



URZĄD PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

DOKUMENT PATENTOWY

Na podstawie przepisów ustawy z dnia 30 czerwca 2000 r. Prawo własności przemysłowej (Dz.U. z 2017 r. poz. 776 z późn. zm.) został udzielony na rzecz:

UNIwersytet śląski w Katowicach, Katowice, Polska;
DK CHEM ORGANIC SYNTHESIS LTD SPÓŁKA
KOMANDYTOWA, Jaworzno, Polska

PATENT

NR 232831

NA WYNAŁAZEK PT.

Nowe pochodne karbaminianów oraz ich zastosowanie

*przedstawiony w opisie patentowym
włączonym do niniejszego dokumentu*

Patent trwa od dnia: **2017-02-23**

Warszawa, dnia 2019-08-01

Z upoważnienia Prezesa
Urzędu Patentowego

LK
Łukasz Kwaśniewski
DYREKTOR DEPARTAMENTU

Nowe pochodne karbaminianów oraz ich zastosowanie

Przedmiotem wynalazku są nowe pochodne karbaminianów oraz ich zastosowanie jako substancji czynnych do wytwarzania środków farmaceutycznych w szczególności do zastosowania jako selektywnych inhibitorów AChE i BuChE w leczeniu choroby Alzheimera.

Choroba Alzheimera spowodowana jest odkładaniem się w mózgu tzw. płytek starczych zbudowanych z patologicznego białka zwanego beta-amyloidem. Białko to nagromadza się przez cały okres choroby prowadząc do stopniowej degeneracji neuronów, których synapsy zanikają. Skutkuje to obniżeniem poziomu acetylocholiny i innych neurotransmiterów w mózgu i doprowadza do stopniowego obniżania sprawności intelektualnej, a w rezultacie do śmierci. Do dzisiaj, mimo wielu hipotez nieznaną jest etiologia choroby, ani mechanizm, który doprowadza do odkładania się beta-amyloidu w postaci płytek starczych. Uniemożliwia to znalezienie skutecznego leku na tą chorobę i obecnie leczenie chorych ogranicza się jedynie do leczenia objawowego, które nie zatrzymuje, ani nie opóźnia postępu choroby, lecz łagodzi tylko niektóre jej objawy. Stwarza to chorobę Alzheimera jedną z najbardziej kosztownych chorób dla społeczeństwa. Odsetek chorych na nią wciąż wzrasta w krajach rozwiniętych. Konieczność długotrwałej opieki nad chorymi, którzy wraz z postępem choroby stają się nieporadni i tracą samodzielność, powoduje, iż staje się ona coraz poważniejszym problemem społecznym i ekonomicznym krajów cywilizowanych. Jednocześnie opieka jest jedyną pomocą jaką można udzielić przy dzisiejszym stanie wiedzy cierpiącym na tę chorobę. Omówione problemy wyjaśniają stale zainteresowanie badaniami nad przyczyną choroby i potencjalnie nowymi lekami.

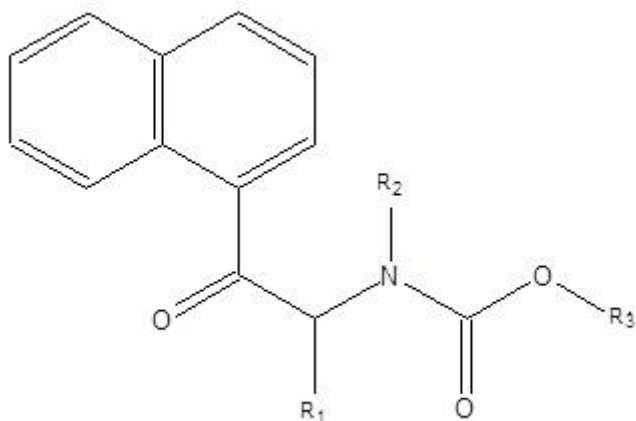
Mimo prowadzonych badań nad farmaceutykami redukującymi poziom beta-amyloidu wciąż głównymi lekami stosowanymi w farmakoterapii to inhibitory cholinesteraz, które to enzymy są odpowiedzialne za rozkład acetylocholiny. Blokując rozkład tego neuroprzekaźnika, podnosi się jego stężenie w mózgu rekompensując spadek jego stężenia spowodowany śmiercią neuronów cholinergicznymi. Właściwość taką posiadają karbaminiany, które po przez mechanizm karbamylacji esteraz dezaktywują te enzymy. Dzięki odpowiedniej modyfikacji struktur można opracować selektywny bądź nieselektywny inhibitor działający odpowiednio tylko na acetylcholinoesterazę bądź butyrylocholinoesterazę lub równocześnie oba te enzymy. Jest to o tyle istotne, że u zdrowych osób, główny udział w rozkładzie acetylocholiny ma acetylcholinoesteraza, natomiast butyrylocholinoesteraza pełni funkcję marginalną, w zasadzie nie poznaną w pełni do dzisiaj. Natomiast w chorobie

