



(11) FREMLÆGGESESSKRIFT 142545

DANMARK



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

C 07 D 461/00
(51) Int. Cl.³ C 07 C 65/05
C 07 H 11/04

(21) Ansøgning nr. 2443/77 (22) Indleveret den 2. jun. 1977

(24) Løbedag 2. jun. 1977

(44) Ansøgningen fremlagt og
fremlæggesesskriftet offentliggjort den 17. nov. 1980

(30) Prioritet begæret fra den
3. jun. 1976, 7039/76, CH

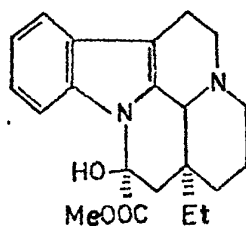
-
- (71) ENRICO CORVI MORA, Via Scalabrini 49, 29100 Piacenza, IT.
(72) Opfinder: Davide Vegezzi, Via Cabione 1, Massagno (Lugano), CH.

- (74) Fuldmægtig under sagens behandling:
Ingeniørfirmaet Hofman-Bang & Boutard.
-

- (54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af derivater af vincamin eller apovincamin med glucose-1-phosphat eller 2,4-dihydroxybenzoesyre.

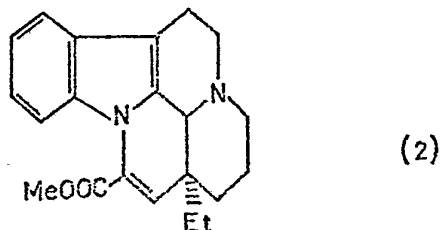
Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af hidtil ukendte derivater af vincamin eller apovincamin med glucose-1-phosphat eller 2,4-dihydroxybenzoesyre, hvilke derivater har interessante terapeutiske egenskaber på det kardiovaskulære område og generelt til brug i kredsløbs-systemet.

Vincamin, der har formlen:



(1)

og apovincamin, der har formelen:



er stoffer der allerede er kendt og som anvendes i terapien for cerebral arteriosclerosis, hvilket skyldes deres effektive virkning på hjernen og skyldes endvidere deres evne til at aktivere metabolismen hos nervecellerne.

Imidlertid er deres terapeutiske virkning ad de forskellige indgivelsesveje karakteriseret ved en kort varighed, da forbindelserne hurtigt fjernes og det er derfor nødvendigt med gentagne indgivelser i løbet af en 24 timers periode.

Det har nu overraskende vist sig, at nogle salte eller additionsprodukter af vincamin og af apovincamin besidder den samme terapeutiske virkning samtidigt med en tidsmæssig forlænget virkning, nemlig af den såkaldte langtidsvirkende type.

Nærmere bestemt drejer det sig om derivater af vincamin eller apovincamin med glucose-1-phosphat eller 2,4-dihydroxybenzoesyre, hvilke forbindelser fremstilles ved analogifremgangsmåden ifølge opfindelsen, der er ejendommelig ved det i kravets kendetegnende del anførte.

Som eksempler på derivater, der kan fremstilles ifølge opfindelsen, kan nævnes følgende:

Vincamin glucose-1-phosphatdinatrium (molært forhold på ca. 50:50 og 25:75);

vincamin 2,4-dihydroxybenzoat;

vincamin glucose-1-phosphat, neutralt salt;

vincamin glucose-1-phosphat, surt salt;

apovincamin glucose-1-phosphat-dinatrium (molært forhold på ca. 50:50 og 25:75);

apovincamin 2,4-dihydroxybenzoat;

apovincamin glucose-1-phosphat, neutralt salt;

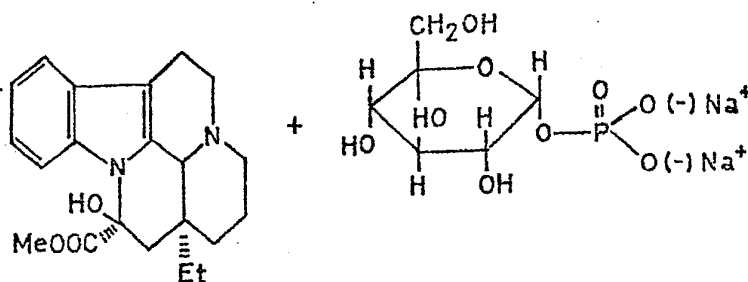
apovincamin glucose-1-phosphat, surt salt.

