



(12) **UTLEGNINGSSKRIFT**

(19) NO

(11) **170632**

(13) B

(51) Int Cl⁵ C 07 D 405/12, 417/12

Styret for det industrielle rettsvern

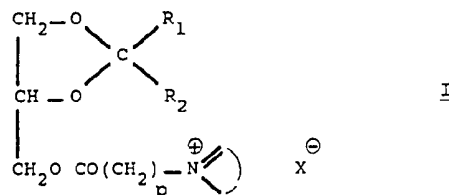
(21) Søknadsnr	882564	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	
(22) Inng. dag	10.06.88	(85) Videreføringsdag	
(24) Løpedag	10.06.88	(30) Prioritet	12.06.87, GB, 8713745
(41) Alm. tilgj.	13.12.88		
(44) Utlegningsdato	03.08.92		

(71) Patentsøker	Société de Conseils de Recherches et d'applications Scientifiques (S.C.R.A.S), 51/53 rue de Docteur Blanche, F-75016 Paris, FR
(72) Oppfinner	Colette Broquet, Boulogne, FR Pierre Braquet, Garches, FR
(74) Fullmektig	Johan H. Gørbitz, Bryn & Aarflot AS, Oslo

(54) **Benevnelse** Analogifremgangsmåte for fremstilling av nye, terapeutisk aktive aminoacylater av glycerolacetal

(56) **Anførte publikasjoner** Ingen

(57) **Sammendrag** Oppfinnelsen angår en fremgangsmåte for fremstilling av nye farmasøytisk virksomme aminoacylater av glycerolacetal med den generelle formel I



hvor

R₁ betyr en substituert fenylgruppe eller en gruppe med formel C_mH_{2m+1}, hvor m er et heltall fra 9 til 25,

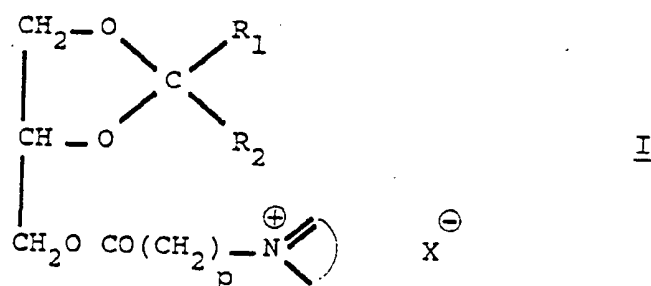
R₂ betyr et hydrogenatom, en fenylgruppe eller en gruppe med formel C_nH_{2n+1}, hvor n er et heltall fra 1 til 10,

p er et heltall fra 3 til 10,

$\text{—N}^{\oplus}$ betyr en nitrogenholdig heterocyklisk gruppe, og

X[⊖] betyr et farmasøytisk akseptabelt anion.

Oppfinnelsen angår en fremgangsmåte for fremstilling av nye aminoacylater av glycerolacetal. Forbindelsene fremstillet i henhold til foreliggende oppfinnelse er aminoacylater av glycerolacetaler med den generelle formel I



hvor

R_1 betyr en fenylgruppe som er substituert med én eller flere metoksygrupper, eller en gruppe med formel $\text{C}_m\text{H}_{2m+1}$, hvor m er et heltall fra 9 til 25,

R_2 betyr et hydrogenatom, en fenylgruppe eller en gruppe med formel $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$, hvor n er et heltall fra 1 til 10,

p er et heltall fra 3 til 10,

$\text{N}^{\oplus}$ betyr en nitrogenholdig heterocyklisk gruppe valgt fra

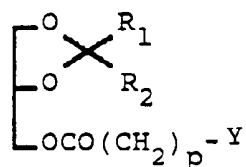
pyridinium, 3-tiazolinium, kinolinium, isokinolinium, imidazolium og pyrazinium, og

$\text{X}^{\ominus}$ står for anionet av en farmasøytisk akseptabel uorganisk eller organisk syre, særlig et halogenidion så som klor, brom eller jod, eller anioner av benzosyre, eddiksyre, metansulfonsyre eller vinsyre.

Forbindelsene oppnådd i henhold til oppfinnelsen er interessante som anti-PAF-midler (PAF betyr blodplateaktiverende faktor), med korresponderende virkning

som anti-anafylatiske, antitrombotiske, anti-blodplateaggregerende, antibronkokonstriktive, normotensive og anti-ischemiske midler, som immunodepressive midler og er også virksomme mot immunreaksjon i nyren, mot forskjellige sjokk, mot hudallergier og intestinale ulcerasjoner forårsaket av for eksempel endotoksin.

Fremgangsmåten i henhold til oppfinnelsen består i å omsette et svakt støkiometrisk overskudd av et aldehyd eller keton med formel R_1COR_2 , hvor R_1 og R_2 er som ovenfor definert, med glycerol i et upolart oppløsningsmiddel i nærvær av p-toluensulfonsyre og under tilbakeløpsbetingelser, hvorpå det resulterende 4-hydroksymetyl-1,3-dioksolanderivat ved romtemperatur omsettes med et $\hat{O}$ -halogenalkanoylklorid med formel $ClCO(CH_2)_pY$, hvor p er som ovenfor definert, og Y er halogen, i nærvær av en organisk base så som trietylamin og deretter under nitrogensirkulasjon ved 50-80°C, omsette den resulterende forbindelse med formel



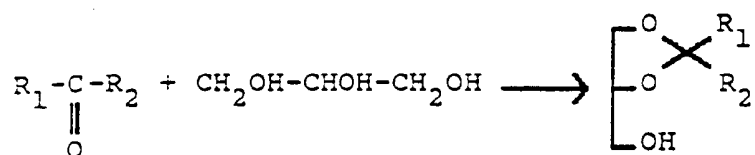
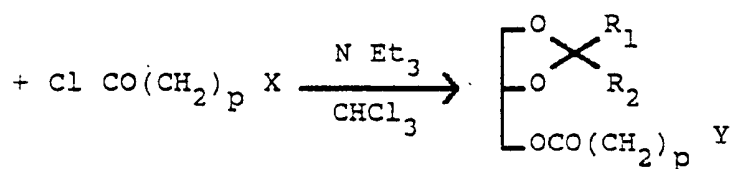
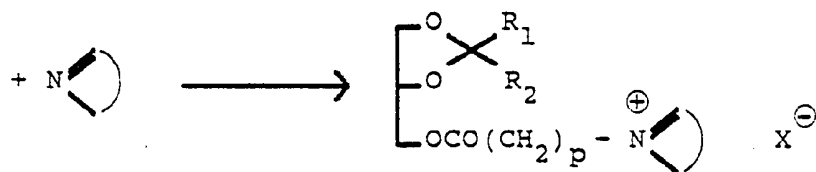
med en nitrogenholdig heterocyklisk forbindelse med formel

, og når X er forskjellig fra halogen, omdannes det tilsvarende hydrohalogenid til det ønskede farmasøytisk akseptable salt på i og for seg kjent måte.

Fremgangsmåten fremgår av det etterfølgende reaksjonsskjema.

