



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 3024/86

(22) Indleveringsdag: 26 jun 1986

(41) Alm. tilgængelig: 28 dec 1986

(44) Fremlagt: 10 jun 1991

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 27 jun 1985 DE 3523002 03 apr 1986 DE 3611097

(71) Ansøger: *DR. KARL THOMAE GMBH; D-W 7950 Biberach an der Riss, DE

(72) Opfinder: Wolfgang *Eberlein; DE, Guenter *Trummiltz; DE, Wolfhard *Engel; DE, Gerhard *Mihm; DE, Rudolf *Hammer; DE, Norbert *Mayer; DE, Antonio *Giachetti; IT, Adriaan de *Jonge; DE, Helmut *Ballhause; DE

(51) Int.Cl.⁵ C 07 D 471/04
// (C 07 D 471/04
C 07 D 221:00
C 07 D 243:00)

(74) Fuldmægtig: Internationalt Patent-Bureau

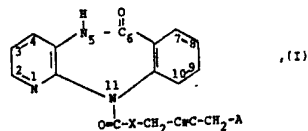
(54) 11-substituerede 5,11-dihydro-6H-pyrido(2,3-b)(1,4)-benzodiazepin-6-oner, fremgangsmåde til fremstilling heraf, lægemiddel indeholdende en sådan forbindelse samt anvendelse af en sådan forbindelse til fremstilling af lægemidler

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

3024-86

Forbindelser med den almene formel I



hvor

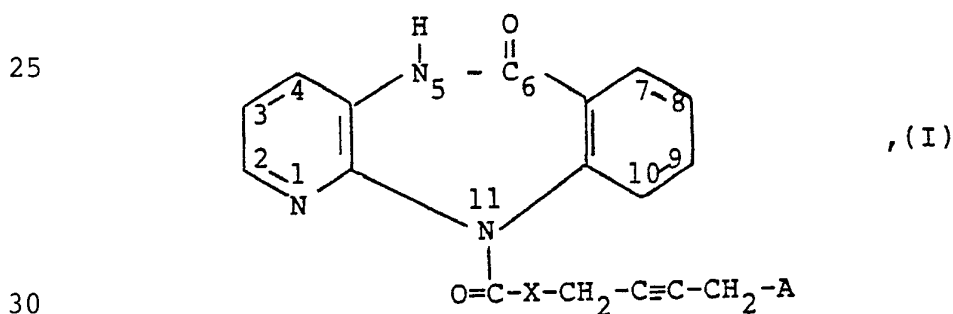
X betegner grupperne =CHR, =NR eller et oxygenatom og A betegner grupperne -NR¹R², hvor R¹ og R² kan betegne alkyl-, cycloalkyl- eller phenylalkylgrupper, n er 0, 1 eller 2, R³ er et hydrogenatom, en hydroxy- eller alkylgruppe eller en gruppe -(CH₂)_n-N-R⁵R⁶ (R⁵ og R⁶ er lavere alkylgrupper) og R⁴ betyder en alkyl- eller phenylalkylgruppe. Forbindelserne fremstilles ved forskellige fremgangsmåder, de udviser gunstige effekter på hjertefrekvensen og kan anvendes som vagale hjerteregulatorer ved behandling af bradykardier og bradyarrytmier i human- og veterinærmedicin. Visse af forbindelserne besidder derudover en udmærket antithrombotisk virkning.

Opfindelsen angår hidtil ukendte 11-substituerede 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-oner, deres isomere og farmakologisk acceptable salte med uorganiske eller organiske syrer, fremgangsmåder til deres fremstilling, lægemidler indeholdende disse forbindelser samt anvendelse af disse forbindelser til fremstilling af lægemidler.

Fra EP-A-0 039 519 og 0 057 428 såvel som fra USA 3.660.380; 3.691.159; 4.213.984; 4.213.985; 4.210.648; 10 4.410.527; 4.424.225; 4.424.222 og 4.424.226 kendes allerede kondenserede diazepinoner med mavesårshæmmende og mavesaftssekretionshæmmende egenskaber.

Man har nu fundet, at diazepinonerne ifølge opfindelsen med nye substituentter i 11-stillingen i forhold til forbindelserne nævnt i ovennævnte publikationer på overraskende måde udviser fuldstændigt andre og værdifulde farmakologiske egenskaber, nemlig en gunstig virkning på hjertefrekvensen uden en samtidig salivationshæmmende og pupiludvidende virkning, i visse tilfælde også spasmolytiske egenskaber over for perifere organer og i visse tilfælde antithrombotiske egenskaber.

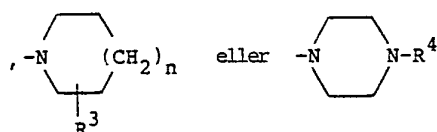
Forbindelserne ifølge opfindelsen er ejendommelige ved, at de har den almene formel I



hvor

X betegner grupperne $\begin{array}{c} | \\ \text{H}-\text{C}-\text{R} \\ | \end{array}$, $-\text{NH}-$ eller $-\text{O}-$ og

A betegner grupperne

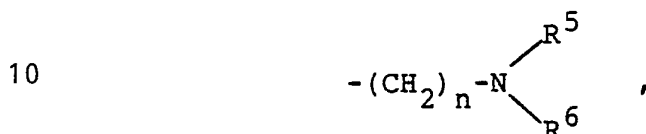


hvor

5 R betegner et hydrogenatom eller en alkylgruppe med 1-3 carbonatomer,

n er 1 eller 2,

R³ betegner et hydrogenatom eller en gruppe med formelen



hvor

n er som defineret ovenfor, og R⁵ og R⁶ betegner en alkylgruppe med 1-3 carbonatomer, og

15 R⁴ betegner en ligekædet eller forgrenet alkylgruppe med 1-3 carbonatomer, deres isomere samt deres farmaceutisk acceptable salte med uorganiske eller organiske syrer.

Forbindelserne med den almene formel I kan efter reaktion med uorganiske eller organiske syrer også fore-

20 ligge på form af deres fysiologisk acceptable salte.

Som syrer har fx saltsyre, brombrintesyre, svovlsyre, methylsvovlsyre, phosphorsyre, vinsyre, fumarsyre, citronsyre, maleinsyre, ravsyre, æblesyre, p-toluensulfonsyre, methansulfonsyre eller amidosulfonsyre vist sig

25 egnede.

Foretrukne forbindelser ifølge opfindelsen opregnes i krav 2-4.

Opfindelsen angår endvidere lægemidler, der er ejendommelige ved at indeholde en forbindelse med oven-

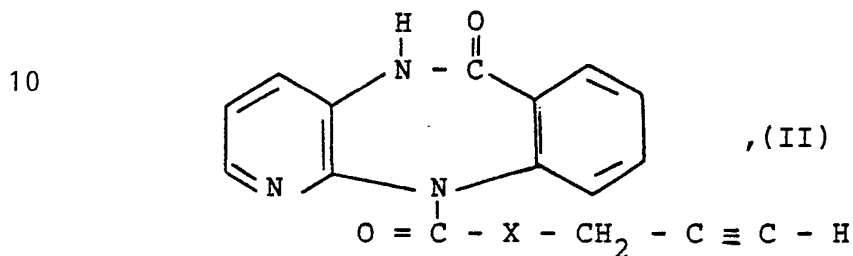
30 nævnte formel (I) foruden sædvanlige bærer- og/eller hjælpestoffer, anvendelse af forbindelser ifølge opfindelsen til fremstilling af et lægemiddel til behandling af bradykardi og bradyarrhythmier samt anvendelse af forbindelser ifølge opfindelsen defineret i krav 2 til

35 fremstilling af et lægemiddel med antithrombotiske egenskaber til behandling af thromboemboliske sygelige tilstande. Opfindelsen angår desuden en fremgangsmåde til fremstilling af forbindelserne med formel (I) i krav 1,

hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved det i krav 9's kendetegnende del angivne.

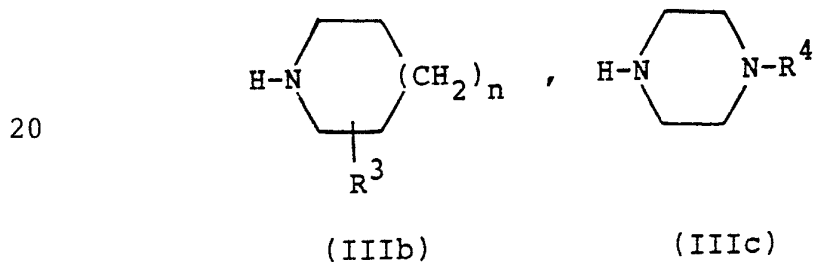
Ifølge opfindelsen tilvejebringer man forbindelserne med den almene formel I efter følgende fremgangsmåder:

a) Ved reaktion af en forbindelse med den almene formel II



15 hvori

X er som defineret ovenfor, og en amin med en af formelne



25 hvori

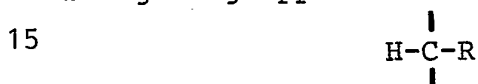
R^3 og R^4 er som defineret ovenfor, eller med et salt af en sådan amin under tilstedeværelse af formaldehyd eller paraformaldehyd og, eventuelt, under tilstedeværelse af katalytiske mængder af salte som kobber(I)chlorid, jern(II)chlorid. Som salte af aminerne med formelne IIIb og IIIc anvender man fortrinsvis halogeniderne, fx hydrochloriderne eller acetaterne.