De efterfølgende eksempler belyser nærmere fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

EKSEMPEL 1

Vincamin glucose-1-phosphat-dinatrium

Produktet er et ækvimolært derivat ($C_{21}H_{26}N_2O_3 \cdot C_6H_{11}Na_2O_9P$) med formelen:



3,54 g (10^{-2} mol) vincamin opløses i en blanding af 180 ml ethylalkohol og 25 ml $CHCl_3$ ved $70^\circ C$ i et vandbad og under omrøring.

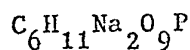
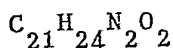
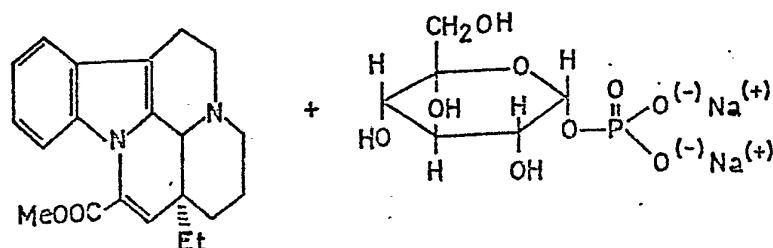
En opløsning indeholdende 3,76 g (10^{-2} mol) af dinatriumsaltet af glucose-1-phosphat, tetrahydrat ($C_6H_{11}Na_2O_9P \cdot 4H_2O$) i 20 ml vand tilsættes dråbevis.

Blandingen holdes varm og under omrøring i 30 minutter, hvorefter reaktionsblandingen koncentrerer til et endeligt volumen på ca. 50 ml. 60 ml alkohol tilsættes og opløsningsmidlet destillerer af indtil der opnås en remanens. Dette trin gentages to gange og til sidst opnås et endeligt volumen på 10 ml. Udfældning foretages ved at holde blandingen i et isbad. Efter filtrering og tørring af produktet i en ovn med cirkulerende luft ved $60^\circ C$ opnås 7,2 g af et hvidt krystallinsk stof, der er uopløseligt i vand og alkohol og har et smeltepunkt på $240^\circ C$. Indholdet af vincamin i produktet er 55%. Ovennævnte fremgangsmåde gentages, dog varieres forholdet mellem de to reaktanter således, at der

anvendes 2,5 g vincamin og 7,5 g dinatriumsalt af glucose-1-phosphat, tetrahydrat. Der opnås således 9,8 g af et produkt identisk med det forudgående, dog med et vincaminindhold på 26%.

EKSEMPEL 2

Apovincamin glucose-1-phosphat dinatrium



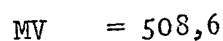
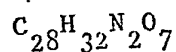
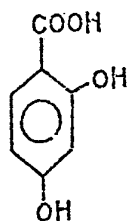
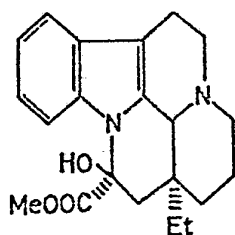
Fremgangsmåden i eksempel 1 gentages. Dog fremstilles derivatet ud fra 3,36 g (10^{-2} mol) apovincamin og 3,76 g dinatriumsalt af glucose-1-phosphat, tetrahydrat.

Der opnås 7 g af et hvidt krystallinsk fast stof, som er uopløseligt i vand og alkohol og som har et smeltepunkt på 160-165°C.

Indholdet af apovincamin i produktet er 53,1%. Fremgangsmåden gentages, dog varieres forholdet mellem de to reaktanter således at der anvendes 2,5 g apovincamin og 7,5 g dinatriumsalt af glucose-1-phosphat, tetrahydrat. Der opnås 9,8 g produkt, der er identisk med det første dog med et apovincaminindhold på 26%.

