



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP



(21) Patentansøgning nr.: 5059/83

(51) Int.Cl.⁴ C 07 D 409/14

(22) Indleveringsdag: 04 nov 1983

(41) Alm. tilgængelig: 07 maj 1984

(44) Fremlagt: 18 sep 1989

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 06 nov 1982 DE 3241102

(71) Ansøger: A. *NATTERMANN & CIE GMBH; Nattermannallee 1; D-5000 Koeln, DE

(72) Opfinder: Gerd *Hilboll; DE, Gerrit *Prop; DE, Harald *Borbe; DE, Josef Peter *Loehr; DE, Elisabeth-Stephanie *Doppelfeld; DE

(74) Fuldmægtig: Th. Ostenfeld Patentbureau A/S

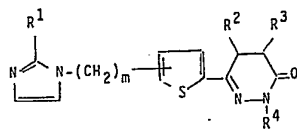
(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af imidazolylthien-2-yl eller imidazolylalkylthien-2-yl-tetrahydro-pyridaziner eller farmaceutisk acceptable salte deraf

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

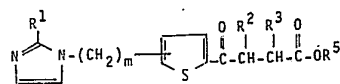
5059-83

Imidazolylalkylthien-2-yl-tetrahydro-pyridaziner med formelen



(I)

hvor R^1 , R^2 , R^3 og R^4 kan være ens eller forskellige og uafhængigt af hinanden betegner et hydrogenatom, en C_{1-4} lavere alkylgruppe eller en phenylgruppe, m betegner 0 eller et heltal fra 1 til 8 med undtagelse af forbindelser med 2,5-disubstitueret thiofenerest, hvor R^1 , R^2 , R^3 og R^4 samtidig betegner hydrogen, og m er forskellig fra 0, fremstilles ved, at man omsætter en 4-[(1-imidazolyl)-alkyl-thien-2-yl]-4-oxo-smørsyre eller en ester deraf med den almene formel



(II)

hvor m , R^1 , R^2 og R^3 har de i formel (I) angivne betydninger, og R^5 betegner hydrogen eller C_{1-6} alkyl, med en hydrazinforbindelse med formel (III)



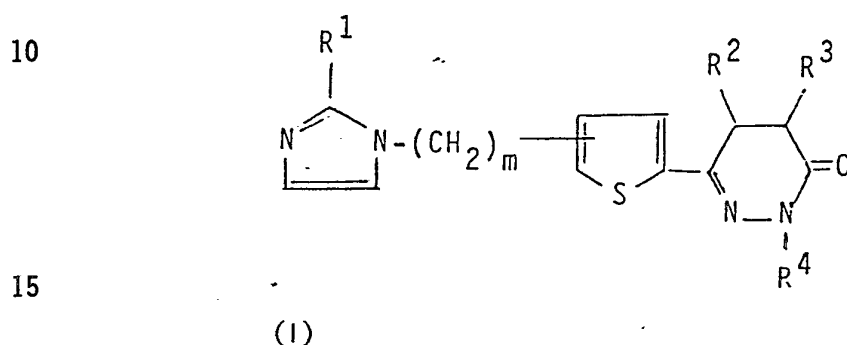
(III)

hvor R^4 har den i formel (I) angivne betydning, et hydrat eller salt deraf i vandige, vandig-alkoholiske eller alkoholiske medier eller i under de valgte betingelser indifferente opløsningsmidler såsom dioxan eller dimethylformamid eller blandinger deraf med vand eller alkohol, ved temperaturer på 30 til 150°C, fortrinsvis på 80 til 100°C, eventuelt ved hjælp af en af de til aminolyser og kondensationsreaktioner sædvanlige katalysatorer.

Forbindelserne med formel (I) har farmakologiske egenskaber, især blodtrykssænkende og antitrombotisk virkning.

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte imidazolylthienyl- eller imidazolylalkylthienyl-tetrahydropyridaziner og farmaceutisk acceptable salte deraf, hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved det i krav 1's kendetegnende del angivne. De ved fremgangsmåden fremstillede forbindelser er anvendelige som virksomt stof i lægemidler.

De fremstillede imidazolylthienyl- eller imidazolylalkylthienyl-tetrahydropyridaziner har den almene formel (I)



hvor R^1 , R^2 , R^3 og R^4 kan være ens eller forskellige og uafhængigt af hinanden betegner et hydrogenatom, en C_{1-4} alkylgruppe eller en phenylgruppe, mens m betegner 0 eller et heltal fra 1 til 8 med undtagelse af forbindelser med 2,5-disubstitueret thiophenrest, hvor R^1 , R^2 , R^3 og R^4 samtidig betegner hydrogen, og m er forskellig fra 0.

Særligt foretrukne er forbindelser med 2,5- eller 2,4-disubstituerede thiophenrester, hvor m er 0 og pyridazinringen bærer en methylgruppe i 5-stillingen.

Forbindelser fremstillet ifølge opfindelsen er eksempelvis:

- 6-[5-(1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-3-oxo-2-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin,
- 6-[4-(1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin,
- 30 6-[5-(1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin,
- 6-[5-(1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-2,5-dimethyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin,
- 35 6-[5-(2-methyl-1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin,
- 6-[4-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin.

