[B] (11) **UTLEGNINGSSKRIFT** Nr. 139733

NORGE
[NO]

STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

(51) Int. Cl.³ C 07 C 87/06

(21) Patentsøknad nr. 751771
(22) Inngitt 16.05.75
(23) Løpedag 16.05.75

(41) Alment tilgjengelig fra 21.11.75
(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 22.01.79

(30) Prioritet begjært 20.05.74, Belgia, 815273

(54) Oppfinnelsens benevnelse

Analogifremgangsmåte for fremstilling av terapeutisk aktive derivater av metylamin.

(71)(73) Søker/Patenthaver
LABAZ,
39, avenue Pierre ler de Serbie,
F-Paris 8e,
Frankrike.

(72) Oppfinner
CHARLES PIGEROL, Saint-Ouen,
PIERRE EYMARD, Fontaine,
JEAN-CLAUDE VERNIERES, La Tronche,
JEAN-PIERRE WERBENEC, Seyssinet,
Frankrike.

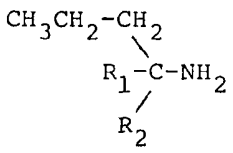
(74) Fullmektig
Cand. mag. Johan H. Gørbitz,
Bryn & Aarflot A/S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner
J.A.C.S. 65 (1943) s. 87-89
J.A.C.S. 71 (1949) s. 3352-53
C.A. 59 : 15808c

139733

Foreliggende oppfinnelse vedrører en analogifremgangsmåte for fremstilling av farmakologisk aktive derivater av n-butylamin.

De farmakologisk aktive forbindelser som fremstilles i henhold til oppfinnelsen, er de farmasøytisk aktive syre-addisjonssalter av n-butylaminderivatene med den generelle formel



I

hvor R_1 betyr etyl eller n-propyl og R_2 betyr

a) etyl, n-propyl, isopropyl, isobutyl eller tert-butyl når R_1 er n-propyl, eller

b) n-butyl eller isobutyl når R_1 er etyl,

med unntagelse av 1,1-di-n-propyl-n-butylamin-pikrat.

De farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter av forbindelsene med formel I kan være de syreaddisjonssalter som erholdes med en uorganisk syre, f.eks. saltsyre, eller med en organisk syre hvori det fri karboksyl er festet til et mettet eller umettet alifatisk radikal, eller et aromatisk eller aralkyl-radikal som eventuelt kan inneholde en annen karboksylgruppe, så som f.eks. fumarsyre.

Tri-n-propylmetylamin eller 1,1-di-n-propyl-n-butylamin i fri baseform er beskrevet av SPERBER et al. i J. Amer. Chem. Soc., 71, 3352 (1949), hvor det er angitt at den er "mindre spasmolytisk og mer toksisk enn de tilsvarende trialkyletylaminer". Her er det mer et spørsmål om muskulotropisk antispasmodisk aktvitet så som poengtert i den angjeldende henvisning.

Uavhengig av det faktum at den informasjon som tilveiebringes i denne publikasjon med hensyn til denne forbindelse fullstendig mangler nøyaktighet, så er det ingen ting i denne test som endog svakt antyder den aktivitet som, i lys av foreliggende oppfinnelse, generelt kan tilskrives forbindelsene med formel I og spesielt farmasøytisk godtagbare syreaddisjonssalter av tri-n-propylmetylamin.

Publikasjonen vedrørende den spasmolytiske aktivitet som således tilskrives det angjeldende metylaminderivat gir i virkeligheten ikke noen som helst detaljer med hensyn til aktivitetsgrad og den gjør heller ikke noen hentydning til den metode hvorved den spasmolytiske aktivitet ble vist. Videre er det ikke angitt noen data vedrørende toksisitet. Den farmasøytiske informasjon publisert av SPERBER et al. er derfor for ubestemt til å muliggjøre noen som helst slutning om at tri-n-propylmetylamin-base har tilstrekkelig spasmolytisk aktivitet ved ikke-toksiske doser til å gjøre den skikket til å anvendes som terapeutisk middel.

Ved forløpet av de farmasøytiske forsøk som ble utført med forbindelsene med formel I, ble den spasmolytiske aktivitet til tri-n-propylmetylamin eller 1,1-di-n-propyl-n-butylamin undersøkt "in vitro". I fullt samsvar med resultatene til SPERBER et al. ble det iakttatt at den spasmolytiske aktivitet til denne forbindelse er svært svak, i virkeligheten praktisk talt ikke-eksisterende siden den er 20.000 til 25.000 ganger svakere enn tilsvarende for atropin. Av dette kan det være rimelig å slutte at den spasmolytiske aktivitet til tri-n-propylmetylamin må utøves "in vivo" ved doser som er ytterst giftige.

Farmakologiske forsøk utført "in vivo" har i virkeligheten vist at tri-n-propylmetylamin-base, i likhet med forbindelsene fremstilt ifølge oppfinnelsen, utøver en virkning mot Parkinson's sykdom og de ekstrapyramidale forstyrrelser forårsaket av neuroleptiske midler.

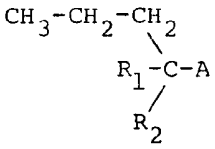
Det ble imidlertid påvist at ved de doser hvor tri-n-propylmetylamin base utøver en slik virkning, dvs. ved doser langt under den toksiske dose, har denne forbindelse ikke spasmolytisk aktivitet.

Det kan derfor sies at anvendelse av tri-n-propylmetylamin som terapeutisk middel aldri er beskrevet tidligere.

Det er nu overraskende funnet at farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter av tri-n-propylmetylamin utøver en meget

spesifikk virkning ved behandling av Parkinson's sykdom og ved korrigering av ekstra-pyramidale forstyrrelser fremkalt med neuroleptiske midler, idet denne virkning er bedre enn den som er registrert for tri-n-propylmetylamin-base, særlig når det tilsvarende hydroklorid og sure fumarat anvendes.

