

NORGE



STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

Utlegningskrift nr. 119356

Int. Cl. C 07 c 65/12 Kl. 12q-29/01

Patentsøknad nr. 167.521 Inngitt 31.III 1967

Løpedag -

Søknaden alment tilgjengelig fra 1.VII 1968

Søknaden utlagt og utlegningskrift utgitt 11.V 1970

Prioritet begjært fra: 1.IV-, 14.XII-66
Storbritannia, nr. 14.577/66

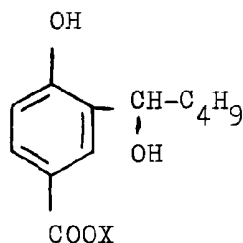
AG für Chemische und Medizinische Forschung,
Alpenquai 4, Lucerne, Sveits.

Oppfinner: Charles Hoffmann, 33 Boulevard du Lac,
Enghien-les-Bains (Val d'Oise), Frankrike.

Fullmektig: A/S Bergen Patentkontor Patentingeniør Thor Ringvold.

Fremgangsmåte for fremstilling av terapeutisk virksomme
hydroksy-benzoesyre-derivater.

Den foreliggende oppfinnelse vedrører en fremgangsmåte for
fremstilling av 3-(alfa-hydroksypentyl)-4-hydroksybenzoesyre og
dets estere og salter med formelen I:

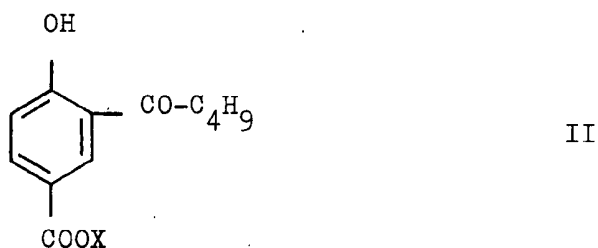


I

hvor X betegner hydrogen, en alkylgruppe med fra 1 til 3 carbon-
atomer (dvs. metyl, etyl, propyl eller isopropyl), eller et alka-
limetall, jordalkalimetall, ammoniumsaltdannende eller (alifatisk
eller aromatisk) aminsalttdannende kation.

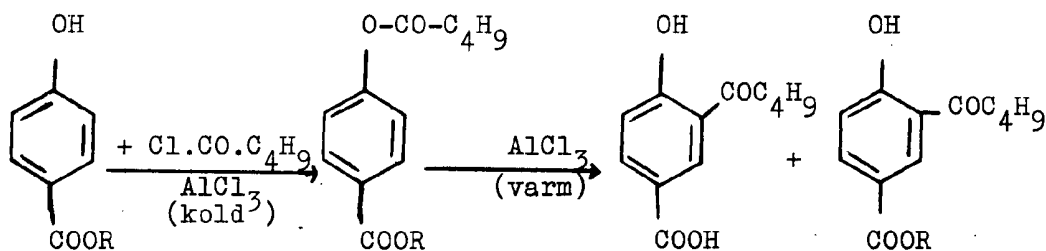
Kfr. kl. 12q-31/02

Denne fremgangsmåte omfatter reduksjon av et tilsvarende keton med formelen II:



Den forannevnte fremgangsmåte kan utføres katalytisk ved hjelp av hydrogen under trykk under nærvær av Raney-nikkel eller palladium-svart eller ved behandling med et alkaliborhydrid i et oppløsningsmiddel. Reduksjonsproduktet er et vannløselig fast stoff som er oppløselig i vandig og alkalisk miljø.

Ketonet ifølge formel II kan på sin side fremstilles ved den klassiske Friedel-Crafts reaksjon, dvs. ved innvirkningen av det passende syreklorid på en ester av parahydroksybenzoesyre i nærvær av aluminiumklorid. Det kan også fremstilles i to trinn ved først å behandle den avkjølte fenolester med syrekloridet og deretter å utsette denne esteren for en Fries-omdanning. I dette tilfelle er produktet som oppstår, en blanding av den fri syre og dens ester, således:



Syren og esteren kan atskilles ved å gjøre bruk av deres ulike oppløselighet i vandig natriumbikarbonat.