Opfindelsen angår også fremstilling af syreadditionssaltene af forbindelser med formel (I). Syreadditionssalte er især farmaceutisk anvendelige, for eksempel sådanne med hydrogenchlorid, hydrogenbromid, svovlsyre eller phosphorsyre, eller med organiske syrer såsom tilsvarende carboxylsyrer for eksempel eddikesyre, propionsyre, oxalsyre, malonsyre, glykolsyre, ravsyre, maleinsyre, fumarsyre, æblesyre, citronsyre, vinsyre.

Forbindelserne med formel (I) indeholder et chiralitetscentrum i pyridazinringens 4- og 5-stillinger, når substituenterne R^2 og/eller R^3 er forskellige fra hydrogen, og kan herved foreligge som racemater eller i form af enantiomere. Såfremt en opspaltning af racematet ønskes, gennemføres dette hensigtsmæssigt på i og for sig kendt måde med en optisk aktiv syre, som for eksempel dibenzoylvinsyre eller campher-10-sulfonsyre over dannelsen af diastieromere salte eller ved kromatografi på optisk aktivt kolonnemateriale.

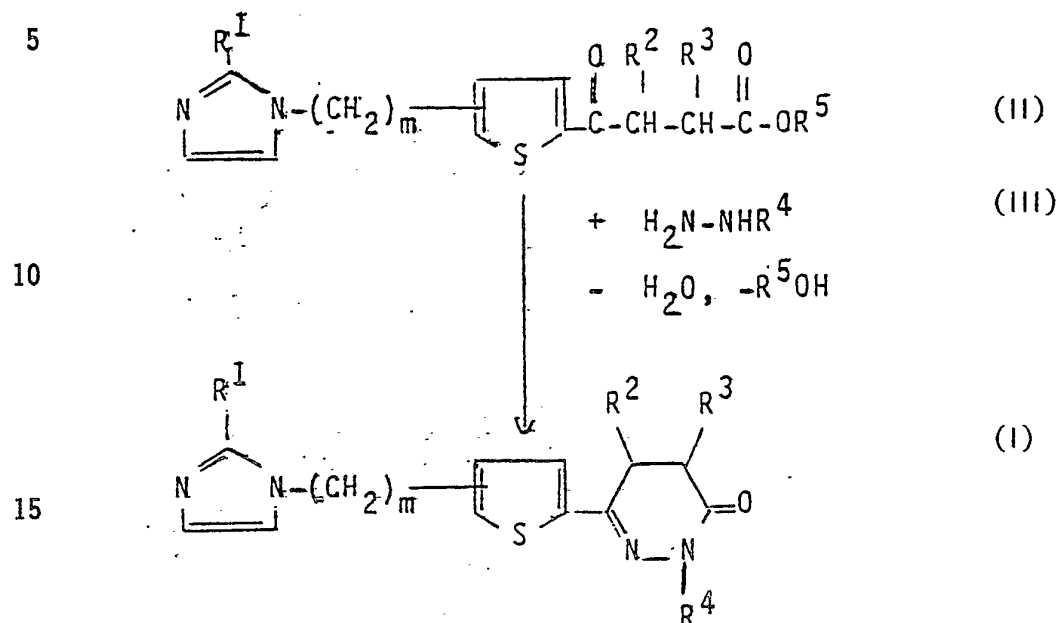
De omhandlede forbindelser med formel (I) besidder værdifulde farmakologiske egenskaber. Især udmærker de sig ved stærkt blodtryks-sænkende samt antitrombotisk virkning. Endvidere påvirker de arachidon-syre-metabolismen og udviser en antagonistisk virkning med hensyn til nogle af de via PAF (pladeaktiverende faktor) regulerede fysiologiske processer. Herudover udviser forbindelserne med formel (I) en gunstig påvirkning af astmatiske ulemper samt antirheumatisk og antiaterosklerotisk aktivitet. De kan derfor tjene til behandling af kardiovaskulære og tromboemboliske sygdomme, især hos mennesker.

Om ønsket kan forbindelserne med formel (I) kombineres med diuretika og betablokkere.

Fremstillingen af de omhandlede forbindelser med formel (I) sker ved omsætning af 4-[(1-imidazolylalkyl)-thien-2-yl]-4-oxo-smørsyrer eller alkylestere deraf med formel (II), hvori R^1 , R^2 , R^3 og m har de i formel (I) angivne betydninger, og R^5 betegner hydrogen eller C_{1-6} alkyl, med en hydrazinforbindelse med formel (III), hvori R^4 har den i formel (I) angivne betydning, et hydrat eller salt deraf såsom hydrochlorid, hydrogensulfat, sulfat og andet i vandige, vandig-alkoholiske, alkoholiske medier eller i under de valgte betingelser indifferente opløsningsmidler som for eksempel dioxan, toluen, dimethylformamid eller blandinger deraf med vand eller alkohol ved temperaturer fra 30 til 150°C, eventuelt ved hjælp af en af de til aminolyser og kondensationsreaktioner sædvanlige katalysatorer, som for eksempel bariumoxid,

fortrinsvis ved 80 til 100°C i ethanol eller vand.