Reaktionen finder sted i et organisk opløsningsmiddel ved temperaturer op til reaktionsblandingsens kogepunkt. Som opløsningsmiddel egner sig cykliske ethere som dioxan og alkoholer som ethylalkohol. Det anbefales ved anvendelse af dioxan at tilsætte eddikesyre. Reak-

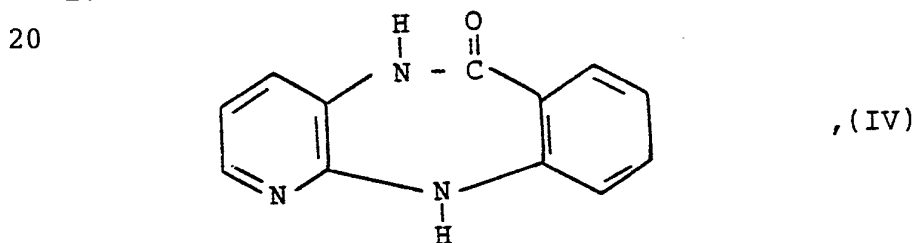
35

tionen kan fremmes ved tilsætning af salte som kobber(I)-chlorid eller jern(II)chlorid. I almindelighed opløser man først formaldehyd eller paraformaldehyd og en amin af formlerne IIIb eller IIIc, henholdsvis et salt 5 deraf, fx hydrochlorid eller et acetat, i opløsningsmidlet og tilsætter først derefter forbindelsen med den almene formel II. Efter ophedning til tilbagesvalings-temperatur filtrerer man uopløselige andele fra og isolerer slutproduktet på sædvanlig vis. I øvrigt gælder sæd- 10 vanlige forskrifter for Mannich-reaktionen (sammenlign Weygand und Hilgetag, Organisch-Chemische Experimentierkunst, S. 990 f.f.).

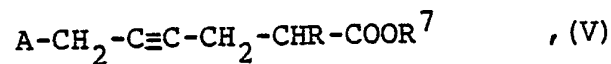
b) Forbindelser med den almene formel I, hvori X betegner gruppen



med R som defineret ovenfor kan også fremstilles ved reaktion af dilithiumsaltet af en forbindelse med formel IV



25 med en ester med den almene formel V



hvori

30 A og R er defineret ovenfor, og R⁷ betegner en alkylgruppe med 1-10 carbonatomer, en phenylalkylgruppe med i alt 7-10 carbonatomer eller phenylgruppen.

Omdannelsen af 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]-benzodiazepin-6-onen med formel IV til sit dilithiumsalt 35 foregår ved hjælp af lithiumalkylforbindelser, især med n-butyllithium under tilstedeværelse af tetramethyl-

ethylendiamin, tert.-butyllithium, lithiumdiisopropylamid eller lithiumdicyclohexylamid eller med lithiumarylforbindelser, fx med phenyllithium. Omdannelsen til lithiumsaltet og den videre reaktion til slutproduktet foregår i et organisk opløsningsmiddel ved temperaturer mellem -60 – $+20^{\circ}\text{C}$, fortrinsvis ved -10°C . Som organiske opløsningsmidler kan sådanne anvendes, der normalt anvendes i forbindelse med lithiumreagenser; særlig fordelagtig er anvendelse af tetrahydrofuran eller andre ethere som diethylether, af aliphatiske carbonhydrider som hexan eller af blandinger deraf, eventuelt under tilstedeværelse af hexamethylphosphorsyretriamid som yderligere opløsningsmiddel. Kort tid efter at tilførslen af metalreagenset er afsluttet, tilsætter man en støkiometrisk mængde eller et lille overskud af esteren med formel V og lader reaktionsblandingen langsomt, fx i løbet af to timer, opvarme sig til stuetemperatur, så reaktionen kan forløbe færdig. Den dannede forbindelse med formel I isoleres på sædvanlig måde fra reaktionsblandingen, og man tilvejebringer den frie forbindelse, der eventuelt derefter kan overføres til et af sine salte.

De ved denne fremgangsmåde tilvejebragte forbindelser med formel I kan derefter overføres til syreadditionssalte, eller tilvejebragte syreadditionssalte kan overføres til frie baser eller andre farmakologiske acceptable syreadditionssalte ved kendte fremgangsmåder.

Hvis man ved den ovenfor anførte fremgangsmåde har tilvejebragt forbindelser med den almene formel I, hvor X betegner gruppen >CHR med de for R ovenfor anførte betydninger bortset fra hydrogenatom eller hvor A betegner en gruppe, der indeholder gruppen R^3 , hvori R^3 er som defineret ovenfor med undtagelse af hydrogenatom, så kan disse forbindelser foreligge i diastereomere former eller som enantiomere (+)- og (-)-former. Opfindelsen omfatter de enkelte isomere såvel som deres blandinger. Adskillelse af diastereomere kan foregå

ved hjælp af deres forskellige kemiske og fysiske egenskaber, fx ved hjælp af fraktioneret omkrystallisering fra egnede opløsningsmidler, ved højtryksvæskechromatografi, søjlechromatografi eller ved gaschromatografiske fremgangsmåder.

Spaltning af eventuelle racemiske forbindelser med den almene formel I kan foregå efter kendte fremgangsmåder fx under anvendelse af en optisk, aktiv syre som (+)- eller (-)-vinsyre, eller et derivat deraf som (+)- eller (-)-diacetylvinsyre, (+)- eller (-)-monomethyltartrat eller (+)-kamfersulfonsyre.

Efter en almindelig anvendt fremgangsmåde til adskillelse af isomere omsætter man en racemisk blanding af forbindelser med den almene formel I med en af de ovenfor angivne optisk aktive syrer i ækvimolekylære mængder i et opløsningsmiddel, der skiller de tilvejebragte udkrystalliserede optisk aktive salte under udnyttelse af deres forskellige opløselighed. Denne omsætning kan udføres i enhver slags opløsningsmiddel, så længe dette besidder en tilstrækkelig forskel i opløselighed af saltene. Man anvender fortrinsvis methanol, ethanol eller blandinger deraf, fx i volumenforholdet 50:50. Derefter opløses de optisk aktive salte hver for sig i vand, neutraliseres med en base som natriumcarbonat eller kaliumcarbonat, hvorved man tilvejebringer den tilsvarende frie forbindelse i (+)- eller (-)-formen.

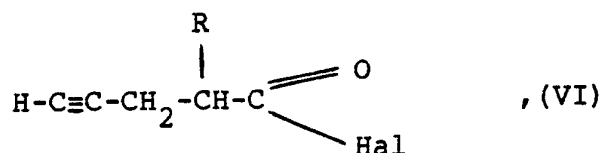
Man kan opnå den ene enantiomere eller en blanding af to optisk aktive diastereomere forbindelser med den almene formel I ved at udføre den ovenfor beskrevne syntese med udgangsforbindelser med veldefineret konstitution.