Alzheimerera role te ulegają odwróceniu i stężenie AChE w mózgu spada o 85%, zmieniając udział enzymów AChE do BuChE w rozkładzie acetylocholiny od 0,2 do 11. Z tego też powodu inhibitory acetylocholinoesterazy są mało skuteczne w terapii zaawansowanego Alzheimerera. Aktywność zaś wykazują inhibitory nieselektywne jak np. rywastygmina. Substancje takie jak rywastygmina, donepezil, czy galantamina, są znanymi lekami stosowanymi w chorobie Alzheimerera. Charakteryzują się one jednak wysoką aktywnością inhibicji jedynie esteraz acetylocholinowych i efektywne są jedynie w początkowej fazie choroby Alzheimerera, kiedy to enzym ten odgrywa jeszcze istotną rolę w rozkładzie acetylocholiny. Gdy rolę tę przejmuje butyrylocholinoesteraza w zaawansowanym stadium choroby, leki te stają się mało skuteczne i do wywołania parasympatykotoni zdolne mogą się okazać jedynie selektywne inhibitory butyrylocholinoesterazy o wysokiej aktywności.

W praktyce terapeutycznej nie są obecnie stosowane leki selektywnie hamujące butyrylocholinoesterazę. W terapii początkowych i średnio zaawansowanych stadiów choroby Alzheimerera, medycyna dysponuje jedynie trzema lekami, które są głównie inhibitorami acetylocholinoesterazy: galantamina (Reminyl), rywastygmina (Exelon) oraz donepezil (Aricept). Substancje te jednak nie są pozbawione wad, mają niską biodostępność, słabą przenikalność przez barierę krew-mózg i powodują wiele działań niepożądanych jak dolegliwości żołądkowo-jelitowe. Związki o podobnych właściwościach opisano także w literaturze patentowej WO2008055249A2, EP1600447A1.

Istnieje, zatem istotne zapotrzebowanie na związki posiadające zdolność hamowania butyrylocholinoesterazy. W trakcie naszych badań dość nieoczekiwanie okazało się, że pochodne przedstawione na rysunku 1 wykazują selektywną aktywność hamowania butyrylocholinoesterazy.

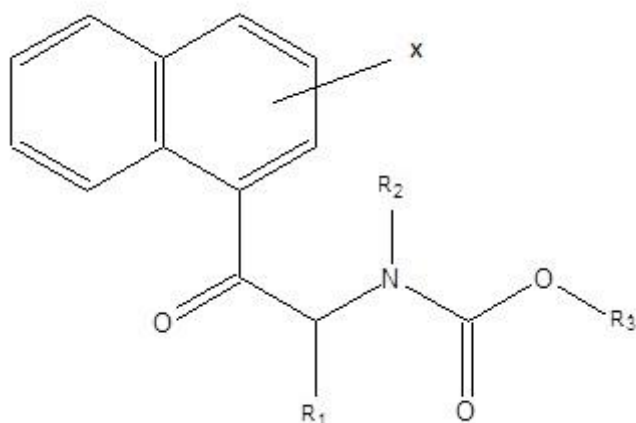
Istotą wynalazku jest nowa pochodna karbaminianów charakteryzująca się tym, że ma strukturę chemiczną według wzoru 1



Wzór 1

gdzie R1 stanowi grupę metylową, R2 – grupę metylową, R3 - grupę metylową, fenylową lub benzyłową.

