (R)-N-карбамоил-3-(N,N-дициклобутиламіно)-8-фтор-3,4-дигідро-2H 1-бензопіран.

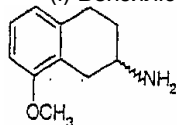
Медичне і фармацевтичне використання

У подальшому аспекті даний винахід пропонує використання сполук згідно з винаходом в терапії як антагоністів 5-HT_{1B}, часткових або повних агоністів, переважно як антагоністів, і використання для лікування розладів, опосередкованих 5-гідрокситриптаміном. Прикладами таких розладів є розлади ЦНС, такі як депресія (депресія, основний депресивний розлад, основні депресивні приступи, дистимія, сезонний афективний розлад, депресивні фази біполярного розладу), страх (навязливий судорожний синдром, панічні розлади з/без агорафобією, соціальна фобія, специфічна фобія, розлад, пов'язаний з генералізованим страхом, порушення, пов'язані з посттравматичним стресом), розлади, пов'язаний із зміною особистості (порушення імпульсного контролю, трихотилomanія), ожиріння, анорексія, булімія, перемінувальний синдром, сексуальні розлади, алкоголізм, тютюнова залежність, аутизм, дефіцит уваги, порушення, пов'язане з підвищеною активністю, мігрень, порушення пам'яті (зниження пам'яті, пов'язане з віком, пресенільне і старече недоумство), патологічна агресія, шизофренія, ендокринні розлади (наприклад, підвищений вміст молочної кислоти в крові), інсульт, дискінезія, хвороба Паркінсона, порушення терморегуляції, біль, гіпертензія. Іншими прикладами розладів, де медіатором виступає гідрокситриптамін, є неутримання сечі, вазоспазм і контроль зростання пухлин (наприклад, рака легень).

Даний винахід також відноситься до способів отримання сполук згідно з винаходом.

Способи отримання проміжних сполук

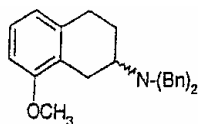
(i) Бензилюванням сполуки формули II, або у вигляді рацемата, або у вигляді енантіомеру,



(II)

відповідним реагентом для бензилювання, наприклад галогенідом бензилу, таким як бромистий бензил або хлористий бензил, або активованим спиртом, наприклад, бензилзилатом або бензилтозилатом, можна отримати сполуку формули III. Реакцію можна провести, використовуючи сіль або основу сполуки II у відповідному розчиннику, наприклад, N,N-диметилформаміді, ацетоні або ацетонітрилі, з відповідною основою, наприклад, NaOH, NaHCO₃, K₂CO₃ або триалкіламіном, таким як триетиламін, при температурі в діапазоні від +20°C до +150°C. Присутність відповідного каталізатора, наприклад, йодиду калію або йодиду натрію, може збільшити швидкість реакції.

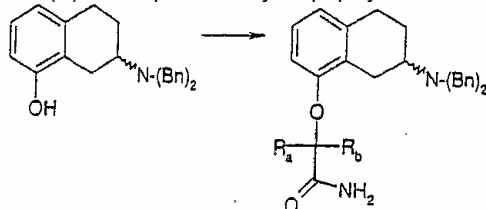
(ii) Деметилуванням сполуки формули III



(III)

обробкою сполукою з кислотним реагентом, таким як водний розчин HBr, HI, HBr/CH₃COOH, BBr₃, AlCl₃, піридин-HCl, або основним нуклеофільним реагентом, таким як CH₃C₆H₄S⁻ або C₂H₅S⁻ у відповідному розчиннику отримують сполуку формули IV. Відповідними розчинниками можуть бути метиленхлорид або хлороформ, і реакція може відбуватися між -78°C і +60°C.

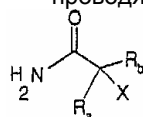
(iii) Конверсію сполуки формули IV в сполуку формули V



(IV)

(V)

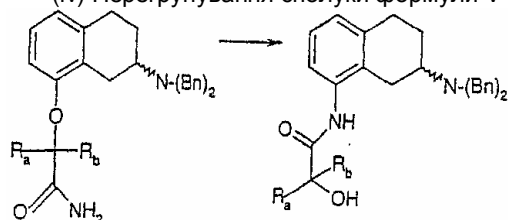
проводять реакцією із сполукою формули VI



(VI)

де X означає йдучу групу, наприклад галоген, такий як хлор, бром або йод, або алкан- або аренсульфонілоксигрупу, таку як п-толуолсульфонілоксигрупу, і R_a і R_b являють собою водень або нижчу алкілну групу, наприклад, метил. Процес можна здійснювати з сіллю сполуки формули IV, отриманою реакцією з основою, такою як K₂CO₃, Na₂CO₃, KOH, NaOH, BuLi або NaNH. Реакцію можна проводити у відповідному розчиннику, наприклад апротонному розчиннику, такому як діоксан, N,N-диметилформамід, тетрагідрофуран, толуол, бензол або петролейний ефір, і реакція може протікати між +20°C і +150°C.