Fremstillingen af udgangsforbindelser med den almene formel II, hvori X betegner gruppen



hvor R er som defineret ovenfor, foregår ved reaktion af dilithiumsaltet af 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]-benzodiazepin-6-on med et pentynsyrehalogenid med den almene formel VI

5

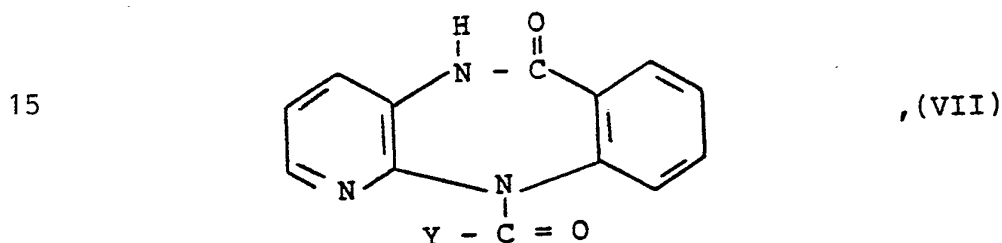


10 hvori

R er som defineret ovenfor, og Hal betegner et halogenatom, fortrinsvis et chlor- eller bromatom. Omdannelsen af 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on til dilithiumsaltet foregår ved hjælp af lithiumalkylforbindelser, især ved hjælp af n-butyllithium, n-butyllithium under tilstedeværelse af tetramethylethylendiamin, tert.-butyllithium, lithiumdiisopropylamid eller lithiumdicyclohexylamid eller med lithiumarylforbindelser fx med lithiumpenyl. Omdannelsen til lithiumsaltet og den videre reaktion til opnåelse af slutproduktet foregår i et organisk opløsningsmiddel ved temperaturer mellem -60-+20°C, fortrinsvis ved -10°C. Som organisk opløsningsmiddel kan sådanne anvendes, der normalt anvendes til reaktion med lithiumreagenser; især fordelagtigt er anvendelsen af tetrahydrofuran eller andre ethere som diethylether, af aliphatiske carbonhydrider som hexan eller af blandinger deraf, eventuelt under tilstedeværelse af hexamethylphosphorsyretriamid som yderligere opløsningsmiddel. Kort tid efter at tilsætningen af metalreagenset er afsluttet, tilsætter man den støkiometriske mængde eller et lille overskud af syrehalogenidet med den almene formel VI og lader reaktionsblandingen opvarme sig langsomt, fx i løbet af to timer til stuetemperatur, så reaktionen kan løbe til ende. Man isolerer den dannede forbindelse med formel II efter sædvanlige metoder fra reaktionsblandingen og kan eventuelt derefter overføre den til et salt.

Et syrehalogenid med den almene formel VI kan fremstilles ud fra den tilsvarende 4-pentynsyre ved reaktion med et thionylhalogenid. Fremstillingen af 4-pentynsyre foregår efter kendte fremgangsmåder. For eksempel kan man tilvejebringe 2-methyl-4-pentynsyre ifølge en fremgangsmåde beskrevet i Bull. Soc. Chim. France, 1954, side 797 og 798, idet man udgår fra methylmalon-syrediethylester.

Fremstillingen af udgangsforbindelser med den almene formel II, hvori X betegner gruppen -NH-, foregår ved reaktion af pyridobenzodiazepinoner med den almene formel VII



hvori

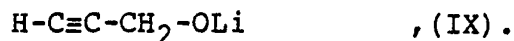
20 Y betegner et halogenatom, fortrinsvis et chlor- eller bromatom, med en amin med formel VIII



25 Reaktionen foregår med fordel under tilstedeværelse af opløsningsmidler, fx vand, toluen, alkoholer som methanol, ethanol, propanol, især med fordel under tilstedeværelse af aprotte polære opløsningsmidler som tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, acetonitril, 30 N,N-dimethylformamid, dimethylsufoxid, hexamethylphosphorsyretriamid eller blandinger deraf og ved temperaturer mellem 0°C og reaktionsblandingsens kogepunkt, med fordel mellem 40-100°C. Det er fordelagtigt at tilsætte en uorganisk eller organisk base som natriumhydroxyd, tri- 35 ethylamin eller pyridin eller et overskud af basen med den almene formel VIII.

Fremstilling af udgangsforbindelser med den almene formel II, hvori X betegner et oxygenatom, foregår ved reaktion af en pyridobenzodiazepinon med den almene formel VII med en forbindelse med formlen IX

5



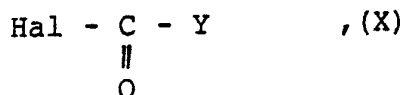
Reaktionen udføres fortrinsvis i vand eller ethanol, propanol, n-hexan eller i aprotte polære opløsningsmidler som tetrahydrofuran, ved temperaturer op til reaktionsblandingsens kogepunkt. Forbindelsen med formel IX fremstilles med fordel in situ ved reaktion af propynol med den støkiometriske mængde n-butyllithium eller phenyllithium, hvorefter reaktion med pyridobenzodiazepinon med den almene formel VII foregår umiddelbart derefter.

15

Forbindelserne med de almene formler IIIb, IIIc og VIII er kendt i litteraturen eller kan fremstilles i analogi med metoder nævnt i litteraturen.

De nødvendige mellemprodukter med den almene formel VII fremstilles ved reaktion af 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on med formel IV med et halogenkulsyrederivat med den almene formel X

20



25

hvori

Hal og Y, der ikke må være identiske, betyder et chlor- eller bromatom. Reaktionen foregår i inerte opløsningsmidler, fx i aromatiske carbonhydrider som toluen, chlorbenzen, xylen, lige eller cykliske ethere som diisopropylether, tetrahydrofuran eller dioxan, i ketoner som 3-pentanon eller i andre opløsningsmidler som acetonitril eller dimethylformamid, med fordel under tilstedeværelse af tertiære organiske baser som pyridin, ved temperaturer op til reaktionsblandingsens kogepunkt, fortrinsvis mellem 30-80°C.

35

Fremstillingen af 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b]-[1,4]benzodiazepin-6-on med formel IV beskrives i US-patentskrift nr. 3.406.168.

Opfindelsen angår som nævnt også lægemidler, der indeholder 5 én eller flere forbindelser med den almene formel I eller deres fysiologisk acceptable salte.

Forbindelserne med den almene formel I kan med dette formål på bekendt måde indarbejdes i sædvanlige farmaceutiske tilberedninger, fx i opløsninger, stikpiller, 10 tabletter, dragéer, kapsler eller theer. En daglig dosis ligger almindeligvis mellem 0,02-5 mg/kg, fortrinsvis 0,2-1,0 mg/kg kropsvægt og kan eventuelt indgives i form af flere, fortrinsvis 1-3 doser til opnåelse af den ønskede effekt.

15 De basisk substituerede kondenserede diazepinoner med den almene formel I og deres syreadditionssalte besidder værdifulde egenskaber; især har de gunstig virkning på hjertefrekvensen og er, da de ikke besidder salivationshæmmende og pupiludvidende virkning, egnet som 20 vagale hjerteregulatorer ved behandling af bradykardi og bradyarrhythmier i human- og veterinærmedicinen; en del af forbindelserne udviser også spasmolytiske egenskaber over for perifere organer, især tyktarmen og blæren.

25 Derudover udviser en del af forbindelserne over for mus og rotter ved et forsøg ifølge W.W. Duke, J.Amer. Med.Ass. 15, 1185 (1910) i dosisområdet 0,1-10 mg/kg efter i.v. henholdsvis p.o. indgivelse forlængelse af blødningstid og over for rotter med et forsøg ifølge Po- 30 liwoda et al., (sammenlign side 15) antithrombotiske egenskaber.

Et gunstigt forhold mellem på den ene side tachykarde virkninger og på den anden side de ved lægemidler med anticholinerge aktive midler optrædende uønskede bi- 35 virkninger på pupilstørrelsen og udskillelse af tåre-,

spyt- og mavesyre er af særlig vigtighed i forbindelse med den terapeutiske anvendelse af forbindelserne. De følgende forsøg viser, at forbindelserne ifølge opfindelsen udviser overraskende gode forhold i denne forbindelse.

A. Undersøgelse af den antimuscarine virkningsfunktionelle selektivitet.

Forbindelser med antimuscarine egenskaber hæmmer virkningen af exogen tilførte agonister eller af acetylcholin, der bliver frigjort fra de cholinerge nerveender. I det følgende beskrives metoder, der er egnede til undersøgelse af kardioselektive antimuscarinica.

De anvendte fremgangsmåder har til formål at bestemme selektiviteten af den antimuscarine virkning.

Forbindelserne:

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(1-piperidinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on = A

og

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(hexahydro-1H-azepin-1-yl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on = B

undersøges for:

1. Den tachykarde virkning på en vågen hund,
2. hæmning af ved oxotremorin stimuleret spyttudskillelse hos rotter, og
3. pupiludvidende virkning hos rotter.

1. Hjertefrekvensforøgelse hos en vågen hund

Forbindelserne indsprøjtes intravenøst, og man måler hjertefrekvensen ved hjælp af en tachygraf. Efter en kontrolperiode indgiver man stigende doser af forbindelsen for at forøge hjertefrekvensen. Man indsprøjter først næste dosis, når effekten af den foregående ikke mere kan spores. Man bestemmer dosis for en forbindelse, der fører til en forhøjelse på 50 slag/minut (ED_{50}), grafisk. Hver forbindelse afprøves på 3-5 hunde.

2. Hæmning af spyttudskillelse hos rotter

Der anvendes 10 albino-rotter af hunkøn (stamme Crl:COBSCD (SD) BR) for hver behandlingsgruppe med en vægt på 120-150 g, der før forsøget i 24 timer ingen næring fik, men havde fri adgang til drikkevand.