Korzystnie nowa pochodna wg zastrz. 1 ma strukturę chemiczną według wzoru 2



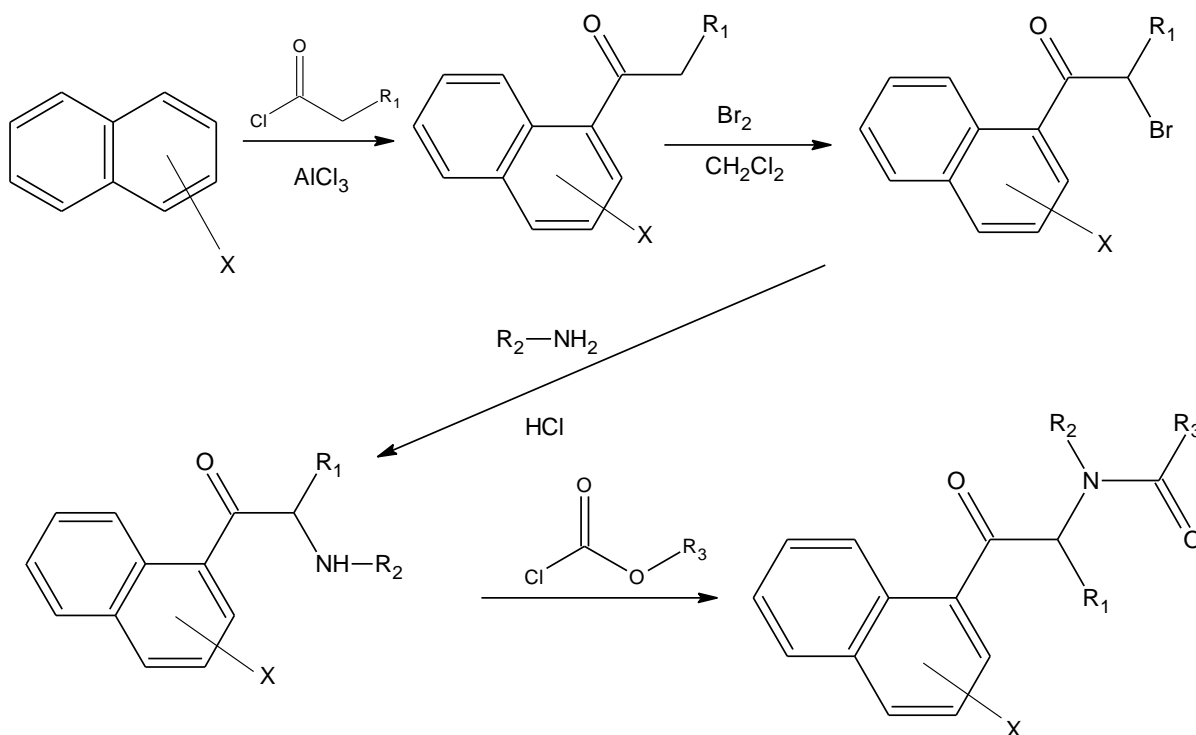
Wzór 2

w której pierścień naftalenowy posiada co najmniej jeden podstawnik x, gdzie x stanowi halogen.

Istotą wynalazku jest również zastosowanie nowych pochodnych karbaminianów określonych wzorem 1 lub 2 do wytwarzania substancji czynnych przeznaczonych do leczenia choroby Alzheimera, zwłaszcza jako selektywnych inhibitorów AChE lub BuChE.

Ogólna procedura syntezy związków:

Reakcję otrzymywania związków według wynalazku prowadzi się w 4 etapach przedstawionych na poniższym schemacie:



Etap 1.

Otrzymywanie ketonów aromatycznych metodą Friedla-Craftsa.

Do dwuszyjnej kolby okrągłodennej o pojemności 1 litra z zamontowaną w bocznej szyi rurką do odprowadzania gazów należy wprowadzić 1M odpowiedniego chloru kwasowego, a następnie dodać do niego około 1,05M bezwodnego chloru glinu. Całość mieszać aż do całkowitego rozpuszczenia się chloru glinu i ochłodzić w łaźni wodnej. Następnie do kolby należy wprowadzić 250 ml chloru metylenu, a do głównej szyi zamontować wkraplacz, z zawartością 1,1M odpowiedniego węglowodoru aromatycznego i rozpocząć wkraplanie. Mieszaninę podczas wkraplania mieszać za pomocą mieszadła magnetycznego, a wkraplanie prowadzić z taką prędkością, aby wydzielanie chlorowodoru nie było zbyt gwałtowne. Po zakończeniu wkraplania mieszaninę przelać do zlewki z wodą i lodem, a następnie przepłukać trzykrotnie wodą. Fazę organiczną oddzielić, chloroek metylenu odparować, a pozostałość destylować w kolbie Englera, lub wykrystalizować.

Etap 2.

Otrzymywanie alfa-bromo pochodnych ketonów aromatycznych.

Do dwuszyjnej kolby okrągłodennej o pojemności 1 litra z zamontowaną w bocznej szyi rurką do odprowadzania gazów wprowadzić 1M odpowiedniego ketonu aromatycznego, a następnie dodać do niego około 300ml chloru metylenu. Całość mieszać aż do całkowitego rozpuszczenia się stałych reagentów. Następnie do głównej szyi zamontować wkraplacz, do którego wprowadzić 1,1M bromu i rozpocząć wkraplanie. Mieszaninę podczas wkraplania mieszać za pomocą mieszadła magnetycznego, a wkraplanie prowadzić z taką prędkością, aby wydzielanie bromowodoru nie było zbyt gwałtowne. Po zakończeniu wkraplania do kolby wprowadzić około 300ml wody i mieszać, aż do zmiany zabarwienia mieszaniny na biały lub kremowy. Fazę organiczną oddzielić i w takiej postaci wykorzystać w następnym etapie.