De farmasøytisk godtagbare syreaddisjonssalter av forbindelsene med formel I kan fremstilles ved at et isocyanat eller et N-formylamin med den generelle formel:



II

hvor R_1 og R_2 har de samme betydninger som under formel I, og

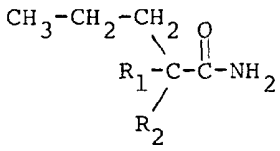
A betyr gruppen N=C=O eller $NH-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H$, i et passende medium, behandles med en sterk syre som er i stand til å gi et farmasøytisk godtagbart salt, som f.eks. saltsyre eller svovelsyre, for å danne det tilsvarende syreaddisjonssalt av den ønskede forbindelse med formel I, som eventuelt kan omsettes med et alkalimetall-hydroksyd så som natriumhydroksyd, for å danne forbindelsen med formel I i form av den frie base som derefter omsettes med en passende organisk eller uorganisk syre for å danne et forskjellig farmasøytisk godtagbart syreaddisjonssalt.

Behandlingen av forbindelsen med formel II med syren kan foretas ved anvendelse av reaksjonskomponentene ved en temperatur mellom 15 og 100°C, fortrinnsvis mellom 50 og 90°C.

Forbindelsene med formel II kan fremstilles på forskjellige måter, nemlig:

a) Når A betyr radikalet N=C=O:

ved å omsette et acetamidderivat med den generelle formel:

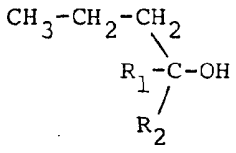


III

hvor R_1 og R_2 har de samme betydninger som i formel II, med klor eller brom i et alkalisk medium, så som f.eks. i en vandig løsning av natrium- eller kaliumhydroksyd,

b) når A betyr radikalet $NH-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-H$:

ved å oppvarme en tertiær alkohol med den generelle formel:



IV

hvor R_1 og R_2 har de samme betydninger som angitt for de ovennevnte forbindelser med formel II, med et alkalisk cyanid, så som f.eks. natrium- eller kaliumcyanid, i nærvær av en syre så som f.eks. svovelsyre.

Forbindelsene med formel III kan erholdes ved å omsette vannfri ammoniakk med de tilsvarende syrer eller fortrinnsvis med halogenidene av disse syrer. Syrene kan fremstilles fra de tilsvarende alkoholer og maursyre i et svovelsyremedium.

Forbindelsene med formel IV er enten kjente forbindelser eller de kan fremstilles i samsvar med kjente fremgangsmåter, så som f.eks. ved å omsette en organo-litium-forbindelse med et passende keton i et vannfritt eter-medium så som f.eks. tetrahydrofuran.

Det er blitt oppdaget at de farmasøytisk godtagbare syreaddisjonssalter av n-butylaminderivatene med formel I er i besittelse av verdifulle farmakologiske egenskaper som er passende for å gjøre dem nyttige ved human og veterinær terapi.

Spesielt har det blitt funnet at forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen gir sentral-noradrenergiske og sentral-dopaminergiske egenskaper. Disse sistnevnte egenskaper gir seg uttrykk ved en inhiberende virkning på reserpin-indusert og ved neuroleptiske midler indusert katatoni og katalepsi.

Farmakologiske forsøk som er utført med forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen, viser at tri-n-propylmetylamin-hydroklorid eller 1,1-di-n-propyl-n-butylamin-hydroklorid har en markert aktivitetsgrad, som er bedre enn for den frie base. Men det ble overraskende og ganske uventet iakttatt at det sure fumarat av 1,1-di-n-propyl-n-butylamin gir en aktivitetsgrad som er endog markert større enn aktivitetsgraden til det tilsvarende hydroklorid. Det ble i virkeligheten iakttatt at det sure fumarat av 1,1-di-n-propyl-n-butylamin er fra 20 til 40% mer aktiv enn det tilsvarende hydroklorid ved tester som vedrører reserpin-indusert og ved neuroleptiske midler indusert katatoni.

Videre ble det iakttatt ved doser som fullstendig undertrykker ved nevroleptiske midler indusert katatoni og katalepsi, at forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen ikke innvirker på anti-amfetamin-effektene av de nevroleptiske midler i rotter og deres anti-apomorfin-effekter i hunder. Videre har forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen ingen emetisk virkning på hunder ved noen som helst doser, og er ikke cholinolytiske midler.

Disse farmakologiske egenskaper tilsammen gjør forbindelsene med formel I nyttige ved behandling av Parikinson's sykdom og også til å bøte på ekstra-pyramidale forstyrrelser fremkalt av nevroleptiske midler.

Parkinson's sykdom er en kronisk og progressiv sykdomstilstand som spesielt er karakterisert ved en dopamin-mangel i synsnervenes nervecellegrupper i hjernen og i caudat og linsekjerne, med akinesi, stivhet og skjelving som synlige symptomer.

Det har allerede blitt foreslått mange aktive medikamenter for å bekjempe Parkinson's sykdom. De fleste av disse produkter er indre anti-cholinergiske midler med ytre anti-cholinergiske effekter. Disse forbindelser er av naturlig opprinnelse, så som f.eks. atropin, eller de er erholdt syntetisk, så som for eksempel dietazin, benztropin eller triheksyfenidyl.

Men disse medikamenter kan gi uønskede bivirkninger som i de fleste tilfeller skyldes deres ytre anti-cholinergiske egenskaper, og slike bivirkninger ytrer seg for eksempel med tørrhet i munnen, vanskelighet med optisk tillempning, tachykardi, forstoppelse og tilbakeholdelse av urin. Disse produkter vil derfor bli kontraindikert i tilfeller med grønn stær og hypotrofi ved prostata.

L-dopa eller levodopa, en forløper for dopamin, har også blitt foreslått ved parkinsonisme. Men på bakgrunn av dens delvise ødeleggelse i fordøyelsessystemet må L-dopa administreres ved svært høye doser, hvilket svært ofte gir uønskede bivirkninger. Den mest alvorlige av disse bivirkninger er kardiovaskulær av natur og har spesielt form av forstyrrelser i kardiarytme og ortostatisk hypotensjon. Pasienter som er behandlet med L-dopa må derfor ikke gis kontraindikasjoner på kardia-planet.

I senere tid har amantadin, dvs. 1-amino-adamantan, blitt foreslått ved antiparkinsonsk terapi. Dette produkt, som stimulerer frigivelse av dopamin, er svært aktivt, men frembringer flere uønskede bivirkninger og også minsket aktivitet efter en viss tidsperiode.