For i forforsøg at finde den muscarine virkning af oxotremorin på hver af de symptomer, der skal undersøges, fremstillede man en dosisvirkningskurve ved hjælp af i hvert tilfælde i det mindste tre doser for hvert symptom.

Ved afprøvning af antimuscarine forbindelser valgte man en oxotremorin-dosis, der i forforsøgene havde udløst det pågældende symptom hos 90-100% af dyrene.

Spytsekretion: 0,083 mg/kg i.v.

Den pågældende antimuscarine forbindelse blev indgivet i doser med regelmæssige mellemrum 15 minutter før man indgav oxotremorin, i begge tilfælde intravenøst. Kontrolgrupperne fik i stedet for den forbindelse, der skulle undersøges, opløsnings- eller suspensionsmidlet i tilsvarende mængde.

Umiddelbart efter indgivelse af oxotremorin iagttog man dyrene i 15 minutter i et glasbur.

Undersøgelsen for indflydelsen på den oxotremorin-inducerede spyttsekretion blev gennemført blindt, dvs. at den, der udførte forsøget, ikke vidste, hvordan dyrene var behandlet på forhånd.

Resultaterne udtrykkes som procentisk hæmning af oxotremorin-effekten (procent af dyr uden det tilsvarende symptom). ED₅₀-værdier blev beregnet ifølge Litchfield og Wilcoxon (J. Pharmacol. Exp. Ther. 96, 99, 1949).

3. Pupiludvidende virkning hos rotter

Man målte væksten i pupilbredden efter intravenøs indsprøjtning af forbindelser, der skulle undersøges. Hertil benyttedes et mikroskop. Målingerne blev udført før og ved forskellige tidspunkter (15, 45 og 75 minutter) efter injektionen af forskellige doser af forbindelser.

delsen. Resultaterne blev udtrykt som ED₂₀₀. Hermed menes den dosis, der medfører en fordobling af pupildiameteren i forhold til normalværdien. Man iagttog normalt den største effekt mellem 15-45 minutter efter den intravenøse indgivelse.

B. Studier over binding til muscarine receptorer:

Bestemmelse af IC₅₀-værdi

Ved denne forsøgsrække anvendtes som prøveforbindelser ud over de ovenfor nævnte forbindelser A og B:

10 5,11-dihydro-11-[[[4-(1-piperidiny1)-2-butynyl]amino]-carbonyl-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on = D
og

15 5,11-dihydro-11-[[[4-(1-piperidiny1)-2-butynyl]oxy]-carbonyl-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on = E

Organerne stammede fra Sprague-Dawley-rotter af hankøn med 180-220 g kropsvægt. Man fjernede hjerte, mave og storhjernebark og arbejdede derefter i iskold hepes-HCl-puffer (pH 7,4; 100 m molar NaCl, 10 m molar 20 MgCl₂). Hjertet med omgivelser blev klippet i stykker med en saks. Derefter blev alle organer homogeniseret i en homogenisator.

Til brug for bindingsforsøget fortyndede man de homogeniserede organer på følgende måde:

25	Hjerte med omgivelser	1: 250
	Storhjernebark	1:3000

Inkubationen af de homogeniserede organer foregik ved en bestemt koncentration af radioligand og en række 30 koncentrationer af ikke-radioaktive prøvestoffer i små Eppendorf-centrifugerør ved 30°C. Inkubationstiden var 45 minutter. Som radioligand anvendte man 0,3 µmol ³H-N-methylscopolamin (³H-NMS). Man afsluttede inkubationen ved centrifugering ved 14000 g og bestemte radio- 35 aktiviteten i centrifugeringsbundfaldet. Den repræsenterer summen af specifik og ikke-specifik binding af ³H-

NMS. Andelen af ikke-specifik binding blev defineret som den radioaktivitet, der blev bundet under tilstedeværelse af 1 μmol chinuclidinylbenzilat. Alle forsøg blev udført firedobbelt. IC_{50} -værdierne for de ikke-
 5 mærkede forbindelser til afprøvning blev bestemt grafisk. De svarer til en koncentration af prøvestof, hvor den specifikke binding af ^3H -NMS til de muscarine receptorer i de forskellige organer bliver hæmmet med 50%.

10 RESULTATER

Tabel I

Tachycard virkning på en vågen hund, hæmning af spytdskillelse stimuleret med oxotremorin hos rotter og pupiludvidende virkning hos rotter.

15

For- bin- delse	Tachykardi (Hund) ED ₅₀ [$\mu\text{g}/\text{kg}$] i.v.	Spytdskillelles- hæmning (Rotte) ED ₅₀ [$\mu\text{g}/\text{kg}$] i.v.	Pupiludvidelse (Rotte) ED ₂₀₀ [$\mu\text{g}/\text{kg}$] i.v.
20 A	44	2048	~ 3000
B	28	1136	2189

Tabel II

Studier over binding til muscarine receptorer, bestemmelse af IC_{50} -værdier:

Forbindelse	Receptor-Bindings-prøve IC_{50} [nM]	
	Cortex	Hjerte
A	1200	120
B	220	30
D	2400	310
E	700	60

Fra de farmakologiske data i ovennævnte tabel I ser man, at hjertefrekvensen ved de afprøvede forbindelser allerede er steget ved doser, hvor man endnu ikke iagttager en formindsket slytuds-killelse og en pupiludvidelse.

Fra data i tabel II ser man, at de hidtil ukendte forbindelser med den almene formel I kan skelne mellem muscarine receptorer fra forskellige typer væv. Dette følger af den betydelig højere IC_{50} -værdi ved undersøgelser på præparater fra storhjernebarken sammenlignet med præparater fra hjerte

Under anvendelse af den ovenfor anførte fremgangsmåde til bestemmelse af binding til muscarine receptorer, i dette tilfælde M_2 -receptorer fra hjerte og M_3 -receptorer fra submandibularis, sammenlignede man forbindelsen fra nedenstående Eksempel 4, nemlig

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(4-methyl-1-piperaziny-
zinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on = F

med forbindelsen fra Eksempel 6 i EP 125 607, nemlig

5 11-[2-(4-methyl-1-piperaziny)acetyl]-
5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-
6-thion = G

og med forbindelsen fra Eksempel 7 i EP 85 893, nemlig

10 5,11-dihydro-11-[[4-methyl-1-piperaziny)-
amino]carbonyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-
6-on,hydrochlorid,hydrat = H

Endvidere sammenlignede man forbindelsen fra
nedenstående Eksempel 8, nemlig

15 5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-[[2-(diethylamino)-
methyl]-1-piperidiny]-4-hexynyl]-6H-pyrido-
[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on = J

med forbindelsen fra Eksempel 6 i EP 156 191, nemlig

20 11-[3-[2-[(diethylamino)methyl]-1-piperidi-
nyl]-1-oxopropyl]-5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b]-
[1,4]benzodiazepin-6-on = K

idet man til bedømmelse af forbindelsernes selektivitet
udregnede forholdet M_3/M_2 .

Resultaterne ses i omstående Tabel III:

TABEL III

	Forbindelse	IC ₅₀ nM		Forhold M ₃ /M ₂
		M ₂	M ₃	
5	F	1000	16000	16
	G	1260	1588	ca. 1
	H	400	200	0,5
10	J	800	25178	31
	K	200	630	3

Resultaterne i Tabel III viser klart, at forbindelserne F og J ifølge opfindelsen er højselektive muscarinantagonister. IC₅₀-værdien for M₂-receptorer giver bindingsaffiniteten over for cardiale M-receptorer; en blokering af sådanne receptorer med antagonist fører til en forhøjelse af hjertefrekvensen. IC₅₀-værdien for M₃-receptorer er et mål for bindingsaffiniteten over for de tilsvarende M-receptorer, f.eks. i mundspytkirtlerne. En blokade af sådanne receptorer med antagonist fører til indskrænkninger, i dette tilfælde af spytmængden. En høj værdi af forholdet M₃/M₂ er fordelagtigt, idet man således kan opnå en forhøjet hjertefrekvens uden en samtidig uønsket påvirkning af spytmængden og af andre organer kontrolleret af M₃-receptorer (øjet:mydriasis, tarmkanalen:forstoppelse og lammelser).

Forbindelserne F og J ifølge opfindelsen er på grund af deres selektivitet de kendte forbindelser G, H og K tydeligt overlegne.

Visse forbindelser med formel I og deres syreadditionssalte besidder som ovenfor nævnt på overraskende måde også en kraftig antithrombotisk virkning. Dette vises tydeligt over for blodpladethromber hos rotter, eksempelvis ved hjælp af forbindelsen 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperazinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on = C der ved undersøgelserne benyttes i form af dihydrochloridet. Undersøgelserne beskrives i det følgende.