170632

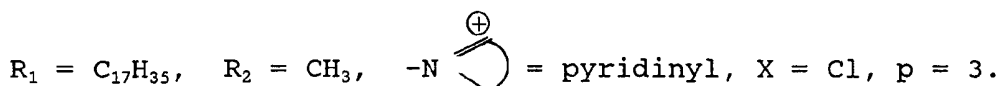
3

Trinna2b3cI

Frengangsmåten i henhold til oppfinnelsen er i det følgende illustrert ved eksempler. Eksempel 1 er beskrevet i sin helhet, mens i de etterfølgende eksempler er kun de karakteristiske egenskaper av substituentene og de resulterende forbindelser oppgitt (om intet annet er angitt er TLC foretatt på silikagelplater).

Eksempel 1

2-heptadekyl-2-metyl-4-[4'-(N-pyridinium) butyryloksy-metyl]-
1,3-dioksolan-klorid



Trinn a: Fremstilling av 2-heptadekyl-2-metyl-4-hydroksy-
metyl-1,3-dioksolan. a

I en passende reaksjonskolbe ble det anbragt 11,1 g (40 mmol) 2-nonadekanon, 6 g dobbelt-destillert glycerol, som representerer et overskudd i forhold til støkiometriske forhold, og 0,6 g p-toluensulfonsyre oppløst i 120 ml tørr toluen. Reaksjonsblandingen ble kokt under tilbakeløpskjøling i 12 timer og det resulterende vann fjernet ved bruk av et Dean-Stark-apparat. Etter avkjøling ble den organiske fase vasket med 30 ml 5 vektprosent vandig kaliumhydroksyd og deretter 3 ganger med et minimum av vann. Etter tørking over vannfri natriumsulfat ble oppløsningsmidlet fjernet under redusert trykk. Residuet ble så rensset ved kromatografi på en silikagelkolonne. Fra kolonnen ble ketonet som ikke inngikk i reaksjonen, eluert i én fraksjon (petroleter:dietyleter, 95:5, volumdeler), og deretter dioksolan a (petroleter:dietyleter, 85:15, volumdeler). Dioksolanet utgjorde et viskøst delvis krystallisert produkt.

Utbytte 11 g (78%).

Rf: 0,18 (petroleter/dietyleter, 70:30, volumdeler)

IR 3500 cm^{-1} (OH)

$1100 - 1060 \text{ cm}^{-1}$ (C-O-).

Trinn b: 2-heptadekyl-2-metyl-4-(4'-klorbutyryloksymetyl)-
1,3-dioksolan. b

En blanding av 6,4 g (18 mmol) 2-heptadekyl-2-metyl-4-hydroksymetyl-1,3-dioksolan, fremstillet som beskrevet i trinn (a) og 6 ml (45 mmol) trietylamin i 15 ml tørr kloroform, ble

dråpevis tilsatt til en oppløsning av 6,25 g (22 mmol) 4-klorbutyrylchlorid i 10 ml tørr kloroform ved 0°C. Blandingen ble omrørt i 12 timer ved romtemperatur. Etter tilsetning av 20 ml kloroform ble blandingen vasket med 1N vandig natriumhydroksydoopløsning og deretter med vann inntil pH 7. Ved fjerning av oppløsningsmidlet ble det oppnådd et residuum som ble kromatografert på en silikagelkolonne med petroleter:dietyleter som eluent, først med 95:5, deretter med 90:10 og tilslutt med 80:20, volumdeler. Det ble derved oppnådd 7,6 g (utbytte 82%) av et oljeaktig produkt som krystalliserte; smeltepunkt 39-40°C. Produktet utgjorde en blanding av de to cis- og trans-isomerene (separasjon av disse er problematisk).

Rf: 0,45 og 0,37 (petroleter/dietyleter, 80:20, volumdeler)

IR 1740 cm^{-1} (C=O)

1180 - 1160 cm^{-1} (C-O-C eter og ester)

NMR 60 MHz, CDCl_3 , (TMS)

δ : 0,9 (triplett, 3H, CH_3 i kjeden)

1,3 (multiplett, 35H, 32H + CH_3)

2,1 (multiplett, 2H, CO- CH_2 - CH_2)

2,5 (triplett, 2H, CO- CH_2)

3,6 (multiplett, 4H, CH_2 -O og CH_2Cl)

4,2 (multiplett, 3H, CH_2OCO og CH-O).

Trinn c : 2-heptadekyl-2-metyl-4-[4'-(N-pyridinium)-butyryloksymetyl]-1,3-dioksolan-klorid. I

5 g av forbindelsen oppnådd i foregående trinn (b), oppløst i 30 ml pyridin, ble omrørt ved 80°C under nitrogen i 24 timer. Pyridin-overskuddet ble deretter fjernet under redusert trykk og residuet renset ved kromatografi på silikagel. Eluering med kloroform (for gjenvinning av uomsatt utgangsmateriale) og deretter med kloroform/metanol, først 90:10, deretter 80:20, volumdeler, ga 3,80 g av tittelproduktet. Produktet utgjorde en blanding av de to cis- og trans-isomerene (separasjon av disse er problematisk), utbytte 40% totalt (65% for dette trinn). Smeltepunkt 84-85°C.

170632

6

Rf : 0,28 (CHCl₃/MeOH, 70:30, volumdeler)

IR (nujol) 1740 cm⁻¹

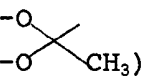
1630 cm⁻¹ (pyridin)

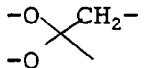
1200, 1180 cm⁻¹ (C-O-C)

NMR, 250 MHz, CDCl₃

δ : 0,9 (triplett, 3H, CH₃)

1,2 (singlett, stor 30H)

1,4 (dublett, 3H, ) (to CH₃ av de to diastereoisomerer)

1,55 (multiplett, 2H, )

2,35 (multiplett, 2H, CO CH₂-CH₂)

2,6 (triplett, 2H, CO CH₂)

3,9 (multiplett, 1H, CH-O)

4 (multiplett, 2H, CH₂O CO)

4,2-3,6 (2 multipletter, 2H, CH₂O) (av de to

diastereoisomerer)

⊕

5,10 (multiplett, 2H, CH₂N)

8 (multiplett, 2H, H_β)

pyridinium 8,4 (multiplett, 1H, H

9,6 (dublett, 2H_α)

Massespektrum:

M - Cl m/z : 504

 (CH₂)₃ - CO₂H : 166

Eksempel 2

2-heptadekyl-2-metyl-4-[4'-(N-kinolinium)-butyryloksymetyl]-

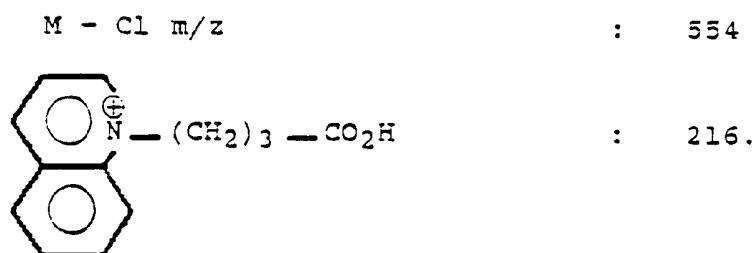
1,3-dioksolan-klorid.