Av denne årsak er det svært vanskelig for en lege å velge det blant de forskjellige antiparkinsonske medikamenter som vil være effektivt for det tilfellet som behandles. Hver pasient må betraktes som et individuelt tilfelle. Alle de kjente metoder til å behandle Parikinsons sykdom er symptomatiske og på tross av den anvendte medisinske behandling fortsetter sykdommen å utvikle seg. Behandling av parkinsonisme krever suksessiv anvendelse av en eller flere terapeutiske substanser og det er ofte nødvendig å gjøre bruk av terapeutiske cykluser. Ofte må to antiparkinsonske midler administreres samtidig, og det ene blir betraktet som basis-medikamentet og det andre som et hjelpe- eller tilleggs-medikament. Siden behandlingen er av lang varighet, er det dessuten nødvendig med alternerende anvendelse av forskjellige produkter.

Forskningen efter nye antiparkinsonske midler er derfor av stor viktighet. Fra dette synspunkt vil forbindelsene fremstilt ifølge oppfinnelsen utgjøre verdifulle tillegg til antiparkinsonsk terapi, siden det nå ikke foreligger noe ideelt middel for behandling av denne sykdom, som detaljert forklart ovenfor.

Forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen vil følgelig utgjøre verdifulle tillegg til det terapeutiske arsenal som står til disposisjon for legen, og vil tilveiebringe nyttige erstatnings-medisiner for ethvert medikament som av en eller annen grunn har blitt ineffektivt, så som ved forandring av pasientens tilstand eller ved tilvenning.

Selv om det farmakologiske spektrum til forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen er svært likt spekteret til amantadin, så har farmakologiske forsøk utført med de farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter av forbindelsene med formel I vist markerte forskjeller sammenlignet med amantadin. F.eks., når man sammenligner dosene av forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen og av amantadin som har en viss aktivitetsgrad, har det blitt iakttatt at den angjeldende aktive dose alltid er forholdsmessig lenger fra den toksiske dose når det dreier seg om forbindelser fremstilt i henhold til oppfinnelsen, enn når det dreier

seg om amantadin. Med andre ord er den sikkerhetsmargin som fåes ved forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen, overlegen i forhold til marginen for amantadin. Andre forskjeller som er spesielt tydelige, har blitt iakttatt med den foretrukne forbindelse i henhold til oppfinnelsen, nemlig: 1,1-di-n-propyl-n-butylamin i form av et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt, så som hydrokloridet eller surt fumarat.

For eksempel har det på det kardiovaskulære plan blitt iakttatt at den foretrukne forbindelse i henhold til oppfinnelsen ikke forårsaker noen uønsket virkning på elektrokardiogrammet, mens en dose på 5 mg/kg med amantadin injisert i en hund forårsaker kardia-arytmi som skyldes ventrikulære ekstrasystoler. Det har også blitt funnet at den foretrukne forbindelse fremstilt i henhold til oppfinnelsen ikke forsterker de ytre effekter av norepinefrin og er ikke noe ganglioplegisk middel, mens tester utført med amantadin har vist at denne forbindelse forsterker de ytre adrenergiske effekter og dessuten utøver en ganglioplegisk virkning.

Den foretrukne forbindelse fremstilt i henhold til oppfinnelsen, som ikke gir noen av disse uønskede bivirkninger som er iakttatt med amantadin, vil derfor ikke indusere kardia-forstyrrelser eller bringe forstyrrelser i arterielt trykk.

Som nevnt ovenfor fremkaller visse typer av anti-parkinsonske midler, så som dietazin, benztropin, etc., ofte uønskede bivirkninger av en anticholinergisk natur (tørrhet i munnen, vanskelighet ved optisk tilpasning, etc.).

Den foretrukne forbindelse fremstilt i henhold til foreliggende oppfinnelse, som er fri for anti-cholinergisk aktivitet, har ikke disse ulemper.

På samme måte vil den foretrukne forbindelse fremstilt i henhold til oppfinnelsen, da den er fri for emetiske egenskaper og uønskede bivirkninger på elektrokardiogrammet, ikke forårsake oppkast eller kardia-arrytmi, som er to ofte forekommende bivirkninger ved L-dopa.

Det har blitt utført farmakologiske forsøk for å bestemme de forskjellige egenskaper til forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen, hvilke tilsammen er i stand til å gjøre nevnte forbindelser nyttige ved behandling av Parkinson's sykdom og til å bøte på ekstra-pyramidale forstyrrelser forårsaket av nevroleptiske midler.

I. Inhibering av reserpin-indusert og av nevroleptiske midler indusert katatoni (dopaminergiske egenskaper).

1. Inhibering av reserpin-indusert katatoni

Efter at tilstrekkelig med doser av reserpin har blitt administrert til en rotte, fremtrer det en serie med symptomer og mer spesielt ptosis, katatoni og et fall i den indre temperatur. Disse symptomer er forårsaket av uttømmingen av det indregranulære reserve-lager av biogenetiske aminer ved de synaptiske ender.

De antidepressive midler av den tricykliske type og også inhibitorer av monoamin-oksydase (I.M.A.O.) motvirker mer spesielt fremkomst av ptosis og fall i den indre temperatur. På katatoni er virkningen av slike forbindelser ikke ikke-eksisterende, men den er betraktelig mindre markert.

Og i motsetning til dette influerer de syntetiske antiparkinsonske midler først og fremst på katatoni mens deres aktivitet på ptosis og hypotermi er ikke-eksisterende eller svakere.

En oral dose av forbindelsen som skal undersøkes i vandig løsning, ble administrert til flokker på 10 hann-rotter av OFA-rasen og med en vekt på omkring 150 til 200 g. 30 minutter senere ble det gitt en dose på intraperitoneal måte av 5 mg/kg med reserpin. 3 timer efter reserpin-injeksjonen ble dyrene avsatt med fire labber på en horisontalt strukket metalltråd som var festet 15 cm fra marken. De katatoniske dyr var slike som ble værende i den således oppnådde stilling i minst 30 sekunder. Hvert dyr som ble værende i den således oppnådde stilling, fikk 1 poeng, og slike som ikke ble værende i nevnte stilling, fikk 0 poeng. Det maksimale poengantall var derfor 10 pr. flokk. Det ble foretatt et identisk forsøk til sammenligning med dyr som mottok reserpin, men ikke mottok noen av forbindelsene som ble undersøkt.

De farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter av de etterfølgende forbindelser med formel I ble testet i sammenligning med amantadin i samsvar med fremgangsmåten angitt ovenfor. Disse forbindelser ble fortrinnsvis undersøkt i form av et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt, så som et hydroklorid eller fumarat. Betegnelsen "forbindelse" henviser i det følgende til et salt og ikke til en base.

1,1-di-n-propyl-n-butylamin (forbindelse 1)
1-etyl-1-n-propyl-n-butylamin (forbindelse 2)
1-etyl-1-isobutyl-n-butylamin (forbindelse 3)
1-etyl-1-n-butyl-n-butylamin (forbindelse 4)
1-n-propyl-1-isobutyl-n-butylamin (forbindelse 5)
1-n-propyl-1-isopropyl-n-butylamin (forbindelse 6)
1-n-propyl-1-tert-butyl-n-butylamin (forbindelse 7)

De resultater som ble erholdt med forbindelser med formel I i listen ovenfor og også med amantadin, er angitt i tabell I nedenfor. Disse resultater er uttrykt på følgende måte:

0 : betyr 0% inhibering av katatoni sammenlignet med sammenligningseksemplet (nemlig 10 poeng pr. undersøkt flokk).
1 : betyr 20 til 30% inhibering av katatoni sammenlignet med sammenligningseksemplet (nemlig 7 til 8 poeng pr. undersøkt flokk).
2 : betyr 50% inhibering av katatoni sammenlignet med sammenligningseksemplet (nemlig 5 poeng pr. undersøkt flokk).
3 : betyr 70 til 80% inhibering av katatoni sammenlignet med sammenligningseksemplet (nemlig 2 eller 3 poeng pr. undersøkt flokk).
4 : betyr 100% inhibering av katatoni sammenlignet med sammenligningseksemplet (nemlig 0 poeng pr. undersøkt flokk).

Tabell I

Forbindelse	Dose administrert i mg/kg	Inhibering av reserpin-indusert katatoni
1	5	4
2	5	1
3	20	3
4	20	3
5	20	2
6	6	3
7	6	2
Amantadin	100	4

Disse resultater viser at forbindelse 1 som er den foretrukne forbindelse fremstilt i henhold til oppfinnelsen, er så aktiv som amantadin, men ved en dose som er 20 ganger mindre enn dosen for amantadin.

2. Inhibering av katatoni indusert av nevroleptiske midler

Blokkeringen av dopaminergiske reseptorer ved nevroleptiske midler i det ekstra-pyramidale system induserer katatoni i en rotte. Katatoni blir utviklet fra sedative egenskaper ved hjelp av testen anvendt ovenfor for reserpin-indusert katatoni. Det samme poeng-system ble anvendt også i foreliggende tilfelle.

En oral dose av forbindelsen som skal undersøkes i vandig løsning, ble administrert til flokker på 10 hann-rotter av OFA-rasen med en vekt på omkring 150 til 200 g. 30 minutter senere ble det gitt en dose på 12,5 mg/kg med proklorperazin på intraperitoneal måte. 3 timer efter injeksjonen av den sistnevnte forbindelse, ble det foretatt måling av katatoni. Det ble også utført et identisk forsøk med sammenligningsdyr som mottok proklorperazin, men som ikke mottok noen av forbindelsene som ble undersøkt.

De erholdte resultater med forbindelsene i listen ovenfor sammenlignet med amantadin er angitt i den efterfølgende tabell II. Poeng-systemet som ble anvendt var det samme som angitt ovenfor for tabell I.

Tabell II

Forbindelse	Dose administrert i mg/kg	Inhibering av katatoni indusert av nevroleptiske midler
1	5	4
2	5	1
3	20	3
4	20	3
5	20	4
6	6	3
7	50	1
Amantadin	100	4

Disse resultater viser at forbindelse 1 også er 20 ganger mer aktiv enn amantadin ved denne test og at forbindelse 5 er 5 ganger mer aktiv enn amantadin.

Videre forårsaker forbindelse 1 ved en dose så lav som 1 mg/kg en 70% inhibering av katatoni indusert med nevroleptiske midler.

De resultater som er angitt i de ovenfor angitte tabeller I og II med hensyn til forbindelse 1 ble oppnådd med 1,1-di-n-propyl-n-butylamin i form av dens hydroklorid. I form av dens sure fumarat er 1,1-di-n-propyl-n-butylamin fra 20 til 40% mer aktiv, som tidligere angitt. Det ble for eksempel erholdt 4 poeng ved testene vedrørende reserpin-indusert og ved nevroleptiske midler indusert katatoni, som beskrevet ovenfor, med bare 3 mg/kg med surt fumarat av 1,1-di-n-propyl-n-butylamin.

II. Akutt toksisitet

Ved testen på akutt toksisitet ble LD_{50} bestemt på mus på oral måte ved anvendelse av metoden til LICHFIELD og WILCOXON (J. Pharmacol., 1938, 2, 192-216). Forbindelsene ble administrert i vandige løsninger og observasjonsperioden var 10 dager efter administrasjon av forbindelsen som ble undersøkt.

De følgende resultater ble erholdt i sammenligning med amantadin.

Forbindelse	LD_{50} (i mg/kg)
1	100
2	150
Amantadin	1050

Disse resultater viser at forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen vanligvis er mer toksiske enn amantadin. Men når man trekker sammenligning mellom LD_{50} verdiene gitt ovenfor og den effektive dose for å oppnå inhibering av katatoni indusert av reserpin eller nevroleptiske midler, så sees det at slike sammenligninger alltid er mer fordelaktige for forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen enn for amantadin.

Indeksen $\frac{LD_{50}}{ED_{20-30}}$ ble bestemt. I denne indeks betyr ED_{20-30} den effektive dose for å oppnå 20 til 30% inhibering av katatoni, og denne verdi representeres av tallet 1 i tabellene I og II.

Følgende resultat ble registrert:

Forbindelse	Indeks
2	30

Den tilsvarende indeks for amantadin er $\frac{1050}{50} = 21$, som viser at forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen gir større fordeler enn amantadin.

På samme måte ble det bestemt en indeks $\frac{LD_{50}}{ED_{100}} \cdot ED_{100}$ betyr den effektive dose for å erholde 100% inhibering av katatoni.

Denne siste verdi er representert i tabellene I og II med tallet 4.