(iv) Перегрупування сполуки формули V в сполуку формули VII



(V)

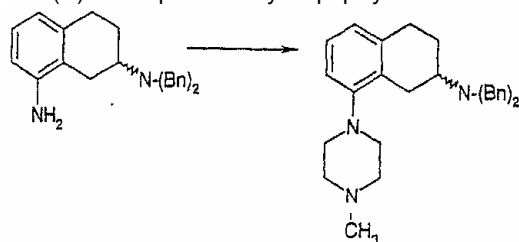
(VII)

можна провести у відповідному розчиннику, наприклад апротонному розчиннику, такому як N,N-диметилформамід, діоксан, 1,1,3,3-тетраметилсечовина, тетрагідрофуран або триамід гексаметилфосфорної кислоти, з відповідною основою, наприклад, K₂CO₃, KOH, трет-бутоксид калію або NaNH при температурі в діапазоні +20°C і +150°C.

Присутність в розчиннику співрозчинника, такого як 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагідро-2(1H)-піримідон або триамід гексаметилфосфорної кислоти, у відповідній концентрації може збільшити швидкість реакції.

(v) Гідроліз сполуки формули VII в сполуку формули VIII можна провести в кислих умовах, використовуючи кислоти, такі як H₂SO₄, HCl або HBr у відповідному розчиннику, наприклад, H₂O, етанолі, метанолі або їх сумішах, і реакція може протікати між +20°C і +100°C, або в лужних умовах, використовуючи основи, такі як NaOH або KOH, у відповідному розчиннику, наприклад, H₂O, етанолі, метанолі або їх сумішах, і реакція може протікати між +20°C і +100°C.

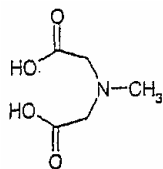
(vi) Конверсію сполуки формули VIII в сполуку формули IX



(VIII)

(IX)

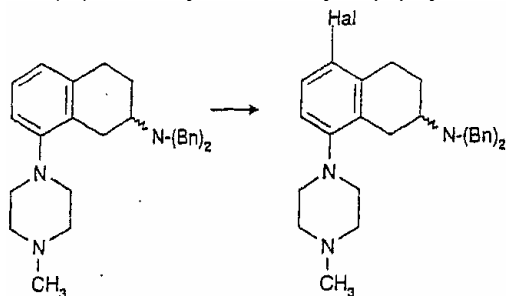
можна виконати проведенням реакції із сполукою формули X.



(X)

Процес можна провести у відповідному розчиннику, наприклад, апротонному/безводному розчиннику, такому як тетрагідрофуран або N,N-диметилформамід в присутності зв'язуючого реагенту, такого як N,N-карбонілдіімідазол, і реакція може протікати між +20°C і +130°C. Після реакції здійснюють відновлення іміду відповідним відновлюючим агентом, наприклад, LiAlH₄ у відповідному розчиннику, наприклад, діетиловому ефірі або тетрагідрофурані, при температурі між +20°C і температурою дефлегмації.

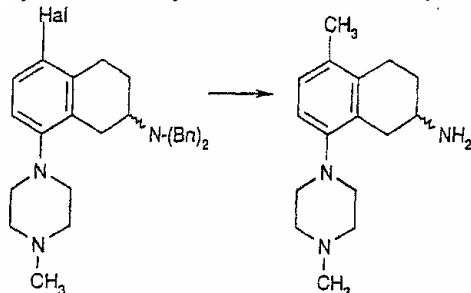
(vii) Галогенування сполуки формули IX



(IX)

(XI)

для отримання сполуки формули XI можна провести електрофільним заміщенням на ароматичній групі, використовуючи відповідні для галогенування реагенти, такі як Br₂, Cl₂, I₂, ICl або SO₂Cl₂. Реакцію можна проводити, використовуючи сполуку IX у виді солі або основи у відповідному розчиннику, наприклад, оцтовій кислоті, суміші HCl/етанол або воді в присутності або без відповідної основи, наприклад, ацетату лужного металу, такого як ацетат натрію, і при температурі реакції між -20°C і кімнатною температурою.



