NORGE
(19) [NO]

STYRET FOR DET
INDUSTRIELLE RETTSVERN

[B] (12) UTLEGNINGSSKRIFT (11) Nr. 158100

(51) Int. Cl.⁴ C 07 D 471/04

(21) Patentsøknad nr. 823732
(22) Inngivelsesdag 09.11.82
(24) Løpedag 09.11.82
(62) Avdelt/utskilt fra søknad nr.

(86) Internasjonal søknad nr. -
(86) Internasjonal inngivelsesdag -
(85) Videreføringsdag -
(41) Alment tilgjengelig fra 11.05.83
(44) Utlegningsdag 05.04.88

(71)(73) Søker/Patenthaver THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, 183-193 Euston Road, London N.W.1 2BP, England.

(72) Oppfinner WILLIAM RICHARD KING, Bickley, Kent, England.

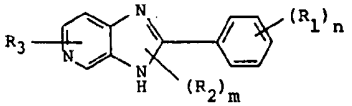
(74) Fullmektig Siv.ing. Lars Brevig, Bryns Patentkontor A/S, Oslo.

(30) Prioritet begjært 10.11.81, GB, nr. 8133930, 8133942, 12.05.82, GB, nr. 8213846.

(54) Oppfinnelsens benevnelse ANALOGIFREMGANGSMÅTE TIL FREMSTILLING AV TERAPEUTISK AKTIVE IMIDAZO [4,5-C]PYRIDINDERIVATER.

(57) Sammendrag

Forbindelser med formel (I') og preparater som inneholder slike forbindelser:



(I')

hvor hver R_1 uavhengig representerer et halogenatom, en hydroksy-, karboksyl- eller alkylgruppe, en alkenyloksy-, fenyl- eller fenylalkoksygruppe som eventuelt kan være substituert med ett eller flere halogenatomer; en amino-, mono- eller dialkylamino-, morfolino- eller piperazinogruppe; en gruppe med formelen $-S(O)_xR_a$ hvor x er 0, 1 eller 2 og R_a er en alkylgruppe; eller en alkoksygruppe som eventuelt kan være substituert med ett eller flere radikaler valgt fra hydroksy, alkoksy, amino, mono- eller dialkylamino, (fenylalkyl)amino, N,N-alkyl(fenylalkyl)amino og N,N-(alkoksyfenylalkyl)alkylamino; n er 1, 2 eller 3; m er 0 eller 1; R_2 er en alkylgruppe i 1- eller 3-stillingen på imidazoringen; R_3 representerer et hydrogen- eller halogenatom eller en hydroksy-, amino- eller alkyl- eller alkoksygruppe; samt fysiologisk akseptable syreaddisjonssalter derav og N-oksyder av slike forbindelser og salt av disse. Forbindelser med formel (I') innbefatter alternative tautomere former. Forbindelsene og preparatene kan brukes for behandling av mennesker og dyr, spesielt ved behandling eller profylakse i forbindelse med hjertesvikt eller utilstrekkelig blodtilførsel til hjertet.

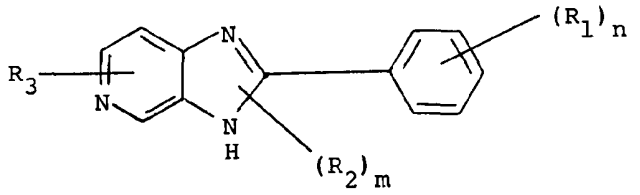
(56) Anførte publikasjoner Norsk (NO) patent nr. 139386.

Foreliggende oppfinnelse angår fremstilling av nye imidazo[4,5-c]pyridinderivater med positiv inotropisk aktivitet.

Hjerteglukosider såsom digoksin og sympatomimetika har vært brukt i mange år for behandling av hjertesvikt. Det er imidlertid velkjent at disse forbindelser har en rekke ulemper som begrenser deres anvendelse i praksis, f.eks. som beskrevet av Opie L.H., Drugs and the Heart V and VII, Lancet 1980, i, 912 og 1011, Editorial, Treatments for heat failure: Stimulation or unloading, Lancet 1979, ii, 777 og Braunwald E., Pharmacological treatment of cardiovascular disorders in Harrison's Principles of Internal Medicine, side 1064, redaktør Isselbacher et al McGraw - Hill, New York. En annen forbindelse som nylig har blitt foreslått for bruk ved behandling av hjertesvikt, er amrinon. Videre beskriver U.K. patent nr. 1.445.824 visse imidazo[4,5-b]pyridinderivater som i nevnte patent er angitt å ha positiv inotropisk aktivitet. Av disse forbindelsene er spesielt 2-[(2-metoksy-4-metylsulfinyl)fenyl]-1H-imidazo[4,5-b]pyridin beskrevet i patentet, og forbindelsen er ellers kjent under betegnelsen AR-L 115 BS eller Vardax, og har vært angitt i litteraturen.