Følgende resultater ble erholdt:

Forbindelse	Indeks
1	20
Amantadin	10

Disse tall viser at forbindelse 1 gir en total inhiberende virkning på katatoni indusert av reserpin og nevroleptiske midler ved en dose som er forholdsmessig to ganger så langt fra den toksiske dose enn tilfellet er med amantadin. Forbindelse 1 har følgelig en høyere sikkerhetsmargin enn amantadin.

Når det dreier seg om surt fumarat 1,1-di-n-propyl-n-butylamin er den aktive dose enda ytterligere lenger fra den toksiske dose enn for forbindelse 1, da den tilsvarende indeks er $\frac{100}{3} \approx 33$.

Det ble utført ytterligere forsøk på rotter med forbindelse 1 og amantadin. Disse forsøk omfattet katalepsi så som bevist ved kryssing av dyrenes homolaterale labber. Det ble ved disse forsøk iakttatt at 5 mg/kg av forbindelse 1, når den ble administrert ved oral måte 30 minutter før en intraperitoneal injeksjon av

proklorperazin, forårsaket fullstendig inhibering av katalepsi 3 timer efter injeksjonen av den sistnevnte substans.

Med hensyn til amantadin var en dose på 80 mg/kg nødvendig for å indusere fullstendig inhibering av katalepsi.

Effektiviteten til forbindelse 1 ved helbredende behandling ble også demonstrert.

a) Tilbaketrengning av reserpin-indusert katatoni

Flokker på 5 hann-rotter av OFA-rase med en vekt på 150 til 200 g ble gitt 5 mg/kg med reserpin på intraperitoneal måte. En time og 45 minutter senere, nemlig når dyrene var i en katatoni-tilstand, ble en vandig dose av forbindelsen som ble undersøkt, administrert på oral måte til alle dyrene med unntak av sammenligningsgruppen.

Utviklingen av katatoni ble så notert ved å følge skalaen som ble anvendt ved testene beskrevet ovenfor.

Det maksimale poeng-antall var således 5 pr. flokk, hvilket vil si at alle dyrene i flokken ble betraktet for fortsatt å være i en katatoni-tilstand.

De følgende resultater ble erholdt med forbindelse 1 i sammenligning med amantadin:

Tabell III

	Tid efter administrering av reserpin						
	2 t	2t15	2t30	3 t	3t30	4 t	5 t
Sammenligninger	5	5	5	3	3	1	2
Forbindelse 1 2,5 mg/kg	4	3	2	0	0	0	0
Forbindelse 1 5 mg/kg	5	1	0	0	0	0	0
Amantadin 80 mg/kg	5	4	3	2	1	0	0

Disse tall viser at ved doser på 2,5 mg/kg og 5 mg/kg, ved oral metode, tilbaketrengte forbindelse 1 reserpin-indusert katatoni hurtigere enn en dose på 80 mg/kg med amantadin administrert under samme forhold.

Forbindelse 1 er således minst 32 ganger mer aktiv enn amantadin med hensyn til reserpin-indusert katatoni ved

helbredende behandling.

b) Tilbaketrengning av katatoni indusert av nevroleptiske midler

Flokker på 5 hann-rotter av OFA-rase ble tilført 12,5 mg/kg med proklorperazin på intraperitoneal måte. 25 minutter senere ble det administrert en oral dose i vandig løsning av forbindelsen som skulle undersøkes, til alle dyr med unntak av sammenlignings-gruppen. Utviklingen av katatoni ble notert ved anvendelse av den samme skala som ble anvendt ved testene beskrevet ovenfor.

Følgende resultater ble registrert med forbindelse 1 og med amantadin:

Tabell IV

	Tid efter administrering av proklorperazin					
	1t30	2t30	3 t	3t30	4 t	5 t
Sammenligninger	4	4	4	3	1	1
Forbindelse 1 5 mg/kg	3	0	0	0	0	0
Amantadin 80 mg/kg	5	2	1	0	0	0

Disse resultater viser at under forhold ved helbredende behandling virker en dose på 5 mg/kg av forbindelse 1 hurtigere mot katatoni indusert av nevroleptiske midler enn en dose på 80 mg/kg med amantadin administrert under samme forhold. Ved denne test er følgelig forbindelse 1 minst 16 ganger mer aktiv enn amantadin.

Den toksisk-farmakologiske indeks, $\frac{LD_{50}}{ED_{50}}$, er igjen mer fordelaktig for forbindelse 1 enn for amantadin, dvs. 20 for forbindelse 1 og bare 13 for amantadin.

Det ble også utført en test for å bestemme om forbindelse 1 har cholinolytiske egenskaper.

MAGNUS-testen (Arch. gen. Physio. 1904, 102) ble benyttet for dette formål. Denne test består i å bestemme den dose med acetylcholin som, når den settes til badet, forårsaker spasme i den isolerte tolvfingertarm i rotten. Det neste trinn består i å bestemme den dose av den forbindelse som blir undersøkt, som, når den settes til badet 30 sekunder før acetylcholinet, reduserer

spasmen.

Følgende resultater ble notert for forbindelse 1 i sammenligning med atropin:

Tabell V

	Doser i g/ml i badet	% inhibering av spasmen
Acetylcholin	$0,5 \times 10^{-5}$	-
Atropin	$0,1 \times 10^{-6}$	45
	$0,2 \times 10^{-6}$	100
Forbindelse 1	$0,2 \times 10^{-6}$	0
	$0,1 \times 10^{-5}$	0
	$0,1 \times 10^{-4}$	0
	$0,1 \times 10^{-3}$	0
	$0,2 \times 10^{-2}$	36
	$0,5 \times 10^{-2}$	60

Disse resultater viser at forbindelse 1 er 20.000 til 25.000 ganger mindre aktiv enn atropin.

Den cholinolytiske aktivitet "in vitro" for forbindelse 1 kan således betraktes som i virkeligheten ikke-eksisterende sammenlignet med aktiviteten til atropin.

Den ekstremt svake cholinolytiske virkning av forbindelse 1 må nødvendigvis forekomme ved toksiske doser.

Fraværet av cholinolytiske egenskaper for forbindelse 1 ble bekreftet "in vitro" ved terapeutiske doser.

For dette formål ble følgende test utført med henblikk på å bestemme de anti-tremorinske egenskaper til forbindelse 1.