Trinn c: 5 g av forbindelsen oppnådd i Eksempel 1 (trinn b) ble oppløst i en blanding av 20 ml kinolin og 20 ml DMSO og oppvarmet til 80°C under nitrogen i 4 dager. Kinolin og DMSO ble fradestillert under redusert trykk og residuet kromatografert på en silikagelkolonne med CHCl_3 og deretter med $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 95:5. 2,5 g av det ønskede produkt ble oppnådd som en blanding av de to diastereoisomerene.

Rf : 0,58 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 70:30)

IR kinolin 1650, 1630 og 1600 cm^{-1}

Massespektrum:



NMR kinolinium i stedet for pyridinium.

δ ppm: 7,90-8,10 (4H), 8,70 (1H), 8,90 (1H), 10,90 (1H₂).

Eksempel 3

2-heptadekyl-2-metyl-4-[4'-(N-tiazolinium)-butyryloksymetyl]-1,3-dioksolan-klorid.

Trinn c : 850 mg av produktet oppnådd i Eksempel 1 (trinn b) i en blanding av tiazol (4 ml) og DMSO (6 ml), ble oppvarmet til 80°C i 24 timer. Reaksjonsblandingen ble inndampet i vakuum og residuet kromatografert på en silikagelkolonne med $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 50:50 som eluent, hvorved et viskøst produkt ble oppnådd.

Rf : 0,34 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 70:30)

NMR tiazolinium i stedet for pyridinium.

δ ppm: 8,19 (dublett: 1H), 8,4 (dublett: 1H), 10,90 (singlett,

1H)

Massespektrum : M - Cl : 510 m/z.

Eksempel 4

2-heptadekyl-4-[4'-(N-pyridinium)-butyryloksymetyl]-1,3-dioksolan-klorid.

$R_1 = C_{17}H_{35}$, $R_2 = H$, $-N \text{ (pyridinium ring) }^{\oplus} = \text{pyridinyl}$, $X = Cl$, $p = 3$.

I_b NMR i stedet for CH_3 ved 1,4 $(-O \text{ (CH}_3\text{)})$

2 multipler sentrert om 4,9 ppm

Massespektrum : M - Cl : 490 m/z.

Eksempel 5

2-heptadekyl-4-[4'-(N-kinolinium)-butyryloksymetyl]-1,3-dioksolan-klorid.

$R_1 = C_{17}H_{35}$, $R_2 = H$, $-N \text{ (quinolinium ring) }^{\oplus} = \text{kinolinium}$, $X = Cl$, $p = 3$.

R_f : 0,48 (kloroform/metanol, 70:30, volumdeler).

Eksempel 6

2-heptadekyl-2-(n-propyl)-4-[4'-(N-pyridinium)-butyryloksymetyl]-1,3-dioksolan-klorid.

$R_1 = C_{17}H_{35}$, $R_2 = n\text{-propyl}$, $-N \begin{array}{c} \oplus \\ \diagup \quad \diagdown \end{array} = \text{pyridinyl}$, $X = Cl$, $p = 3$.

I_c NMR i stedet for CH_3 ved 1,4

1,55 (multiplett, 4H $\begin{array}{c} -O-CH_2- \\ -O-CH_2- \end{array}$)
 1,2 (32H)
 0,9 (triplett, 6H, $2CH_3$)

Massespektrum : $M - Cl : 532 \text{ m/z}$.

Eksempel 7

2-heptadekyl-2-metyl-4-[5'-(N-pyridinium)pentanoyl-oksymetyl]-1,3-dioksolan-klorid.

$R_1 = C_{17}H_{35}$, $R_2 = CH_3$, $-N \begin{array}{c} \oplus \\ \diagup \quad \diagdown \end{array} = \text{pyridinyl}$, $X = Cl$, $p = 4$.

$R_f : 0,23$ (kloroform/metanol, 70:30).

Eksempel 8

2-(3,4,5-trimetoksyfenyl)-2-metyl-4-[4'-(N-pyridinium)-butyryloksymetyl]-1,3-dioksolan-klorid.

$R_1 = \begin{array}{c} \text{OCH}_3 \\ | \\ \text{---} \text{C}_6\text{H}_3 \text{---} \\ | \\ \text{OCH}_3 \end{array}$, $R_2 = CH_3$, $-N \begin{array}{c} \oplus \\ \diagup \quad \diagdown \end{array} = \text{pyridinyl}$, $X = Cl$, $p=3$.

IR 1735 (C=O)

1610 (pyridin)

1590 (benzen)

2740 (OCH_3)

I_d NMR i stedet for $kjeden R_1$

$\begin{array}{c} \text{-O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{-O} \quad \text{CH}_3 \end{array}$
 1,5 ppm (m, 3H, $\text{-O} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{-O} \quad \text{CH}_3 \end{array}$) for R_2
 3,7 (singlett, 9H, OCH_3)
 6,8 (2H, aromatisk)

Massespektrum : M - Cl : 432 m/z.

Eksempel 9

2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid.

$R_1 = \text{C}_{17}\text{H}_{35}$, $R_2 = \text{CH}_3$, $\text{-N} \begin{array}{c} \oplus \\ \diagup \quad \diagdown \end{array} = \text{pyridinyl}$, X = Br, p = 5.

Trinn b : 2-heptadekyl-2-metyl-4-(6'-brom-heksanoyloksymetyl)-1,3-dioksolan-bromid.

Ved å følge fremgangsmåten beskrevet i Eksempel 1 og benytte 6-brom-heksanoylklorid, ble det ønskede produkt oppnådd som et viskøst produkt (utbytte 82%).
 Rf : 0,57 (petroleter/eter, 80:20).

Trinn c : Ved å følge fremgangsmåten beskrevet i Eksempel 1, ble det ønskede produkt oppnådd som et viskøst produkt (utbytte 70%).

Rf : 0,36 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 70:30)

IR 3450 cm^{-1} (gjenværende vann)

1740 cm^{-1} (CO), 1180 cm^{-1} (C-O-C), 1640 cm^{-1} (pyridin)

NMR 500 MHz CDCl_3 , δ (TMS)

0,85 (triplett, 3H, CH_3), 1,25 (singlett, stor 30H),

$\begin{array}{c} \text{-O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{-O} \quad \text{CH}_3 \end{array}$
 1,35 (dublett, 3H, $\text{-O} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{-O} \quad \text{CH}_3 \end{array}$, Z + E);

1,45 (multiplett, 2H, $\text{CH}_{2\delta}$);

2,1 (multiplett, 2H, COCH_2CH_2); 2,35 (multiplett, 2H, COCH_2);

3,70 og 4,35 (multiplett, 2H, CH_2O , Z + E); 4 (multiplett, 3H, CH_2OCO og H-C-O);

170632

11

⊕

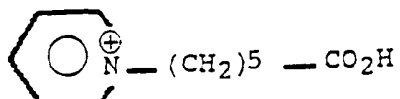
5,05 (triplett, 2H, CH₂N)pyridinium 8,1 (triplett, 2H, H_B); 8,6 (triplett, 1H, H);9,5 (dublett, 2H, H_a).

U.V. (etanol) log 3,65 258,8 nm.

Massespektrum :

M - Br m/z

: 532



: 194.