10

Indflydelse på blodpladethromber hos rotter

Man arbejdede i det væsentlige ifølge Poliwoda, Lilli, Hagemann, Schyma, i Z. ges. exp. Med. 145, 252, (1968).

15

Metode:

SPF-rotter af hankøn (Chbb: THOM) med vægt på 70-90 g, der før forsøget havde haft fri adgang til foder (Altromin) og vand, fik en intraperitoneal nembu-20 tal-narkose (50-60 mg/kg pentobarbital-Na). Til forhindring af hypothermi lagde man dem på et ophedet forsøgsbord (37°C).

Man foretog et transversalt snit i bugen, trak en slynge af tyndtarmen frem, fikserede den og indstillede 25 en mesenterialvene med en bredde på 300 µm under et binokulært operationsmikroskop med 40 gange forstørrelse. Op mod venen anbragte man en glasindfattet monopolar V4A-stålelektrode med 100 µm diameter af spidsen som ir-30 ritationskatode. Anoden var anbragt ved samme vene over for katoden. Irritationen foregik ved hjælp af 150 volt

jævnstrøm i 100 μ sekunder. Efter irriterationen spulede man konstant det område, der skulle iagttages, med varm (37°C) fysiologisk kogsaltopløsning.

Ved hjælp af mikroskopet iagttog man dannelsen og vækst af en thrombe i 20 minutter. I løbet af iagttagelsestiden målte man i begyndelsen hvert tiende sekund, senere hvert minut, den procentiske forsnævring af blodkarret på grund af thromben og noterede værdien.

Værdierne blev afbildet mod tiden i et koordinat-system. Arealet under den dannede kurve ("area under curve") er et mål for thrombestørrelsen i løbet af tiden.

En gruppe på 5 dyr fik 5 minutter før iagttagelserne begyndte en intravenøs indsprøjtning på 1 mg/kg af forbindelse C som dihydrochlorid (0,1 ml pr. 100 g kropsvægt, opløsningsmiddel aqua dest.). En kontrolgruppe også på 5 dyr fik med samme behandling opløsningsmidlet alene intravenøst indgivet.

"Area under curve" for dyr, der var behandlet med forbindelsen, blev sammenlignet med arealet optegnet for kontroldyrene. Reduktionen af thrombestørrelsen på grund af forbindelsen angives som procentisk formindskelse af middelværdien af "area under curve" for dyrene behandlet med forbindelsen over hele iagttagelsestiden i forhold til middelværdien for kontrolgruppen.

Signifikansen af formindskelsen blev kontrolleret ved hjælp af t-test for uafhængige stikprøver ifølge STUDENT (Cavalli-Sforza: Biometrie, G. Fischer-Verlag, Stuttgart 1969, side 72).

RESULTATER

Forbindelse C

TABEL IV

5	Behandling	Dosis mg/kg i.v. n	"area under curve" Arealenheder MW \pm SD	Procentisk formindskelse i forhold til kontrol
10	Kontrol Forbindelse C som Dihydro- chlorid	- 5 1 5	1736,0 \pm 124,2 1230,0 \pm 188,0 ^x	29,2

^x signifikant reduktion, t-prøve, $p < 0,02$.

15

Dihydrochloridet af forbindelse C formindsker ved dosering på 1 mg/kg i.v. størrelsen af de elektrisk inducerede mesenterialthromber hos rotter i høj grad signifikant med 29,2%. Det er altså overraskende blevet fundet, at denne forbindelse besidder en udpræget anti-thrombotisk virkning.

Forbindelserne fremstillet ifølge opfindelsen viste sig acceptable, idet man selv ved de højest anvendte doser ved de farmakologiske undersøgelser ikke kunne iagttage toksiske bivirkninger.

De efterfølgende eksempler belyser opfindelsen nærmere.

Fremstilling af udgangsmateriale

Eksempel A

5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b]-
5 [1,4]benzodiazepin-6-on

Til en suspension af 3,7 g (0,017 mol) 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on i 150 ml vandfri tetrahydrofuran tildrypper man under omrøring ved 0°C 22,4 ml af en 1,6 molær opløsning af n-butyl-
10 lithium i n-hexan. Derefter holder man blandingen under omrøring i yderligere 30 minutter og lader den så reagere med en opløsning af 2,04 g (0,0175 mol) 4-pentynsyrechlorid i 20 ml tetrahydrofuran. Man opvarmer blandingen til 30°C og fortsætter omrøringen en time. Derefter
15 udhældes reaktionsblandingen i en mættet kogsaltopløsning. Den organiske fase fortyndes med eddikesyreester, fraskilles og vaskes to gange med kogsaltopløsning, filtreres over kul og inddampes under vakuum til tørhed. Det rå produkt renses ved hjælp af søjlechromatografi
20 på kiselgel med chloroform som elueringsmiddel. Man tilvejebringer 2,2 g (43% teoretisk) farveløse krystaller med smp. 179-180°C.

Eksempel B

25 5,11-dihydro-11-[2-methyl-1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido-
[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Analog til eksempel A fremstiller man under anvendelse af 63 g (0,3 mol) 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b]-
[1,4]benzodiazepin-6-on og 46,8 g (0,36 mol) 4-(2-me-
30 thyl)-pentynsyrechlorid 88 g (96% teoretisk) af den ønskede forbindelse med smp. 202-204°C.

Eksempel C

5,11-dihydro-11-[[2-propynyl) amino]carbonyl]-6H-pyrido-
[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Til en suspension af 27,3 g (0,1 mol) 11-chlor-
5 carbonyl-5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiaze-
pin-6-on og 10,0 g (0,1 mol) triethylamin i 500 ml chlo-
roform tildrypper man under omrøring ved stuetemperatur
5,5 g (0,1 mol) propargylamin, hvorved temperaturen sti-
ger til 35°C. Man rører yderligere 30 minutter ved 40°C
10 filtrerer dernæst over aktivt kul og inddamper reaktions-
blandingen til tørhed under vakuum. Den olieagtige remanens
koges med eddikesyreester, hvorefter man tilvejebringer
det ønskede produkt som farveløse krystaller med et ud-
bytte på 20,7 g (71% teoretisk).

15

Eksempel D

5,11-dihydro-11-[[N-methyl(2-propynyl) amino]carbonyl]-
6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Analog til eksempel C tilvejebringer man under
20 anvendelse af 27,3 g (0,1 mol) 11-chlorcarbonyl-5,11-
dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og 7,0 g
(0,1 mol) N-methyl-propargylamin 27 g af den ønskede
forbindelse (88% teoretisk).

25

Eksempel E

5,11-dihydro-11-[[2-propynyl)oxy]carbonyl]-6H-pyrido-
[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Til en opløsning af 2,24 g (0,04 mol) propargyl-
alkohol i 120 ml tetrahydrofuran tildrypper man ved
30 15-20°C 3,08 g (0,048 mol) n-butyllithium i 30 ml n-
hexan. Derefter holder man blandingen 30 minutter under
omrøring ved stuetemperatur og lader den derefter reage-
re med en suspension af 10,9 g (0,04 mol) 11-chlorcarbo-
nyl-5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on
35 i 250 ml tetrahydrofuran. Man rører yderligere i en
time, så reaktionen kan løbe til ende. Der inddampes

under vakuum til tørhed, og remanensen udkrystalliserer ved udrøring med vand. Efter omkrystallisering fra eddikesyreester tilvejebringer man 7,5 g (64% teoretisk) af det ønskede produkt, smp. 213°C.