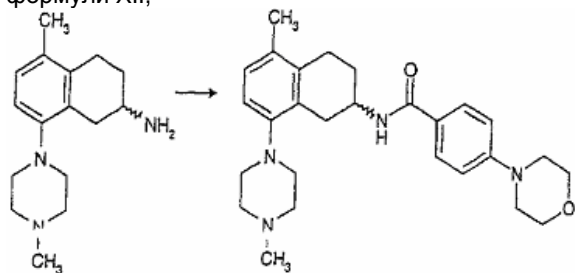
(XI)

(XII)

(viii) Конверсію сполуки формули XI в сполуку формули XII можна виконати металогалогеною реакцією обміну, у відповідному безводному розчиннику, такому як тетрагідрофуран або діетиловий ефір, використовуючи відповідні алкіллітієві або металеві, наприклад, бутиллітієві, літієві або магнієві стружки, після чого слідує обробка йодистим метилом, і реакцію можна проводити при температурі реакції в діапазоні від -78°C до кімнатної температури, з подальшим розщепленням бензильних груп гідролізом над відповідним каталізатором, що містить паладій, родій, платину або нікель, у відповідному розчиннику, наприклад, оцтовій кислоті або етанолі, і при температурі реакції між +20°C і +120°C.

Спосіб отримання кінцевого продукту

Інша мета винаходу полягає в способі отримання сполуки згідно з винаходом ацилюванням сполуки формули XII,



(XII)

(I)

активованою 4-морфолінбензойною кислотою і реакцією основи з органічною або неорганічною кислотою для отримання солі в сольватованій або несольватованій формі.

Таким чином, ацилювання можна провести реакцією поєднання формули XII з кислим хлоридом або

кислим бромідом 4-морфолінбензойної кислоти у відповідному розчиннику, такому як хлористий метилен або хлороформ, з відповідною основою, наприклад, триалкіламіном, таким як триетиламін, при температурі між -20°C і температурою дефлегмації, або активуючи карбоксикислотну функцію в 4-морфолінбензойній кислоті активуючим реагентом, таким як N,N'-карбонілдіімідазол, N,N'-дициклогексилкарбодіімін або дифенілфосфінхлорид, використовуючи або не використовуючи відповідну основу, таку як N-метилморфолін, у відповідному розчиннику, такому як N,N-диметилформамід або тетрагідрофуран, і реакцію можна здійснювати при температурі між +20°C і +150°C.

Далі, фармацевтично прийнятну сіль сполуки формули I можна отримати реакцією основи з відповідною кислотою у відповідному розчиннику, такому як спирт, наприклад, метанол, етанол або 2-пропанол, або іншому відповідному розчиннику, такому як вода, етилацетат, гексан, тетрагідрофуран, ацетон, ацетонітрил, хлороформ або їх суміші. Процес можна провести при різних температурах між -30°C і температурою дефлегмації. Сіль, що утворилася у вищеописаному способі може бути отримана у виді сольвату.

Робочі приклади

Наступні приклади ілюструють, але не обмежують, винахід.

Приклад 1

(R)-2-N,N-Дибензиламіно-а-метокси-1,2,3,4-тетрагідронафталін

До розчину (R)-8-метокси-2-аміно-1,2,3,4-тетрагідронафталін гідрохлориду (24г, 0,11 моль) в ацетонітрилі (600мл) додають карбонат калію (53г, 0,39моль), йодид калію (каталітична кількість) і бромистий бензил (34мл, 0,28моль). Реакційну суміш перемішують при кип'ятінні із зворотним холодильником протягом періоду рівного 35 годинам.

Після того, як осадок відфільтровують і ацетонітрил видаляють вакуумуванням, залишок розподіляють між діетиловим ефіром і водою. Органічну фазу відділяють, сушать (Na₂SO₄) і випаровують у вакуумі, отримуючи неочищений продукт, який очищають на колонці з силікагелем використовуючи суміш гексан/етилацетат (3:1) в якості елюенту. Вихід: 36г (91%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді твердої білої речовини: T_{пл}=105-107°C; [α]²¹_D +124° (з 1,0; хлороформ); MCEУ (70eV) m/z (відносна інтенсивність) 357 (100, M⁺).

Приклад 2

(R)-7-N,N-Дибензиламіно-5,6,7,8-тетрагідро-1-нафтол

(R)-2-N,N-Дибензиламіно-8-метокси-1,2,3,4-тетрагідронафталін (43г, 0,12моль) розчиняють в діетиловому ефірі (800мл) і по краплях додають надлишок ефірного розчину HCl. Осадок відфільтровують і сушать у вакуумі, отримуючи тверду білу речовину. Цей неочищений продукт (42г, 0,11моль) розчиняють в безводному метиленхлориді (1л) і охолоджують до -60°C. До розчину по краплях додають трибромід бору (16мл, 0,15моль), розчинений в безводному метиленхлориді (100мл). Температури реакції дають досягнути -5°C і підтримують її протягом ночі. До охолодженого на крижаній бані розчину по краплях додають 2М водний розчин гідроксиду амонію, і суміш двічі екстрагують метиленхлоридом. Об'єднані органічні фази сушать (Na₂SO₄), фільтрують, і розчинник видаляють у вакуумі, отримуючи неочищений залишок. Хроматографія на силікагелі (елюент: метиленхлорид) дає 34г (93% вихід) вказаної в заголовку сполуки у вигляді в'язкого прозорого масла: [α]²¹_D +118° (з 1,5; хлороформ); MCEУ (70eV) m/z (відносна інтенсивність) 343 (53, M⁺).