EKSEMPEL 3

Vincamin 2,4-dihydroxy-benzoat (vincamin β -resorcylat)

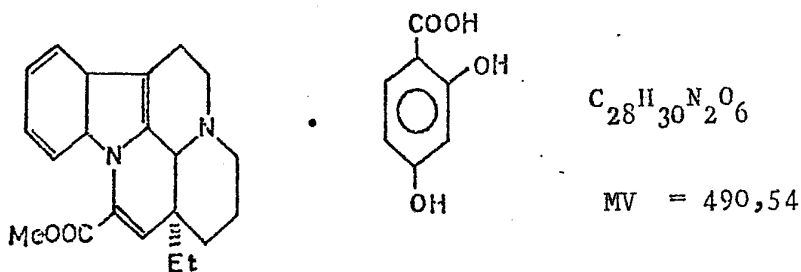


En suspension af 7,08 g ($2 \cdot 10^{-2}$ mol) vincamin i 100 ml ethylalkohol fremstilles i en egnet kolbe forsynet med omrører, en kondensor og en tilledningstragt. Blandingen opvarmes til kogning med tilbagesvaling under omrøring og der tilsættes gradvis en opløsning bestående af 3,08 g ($2 \cdot 10^{-2}$ mol) 2,4-dihydroxybenzoesyre i en tilstrækkelig mængde ethylalkohol. Blandingen holdes kogende i 1 time og imedens tilsættes 50 ml CHCl_3 således, at der opnås en homogen opløsning.

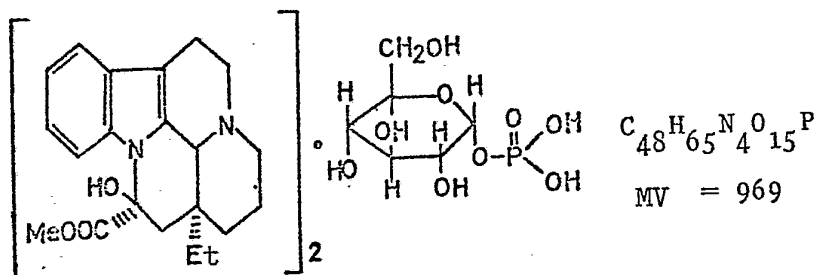
Blandingen koncentrerer til et lille volumen under reduceret tryk og udfældning af saltet udføres ved fortynding med diethylether. Herefter filtreres i et Büchner-filter og der tørres i en ovn med cirkulerende luft ved 50°C . Der opnås 10 g krystallinsk produkt, som er opløseligt i ethylalkohol og har et smeltepunkt på $160-170^\circ\text{C}$. Vincaminindholdet i saltet er 69%.

EKSEMPEL 4

Apovincamin 2,4-dihydroxy-benzoat



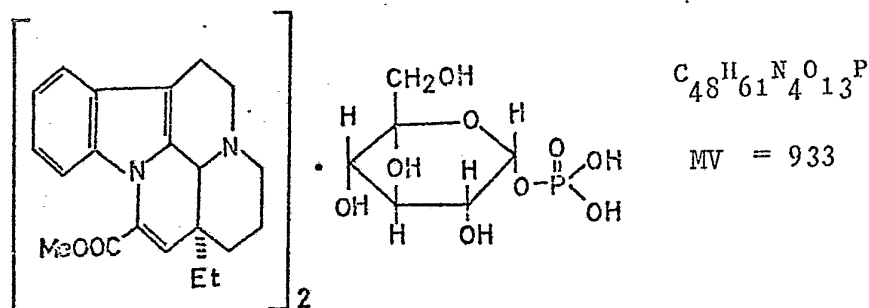
6,73 g ($2 \cdot 10^{-2}$ mol) apovincamin opløses i 100 ml ethylalkohol og der tilsættes 3,08 g ($2 \cdot 10^{-2}$ mol) resorcylysyre (2,4-dihydroxybenzoesyre) opløst i en minimal mængde ethanol. Blandingen koges med tilbagesvaling i 1 time, hvorefter der koncentrerer til et lille volumen. Udfældning af produktet udføres ved tilsætning af diethylether og afkøling i et isbad. Der filtreres på et Büchner-filter og tørres ved 50°C i en ovn, hvorved der opnås 9,6 g produkt med et smeltepunkt på $170-173^\circ\text{C}$. Produktet er opløseligt i alkohol men ikke i vand og i almindeligt anvendte organiske opløsningsmidler. Indholdet af apovincamin i saltet er 65%.