5

Eksempel F

5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-4-pentynyl]-6H-pyrido-[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

a.) 2-methyl-2-propargyl-malonsyrediethylester

10 I en alkoholopløsning (fremstillet ud fra 23 g natrium og 800 ml absolut ethanol) drypper man ved 35-40°C under omrøring 174 g (1,0 mol) methylmalonsyrediethylester, holder endnu en time under omrøring og til-
15 drypper derefter ved 45°C 130,8 g (1,1 mol) propargylbromid. Man holder blandingen yderligere to timer under tilbagesvaling og omrøring. Efter afkøling suger man blandingen fra det udfældede natriumbromid og inddamper filtratet kraftigt under vakuum. Remanensen udrøres med
20 isvand, og man ekstraherer den vandige opløsning flere gange med ether. De samlede organiske faser tørres og inddampes under vakuum til tørhed. Den tilvejebragte olie benytter man uden yderligere rensning i næste reaktionstrin. Udbytte 187 g (88% teoretisk).

b.) 2-methyl-2-propargyl-malonsyre

25 Til en opløsning af 101 g (1,8 mol) kaliumhydroxyd i en blanding af 560 ml vand/ethanol (1:) sætter man 187 g (0,88 mol) 2-methyl-2-propargyl-malonsyrediethylester og opheder blandingen til tilbagesvaling i to timer under omrøring. Efter afsluttet reaktion (DC-kontrol) inddamper man under vakuum til tørhed og opløser
30 remanensen i vand. Den vandige opløsning gøres sur med 50% svovlsyre og ekstraheres flere gange med methylenchlorid. Man tørrer de forenede ekstrakter, inddamper under vakuum til tørhed og tilvejebringer et farveløst
35 produkt med smp. 135°C.
Udbytte: 135 g (98% teoretisk).

c.) 2-methyl-4-pentynsyre

62,4 g (0,4 mol) 2-methyl-2-propargyl-malonsyre ophedes i et oliebad til 180°C til CO₂-udviklingen ophører (ca. 30 minutter). Man tilvejebringer en gullig olie, som indgår direkte i det næste reaktionstrin.
 5 Udbytte: 41 g (91,5% teoretisk).

d.) 2-methyl-4-pentynsyrechlorid

40 g (0,36 mol) 2-methyl-4-pentynsyre opløses i 85 g thionylchlorid og holder under omrøring i 24 timer ved stuetemperatur. Derefter destillerer man fra thionylchloridet og lader det tilvejebragte syrechlorid indgå i næste reaktionstrin uden yderligere rensning.
 10 Udbytte: 46,8 g (100% teoretisk).

e.) 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Til en suspension af 63 g (0,3 mol) 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on i 1500 ml vandfri tetrahydrofuran tildrypper man under omrøring ved 0-10°C 416 ml (0,65 mol) af en opløsning af n-butyl-lithium i n-hexan. Man fortsætter omrøringen ved stuetemperatur i en time, afkøler derefter til 5-10°C og tildrypper ved denne temperatur 46,8 g (0,36 mol) 2-methyl-4-pentynsyrechlorid (ikke rensset), opløst i 100 ml vandfri tetrahydrofuran, til reaktionsblandingen. Blandingen holdes endnu 3 timer under omrøring ved stuetemperatur og udhældes derefter i 2000 ml mættet kogsaltopløsning og fortyndes med ca. 2000 ml eddikesyreester. Man fraskiller den organiske fase, ekstraherer den to gange, hver gang med 500 ml mættet kogsaltopløsning, tør-
 20 rer over magnesiumsulfat og inddamper under vakuum til tørhed. Den ønskede forbindelse tilvejebringes som et gulbrunt produkt, der anvendes uden yderligere rensning i næste reaktionstrin.

Råudbytte: 88 g (96% teoretisk).

35 En lille prøve blev rensset søjlechromatografisk, smp. 202-204°C (ether).

Fremstilling af slutprodukter

Eksempel 1

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(1-piperidinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

5 En blanding af 9,6 g (0,03 mol) 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on, 1,08 g (0,036 mol) paraformaldehyd, 3,06 g (0,036 mol) piperidin, 0,2 g kobber(I)chlorid og 150 ml dioxan opvarmes en time under tilbagesvaling. Efter afsluttet
10 reaktion frafiltrerer man fra uopløselige andele og inddamper filtratet til tørhed under vakuum. Råproduktet renses søjlechromatografisk på kiselgel (mobil fase: eddikesyreester, eddikesyreester +10% methanol). Efter omkrystallisering fra eddikesyreester opnår man 2,7 g
15 (21% teoretisk) af den ønskede forbindelse, smp. 197°C.

Eksempel 2

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(1-pyrrolidinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

20 Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og pyrrolidin i et udbytte på 41% af det teoretiske, smp. 185-186°C (eddikesyreester).

25 Eksempel 3

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(hexahydro-1H-azepin-1-yl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

30 Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og hexamethylenimin med et udbytte på 24% af det teoretiske, smp. 169-170°C (eddikesyreester).

Eksempel 4

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(4-methyl-1-piperazinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og 4-methyl-piperazin i et udbytte på 25% af det teoretiske; smp. 182-183°C.

Eksempel 5

10 5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-[(methyl)(cyclohexyl)amino]-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og N-cyclohexyl-methylamin i et udbytte på 20% af det teoretiske; smp. 162-163°C (eddikesyre-ester).

Eksempel 6

20 5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(diethylamino)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og diethylamin i et udbytte på 16% af det teoretiske; smp. 173-174°C (eddikesyreester).

25

Eksempel 7

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(4-trans-hydroxy-1-piperidinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og 4-hydroxy-piperidin med et udbytte på 30% af det teoretiske; smp. 175-176°C.

30

Eksempel 8

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-[[2-(diethylamino)methyl]-1-piperidinyl]-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

5 Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og 2-[(diethylamino)methyl]piperidin med et udbytte på 14% af det teoretiske; smp. 157-158°C (eddikesyreester).

10

Eksempel 9

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-[(methyl)(4-trans-hydroxy-cyclohexyl)amino]-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

15 Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og N-(4-trans-hydroxy)-cyclohexyl-methylamin med et udbytte på 27% af det teoretiske; smp. 176-178°C (eddikesyreester).

20

Eksempel 10

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(4-trans-hydroxy-hexahydro-1H-azepin-1-yl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

25 Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og 4-hydroxy-hexamethylenimin med et udbytte på 16% af det teoretiske; smp. 140-141°C.

30

Eksempel 11

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-[(methyl)(benzyl)amino]-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

35 Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og N-benzyl-methylamin med et udbytte på 11% af det teoretiske; smp. 204-206°C (eddikesyreester).

Eksempel 12

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(4-isopropyl-1-piperazinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og 4-isopropyl-piperazin med et udbytte på 10% af det teoretiske; smp. 124-126°C (diisopropyl-ether/eddikesyreester).

10

Eksempel 13

5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(4-benzyl-1-piperazinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og 4-benzyl-piperazin med et udbytte på 21% af det teoretiske; smp. 157-158°C (eddikesyreester).

Eksempel 14

5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(1-pyrrolidinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[2-methyl-1-oxo-4-pentynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og pyrrolidin med et udbytte på 52% af det teoretiske; smp. 158°C (eddikesyreester).

25

Eksempel 15

5,11-dihydro-11-[[4-(1-piperidinyl)-2-butynyl]amino]carbonyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-dihydro-11-[[2-propynyl]amino]carbonyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og piperidin med et udbytte på 44% af det teoretiske; 199-200°C (eddikesyreester/ethanol).

Eksempel 16

5,11-dihydro-11-[[[4-(hexahydro-1H-azepin-1-yl)-2-buty-
nyl] (methyl) amino] carbonyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzo-
diazepin-6-on

5 Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-
dihydro-11-[[N-methyl(2-propynyl) amino] carbonyl]-6H-py-
rido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og hexamethylenimin
med et udbytte på 26% af det teoretiske; smp. 145-146°C
(ether).

10 Eksempel 17

5,11-dihydro-11-[[[4-(1-piperidiny1)-2-butynyl]oxy]car-
bonyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Fremstilles analog til eksempel 1 ud fra 5,11-
dihydro-11-[[2-propynyl]oxy]carbonyl]-6H-pyrido[2,3-b]-
15 [1,4]benzodiazepin-6-on og piperidin med et udbytte på
22% af det teoretiske; smp. 207-208°C (sønderdeling).

Eksempel 18

5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperazi-
20 nyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

En reaktionsblanding, der består af 36,6 g (0,12
mol) 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-4-pentynyl]-6H-
pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on, 4 g (0,13 mol) pa-
raformaldehyd, 13,2 g (0,13 mol) N-methylpiperazin,
25 0,2 g kobber(I)chlorid og 600 ml dioxan opvarmes to ti-
mer under tilbagesvaling. Efter afsluttet reaktion fil-
trerer man over aktivt kul til fjernelse af uopløselige
bestanddele og inddamper filtratet under vakuum til tør-
hed. Med henblik på rensning opslættes råproduktet i en
30 opløsning af 15,4 g (0,13 mol) maleinsyre i 600 ml vand,
og der røres en time ved stuetemperatur. Man filtrerer
uopløselige bestanddele fra, tilsætter kaliumcarbonat
til alkalisk reaktion af filtratet og opløser den udfæl-
dede harpiks i 600 ml methylenchlorid. Efter tørring
35 over magnesiumsulfat inddamper man opløsningen under va-
kuum til tørhed. Den krystallinske remanens koges op

med 150 ml eddikesyreester og frasuges efter afkøling. Ved behandling med en smule mere eddikesyreester tilvejebringer man et krystallinsk produkt, der efter vask med ether smelter ved 212-214°C.