Når tremorin injiseres i mus, frembringes ytre effekter, dvs. gråting, svetting, spyttutsondring og diarré, og indre effekter, dvs. skjelving og akinesi. Slike effekter skyldes en økning i mengden av intracerebral acetylcholin og serotonin.

Hann-mus av OF_1 rase med vekt på omkring 22 g ble delt i to flokker på 10. Hver flokk mottok oralt 50 mg/kg av forbindelsen som ble undersøkt, i vandig løsning. 30 minutter senere ble det injisert en dose på 10 mg/kg med tremorin på intraperitoneal måte, og ved forskjellige tider efter denne injeksjon ble de cholinergiske effekter iakttatt for hvert dyr i

samsvar med følgende poengskala:

0 : ingen virkning

1 : svak virkning

2 : gjennomsnittlig virkning

3 : sterk virkning

4 : svært sterk virkning

De resultater som ble erholdt med 5 mg/kg av forbindelse 1 og 40 mg/kg av amantadin var følgende:

Med hensyn til ytre cholinergiske effekter, dvs. spytt-utsondring, svetting og gråting, ble 4 poeng registrert for sammenligningsdyrene 20, 30 og 40 minutter efter injeksjonen av tremorin for både 5 mg/kg av forbindelse 1 og 40 mg/kg for amantadin. Det ble erholdt identiske resultater med hensyn til de indre cholinergiske effekter, dvs. normal og forårsaket skjelving.

Disse resultater viser at forbindelse 1 og amantadin er fri for anti-tremorinske egenskaper, hvilket bekrefter fraværet av cholinolytiske egenskaper når det dreier seg om forbindelse 1 ved terapeutiske doser.

Det ble også utført tester med forbindelse 1 med henblikk på å undersøke innvirkningen av denne forbindelse på ytre noradrenergiske fenomener.

Følgende test ble utført for dette formål:

En katt som var bedøvet med pentobarbital, mottok en tilstrekkelig dose med norepinefrin til å øke arterielt trykk, men ikke tilstrekkelig til å forårsake sammentrekning av den blinkende membran. Arterielt trykk ble målt ved carotis øyeblikkelig efter administrasjonen av norepinefrin-dosen. Efter dette ble økende doser av forbindelse 1 i vandig løsning administrert intravenøst hver 30 minutter. Efter hver dose med forbindelse 1, ble det gitt ytterligere en dose med norepinefrin, og følgende parametere ble notert: økningen i arterielt trykk, sammentrekningsreaksjonen på den blinkende membran som skyldes eksogen norepinefrin og også sammentrekningsreaksjonen av denne membran forårsaket ved frigivelse av norepinefrin fremkalt ved den sub-maksimale elektriske stimulering av den cervicale sympatiske nerve.

De resultater som er oppført i listen nedenfor ble notert for forbindelse 1 og amantadin:

Tabell VI

	Kumulative doser i mg/kg	Økning i arterielt trykk i mm Hg efter injeksjon av norepinefrin	Sammentrekningsreaksjon på den blinkende membran (i mm*)	
			Uten elektrisk stimulering	med elektrisk stimulering
Forbindelse 1	0	26	0	17
	0,1	18	0	15
	1	25	0	16
	3	29	0	17
	5	25	0	16
	10	22	0	12
Amantadin	0	28	0	20
	0,1	29	0	20
	1	35	3	20
	3	35	4,4	16
	5	59	5,9	10
	10	57	7,5	4

* Her uttrykker mm hevning av sammentrekningen registrert ved et registrerende instrument.

Disse resultater viser at forbindelse 1 ikke styrker effektene enten av eksogen norepinefrin eller av endogen norepinefrin.

På den annen side styrker amantadin eksogen norepinefrin fra 1 mg/kg, siden den øker intensiteten og varigheten av de hypertensive effekter av dette amin og, efter at den har blitt administrert, forårsaker en dose med norepinefrin som ellers ikke ville ha noen virkning på membranen, en sammentrekningsreaksjon på deler av membranen.

Videre stimulerer amantadin selv sammentrekningsreaksjonen på den blinkende membran, men styrker ikke virkningen av elektrisk stimulasjon. Derimot viser amantadin ganglioplegiske egenskaper fra 5 mg/kg.

Det vil forståes at for terapeutisk anvendelse vil forbindelsene fremstilt i henhold til oppfinnelsen vanligvis bli administrert i form av en farmasøytisk eller veterinærmedisinsk

blanding i en enhets-doseform som er passende for den fordrede administrasjons-måte, idet blandingen omfatter som aktiv bestanddel en forbindelse fremstilt i henhold til oppfinnelsen, sammen med en farmasøytisk bærer eller et inert formgivningsmiddel. For oral administrasjon kan blandingen ha form av for eksempel en belagt eller ikke-belagt tablett, en hård- eller mykgelatinkapsel, en suspensjon eller en sirup. Blandingen kan alternativt ha form av et suppositorium for rektal administrasjon, eller en løsning eller suspensjon for parenteral administrasjon.

Når blandingen er i enhets-doseform kan den inneholde fra 5 til 50 mg, fortrinnsvis fra 5 til 10 mg, med aktiv bestanddel pr. doseenhet for oral administrasjon, fra 5 til 50 mg med aktiv bestanddel pr. doseenhet for rektal administrasjon eller fra 1 til 10 mg med aktiv bestanddel pr. doseenhet for parenteral administrasjon.

Den terapeutiske blanding med forbindelser fremstilt i henhold til oppfinnelsen, kan fremstilles ved å forene et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt av minst en av forbindelsene med formel I med minst én passende bærer eller et inert formgivningsmiddel. Eksempler på egnede bærere eller inerte formgivningsmidler er talk, magnesiumstearat, melkesukker, sakkarose, karboksymetylcellulose, stivelser, kaolin, levilit og kakaosmør.

De følgende eksempler illustrerer fremstillingen av farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter av forbindelser med formel I.