Etap 3

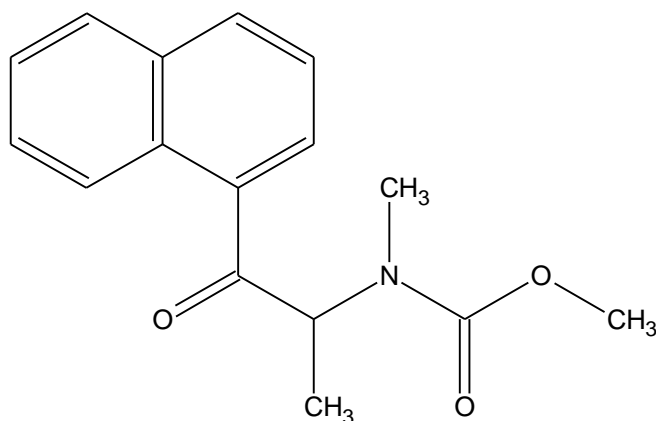
Otrzymywanie odpowiedniego alfa-aminoketonu.

Do kolby stożkowej o pojemności 2 litrów wprowadzić 1M odpowiedniej bromo-pochodnej ketonu aromatycznego rozpuszczonej w odpowiedniej ilości chlorku metylenu. Następnie wprowadzić 2M odpowiedniej aminy i rozpocząć wkraplanie 1M wodnego roztworu wodorotlenku sodu. Całość mieszać przez 12 godzin, a następnie oddzielić fazę organiczną i przelać do zlewki z lodem zawierającą kwas solny. Po wyekstrahowaniu aminy kwasem solnym, fazę wodną oddzielić, dodać do niej wodny roztwór wodorotlenku sodu i wydzieloną wolną aminę przemyć 3-krotnie wodą. Następnie osuszyć bezwodnym siarczanem magnezu, rozcieńczyć eterem dietylowym i wprowadzić gazowy chlorowódor do odczynu kwaśnego. Wydzielony chlorowodorek pochodnej 2-amino-1-fenylpropan-1-olu w postaci białego osadu przemyć acetonem i wysuszyć.

Etap czwarty – otrzymywanie karbaminianów

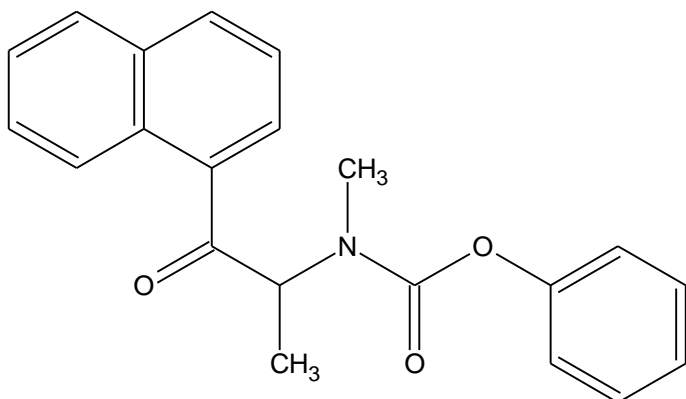
Do dwuszyjnej kolby okrągłodennej o pojemności 150ml z zamontowaną w bocznej szyi rurką do odprowadzania gazów wprowadzić 0,01M pochodnej 2-amino-1-fenylpropan-1-olu w postaci wolnej aminy. Dodać około 50ml chlorku metylenu i 0,01M trietyloaminy. Następnie rozpocząć wkraplanie około 0,009M odpowiedniego chloromrówczanu, jednocześnie całość cały czas chłodząc i mieszając. Po zakończeniu wkraplania mieszaninę przepłukać rozcieńczonym kwasem solnym, fazę organiczną oddzielić i osuszyć bezwodnym siarczanem magnezu. Chlorek metylenu usunąć pod próżnią, a związek oczyścić na kolumnie, stosując eluent heksan : octan etylu 9:1.