5 Udbytte: 30,5 g (60,9% af det teoretiske).

Eksempel 19

5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperaziny-
nyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on-
10 dihydrochlorid

28 g (0,067 mol) 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-
6-(4-methyl-1-piperaziny-4-hexynyl)-6H-pyrido[2,3-b]-
[1,4]benzodiazepin-6-on opslømmes i 350 ml absolut etha-
nol og bringes under kogning og omrøring til reaktion
15 med 45 ml etherisk saltsyre. Der opstår foreløbig en
klar opløsning, der efter nogen tids forløb igen bliver
uklar. Der udskilles en fin krystalgrød, som man fra-
suger efter afkøling og vasker med 50 ml absolut ethanol
og 150 ml acetone.

20 Smp.: 220-221°C. Udbytte: 32,5 g (98,9% af det teoreti-
ske).

I det følgende beskrives fremstillingen af farma-
ceutiske anvendelsesformer ved hjælp af eksempler:

25

Eksempel I

Tabletter med 5 mg 5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(1-piperidi-
nyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on
Sammensætning:

30 1 tablet indeholder:

Aktivt middel	50,0 mg
Mælkesukker	148,0 mg
Kartoffelstivelse	65,0 mg
Magnesiumstearat	<u>2,0 mg</u>
35	265,0 mg

Fremstilling:

Der fremstilles en 10%'s slim ved opvarmning af kartoffelstivelse. Man blander det aktive middel, mælkesukkeret og resten af kartoffelstivelsen og granulerer med den ovennævnte slim gennem en sigte med maskestørrelse 1,5 mm. Granulatet tørres ved 45°C, rives endnu en gang gennem den ovennævnte si, blandes med magnesiumstearat og presses til tabletter.

Tabletvægt: 220 mg
 10 Stempel: 9 mm

Eksempel II

Dragéer med 5 mg 5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(1-piperidinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on
 15 De ifølge eksempel I fremstillede tabletter overtrækkes ved en kendt fremgangsmåde med et overtræk, der i det væsentlige består af sukker og talkum. De færdige dragéer poleres ved hjælp af bivoks.

Dragévægt: 300 mg
 20

Eksempel III

Ampuller med 1 mg 5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(1-piperidinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on
 Sammensætning:

25 1 ampul indeholder:

Aktivt middel		10,0 mg
Natriumchlorid		8,0 mg
Dest. vand	ad	1 ml

30 Fremstilling:

Man opløser det aktive middel og natriumchloridet i det destillerede vand og fylder op til det ønskede volumen. Opløsningen sterilfiltreres og fyldes på 1 ml-ampuller.

35 Sterilisering: 20 minutter ved 120°C.

Eksempel IV

Stikpiller med 5 mg 5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(1-piperidiny1)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

Sammensætning:

5 1 stikpille indeholder:

Aktivt middel	50,0 mg
Stikpillemasse (fx Witepsol W 45)	<u>1.695,0 mg</u>
	1.745,0 mg

10 Fremstilling:

Det finpulveriserede aktive middel udsuspenderes i den smeltede stikpillemasse, der afkøles til 40°C. Derefter udhælder man massen i let forudkølede stikpilleforme ved 37°C.

15 Stikpillevægt: 1,7 g

Eksempel V

Dråber med 5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(1-piperidiny1)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on

20 Sammensætning:

100 ml dråbeopløsning indeholder:

p-hydroxybenzoesyremethylester	0,035 g
p-hydroxybenzoesyrepropylester	0,015 g
Anisolie	0,05 g
25 Menthol	0,06 g
Ren ethanol	10,0 g
Aktivt middel	5,0 g
Natriumcyclamat	1,0 g
Glycerol	15,0 g
30 Dest. vand	ad 100,0 ml

Fremstilling:

Man opløser det aktive middel og natriumcyclamat i ca. 70 ml vand og tilsætter glycerol. Man opløser p-hydroxybenzoesyreesterene, anisolien og menthol i ethanol
 35 og blander denne opløsning under omrøring med den vandige opløsning. Derefter fyldes med vand til 100 ml og man filtrerer til befrielse for svævende partikler.

Eksempel VI

Tabletter med 50 mg 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperaziny1)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b]-[1,4]benzodiazepin-6-on

5 Sammensætning:

1 tablet indeholder:

Aktivt middel	50,0 mg
Mælkesukker	148,0 mg
Kartoffelstivelse	65,0 mg
10 Magnesiumstearat	<u>2,0 mg</u>
	265,0 mg

Fremstilling:

Der fremstilles ved hjælp af opvarmning en 10% slim af kartoffelstivelse. Man blander det aktive mid-
 15 del, mælkesukker og resten af kartoffelstivelsen og granulerer med den ovennævnte slim gennem en sigte med maskestørrelse 1,5 mm. Granulatet tørres ved 45°C, rives endnu engang gennem den ovennævnte si, blandes med magnesiumstearat og presses til tabletter.

20 Tabletvægt: 220 mg

Stempel: 9 mm

Eksempel VII

25 Dragéer med 50 mg 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperaziny1)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]-benzodiazepin-6-on

De ifølge eksempel VI fremstillede tabletter be-
 klædes ved bekendt fremgangsmåde med et overtræk, der i
 det væsentlige består af sukker og talkum. De færdige
 30 dragéer poleres ved hjælp af bivoks.

Dragévægt: 300 mg

Eksempel VIII

Ampuller med 10 mg 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperaziny1)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]-benzodiazepin-6-on-dihydrochlorid

5 Sammensætning:

1 ampul indeholder:

Aktivt middel		10,0 mg
Natriumchlorid		8,0 mg
Dest. vand	ad	1 ml

10

Fremstilling:

Det aktive middel og natriumchlorid opløses i destilleret vand, og man fylder til det ønskede rumfang. Opløsningen sterilfiltreres og fyldes på 1 ml ampuller.

15 Sterilisering: 20 minutter ved 120°C.

Eksempel IX

Stikpiller med 50 mg 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperaziny1)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b]-

20 [1,4]benzodiazepin-6-on

Sammensætning:

1 stikpille indeholder:

Aktivt middel		50,0 mg
Stikpillemasse (fx Witep-		
25 sol W 45)		<u>1.695,0 mg</u>
		1.745,0 mg

Fremstilling:

Det finpulveriserede aktive middel udsuspenderes i den smeltede stikpillemasse, der er afkølet til 40°C. Derefter udhælder man massen ved 37°C i let forkølede stikpilleforme.

30

Stikpillevægt: 1,745 g.

Eksempel X

Dråber med 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperaziny1)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on-dihydrochlorid

5 Sammensætning:

100 ml dråbeopløsning indeholder:

	p-hydroxybenzoesyremethylester	0,035 g
	p-hydroxybenzoesyrepropylester	0,015 g
	Anisolie	0,05 g
10	Menthol	0,06 g
	Ren ethanol	10,0 g
	Aktivt middel	5,0 g
	Natriumcyclamat	1,0 g
	Glycerol	15,0 g
15	Dest. vand	ad 100,0 ml

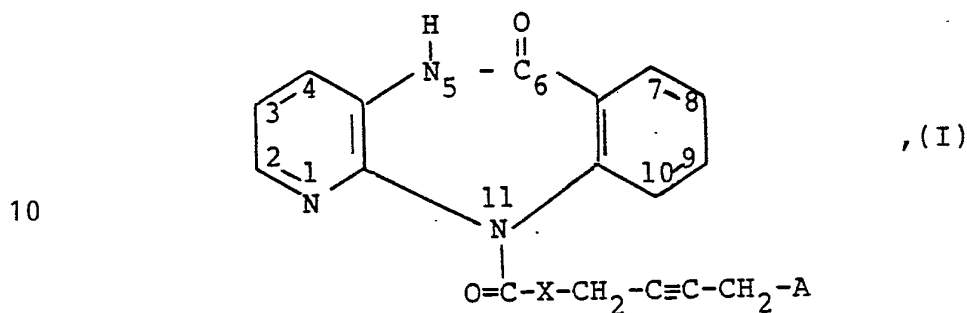
Fremstilling:

20 Det aktive middel og natriumcyclamat opløses i ca. 70 ml vand, og man tilsætter glycerol. p-Hydroxybenzoesyreestrene, anisolien og menthol opløses i ethanol, og denne opløsning blandes under omrøringen med den vandige opløsning. Derefter fylder man efter med vand til 100 ml og frafiltrerer svævende partikler.

