



NORGE

[NO]

**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

[B] (11) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 136190

(51) Int. Cl.² C 07 C 93/14

(21) Patensøknad nr. 33/73
(22) Inngitt 03.01.73
(23) Løpedag 03.01.73

(41) Alment tilgjengelig fra 04.07.74
(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 25.04.77

(30) Prioritet begjært Ingen.

(54) Oppfinnelsens benevnelse Analogifremgangsmåte for fremstilling av terapeutisk aktive kvartære ammoniumforbindelser.

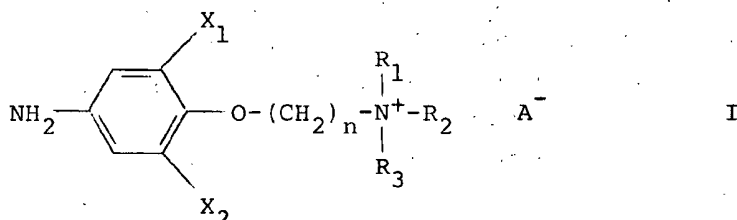
(71)(73) Søker/Patenthaver THE DOW CHEMICAL COMPANY,
929 East Main Street,
Midland, MI,
USA.

(72) Oppfinner STANLEY JULIAN STRYCKER,
Midland, MI,
USA.

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

(56) Anførte publikasjoner Ingen.

Foreliggende oppfinnelse vedrører kvartære ammoniumsalter og preparater som inneholder slike forbindelser. Mer spesielt vedrører oppfinnelsen kvartære ammoniumsalter som har den generelle formel:



hvor

R_1 og R_2 er lavere alkyl, eller R_1 og R_2 sammen med nitrogenatomet kan danne en piperidinring, R_3 betyr lavere alkenyl, lavere alkynyl, benzyl, klorbenzyl, 3,4-diklorbenzyl, acetonyl eller hydroksy-lavere alkyl, X_1 og X_2 er begge halogen, A^- er en støkiometrisk ekvivalent mengde av et farmasøytisk aksepterbart anion, og n betyr 2, 3 eller 4.

De kvartære ammoniumsaltene er krystalline, faste stoffer som er løselige i vann og har varierende grad av løselighet i organiske væsker slik som dimetylformamid, estere, halogenhydrokarboner eller alkoholer.

I det følgende anvendes betegnelsen "halogen" for å angi et av halogenene klor, brom og jod, og betegnelsen "lavere alkyl" for å angi lavere alkyl med fra 1-6 karbonatomer, betegnelsen "karbalkoksy" for å angi slike grupper som inneholder fra 2-5 karbonatomer. Betegnelsene "lavere alkenyl" og "lavere alkynyl" anvendes for å angi slike grupper som inneholder fra

2-6 karbonatomer. Betegnelsene "farmasøytisk aksepterbart anion" og "farmasøytisk aksepterbart syre" slik som de anvendes her, refererer seg til ikke-giftige anioner eller syrer som anvendes i kvartære ammoniumsalter eller syreaddisjonssalter derav. Betegnelsene omfatter sure eller anioniske grupper som ikke har noen vesentlig giftighet eller skadelig farmasøytisk virkning når et kvartært ammoniumsalt som omfatter et slikt anion, gis til dyr ved doseringer som er i overensstemmelse med god farmakologisk aktivitet og syrer av slike grupper. Slike farmasøytisk aksepterbare anioner omfatter ikke-giftige, uorganiske anioner slik som klorid, bromid, jodid, sulfat, nitrat, bisulfat eller fosfat eller organiske anioner slik som acetat, propionat, succinat, malat, fumarat, glutamat, salicylat, maleat, tartrat eller citrat-anioner, organiske sulfonat-anioner slik som kamfer-sulfonat, metansulfonat, benzensulfonat eller toluensulfonat-anioner. Metansulfonat, benzensulfonat, klorid og bromid-anioner er spesielt nyttige ved fremstillingen, rensingen og anvendelsen av de kvartære ammoniumsaltene ifølge foreliggende oppfinnelse og er de foretrukne farmasøytiske, aksepterbare anioner.

De nye forbindelser med formel I er nyttige ved undersøkelse av virkninger av legemidler på hjerteaktiviteten hos dyr og har vist seg å være spesielt nyttige som anti-arytmiske midler. Forbindelsene kan anvendes ved behandling av hjertearytmi hos dyr ved å gi en antiarytmisk mengde av én eller flere av de kvartære ammoniumsaltene til dyret. Ved en slik anvendelse gis forbindelsene innvortes til dyret for å tilføre forbindelsen til dyrets kardiovaskulære system. Forbindelsene kan gis parenteralt ved intrapæritoneal, subkutan eller intravenøs injeksjon, f.eks. vanligvis ved intravenøs injeksjon. I motsetning til mange kjente kvartære ammonium-forbindelser kan de kvartære ammoniumsaltene ifølge oppfinnelsen også gis til dyr via mave- og tarmsystemet, normalt ved oral tilsetning. Forbindelsene har utmerket antiarytmisk aktivitet både terapeutisk, ved administrering til et dyr som lider av hjertearytmi, og profylaktisk for å beskytte et dyr mot anfall eller tilbakefall av arytmie, som er vanlig i et dyr som lider av arytmie.