Man har nå oppdaget at imidazo[4,5-c]pyridinderivater med formel (I) har fordelaktige inotropiske egenskaper som gjør at forbindelsene kan brukes for behandling av hjertesvikt samtidig som man unngår de problemer som er forbundet med tidligere foreslåtte inotropiske midler.

De nye terapeutisk aktive imidazo[4,5-c]pyridinderivatene som fremstilles ifølge oppfinnelsen, har den generelle formel:

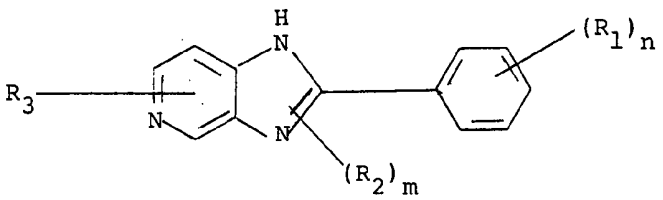


(I)

hvor n er 1, 2 eller 3; m er 0 eller 1; hver R_1 er uavhengig halogen, hydroksy, C_{1-4}alkoksy, C_{1-4}alkyl, C_{2-5}-alkenyloksy, fenyl, en gruppe $-S(O)_x-C_{1-4}$-alkyl hvor x er 0,1 eller 2, C_{1-4}-alkoksy-C_{1-4}alkoksy eller mono- eller di-(C_{1-4}-alkyl)-

amino-C_{1-4}-alkoksy; R_2 er C_{1-4}-alkyl i 1- eller 3-stillingen; og R_3 er hydrogen eller halogen; forutsatt at når n er 1, m er 0, og R_3 er hydrogen, så er R_1 ikke 4-metoksy, 2-hydroksy eller 3- eller 4-klor; og N-oksyder og farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter derav og syreaddisjonssalter av nevnte N-oksyder.

Det tør være innlysende at forbindelser med formel (I) også kan angis i den alternative tautomere form:



hvori R_1, R_2, R_3, n og m er som definert ovenfor. Når det således her refereres til forbindelser med formel (I), så innbefatter dette også den ovennevnte alternative tautomere form.

De forbindelser med formel (I) hvor R_1 er en 4-metoksy eller 4-dimetylaminogruppe, n er 1, m er 0, og R_3 er hydrogen, er beskrevet i USSR patent 566.842. Forbindelser med formel (I) hvor R_1 representerer et 3- eller 4-kloratom eller en 2-hydroksy- eller 4-aminogruppe, n er 1, m er 1 er 0, og R_3 er hydrogen, er beskrevet av R. W. Middleton og D. G. Wibberly, J. Heterocyclic. Chem. 17, 1957 (1980). En forbindelse med formel (I) hvor R_1 er en 2-aminogruppe, n er 1, m er 0, og R_3 er hydrogen, er beskrevet av Maskell et al. i J. Med. Chem., 1970, 13(4), 697. Det er i nevnte referanser ingen antydning eller forslag om at nevnte forbindelser kan brukes for terapeutisk behandling hverken hos mennesker eller hos dyr.

Forbindelsene med formel (I) innbefatter også syreaddisjonssalter av de definerte forbindelsene. Disse salter kan dannes ved protonering av ett eller flere av de basiske nitrogen-

atomer i forbindelser med formel (I). For terapeutisk anvendelse vil man ofte trenge fysiologisk akseptable syreaddisjonssalter, f.eks. et salt avledet av saltsyre, hydrobromsyre, fosforsyre, maleinsyre, eplesyre, fumarsyre, sitronsyre, svovelsyre, melkesyre eller vinsyre. Foreliggende oppfinnelse innbefatter imidlertid også fremstilling av andre syreaddisjonssalter som kan brukes for isolering, rensing eller karakterisering av de grunnleggende forbindelser med formel (I). Videre innbefatter oppfinnelsen N-oksydene av forbindelser med formel (I) og syreaddisjonssalter av slike oksyder.

I formel (I) kan f.eks. R_1 representere en metyl-, etyl-, allyloksy-, metyltio-, metylsulfinyl-, metylsulfonyl-, metoksy-, etoksy- eller en propoksygruppe. R_2 kan f.eks. representere en metyl- eller etylgruppe, mens R_3 representerer et hydrogen- eller halogenatom (f.eks. klor) eller en metyl-, etyl-, metoksy- eller etoksygruppe.