Eksempel 102-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-kinolinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid.Rf : 0,60 (CHCl₃/MeOH, 70:30)IR kinolinium 1650, 1630, 1600 cm⁻¹

U.V. (etanol) log 4,53 235,4 nm

2,18 316,5 nm

NMR kinolinium i stedet for pyridinium.

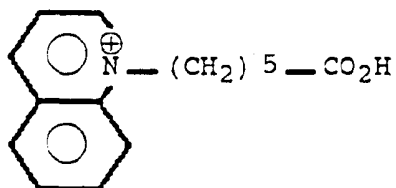
⊕

δ : 5,5 (2H, CH₂N), 7,90-8,40 (5H), 9,10 (1H),10,70 (1H, H_α).

Massespektrum :

M - Br m/z

: 582



: 244;

Eksempel 11

2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-isokinolinium)-heksanoyloksy-metyl]-1,3-dioksolan-bromid.

Trinn c : Bruk av isokinolin i stedet for kinolin.

R_f : 0,55 (CHCl₃/MeOH, 70:30)

IR isokinolin 1650, 1610, 1590 cm⁻¹.

NMR isokinolinium i stedet for kinolinium.

δ : 5,15 (triplett, 2H, CH₂N)[⊕]; 7,95-8,40 (4H); 8,80 (2H);
11,05 (1H).

Massespektrum : M - Br : 582 m/z.

Eksempel 12

2-heptadekyl-2-metyl-4-[11'-(N-pyridinium-undekanoyloksymetyl)-1,3-dioksolan-bromid.

R₁ = C₁₇H₃₅, R₂ = CH₃, -N  = pyridinyl, X = Br, p = 10.

Trinn b : 2-heptadekyl-2-metyl-4-(11'-brom-undekanoyloksymetyl)-1,3-dioksolan.

Ved å følge fremgangsmåten beskrevet i Eksempel 1 og benytte 11-brom-undekanoylklorid, ble det ønskede produkt oppnådd.

Smeltepunkt: 52°C (utbytte 60%)

R_f : 0,26 (petroleter/eter, 85:15).

Trinn c

Smeltepunkt : 92°C.

R_f : 0,45 (CHCl₃/MeOH, 70:30)

Massespektrum : M - Br : 602 m/z.

Eksempel 13

2-heptadekyl-2-(n-propyl)-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyl-metyl]-1,3-dioksolan-bromid.

$R_1 = C_{17}H_{35}$, $R_2 = n\text{-propyl}$, $-N \begin{array}{c} \oplus \\ \diagup \diagdown \end{array} = \text{pyridinyl}$, $X = \text{Br}$, $p = 5$.

Rf : 0,44 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 70:30)

Smeltepunkt : 76°C

Massespektrum : $M - \text{Br} : 560 \text{ m/z}$.

Eksempel 14

2-nonyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid.

$R_1 = C_9H_{19}$, $R_2 = \text{CH}_3$, $N \begin{array}{c} \oplus \\ \diagup \diagdown \end{array} = \text{pyridinyl}$, $X = \text{Br}$, $p = 5$.

Trinn b

Rf : 0,50 (petroleter/eter, 80:20)

Trinn c

Rf : 0,30 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 70:30)

Massespektrum : $M - \text{Br} : 420 \text{ m/z}$.

TOKSIKOLOGI

Forbindelsene fremstillet i henhold til oppfinnelsen er blitt gitt til mus for bestemmelse av akutt LD_{50} . For samtlige forbindelser var LD_{50} høyere enn 300 mg/kg (i.p. eller s.c.) og 600 mg/kg (p.o.).

FARMAKOLOGI

En bekreftelse av den farmasøytiske anvendelighet av forbindelsene fremgår av følgende farmasøytiske undersøkelser:

1) Hemming av blodplateaggregasjon hos New Zealand-kaniner.

Undersøkelsene ble foretatt på blodplater med plasma fra New Zealand-kaniner.

Blodprøver ble tatt fra ørearterien og anbragt i citratbuffer (3,8%; pH 7,4); blodet ble deretter sentrifugert i 15 min. ved 1200 rpm.

Testforbindelsene ble tilberedt i DMSO og helt over på blodplaterikt plasma i 1 minutt, hvorpå en dose på 2,5 nM PAF ble tilsatt.

Bestemmelsen ble foretatt på et Cronolog Coultronics apparat som bestemmer den prosentuelle transmisjon som tilsvarer maksimalhøyden av toppen før desaggregasjonen. Variasjonsprosenten av hemmingen med hensyn til den prosentuelle transmisjon ble beregnet (kontroll; ren DMSO).

Denne metode er utførlig beskrevet i Laboratory Investigations, Vol. 41, Nr. 3, s. 275, 1979, av Jean-Pierre Cazenave, Jaques Benveniste & J. Fraser Mustard, "Aggregation of Rabbits Platelets by Platelet-Activating Factor Is Independent of the Release Reaction and the Arachidonate Pathway and Inhibited by Membrane-Active Drugs".

Resultatene viser at forbindelsene hemmer aggregasjonen induisert av 2,5 nM PAF. Fem forsøk foretatt på fem forskjellige kaniner gjorde det mulig å beregne IC_{50} -verdien av de forskjellige forbindelser ved hjelp av lineær regressjon.

Hemming av PAF-indusert blodplateaggregasjon i blodplaterikt plasma fra kaniner.

Eks. nr.	IC ₅₀ PRP (M)
Nr. 1.....	2,2 . 10 ⁻⁶
Nr. 2.....	1,2 . 10 ⁻⁶
Nr. 3.....	2,15 . 10 ⁻⁵
Nr. 4.....	7 . 10 ⁻⁶
Nr. 5.....	3,1 . 10 ⁻⁶
Nr. 6.....	3,04 . 10 ⁻⁶
Nr. 7.....	5 . 10 ⁻⁶
Nr. 8.....	1,13 . 10 ⁻⁵
Nr. 9.....	4,04 . 10 ⁻⁷
Nr. 10.....	3,03 . 10 ⁻⁷
Nr. 12.....	3,12 . 10 ⁻⁵
Nr. 13.....	1,73 . 10 ⁻⁶
Nr. 14.....	1,46 . 10 ⁻⁶

2) BINDING

Den anvendte syntetisk tritierte [³H]-PAF ble benyttet i etanoloppløsning og hadde en spesifikk aktivitet på 59,5 ci/mmol. Umerket PAF og lyso-PAF ble oppløst i etanol og oppbevart ved -80°C. Forbindelsene ble oppløst i DMSO.

Fullblod (6 volumdeler) fra kanin ble tatt ut fra den midtre ørearterie og overført i 1 volumdel ACD-oppløsning (sitronsyre 1,4 g, natriumcitrat 2,5 g, dekstrose 2 g per 100 ml H₂O) og sentrifugert ved 150 g i 15 minutter. Det blodplaterike plasma (PRP) ble forsiktig tatt ut og sentrifugert i 15 minutter ved 1000 g. Den oppnådde blodplate-pellet ble deretter vasket tre ganger, to ganger med Tris-HCl-buffer 10 mM, pH 7,4 inneholdende NaCl 150 mM, MgCl₂ 5 mM, EDTA 2 mM, og siste gang i den samme, men natriumfrie buffer.