Fra svensk patent 323.971 er det kjent aminodihalogener fenoksyetylaminer som strukturmessig ligner på forbindelsene med den ovenstående generelle formel I. Forbindelsene ifølge det svenske patent er imidlertid aminer og ikke kvartære ammoniumsalter.

I patentet er det ikke angitt noe om at forbindelsene har arytiskisk virkning. Vi har nu funnet at forbindelsene ifølge det svenske patent også har en slik virkning, men av langt mer kortvarig karakter enn forbindelsene fremstilt ifølge oppfinnelsen.

Betegnelsene "arytmisk", "hjertearytmi" og "arytmi" slik som de anvendes her, refererer seg til uregelmessig hjerteaktivitet som er karakterisert ved uregelmessige hjerteslag, dvs. ikke rytmiske hjerteslag. Slik arytmi adskiller seg vesentlig fra de normale, hovedsakelig sinusformede (sinusoidale) hjerteslag. Aritmi er vanligvis sterkere enn normal øket, men allikevel forholdsvis regelmessig hjerteslag-hastighet som skyldes fysisk aktivitet. Betegnelsen omfatter også tilstander som går under betegnelsene ventrikulær flimmer, ventrikulær takykardi, atrio-ventrikulær nodale slag, atrieflagring, atrieflimmer eller for tidlige ventrikulære kontraksjoner. Betegnelsene "arytmisk dyr" og "arytmisk pattedyr" betegner og refererer seg til dyr som lider av hjertearytmi. Slik hjertearytmi kan være resultatet av fysiologiske eller patologiske betingelser. De kan også forårsakes av fysiske betingelser slik som elektrisk stimulering eller fysisk skade eller de kan forårsakes av farmakologiske virkninger slik som administreringen av forbindelser slik som digitalis eller lignende forbindelser, slik som ouabain, acetylstrofantidin, deslanosid C eller digitoksin, epinefrin, ergot, kloroform, cyklopropan eller lignende som har hjertestimulerende eller arytiskisk aktivitet eller bivirkninger.

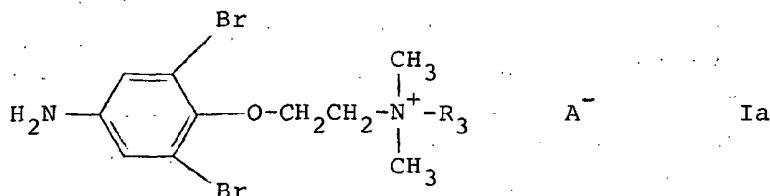
Ved bruk tilsettes et kvartært ammoniumsalt vanligvis i en farmasøytisk bærer, og den resulterende forbindelse gis innvortes til et dyr. De kvartære ammoniumforbindelsene kan også formuleres som flytende preparater som inneholder siruper, eliksirer, suspensjoner og emulsjoner for oral administrering. Orale preparater kan omfatte emulgeringsmidler og suspensjonsmidler.

Den antiarytmiske mengde av det kvartære ammoniumsalt som skal gis til et dyr kan variere, avhengig av slike faktorer som hvorvidt dyret lider av en arytmi ved tilsetningspunktet eller ikke, hvor alvorlig arytmien er, administreringsmetoden og frekvensen, den nøyaktige antiarytmiske effekt som skal oppnås, de spesielle kvartære ammoniumsalter som anvendes, og typene, størrelsen, vekten, alderen og fysiske betingelser til det spesielle dyret som skal behandles. I almindelighet når dyret

aktivt viser arytmie, er det foretrukket å gi forbindelsen i en antiarytmisk dosering som er tilstrekkelig til å bringe arytmi til en normal, sinusformet hjerteraktivitet. Når dette er tilfelle, tilsettes den aktive forbindelse fortrinnsvis direkte til det kardiovaskulære system til dyret for å gi en antiarytmisk konsentrasjon av det kvartære ammoniumsalt i det kardiovaskulære system, spesielt ved hjertet. Ved hjelp av en passende metode administreres forbindelsen ved intravenøs injeksjon ved en initiell antiarytmisk dosering som er mindre enn den som trengs for fullstendig å overføre arytmi til normal rytme, og hjerterslagene til dyret overvåkes ettersom mengden av tilsatt forbindelse gradvis øker over en periode på noen minutter inntil man har tilsatt en antiarytmisk mengde som er tilstrekkelig til fullstendig å overføre arytmi til rytmisk hjerteraktivitet. Det er derefter foretrukket å tilsette forbindelsen i periodiske, antiarytmiske doser som bibeholder tilstanden, slik tilsetning kan enten være ad samme parenterale vei eller ved tilsetning av større anti-arytmiske doser ad en annen vei, slik som oralt. Den antiarytmiske dose for å holde tilstanden ved like eller administreringsmåten velges for å gi en mer eller mindre kontinuerlig antiarytmisk konsentrasjon av det kvartære ammoniumsalt i det kardiovaskulære system, idet en slik konsentrasjon er tilstrekkelig for å inhibere ytterligere arytmie. Vanligvis kan det kvartære ammoniumsalt gis intravenøst i initielle doseringer fra ca. 0,1 eller mindre til ca. 15 eller flere mg/kg legemsvekt, og gi initielle antiarytmiske konsentrasjoner i det kardiovaskulære system. Dosene for å bibeholde tilstanden kan variere meget, avhengig av en rekke faktorer slik som tilsetningstid og frekvens, den spesielle forbindelse eller forbindelser som anvendes, tilstanden, størrelsen, alderen og typen av dyret, den valgte administrasjonsvei, typen av valgte doseringsform, typen og årsaken til arytmi og hvor lang tid man ønsker en dose som holder tilstanden ved like. Når det gjelder tilfeller hvor det er liten eller ingen sannsynlighet for tilbakefall av arytmie, når overføringen er blitt utført, kan dosene for å holde tilstanden ved like bestå av en fortsettelse av den initielle intravenøse antiarytmiske dose i en relativt kort periode. Når det er sannsynlighet for tilbakefall av arytmie, kan dosen for å holde tilstanden ved like bestå av gjentatt oral tilsetning av en antiarytmisk mengde av forbindelsene over en lengere periode. Dosene kan