Приклад 3

(R)-2-(7-N,N-Дибензиламіно-5,6,7,8-тетрагідро-1-нафтилокси)-2-метилпропанамід

(R)-2-N,N-Дибензиламіно-5,6,7,8-тетрагідро-1-нафтол (10г, 29ммоль) перемішують в безводному діоксані (150мл) з гідридом натрію (80% в маслі, 0,96г, 32ммоль) протягом 1 години. Додають 2-бром-2-метилпропанамід (4,8г, 29ммоль; описаний в: Coutts, I.G.C.; Southcott, M.R. J. Chem. Soc. Perkin. Trans.1 1990, 767-770), і реакційну суміш нагрівають при 100°C протягом 2,5 годин. Після охолодження осаджений бромід натрію відфільтровують, фільтрат випаровують у вакуумі і залишок розподіляють між водою і метиленхлоридом. Органічну фазу відділяють, сушать (Na₂SO₄), фільтрують і випаровують, отримуючи неочищений продукт, який очищають на колонці з силікагелем, використовуючи метиленхлорид в якості елюенту. Вихід: 9,6г (76%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді білих кристалів: T_{пл}=125-126°C; [α]²¹_D +98° (з 1,1; хлороформ); MCEУ (70eV) m/z (відносна інтенсивність) 428 (13, M⁺).

Приклад 4

(R)-N-(7-N,N-Дибензиламіно-5,6,7,8-тетрагідро-1-нафтил)-2-гідрокси-2-метилпропанамід

До розчину (R)-2-(7-N,N-дибензиламіно-5,6,7,8-тетрагідро-1-нафтилокси)-2-метилпропанаміду (9,1г, 21ммоль) в безводному 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагідро-2(1H)-піримідоні (10мл) і сухому N,N-диметилформаміді (100мл) додають гідрид натрію (80% в маслі, 1,4г, 47ммоль) і реакційну суміш нагрівають при 130°C протягом 8 годин. Розчин виливають в суміш льоду і води і три рази екстрагують етилацетатом. Об'єднані органічні фази сушать (Na₂SO₄), фільтрують і випаровують у вакуумі. Хроматографія на силікагелі (елюент: хлороформ/етанол, насичений NH₃; 100:0,5) дає 7,6г (84% вихід) у вигляді білих кристалів: T_{пл}=134-135°C; [α]²¹_D +130° (з 1,1; хлороформ); MCEУ (70eV) m/z (відносна інтенсивність) 428 (1, M⁺).

Приклад 5

(R)-2-N,N-Дибензиламіно-8-аміно-1,2,3,4-тетрагідронафталін

(R)-N-(7-N,N-Дибензиламіно-5,6,7,8-тетрагідро-1-нафтил)-2-гідрокси-2-метилпропанамід (7,4г, 17ммоль)

розчиняють в суміші етанолу (200мл) і 20% водного розчину HCl (300мл) і кип'ятять із зворотним холодильником протягом 8 годин. Етанол випаровують у вакуумі, розчин, що залишився двічі промивають діетиловим ефіром і охолоджують на крижаній бані. Після підлучування 45% водним розчином гідроксиду натрію суміш екстрагують метиленхлоридом. Об'єднані органічні фази сушать (Na₂SO₄), фільтрують і випаровують у вакуумі. Очищення на колонці з силікагелем, що використовує в якості елюенту хлороформ, дає 3,8г (76% вихід) вказаної в заголовку сполуки у вигляді ясно-коричневого масла: [α]²¹_D +124° (з 0,9, хлороформ); MCEУ (70eV) m/z (відносна інтенсивність) 342 (92, M⁺).

Приклад 6

(R)-1-(7-N,N-Дибензиламіно-5,6,7,6-тетрагідро-1-нафтил)-4-N-метилпіперазин-2,6-діон

До суспензії метилімінодіоцтової кислоти (2,7г, 18ммоль), що перемішується в безводному тетрагідрофурані (250мл) додають 1,1'-карбонілдіімідазол (6,0г, 37ммоль). Реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом 1,5 годин. Потім додають (R)-2-2-N,N-добензиламіно-8-аміно-1,2,3,4-тетрагідронафталін (5,7г, 17ммоль) і перемішування при кип'ятінні із зворотним холодильником продовжують протягом 17 годин. Додають додаткову кількість 1,1'-карбонілдіімідазолу (2,9г, 18ммоль) і кип'ятіння із зворотним холодильником продовжують протягом ще 17 годин. Розчинник випаровують у вакуумі і неочищений продукт очищають на колонці з силікагелем, використовуючи суміш хлороформ/етанол, насичений NH_3 (100:0,5) в якості елюенту. Вихід: 6,6г (87%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді масла: $[\alpha]^{21}_{\text{D}} +90^\circ$ (з 0,52; хлороформ); MCEУ (70eВ) m/z (відносна інтенсивність) 453 (8, M^+).