Alternativt kan blandingen behandles med varm natronlut for å hydrolysere esteren, for derved å gjenvinne hele produktet som natriumsaltet av syren, hvorfra fri syre kan oppnås.

4-hydroksybenzoesyre-derivatene av formel (I) har en viktig anvendelse som choleretisk middel. Sammenliknet med fenyl-1-pentanol øker innføringen av de angitte ytterligere grupper i fenylkjernen betraktelig den choleretiske virkning. Dessuten er disse derivater faste stoffer som lettere lar seg håndtere enn væsker.

Det følgende eksempel kan tjene til å illustrere fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen:

Eksempel

Fremstilling av 3-(alfa-hydroksypentyl)-4-hydroksybenzoesyre og dens metylester.

Forbindelsen 3-pentanoyl-4-hydroksybenzoesyre-metylester, fremstilt som angitt nedenfor, og oppløst i metanol ble hydrogenert ved 50 kg/cm² trykk og 50 til 70°C under nærvær av Raney-nikkel og palladium-svart. Absorpsjonen av hydrogen skjedde meget hurtig.

Produktet ble filtrert og oppløsningsmidlet fordampet for å gi det ønskete produkt som etter rekrySTALLISASJON fra cycloheksan hadde et smeltepunkt på 97-98°C (kapillarrør). Analyse:

C₁₃H₁₈O₄, M = 238,27, kalkulert C: 65,52, H: 7,61, funnet C: 65,91, H: 7,67.

Denne ester kan hydrolyseres ved at den oppvarmes sammen med natronlut, og produktet kan ansyres med konsentrert saltsyre for å gi den fri syre.

Fremstilling av 3-(alfa-hydroksypentyl)-4-hydroksybenzoesyre.

Til en blanding av 9,6 g fast NaOH i 400 ml metanol og 100 ml vann ble tilsatt 26,5 g 3-pentanoyl-4-hydroksybenzoesyre som lett løste seg opp.

Det ble deretter tilsatt i små porsjoner 9,6 g natriumborhydrid over et tidsrom på 70 minutter under omrøring. Omrøringen ble fortsatt i 3 timer og blandingen ble deretter hensatt natten over. Metanolen ble deretter fordampet i vakuum og resten oppløst i vann. Den vandige løsning ble tilsatt aktiv kull og løsningen ble filtrert og ansyret til en pH-ferdi på fra 1 til 2 ved tilsetning av konsentrert saltsyre.

Det hvite utfelte produkt ble fraskilt, vasket med vann og tørket i vakuum ved 60°C.

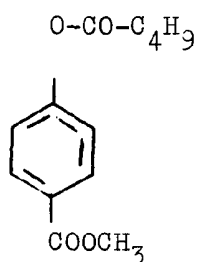
Produktet ble således oppnådd med et utbytte på 97%. Det hadde smeltepunkt (momentan) 175°C. Analyse av C₁₂H₁₆O₄, M = 224,24, beregnet C: 64,27, H: 7,19, funnet C: 64,22, H: 7,11. Syretallet tilsvarte den teoretiske verdi.

Dets natriumsalt ble frembrakt ved å nøytralisere dets vandige oppløsning med den ekvivalente mengde natriumbikarbonatløsning.

Dets magnesiumsalt ble frembrakt ved å behandle syren i vandig miljø med den støkiometriske mengde magnesia (MgO) til det

siste var oppløst. Ved fordampning til tørrhet ble magnesiumsaltet frembrakt som en krystallinsk forbindelse med meget høy vannoppløselighet.

Fremstilling av 4-n-butylcarboksy-benzoesyremetylester.



En blanding av:

tetraklorethan 50 ml
valeroylchlorid 8,5 ml
aluminiumklorid 19 g

ble avkjølt til 0°C og

metyl-p-hydroksybenzoat 10 g

ble tilsatt i små porsjoner under omrøring.