Przykład 1: N-metylo-1-(1-naftylo)- 1-okso-2-propylokarbaminian metylu:



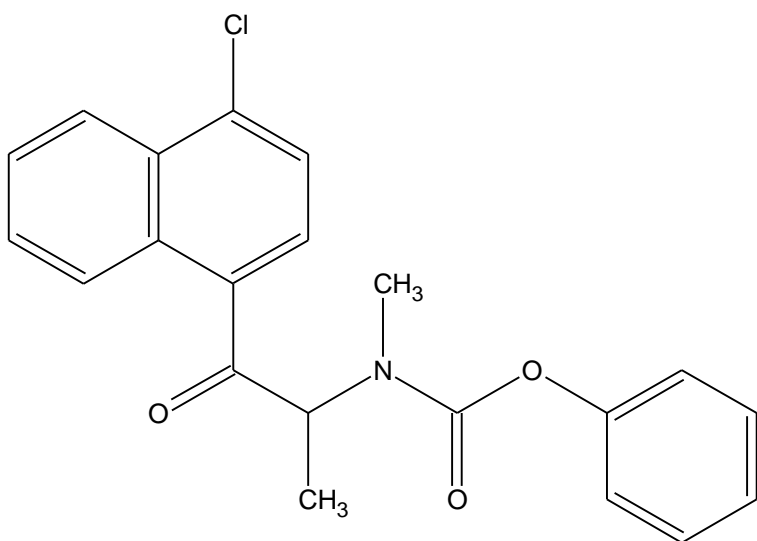
Według wzoru 1 $R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{CH}_3$, $R_3 = \text{CH}_3$. $^1\text{H-NMR}$ (d_6 - CDCl_3 , 400 MHz, ppm): 8,41 (dd, 1H, aromat, $J_1=29,5$, Hz, $J_2=8,3$); 8,00 (d, 2H, aromat, $J=8,3$ Hz); 7,93-7,87 (m, 1H, aromat); 7,63-7,46 (m, 3H, aromat); 5,80-5,29 (m, 1H, CH), 3,68 (d, 3H, CH_3 , $J=13,5$); 2,87 (d, 3H, CH_3 , $J=42,2$ Hz); 1,53-1,42 (m, 3H, CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (d_6 - CDCl_3 , 101 MHz, ppm): 203,7; 157,1; 134,2 134,0; 132,5; 130,5; 128,5; 127,8; 127,2; 126,4; 125,3; 124,5; 58,0; 52,9; 30,0; 13,6. Wydajność 69%.

Przykład 2: N-metylo-1-(1-naftylo)- 1-okso-2-propylokarbaminian fenylu:.



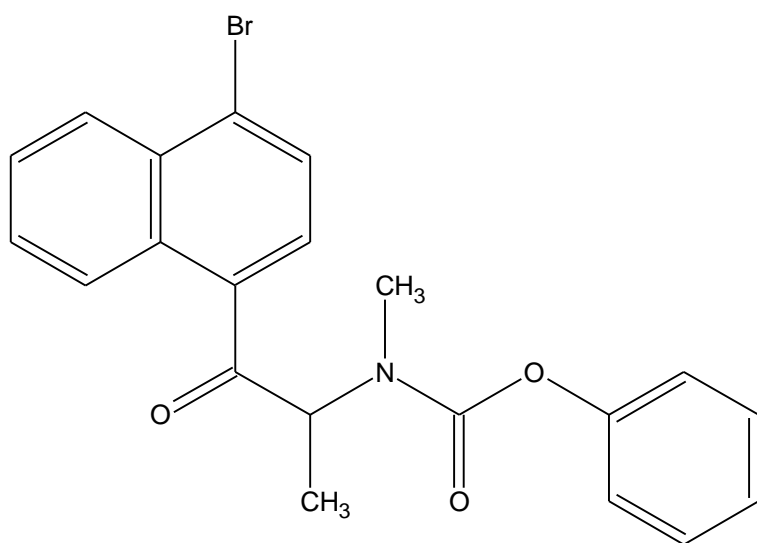
Według wzoru 1, X, R₁= CH₃, R₂= CH₃., R₃= Ar. ¹H-NMR (d₆- CDCl₃, 400 MHz, ppm): 8,38 (dd, 1H, aromat, J₁=56,8, Hz, J₂=8,6); 7,94 (ddd, 3H, aromat, J₁=28,4 Hz, J₂=14,9 Hz, J₃=7,9 Hz); 7,65-7,44 (m, 3H, aromat); 7,41-7,22 (m, 5H, aromat); 5,63 (gq, 1H, CH; J₁=103,9, Hz, J₂=7,0); 2,95-2,82 (m, 3H, CH₃); 1,50-1,45 (m, 3H, CH₃); ¹³C-NMR (d₆- CDCl₃, 101 MHz, ppm): 203,5; 156,4; 136,6; 134,2; 134,0; 132,5; 130,6; 128,5; 128,5; 128,5; 128,5; 127,9; 127,8; 127,6; 127,2; 126,4; 125,3; 124,5; 58,2; 30,2; 13,6. Wydajność 68%.