Den oppnådde blodplate-pellet ble resuspendert i sistnevnte buffer, hurtig nedfrosset i flytende nitrogen og langsomt opptint ved romtemperatur minst tre ganger som beskrevet av T.Y. Shen et al. De lyserte blodplatene ble sentrifugert ved 100.000 g i 30 minutter i en Beckman modell L8.55 ultra-sentrifuge (rotor 50,2 Ti). Blodplatemembran-

homogenatet ble oppbevart ved -80°C og benyttet innen 2 uker uten merkbare forandringer i "PAF-acether" bindingskarakteristika.

Proteininnholdet ble bestemt etter Lowry's metode ved å benytte storfeserum-albumin som standard.

60-100 mikrogram membran-proteiner ble tilsatt til et sluttvolum på 1 ml i et plastrør inneholdende 1 nM $[^3\text{H}]$ -PAF i Tris-HCl 10 mM pH 7 buffer inneholdende 0,025% storfeserum-albumin og inkubert med eller uten umerket PAF eller PAF-antagonist. Inkuberingen ble foretatt i 1,5 timer ved 0°C . Bundet $[^3\text{H}]$ -PAF ble fraskilt fra den frie $[^3\text{H}]$ -PAF ved omgående filtrering gjennom Whatman GF/C glassfiberfilter under vakuum (Brandel system). Reaksjonsblandingen og filterne ble vasket tre ganger med 5 ml iskald buffer. Filterne ble deretter anbragt i polyetylenampuller oppfylt med 10 ml scintillasjonsvæske, hvorpå radioaktiviteten ble målt ved hjelp av en LKB β -teller med 45% efficiency.

Den uspesifikke binding ble bestemt i nærvær av 10^{-6} M umerket PAF. Den spesifikke binding ble beregnet ved å subtrahere uspesifikk binding fra totalbindingen. Forbindelsenes hemming av den spesifikke $[^3\text{H}]$ -PAF-binding ble bestemt som prosentuell hemming etter formelen:

$$\% \text{ hemming} = \frac{(\text{H-PAF bundet i nærvær}) - (\text{H-PAF totalbundet})}{(\text{H-PAF totalbundet})} \times 100$$

^3H -PAF spesifikt bundet

Eks. nr.	IC_{50}
Nr. 1.....	4,5 . 10^{-7}
Nr. 9.....	3,5 . 10^{-8}
Nr. 10.....	3,5 . 10^{-8}
Nr. 14.....	6,1 . 10^{-7}

3) BRONKOKONSTRIKSON, LEUKOPENI OG TROMBOCYTOPENI
INDUSERT AV PAF I MARSVIN

Marsvin-hanner (400-500 g) ble anestetisert med uretan (1,5 g/kg: i.p.) før trakeostomi, og ble ventilert med en respiratorpumpe (UGO Basile) (70-80 åndinger/minutt, 1 ml luft/100 g/ånding). For å oppheve spontan respirasjon ble det foretatt en pneumothorax. Innblåsningsmotstanden ble målt med en trykk-transducer (UGO Basile) mot et opprinnelig trykk på 10 cm H₂O i henhold til Konzett & Rossler. Dyrene ble inndelt i grupper og ble behandlet, eller ikke behandlet, med forbindelsene fremstillet i henhold til oppfinnelsen (0,05, 0,1, 0,5, 1 og 5 mg/kg). Produktene ble gitt i.v. 1 time før PAF-tilførselen.

Dyrene ble utsatt for forskjellige doser PAF (30-100 n/kg) gitt intravenøst, og variasjonene i innblåsningsmotstanden ble registrert.

Blodprøver ble tatt før og 1,5 og 10 minutter etter PAF-tilførselen. 40 mikroliter blod ble fortynnet i 10 ml isoton (Coultronics, Frankrike); erytrocytter ble lysert med Zapoglobin (Frankrike) før leukocyter ble tellt i en Coulter Counter. For å bestemme blodplate-antallet, ble 40 mikroliter blod fortynnet i 2 ml isoton og sentrifugert med 100 omdreininger per minutt i 30 sekunder, hvorpå 100 mikroliter av supernatanten ble tatt ut og fortynnet i 10 ml isoton før telling i en Coulter Counter.

Tabell nr. 1 : Effekt av 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid på PAF-indusert bronkokonstriksjon.

	Doser mg/kg i.v.	n	Prosent bronkokonstriksjon	Prosent variasjon
Kontroll	-	8	79,8 +/- 3,22	-
Forb. fra	5	3	3,5 +/- 1,53	- 95,6***
	1	4	19,1 +/- 10,51	- 76,1***
	0,5	6	23,6 +/- 7,15	- 70,4***
Eksempel	0,1	6	43,8 +/- 14,77	- 45,1**
	0,05	3	79,0 +/- 9,27	- 1,0 NS
nr. 9				

For samtlige tabeller gjelder:

NS : Ikke Signifikant
 * : $p < 0,05$
 ** : $p < 0,01$
 *** : $p < 0,001$

Tabell nr. 2 : Effekt av 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolanbromid på PAF-indusert leukopeni.

	Doser mg/kg i.v.	n	Tid (min.)	Prosent senkning av leukocytt- antall	Prosent variasjon
Kontr.	-	8	1	40,8 +/- 7,18	-
		8	5	29,2 +/- 10,89	-
		8	10	33,5 +/- 5,04	-
Forb.	5	3	1	16,5 +/- 2,42	-59,6*
		3	5	15,9 +/- 0,99	-45,5NS
		3	10	18,7 +/- 5,08	-44,2NS
fra	1	4	1	3,5 +/- 12,60	-91,4**
		4	5	2,9 +/- 10,51	-90,1*
		4	10	1,0 +/- 22,62	-97,0**
Eks.	0,5	6	1	34,6 +/- 6,35	-15,2NS
		6	5	19,0 +/- 6,42	-34,9NS
		6	10	14,6 +/- 5,36	-56,4NS
nr. 9	0,1	6	1	41,8 +/- 6,50	+ 2,5NS
		6	5	31,9 +/- 4,88	- 9,2NS
		6	10	33,5 +/- 4,65	0,0NS
	0,05	3	1	45,3 +/- 5,70	+11,0NS
		3	5	21,6 +/- 3,42	-26,0NS
		3	10	14,2 +/- 17,30	-57,6NS

Tabell nr. 3 : Effekt av 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid på PAF-indusert trombocytopeni.

	Doser mg/kg i.v.	n	Tid (min.)	Prosent senkning av leukocyt- antall	Prosent variasjon
Kontr.	-	8	1	68,6 +/- 6,79	-
		8	5	42,4 +/- 2,71	-
		8	10	42,5 +/- 3,14	-
Forb. fra Eks. nr. 9	5	3	1	4,2 +/- 2,35	-93,9***
		3	5	5,6 +/- 1,84	-86,8***
		3	10	1,1 +/- 1,15	-97,4***
	1	4	1	11,5 +/- 6,21	-83,2***
		4	5	22,5 +/- 3,27	-46,9*
		4	10	21,0 +/- 3,87	-50,6*
	0,5	6	1	19,3 +/- 10,19	-71,9***
		6	5	9,6 +/- 12,15	-77,4***
		6	10	10,9 +/- 9,94	-74,4***
	0,1	6	1	30,1 +/- 13,72	-56,1**
		6	5	34,7 +/- 3,60	-18,2NS
		6	10	42,3 +/- 4,79	- 0,5NS
	0,05	3	1	45,2 +/- 1,20	-34,1NS
		3	5	43,0 +/- 4,80	+ 1,4NS
		3	10	36,1 +/- 2,41	-15,1NS

Tabell nr. 4 : Effekt av 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'(N-kinolinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid på PAF-indusert bronkokonstriksjon

	Doser mg/kg i.v.	n	Prosent bronkokonstriksjon	Prosent variasjon
Kontroll	-	6	90,8 +/- 0,95	-
Forb. fra	1	5	8,1 +/- 2,91	- 91,1***
Eksempel	0,5	5	25,1 +/- 6,53	- 72,4***
nr. 10	0,1	5	80,4 +/- 13,78	- 11,5NS

Tabell nr. 5 : Effekt av 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-kinolinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid på PAF-indusert leukopeni.