Приклад 7

(R)-2-N,N-Добензиламіно-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідронафталін

(R)-1-(7-N,N-Добензиламіно-5,6,7,8-тетрагідро-1-нафтил)-4-метилпіперазин-2,6-діон (1,4г, 3,1ммоль) додають до суспензії літіялюмінійгідриду (0,57г, 15ммоль) в безводному діетиловому ефірі (70мл). Реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом 7 годин. Реакцію гасять, додаючи воду (0,60мл), 15% водний розчин гідроксиду натрію (0,60мл) і знов воду (1,8мл). Суміш фільтрують, сушать (Na_2SO_4) і випаровують у вакуумі. Очищення на колонці з силікагелем, що використовує суміш хлороформ/етанол, насичений NH_3 (100:2) в якості елюенту, дає 1,0г (79% вихід) вказаної в заголовку сполуки у вигляді в'язкого масла: $[\alpha]^{21}_{\text{D}} +53$ (с 0,5; хлороформ); MCEУ (70eВ) m/z (відносна інтенсивність) 425 (2, M^+).

Приклад 8

(R)-5-Бром-2-N,N-добензиламіно-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідронафталін

До розчину (R)-2-N,N-добензиламіно-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідронафталіну (2,8г, 6,5ммоль) і ацетату натрію (6,8г, 83ммоль) в оцтовій кислоті (100мл) однією порцією додають бром (370мл, 7,2ммоль) і реакційну суміш перемішують протягом 5хв. Розчинник випаровують у вакуумі і тверду речовину, що залишається розподіляють між водою і метиленхлоридом і охолоджують на крижаній бані. Водну фазу підлучують 2М водним розчином гідроксиду натрію і фази розділяють. Органічну фазу сушать (Na_2SO_4), фільтрують і випаровують у вакуумі, отримуючи неочищений продукт, який очищають на колонці з силікагелем, використовуючи суміш хлороформ/етанол, насичений NH_3 (100:2) в якості елюенту. Вихід: 2г (61%) в'язкого коричневого масла: MCEУ (70eВ) m/z (відносна інтенсивність) 503 і 505 (0,6; M^+).

Приклад 9

(R)-2-N,N-Добензиламіно-5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідронафталін

(R)-2-N,N-Добензиламіно-5-бром-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідронафталін (16г, 0,032ммоль) розчиняють в свіжоперегнаному тетрагідрофурані (300мл) і охолоджують до -78°C під аргонем. До розчину по краплях додають н-бутиллітію (19мл, 1,6М в гексані, 0,031ммоль) протягом 45хв. при максимальній температурі -76°C . Темно-зелений розчин перемішують протягом додаткових 20 хвилин. По краплях додають розчин метилйодиду (1,9мл, 0,031ммоль) в свіжоперегнаному тетрагідрофурані (10мл) протягом 25 хвилин при максимальній температурі -74°C , до зникнення зеленого забарвлення. Реакційну суміш перемішують при -78°C протягом 50хв. і при 0°C протягом 50хв. Реакцію гасять ізопропіловим спиртом (3мл) і розчинник випаровують у вакуумі. Залишок розподіляють між етилацетатом (300мл) і H_2O (30мл), фази розділяють і органічний шар промивають насиченим розчином солі (розсолем) (30мл). Після сушки і випаровування розчинника у вакуумі отримують 15г неочищеного продукту. Очищення на хроматографічній колонці з силікагелем з використанням суміші етилацетат/триетиламін (100:1) в якості елюенту дає 11г (82% вихід) вказаної в заголовку сполуки у вигляді коричневого масла: MCEУ (70eВ) m/z (відносна інтенсивність) 439 (5, M^+ ; $[\alpha]^{22}_{\text{D}} +86^\circ$ (с 0,05; CHCl_3)).