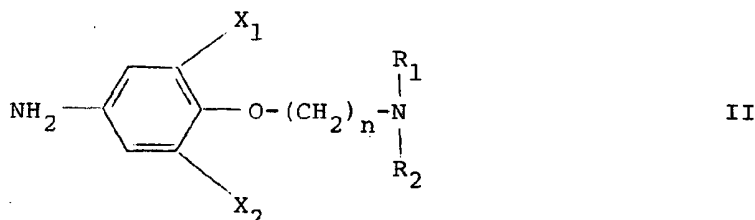
administreres ved enkle eller multiple doser forutsatt at forbindelsene tilsettes i en antiarytmisk mengde som er tilstrekkelig til å dempe hjerterytmie.

En foretrukken gruppe av de kvartære ammoniumsalter er forbindelsene som tilsvare formel I ovenfor, hvor R_1 og R_2 begge er metyl eller begge er etyl og hvor X_1 og X_2 begge er brom eller begge er klor. Det er også i almindelighet foretrukket at gruppene R_1 og R_2 sammen inneholder fra 2-6 karbonatomer, at gruppen R_3 inneholder fra 3-7 karbonatomer og at R_1 , R_2 og R_3 sammen inneholder fra 5-9 karbonatomer. Andre foretrukne grupper av forbindelser omfatter de hvor R_3 er lavere alkenyl eller lavere alkynyl med fra 3 eller 4 karbonatomer eller de hvor R_3 er benzyl, monoklorbenzyl og 3,4-diklorbenzyl. En ytterligere foretrukken gruppe består av forbindelser som tilsvare den ovenfor angitte formel, hvor n er 2, X_1 og X_2 er brom, R_1 og R_2 er metyl og R_3 er lavere alkenyl eller lavere alkynyl med fra 3 eller 4 karbonatomer og A^- er klorid- eller bromid-anion. Den siste gruppe av kvartære ammoniumsalter tilsvare således formelen



hvor A^- har den ovenfor angitte betydning med hensyn til formel I, og R_3 er lavere alkenyl eller lavere alkynyl med 3 eller 4 karbonatomer, fortrinnsvis 2-propynyl, allyl eller 2-metylallyl. De foretrukne forbindelser med formel Ia gir utmerkede antiarytmiske resultater med lang varighet når de tilsettes oralt eller parenteralt i relativt lave doser og er spesielt foretrukket for behandling av hjerterytmie.

De nye kvartære ammoniumsalter med formel I fremstilles ifølge oppfinnelsen ved at en forbindelse med den generelle formel



hvor R_1 , R_2 , X_1 , X_2 og n er som ovenfor angitt, omsettes med en forbindelse med den generelle formel R_3X hvor R_3 er som ovenfor angitt og X er halogen eller en sulfonsyrerest, og eventuelt omformes X til den ønskede betydning for A^- hvis denne er forskjellig fra X .

Reaksjonen forløper når reaksjonskomponentene bringes i berøring med hverandre og blandes, fortrinnsvis i nærvær av en inert organisk væske, slik som acetonitril eller dimetylformamid som et reaksjonsmedium. Reaksjonen forløper lett ved temperaturer fra $10-100^\circ\text{C}$, og utføres fortrinnsvis ved en temperatur fra $25-70^\circ\text{C}$. De nøyaktige mengder av reaksjonskomponentene som skal anvendes er ikke kritiske, imidlertid krever dannelsen av en mol-mengde av det kvartære ammoniumsaltet en mol-mengde av hver av forbindelsen med formel II og forbindelsen R_3X , og reaksjonskomponentene anvendes fortrinnsvis i slike mengder. Omsetningen av de to forbindelser forløper under utvikling av varme og fremstillingen av et kvartært ammoniumsalt hvor den anioniske gruppe er den anioniske gruppe X . I de tilfeller hvor produktet adskilles som en utfelling i reaksjonsblandingen, kan produktet adskilles ved konvensjonelle metoder slik som filtrering, dekantering eller sentrifugering. I de tilfeller hvor produktet ikke faller ut fra reaksjonsblandingen, kan det kvartære ammoniumsalt adskilles ved andre konvensjonelle fremgangsmåter, slik som fordampning under redusert trykk, avkjøling av reaksjonsblandingen og skraping eller krystallkim-tilsetning for å få krystallisasjonen til å gå eller fortynning med organiske væsker slik som etylacetat, benzen eller butylacetat. Produktet kan renses ved konvensjonell metode, slik som omkrystallisasjon og vasking.