Omsætningen belyses ved hjælp af følgende reaktionsskema:

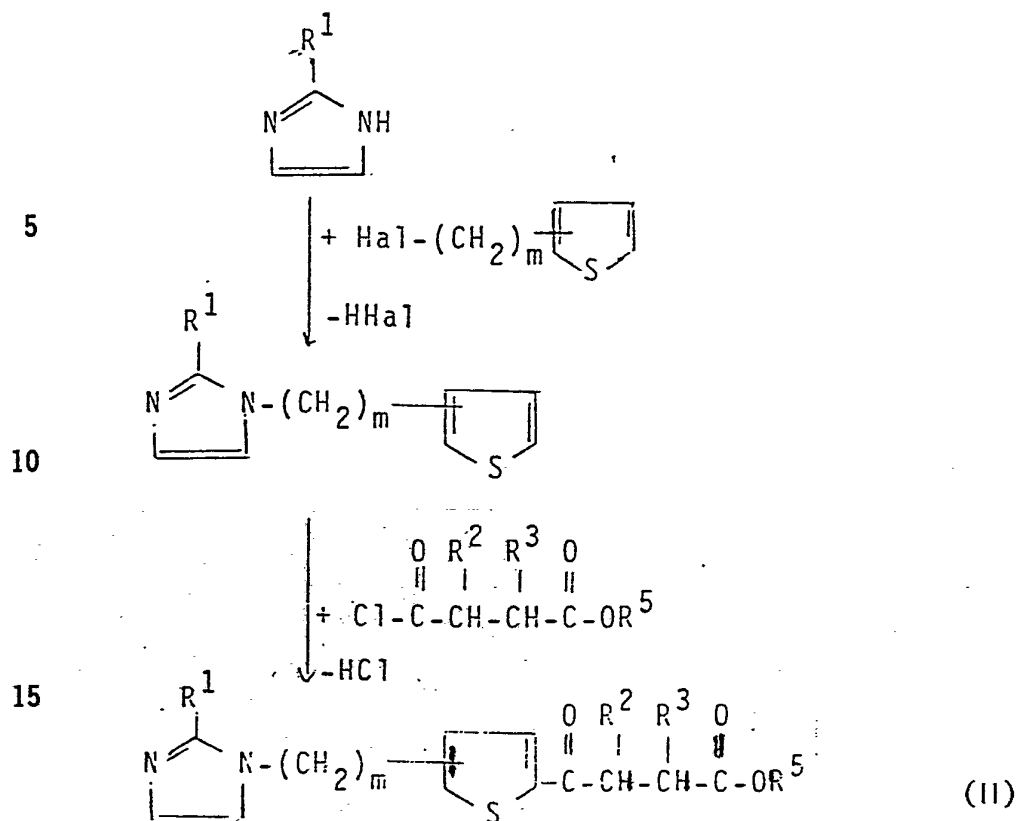


Fremstillingen af udgangsforbindelser med formel (II) sker på i og for sig kendt måde:

a) Udgangsforbindelser med formel (II) med m forskellig fra 0: 1-(ω -thienylalkyl)-imidazoler fremstilles ved alkylering af imidazoler med ω -halogenalkylthiophener eventuelt under tilsætning af et
25 zoler med ω -halogenalkylthiophener eventuelt under tilsætning af et organisk opløsningsmiddel som for eksempel dimethylformamid, under eventuel anvendelse af en hjælpebase som for eksempel natriumhydrid (DT-OS 29 33 649).

1-(ω -thienylalkyl)-imidazolerne omsættes i henhold til i og for
30 sig kendte fremgangsmåder (Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, bd. 7/2a, s. 257) med ravsyrealkylesterchlorid under tilsætning af et organisk opløsningsmiddel som for eksempel 1-2-dichlorethan, nitrobenzen, svovlkulstof, under anvendelse af en Friedel-Craft-katalysator som for eksempel aluminiumchlorid, til 4-[ω -(1-imidazolyl)-alkyl-
35 thien-2-yl]-4-oxo-smørsyrealkylesterne med formel (II), der på i og for sig kendt måde hydrolyseres til de tilsvarende 4-[ω -(1-imidazolyl)-alkyl-thien-2-yl]-4-oxo-smørsyrer.