I definisjonene av R_1 og R_3 vil referanser til halogenatomer innbefatte fluor-, klor-, brom- og jodatomer.

Foretrukne forbindelser med formel (I) som har spesielt fordelaktig isotropisk aktivitet, innbefatter dem hvor R_3 representerer et hydrogenatom, m er 0 og/eller dem hvor n er 1, 2 eller 3.

Foretrukne R_1-grupper i forbindelse med formel (I) innbefatter halogenatomer (spesielt klor), C_{2-4} alkenyloksygrupper, da spesielt allyloksy, C_{1-4}-alkoksygrupper, da spesielt metoksy og etoksy, idet metoksy er spesielt foretrukket, og grupper med formelen $-S(O)_xR_a$ (hvor x er 0, 1 eller 2, fortrinnsvis 1, og R_a representerer en metyl- eller etylgruppe), da spesielt metylsulfinyl.

Spesielt foretrukne grupper av forbindelser med formel (I) innbefatter de hvor m er 0 og hvor R_3 fortrinnsvis representerer et hydrogenatom og:

(a) i det tilfelle hvor n er 1, så representerer gruppen R_1 en C_{1-4}-alkoksygruppe i 2- eller 4-stillingen eller en gruppe med formelen $-S(O)_xC_{1-4}$ alkyl i 2-stillingen, med unntak av metoksy i 4-stillingen;

(b) i det tilfelle at n er 2:
i) begge R_1-gruppene representerer C_{1-4}-alkoksygrupper i 2,4-, 2,5- eller 3,4-stillingene;
ii) én R_1-gruppe representerer en C_{1-4}-alkoksygruppe i 2-stillingen, mens den andre representerer et halogenatom eller en gruppe med formelen $-S(O)_xC_{1-4}$-alkyl i 4-stillingen; eller
iii) én R_1-gruppe representerer en C_{2-4}-alkenyloksygruppe i 2-stillingen mens den andre representerer en C_{1-4}-alkoksy eller $-S(O)_xC_{1-4}$-alkyl-gruppe i 4-stillingen;

(c) i det tilfelle hvor n er 3, så representerer R_1-gruppene alle C_{1-4}-alkoksygrupper i 2,3,4- eller 2,4,5-stillingene.

Forbindelser med formel (I) kan brukes som kardiotoniske midler ettersom man under in vitro- og in vivo-eksperimenter har funnet at de gir en positiv inotropisk effekt i lave konsentrasjoner, slik det vil bli beskrevet i de etterfølgende prøver. Eksperimenter in vivo har også indikert at disse effekter varer lenge og er fulgt av en vasodilatorisk effekt. Den siste kan være meget fordelaktig ved behandling av hjertesvikt for å motvirke den markerte vasokonstriksjon som ofte opptrer sammen med denne tilstand.

Fra in vitro- og in vivo-eksperimenter fremgår det også at den postive inotropiske stimulering som forårsakes av disse forbindelser, er uavhengig av de myokardiale β-adrenoreseptorer, mens det har vært antydet at i det minste en del av den positive inotropiske stimulering som forårsakes av den forannevnte forbindelsen Vardax, skyldes en stimulering av nevnte myokardiale β-adrenoseptorer (Brutsaert et al., 1982, J. Cardiovasc. Pharmacol. 4, 333-43, Pouleur et al, 1982, J. Cardiovasc. Pharmacol. 4, 409 - 18).

En ytterligere fordel ved forbindelser med formel (I) er at de ikke viser noen signifikant myokardial fosfodiesterase-hemmende aktivitet. Dette står i kontrast til angivelser for Vardax som er en effektiv hemmer av myokardial fosfodiesterase (Diederan og Wiesenberger, 1981, Drug Res. 31(1), 177 - 82). Fosfodiesteraseenzymer finnes i hele

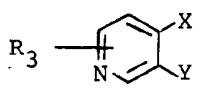
kroppsvevet og tilførsel av en hemmer som tilsynelatende er ikke-spesifikk, kan resultere i en hemming av fosfodiesterase på andre steder i myokardiet, noe som rent klinisk sett er meget uønsket.