Den anioniske gruppen A^- av de kvartære ammoniumsalter med formel I, kan varieres ved overføringen av ett salt til et annet ved konvensjonelle metoder for anionutbytting. Utbyttingen kan utføres f.eks. ved den metatetiske reaksjon av en av de

kvartære ammoniumforbindelser med det ønskede anion i nærvær av et kation som danner et metatetisk reaksjonsprodukt med den anioniske gruppen som skal erstattes, idet det nevnte metatetiske reaksjonsprodukt er uløselig i reaksjonsmediet som anvendes for den metatetiske reaksjon. Ved en egnet fremgangsmåte fremstilles et kvartært ammoniumhalogenid som beskrevet ovenfor ved å anvende en reaksjonskomponent R_3X hvor X er halogen, slik som klor eller brom. Det kvartære ammoniumhalogenid oppløses i vandig etanol ved romtemperatur og løsningen blandes med en vandig løsning av en syre som gir det ønskede anion, f.eks. svovelsyre. Halogenidet fjernes som hydrogenhalogenid ved fraksjonert destillasjon og det kvartære ammoniumsaltet dannet ved metatesen adskilles og renses ved konvensjonelle metoder. Alternativt kan forskjellige anioniske grupper innføres i de kvartære ammoniumsalter med formel I ved å føre en vandig løsning av en forbindelse med formel I gjennom en ionebytterharpiks som er mettet med det anionet som er ønsket i produktet.

Den farmasøytisk aksepterbare syreaddisjonssaltformen av de kvartære ammoniumforbindelsene fremstilles etter konvensjonelle metoder for fremstilling av syreaddisjonssalter av primære, sekundære eller tertiære aminer. Ved en egnet fremgangsmåte opptas et kvartært ammoniumsalt med formel I i en mindre mengde av en lavere alkanol, og blandingen behandles med et overskudd av den ønskede farmasøytisk aksepterbare syre i eter eller dioksan. Saltet adskilles og renses ved konvensjonelle metoder.

De tertiære amin-utgangsmaterialer med formel II kan lett fremstilles ved omsetning av et substituert fenoksyalkylhalogenid med et dialkylamin etter kjente metoder.

De følgende eksempler illustrerer oppfinnelsen.

Eksempel 1

3,5-dibrom- β -dimetylamino-p-fenetidin (25,4 g, 0,075 mol) ble oppløst i 200 ml acetonitril ved romtemperatur. 2-metylallylklorid (6,9 g, 0,075 mol) ble hurtig tilsatt dråpevis til løsningen under røring og i denne tiden fikk man en temperaturstigning på 3-4°C. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved en temperatur på 55-65°C i 4 timer under kontinuerlig røring. Man la merke til dannelsen av en utfelling i blandingen, og denne begynte 15 minutter etter tilsetning av 2-metallylklorid og fortsatte under oppvarmningsperioden. Reaksjonsblandingen ble

derefter avkjølt i isbad og filtrert. [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl-(2-metylallyl)ammoniumklorid ble tatt vare på som en filterkake, tørret i luft og viste seg å smelte ved 185-186°C. Produktet ble oppløst i varm isopropanol og løsningen behandlet med aktivert karbon og filtrert. Løsningen ble avkjølt for utfelling av rensed [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)-etyl]-dimetyl(2-metylallyl)ammoniumklorid som smeltet ved 181-182°C. Produktet viste seg ved forbrenningsanalyse å inneholde 39,35% karbon, 4,98% hydrogen og 6,64% nitrogen sammenlignet med de teoretiske mengder på 39,2%, 4,94% og 6,54%.

Eksempel 2

3,5-dibrom- β -dimetylamino-p-fenetidin (20,3 g, 0,06 mol) og 2-klorbenzylklorid (9,7 g, 0,06 mol) ble oppløst i 200 ml acetonitril. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved en temperatur på ca. 35°C i ca. 1 time og derefter ved omgivelsestemperatur natten over under kontinuerlig omrøring. Dannelsen av en utfelling begynte ca. 1 time etter at reaksjonskomponentene var bragt i berøring med hverandre. Reaksjonsblandingen ble filtrert og [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl(2-klorbenzyl)-ammoniumklorid ble tørket og omkrystallisert fra isopropanol. Det rensede [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]-dimetyl(2-klorbenzyl)-ammoniumklorid smeltet ved 172-173°C. Strukturen av produktet ble bekreftet ved infrarød og kjernemagnetisk resonansspektroskopi. Produktet viste seg ved forbrenningsanalyse å inneholde 41,3% karbon, 4,3% hydrogen og 5,8% nitrogen, sammenlignet med teoretisk 40,9%, 4,0% og 5,6%.

Eksempel 3

3,5-dibrom- β -dimetylamino-p-fenetidin (16,9 g, 0,05 mol) ble oppløst i 35 ml dimetylformamid og løsningen ble avkjølt på et isbad til en temperatur på ca. 10°C. Til denne løsningen ble tilsatt dråpevis under omrøring propargylbromid (6,5 g, 0,055 mol). Under tilsetningen ble blandingen umiddelbart oppvarmet til en temperatur på ca. 18°C og blandingen ble avkjølt til 10°C før tilsetningen av de siste mengder propargylbromid. Blandingene fikk lov til å oppvarmes til romtemperatur, derefter oppvarmet til en temperatur på 45°C i 1 time og fortynnet med etylacetat, hvorefter det ble adskilt et krystallinsk fast stoff. Produktet ble filtrert, omkrystallisert én gang fra en blanding

av isopropanol og etanol og omkrystallisert enda en gang fra en blanding av etanol og etylacetat. [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl(2-propynyl)ammoniumbromid var et gult, krystallinsk fast stoff som smeltet ved 166-168°C. Produktet viste seg ved forbrenningsanalyse å inneholde 34,5% karbon, 3,8% hydrogen og 52% bromid, sammenlignet med teoretisk 34,2%, 3,8% og 52,5%.