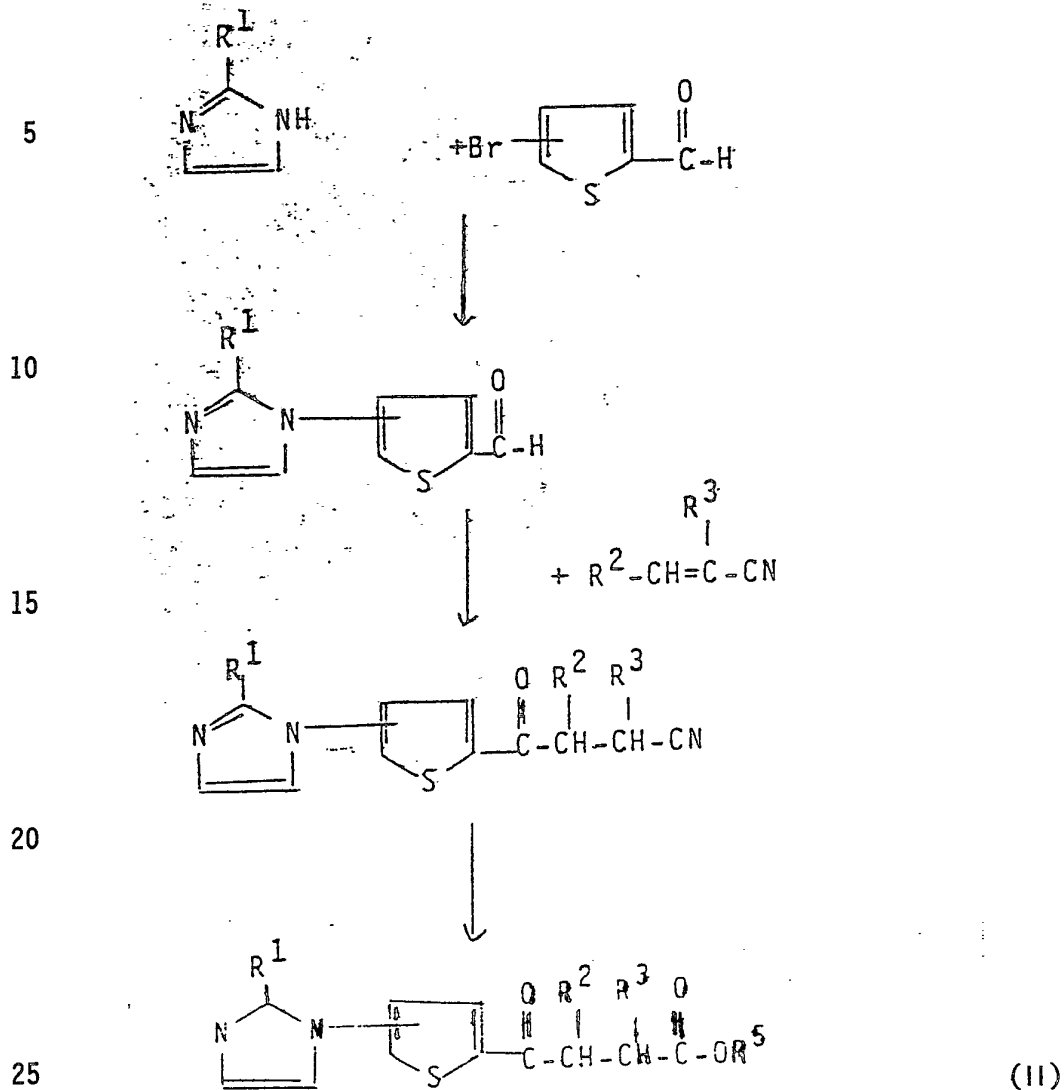
Omsætningerne forløber i henhold til følgende reaktionsskema:



20 b) Udgangsforbindelser med formel (II) med $m = 0$.

Bromthiophen-2-aldehyd omsættes med imidazoler under opvarmning med kaliumcarbonat i pyridin under kobberoxidkatalyse [analogt til J.B. Polya et al., J.Chem.Soc.C (1970), 85 ff] eller ved opvarmning med kaliumcarbonat i nitrobenzen under kobberbromidkatalyse [analogt med L.M. Sitkina, A.M. Simonov. C.A. 65 (1966), 13686 e] til 1-imidazolyl-thiophen-2-aldehyderne. Disse omsættes under katalytisk indvirkning af natriumcyanid [analogt med H. Stetter, Angew.Chem. 88 (1976), 695-736] med 2-alkensyrenitril til de tilsvarende 4-(1-imidazolyl-thien-2-yl)-4-oxo-smørsyrenitriler, som ved sur hydrolyse omdannes til 4-(1-imidazolyl-thien-2-yl)-4-oxo-smørsyrene med formel (II).

30 Omsætningerne forløber i henhold til følgende reaktionsskema:



30 Syreadditionssaltene af forbindelser med formel (I) med uorganiske eller organiske syrer kan fremstilles ved blanding af de til grund liggende imidazolylforbindelser med de tilsvarende syrer i vandige, vandig-organiske (for eksempel alkohol) eller organiske medier, som for eksempel alkoholer, alkohol-etherblandinger eller ether-petroleumsether-

35 blandinger ved temperaturer mellem 0 og 100°C.

Der kan fremstilles farmaceutiske præparater, som indeholder forbindelser med formel (I) eller farmaceutisk anvendelige syreadditionssalte af disse forbindelser. Sådanne farmaceutiske præparater kan være

udformet til enteral såsom oral eller rektal samt parenteral administrering og indeholder de farmaceutisk virksomme stoffer alene eller sammen med et sædvanligt, farmaceutisk anvendeligt bærer materiale. Fortrinsvis foreligger det farmaceutiske præparat af det virksomme stof i form af
 5 enkelt doser, som er afstemte efter den ønskede administrering som for eksempel tabletter, dragéer, kapsler, suppositorier, granulater, opløsninger, emulsioner eller suspensioner. Doseringen af forbindelserne ligger sædvanligvis mellem 1 og 500 mg pr. dosis, fortrinsvis mellem 5 og 150 mg pr. dosis, og kan administreres én eller flere gange, for-
 10 trinsvis 2 til 3 gange daglig.