Stimuleringen av de myokardiale β-adrenoseptorer resulterer i en økning av det intracellulære cAMP-nivå, noe som også skjer ved eh hemming av den myokardiale fosfodiesterase. Den resulterende positive inotropiske effekt man derved får, er således direkte bundet til et øket nivå av cAMP, og en inotropisk stimulering som således er basert på én av disse to mekanismer kan således kritiseres av samme årsak. Begge mekanismer vil kunne fremme myokardial lokal blodmangel på grunn av et økende behov for myokardialt oksygen, noe som skyldes deres positive kronotropiske effekter, og de kan i tillegg frembringe arrytmi. I eksperimentelle undersøkelser har man funnet at 2-(2-metoksy-4-metylsulfinylfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin ikker forverrer en myokardial skade etter en selektiv ombinding av hjertearterien in vivo. Videre vil sistnevnte forbindelse ikke øke den ventrikulære følsomheten overfor arrytmi i det blodfattige hjertet.

Forbindelser med formel (I) har også en hemmende effekt på blodplatesammenklebing, og dette vil lette behandlingen av hjertesvikt ved at man får en viss beskyttelse mot effekter av blodplatenes virkning i myokardiet, spesielt etter hjerteinfarkt.

Ifølge foreliggende oppfinnelse fremstilles forbindelsene med formel (I) ved at man

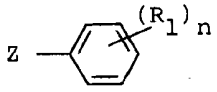
a) omsetter en forbindelse med formel:



(II)

hvor R_3 har den ovenfor angitte betydning, X og Y som kan være like eller forskjellige, hver er en aminogruppe, en gruppe $-NHR_2$ hvor R_2 har den ovenfor angitte betydning, eller et erstattbart radikal, forutsatt at X og Y ikke begge representerer erstattbare radikaler eller grupper

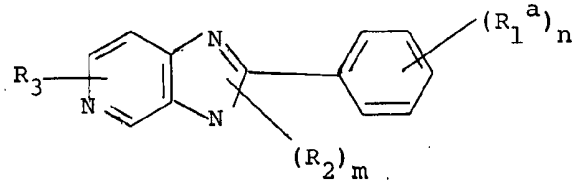
$-NHR_2$, med en forbindelse med formelen:



(III)

hvor R_1 og n har de ovenfor angitte betydninger, og Z er en gruppe, f.eks. en karboksylgruppe, aldehydgruppe o.l., som kan reagere med gruppene X og Y (i rekkefølge eller samtidig) for dannelse av et imidazo-ringsystem med etterfølgende dannelse av en forbindelse med formel (I) eller et syreradikalsalt derav, eller

b) for fremstilling av en forbindelse hvor minst en av R_1 er mono- eller di(C_{1-4}-alkyl)amino-C_{1-4}-alkoksy, omsetter en forbindelse med formelen:



(IV)

hvor R_2 og R_3, n og m har de ovenfor angitte betydninger, og minst en av gruppene R_1^a er halogen-C_{1-4}-alkoksy og den eller de andre R_1^a-gruppene er som for R_1, med et mono- eller di(C_{1-4}-alkyl)amin, eller

c) i forbindelser for R_1 er $-S(O)_x-C_{1-4}$-alkyl og x er 0 eller 1, oksyderer denne til forbindelser hvor x er henholdsvis 1 eller 2,

og, om ønsket, omdanner en oppnådd forbindelse til et N-oksyd eller et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt derav eller et syreaddisjonssalr av nevnte N-oksyd.

Forbindelser med formel (I) og deres syreaddisjonssalter og N-oksyder kan fremstilles ved hjelp av enhver hensiktsmessig fremgangsmåte, f.eks. ved hjelp av de fremgangsmåter som er beskrevet i de ovennevnte referanser.

Reaksjonen i fremgangsmåte a) kan eventuelt utføres

i et oppløsningsmiddel, f.eks. et organisk oppløsningsmiddel som etylenglykol, hensiktsmessig ved en forhøyet temperatur, dvs. opp til kokepunktet for reaksjonsblandingen.

Ifølge en foretrukken utførelse av ovennevnte fremgangsmåte a) så kan en forbindelse med formel (II) hvor R_3 er som definert ovenfor, og enten X og Y eller begge representerer aminogrupper eller én av gruppene X og Y representerer en aminogruppe mens den andre representerer en gruppe med formelen $-NHR_2$, omsettes med en forbindelse med formel (III) hvor R_1 og n er som definert ovenfor og Z er en karboksyl-, tiokarboksyl- eller ditiokarboksylgruppe eller en funksjonell ekvivalent av en slik forbindelse (f.eks. et syrehalogenid, et syreanhydrid, amid, tioamid, imidat, tioimidat eller ester av en slik forbindelse) eller et aldehyd eller et nitril av en slik forbindelse.