Przykład 3: N-metylo-1-[1-(4-chloronaftylo)]- 1-okso-2-propylokarbaminian fenylu.



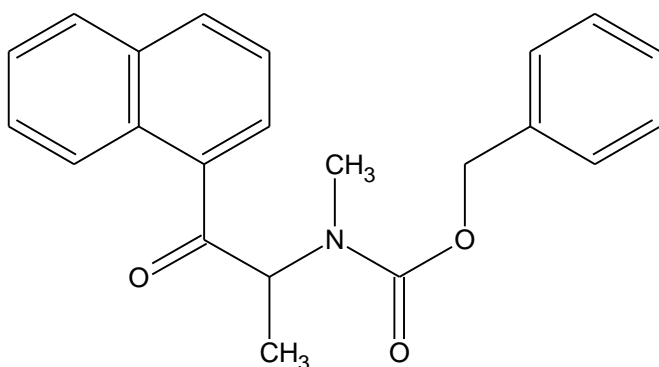
Według wzoru 1, X= 4'- Cl, R₁= CH₃, R₂= CH₃, R₃= Ar. ¹H-NMR (*d*₆- CDCl₃, 500 MHz, ppm): 8,50-8,35 (m, 2H, aromat); 7,87 (dd, 1H, aromat, J₁=73,5 Hz, J₂=7,8 Hz); 7,72-7,58 (m, 3H, aromat); 7,39-7,18 (m, 3H, aromat); 7,06-6,92 (m, 2H, aromat) 5,66 (dq, 1H, CH, J₁=63,0 Hz, J₂=7,0 Hz); 3,03 (d, 3H, CH₃, J=15,8); 1,54 (d, 3H, CH₃, J=7,1 Hz); ¹³C-NMR (*d*₆- CDCl₃, 126 MHz, ppm): 202,8; 155,2; 151,3; 136,7; 133,4; 131,7; 131,3; 129,3; 129,3; 128,6; 127,6; 127,0; 125,7; 125,5; 125,0; 124,8; 121,6; 121,6; 58,6; 30,9; 13,6. Wydajność 71%.

Przykład 4: N-metylo-1-[1-(4-bromonaftylo)]- 1-okso-2-propylokarbaminian fenylu.



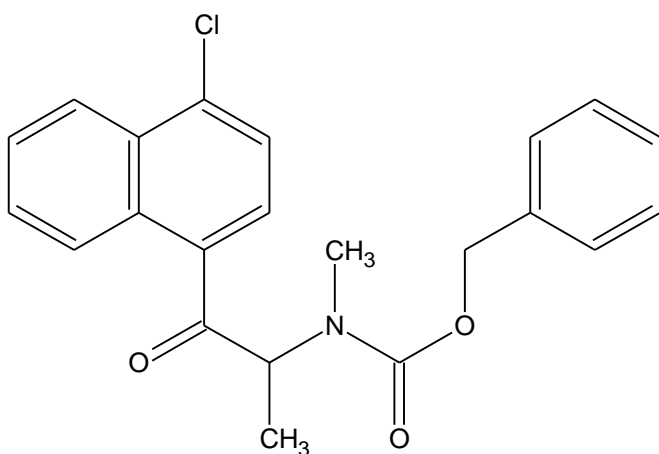
Według wzoru 1, X= 4'-Br, R₁= CH₃, R₂= CH₃, R₃= Ar. ¹H-NMR (*d*₆- CDCl₃, 500 MHz, ppm): 8,46-8,30 (m, 2H, aromat); 7,88-7,83 (m, 1H, aromat); 7,72-7,56 (m, 3H, aromat); 7,39-7,19 (m, 3H, aromat); 7,06-6,91 (m, 2H, aromat); 5,64 (dq, 1H, CH, J₁=61,2 Hz, J₂=7,1 Hz); 3,03 (d, 3H, CH₃, J=16,6); 1,54 (d, 3H, CH₃, J=7,1 Hz); ¹³C-NMR (*d*₆- CDCl₃, 126 MHz, ppm): 203,0; 155,2; 151,2; 134,3; 132,5; 131,6; 129,3; 129,3; 128,8; 128,6; 127,9; 127,8; 127,1; 126,2; 125,7; 125,5; 121,6; 121,6; 58,7; 30,9; 13,6. Wydajność 72%.

Przykład 5: N-metylo-1-(1-naftylo)- 1-okso-2-propylokarbaminian benzylu.