	Doser mg/kg i.v.	n	Tid (min.)	Prosent senkning av leukocyt- tall	Prosent variasjon
Kontr.	-	6	1	41,4 +/- 8,0	-
		6	5	28,7 +/- 6,9	
		6	10	26,9 +/- 10,1	
Forb. fra Eks. nr. 10	1	5	1	24,1 +/- 6,8	- 41,0 NS
		5	5	9,3 +/- 9,4	- 67,6 **
		5	10	8,9 +/- 13,2	- 66,9 **
	0,5	5	1	17,0 +/- 12,9	- 58,9*
		5	5	9,0 +/- 11,8	- 68,6**
		5	10	-7,6 +/- 17,5	+128,3NS
	0,1	5	1	38,8 +/- 6,3	+ 6,3NS
		5	5	38,9 +/- 5,7	+ 35,5NS
		5	10	41,2 +/- 6,5	+ 53,2NS

Tabell nr. 6 : Effekt av 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-kinolinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid på PAF-indusert trombocytopeni.

	Doser mg/kg i.v.	n	Tid (min.)	Prosent senkning av leukocytt- antall	Prosent variasjon
Kontr.	-	6	1	65,3 +/- 8,5	-
		6	5	49,1 +/- 4,8	
		6	10	48,5 +/- 0,5	
Forb. fra Eks. nr. 10	1	5	1	19,3 +/- 1,4	-58,3***
		5	5	22,1 +/- 2,5	-55,0**
		5	10	19,4 +/- 3,6	-60,0**
	0,5	5	1	26,2 +/- 6,3	-59,9**
		5	5	29,8 +/- 1,7	-39,3*
		5	10	32,1 +/- 5,8	-33,8*
	0,1	5	1	51,1 +/- 12,1	-21,7NS
		5	5	49,1 +/- 8,8	0 NS
		5	10	45,0 +/- 9,7	- 7,2NS

RESULTATER

2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid (0,5, 1 og 5 mg/kg i.v.) og 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-kinolinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid (0,5 og 1 mg/kg i.v.) hemmer PAF-indusert bronkokonstriksjon og PAF-indusert trombocytopeni i marsvin.

4) ANTIGEN-INDUSERT BRONKOKONSTRIKSJON, LEUKOPENI OG TROMBOCYTOPENI I MARSVIN PASSIVT SENSIBILISERT MED HETEROLOGT SERUM

Intravenøs injeksjon av ovalbumin i marsvin som var passivt sensibilisert med anti-ovalbumin antiserum fra kanin, induserer en bronkokonstriksjon sammen med en leukopeni og trombocytopeni. Denne anafylaktiske reaksjon skyldes tilsynelatende frigjøringen av histamin og dannelsen av arachidonsyre-metabolitter (prostaglandiner, tromboksan A_2 og leukotriener). I marsvin er frigjøringen av disse autacoider primært formidlet via immunoglobuliner av IgG-klassen.

Som forsøksdyr ble Hartley marsvin-hanner, Charles River (450-550 g) benyttet.

Immunisering ble oppnådd ved 18 timer før påvirkning med antigenet å injisere intravenøst 0,5 ml/kg av halv-fortynnet anti-ovalbumin antiserum fra kanin.

Irritamentet ble oppnådd ved:

Ovalbumin, 0,75 mg/kg,

Intravenøs injeksjon av antigenet i et sluttvolum på 1 ml/kg

Bæremiddel 0,15 M NaCl.

Forbindelsene ble gitt oralt i et volum på 2,5 ml/kg 1 time før antigen-irritamentet. Etter anestesi ved intraperitoneal injeksjon av etylkarbamat (1,5 g/kg) i et volum på 10 ml/kg.

Følgende parametere ble undersøkt:

a - Bronkokonstriksjon

Antigen-indusert bronkokonstriksjon i mm (A)

Maksimal bronkokonstriksjon i mm (B)

Den prosentuelle bronkokonstriksjon ble beregnet på følgende måte:

$$\frac{A \times 100}{B}$$

B

Neutrofile celler og blodplate-telling ble foretatt 1 minutt før og 1,5 og 10 minutter etter irritamentet. Forandringene i prosent ble beregnet på basis av de verdier som ble oppnådd 1 minutt for irritamentet.

Følgende utstyr ble benyttet:

Ugo Basile, Comerio Italia,

Rodent ventilator ref. 7025

Bronchospam transducer ref. 7020

To-kanals skriver "Gemini" ref. 7070

Coultronics, Frankrike,

Coulters Counter Z B I

Tabell nr. 7 : Effekt av 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid på antigen-indusert bronkokonstriksjon

	Dose mg/kg i.v.	n	Prosent bronkokonstriksjon	Prosent variasjon
Kontroll	-	6	71,9 +/- 14,2	-
Forb. fra Eks. nr. 9	5	8	51,3 +/- 14,2	- 28,7 NS

Tabell nr. 8 : Effekt av 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolanbromid på antigen-indusert leukopeni.

	Dose mg/kg i.v.	n	Tid (min.)	Prosent senkning av leukocyt- tall	Prosent hemming
Kontr.	-	6	1	-11,8 +/- 5,1	-
		6	5	-39,6 +/- 9,5	
		6	10	-53,9 +/- 7,1	
Forb.	5	8	1	-15,6 +/- 6,6	+32,0 NS
fra		8	5	- 8,7 +/-10,7	-78,0*
Eks. nr. 9		8	10	-12,3 +/-14,1	-77,2*

Tabell nr. 9 : Effekt av 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid på antigen-indusert trombocytopeni

	Dose mg/kg i.v.	n	Tid (min.)	Prosent senkning av leukocytt- antall	Prosent hemming
Kontr.	-	6	1	- 6,8 +/- 2,7	-
		6	5	-39,7 +/- 12,5	
		6	10	-26,1 +/- 8,1	
Forb.	5	8	1	+ 0,3 +/- 7,9	-104,4NS
fra		8	5	- 3,5 +/- 3,1	- 91,2**
Eks. nr. 9		8	10	-15,7 +/- 6,2	- 39,8NS

RESULTATER

2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid (5 mg/kg i.v.) antagoniserer antigen-indusert leukopeni og trombocytopeni uten å vesentlig redusere antigen-indusert bronkokonstriksjon.