Eksempel 4

3,5-dibrom- β -dimetylamino-p-fenetidin (25,4 g, 0,075 mol) ble oppløst i 200 ml acetonitril ved romtemperatur. Kloraceton (7,0 g, 0,075 mol) ble hurtig tilsatt dråpevis til løsningen under omrøring og i denne tiden observerte man en svak temperaturøkning. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til en temperatur på 55-65°C i 4 timer under kontinuerlig omrøring, og derefter avkjølt i et isbad og filtrert. [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl(acetonyl)ammoniumklorid ble filtrert, tørket og omkrystallisert fra isopropanol. Det rensede produkt var et gyldent brunt, krystallinsk, fast stoff som smeltet ved 181-182°C. Produktet viste seg ved forbrenningsanalyse å inneholde 36,1% karbon, 4,6% hydrogen og 6,4% nitrogen, sammenlignet med teoretisk 36,3%, 4,5% og 6,5%.

Eksempel 5

3,5-dibrom- β -dimetylamino-p-fenetidin (16,9 g, 0,05 mol) ble oppløst i 35 ml dimetylformamid ved en temperatur på ca. 25°C. Allylbromid (6,7 g, 0,055 mol) ble tilsatt dråpevis til løsningen under omrøring. Under tilsetningen ble blandingen umiddelbart oppvarmet til en temperatur på ca. 32°C. Blandingen ble fortynnet med et stort overskudd av etylacetat, og det ble skilt ut et gult, amorf, fast stoff. Det faste produktet ble adskilt ved dekantering, vasket med etylacetat og krystallisert ved triturering med isopropanol. Produktet ble omkrystallisert én gang fra varm isopropanol og enda en gang fra en etanol-etylacetat-blanding. [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl(allyl)-ammoniumbromid var et gult, krystallinsk, fast stoff som smelter ved 157,5-159°C. Produktet viste seg ved forbrenningsanalyse å inneholde 33,8% karbon, 4,2% hydrogen og 52,0% brom, sammenlignet med teoretisk 34,0%, 4,2% og 52,2%.

Eksempler 6-9

Ved hjelp av tilsvarende fremgangsmåter til de som er anvendt i eksemplene 1-5, ble 2,6-dibrom- β -dimetylamino-p-fenetidin kvartærisert med egnede, organiske alkyleringsmidler for å fremstille kvartære ammoniumsalter ifølge oppfinnelsen. Forbindelsene tilsvarer formel I ovenfor, hvor n er 2, X_1 og X_2 er begge brom og R_1 og R_2 er metyl. De oppnådde forbindelser angitt ved hjelp av R_3 og A^- -gruppene, og de organiske reaksjonskomponentene som er omsatt med de nevnte fenetidin-forbindelsene, fremgår i den følgende tabell.

Eks.	R_3	A^-	Smeltepunkt $^{\circ}C$	Alkyleringsmiddel
6	2-hydroksyetyl	bromid	228-229	etylenbromhydrin
7	benzyl	bromid	198-199	benzylbromid
8	4-klorbenzyl	klorid	187-188	4-klorbenzyl- klorid
9	3,4-diklorbenzyl	klorid	158,5-160	3,4-diklorbenzyl- klorid

Eksempel 10

3,5-dibrom- β -dietylamino-p-fenetidin (14 g, 0,038 mol) og 4,85 g allylbromid ble oppløst i 140 ml acetonitril. Blandingen ble oppvarmet under omrøring ved en temperatur på 60-65 $^{\circ}C$ i 4 timer, omrørt ved romtemperatur natten over og derefter oppvarmet ved 60-65 $^{\circ}C$ i ca. 18 timer og avkjølt. [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dietyl(allyl)ammoniumbromid var et krystallinsk, fast stoff som smeltet ved 205-207 $^{\circ}C$.

Eksempel 11

3,5-dibrom-4-(3-dimetylamino-propoksy)anilin (5 g) og 1,8 g allylbromid ble blandet med 30 ml acetonitril. Det ble observert krystalldannelse og en svak temperaturstigning. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet til en temperatur på 50-60 $^{\circ}C$ i 4 timer under omrøring og derefter holdt natten over og filtrert. [3-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)propyl]dimetyl(allyl)ammoniumbromid var et brun-gult farvet, krystallinsk fast stoff som smeltet ved 167-169 $^{\circ}C$.