Fremstillingen af de omhandlede forbindelser er nærmere belyst i de følgende eksempler. De angivne smeltepunkter blev målt med et Büchi 510-smeltepunktbestemmelsesapparat, og de er angivet med °C og er ikke korrigerede. IR-spektrene blev optaget med et Perkin Elmer 257 apparat
 15 eller et Nicolet NIC-3600 apparat, og massespektrene blev optaget med et Varian MAT-311-A (70 eV) apparat.

Eksempel 1

6-[5-(2-methyl-1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-3-oxo-2,3,4,5-tetra-
 20 hydro-pyridazin

En blanding af 3 g 4-[5-(2-methyl-1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-4-oxo-smørsyre, 0,54 ml hydrazinhydrat og 50 ml vand opvarmes 2 timer til 100°C. Efter afkøling frasuges det udfældede faste stof, vaskes med vand og tørres.

25 Udbytte: 1,4 g. Smeltepunkt: 133 til 135°C.

— IR (in KBr): 1665, 1605 cm^{-1} .

MS [m/e]: 274 (M^+ , 13%), 193 (100%), 151 (21%), 135 (10%), 122 (45%).

30 Eksempel 2

6-[5-(1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-2-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetra-
hydro-pyridazin

En blanding af 8,7 g 4-[5-(1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-4-oxo-smørsyre, 2,9 ml methylhydrazin og 100 ml vand opvarmes 2 timer til
 35 90°C. Efter afkøling frasuges det udfældede faste stof, opløses i chloroform, chloroformfasen vaskes med fortyndet natriumhydroxid og med vand, tørres over natriumsulfat og inddampes. Remanensen renses søjlekromatografisk (kieselgel//chloroform) og omkrystalliseres dernæst

fra ethanol.

Udbytte: 1,6 g. Smeltepunkt: 121°C.

IR (in KBr): 1637 cm⁻¹.

MS [m/e]: 274 (M⁺, 39%), 207 (100%), 165 (6%), 149 (13%), 137 (6%),
5 122 (13%).

Eksempel 3

6-[5-(1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-3-oxo-2-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin

10 En blanding af 2,64 g 4-[5-(1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-4-oxo-smørsyre, 1,12 g phenylhydrazin, 40 ml vand og 40 ml ethanol oprøres 10 timer under tilbagesvaling. Efter afkøling inddampes, remanensen rystes med chloroform/fortyndet natriumhydroxid, chloroformfasen vaskes med vand, tørres og inddampes. Remanensen omkrystalliseres fra
15 diisopropylether/eddikesyreethylester.

Udbytte: 160 mg. Smeltepunkt: 178°C.

IR (in KBr): 1628 cm⁻¹.

MS [m/e]: 336 (M⁺, 46%), 269 (73%), 122 (17%), 105 (74%), 77
(100%).

20

Eksempel 4

6-[4-(1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin

25 En blanding af 5,6 g 4-[4-(1-imidazolyl-methyl)-thien-2-yl]-4-oxo-smørsyre, 1,1 g hydrazinhydrat og 50 ml vand oprøres 2 timer til 90°C. Efter afkøling frasuges det udfældede faste stof, vaskes med vand og tørres.

Udbytte: 5,2 g. Smeltepunkt: 178 til 179°C.

IR (in KBr): 1670 cm⁻¹.

30 MS [m/e]: 260 (M⁺, 47%), 193 (100%), 131 (5%), 122 (9%).

Eksempel 5

6-[5-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin

35 a) 4-[5-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-3-methyl-4-oxo-smørsyre-nitril.
En blanding af 14,7 g 5-(1-imidazolyl)-thiophen-2-aldehyd (fremstillet analogt med J.B. Polya et al., Chem.Soc.C (1970), 85ff, smeltepunkt 105 til 107°C, 5,5 g 2-butensyrenitril, 0,81 g natriumcyanid og

200 ml dimethylformamid omrøres 16 timer ved 25°C under nitrogen-atmosfære. Efter tilsætning af vand ekstraheres med chloroform, chloroformfasen vaskes med vand, tørres, indampes, og reanensen renses ved søjlekromatografi (kieselgel//chloroform/methanol).

- 5 Udbytte: 9,4 g. Smeltepunkt: 112 til 114°C.
 IR (in KBr): 2245, 1648 cm^{-1} .
 MS [m/e]: 245 (M^+ , 37%), 177 (100%), 149 (17%), 122 (8%),
 105 (14%).

- 10 b) 4-[5-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-3-methyl-4-oxo-smørsyre.
 6,7 g oxosmørsyrenitril opvarmes i 50 ml 18% saltsyre 3 timer under tilbagesvaling. Efter afkøling med natriumhydroxid indstilles pH-værdien på 9, og der vaskes med chloroform. Dernæst indstilles pH-værdien på 6,5. Det udfældede faste stof frasuges og tørres. Filtratet
 15 indampes til et restvolumen på 80 ml og tilsættes uden yderligere rensning i næste trin.