P A T E N T K R A V

1. 11-substituerede 5,11-dihydro-6H-pyrido-
[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-oner, k e n d e t e g n e t
ved, at de har den almene formel I:

5



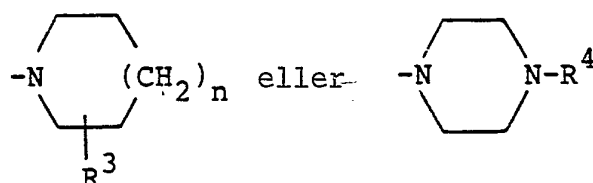
10

hvori

X betegner grupperne $\begin{array}{c} | \\ \text{H}-\text{C}-\text{R} \\ | \end{array}$, -NH- eller -O- ; og

15 A betegner grupperne

20



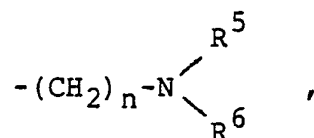
hvori

R betegner et hydrogenatom eller en alkylgruppe med 1-3
carbonatomer,

25 n er 1 eller 2;

R³ betegner et hydrogenatom eller en gruppe med formlen

30



hvori n er som defineret ovenfor, og R⁵ og R⁶ betegner
en alkylgruppe med 1-3 carbonatomer;

R⁴ betegner en ligekædet eller forgrenet alkylgruppe med
35 1-3 carbonatomer;

deres isomere samt deres farmakologisk acceptable salte med uorganiske eller organiske syrer.

2. Forbindelsen 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperazinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on samt dens farmakologisk acceptable syreadditionssalte med uorganiske eller organiske syrer.

3. Forbindelsen 5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(1-piperidinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on samt dens farmakologisk acceptable salte med uorganiske eller organiske syrer.

4. Forbindelsen 5,11-dihydro-11-[1-oxo-6-(hexahydro-1H-azepin-1-yl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on samt dens farmakologisk acceptable salte med uorganiske eller organiske syrer.

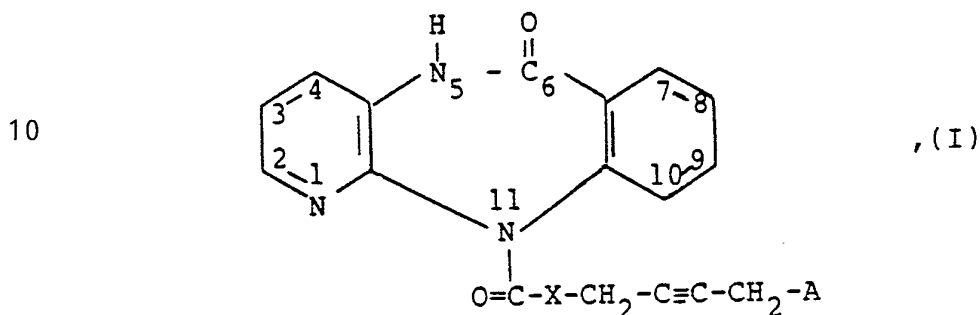
5. Lægemiddel, kendt ved, at det indeholder en forbindelse med den almene formel I ifølge krav 1 foruden sædvanlige bærer- og/eller hjælpestoffer.

6. Lægemiddel, kendt ved, at det indeholder 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperazinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og/eller dets farmakologisk acceptable syreadditionssalte med uorganiske eller organiske syrer foruden sædvanlige hjælpe- og tilsætningsstoffer.

7. Anvendelse af 5,11-dihydro-11-[1-oxo-2-methyl-6-(4-methyl-1-piperazinyl)-4-hexynyl]-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-on og/eller dens farmakologisk acceptable syreadditionssalte med uorganiske eller organiske syrer til fremstilling af et lægemiddel med anti-thrombotiske egenskaber til behandling af thrombo-emboliske sygelige tilstande.

8. Anvendelse af forbindelser ifølge krav 1,3 og 4 til fremstilling af et lægemiddel til behandling af bradykardi og bradyarrhythmier.

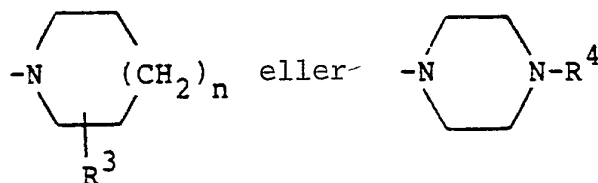
9. Fremgangsmåde til fremstilling af 11-substituerede 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepin-6-oner beskrevet med den almene formel I:



15 hvori

X betegner grupperne $\begin{array}{c} | \\ \text{H}-\text{C}-\text{R} \\ | \end{array}$, -NH- eller -O- ; og
A betegner grupperne

20



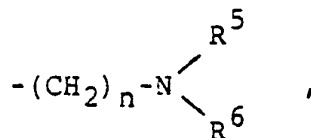
hvori

25 R betegner et hydrogenatom eller en alkylgruppe med 1-3 carbonatomer,

n er 1 eller 2;

R³ betegner et hydrogenatom eller en gruppe med formelen

30

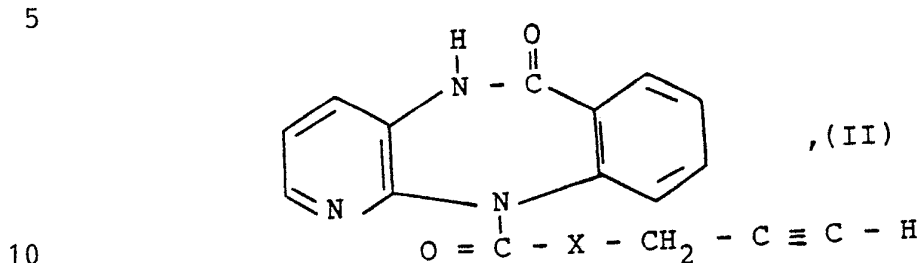


hvori n er som defineret ovenfor, og R⁵ og R⁶ betegner
35 en alkylgruppe med 1-3 carbonatomer;

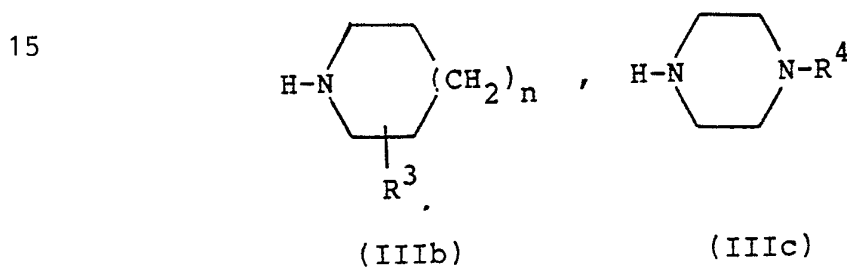
R⁴ betegner en ligekædet eller forgrenet alkylgruppe med 1-3 carbonatomer;

deres isomere samt deres farmakologisk acceptable salte med uorganiske eller organiske syrer, k e n d e t e g - n e t ved, at man

a) lader en forbindelse med den almene formel II:



hvor X er som defineret ovenfor, omsætte sig med en amin med én af formlerne:

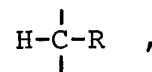


hvor R^3 og R^4 er som defineret ovenfor, eller med et salt af en sådan amin under tilstedeværelse af formaldehyd eller paraformaldehyd og eventuelt under tilstedeværelse af katalytiske mængder af salte, i orga-

25

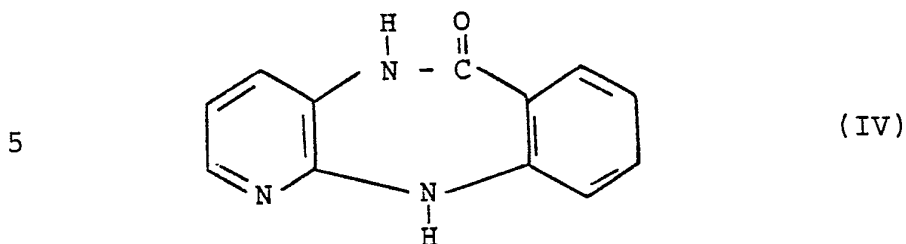
niske opløsningsmidler ved temperaturer op til reaktionsblandingens kogepunkt; eller

b) til fremstilling af forbindelser med den almene formel I, hvor X betegner gruppen

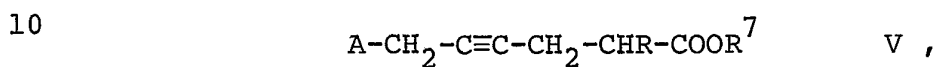


30 hvor R er defineret ovenfor, lader dilithiumsaltet af en

forbindelse med den almene formel IV:



reagere med en ester med den almene formel V:



15 hvori A og R er som defineret ovenfor, og R^7 betegner en alkylgruppe med 1-10 carbonatomer, en phenylalkylgruppe med i alt 7-10 carbonatomer eller phenylgruppen, i et organisk opløsningsmiddel ved temperaturer på -60° – $+20^{\circ}C$, og om ønsket derefter adskiller en på denne måde tilvejebragt forbindelse med formel I i sine isomere og/eller overfører den til sine salte med uorganiske eller organiske syrer.