5) VIRKNING AV PAF-INDUSERT HYPOTENSJON I ANESTETISERTE ROTTER
Sprague-Dawley-hannrotter (250-300 g) (Charles River Breeding Station) ble anestetisert med etylkarbamat i en dose på 1,2 g/kg i.p.

Intravenøs injeksjon av PAF forårsaker en doseavhengig hypotensjon. De kurative virkningene av 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid og 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-kinolinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid ble undersøkt overfor PAF-indusert hypotensjon. Hypotensjon ble forårsaket ved en enkelt dose PAF (1 mikrogram/kg) ved intravenøs injeksjon, direkte i vena penis i et volum på 0,1 ml/100 g. Medikamentene ble gitt under den maksimale hypotensjon, dvs. 3 minutter etter PAF-injeksjonen.

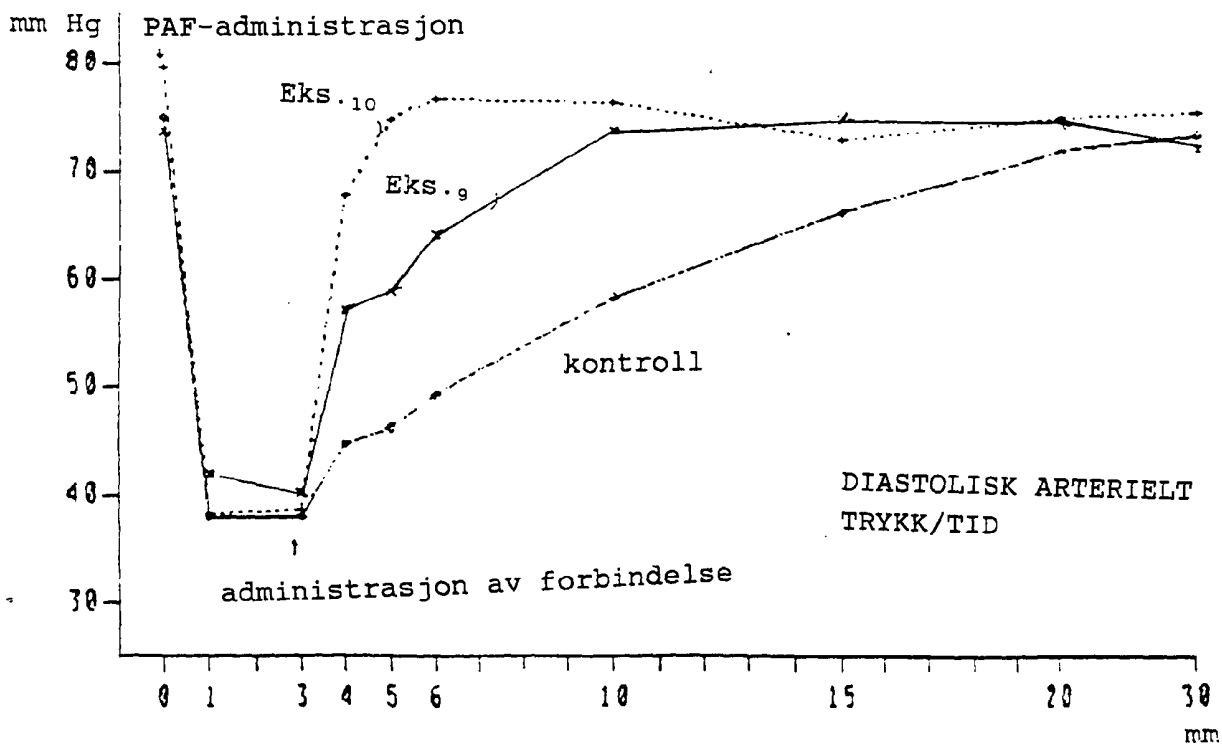
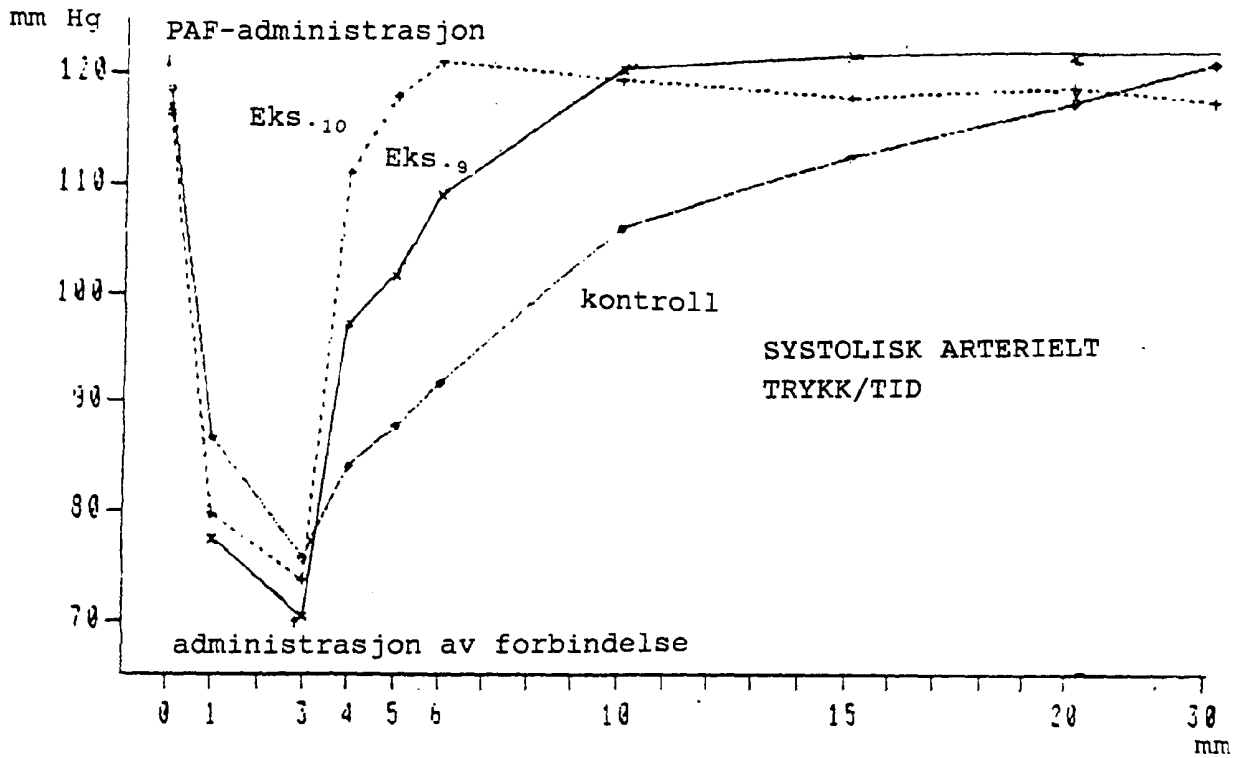
Det systoliske og diastoliske arterielle trykk (mmHg) ble målt. I de etterfølgende kurver er verdiene angitt som gjennomsnitt $\pm$ SEM.

Følgende måleapparater ble benyttet:

Gould P₅₀ transducer for å måle arterielt trykk,
Braun perfuser,
Gould 8000 S polygraphic recorder.