Według wzoru 1 $R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{CH}_3$, $R_3 = \text{CH}_2\text{Ar}$. $^1\text{H-NMR}$ (d_6 - CDCl_3 , 500 MHz, ppm): 8,48-8,27 (m, 1H, aromat); 7,95 (ddd, 3H, aromat; $J_1=35,0$ Hz, $J_2=16,7$ Hz, $J_3=9,3$); 7,65-7,45 (m, 3H, aromat); 7,41-7,22 (m, 5H, aromat); 5,63 (dq, 1H, CH, $J_1=130,5$ Hz, $J_2=7,0$ Hz); 5,24-5,02 (m, 2H, CH_2); 2,89 (d, 3H, CH_3 , $J=33,7$ Hz); 1,48 (dd, 3H, CH_3 , $J_1=7,0$ Hz, $J_2=3,9$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (d_6 - CDCl_3 , 126 MHz, ppm): 203,6; 156,4; 136,6; 134,2; 134,0; 132,6; 130,5; 128,5; 128,5; 127,9; 127,8; 127,8; 127,6; 127,6; 127,2; 126,4; 125,3; 124,5; 67,4; 58,2; 30,2; 13,6. Wydajność 68%.

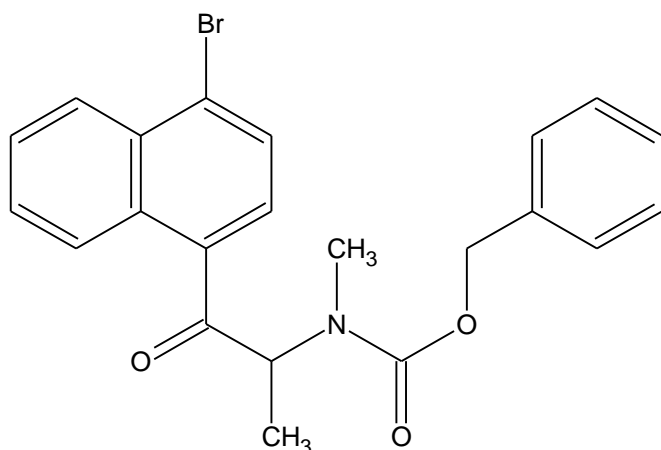
Przykład 6: N-metylo-1-[1-(4-chloronaftylo)]- 1-okso-2-propylokarbaminian benzylu.



Według wzoru 1, $X=4'$ -Cl, $R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{CH}_3$, $R_3 = \text{CH}_2\text{Ar}$. $^1\text{H-NMR}$ (d_6 - CDCl_3 , 400 MHz, ppm): 8,50-8,28 (m, 2H, aromat); 7,87 (d, 1H, aromat; $J=7,8$ Hz); 7,70-7,46 (m, 3H, aromat); 7,43-7,19 (m, 5H, aromat); 5,55 (dq, 1H, CH, $J_1=91,4$ Hz, $J_2=7,0$ Hz); 5,26-4,98 (m, 2H, CH_2); 2,88 (d, 3H, CH_3 , $J=30,1$ Hz); 1,48 (t, 3H, CH_3 , $J=5,8$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (d_6 - CDCl_3 , 101 MHz, ppm): 202,9; 156,3; 136,5; 136,4; 133,3; 131,7;

131,3; 128,7; 128,5; 128,5; 128,5; 128,5; 128,0; 127,6; 126,9; 126,2; 125,8; 124,9; 67,4; 58,3; 30,3; 13,4. Wydajność 72%.

Przykład 7: N-metylo-1-[1-(4-bromonaftylo)]- 1-okso-2-propylokarbaminian benzylu.



Według wzoru 1, X=4'-Br, R₁= CH₃, R₂= CH₃, R₃= CH₂Ar. ¹H-NMR (*d*₆- CDCl₃, 400 MHz, ppm): 8,47-8,22 (m, 2H, aromat); 7,78 (d, 1H, aromat; J=7,9 Hz.); 7,70-7,51 (m, 3H, aromat); 7,44-7,16 (m, 5H, aromat); 5,54 (dq, 1H, CH, J₁=89,1 Hz, J₂=7,0 Hz); 5,26-4,96 (m, 2H, CH₂); 2,88 (d, 3H, CH₃, J=29,8 Hz); 1,48 (t, 3H, CH₃, J=6,1 Hz); ¹³C-NMR (*d*₆- CDCl₃, 101 MHz, ppm): 203,0; 156,3; 136,5; 134,1; 132,5; 131,6; 128,7; 128,7; 128,5; 128,5; 128,5; 128,5; 128,0; 127,8; 127,7; 127,6; 127,0; 125,8; 67,4; 58,4; 30,4; 13,4. Wydajność 73%.