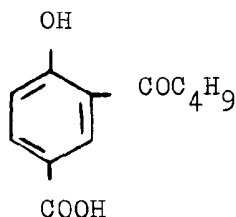
Utviklingen av HCl skjedde øyeblikkelig.

Blandingen ble hensatt natten over ved værelsestemperatur og deretter helt på is. Tetraklorethanet ble dekantert, vasket med vann til nøytralitet, tørket over kalsiumklorid og oppløsningsmiddelet ble fordampet i vakuum.

Resten ble fraksjonert ved 180° - 183°C under 15 mm trykk og ga 11 g fargeløst produkt med den forangående formel, med refraksjonsindeks $n_D^{20} = 1,505$.

Det samme produkt ble frembrakt under benyttelse av tinn-tetraklorid (SnCl_4) som katalysator. I dette tilfelle ble produktet destillert ved 154°C under 3 mm trykk. Det hadde samme refraksjonsindeks. Det ble oppnådd et utbytte på 90% av teoretisk.

Fremstilling av 3-pentanoyl-4-hydroksybenzoesyre.



og dens metylester.

Det ble innført i en avkjølt kolbe:

Aluminiumklorid 16,9 g

Ester av (C) 10,0 g.

Blandingen ble oppvarmet langsomt til 120°C i løpet av 30 minutter. Saltsyregass ble utviklet. Varmetilførsel ble fortsatt ved $160 - 165^{\circ}\text{C}$ i to timer og til utviklingen av HCl hadde opphørt.

Blandingen ble avkjølt og under omrøring helt over en blanding av is og saltsyre. Det faste, beige-fargete produkt som ble utfelt, ble filtrert ut, vasket med vann og tørket. Dette produktet besto av en blanding av den fri syre ifølge den forangående formel og dens ester. Disse ble atskilt ved behandling med vandig bikarbonat. Produktet fra en slik behandling ble filtrert og filtratet ble oppvarmet med saltsyre. Det ble således frembrakt syren ifølge den forangående formel, smeltepunktet (Kofler-blokk) 190°C . Analysen av $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_4$: beregnet C: 64,85, H: 6,35, funnet C: 65,18, H: 6,39. Metylesteren som ble frembrakt samtidig ble omkrystallisert fra metanol og hadde smeltepunkt $86 - 87^{\circ}\text{C}$. Analysen av $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_4$: beregnet C: 66,08, H: 6,83, funnet C: 66,5, H: 6,96.

Denne esteren ble forsåpet meget hurtig ved oppvarming med et overskudd av natronlut på 10 vektsprosent for å gi en fri syre med smeltepunkt 190°C .

Fremstilling av 3-pentanoyl-4-hydroksybenzoesyremetylester.

Til en blanding av

metyl-p-hydroksybenzoat 76 g

valeroylklorid 61 g

tetraklorethan 750 ml

ble tilsatt litt etter litt under omrøring:

aluminiumklorid 140 g.

Den resulterende blanding ble oppvarmet i et oljebad ved 130°C i seks timer. Etter avkjøling ble blandingen helt over en blanding av knust is og konsentrert saltsyre (150 ml). Det organiske sjikt ble dekantert, vasket med vann, tetraklorethanet ble dampet bort og resten destillert i vakuum.

Ved $156 - 158^{\circ}\text{C}$ (3 til 4 mm trykk) ble det frembrakt 85 g av en olje som krystalliserte ved avkjøling. Produktet ble omkrystallisert fra litt metanol og hadde smeltepunkt $86 - 87^{\circ}\text{C}$, idet det var samme esteren som den som ble frembrakt ved fremgangsmåten beskrevet umiddelbart ovenfor.

Farmakologiske prøver av 3-(alfa-hydroksypentyl)-4-hydroksybenzoesyre, -som i det etterfølgende benevnes som produktet ifølge oppfinnelsen, har vist følgende resultater:

En undersøkelse av den choleretiske virkning på en anestisert hund viste at doseringer på 150, 100 og til og med 50 mg/kg øker gallestrømmen betraktelig i minst 3 timer. Utsondring av bestanddeler i gallen øker samtidig, hvilket viser at det ikke dreier seg om en enkel hydrocholerese.