170632

29



6) ANTAGONISME AV DEN POLYMORFONUKLEÆRE LEUKOCYTT-AGGREGASJON
INDUSERT AV PAF.

Polymorfonukleære leukocytter (PMNs) ble oppnådd som beskrevet av A.W. Ford-Hutchinson & al., (Br. J. Pharmacol. 76, 367 - 371, 1982). Cellesuspensjoner (< 90% PMNs) ble fremstillet fra peritoneale eksudater oppnådd etter en 5 ml i.p. injeksjon av natrium-kaseinat 12% (vekt/volum) til Wistar hannrotter med 300 g legemsvekt.

Etter sentrifugering ble cellene vasket med Hanks-oppløsning og resuspendert i MEM/Hepes 30 mM medium (pH = 7,4) ved en konsentrasjon på 10^7 celler/ml. Cytochalasin B (5 mikrogram/ml) ble tilsatt 10 minutter før aggregasjonsutløsningen for å forsterke aggregasjonen av PMNs. Lystransmittansen i celleduspensjonen (400 mikroliter) ble målt under magnetisk omrøring med en hastighet på 900 rpm., med et dobbeltstråle-aggregometer (Cronolog Corp. Coultronics).

Kontrollkyvetten inneholdt celleduspensjonen fortynnet til 20% av celleantallet med MEM, og differansen representerer 100% transmittans. Transmittansforandringen som inntreffer når PAF tilsettes, ble kontinuerlig registrert.

Medikamenter oppløst i MEM/Hepes ble tilsatt (4 mikroliter) til PMNs-suspensjonen 2 minutter før PAF-tilsetningen.

RESULTATER

PAF 10^{-8} M induerte 55 til 70% aggregasjon av denne PMNs-suspensjonen.

2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid og 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-kinolinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid ga en dose-avhengig hemming av denne aggregasjon med følgende IC_{50} -verdier:

2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid : 5×10^{-7} M

2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-kinolinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid : 10^{-6} M

7) HEMMING AV INTRACYTOSOLISK FRI KALSIUM-MOBILISERING
INDUSERT AV PAF I VASKEDE BLODPLATER FRA KANIN

Blod fra kaninens ørearterie ble overført til sitronsyre/-natriumcitrat/dekstrose og antikoagulant, og de vaskede blodplater ble behandlet som beskrevet av Ardlie et al., Brit. J. Pharmacology, 19 7-17, 1970. Blodprøvene ble inkubert med acetylsalicylsyresalt (100 mikromol, 30 minutter) for å unngå tromboksan-indusert aggregasjon. De ble deretter ladet med den fluorescerende kalsium-indikator, farvestoffet Quin-2 ved inkubering med Quin-2/aceto-metyler (15 mikromolar i DMSO, 20 minutter ved romtemperatur) som penetrerer cellemembranen og etter hydrolyse fanges opp av blodplatene. Medikamentene ble preinkubert med blodplater i 15 minutter samtidig med CP/CPK-blanding som ødelegger utskilt ADP.

Fluorescensmålingene ble deretter foretatt (excitasjon $\lambda = 339$ nm, emisjon $\lambda = 492$ nm) etter PAF-tilsetning til blodplate-suspensjonen. Fluorescens-intensiteten er proporsjonal med det frie cytosoliske kalsiumnivå $[Ca^{2+}]_i$ som kan bestemmes som beskrevet av Tsien & al., J. Cell. Biol., 94, 325-334, 1982.

RESULTATER

Blodplate-stimulering indusert av PAF 2×10^{-9} M, øket $[Ca^{2+}]_i$ -nivået fra ca. 150 nM under hviletilstand til 400-600 nM.

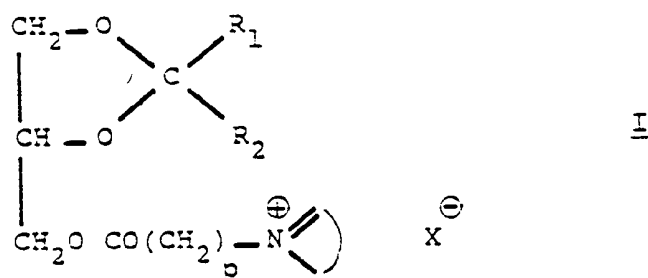
2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid og 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-kinolinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid i en konsentrasjon på 5×10^{-7} M hemmet totalt den PAF-induserte $[Ca^{2+}]_i$ -mobilisering. Ved 5×10^{-8} M var hemmingen av PAF-effekten henholdsvis 44% for 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-pyridinium)-heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid og 75% for 2-heptadekyl-2-metyl-4-[6'-(N-kinolinium)heksanoyloksymetyl]-1,3-dioksolan-bromid.

MEDIKAMENTERING

Human-terapeutisk utgjør daglige perorale doser fra 0,1 til 0,5 mg i form av tabletter eller kapsler med enterosolubil drasjering. Ved intravenøs administrasjon utgjør de tilsvarende døgndoser fra 0,01 til 0,05 mg. Behandlingen foretas vanligvis

P a t e n t k r a v

1. Analogifremgangsmåte for fremstilling av nye terapeutisk aktive aminoacylater av glycerolacetal med den generelle formel I



hvor

R_1 betyr en fenylgruppe som er substituert med én eller flere metoksygrupper, eller en gruppe med formel $\text{C}_m\text{H}_{2m+1}$, hvor m er et heltall fra 9 til 25,

R_2 betyr et hydrogenatom, en fenylgruppe eller en gruppe med formel $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$, hvor n er et heltall fra 1 til 10,

p er et heltall fra 3 til 10,



betyr en nitrogenholdig heterocyklisk gruppe valgt fra

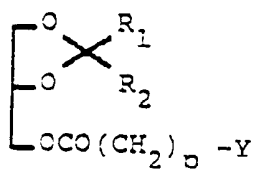
pyridinium, 3-tiazolinium, kinolinium, isokinolinium, imidazolium og pyrazinium, og

X^- står for anionet av en farmasøytisk akseptabel uorganisk eller organisk syre,

k a r a k t e r i s e r t v e d a t

et svakt støkiometrisk overskudd av et aldehyd eller keton med formel R_1COR_2 , hvor R_1 og R_2 er som ovenfor definert, omsettes

med glycerol i et upolart oppløsningsmiddel, i nærvær av p-toluensulfonsyre og under tilbakesløpsbetingelser, hvorpå det resulterende 4-hydroksymetyl-1,3-dioksolanderivat ved romtemperatur omsettes med et ω -halogenalkanoylchlorid med formel $\text{ClCO}(\text{CH}_2)_p\text{Y}$, hvor p er som ovenfor definert, og Y er halogen, i nærvær av en organisk base så som trietylamin, og den resulterende forbindelse med formel



omsettes med en nitrogenholdig heterocyklisk forbindelse med formel

 , ved 50-80°C under nitrogen-gjennomstrømning, og når X er forskjellig fra halogen, omdannes det tilsvarende hydrohalogenid til det ønskede formasøytisk akseptable salt på i og for seg kjent måte.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1 for fremstilling av en forbindelse med formel I hvor X^- står for et halogenidion eller et anion av benzoesyre, eddiksyre, metansulfonsyre eller vinsyre, k a r a k t e r i s e r t v e d at tilsvarende utgangsmaterialer anvendes.