Приклад 10

(R)-2-Аміно-5-метил-8-4-Метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідронафталін

(R)-2-N,N-Добензиламіно-5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідронафталін (28г, 64ммоль) розчиняють в оцтовій кислоті (280мл) і завантажують в скляний автоклав Buchi (1л). Додають 10% Pd на деревному вугіллі (2,8г, що містить 50% H_2O). Реакційну суміш перемішують при 70°C і при тиску водню 5 бар ($5 \cdot 10^5$ Па) протягом 3,5 годин. Каталізатор відфільтровують і розчинник випаровують у вакуумі. Залишок розподіляють між етилацетатом (400мл) і водою (100мл) і охолоджують на крижаній бані. Значення pH регулюють до 12, додаючи водний NaOH (45%), і розділяють фази. Водну фазу реекстрагують етилацетатом (2x100мл) і об'єднаний органічний шар промивають насиченим розчином солі (50мл) і сушать (Na_2SO_4). Випаровування розчинника у вакуумі дає 18г (99% вихід) вказаної в заголовку сполуки у вигляді коричневого масла. MCEУ (70eВ) m/z (відносна інтенсивність) 259 (34, M^+); $[\alpha]^{22}_{\text{D}} -1,1^\circ$ (с 0,09; CHCl_3).

Приклад 11

(R)-N-[5-Метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамід

4-Морфолінобензойну кислоту (23,3г, 113ммоль; описану в: Degutis, J.; Rasteikiene, L; Degutiene, A. Zh. Org. Khim. 1978, 14(10), 2060-2064) і 1,1'-карбонілдіімідазол (19,2г, 118ммоль), розчинений в безводному N,N-диметилформаміді (250мл), перемішують при 75°C протягом 2 годин і охолоджують до кімнатної температури. До розчину додають (R)-2-аміно-5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідронафталін (27,8г, 107ммоль), розчинений в безводному N,N-диметилформаміді (250мл). Реакційну суміш перемішують протягом 58 годин, отримуючи білу суспензію. Осадок відфільтровують і сушать у вакуумі, отримуючи 13,3г неочищеного продукту. Маточну рідину концентрують до сухого стану у вакуумі, отримуючи 65г неочищеної речовини, які розподіляють між CH_2Cl_2 (500мл) і H_2O (70мл). Органічний шар промивають H_2O (70мл) і насиченим розчином солі (2x70мл) і сушать (Na_2SO_4). Розчинник випаровують у вакуумі, отримуючи 40г. Дві частини об'єднують і тричі проводять перекристалізацію з безводного метанолу, отримуючи 33,6г (70% вихід) вказаної в заголовку сполуки у вигляді білих голок: $T_{\text{пл.}}=236-237^\circ\text{C}$; MCEУ (70eВ) m/z (відносна інтенсивність) 448 (3, M^+) $[\alpha]^{22}_{\text{D}} -60^\circ$ (с 0,15; CHCl_3).

Солі (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду

Всі температури плавлення визначають, використовуючи диференціальну скануючу калориметрію (ДСК). Швидкість підвищення температури рівна 10°C на хвилину, починаючи з кімнатної температури.

Зразки досліджують в алюмінієвих чашках з продувом азотом.

Приклад 12

(R)-N-[5-Метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамід L-лактат
До теплового розчину (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду (1,0г, 2,2ммоль) в метанолі (40мл) додають L-молочну кислоту (240мг, 2,7ммоль) і розчин дають охолотитися до кімнатної температури. Розчинник випаровують у вакуумі, і білий залишок розчиняють в 2-пропанолі (20мл) при нагріванні. Після додання діетилового ефіру (10мл) розчину дають охолотитися до кімнатної температури. Отриманий осадок відфільтровують і сушать у вакуумі, отримуючи 360мл (30% вихід) бажаного продукту у вигляді білих кристалів: $T_{пл.}=130-140^{\circ}C$. Елем. аналіз, обраховано для $C_{27}H_{36}N_4O_2 \cdot C_3H_5O_3$: С, 66,9; Н, 7,9; N, 10,4. Знайдено: С, 66,6; Н, 7,9; N, 10,3.

Приклад 13

(R)-N,N-[5-Метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамід L-аскорбат

До теплового розчину (R)-N,N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду (1,0г, 2,2ммоль) в метанолі (30мл) додають розчин L-аскорбінової кислоти (475мг, 2,7ммоль) в метанолі (20мл) і розчину дають охолотитися до кімнатної температури. Приблизно 25мл розчиннику випаровують у вакуумі і розчин (25мл), що залишився витримують при кімнатній температурі протягом 2,5 годин. Кристали відфільтровують і сушать у вакуумі, отримуючи 1,3 грами (92% вихід) вказаної в заголовку сполуки у вигляді ясно-сірих кристалів. $T_{пл.}=235-245^{\circ}C$. Елем. аналіз, обчислений для $C_{27}H_{36}N_4O_2 \cdot C_7H_6O_6 \cdot H_2O$: С, 61,7; Н, 7,2; N, 8,7. Знайдено: С, 61,9; Н, 7,0; N, 8,9.