Sammenlikning av produktet fremstilt ifølge den foreliggende oppfinnelse med like doser fenyl-1-pentanol har vist at administrering av produktet til et dyr som på forhånd har fått en tilstrekkelig mengde fenyl-1-pentanol, forårsaker en økning i choleresen. Ved administrering av forbindelsene i motsatt rekkefølge, dvs. først administrering av produktet ifølge oppfinnelsen og deretter administrering av fenyl-1-pentanol, økte ikke choleresen. Det er derfor klart at administrering av produktet ifølge oppfinnelsen forårsaker en maksimal cholerese.

Tabell I

Virkning av produktet ifølge oppfinnelsen og av noen kjente handelsvanlige produkter på cholerese hos hunder ved en første administrering.***

1. admini- strering	Variasjon i den gjennomsnittlige gallestrøm	Variasjon i den maks. gallestrøm	Variasjon i galle- konsentra- sjonsfor- holdet	Variasjon i mengden av tørt galle- stoff
Produkt i- følge opp- finnelsen				
50-100 mg/kg	+ 227%*	+ 415%*	- 41%**	+ 99%*
Fenyl-penta- nol				
50-150 mg/kg (I.D.)	+ 102%	+ 146%	- 44%	+ 45%
Cholinsyre				
75-100 mg/kg	+ 121%	+ 197%	+ 120%	+ 83%

Fotnoter:

* Økning i forhold til basisverdien.

** Minskning i forhold til basisverdien.

*** Konvensjonell fremgangsmåte under benyttelse av et ekstemporært gallerør brukt på hunder (grupper på 16 hunder) etter 15-20

timer fastetid, idet dyrene ble anestetisert intramuskulært med "Nembutal" i doseringer på fra 30 til 40 mg/kg.

Etter at gallestrømmen var blitt regelmessig, ble produktet som skulle prøves, innsprøytet intravenøst (I.V.) eller intraduodenalt (I.D.). Deretter ble gallen samlet opp inntil strømmen gikk tilbake til begynnelsesverdi. En del av gallen ble fordampet med den hensikt å frembringe et tørt galleekstrakt.

Ved hjelp av produktet ifølge oppfinnelsen var gjennomsnittssøkningen i gallestrømmen 227%, maksimum gallesekresjon nådde 415% av basisverdien mens gallekonsentrasjonsforholdet minsket imidlertid (- 41%), og den avgitte mengde var slik at det tørre materialet øket med 99%. Produktet ifølge oppfinnelsen øket sekresjonen av galle og virket som et kraftig choleretisk middel, hvis virkning er overlegen virkningen av cholinsyre og fenyl-pentanol.

Tabell II

Virkning av produktet ifølge oppfinnelsen og av fenyl-pentanol på cholereose hos hunder ved en andre administrering (synergisk virkning).*

2. administrering	Variasjon i den gjennomsnittlige gallestrøm	Variasjon i den maksimale gallestrøm sammenliknet med strømmen målt 15 min. før til-delning
Produkt ifølge oppfinnelsen 75-150 mg/kg (ID eller IV)	+ 124%	+ 203%
Fenyl-pentanol 50-150 mg/kg (ID)	+ 46%	+ 117%

Fotnote:

* Dersom choleresen økes for annen gang i samme dyr (etter at en første økning er blitt forårsaket ved hjelp av ett av de tre produkter angitt i Tabell I), var produktet ifølge oppfinnelsen, administrert intravenøst eller intraduodenalt i doseringer på fra 75 til 150 mg/kg til en gruppe på 12 hunder, i stand til å reprodusere en choleretisk effekt som er tydelig overlegen den som

frembringes av fenyl-pentanol administrert i samme dosering på samme måte og under identiske forhold.

Prøver på katter og rotter har vist resultater identiske med de som ble oppnådd ved prøver på hunder.