Eksempel 12

3,5-dibrom- β -dimetylamino-p-fenetidin (25,4 g, 0,075 mol) ble oppløst i 300 ml acetonitril ved romtemperatur. Allylmetansulfonat (10,2 g, 0,075 mol) ble hurtig tilsatt til løsningen under omrøring. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved en temperatur på 35-45°C i 4 timer under kontinuerlig omrøring. Dannelsen av en utfelling begynte ca. 10 minutter etter tilsetning av allylmetansulfonat og fortsatte gjennom oppvarmningsperioden. Reaksjonsblandingen ble avkjølt og filtrert. [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl(allyl)ammoniummetansulfonat var omkrystallisert fra n-propanol og viste seg å smelte ved 202-203°C. Produktet viste seg ved forbrenningsanalyse å inneholde 35,35% karbon, 4,65% hydrogen og 6,13% nitrogen, sammenlignet med teoretisk 35,45%, 4,68% og 5,91%.

Eksempel 13

3,5-dibrom- β -piperidino-p-fenetidin (17 g) og allylbromid (5,75 g) ble blandet med 50 ml acetonitril. Reaksjonsblandingen ble oppvarmet ved en temperatur på ca. 60-70°C i 4 timer og derefter avkjølt. Reaksjonsblandingen ble fortynnet med etylacetat, og [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]allylpiperidiniumbromid tatt vare på ved dekantering. Produktet ble tatt opp i isopropanol, blandet med overskudd av hydrogenbromid i isopropanol, og blandingen ble avkjølt og filtrert. 1-[2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]-1-allylpiperidiniumbromidhydrobromid smeltet ved 207-209°C.

Eksempel 14

Ved hjelp av en tilsvarende fremgangsmåte som i eksempel 11 ble 3,5-dibrom-4'-(4-dimetylamino-2,6-dibromfenoksy)anilin om-satt med allylbromid for å fremstille [4-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl(allyl)ammoniumbromid som et svakt gult, krystallinsk, fast stoff som smeltet ved 184-186°C.

De følgende forsøk illustrerer ytterligere oppfinnelsen, spesielt når det gjelder anvendelsen av forbindelsene ved å kontrollere hjertearytmi.

Forsøk 1

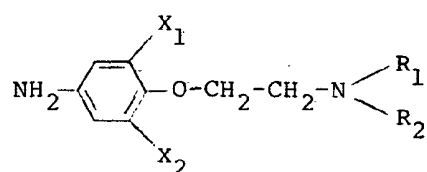
Ventrikulær takykardi frembringes i hunder ved hjelp av en lignende måte som angitt i Lucchesi og Hardman (J. Pharmacol. Exptl. Therap., 132, 372, 1961) ved tilsetning av kabain. Etter slike metoder bedøves en hund ved intravenøs administrering av natrium-pentobarbital ved en dosering på 30 mg/kg. En femoral arterie dreneres ved hjelp av polyetylen-rør for måling av blodtrykk. En femoral vene dreneres på lignende måte for administrering av kabain og administrering av forsøksforbindelsen. Kanyleelektroder anvendes for registrering av elektrokardiogrammer. Ved slike metoder administreres kabain intravenøst ved tilførsel av en konstant mengde via den drenerte femorale vene. Tilførselsmengden av 35 mikrogram kabain pr. kg legemsvekt pr. time. I løpet av 1-1,5 time etter at tilførselen var startet, hadde man fått utviklet en ventrikulær takykardi.

Efter at ventrikulær takykardi var blitt observert, ble en forsøksforbindelse administrert intravenøst ved tilsetning av forskjellige mengder av et preparat som inneholder 50 mg av forsøksforbindelsen som en steril løsning i 10 ml vann som inneholder 0,9% natriumklorid. Hver dose administreres langsomt over en periode på 15-30 sekunder. Forbindelsen administreres som en initiell dose på 0,25 mg av forsøksforbindelsen pr. kg legemsvekt. Blodtrykk og elektrokardiogram ble observert 5 minutter etter administreringen. Når en fullstendig overføring fra arytisk tilstand til normal sinusrytme ikke observeres i løpet av 5 minutters-perioden, administreres en annen dose på 0,50 mg av forsøksforbindelsen pr. kg på lignende måte og blodtrykk og hjerteslag observeres i 5 minutter. Når fullstendig overføring av ventrikulær takykardi til normal sinusrytme ikke er observert, økes dosen to ganger hvert femte minutt inntil fullstendig overføring er oppnådd. Dyret observeres derefter og varigheten av perioden av normal hjerterytme som skyldes administreringen av forsøksforbindelsen, angis som varigheten av anti-arytmisk aktivitet. Slutten av perioden med normal aktivitet er karakterisert ved at ventrikulær takykardi eller flimrer igjen oppstår som det fremgår av elektrokardiogrammene. Den anti-arytmiske dosering av forsøksforbindelsen, som er tilstrekkelig til å bringe en fullstendig overføring av den kabain-induserte

takykardi og varigheten av perioden med normal hjerteaktivitet, fremgår av det følgende. De verdier som ble funnet for flere forbindelser ifølge svensk patent 323.971 fremgår også av tabellen.