Приклад 14

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідсаліцилат
До киплячого розчину (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду (1,0г, 2,2ммоль) в етанолі (50мл) додають розчин саліцилової кислоти (400мг, 2,9ммоль) в етанолі (10мл). Розчинник концентрують у вакуумі і розчину (20мл), що залишився дають охолотитися до кімнатної температури. Розчин вміщують в холодильник на два дні. Кристали відфільтровують і сушать у вакуумі, отримуючи 1,2 грами (86% вихід) вказаної в заголовку сполуки у вигляді білих кристалів. $T_{пл.}=235-240^{\circ}C$. Елем. аналіз, обчислений для $C_{27}H_{36}N_4O_2 \cdot C_7H_6O_3$: С, 69,6; Н, 7,2; N, 9,6. Знайдено: С, 69,5; Н, 7,2; N, 9,5.

Приклад 15

(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідгліколят
До гарячого розчину (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду (1,0г, 2,2ммоль) в етанолі (50мл) додають гарячий розчин гліколевої кислоти (200мг, 2,6ммоль) в етанолі (10мл). Розчинник концентрують у вакуумі і до розчину (20мл), що залишився додають киплячий етилацетат, поки розчин не помутніє. Після кипіння протягом декількох хвилин розчин охолоджують і вміщують в холодильник на ніч. Кристали відфільтровують і сушать у вакуумі, отримуючи 1,0 грам (83% вихід) вказаної в заголовку сполуки у вигляді білих кристалів. Елем. аналіз, обчислений для $C_{27}H_{36}N_4O_2 \cdot C_7H_6O_3 \cdot 2H_2O$: С, 62,1; Н, 7,9; N, 10,0. Знайдено: С, 62,7; Н, 7,7; N, 9,6.

Приклад 16

(R)-N-[5-Метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміддигідробромід
(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамід (2,0г, 4,5ммоль) розчиняють в безводному тетрагідрофурані (55мл) і додають ефірний розчин НВг, поки розчин не стане кислим. Тверду білу речовину відфільтровують, промивають діетиловим ефіром і сушать, отримуючи неочищену тверду речовину. Проводять перекристалізацію неочищеної твердої речовини з суміші абсолютий етанол/етилацетат, отримуючи 0,78г (29% вихід) білих прозорих кристалів: $T_{пл.}=250-265^{\circ}C$. Елем. аналіз, обчислений для $C_{27}H_{37}Br_2N_4O_2$: С 53,1; Н 6,3; Br 26,2; N 9,2. Знайдено: С 53,0; Н 6,4; Br 26,3; N 9,0.

Приклад 17

(R)-N-[5-Метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-Тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміддигідрохлорид
(R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамід (2,0г, 4,5ммоль) розчиняють в безводному тетрагідрофурані (55мл) і додають ефірний розчин НСl, поки розчин не стане кислим. Тверду білу речовину відфільтровують, промивають діетиловим ефіром і сушать, отримуючи неочищену гігроскопічну тверду речовину. Двічі проводять перекристалізацію неочищеної твердої речовини з суміші етанол/етилацетат, отримуючи 0,11г (16% вихід) дрібних твердих білих кристалів. Елем. аналіз, обчислений для $C_{27}H_{38}Cl_2N_4O_2$: С 62,2; Н 7,3; Cl 13,6; N 10,7. Знайдено: С 62,1; Н 7,4; Cl 13,4; N 10,8.

Приклад 18

(R)-N-[5-Метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензамідмоногідробромід
Імідазол (16,3г, 239ммоль) розчиняють в ізопропанолі (170мл) і по краплях додають бромистоводневу кислоту (34% мас/мас, в оцтовій кислоті, 49,5мл, 218ммоль). Цей розчин додають до суспензії (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду (89,2г, 198ммоль) в ізопропанолі (710мл) при 40°C. Після завершення додання суміш кип'яють із зворотним холодильником протягом 3 годин. Після охолодження до 0°C кристали збирають фільтруванням і сушать при 60°C у вакуумі, отримуючи 98,5г (93,6% вихід) неочищеного моногідроброміду.

Проводять перекристалізацію неочищеного моногідроброміду (96,6г, 182ммоль), отриманого вище, з 95% етанолу (5% води об./об., 598мл) і етилацетату (2280мл) при 60-70°C і суспензію повільно охолоджують до -10°C перед фільтруванням. Кристали збирають фільтруванням і сушать при 60°C у вакуумі, отримуючи 87,7г (91% вихід) ясно-рожевих кристалів: $T_{пл.}=265^{\circ}C$ (з розкладанням). 1H ЯМР (300МГц, ДМСО- d_6) δ 8,24 (д, J=7,5Гц, 1H), 7,86 (д, J=8Гц, 2H), 6,92-7,08 (м, 1H), 7,01 (д, J=7,5Гц, 1H), 6,98 (д, J=8Гц, 1H), 6,86 (д, J=8Гц, 1H), 3,61-4,07 (м, 5H), 2,42-3,61 (м, 16H), 2,84 (с, 3H), 2,00-2,20 (м, 1H), 2,15 (с, 3H), 1,63-1,88 (м, 1H).