Produktet ifølge oppfinnelsen har også en spasmolytisk virkning. Virkningen av produktet på den isolerte duodenum hos kaniner og rotter økte en avslapning i muskelen tilkjennegitt ved en reduksjon i amplityden på spontane kontraksjoner og i fargeintensitet. Mer bestemt uttrykt akselererte administrering av 1×10^{-3} av produktet tilbakegangen til normal duodenum, behandlet med $0,1 \times 10^{-3}$ bariumklorid, og til og med en konsentrasjon på $0,5 \times 10^{-3}$ av produktet reduserte tilbakegangen til normal duodenum med mer enn 50%. Videre reduserte den samme dosering av produktet tilbakegangen til normal duodenum, som var behandlet med 1×10^{-5} acetylcholin, med mer enn 50%. Det skal bemerkes i denne sammenheng at eksperimenter har vist at tilbakegangen til normal duodenum frembringes enten produktet tilsettes før eller etter det spasmogeniske middel.

En sammenliknende undersøkelse med papaverin vist at produktet ifølge oppfinnelsen hadde en spasmolytisk virkning på omtrent en tjuefemtedel av papaverin. Sammenliknet med atropin er dets spasmolytiske virkning neglisjerbar, hvilket viser at produktet i virkning har større likhet med papaverin. Denne spasmolytiske virkning er av spesiell verdi fordi den gjør det unødvendig å tilsette et separat spasmolytisk middel slik det er vanlig ved behandling med choleretiske midler.

Prøver har vist at produktet ifølge oppfinnelsen har en svakt stimulerende virkning på bukspyttkjertelens sekresjon hos hunder og rotter, det viste imidlertid ingen virkning på diuresen til hunder, heller ikke på hundenes kardiovaskulære og respiratoriske system.

Den øyeblikkelige toksisitet for produktet ifølge oppfinnelsen, bestemt på mus, er $DL_{50} = 1,440$ mg/kg administrert oralt og 830 mg/kg intraperitonealt. Prøver på kronisk toksisitet, bestemt på forskjellige grupper kaniner og rotter, har vist at 100 til 300 mg/kg doser tre ganger hver uke over 3 måneder ikke gir sykdomsvirkning.

Produktet ifølge oppfinnelsen viser likeledes en svak bakteriostatisk innvirkning på bakterier som finnes i gallegangene, såsom stafylokker, streptokokker og salmonellae typhi, når det benyttes i et konsentrasjonsforhold på 10^4 µg/ml.

Innvirkningen av produktet ifølge oppfinnelsen er blitt sammenliknet med innvirkningen av vanlig brukte antibiotika som utsondres av gallen, dvs. penicillin i form av natriumbenzylpenicillinat, streptomycin i form av dihydrostreptomycinsulfat, oxytetracyclin og sulfametoxypyridazin.

De sammenliknende prøver besto i å innpode flere serier med rør som inneholdt vanlig spisebuljong med 24 timer gamle kulturer av stafylokokker og salmonellae, og rør som inneholdt "Truche" buljong med 24 timer gamle kulturer av streptokokker, idet podemiddelet alltid inneholdt fra 10^4 til 10^6 bakterier pr. ml av sluttproduktet. Produktet ifølge oppfinnelsen og vanlige antibiotika ble tilsatt 0, 2, 4 og 6 timer etter innpoding. De oppnådde resultater er vist i de følgende tabeller:

Tabell III

Patogen Staphylococcus aureus.