- Udbytte: 0,45 g. Smeltepunkt: 180 til 182°C.
 IR (in KBr): 1721, 1638 cm^{-1} .
 MS [m/e]: 264 (M^+ , 30%), 177 (100%), 149 (17%), 122 (8%),
 20 105 (16%).

c) 6-[5-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin.

- Den vandige opløsning 5b) omrøres med 3 ml hydrazinhydrat 2 timer
 25 ved 90°C. Det ved afkøling udfældede faste stof omkrystalliseres fra en smule chloroform.

- Udbytte: 3,3 g. Smeltepunkt: 239 til 241°C.
 IR (in KBr): 1677 cm^{-1} .
 MS [m/e]: 260 (M^+ , 100%), 245 (12%), 203 (16%), 189 (14%),
 30 175 (6%), 149 (6%).

Eksempel 6

6-[5-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-2,5-dimethyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin.

- 35 En blanding af 400 mg oxosmørsyre fra eksempel 5b), 86 mg methylhydrazin og 10 ml vand omrøres 2 timer ved 90°C. Efter afkøling ekstraheres med chloroform, chloroformfasen indampes, og reanensen renses ved tyndtlagskromatografi (kieselgel-færdigplade 60 F 254, chloroform/-

methanol 90/10).

Udbytte: 14 mg. Smeltepunkt: 134 til 136°C.

Rf-værdi: 0,53.

MS [m/e]: 274 (M⁺, 100%), 259 (4%), 203 (16%), 189 (20%),

5 163 (6%), 71 (21%).

Eksempel 7

6-[5-(2-methyl-1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin

10 En blanding af 1 g 5-(2-methyl-1-imidazolyl)-thiophen-2-aldehyd (smeltepunkt 86 til 88°C), 700 mg 2-butensyrenitril, 41 mg natriumcyanid og 25 ml dimethylformamid omrøres i 3 dage under nitrogenatmosfære. Efter tilsætning af vand ekstraheres med chloroform, den organiske fase vaskes med vand, tørres og inddampes. Den tilbageblevne remanens (300

15 mg) holdes med 20 ml 18% saltsyre i 2 timer på tilbagesvalings-temperatur. Efter afkøling indstilles pH-værdien på 9 med natriumhydroxid, der ekstraheres med chloroform, og den vandige fase indstilles på pH-værdi 7 med fortyndet saltsyre. Efter indampning til et restvolumen på 50 ml tilsættes 0,5 ml hydrazinhydrat og blandingen omrøres

20 18 timer ved 90°C. Efter afkøling ekstraheres med chloroform, inddampes, og remanensen renses kromatografisk (kieselgel-færdigplade 60 F 254, chloroform/methanol 90/10).

Udbytte: 30 mg. Smeltepunkt: 195 til 197°C.

Rf-værdi: 0,5.

25 MS [m/e]: 274 (M⁺, 100%), 259 (9%), 217 (10%), 206 (16%).

Eksempel 8

6-[4-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin

30 a) 4-[4-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-3-methyl-4-oxo-smørsyre-nitril.

Analogt med eksempel 5a) gennemføres reaktionen med 6 g 4-(1-imidazolyl)-thiophen-2-aldehyd (smeltepunkt 127 til 130°C), 2,3 g 2-butensyrenitril, 0,45 g natriumcyanid og 50 ml dimethylformamid.

35 Udbytte: 3,9 g. Smeltepunkt: 113°C.

IR (in KBr): 2252, 1654 cm⁻¹.

MS [m/e]: 245 (M⁺, 38%), 177 (100%), 149 (11%), 122 (5%),

105 (12%).

b) 4-[4-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-3-methyl-4-oxo-smørsyre.

67 g oxosmørsyrenitril fra eksempel 8a) opvarmes i 600 ml 16% saltsyre 5 timer under tilbagesvaling. Efter afkøling indstilles
5 pH-værdien på 6,4 med 6N natriumhydroxid, det udfældede faste stof frasuges, vaskes med vand og tørres.

Udbytte: 63,6 g. Smeltepunkt: 230 til 231°C.

IR (in KBr): 1718, 1668 cm^{-1} .

MS [m/e]: 264 (M^+ , 39%), 195 (12%), 177 (100%), 149 (13%),
10 122 (5%), 105 (11%).

c) 6-[4-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin.

26,4 g oxosmørsyre fra eksempel 8b) omrøres med 6 g hydrazinhydrat
15 i 200 ml vand 2 timer under tilbagesvaling. Det i varmen udfældede produkt frasuges varmt, vaskes med vand og tørres.

Udbytte: 17,7 g. Smeltepunkt: 225°C.

IR (in KBr): 1671 cm^{-1} .

MS [m/e]: 260 (M^+ , 100%), 245 (10%), 217 (3%), 203 (19%), 189
20 (16%), 176 (7%), 148 (7%), 121 (5%).

Eksempel 9

6-[5-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin

25 En blanding af 200 mg 6-[5-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin og 89 mg fumarsyre opvarmes i 50 ml ethanol til opløsning. Dernæst inddampes og reanensen tørres.

Udbytte: 214 mg. Smeltepunkt: 188 til 190°C (dek.).

IR (in KBr): 1708, 1650, 1615 cm^{-1} .