Eksempel 1

Fremstilling av farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter av 1,1-di-n-propyl-n-butylamin

a) 1,1-di-n-propyl-n-butylisocyanat

I en 2-liters trehalset kolbe forsynt med en vannkondensator, en mekanisk rører, et termometer og en dråpetrakt ble det anbrakt 144 g natriumhydroksyd i tablett-form og 1200 ml vann. Løsningen ble avkjølt til 5°C og under omrøring ble det sakte tilsatt 48 ml brom. Tilsetningen av brom varte i 2 timer og så ble det ved en temperatur på 0°C satt 111 g 2,2-di-n-propylvaleramid til den gul-grønne løsning. Det ble opprettholdt røring av blandingen ved omkring 0°C i 4 timer. Den oljeaktige fase ble så ekstrahert med tre fraksjoner med eter, hver på 300 ml,

og eter-fasen ble vasket to ganger med 100 ml vann, tørket over magnesiumsulfat og inndampet under vakuum. Den således erholdte lyse-gule olje ble destillert under et redusert trykk på 5 mm Hg.

På denne måte ble det erholdt 105 g farveløst 1,1-di-n-propyl-n-butyl-isocyanat.
K.p. 78-79°C under 5 mm Hg.
Utbytte: 95%.

Ved å følge samme fremgangsmåte som beskrevet ovenfor, men ved anvendelse av passende utgangsprodukter, ble forbindelsen nedenfor fremstilt:

Forbindelse	Kokepunkt °C
1-n-propyl-1-isopropyl-n-butylisocyanat	97 (15 mm Hg)

b) 1,1-di-n-propyl-n-butylamin-hydroklorid

I en trehalset kolbe forsynt med en mekanisk rører, en dråpetrakt, et termometer og en kondensator ble det innført 200 ml vann og 90 ml konsentrert saltsyre (d=1,19). Den sure løsning ble oppvarmet til 90°C og så ble det under kraftig omrøring sakte tilsatt 105 g 1,1-di-n-propyl-n-butylisocyanat, fremstilt som tidligere beskrevet. Tilsetningen varte i en time hvorefter reaksjonsmediet ble oppvarmet i ytterligere 4 timer ved en temperatur mellom omkring 95 og 100°C. Blandingen ble så avkjølt til omkring 0°C og de således erholdte farveløse krystaller ble filtrert fra, og ble tørket ved å utsettes for luft og så i en eksikator i nærvær av kaliumhydroksyd. På denne måte ble det isolert 99 g 1,1-di-n-propyl-n-butylamin-hydroklorid i form av et hvitt krystallinsk pulver.
Produktet smelter ikke, men sublimerer fra 220°C.
Utbytte: 90%.

Ved å følge samme fremgangsmåte som beskrevet ovenfor, men ved benyttelse av de passende utgangs-produkter, ble forbindelsene nedenfor erholdt:

Forbindelse	
1-etyl-1-n-propyl-n-butylamin-hydroklorid	180°C (sublimering)
1-etyl-1-isobutyl-n-butylamin-hydroklorid	230°C (sublimering
1-n-propyl-1-isobutyl-n-butylamin-hydroklorid	sm.p. 260°C
1-etyl-1-n-butyl-n-butylamin-hydroklorid	sm.p. 230°C (spaltning)
1-n-propyl-1-isopropyl-n-butylamin-hydroklorid	sm.p. 260°C (spaltning)

Andre farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter ble fremstilt fra de ovenstående hydroklorider.

A. Fremstilling av surt fumarat av 1,1-di-n-propyl-n-butylamin

Til en løsning av 1,16 g (0,01 mol) fumarsyre i 20 ml aceton ble det sakte satt 1,57 g (0,01 mol) 1,1-di-n-propyl-n-butylamin (n_D^{21}= 1,4349) løst i 10 ml aceton. Dette amin har blitt fremstilt fra det ovenfor beskrevne hydroklorid og en 30% vandig løsning av natriumhydroksyd. Blandingen ble rørt i 1 time og så ble krystallene som ble dannet suge-filtrert, vasket med aceton og tørket under vakuum.

På denne måte ble det erholdt et surt fumarat av 1,1-di-n-propyl-n-butylamin i form av et hvitt pulver.
Sm.p. 216°C med sublimasjon.
Utbytte: 100%.

Ved å følge den samme fremgangsmåte som den som er beksrevet ovenfor, men ved å omrøre reaksjonsmediet i 3 timer, fremstilles følgende forbindelse:

1-n-propyl-1-tert.butyl-n-butylamin, surt fumarat,
sm.p. 180°C (sublimering)

B. 1-etyl-1-n-butyl-n-butylamin-tartrater

1-etyl-1-n-butyl-n-butylamin ble behandlet i aceton med en 30%ig vandig oppløsning av natriumhydroksyd for å danne 1-etyl-1-n-butyl-n-butylamin i fri baseform. Det således fremstilte amin ble derefter ekstrahert med eter.

Til en oppløsning av 1 mol L-(+)-vinsyre i isopropanol ble satt 1 mol 1-etyl-1-n-butyl-n-butylamin-base. Reaksjonsmediet ble tilbakeløpsbehandlet i 5 minutter, avkjølt, og de dannede krystaller ble frafiltrert.

På denne måte ble saltet av 1-etyl-1-n-butyl-n-butylamin og L-(+)-vinsyre erholdt i form av farveløse krystaller efter omkrystallisering fra isopropanol, sm.p.: 180°C med sublimering.

Ved å følge den samme fremgangsmåte som beskrevet ovenfor ble saltet av 1-etyl-1-n-butyl-n-butylamin og D-(-)-vinsyre fremstilt, sm.p. 87,7°C efter omkrystallisering fra vann.

Eksempel 2

Fremstilling av 1-n-propyl-1-isobutyl-n-butylamin-hydroklorid

a) 1-n-propyl-1-isobutyl-n-butanol

I en 250 ml's trehalset kolbe forsynt med en mekanisk rører, et nitrogeninnløp, en dråpetrakt og et termometer ble det under nitrogen-atmosfære i små porsjoner innført 2,8 g (0,2 mol) litium og 100 ml vannfri og renset tetrahydrofuran. Suspensjonen av litium i tetrahydrofuran ble avkjølt til -20°C og så ble det under omrøring sakte tilsatt en blanding av 22,8 g (0,2 mol) di-n-propylketon og 30 g (0,2 mol pluss 10% overskudd) isobutylbromid. Tilsetningen varte i omkring 3 timer hvorunder det ble opprettholdt en temperatur på omkring -20°C. Løsningen ble hensatt i omkring 12 timer ved romtemperatur og ble så konsentrert. Den således erholdte olje ble tatt opp i vann, ekstrahert med eter og destillert under redusert trykk.