Laveste hemmende konsentrasjonsforhold ($\mu\text{g/ml}$)

Serie (Voksetid)	Produkt ifølge oppfinnelsen	Penicillin	Streptomycin	Oxytetracyclin	Sulfametoxypyridazin
A 0 h	10^4	0,6	25×10^{-2}	25×10^{-2}	25×10^3
B 2 h	10^3	6	25×10^{-2}	25×10^{-2}	25×10^3
C 4 h	10^4	6×10^2	2,5	25	25×10^3
D 6 h	10^4	6	250	250	25×10^3

119356

10

Tabell IVHemolytiske streptokokker.Laveste hemmende konsentrasjonsforhold ($\mu\text{g/ml}$)

Serie (Voksetid)	Produkt i- følge opp- finnelsen	Penicillin	Streptomycin	Oxytetra- cyclin	Sulfa- metoxy- pyrida- zin
A 0 h	10^4	0,6	2,5	25×10^{-3}	25×10^3
B 2 h	10^4	0,6	2,5	25×10^{-3}	25×10^3
C 4 h	10^3	0,6	$2,5 \times 10^3$	250	Større enn 25×10^3
D 6 h	10^3	60	250	250	25×10^3

Tabell VSalmonella typhiLaveste hemmende konsentrasjonsforhold ($\mu\text{g/ml}$)

Serie (Voksetid)	Produkt i- følge opp- finnelsen	Penicillin	Streptomycin	Oxytetra- cyclin	Sulfa- metoxy- pyrida- zin
A 0 h	10^4	0,6	2,5	2,5	25×10^2
B 2 h	10^4	0,6	25	25	25×10^3
C 4 h	Større enn 10^4	0,6	25	250	25×10^3
D 6 h	Større enn 10^4	0,6	25×10^3	250	25×10^3

Det kan utledes av de forangående tabeller at produktet i-
følge oppfinnelsen viser noen bakteriostatisk aktivitet, selv om

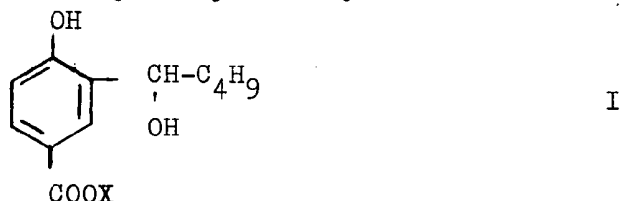
dets aktivitet er underlegen aktiviteten til de vanligst anvendte antibiotika.

Produktet ifølge oppfinnelsen er således et kraftig choleretisk middel som er praktisk talt fritt for toksiske reaksjoner, som stimulerer bukspyttsekresjonen lett, har en spasmolytisk virkning som lett kan tolereres og har en antibakteriell virkning som er fordelaktig ved anti-infektiv terapi.

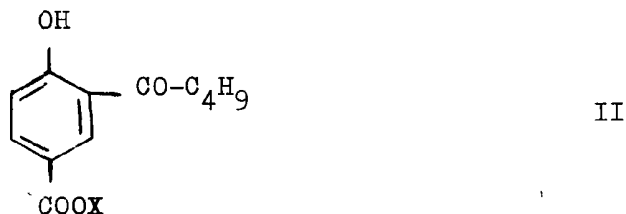
Kliniske forsøk er likeledes blitt gjennomført for å bevise den terapeutiske anvendbarhet til produktet ifølge oppfinnelsen. I tillegg til dets choleretiske virkning kunne den spasmolytiske effekt hos produktet observeres hos flere pasienter. Produktet kjennetegnes dessuten nærmere ved en meget god generell toleranse. Tilfredsstillende resultater ble oppnådd ved følgende sykdommer: virus hepatitis, inadekvat hepatitt, kronisk litiasis, cholecystitis, pre-menopause sammen med vesikulære angrep og gallebrekning.

P A T E N T K R A V

Fremgangsmåte for fremstilling av et terapeutisk virksomt derivat av 4-hydroksybenzoesyre med formel



hvor X er hydrogen, en alkylgruppe med 1 - 3 carbonatomer, eller et alkalimetall, jordalkalimetall, ammonium-kation eller amin-kation, k a r a k t e r i s e r t v e d a t e t k e t o n m e d f o r m e l



hvor X har den angitte betydning, utsettes for reduksjon, hvorefter den erholdte forbindelse av formel I, hvor X har en av de ovenfor angitte betydninger, om ønsket overføres til en forbindelse hvor X har en annen av de ovenfor angitte betydninger.

Anførte publikasjoner: -