30

Analogt med eksempel 9 kan fremstilles eksempelvis oxalater, succinater, malonater, citrater, tartrater, o.s.v. samt uorganiske salte såsom hydrochlorider, hydrogensulfater, o.s.v.

35 Biologisk afprøvning

Følgende forbindelser undersøgte og sammenlignedes.

Forbindelse A: 6-[4-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-

Forbindelse A: 6-[4-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin (eksempel 8).

Forbindelse B: 6-[5-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin (eksempel 5).

Forbindelse C: 6-[5-(1-imidazolylmethyl)-thien-2-yl]-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin (beskrevet i US patent nr. 4.504.479).

10 Forbindelse D: 6-(5-[5-(1-imidazolyl)-penty]-thien-2-yl)-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin (beskrevet i US patent nr. 4.504.479).

Forbindelse E: 6-(5[2-(1-imidazolyl)-ethyl]-thien-2-yl)-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin (beskrevet i US patent nr. 4.504.779).'

15

Forbindelserne afprøvedes for aktivitetet mod blodpladeaggregation og for kardiovaskulær aktivitet.

20

Inhibering af den med kollagen inducerede aggregation af humane blodplader

Blodpladeaggregation målt i humant blodpladeberiget plasma (PRP).
25 Blodprøver tappedes fra henholdsvis 2 mandlige og 2 kvindelige sunde frivillige, der var ædru og ikke havde indtaget nogen medikamenter indenfor mindst én uge før undersøgelsen. Blodprøverne opsamledes i plastsprøjter indeholdende en opløsning af natriumcitrat (slutkoncentration 0,38%). Herfra udvandt stort PRP efter centrifugering i 10
30 minutter ved 200 G. Blodpladefattigt plasma blev derefter tilsat til opnåelse af en blodpladekoncentration på $4-5 \times 10^4$ /ml.

Aggregationen induceredes med kollagen (slutkoncentration 1 mg/ml) og målte turbidometrisk i et aggregometer. Ekstinktionsændringen registreredes kontinuerligt i et tidsrum på 15 minutter efter aggregationens begyndelse. Aggregationen beregnedes som arealet under aggregationskurven. Til bestemmelse af inhiberingen præ-inkuberedes PRP i 15
35 minutter med testforbindelserne. Koncentrationerne af sidstnævnte udgjorde indtil 10^6 mol/liter.

cerede 50% inhibering af aggregationen, bestemtes. Forbindelserne afprøvedes som hydrochloridsalte i den ovenfor beskrevne model. Resultaterne viste en udtalt forskel i aktiviteten af forbindelse A og C. For forbindelse A fremstillet ifølge opfindelse kunne en IC_{50} -værdi på $4,6 \times 10^{-8}$ mol/liter beregnes. Med forbindelse C kendt fra ovennævnte US patentskrift iagttoges ingen inhibering af aggregation ved koncentrationer på indtil 10^{-6} mol/liter. IC_{50} -værdien for forbindelse C er derfor afgjort højere end 10^{-6} mol/liter.

10 Cardiovaskulær aktivitet

Testforbindelserne er endvidere undersøgt med hensyn til den cardiovaskulære aktivitet. Testforbindelserne administreredes ved hjælp af sonde til fastende normotensive rotter. To timer efter administrering anæstetiseredes testdyrene med pentobarbital-natrium og arterielt blodtryk og hjertefrekvens målt. De fra ovennævnte US patentskrift kendte forbindelser C, D og E udviste ingen relevant cardiovaskulær aktivitet, idet disse forbindelser f.eks. ved den højeste afprøvede dosis (3,16 mg/kg) kun i ringe grad påvirkede blodtrykket med henholdsvis -3%, -10% og +5%.

20 Begge de ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser A og B udviste aktivitet i denne model. Resultaterne fremgår af tabel 1 og 2.

Tabel 1

Indvirkning af forbindelse A på arterielt middelblodtryk (mmHg) hos anæstetiserede normotensive rotter (gennemsnit \pm middeļ fejl, n=5)

Dosis (mg/kg)	MAP (mmHg)	$\Delta\%$ sammenlignet med kontrolgruppe
30	-----	
Kontrol	124,6 + 10,3	
0,316	131,4 + 3,0	+ 5
1,0	80,4 + 4,0**	-35
35	-----	
Kontrol	120,8 + 4,6	
3,16	59,8 + 3,0***	-50

** p = 0,005-0,05

*** p = <0,0005

5

Tabel 2

Indvirkning af forbindelse B på arterielt middelblodtryk (mmHg) hos
anæstetiserede normotensive rotter (gennemsnit \pm middelfejl, n=5)

10	Dosis (mg/kg)	MAP (mmHg)	$\Delta\%$ sammenlignet med kontrolgruppe
	Kontrol	124,6 \pm 10,3	
15	0,316	137,6 \pm 5,7	+10,4
	1,0	92,6 \pm 6,0	-25,7
	Kontrol	120,8 \pm 4,6	
	3,16	62,6 \pm 4,3	-48,2

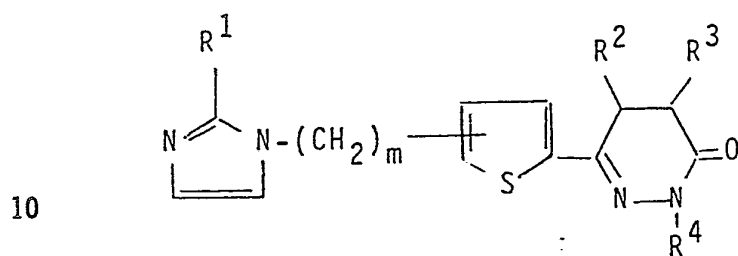
20

I denne model påvirkedes hjertefrekvensen ikke af nogen af de omhandlede forbindelser.