På denne måte ble det erholdt 21 g 1-n-propyl-1-isobutyl-n-butanol i form av en klar væske som var litt gul.

K.p. 74-76°C under 5 mm Hg.

Utbytte: omkring 60%.

Ved å følge samme fremgangsmåte som beskrevet ovenfor, men ved å benytte de passende utgangs-produkter, ble forbindelsene oppført i listen nedenfor fremstilt:

Forbindelse	Kokepunkt °C
1-etyl-1-n-propyl-n-butanol (Utbytte: 35%)	178-179 (760 mm Hg)
1-etyl-1-isobutyl-n-butanol (Utbytte: 40%)	78- 79 (15 mm Hg)
1,1-di-n-propyl-n-butanol (Utbytte: 60%)	78- 80 (0,15 mm Hg)
1-n-propyl-1-isopropyl-n-butanol	81 (15 mm Hg)
1-n-propyl-1-tert.butyl-n-butanol	90- 92 (14 mm Hg)
1-etyl-1-n-butyl-n-butanol (Utbytte: 35%).	87 (11 mm Hg)

b) 1-n-propyl-1-isobutyl-n-butylamin-hydroklorid

I en trehalset kolbe på 250 ml forsynt med en mekanisk rører, en dråpetrakt, en kondensator og et dyppe-termometer ble det innført 6,5 g (0,1 mol) tørt kaliumcyanid i pulverform, 14,4 g (0,083 mol) 1-n-propyl-1-isobutyl-n-butanol og 12 ml eddiksyre. Under omrøring ble det sakte tilsatt en blanding av 25 g konsentrert svovelsyre (d = 1,83) og 12 ml eddiksyre. Tilsetningen varte i omkring 2 timer hvorunder det ble opprettholdt en temperatur på omkring 50°C. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til 70°C i 2 timer og ble så sakte hellet inn i 100 ml isvann. Efter dette ble den nøytralisert med en 20% vandig løsning av natriumhydroksyd og ble ekstrahert med eter. Eteren ble avdampet og det ble oppsamlet en olje som omfatter N-formylert 1-n-propyl-1-isobutyl-n-butylamin.

Det således erholdte N-formylerte amin ble tilbakeløpsbehandlet i 2 timer i nærvær av 20 ml konsentrert saltsyre. Under avkjøling krystalliserte hydrokloridet av dette amin. Det ble frafiltrert og vasket med aceton.

På denne måte ble det oppsamlet 11 g 1-n-propyl-1-isobutyl-n-butylamin-hydroklorid i form av et hvitt pulver.
Sm.p. > 260°C med spalting uten smelting ved omkring 280°C.
Utbytte: 64%.

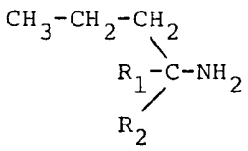
Ved et tynnskikt-kromatografisk forsøk utført på silikagel-skiver (Merck HF 254) ved anvendelse av et system av løsningsmidler som omfatter 79 deler benzen, 14 deler metanol og 7 deler eddiksyre, og med jod som synliggjøringsmiddel, ble det notert en R_f-verdi på 0,6.

Ved å følge samme fremgangsmåten som beskrevet ovenfor, men ved anvendelse av de passende utgangsprodukter, ble forbindelsene i listen nedenfor fremstilt. Den R_f-verdi som er gitt for hver av disse forbindelser, ble bestemt ved tynnskikt-kromatografisk forsøk ved anvendelse av samme bærer, samme løsningsmiddel-system og samme synliggjørings-middel som dem som er nevnt i det ovenfor beskrevne eksempel:

Forbindelse	
1,1-di-n-propyl-n-butylamin-hydroklorid	220°C (sublimering)
1-etyl-1-n-propyl-n-butylamin-hydroklorid (Utbytte: 25%) Rf = 0,64	180°C (sublimering)
1-etyl-1-isobutyl-n-butylamin-hydroklorid (Utbytte: 30%) Rf = 0,60	230°C (sublimering)
1-n-propyl-1-isopropyl-n-butylamin-hydroklorid	sm.p. 260°C (spaltning)
1-etyl-1-n-propyl-n-pentylamin-hydroklorid (Utbytte: 30%) Rf = 0,60	sm.p. 230°C (spaltning)

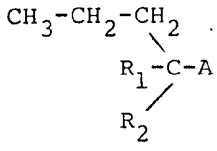
P a t e n t k r a v

1. Analogifremgangsmåte for fremstilling av farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter av n-butylamin-derivater med den generelle formel:



I

hvor R_1 betyr etyl eller n-propyl og R_2 betyr:
a) etyl, n-propyl, isopropyl, isobutyl eller tert.butyl når R_1 er n-propyl, eller
b) n-butyl eller isobutyl når R_1 er etyl,
med unntagelse av 1,1-di-n-propyl-n-butylamin-pikrat,
k a r a k t e r i s e r t v e d at et isocyanat eller et N-formylamin med den generelle formel:



II

hvor R_1 og R_2 har de ovenfor angitte betydninger, og

A er -N=C=O eller -NH-C(=O)-H, behandles mellom 15 og 100°C i et passende medium med en sterk syre som er i stand til å danne et farmasøytisk akseptabelt salt for å gi det tilsvarende syre-addisjonssalt av n-butylamin-derivatet som eventuelt kan omsettes med et alkalimetallhydroksyd for å danne n-butylamin-derivatet i form av den frie base som derefter omsettes med en passende organisk eller uorganiske syre for å gi et forskjellig farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt.

2. Fremgangsmåte som angitt i krav 1 for fremstilling av 1,1-di-n-propyl-n-butylamin-hydroklorid, k a r a k t e r i s e r t v e d at det anvendes et utgangs-materiale med formel II hvor R_1 og R_2 begge betyr n-propyl, og ved at det som syre anvendes saltsyre.

3. Fremgangsmåte som angitt i krav 1 for fremstilling av 1,1-di-n-propyl-n-butylamin-surt fumarat, k a r a k t e r i s e r t v e d at det anvendes et utgangs-materiale med formel II hvor R_1 og R_2 begge er n-propyl, cg ved at det som syre anvendes fumarsyre.