EKSEMPEL 5Vincamin glucose-1-phosphat

5,5 g vincamin suspenderes i en blanding af 250 ml ethylalkohol og 35 ml CHCl_3 . Blandingen opvarmes til 70°C i et vandbad under omrøring og dråbevis tilsætning af en vandig opløsning indeholdende 2 g glucose-1-phosphat.

Blandingen holdes under omrøring ved 70°C i 30 minutter og koncentrerer herefter til et lille volumen under reduceret tryk. Herefter opløses i 2 x 200 ml ethanol og blandingen koncentrerer herefter til et volumen på 80 ml. Overskud af vincamin filtreres fra og filtratet koncentrerer til 40 ml. Opløsningen fortyndes indtil den bliver mælket, hvorefter den henstår til krystallisering ved stuetemperatur. Efter filtrering og tørring i en ovn ved 60°C opnås 5,2 g vincamin-glucose-1-phosphat som et hvidt krystallinsk fast stof, der er delvist opløseligt i vand og har et smeltepunkt på 210°C (under dekomponering).

Indholdet af vincamin i saltet er 70,3%.

EKSEMPEL 6Apovincamin glucose-1-phosphat

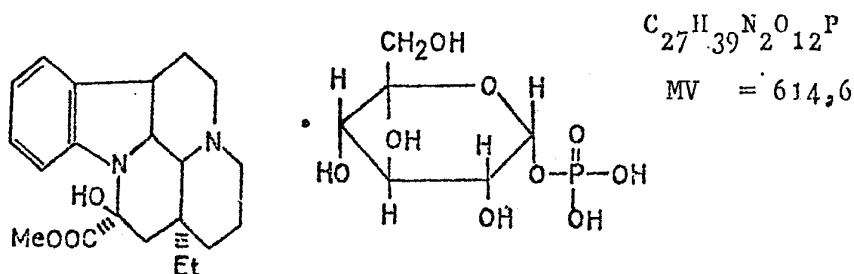
Fremgangsmåden i det foregående eksempel gentages. Dog anvendes 6,7 g apovincamin og 2,6 g glucose-1-phosphat.

Der opnås 6,25 g hvidt krystallinsk produkt, der er opløseligt i vand og har et smeltepunkt på 155°C (under dekomponering).

Indholdet af vincamin i saltet er 70%.

EKSEMPEL 7

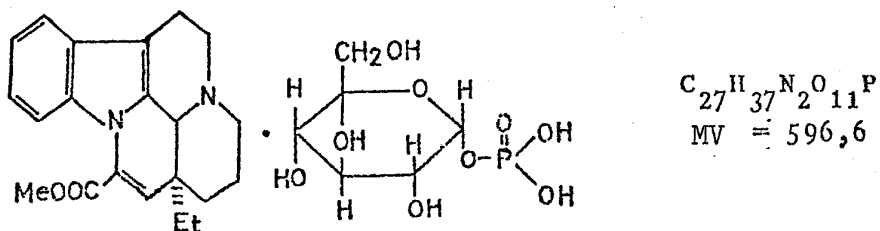
Vincamin glucose-1-phosphat, surt salt



Fremgangsmåden i eksempel 5 gentages. Dog anvendes 3,8 g vincamin og 3,1 g glucose-1-phosphat. Der opnås 5,8 g hvidt krystallinsk produkt, der er opløseligt i vand og har et smeltepunkt på 172°C. Indholdet af vincamin i saltet er 58,6%.

EKSEMPEL 8

Apovincamin glucose-1-phosphat, surt salt



Denne forbindelse fremstilles efter metoden i det foregående eksempel, idet man går ud fra 4,3 g glucose-1-phosphat og 5,56 g apovincamin. Der opnås 5,7 g hvidt krystallinsk vandopløseligt fast produkt, der har et smeltepunkt på 162°C (under dekomponering).