ФАРМАКОЛОГІЯ

Стимуляція електричним полем виділення [^3H]-5-НТ з потиличної частини кори головного мозку морських свинок

[^3H]-5-НТ виділяється при стимуляції електричним полем із зрізів потиличної частини кори головного мозку морських свинок, які заздалегідь інкубують з [^3H]-5-НТ. Це виділення схоже з виділенням, що викликається нервовим стимулюванням, тобто екзоцитотичним виділенням з серотонергічних нервових закінчень, залежачи від присутності Ca^{2+} в середовищі для інкубації. Виділення 5-НТ регулюється на рівні нервових закінчень ауторецепторами, у морських свинок (подібно тому, як це у людини), що належать до $\text{h5-HT}_{1\text{B}}$ підтипу рецепторів. Таким чином, агоністи $\text{h5-HT}_{1\text{B}}$ рецепторів зменшують кількість [^3H]-5-НТ, виділене стимуляцією полем, тоді як антагоністи цього типу рецепторів збільшують виділення. Тестування сполук даним методом, відповідно, є зручною методикою перевірки для визначення ефективності і функціональної дії нових речовин, як агоністів і антагоністів $\text{h5-HT}_{1\text{B}}$ рецептора.

Методи і матеріали

Буферна композиція (мМ) NaHCO_3 (25), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,2), NaCl (117), KCl (6), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1,2), CaCl_2 (1,3), EDTA Na_2 (0,03). Буфер насичують газом протягом, щонайменше, 30хв. перед використанням. рН буфера дорівнює приблизно 7,2 при кімнатній температурі, але збільшується приблизно до 7,4 при 37°C.

Приготування зрізів потиличної частини кори головного мозку

Морських свинок (200-250г) обезголюють і видаляють весь головний мозок. Потиличну частину кори головного мозку розтинають і ріжуть на зрізи 0,4x4мм апаратом для отримання зрізів McIlwain. Білу частину тканини потрібно обережно видалити пінцетом перед виготовленням зрізів. Зрізи інкубують в 5мл буфера в присутності 5мМ паргілінхлориду. Після інкубації з 0,1мМ [^3H]-5-НТ протягом ще 30 хвилин, зрізи переносять в пробірку для тестування і промивають три рази таким же об'ємом буфера. Зрізи переносять в камеру для суперфузії пластмасовою піпеткою і промивають протягом 40 хвилин буфером в присутності інгібітору поглинання циталопраму 2,5мкМ з потоком 0,5мл/хв.

Електричне стимулювання виділення 5-НТ

Буфер після суперфузії збирають в 2мл фракції. Зрізи стимулюють електрикою з ланцюгом імпульсів частотою 3Гц, тривалістю 2мсек. і струмом 30мА протягом 3хв. під час 4^{ої} і 13^{ої} фракцій. Лікарські препарати, що випробовуються додають від 8 фракції до кінця експерименту.

Результати

Перша електрична (або K^+) стимуляція приводить до стандартної кількості [^3H]-5-НТ (S_1), що виділився. Між першим і другим стимулюванням до середовища додають антагоніст $\text{h5-HT}_{1\text{B}}$, що приводить до збільшення (S_2), що залежить від дози після другого стимулювання. Див. Фіг.

Відношення S_2/S_1 , яке являє собою процент що виділився [^3H]-5-НТ при другому стимулюванні (S_2), розділений на дану величину при першому стимулюванні (S_1), використовують для оцінки дії лікарського препарату на вивільнення трансмітера.

Визначення розчинності (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду і його відповідних солей

Метод

Надлишок (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду або його відповідних солей додають в очищену воду. Розчин перемішують протягом ночі у водяній бані, що витримується при 25°C з використанням термостата (Julabo SW і U3, 60рухів/хв.). Насичений розчин центрифугують і фільтрують через фільтр 0,45 Dm Gelman GHP Acrodisc®, розбавляють і аналізують ГПРХ.

Результати

Розчинність у воді при 25°C основи, (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду

0,034мг/мл

Розчинність у воді при 25°C різних солей (R)-N-[5-метил-8-(4-метилпіперазин-1-іл)-1,2,3,4-тетрагідро-2-нафтил]-4-морфолінобензаміду

Сіль (приклад)	Розчинність мг/мл
L-лактат	18,8
L-аскорбат	4,2
Саліцилат	0,29
Гліколят	>23,6
Дигідробромід	4,6

З приведеного вище порівняння між сполукою у вигляді основи і рядом її типових солей ясно, що солі сполуки формули (I) є краще розчинними у воді в порівнянні з основою і, таким чином, вони більш зручні для отримання фармацевтичних рецептур.

Вивільнення 3-Н-5НТ