Forbindelse fra eksempel nr.	Overføringsdose (mg/kg)	Varighet i minutter
1	0,5	15
2	1	12,5
3	0,5	24
4	1	11
5	1	6
6	1	25
7	1	8,5
8	1	9,5
9	2	14
10	2	6,5
11	1	6
12	1	17,5
	2	39,0
13	1	6,5
14	2	26

Forbindelser ifølge svensk
patent 323.971



$\underline{X_1}$ $\underline{X_2}$ $\underline{R_1}$ $\underline{R_2}$

*Br	Br	CH ₃	CH ₃	0,5	0,58
-----	----	-----------------	-----------------	-----	------

* Forbindelse med maleinsyre

Br	Br	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	0,5	3,46
I	I	CH ₃	CH ₃	0,5	1,73
Br	Cl	CH ₃	CH ₃	1,0	1,65

Forsøk 2

Frengangsmåten i forsøk 1 ble gjentatt ved å anvende forbindelse i eksempel 1, [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]-dimetyl(2-metylallyl)ammoniumklorid, som en forsøksforbindelse. To grupper som hver består av tre hunder, fikk forsøksforbindelsen intravenøst ved antiarytmiske doser på 1 og 2 mg/kg etter at ektopisk ventrikulære rytmer var blitt etablert ved kontinuerlig tilførsel av kabain. Fullstendig overføring av arytmi til sinusrytme ble observert i alle hundene, med en gjennomsnittlig varighet av sinusrytmene på henholdsvis 12,7 og 26,5 minutter, og disse resultatene fikk man fra gruppene som henholdsvis hadde fått 1 og 2 mg av forsøksforbindelsen pr. kg.

Forsøk 3

[2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl-(2-metylallyl)ammoniumklorid ble anvendt for å dempe multifokal ventrikulær arytmi indusert ved tilsetning av n-heksan og epinefrin. Hundene ble bedøvet ved intravenøs administrering av 30 mg natrium-pentobarbital pr. kg. Forbigående ventrikulær arytmi ble indusert ved hjelp av en modifikasjon av metoden til Garb og Chenowith, J. Pharmacol. Exp. Ther. 94, 12 (1948) hvor hjertet er gjort følsomt ved intratracheal injeksjon av 0,04 ml av n-heksan pr. kg, og etter 15 sekunder hurtig intravenøs administrering av 1-epinefrinbitrat ved en dosering på 10 mikrogram/kg. En slik metode gir en forbigående arytmi som varer ca. 10 sekunder. Varigheten av beskyttelsen ved hjelp av forsøksforbindelsen evalueres ved å gjenta n-heksan- og epinefrinbehandlingen periodisk og overvåke elektrokardiogram og arterieblodtrykket. Ved slike metoder viste det seg at den ovenfor nevnte kvartære ammoniumforbindelse hadde en utmerket beskyttelse mot arytmi når den ble administrert intravenøst ved en dosering på 1 mg/kg, idet varigheten av den antiarytmiske virkning varte ca. 1 time. Når den samme forbindelse ble administrert ved en dosering på 2 mg/kg, viste varigheten av beskyttelsen seg å være større enn 2 timer.

På lignende måte viste doseringen av 5-10 mg/kg å være nødvendig for å oppnå lignende antiarytmiske virkninger når det kjente antiarytmiske middel kinidinsulfat ble anvendt som forsøksforbindelse.

Ved et forsøk utført etter lignende metoder som beskrevet av Bacaner, American Journal of Cardiology, 21, 504 (1968), viste den intravenøse administrering av [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl(2-metylallyl)ammoniumklorid på elektrisk "paced" hunder å gi vesentlig økning i nivået for elektrisk indusert, ventrikulær flimmer.

Forsøk 4

En eksperimentell tillukking av den forreste, nedstigende, koronare arterie gjennomføres på hunder etter metoden til Harris, Circulation 1, 1318 (1950). Etter operasjonen gis dyrene et penicillin-streptomycin-preparat og gis en rekonvalesens på 18-24 timer. Dyrene gis 3 mg/kg morfinsulfat som et smertestillende og beroligende middel under håndteringen. Elektrokardiogrammer opptas både før og etter administreringen av [2-(2-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl-(2-metylallyl)-ammoniumklorid til forsøksdyrene. Virkningen av anormale komplekser (for tidlig ventrikulære kontraksjoner og atrio-ventrikulære nodale slag) pr. minutt registreres som prosent av totale slag pr. minutt. Forsøksforbindelsen administreres ved intravenøs tilførsel av 1, 2, 2 og 2 mg/kg ved intervaller på 10-15 minutter. En markert minskning i hjerteslag observeres sammen med en ledsagende minskning i prosent unormale slag pr. minutt etter den første tilførselen. Etter den siste tilførselen av forsøksforbindelsen er de observerte hjerteslag minket fra over 160 slag pr. minutt før første tilførsel til ca. 90-100 slag pr. minutt. Virkningen av ektopiske slag har på denne tiden avtatt fra et før-behandlingsnivå på 100% unormale slag pr. minutt til under 60%, når null (100% normale slag) i løpet av ca. 10 minutter etter siste tilførsel. De lavere antall hjerteslag og lavere virkning av unormale slag (vanligvis 0-20% av de totale slag pr. minutt er unormale) viste seg å vare i 2 timer etter den siste tilførselen av forsøksforbindelsen, og ved denne tid ble eksperimentet avsluttet.

Ved lignende forsøk ble forsøksforbindelsen tilført i doseringer på 1, 2 og 4 mg/kg i intervaller over en 40 minutters periode. Før tilførselen var mengden av unormale slag 100%. I løpet av ca. 8 minutter etter den siste tilførselen hadde man oppnådd en hovedsakelig fullstendig overføring til sinusrytme. Antall unormale slag viste seg å være null med tilfeldig korte

perioder av lett arytmi (2-5% unormale slag) i 2,5 time etter den siste dosering av forsøksforbindelsen, og forsøket ble deretter avsluttet. Observasjonen ble gjentatt 215 minutter senere og viste at det enda var vesentlige antiarytmiske virkninger til stede.