De hidtil ukendte derivater, som er fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, er blevet underkastet en farmakologisk undersøgelse, hvori følgende aspekter især undersøgtes ikke blot for at finde den farmakologiske virkning på hjernen, men også for at finde ud af om produktet er af den langtidsvirkende type.

Følgende egenskaber er undersøgt:

Akut toxicitet ad intraperitoneal vej,
ledkoncentrationer på forskellige tidspunkter fra den orale indgivelse,
cerebral tropisme,
variationer i blodstrømning på forskellige tidspunkter fra intravenøs indgivelse,
blodpladerespiration.

A - Akut toxicitet

Den akutte toxicitet blev målt i mus af schweiziske type, der havde en gennemsnitlig legemsvægt på 20 g og var af hankøn, idet der anvendtes grupper på 5 dyr som beskrevet af Litchfield and Wilcoxon (observationstid: 8 dage). Forbindelserne blev indgivet som en suspension i 1% carboxymethylcellulose.

Den akutte toxicitet var lav for alle de undersøgte forbindelser hvilket ses af den følgende tabel, hvori vincamin HCl og apovincamin også er anført. Resultaterne bekræfter derfor, at de omhandlede forbindelser kun i ringe grad er toksiske når de indgives ad parenteral vej. Når toxiciteten af forbindelserne vurderes efter Gleason's metode kan toxiciteten klassificeres som lidt, meget lidt eller ubetydeligt.

B - Absorption

Alle forbindelserne er blevet indgivet oralt i doser på 100 mg/kg udtrykt som vincamin og apovincamin i form af en suspension i 5% carboxymethylcelluloseopløsning. Absorptionen blev bestemt ved at vurdere blodkoncentrationerne på følgende tidspunkter (minutter): 0, 30, 120, 240, 480, 10 timer og 12 timer.

Vincamin- og apovincaminkoncentrationerne bestemtes chromatografisk.

Til vurdering af den forlængede virkning af de omhandlede salte og additionsprodukter af vincamin og apovincamin benyttes følgende kriterium: Som derivater, der har en langtidsvirkning anses de, hvor blodkoncentrationen 120 minutter efter indgivelsen er højere end den, der opnås med vincamin og apovincamin alene.

Af tabellen nedenfor fremgår det klart, at vincaminsaltene og additionsprodukterne giver maximale blodkoncentrationer, der er væsentlig højere end de, der opnås ved hjælp af vincamin-HCl, hvorved virkningen som langtidsvirkende eller forlænget virkning er bekræftet. Af tabellen fremgår det klart, at saltene og additionsprodukterne af apovincamin også giver meget højere blodkoncentrationer end apovincamin, hvorved den langtidsvirkende eller forlængede virkning er bekræftet. I tabellen refererer kolonnen med "Max. conc.-tid" til den maximale hæmatiske koncentration, der bestemmes på det tidspunkt, der refereres til i forbindelse med målingerne, udført på de tidligere anførte tidspunkter.

C - Cerebral tropisme

Alle forbindelserne blev indgivet i en dosis på 100 mg/kg udtrykt som vincamin og apovincamin, som en suspension i 5% carboxymethylcelluloseopløsning.

Den cerebrale tropisme blev bestemt ved at dræbe syv grupper af tre rotter på tidspunkterne 15 minutter, 30 minutter, 1 time, 2 timer, 4 timer, 8 timer, 12 timer efter indgivelsen, og ved at udføre målinger af indholdet af den omhandlede forbindelse i det cerebrale væv ved chromatografiske metoder.

Af de experimentelle resultater bekræftes det, at de omhandlede derivater viser cerebrale koncentrationer, der er lig med eller højere end de, der opnås med vincamin og apovincamin og med en tidsmæssig koncentration, der passer med den allerede nævnte forlængede virkning, hvilket klart viser, at den cerebrale tropisme af vincamin og af apovincamin fastholdes og i nogle tilfælde forhøjes.

D - Blodstrømning

Den cerebrale vasodilaterende virkning blev undersøgt i anæstetiserede hunde ved måling af blodstrømningen i den cerebrale arterie, der i sådanne dyr fører den største blodmængde til hjernen, ved hjælp af Statham periarterial elektromagnetisk strømningsmålere.