Otrzymane związki posiadają specyficzne właściwości hamowania aktywności cholinesteraz, przy czym część związków charakteryzuje większa zdolność inhibicji butyrylocholinoesteraz, niż acetylocholinoesteraz, co ma zastosowanie w metodach leczenia choroby Alzheimera. Nowa pochodna karbaminianów według wzoru nr 1 lub 2 stosowana jest do wytwarzania substancji czynnych przeznaczonych do leczenia choroby Alzheimera, jako selektywnych inhibitorów AChE lub BuChE.

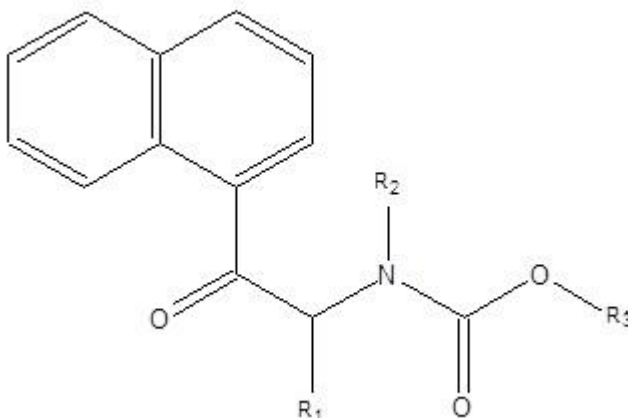
Aktywności otrzymanych związków i ich porównanie do aktywności obecnie stosowanych leków na Alzheimera przedstawia tabela 1.

Lp.	X	R1	R2	R3	Mw	AChE IC ₅₀ [μM]	BuChE IC ₅₀ [μM]	AChE/ BuChE
Metylokarbaminiany								

1	Naphtalene	CH ₃	CH ₃	CH ₃	271,311	126.82±1.74	150.36±7.13	0.84
Fenylokarbaminiany								
2	Naphtalene	CH ₃	CH ₃	Ar	333,380	99.58±5.88	12.72±0.19	7.83
3	4-Cl-naphtalene	CH ₃	CH ₃	Ar	367.825	30.64±1.57	13.54±0.47	2.26
4	4-Br-naphtalene	CH ₃	CH ₃	Ar	412,277	61.68±1.42	12.97±0.28	4.76
Benzylokarbaminiany								
5	Naphtalene	CH ₃	CH ₃	CH ₂ -Ar	347,407	105.20±0.99	18.94±0.18	5.55
6	4-Cl-naphtalene	CH ₃	CH ₃	CH ₂ -Ar	381.852	103.28±0.41	42.75±0.31	2.42
7	4-Br-naphtalene	CH ₃	CH ₃	CH ₂ -Ar	426,303	128.27±0.88	235.91±16.29	0,54
Wzorcowe związki o zastosowaniu medycznym								
1	Rywastygmina					56.1±1.41	38,4±1.97	1.46
2	Galantamina					1.54±0.02	2.77±0.15	0.56

Zastrzeżenia patentowe

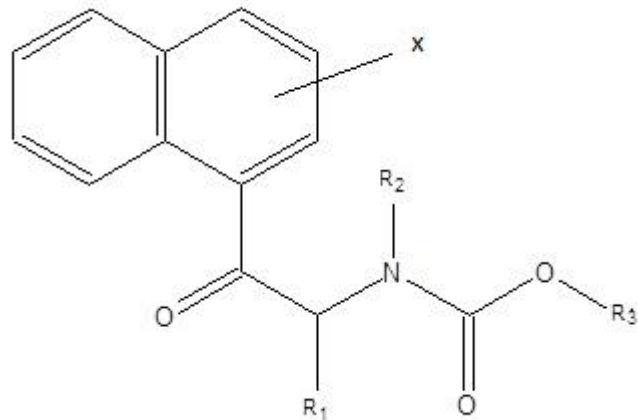
1. Nowa pochodna karbaminianów znamienne tym, że ma strukturę chemiczną



według wzoru 1

gdzie R1 stanowi grupę metylową, R2 – grupę metylową, R3 - grupę metylową, fenyłową lub benzylową.

2. Nowa pochodna wg zastrz. 1 zmienna tym, że ma strukturę chemiczną



według wzoru 2

w której pierścień naftalenowy posiada co najmniej jeden podstawnik x, korzystnie dwa podstawniki x, gdzie x stanowi halogen, alkil albo eter.

3. Zastosowanie nowych pochodnych karbaminianów określonych w zastrz. 1 lub 2 do wytwarzania substancji czynnych przeznaczonych do leczenia choroby Alzheimera, zwłaszcza jako selektywnych inhibitorów AChE lub BuChE.