I et lignende forsøk ble administrert [2-(2-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl(2-metylallyl)ammoniumklorid oralt i gelatinkapsler. Forsøksforbindelsen ble administrert i multiple doser på 30, 30 og 50 mg/kg over en periode på 150 minutter. Perioder med redusert frekvens av unormale hjerteslag ble lagt merke til etter 10 minutter etter administreringen av den første dosen av forsøksforbindelsen, den annen og tredje dose ga ytterligere og mer konsekvente antiarytmiske virkninger. 25 minutter etter den siste dosen av forsøksforbindelsen er administrert, viste elektrokardiogrammet perioder hvor mindre enn 10% av slagene er unormale med visse tilfeldige perioder med arytmi. Man fortsatte å observere antiarytmiske virkninger inntil observasjonen ble avsluttet 140 minutter etter den siste doseringen av forsøksforbindelsen.

Forsøk 5

[2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl(allyl)-ammoniumbromid ble administrert til mus intravenøst og oralt. Dyrene ble derefter drept og blod og hjertevev ble analysert for å undersøke konsentrasjonen av forsøksforbindelsen. Mus intravenøst administrert med 6 mg/kg av forsøksforbindelsen hadde blodinnhold på 27 mikrogram av forsøksforbindelsen pr. ml, 10 sekunder etter injeksjonen, 2,1 mikrogram pr. ml, 3 minutter etter injeksjonen. Analyse av hjertevev indikerer en konsentrasjon på 5,5 mikrogram av forsøksforbindelsen pr. gram vev 10 minutter etter injeksjonen. Lignende analyser utføres med dyr som har fått 6 mg forsøksforbindelse pr. kg oralt. 30 minutter etter oral administrering finner man henholdsvis blod- og hjertemengde på 1,1 og 5,1 mikrogram av forsøksforbindelsen pr. ml blod eller gram hjertevev.

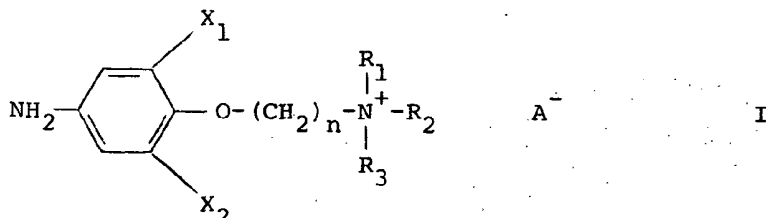
Lignende forsøk utført ved tilsetning av [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]dimetyl(2-metylallyl)ammoniumklorid til kaniner indikerer på lignende måte oral absorpsjon av forsøksforbindelsen. Det finnes vesentlige mengder av forsøksforbindelsen i blod og hjertevev ved både oral og intravenøs administrering.

Forsøk 6

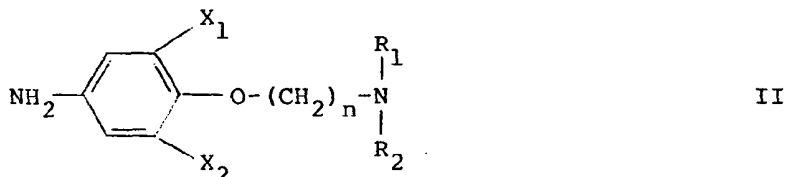
En vandig løsning av [2-(4-amino-2,6-dibromfenoksy)etyl]-dimetyl(2-metylallyl)ammoniumklorid administreres oralt til forskjellige grupper av hann- og hunndyr av Sprague-Dawley-rotter og hann- og hunn-dyr av Swiss-mus (Cox strain). Forbindelsen administreres som en enkel, oral dose i varierende mengder, og dyrene undersøkes på dødelighet 24 timer etter administreringen av forbindelsen. Ved slike forsøk finner man at den kvartære ammoniumforbindelsen har en LD₅₀ på 758 mg/kg i hann-rotter, 725 mg/kg i hunn-rotter, 560 mg/kg i hann-mus og 550 mg/kg i hunn-mus.

P a t e n t k r a v

Analogifremgangsmåte for fremstilling av en terapeutisk aktiv kvartær ammoniumforbindelse med formelen



hvor R₁ og R₂ er lavere alkyl, eller R₁ og R₂ sammen med nitrogenatomet kan danne en piperidinring, R₃ betyr lavere alkenyl, lavere alkynyl, benzyl, klorbenzyl, 3,4-diklorbenzyl, acetonyl eller hydroksy-lavere alkyl, X₁ og X₂ er begge halogen, A⁻ er en støkiometrisk ekvivalent mengde av et farmasøytisk aksepterbart anion, og n betyr 2, 3 eller 4, k a r a k t e r i s e r t v e d at en forbindelse med den generelle formel



hvor R₁, R₂, X₁, X₂ og n er som ovenfor angitt, omsettes med en forbindelse med den generelle formel R₃X hvor R₃ er som ovenfor angitt og X er halogen eller en sulfonsyrerest, og eventuelt om-dannes X til den ønskede betydning for A⁻ hvis denne er forskjellig fra X.