Når forbindelserne injiceres igennem den femorale vene i en dosis, svarende til 5 mg/kg vincamin og apovincamin forårsager de en forøget blodstrømning direkte til hjernen, der mindst er sammenlignelig med og undertiden højere end de, der opnås med vincamin og apovincamin.

Resultaterne er anført i tabellen som procent variationer af strømmingen målt i den venstre vertebrale arterie efter indgivelse af adskillige forbindelser til grupper på fire dyr for hver forbindelse. Resultaterne bekræfter også, at de omhandlede forbindelser har en vasodilaterende virkning i det cerebrale kredsløb.

Tabel

Forbindelse	DL 50 mg.kg i.p.	Toxicitet (Gleason)	Max. konc.-tid (minutter)	% Variation (°)
Vincamin - HCl.	800	meget lidt	20	+ 24,1
Vincamin - glucose-1-phosphat dinatrium	2000	ubetydelig	480	+ 27,3
Vincamin-2,4-dihydroxybenzoat	750	meget lidt	120	+ 24,8
Vincamin-glucose-1-phosphat	1150	lidt	240	+ 29,0
Vincamin-glucose-1-phosphat, surt salt	700	meget lidt	240	+ 26,6
Apovincamin	2000	ubetydelig	60	+ 25,6
Apovincamin-glucose-1-dinatriumphosphat	2000	"	120	+ 27,8
Apovincamin-2,4-dihydroxybenzoat	650	meget lidt	120	+ 29,0
Apovincamin-glucose-1-phosphat	850	"	120	+ 26,4
Apovincamin-glucose-1-phosphat, surt salt	600	"	240	+ 26,1

(°) Procent variation af blodstrømmingen i den vertebrale arterie efter i.v. indgivelse i hunden.

Lignende forsøg blev udført på anæstetiserede kaniner, hvor den venstre almindelige carotid var blevet isoleret, og eksperimenterne, der blev udført ad intravenøs vej, bekræftede den forlængede virkning af de omhandlede derivater. For vincamin og apovincamin fandtes maximale variationer 3 minutter efter indgivelsen, og 10 minutter efter indgivelsen var virkningen allerede forsvundet; i tilfælde af saltene eller additionsprodukterne fandtes den maximale virkning 5 minutter efter indgivelsen, og virkningen var stadig til stede 30 minutter efter indgivelsen.

Med hensyn til virkningen på blodtrykket har alle de omhandlede forbindelser en hypotensiv virkning, ligeom vincamin og apovincamin.

E - Blodpladerespiration

Af forsøg udført in vivo i kaniner fremgår det, at de omhandlede forbindelser er i stand til at forhøje de respiratoriske parametre for blodpladerne.

På basis af ovennævnte betragtninger kan det således fastslås, at derivaterne, fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan anvendes både ad oral vej og ad parenteral vej til opnåelse af en farmakologisk virkning af den langtidsvirkende type.

Det må bemærkes, at man ved indgivelse af de omhandlede forbindelser kan reducere vincamindoseringen under opretholdelse af den samme terapeutiske eller endda en forbedret terapeutisk virkning.

I denne forbindelse kan det anføres, at farmaceutiske præparationer, der som aktivt middel indeholder en forbindelse, fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, kan foreligge i følgende farmaceutiske doser:

- 1) 40 - 120 mg/dag for vincaminderivater
- 2) 40 - 160 mg/dag for apovincaminderivater.

P a t e n t k r a v :

Analogifremgangsmåde til fremstilling af derivater af vincamin eller apovincamin med glucose-1-phosphat eller 2,4-dihydroxybenzoesyre, k e n d e t e g n e t ved, at vincamin eller apovincamin i form af en opløsning eller en suspension i et opløsningsmiddel bestående af ethylalkohol eller chloroform eller blandinger deraf, omsættes med en vandig opløsning af glucose-1-phosphat eller dinatriumsaltet deraf, eller med en alkoholisk opløsning af 2,4-dihydroxybenzoesyre under omrøring og ved en temperatur mellem 50 og 100°C, hvorpå reaktionsproduktet udskilles ved delvis afdampning af de respektive opløsningsmidler og afkøling til 0°C.

Fremdragne publikationer:
