
Octrooiraad



⑩ A Terinzagelegging ⑪ 8105744

Nederland

⑲ NL

⑤4 Nieuwe antiinflammatoire en-immunoregulatorie pyridinen.

⑤1 Int.Cl³.: C07D 213/32, A61K31/44.

⑦1 Aanvrager: Pfizer Inc. te New York.

**⑦4 Gem.: Ir. L.W. Kooy c.s.
Octrooibureau Vriesendorp & Gaade
Dr. Kuypersstraat 6
2514 BB 's-Gravenhage.**

②1 Aanvraag Nr. 8105744.

②2 Ingediend 21 december 1981.

③2 Voorrang vanaf 26 juni 1981.

③3 Land van voorrang: Ver. St. v. Am. (US).

③1 Nummer van de voorrangsaanvraag: 276242 .

⑥2 --

④3 Ter inzage gelegd 17 januari 1983.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Nieuwe antiinflammatoire en immunoregulatorie pyridinen.

De uitvinding heeft betrekking op pyridinen, die op de 4-plaats gesubstitueerd zijn met een thioether en carboxy, (C₂-C₅)carboalkoxy of formylbevattende zijketen en de farmaceutisch aanvaardbare zouten daarvan, die men kan gebruiken ter behandeling van arthritis alsmede als tussenprodukten voor de bereiding van de overeenkomstige alcoholen met de zelfde toepassingsmogelijkheid.

Er is in de techniek een aantal verbindingen bekend, die men kan gebruiken als antiinflammatoire middelen, bijvoorbeeld de corticosteroiden, fenylbutazon, indomethacine, pyroxy-cam en andere benzothiazinedioxyden (Amerikaans octrooischrift 3.591.584), 2-oxo-2,3-dihydrobenzofuran-3-carboxamiden (Amerikaans octrooischrift 3.676.463) en gesubstitueerde diarylimidazolen (Amerikaans octrooischrift 3.707.475). Dienovereenkomstig hebben deze verbindingen therapeutische waarde bij de behandeling van arthritis en andere inflammatoire aandoeningen. Dergelijke aandoeningen zijn ook behandeld door toediening van immunoregulatorie middelen, zoals levamisool als bijvoorbeeld beschreven in Arthritis and Rheumatism, 20, 1445 (1977) en Lancet, 1, 393 (1976). Bij pogingen tot het vinden van nieuwe en betere therapeutische middelen ter behandeling van deze aandoeningen werd nu gevonden, dat de nieuwe pyridinen van de onderhavige uitvinding hetzij als antiinflammatoire middelen, hetzij als regulatoren van de immuunrespons in zoogdieren werkzaam zijn en in vele gevallen beide werkingstypen hebben. Omdat deze werkingen komplementair zijn, is het laatste van bijzondere betekenis bij de behandeling van rheumatoïde arthritis en andere aandoeningen, waarbij verlichting van de ontsteking en regulering van immuunrespons gewenst is.

Niet alle verbindingen van de onderhavige uitvinding zijn nieuw. Zo zijn zuren en esters met de formule 1, waarin 1 is en Z hydroxyl of (C₁-C₄)alkoxy voorstelt, beschreven als waardevolle tussenprodukten voor de bereiding van cephalosporine-

derivaten (Brits octrooischrift 1.434.271), waarbij 2-(4-pikolylthio)azijnzuur en methyl-2-(4-pikolylthio)acetaat met name beschreven zijn. Isomeer 2-(3-carboxypropylthiomethyl)pyridine en de overeenkomstige alkylesterderivaten zijn ook beschreven (Brits octrooischrift 1.213.049), welke laatste verbindingen worden genoemd voor de behandeling van ontsteking bij dieren, niet bij de mens, maar zij missen de gewenste immunoregulatorische werking van de onderhavige verbindingen, aangezien de afgeleide alcoholen een dergelijke werking missen, terwijl van de onderhavige verbindingen afgeleide alcoholen een sterke werking hebben.

Volgens de uitvinding werd onverwacht gevonden, dat bepaalde nieuwe pyridinederivaten alsmede hun farmaceutisch aanvaardbare zouten therapeutisch hetzij als anti-inflammatoire middelen, hetzij als regulatoren van de immuumsrespons kunnen worden gebruikt. Zij zijn bijzonder geschikt voor de behandeling van aandoeningen als reumatoïde arthritis, waarbij zowel anti-inflammatoire als immunoregulatorische middelen afzonderlijk voor therapeutische doeleinden zijn gebruikt.

De therapeutische middelen van de onderhavige uitvinding hebben de formule 1 of 2, waarin

n 1 of 2 is,

W methyleen, dat al of niet met een methylgroep of een fenylgroep gesubstitueerd is, voorstelt,

Z hydroxyl, (C_1-C_4) alkoxy of waterstof voorstelt en R en R_1 hetzij afzonderlijk dezelfde (C_1-C_4) alkylgroep voorstellen,

hetzij samen ethyleen $(-CH_2CH_2-)$ of propyleen $(-CH_2CH_2CH_2-)$ voorstellen,

met inbegrip van de farmaceutisch aanvaardbare zuuradditieozouten daarvan en de farmaceutisch aanvaardbare kationogene zouten daarvan, wanneer Z hydroxyl voorstelt.

De voorkeur gaat uit naar de pyridinen met de formules 1 en 2, waarin n 1 is, waarbij de meeste voorkeur uitgaat naar de verbindingen, waarin W ongesubstitueerde methyleen voorstelt.

De antiinflammatoire werking weerspiegelt zich in de zogenaamde rattepootoedeem proef, waarin het vermogen van een orale dosis van de verbinding tot het inhibiteren van een inflammatoire reactie wordt gemeten, terwijl immunoregulatorische werking wordt vastgesteld door de zogenaamde muis E-rosetteprocedure, waarbij het vermogen van de te beproeven verbinding tot herstel van de erythrocyteⁿrosettevorming in gethymectomiseerde muizen wordt gemeten. Deze proeven worden onder nader beschreven.

De uitvinding heeft ook betrekking op farmaceutische preparaten van bovengenoemde pyridinederivaten, alsmede op hun gebruik als antiinflammatoire en immunoregulatorische middelen, in het bijzonder bij de therapie van arthritis.

Er staan handzame methoden ter beschikking voor de bereiding van de pyridinezuren, esters en aldehyden van de onderhavige uitvinding. Deze methoden kunnen als volgt worden opgesomd:

1. Reactie van 4-pikolylmercaptan of 2-(4-pyridyl)ethylmercaptan met een alpha-halogeenzuur, ester, aldehyde of acetaal, desgewenst gevolgd door geschikte hydrolyse, verestering of acetalisering. Voorbeelden van een dergelijke reactie worden gegeven in reaktieschema's A₁-A₉.

2. De reactie van 4-pikolylhalogenide of 2-(4-pyridyl)ethylhalogenide met een geschikte gesubstitueerde mercaptan (conform bovengenoemde methode 1) desgewenst gevolgd door geschikte hydrolyse, verestering of acetalisering. Voorbeelden van deze reactie worden gegeven in reaktieschema's B₁-B₄.

3. Additie van mercaptoesters aan 4-vinylpyridine, desgewenst gevolgd door hydrolyse. Een voorbeeld van een dergelijke reactie wordt gegeven in reaktieschema C.

De verdringingsmethoden 1 en 2 behelzen een reactie, waarbij het halogeen van een organisch halogenide door een organische thioest wordt vervangen. De reactie wordt vergemakkelijkt wanneer men een ekwivalent sterke base gebruikt teneinde het mercaptan om te zetten in een anionogeen zout, dat veel doeltreffender is bij de omzetting van het organische halogeen in de thio-

ether. Als men een zuurzout van de pyridinerest (bijvoorbeeld 4-pikolylchloridehydrochloride) of een zuur (bijvoorbeeld alpha-mercaptopropionzuur) als een van de reagentia gebruikt, voegt men een compenserende hoeveelheid base toe. Een groot aantal ver-

5 schillende oplosmiddelen is voor deze reactie geschikt, waaronder alkoholen, azijnzuurnitril, dimethylformamide, enzovoort, waarbij de enige eis is, dat het oplosmiddel inert is ten opzicht van re-

10 agentia en produkt en dat de reagentia eniger mate oplosbaar zijn. Bij voorkeur is het oplosmiddel minder zuur dan de mercaptan ten-

15 einde vorming van het thioanion te bevorderen. De voor deze reak-

tie gebruikte temperatuur is niet kritisch (bijvoorbeeld 0-120°C). Zij moet ter verkrijging van een redelijke snelheid hoog genoeg

zijn, maar niet zo hoog, dat zij tot ongewenste ontleding leidt. Zoals bekend varieert de reaktiesnelheid met de aard van het or-

15 ganische halogenide (snelheid: $I > Br > Cl$), de structuur van zowel het halogenide als het mercaptan en het oplosmiddel. De reactie-

tijd moet zodanig zijn, dat de reactie nagenoeg voltooid is (bij-

20 voorbeeld $>95\%$ omzetting, wanneer ekwivalente hoeveelheden haloge-

nide en mercaptan worden gebruikt) teneinde maximum opbrengsten

25 te verkrijgen (bijvoorbeeld 1 uur tot enkele dagen). Deze reacties kunnen gemakkelijk door dunne laag chromatografie worden gevolgd onder gebruikmaking van een aantal verschillende in de handel ver-

30 krijgbare silicagelplaten, die een ultravioletindicator bevatten. Geschikte elueermiddelen zijn chloroform/methanolmengsels, waarbij de hoeveelheid van deze oplosmiddelen varieert met de polariteit

van het reactieprodukt, hetgeen algemeen bekend is. Voor de mees-

te reacties van dit type is een elueermiddel, bestaande uit 9 de-

35 len chloroform en 1 deel methanol goed geschikt. Voor de meer po-

laire verbindingen wordt de hoeveelheid methanol opgevoerd (bij-

voorbeeld 4 chloroform/1 methanol). Soms is het voordelig aan het elueermiddel tot 5% azijnzuur toe te voegen, vooral wanneer men met zuuradditiezouten omgaat. Ethylacetaat en andere alkoholen (bijvoorbeeld butanol) alsmede een hoeveelheid water, kunnen ook in het elueermiddel worden opgenomen. Wanneer de reactie voort-

schrijdt, wordt er een ekwivalent sterk zuur geproduceerd onder

neutralisatie van het bij de reactie gebruikte mol^ybase. Om deze reden kan ook de pH als hulpmiddel bij het volgen van deze reactie worden gebruikt.

5 Methode 3, additie van mercaptanen aan 4-vinylpyridine wordt uitgevoerd onder gebruikmaking van dezelfde temperatuur en oplosmiddelen als bij de verdringing van organisch halogeen door organisch thioradikaal als boven besproken. In dit geval kan men geschikte reaktietijden ook bepalen onder gebruikmaking van dezelfde dunnelaagchromatografiesystemen.

10 Hydrolyse van de esters en acetalen van methoden 1-3 wordt onder in de techniek welbekende standaardomstandigheden uitgevoerd. Zo zijn bijvoorbeeld water, dat eventueel met een vermengbaar organisch oplosmiddel verdund is en een zure katalysator (voor acetaal- of esterhydrolyse) of een basische katalysator
15 (slechts in geval van esterhydrolyse) bij kamertemperatuur gedurende enkele uren tot een dag of meer goede omstandigheden voor deze reacties.

Acetalisering en verestering van respektievelijk aldehyden en zuren worden ook onder in de techniek welbekende
20 standaardomstandigheden uitgevoerd. Daarbij gebruikt men met name overmaat watervrije alcohol of bisalkohol als oplosmiddel naast een zure katalysator als p-tolueensulfonzuur of een sterk zure ionenuitwisselende hars. In het algemeen gebruikt men kamertemperatuur, aangezien de temperatuur^{niet} kritisch is, gedurende
25 enkele uren tot een dag of meer teneinde de reactie volledig te laten verlopen.

De voor methoden 1-3 benodigde uitgangsstoffen zijn heel algemeen uit de literatuur of handel te verkrijgen. Mercaptanen kunnen uit de overeenkomstige halogeniden worden bereid door
30 reactie van het halogenide met thioureum onder vorming van het isothiuroniumzout gevolgd door basische hydrolyse (zie preparaten 1 en 2 onder), door reactie van organische halogeniden met zwavelwaterstof of alkalihydrosulfide (bijv. Hromatka et al., Monatsh. 78, 32 (1948)), of door hydrolyse van thiolesters (bijv. Chapman
35 et al., J. Chem. Soc., 579 (1950); Sjöberg, Ber. 75, 13 (1942);

von Wacek et al., Ber. 75, 1353 (1942)). Als uitgangsstoffen benodigde organische halogeniden zijn ook in het algemeen uit de handel of literatuur te verkrijgen. Werkwijzen voor het bereiden van de benodigde halogeniden zijn met name direkte halogenering of re-

5 aktie van waterstof of fosfoshalogeniden met een alkohol.

De farmaceutisch aanvaardbare zuuradditiezouten van de nieuwe pyridinen van de onderhavige uitvinding worden gemakkelijk bereid door de vrije base in oplossing in water of in een geschikt organisch oplosmiddel in aanraking te brengen met het ge-

10 schikte anorganische of organische zuur. Het zout kan door precipitatie of afdamping van het oplosmiddel worden verkregen. De farmaceutisch aanvaardbare zuuradditiezouten van de onderhavige uitvinding zijn bijvoorbeeld die, gevormd met zoutzuur, broomwater-

15 stofzuur, salpeterzuur, fosforzuur, zwavelzuur, benzeensulfonzuur, citroenzuur, laurylsulfonzuur, fumaarzuur, oxaalzuur, maleinezuur, methaansulfonzuur, wijnsteen-

20 zuur. Bij veelbasische zuren kan het zout meer dan 1 mol base per mol zuur bevatten. De zuuradditiezouten, die mol bij mol zijn, verdienen echter de voorkeur. Desgewenst kunnen deze zouten rechtstreeks uit reaktiemengsels worden gewonnen door geschikte modifi-

25 katie van de winningsprocedure zonder winning van het tussentijds gevormde vrije zuur.

De farmaceutisch aanvaardbare kationogene zouten van de verbindingen van de onderhavige uitvinding worden gemakke-

25 lijk bereid door de zure vormen te laten reageren met een geschikte base, gewoonlijk een ekwivalent, in een gezamenlijk oplosmiddel. Met de uitdrukking "farmaceutisch aanvaardbare kationogene zouten" worden zouten bedoeld als de alkalizouten, bijvoorbeeld natrium-

30 en kaliumzouten, aardalkalizouten als calcium- en magnesiumzouten, aluminiumzouten, ammoniumzouten en zouten met organische basen, bijvoorbeeld aminen als benzathine(N,N'-dibenzylethyleendiamine), choline, diethanolamine, ethyleendiamine, meglumine (N-methylglu-

35 camine), benethamine(N-benzylfenethylamine), diethylamine, piperazine en tromethamine(2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propaandiol). Bij de bereiding van deze kationogene zouten gebruikte basen zijn met

name natriumhydroxyde, natriummethanolaat, natriumethanolaat, natriumhydride, kaliummethanolaat, magnesiumhydroxyde, calciumhydroxyde, benzothine, choline, diethanolamine, ethyleendiamine, meglumine, benethamine, diethylamine, piperazine en tromethamine.

5 Het zout wordt gewonnen door concentratie tot droog of door toevoeging van een niet-oplosmiddel. In sommige gevallen kunnen zouten worden bereid door vermenging van een oplossing van het zuur met een oplossing van een ander zout van het kation (bijvoorbeeld natriumethylhexanaat, magnesiumoleaat), onder gebruik-

10 making van een oplosmiddel, waarin het gewenste kationogene zout precipiteert, of kunnen anders worden gewonnen door concentratie en/of toevoeging van een niet-oplosmiddel. Desgewenst worden deze zouten rechtstreeks uit de reaktiemengsels gewonnen door geschikte winningsprocedures zonder winning van het tussentijds gevormde vrije zuur.

15

Het gebruik van de onderhavige verbindingen bij de synthese van immunoregatoire, antiinflammatoire pyridinealkoholen wordt weergegeven in het bovengenoemde Amerikaanse octrooi-schrift 4.246.263.

20 De immunoregatoire werking van de verbindingen van de uitvinding is vastgesteld volgens de muis E-rosetteprocedure. Bij de muis is de aanwezigheid van ^{een} thymus vereist voor een volledig tot uiting komen van normale rosettevorming met schaaperythrocyten [zie bijvoorbeeld Bach en Dardenne, Immunol. 25, 353 (1973) 7]. Bij deze procedure onderzoekt men het vermogen van

25 een geneesmiddel tot het herstel van voor azathioprine sensitieve, rosettevormende cellen bij volwassen gethymectomiseerde muizen tot het peil van normale dieren. Met name is rosettevorming onderzocht aan CD-1 muizen, die op een leeftijd van 4 weken gethymectomiseerd waren en voor behandeling tenminste 14 dagen met rust waren gelaten (ATX muizen). De ATX muizen zijn oraal gedoseerd met zoutdrager of geneesmiddel. 16 Uur later worden uit

30 de verzamelde milten van drie muizen suspensies van enkelvoudige cellen bereid in "Hanks balanced salt solution" (HBSS). Bij elke

35 buis voegt men 0,1 ml lymfocyten (6×10^7 /ml) in HBSS en hetzij

- 0,1 ml HBSS, hetzij 0,1 ml 40 µg/ml azathioprine in HBSS. Na 90 minuten incubatie bij 37°C worden de cellen gewassen met 2 maal 5 ml HBSS, teruggebracht op 0,2 ml en wordt 0,2 ml rode schapebloedcellen (erythrocyten) van $1,2 \times 10^8$ cellen/ml toegevoegd.
- 5 Tien µl worden op hemagglutineerglaasjes gepipetteerd en het aantal rosetten wordt geteld. Het vermogen van de te beproeven verbinding tot herstel van het aantal voor azathioprine gevoelige rosettevormende cellen tot normaal of hoger wordt bepaald. Bij normale muizen wordt $42\% \pm 12\%$ azathioprinegevoeligheid gevonden.
- 10 Bij volwassen, gethymectomiseerde muizen wordt $3 \pm 3\%$ azathioprinegevoeligheid gevonden. Kenmerkend voor het vermogen van de verbindingen van de onderhavige uitvinding tot het herstel van voor azathioprinegevoelige rosettevormende cellen tot normaal of daarboven bij verschillende oraal doses (mg/kg, dat wil zeggen mg genees-
- 15 middel/kg lichaamsgewicht van de muis) is de immunoregulatorische werking van 2-(4-pikolythio)azijnzuur, dat getoond wordt in tabel A. Naar mate het percentage hoger en de effectieve dosis lager is, is de verbinding als immunoregulatorisch middel aktiever.

20

Tabel A

Immunoregulatorische werking

Werking van 2-(4-pikolythio)azijnzuur bij de
muis E-rosetteprocedure.

	<u>Oraaldosis</u>	<u>% rosettevormende cellen</u>
25	0,1	15
	0,3	15
	1,0	35, 40
	3,0	40

30

De antiinflammatoire werking van de verbindingen van de onderhavige uitvinding is bepaald volgens de standaardproef op het door carrageenine geïnduceerde rattepooteedeem [beschreven door C.A. Winter et al., Proc. Soc. Exp. Biol. 111, blz. 544 (1962) 7]. Bij deze proef wordt de antiinflammatoire werking be-

35 paald als de inhibitie van ~~de~~ ^{de} eedeemvorming aan de achterpoot van

mannelijke albinoratten (gewicht 150-190 g) als reactie op sub-
 plantaire injectie van carrageenine. De carrageenine wordt als een
 1%-suspensie in water (0,05 ml) 1 uur na orale toediening van het
 geneesmiddel geïnjecteerd. 3 Uur na de carrageenineinjectie wordt
 5 eudeemvorming vastgesteld door meting van het volume van de geïn-
 jecteerde poot, zowel aan het begin als op het 3 uur tijdstip.
 De volume-toeneming 3 uur na carrageenineinjectie vormt de indi-
 viduele reactie. Verbindingen worden als actief beschouwd, indien
 de reactie van de met geneesmiddel behandelde dieren (6 ratten/
 10 groep) ten opzichte van de blanco groep (dat wil zeggen, dieren
 die alleen de drager ontvangen hebben) wordt geacht significant
 te zijn in vergelijking met resultaten, die verkregen zijn met
 standaardverbindingen als acetylsalicylzuur bij 100 mg/kg of fe-
 nylbutazon bij 33 mg/kg, beide bij orale toediening. De werking
 15 van de te beproeven verbinding wordt uitgedrukt als % oedeeminhi-
 bitie bij een gegeven oraaldosis.

De nieuwe pyridinen van de onderhavige uitvinding
 en hun farmaceutisch aanvaardbare zouten zijn therapeutisch waar-
 devol als antiinflammatoire middelen of als regelaars van de im-
 20 muunrespons bij warmbloedige dieren. De combinatie van antiin-
 flammatoire werking en immuunregelende werking is van bijzondere
 waarde bij de behandeling van aandoeningen als rheumatoïdearthri-
 tis en andere ziekten, die gepaard gaan met immuundeficientie en
 vergezeld gaan van ontsteking. Aldus verlichten verbindingen van
 25 de onderhavige uitvinding de pijn en zwelling, die met dergelijke
 aandoeningen gepaard gaan, terwijl ze ook de immuunrespons van
 de patient regelen, en daardoor de daar aan ten grondslag liggende
 immuunstoring opheffen door handhaving van de immuunkompetentie.
 aldus heeft de uitvinding betrekking op een werkwijze voor het
 30 inhibiteren van inflammatoire reacties of het regelen van de im-
 muunrespons bij een warmbloedig dier door toediening aan de pa-
 tient van een pyridine van de onderhavige uitvinding of een far-
 maceutisch aanvaardbaar zuuradditie-zout daarvan, in een hoeveel-
 heid, die ter inhibitie van de inflammatoire reacties of ter rege-
 35 ling van de immuunrespons voldoende is. Volgens deze werkwijze

worden de verbindingen van de onderhavige uitvinding na behoefte aan de patient toegediend langs de gebruikelijke routes, bijvoorbeeld oraal parenteraal in doses van 0,25 tot 100 mg/kg lichaamsgewicht van de patient per dag, bij voorkeur van 0,25 tot 50 mg/kg lichaamsgewicht per dag, welke ineens of verdeeld over de dag worden toegediend. De optimum dosis voor de individuele patient wordt echter bepaald door de persoon, die voor de behandeling verantwoordelijk is, waarbij in het algemeen aanvankelijk kleinere doses worden toegediend en later langzamerhand grotere doses worden gebruikt teneinde de geschiktste dosis vast te stellen. Dit wisselt met de bepaalde verbinding, die men gebruikt en met de te behandelen patient.

De verbindingen kunnen worden gebruikt in farmaceutische preparaten, die de verbinding, of een farmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan, bevatten in combinatie met een farmaceutisch aanvaardbare drager of verdunningsmiddel. Geschikte farmaceutisch aanvaardbare dragers zijn inert vaste vulmiddelen of verdunningsmiddelen en steriele waterige of organische oplossingen. De actieve verbinding is in dergelijke farmaceutische preparaten aanwezig in hoeveelheden, die voor het leveren van de gewenste dosis hoeveelheid binnen het boven beschreven traject voldoende zijn. Aldus kunnen de verbindingen voor orale toediening worden gekombineerd met een geschikte vaste of vloeibare drager of een verdunningsmiddel onder vorming van capsules, tabletten, poeders, siropen, oplossingen, suspensies, enzovoort. De farmaceutische preparaten kunnen desgewenst extra bestanddelen bevatten als aroma gevende stoffen, zoete stoffen, excipienten, enzovoort. Voor parenterale toediening kunnen de verbindingen met steriele waterige of organische media worden gekombineerd onder vorming van injecteerbare oplossing of suspensies. Zo kan men bijvoorbeeld oplossingen in sesam- of pindaolie, waterige propyleenglycol, enzovoort gebruiken, alsmede oplossingen in water van farmaceutisch aanvaardbare zuuradditieozouten van de verbindingen. De op deze wijze bereide injecteerbare oplossingen worden intraveneus, intraperitoneaal, subcutaan of intramusculair toegediend, waarbij intra-

5 veneuze of intramusculaire toediening de voorkeur verdienen. Voor gelokaliseerde behandeling van ontsteking kunnen de verbindingen ook plaatselijk worden toegediend in de vorm van zalven, cremes, pasta's, enzovoort in overeenstemming met de gebruikelijke farmaceutische praktijk.

De volgende voorbeelden lichten de uitvinding toe, maar beperken haar niet.

Voorbeeld I

Methyl-2-(4-pikolylythio)acetaat.

10 Men lost 2,16 g of 40 mmol natriummethanolaat onder roeren onder stikstof op in 24 ml methanol en koelt de oplossing in een ijsbad. Men voegt druppelsgewijs in 15 minuten 3,38 g of 20 mmol fijn verdeeld in 20 ml methanol gesuspenseerd 4-pikolylylchloridehydrochloride toe. Daarna voegt men in 5 minuten een oplossing van 2,12 g of 20 mmol methyl-2-mercaptoacetaat in 4 ml
15 methanol toe. Men laat het reactiemengsel langzaam opwarmen en laat het 14 uur onder roeren onder stikstof bij kamertemperatuur staan. Men filtreert het met diatomeenaarde. Vaste stoffen worden verpulpt met nog 75 ml methanol. De methanolfiltraten worden ge-
20 kombineerd en geconcentreerd onder verkrijging van het in de titel genoemde produkt.

Eventueel kan men het in de titel genoemde produkt ook als het hydrochloride bereiden en winnen volgens de werkwijze van het Britse octrooischrift 1.434.271.

25 Voorts wordt 4-pikolylylchloridehydrochloride of 4-pikolylylbromidehydrobromide in de vrije base omgezet door het zout in ethanol basisch te maken en het daarna met 1,05 ekwivalent natrium- of kaliumcyanide te laten reageren onder vorming van het overeenkomstige nitril. Het nitril wordt in ethanol gesolvatiseerd
30 met waterig zoutzuur onder vorming van 4-pikolylylacetaat [cf. Rising et al., J.Am.Chem.Soc. 50, 1211 (1928)]. Het laatste wordt met Red-al in benzeen-tetrahydrofuran gereduceerd en gewonnen volgens een methode van voorbeelden IX en X onder verkrijging van 2-(4-pyridyl)ethanol. De alcohol wordt in het overeenkomstige
35 chloride omgezet door reactie met thionylchloride in aan een te-

rugvloeikoeler verwarmd methyleenchloride [cf. Gilman et al., Rec. trav. chim. 51, 93 (1932) 7]. Het 2-(4-pyridyl)ethylchloridehydrochloride, dat zich vormt, wordt door afdamping gewonnen.

Volgens bovenstaande werkwijze laat men 2-(4-pyridyl)ethylchloride met methyl-2-mercaptoacetaat reageren onder verkrijging van methyl-2-[2-(4-pyridyl)ethylthio]acetaat.

Voorbeeld II

Ethyl-2-(4-pikolylthio)acetaat.

Men verwarmde 120 ml absolute ethanol onder stikstof op tot 40°C. Men voegde portiesgewijze 5,18 g of 0,225 mol metalliek natrium met zodanige snelheid toe, dat een zachte terugvloeiing in stand bleef. Na 1 uur koelde men de resulterende heldere ethanolaatoplossing in een ijsbad af. Men vermengde 16,4 g of 0,10 mol 4-pikolylchloridehydrochloride met 60 ml ethanol en 13,2 g of 0,11 mol ethylmercaptoacetaat met 30 ml ethanol tot brij en bracht deze twee brijen in aparte toevoegtrechters. Nadat 10% van het organische chloride was toegevoegd, werden resterend chloride en de mercaptan druppelsgewijze tegelijkertijd toegevoegd. Het reaktiemengsel werd tot kamertemperatuur opgewarmd, 16 uur geroerd en gefiltreerd over diatomeenaarde onder wassing met ethanol. De combinatie van filtraat en wassing werd afgedampt tot 26 g olie. De olie werd gechromatografeerd over 500 g silicagel onder eluering met chloroform en waarneming met dunne laag chromatografie. De schone frakties werden gekombineerd en afgedampt onder verkrijging van de in de titel genoemde verbinding als 16,6 g olie. R_f (9:1 chloroform:methanol) 0,75; ir (film) 3390, 2976, 1730, 1600, 1410, 1280, 1160, 1120, 1030, 813, 750 cm^{-1} .

Voorbeeld III

Natrium-2-(4-pikolylthio)acetaat.

Men loste 8,0 g of 0,038 mol in de titel van het vooraf gaande voorbeeld genoemde ester op in 77 ml ethanol. Men voegde 38 ml 1 N natriumhydroxyde toe en roerde het mengsel 48 uur bij kamertemperatuur. Het mengsel werd in vacuüm drooggedampt en het residu met verse ethanol afgedampt en onder hoog vacuüm afgezogen onder verkrijging van 6,8 g in de titel genoemde verbin-

ding met smeltpunt 158-160°C. R_f (90:5:5 chloroform:methanol:azijnzuur) 0,25.

Men verkrijgt hetzelfde produkt door een ekwivalent van de methylester te gebruiken in plaats van de ethylester. De zure vorm, 2-(4-pikoly1)azijnzuur, wordt verkregen door hydrolyse van hetzij methyl-, hetzij ethylester volgens het Britse octrooi-schrift 1.434.271.

Voorbeeld IV

Natrium-2-(4-pikoly1thio)propionaat.

5,1 g of 94 mmol Natriummethanolaat werd in 50 ml absolute ethanol opgelost en in een ijsbad gekoeld. Men voegde een brij van 5,0 g of 30,4 mmol 4-pikoly1chloridehydrochloride in 45 ml ethanol toe en roerde het gekoelde reaktiemengsel 10 minuten. Tenslotte voegde men in een tijd van 10 minuten 3,23 g of 30,4 mmol 2-mercaptopropionzuur, opgelost in 5 ml ethanol toe. Men liet het mengsel tot kamertemperatuur opwarmen en roerde het een nacht (16 uur). Het reaktiemengsel werd ter verwijdering van zouten door filterhulp gefiltreerd, behandeld met kool en geconcentreerd onder verkrijging van ruw natrium-2-(4-pikoly1thio)-propionaat (7 g olie, die men rechtstreeks bij de volgende trap gebruikte).

Voorbeeld V

Natriumfenyl(4-pikoly1thio)acetaat.

Men loste 6,8 g of 0,124 mol natriummethanolaat op in 150 ml ethanol en koelde tot 0°C af. Men voegde in een tijd van 5 minuten bij de koude methanolaatoplossing een oplossing van 7,0 g of 0,042 mol alpha-mercaptofenylazijnzuur in 50 ml ethanol. Na 5 minuten voegde men vervolgens in 5 minuten een brij toe van 6,83 g of 0,042 mol 4-pikoly1chloridehydrochloride in 50 ml ethanol. Men verwijderde het reaktiemengsel uit het ijsbad en liet het 60 uur onder roeren staan. Het reaktiemengsel werd daarna gefiltreerd en ingedampt tot natriumfenyl(4-pikoly1thio)acetaat. Opbrengst 11,8 g wasachtige vaste stof. IR: 3,0, 6,1, 6,25, 7,3, 13,6 μ . Het produkt werd rechtstreeks bij de volgende trap gebruikt.

Men laat volgens de werkwijze van voorbeelden IV en V 4-pikolyldichloridehydrochloride met mercaptoazijnzuur reageren tot natrium-2-(4-pikolyldthio)acetaat.

Voorbeeld VI

5 Ethyl-2-(4-pikolyldthio)propionaat.

7 g Ruw natrium-2-(4-pikolyldthio)propionaat werd opgelost in 100 ml absolute ethanol en er werd 5 ml 3A moleculaire zeven toegevoegd. Men liet droge chloorwaterstof borrelen in het reaktiemengsel, dat 75 minuten aan een terugvloeikoeler werd verwarmd onder voortgezette verzadiging met chloorwaterstof gedurende de eerste vijftien minuten. Men koelde het mengsel tot kamertemperatuur af en liet het een nacht onder roeren staan (ongeveer 16 uur). Het mengsel werd door diatomeenaarde gefiltreerd en tot een half vast mengsel geconcentreerd. De veresteringsstrap werd op dit mengsel herhaald met dien verstande, dat de verzadiging met chloorwaterstof 1 uur onder verwarming aan een terugvloeikoeler werd voortgezet en het verwarmen aan de terugvloeikoeler gedurende de nacht werd voortgezet. Het reaktiemengsel werd tot kamertemperatuur afgekoeld, door diatomeenaarde gefiltreerd en afgedampt tot een olie. De olie werd met chloroform geextraheerd onder achterlating van filtreerbare zouten en de chloroform werd afgestript onder verkrijging van ethyl-2-(4-pikolyldthio)propionaat als wasachtige vaste stof. IR (KBr) 3,0, 3,5, 5,75, 6,15, 6,30, 6,70, 8,6, 12,25 μ ; massaspectrum: m/e berekend: 225, gevonden: 225, 152, 124, 102, 92, 45.

Onder gebruikmaking van dezelfde werkwijze met ethanolische chloorwaterstof wordt natrium-2-(4-pikolyldthio)acetaat omgezet in ethyl-2-(4-pikolyldthio)acetaat.

Voorbeeld VII

30 Methyl-2-fenyl-2-(4-pikolyldthio)acetaat.

Men loste natrium-2-fenyl-2-(4-pikolyldthio)acetaat op in methanol en voegde droge chloorwaterstof zodanig langzaam toe, dat zachte terugvloeiing gedurende 1 uur in stand bleef. Na afkoeling en 16 uur roeren werd het reaktiemengsel gefiltreerd en geconcentreerd tot het in de titel genoemde produkt. Opbrengst

11,6 g olie. Massaspectrum: berekend: m/e 273, gevonden: 273, 214, 150, 136, 124, 121, 105, 77, 65.

De overeenkomstige ethyl- en propylester worden volgens dezelfde werkwijze bereid onder vervanging van methanol door respectievelijk ethanol en propanol.

Volgens dezelfde werkwijze wordt natrium-2-(4-pikolylthio)acetaat omgezet in methyl-2-(4-pikolylthio)acetaat.

Voorbeeld VIII

4-(2,2-diethoxyethylthiomethyl)pyridine.

Onder een stikstofatmosfeer lost men onder roeren 0,60 g of 11 mmol natriummethanolaat op in 15 ml ethanol en koelt in een ijsbad. Men voegt in 5 minuten 1,4 g of 11 mmol 4-pikolylmercaptan in 3 ml absolute ethanol toe en roert het mengsel 15 minuten. Vervolgens voegt men in 15 minuten 2,4 g of 11 mmol broomaceetaldehydediethylacetaal in 15 ml absolute ethanol toe. Men warmt het reaktiemengsel tot kamertemperatuur op en roert 16 uur. Het reaktiemengsel wordt gefiltreerd en het filtraat afgedampt onder verkrijging van het in de titel genoemde produkt, dat desgewenst verder kan worden gezuiverd door chromatografie over silicagel.

Het in de titel genoemde acetaal wordt ook bereid uit ethanol en 2-(4-pikolylthio)aceetaldehyde van het volgende voorbeeld onder gebruikmaking van de werkwijze van voorbeeld VI.

Volgens dezelfde werkwijze laat men het ethyleenglycolacetaal van broomaceetaldehyde met 4-pikolylmercaptan reageren tot het overeenkomstige ethyleenglycol acetaal van 2-(4-pikolylthio)aceetaldehyde.

Voorbeeld IX

2-(4-pikolylthio)-aceetaldehyde.

Volgens de werkwijze van het voorafgaande voorbeeld laat men chlooraceetaldehyde met 4-pikolylmercaptan reageren tot het in de titel genoemde produkt.

Eventueel wordt hetzelfde in de titel genoemde produkt verkregen door hydrolyse van een van beide acetalen van het voorafgaande voorbeeld onder gebruikmaking van de werkwijze van

voorbeeld III.

Voorbeeld X

Methyl-2-/2-(4-pyridyl)ethylthio/acetataat.

Men lost onder een stikstofatmosfeer 1,62 g of
 5 0,03 mol natriummethanolaat onder roeren op in 36 ml methanol en
 koelt de oplossing in een ijsbad. Men voegt in 5 minuten 3,18 g
 of 0,03 mol methyl-2-mercaptoacetaat in 6 ml methanol toe. Ten-
 slotte voegt men in 15 minuten 3,22 g of 0,03 mol 4-vinylpyridine
 in 20 ml absolute ethanol toe. Men laat het reaktiemengsel tot
 10 kamertemperatuur opwarmen en roert 23 uur. Het reaktiemengsel
 wordt in vacuüm geconcentreerd tot droog. Het residu wordt lang-
 zaam onder roeren toegevoegd aan een mengsel van water en chloro-
 form. De chloroformfase wordt afgescheiden en de waterfase verder
 met chloroform geextraheerd. De gecombineerde chloroformfasen
 15 worden met verzadigd natriumchloride geextraheerd, op watervrij
 natriumsulfaat gedroogd en afgestript tot het in de titel genoem-
 de produkt.

Voorbeeld XI

Capsules.

20 Men bereidt een vast farmaceutisch preparaat door
 vermenging van de volgende bestanddelen in de onder gegeven ge-
 wichtshoeveelheden:

	methyl-2-(4-pikolylythio)acetaathydrochloride	12
	calciumcarbonaat	20
25	polyethyleenglycol, gemiddeld molecuulge- wicht 4000	72

Het aldus bereide droge vaste mengsel wordt daarna
 grondig tot een gelijkmatig poeder geroerd. Zachte elastisch ge-
 latine capsules, die dit farmaceutische preparaat bevatten, worden
 30 daarna vervaardigd in potenties (ekwivalent met gewichtsvrije ba-
 se) van 12,5 mg, 25 mg en 50 mg door vulling met een geschikte
 hoeveelheid van het gelijkmatige poeder.

Voor capsules van hogere potentie, bijvoorbeeld
 100 mg capsules, wordt een kleinere hoeveelheid inerte bestand-
 35 delen gebruikt bij de bereiding van het gelijkmatige in te kapse-

len poeder.

Ter vervaardiging van harde gevulde gelatinecapsules stelt men de hoeveelheid inerte bestanddelen zodanig in, dat men gelatinecapsules van standaardmaat gemakkelijk kan afvullen met
5 de gewenste geneesmiddelpotentie.

Men bereidt ook andere mengsels ter inkapseling uit lactose en maizetmeel in een verhouding 33:1 tot 10:1 met desgewenst een kleine hoeveelheid talk, in combinatie met voldoende actief bestanddeel voor het verkrijgen van afgepulde capsules
10 van bovengenoemde potentie.

Voorbeeld XII

Tabletten.

Men bereidt een droog vast farmaceutisch preparaat door vermenging van de volgende bestanddelen in de onder aangegeven gewichtshoeveelheden:
15

	methy1-2-(4-pikoly1thio)acetaathydrochloride	30
	natriumcitraat	37,5
	alginezuur	15
	polyvinylpyrrolidon	15
20	magnesiumstearaat	7,5

Na grondige vermenging ponst men tabletten uit het resulterende mengsel, welke tabletten 25 of 50 mg (als gewichtsekwivalent met de vrije base) actief bestanddeel bevatten. Op soort gelijke wijze met desgewenst variatie in de hoeveelheid inerte bestanddelen vervaardigt men ook tabletten van 5 mg, 10 mg,
25 75 mg en 100 mg potentie.

Een eventuele andere tabletbasis wordt bereid door vermenging van de volgende bestanddelen:

	methy1-2-(4-pikoly1thio)acetaathydrochloride	30
30	saccharose, U.S.P.	55
	tapioca zetmeel	15
	magnesiumstearaat	6,5

Uit dit mengsel worden vervolgens tabletten van de gewenste potentie geponst.

35

Preparaat I.4-Pikolylisothiouroniumchloridehydrochloride.

Men suspendeerde 11,42 g of 0,15 mol thiourem onder roeren in 45 ml absolute ethanol. Men verwarmde de suspensie onder stikstof aan een terugvloeikoeler en voegde in 15 minuten een suspensie van 25,37 g of 0,15 mol fijnverdeeld 4-pikolylochlidehydrochloride in 100 ml absolute ethanol toe, waarbij men voor zover nodig de uitwendige verwarming verwijderde teneinde overmatig hevige terugvloeiing te vermijden. Na nog 6 uur verwarmen aan de terugvloeikoeler werd het reaktiemengsel tot kamertemperatuur afgekoeld en gefiltreerd en met koude ethanol gewassen onder verkrijging van 35,8 g 4-pikolylisothiouroniumchloridehydrochloride met smeltpunt 226-227°C onder ontleding. IR (KBr): 3,40, 6,05, 6,14, 6,27, 6,71 en 12,34 μ .

15

Analyse: berekend voor $C_7H_9N_3S \cdot 2HCl$:

C 35,01 H 4,62 N 17,50

gevonden C 35,04 H 4,61 N 17,55.

Men gebruikt dezelfde werkwijze voor het omzetten van 2-(4-pyridyl)ethylchloride in 2-(4-pyridyl)ethylisothiuroniumchloride.

20

Preparaat II.4-Pikolylmercaptan.

Men loste 32,4 g of 0,135 mol 4-pikolylisothiuroniumchloridehydrochloride onder roeren op in 45 ml water en voegde druppelsgewijze in 10 minuten een warme oplossing van 11,02 g of 0,27 mol natriumhydroxyde in 18 ml water toe, waarbij zich olie-^{liet} druppels begonnen te vormen. Men liet de zacht exotherme reactie 30 minuten onder roeren staan, in welke tijd de pH door de toevoeging van natrium van 7 tot 8 steeg. Daarna werd de pH tot 6 verlaagd door langzame toevoeging van 6 N zoutzuur. Het olieachtige produkt werd geextraheerd in ether (3 porties van 125 ml). De gecombineerde etherextracten werden op watervrij natriumsulfaat gedroogd en afgedampt tot een vaste stoffen bevattende olie met een krachtige mercaptangeur (11,18 g). Gefraktioneerde destillatie leverde 4,47 g gezuiverde 4-pikolylmercaptan op met kookpunt 109-104°C/15 mm. Dunne

35

laag chromatografie op silicagel: Rf 0,65-0,7 bij eluering met $4\text{CHCl}_3/1\text{CH}_3\text{OH}$). Deze mercaptan vormt bij aanraking met lucht gemakkelijk een vast disulfide.

Men gebruikt dezelfde werkwijze voor het omzetten
5 van 2-(4-pyridyl)-ethylisothiuroniumchloride in 2-(4-pyridyl)-ethylmercaptan.

Preparaat III.

4-Pikolylacetaat.

Men loste 250 g 4-pikoline-N-oxyde op in een mengsel
10 van 2,5 l azijnzuur en 425 ml azijnzuuranhydride. Men warmde de oplossing langzaam op en verwarmde haar 22 uur aan een terugvloei-koeler. Daarna strippte men azijnzuur en azijnzuuranhydride uit het reaktiemengsel af en destilleerde de resterende olie in vacuum onder gebruikmaking van een fraktioneerkolom van 15 cm. Het materiaal,
15 dat kookte bij een vattertemperatuur van 100°C en een opzettemperatuur van 82°C bij 1,2 mm werd gecombineerd onder verkrijging van 305,9 g van een 87:13 mengsel van 4-pikolylacetaat en 3-acetoxy-4-pikoline.

Preparaat IV.

20 4-Pikolylbromidehydrobromide.

300 g 87% Zuiver 4-pikolylacetaat werd gecombineerd met 3,0 l 48% broomwaterstofzuur. Er trad een spontane exotherme reactie op, waarbij de temperatuur van 26 tot 42°C steeg. Het mengsel werd opgewarmd en 1 uur aan een terugvloei-koeler verwarmd (vattertemperatuur 124°C). Het reaktiemengsel werd daarna in vacuum geconcentreerd tot een gomachtige vaste stof, die in 1500 ml absolute alcohol werd opgelost. Bij afkoeling kristalliseerde er 379 g ruw hydrobromide uit, dat men affiltreerde. Door herkristallisatie van 50 g ruwe stof uit absolute alcohol verkreeg men 33,1 g gezuiverd
30 -pikolylbromidehydrobromide met smeltpunt $187,5-189^\circ\text{C}$.

CONCLUSIES.

1. Nieuwe verbinding met het kenmerk, dat zij de formule 3 of 2 heeft, waarin

n 1 of 2 is,

W al of niet met een methyl- of fenylgroep gesubstitueerde methyleen voorstelt en

R₁ en R₂ of elk dezelfde (C₁-C₄)alkylgroep voorstellen of samen ethyleen of propyleen voorstellen,

of een farmaceutisch aanvaardbaar zuuradditiezout van een verbinding met de formule 3 of 2 is.

2. Verbinding volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat n 1 is.

3. Verbinding volgens conclusie 2 met het kenmerk, dat W ongesubstitueerde methyleen is.

4. Verbinding volgens conclusie 3 met het kenmerk, dat zij de formule 4 heeft.

5. Verbinding volgens conclusie 3 met het kenmerk, dat zij de formule 5 heeft.

6. Verbinding volgens conclusie 3 met het kenmerk, dat zij de formule 6 heeft.

7. Werkwijze voor het behandelen van rheumatoïdearthrititis bij een zoogdier met het kenmerk, dat men aan dit zoogdier een rheumatoïdearthrititis bestrijdende hoeveelheid toedient van een verbinding met de formule 1 of 2, waarin

n 1 of 2 is,

W al of niet met een methyl- of fenylgroep gesubstitueerde methyleen voorstelt,

Z hydroxyl, (C₁-C₄)alkoxy of waterstof voorstelt en

R en R₁ of elk dezelfde (C₁-C₄)alkylgroep voorstellen, of samen ethyleen of propyleen voorstellen, of

een farmaceutisch aanvaardbaar zuuradditiezout daarvan, of

een farmaceutisch aanvaardbaar kationogeen zout daarvan, wanneer Z hydroxyl voorstelt.

8. Werkwijze volgens conclusie 7 met het kenmerk,
dat Z waterstof voorstelt.

9. Werkwijze volgens conclusie 7 met het kenmerk,
dat n 1 is.

5 10. Werkwijze volgens conclusie 9 met het kenmerk,
dat W niet gesubstitueerde methyleen voorstelt.

11. Werkwijze volgens conclusie 10 met het kenmerk,
dat de verbinding de formule 7 heeft.

10 12. Werkwijze volgens conclusie 11 met het kenmerk,
dat Z hydroxyl voorstelt.

13. Werkwijze volgens conclusie 11 met het kenmerk,
dat Z methoxy voorstelt.

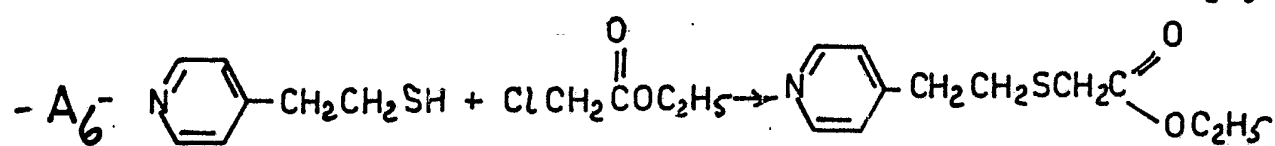
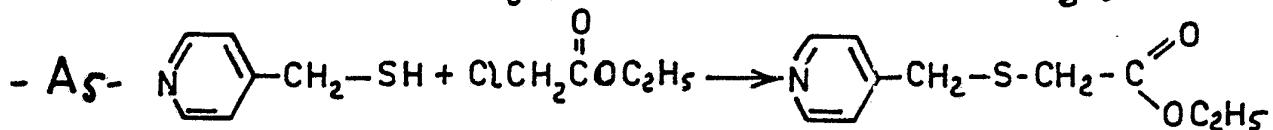
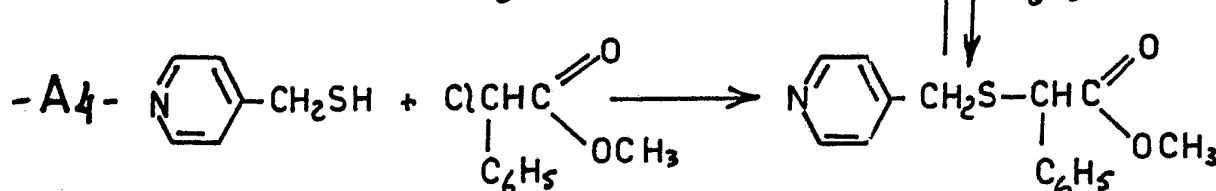
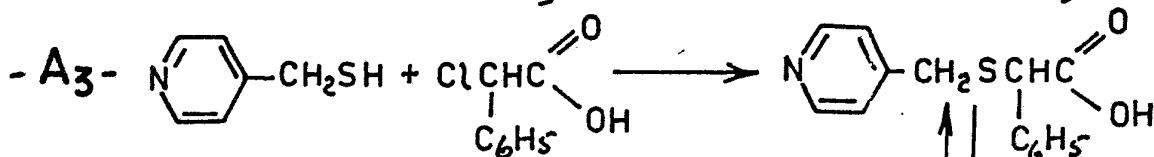
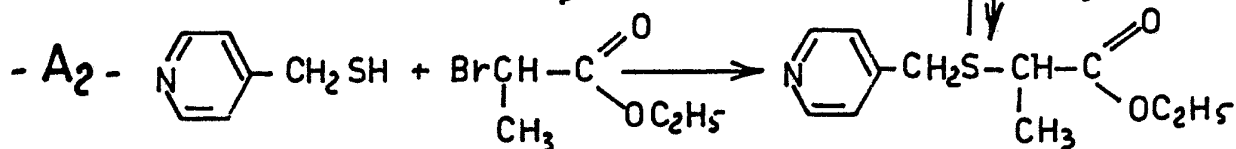
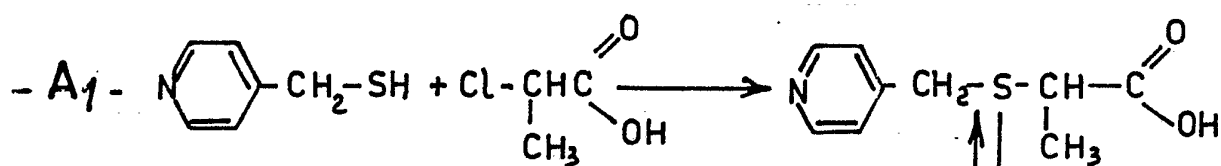
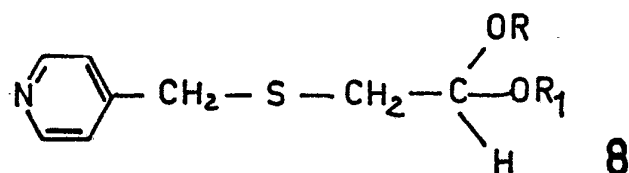
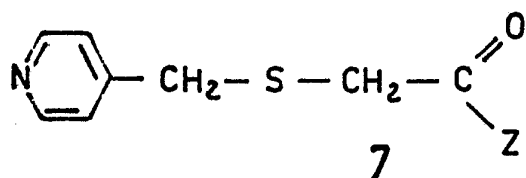
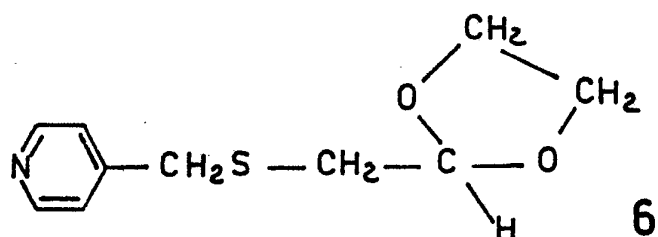
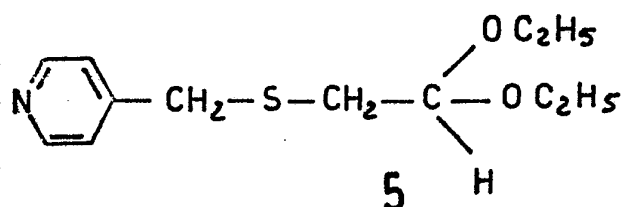
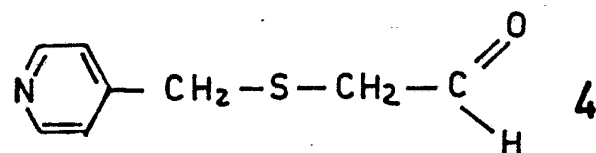
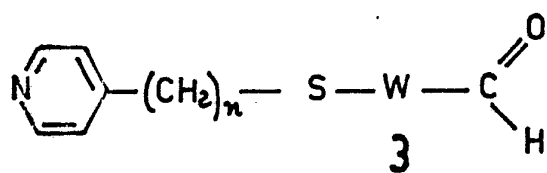
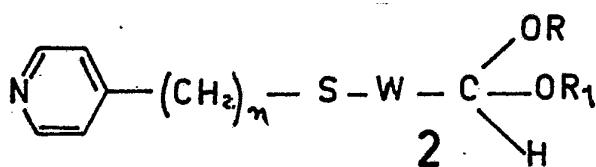
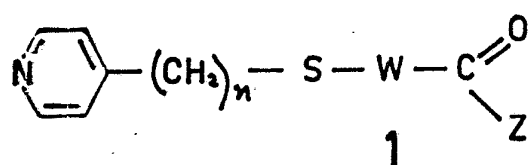
14. Werkwijze volgens conclusie 11 met het kenmerk,
dat Z ethoxy voorstelt.

15 15. Werkwijze volgens conclusie 10 met het kenmerk,
dat de verbinding de formule 8 heeft.

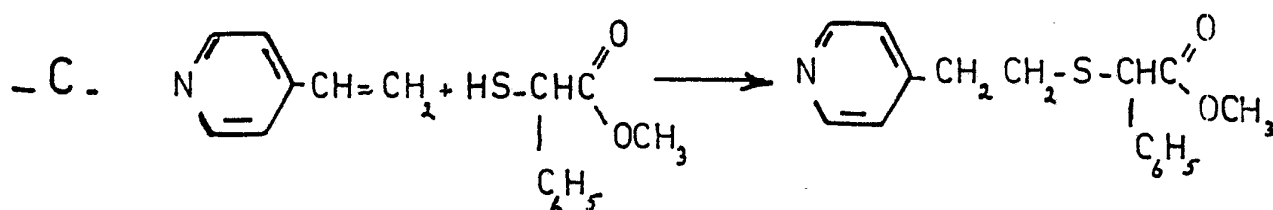
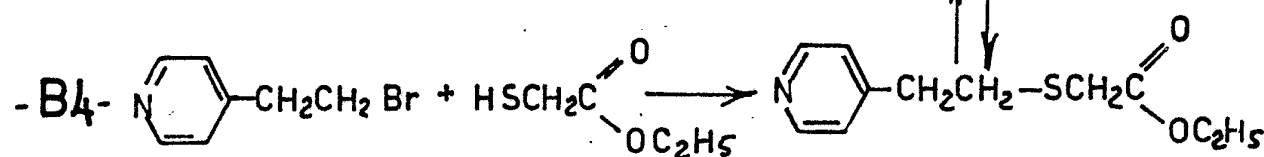
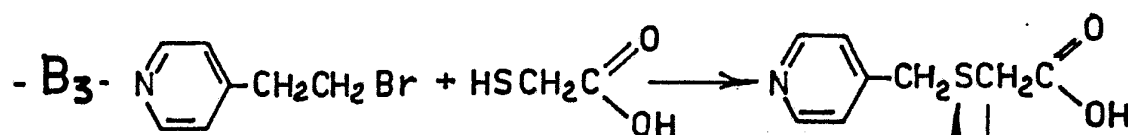
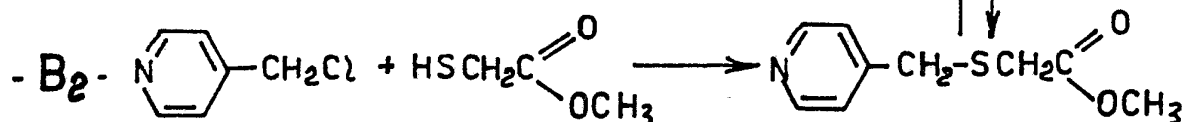
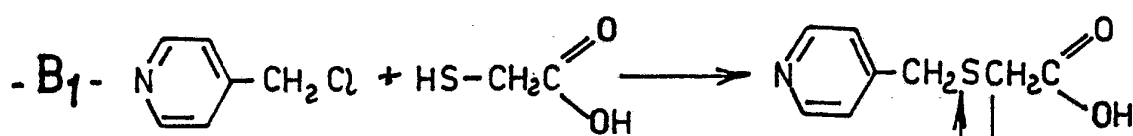
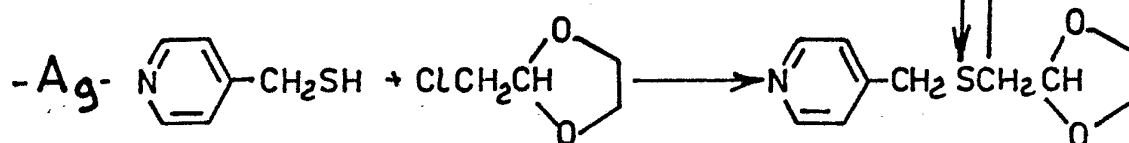
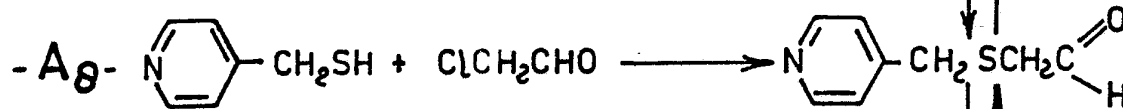
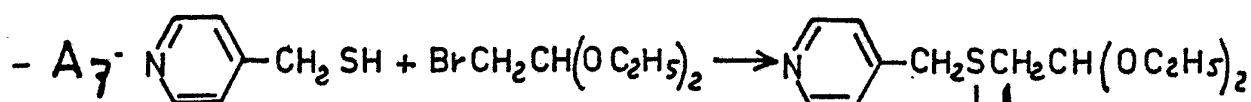
16. Werkwijze volgens conclusie 15, met het kenmerk,
dat de verbinding de formule 5 heeft.

20 17. Werkwijze volgens conclusie 15 met het kenmerk,
dat de verbinding de formule 6 heeft.

18. Farmaceutisch preparaat met antiinflammatoire
en immunoregulatorische werking met het kenmerk, dat het als actieve
stof een verbinding bevat met de formule 1 of 2 als gedefinieerd
in conclusie 7, of een farmaceutisch aanvaardbaar zuur additiezout
25 daarvan, of een farmaceutisch aanvaardbaar kationogeen zout daarvan,
wanneer Z hydroxyl voorstelt.



8105744



8105744