Patentkrav

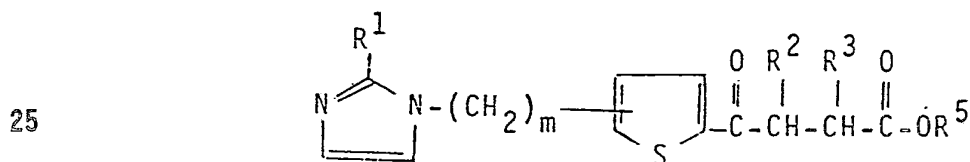
1. Analogifremgangsmåde til fremstilling af imidazolylthien-2-yl- eller imidazolylalkylthien-2-yl-tetrahydropyridaziner med den almene formel (I)

5



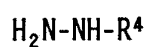
(I)

hvor R^1 , R^2 , R^3 og R^4 kan være ens eller forskellige og uafhæn-
 15 gigt af hinanden betegner et hydrogenatom, en C_{1-4} alkylgruppe eller en phenylgruppe, m betegner 0 eller et heltal fra 1 til 8 med undtagelse af forbindelser med 2,5-disubstitueret thiophenrest, hvor R^1 , R^2 , R^3 og R^4 samtidig betegner hydrogen, og m er forskellig fra 0, eller farmaceutisk acceptable salte deraf, KENDETEGNET ved, AT man omsætter en
 20 4-[(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-4-oxo-smørsyre eller 4-[(1-imidazolyl)-alkyl-thien-2-yl]-4-oxo-smørsyre eller en ester deraf med den almene formel



(II)

30 hvori m , R^1 , R^2 og R^3 har de i formel (I) angivne betydninger, og R^5 betegner hydrogen eller C_{1-6} alkyl, med en hydrazinforbindelse med formel (III)



35

(III)

hvor R^4 har den i formel (I) angivne betydning, et hydrat eller salt

deraf i vandige, vandig-alkoholiske eller alkoholiske medier eller i under de valgte betingelser indifferente opløsningsmidler såsom dioxan eller dimethylformamid eller blandinger deraf med vand eller alkohol, ved temperaturer på 30 til 150°C, fortrinsvis på 80 til 100°C, eventuelt
5 i nærvær af en af de til aminolyser og kondensationsreaktioner sædvanlige katalysatorer, hvorpå et opnået produkt om ønsket omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt deraf.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1 KENDETEGNET ved, AT man udfra de tilsvarende udgangsmaterialer fremstiller 6-[5-(2-methyl-1-imidazolyl)-
10 methyl)-thien-2-yl]-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin eller farmaceutisk acceptable salte deraf.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 KENDETEGNET ved, AT man udfra de tilsvarende udgangsmaterialer fremstiller 6-[5-(1-imidazolyl-methyl)-
thien-2-yl]-2-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin eller farmaceutisk
15 tisk acceptable salte deraf.

4. Fremgangsmåde ifølge krav 1 KENDETEGNET ved, AT man udfra de tilsvarende udgangsmaterialer fremstiller 6-[5-(1-imidazolyl-methyl)-
thien-2-yl]-3-oxo-2-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin eller farmaceutisk
tisk acceptable salte deraf.

20 5. Fremgangsmåde ifølge krav 1 KENDETEGNET ved, AT man udfra de tilsvarende udgangsmaterialer fremstiller 6-[4-(1-imidazolyl-methyl)-
thien-2-yl]-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin eller farmaceutisk
acceptable salte deraf.

6. Fremgangsmåde ifølge krav 1 KENDETEGNET ved, AT man udfra de
25 tilsvarende udgangsmaterialer fremstiller 6-[5-(1-imidazolyl)-thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin eller farmaceutisk
acceptable salte deraf.

7. Fremgangsmåde ifølge krav 1 KENDETEGNET ved, AT man udfra de tilsvarende udgangsmaterialer fremstiller 6-[5-(1-imidazolyl)-thien-2-
30 yl]-2,5-dimethyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin eller farmaceutisk
acceptable salte deraf.

8. Fremgangsmåde ifølge krav 1 KENDETEGNET ved, AT man udfra de tilsvarende udgangsmaterialer fremstiller 6-[5-(2-methyl-1-imidazolyl)-
thien-2-yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin eller farma-
35 ceutisk acceptable salte deraf.

9. Fremgangsmåde ifølge krav 1 KENDETEGNET ved, AT man udfra de tilsvarende udgangsmaterialer fremstiller 6-[4-(1-imidazolyl)-thien-2-
yl]-5-methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin eller farmaceutisk

acceptable salte deraf.

5

10

15

20

25