Når man bruker en forbindelse med formel (III) hvor Z representerer en fri karboksylsyregruppe, bør reaksjonen med fordel utføres i nærvær av et dehydratiseringsmiddel såsom fosforoksyklorid. Alternativt kan reaksjonen utføres i nærvær av en polyfosforsyre.

Når man bruker en forbindelse med formel (III) hvor Z representerer et syrehalogenid, så bør reaksjonen med fordel gjennomføres i nærvær av et syrebindingsmiddel, f.eks. en tertiær base såsom trietylamin.

Når man bruker et nitril av en forbindelse med formel (III), så bør reaksjonen utføres i nærvær av en syre, f.eks. en p-toluensulfonsyre eller polyfosforsyre.

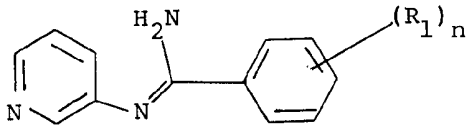
Alternativt kan man bruke en forbindelse med formel (III) hvor Z representerer en aldehydgruppe og i slike tilfeller bør reaksjonen gjennomføres som f.eks. beskrevet av R. Weidenhagen et al., Chem. Ber. 1942, 75, 1936, eller i USSR patent nr. 566.842. Ved f.eks. å følge den fremgangsmåte som er beskrevet i sistnevnte patent, så kan en forbindelse med formel (II) hvor X og Y begge representerer aminogrupper omsettes med en aldehydforbindelse med formel (III) i nærvær av svovel.

I ett eksempel av den foretrukne utførelse ovenfor, kan forbindelsen med formel (II) omsettes med et tioamid av en forbindelse med formel (III), f.eks. et tiomorfolid, og

dette bør fordelaktig anvendes i form av et kvaternisert produkt, f.eks. et passende S-metyltiobenzylmorfolidjodid. Alternativt kan forbindelsen med formel (III) brukes i form av et morfolid.

En annen foretrukken utførelse av fremgangsmåte a) innbefatter at man omsetter en forbindelse med formel (II) hvor R_3 er som definert ovenfor, og én av gruppene X og Y representerer et halogenatom mens den andre representerer en aminogruppe eller en gruppe med formelen $-NHR_2$ hvor R_2 er som definert ovenfor, med en forbindelse med formel (III) hvor R_1 og n er som definert ovenfor, og Z representerer en aminogruppe eller en NHR_2- inneholdende gruppe avledet fra karboksylgruppe, f.eks. en H_2NCO-gruppe.

I fremgangsmåte a) kan Z-gruppen i forbindelsen med formel (III) omsettes med gruppene X og Y i forbindelsen med formel (II), dvs. med en første dannelse av en forbindelse med følgende formel:



(VII)

hvor R_1 og n er som definert ovenfor som deretter kan cykliseres, f.eks. ved behandling med blytetraacetat, hvorved man får dannet en forbindelse med formel (I).

Forbindelser med formel (I) hvor R_1 representerer en C_{1-4}-alkylsulfinyl- eller -sulfonylgruppe fremstilles ved en oksydasjon som i fremgangsmåte c) idet man bruker hydrogenperoksyd og organiske persyrer eller brom eller én av dets addisjonsforbindelser, f.eks. et alkalimetallhypobromitt, slik det er beskrevet i DE-OS 3.044.497 av den tilsvarende C_{1-4}-alkyltioforbindelsen.

Syreaddisjonssalter av forbindelser med formel (I) kan fremstilles på vanlig kjent måte, f.eks. ved at man behandler den frie basen med en passende syre. N-oksydene av forbindelsene med formel (I) kan også fremstilles på vanlig kjent måte, f.eks. ved at man oksyderer den frie base med et passende oksydasjonsmiddel, f.eks. m-klorperbenzosyre.

De følgende eksempler illustrerer oppfinnelsen.

Eksempel 1

2-(2,4-dimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin

En blanding av 2,5 g 2,4-dimetoksybenzosyre og 1,5 g 3,4-diaminopyridin ble malt til et fint pulver og porsjonsvis tilsatt 50 ml fosforoksyklorid under røring. Blandingen ble rørt og oppvarmet med koking under tilbakeløp i 2,5 timer før overskuddet av fosforoksyklorid ble fjernet i vakuum. Residuet ble avkjølt, 20 ml vann ble tilsatt og pH justert til 7 med ammoniumhydroksyd, hvorved man fikk utfelt et blekt gult fast stoff som ble frafiltrert, vasket med vann og tørket. Produktet ble omkrystallisert to ganger fra vandig etanol, hvorved man fikk et kremfarget krystallinsk fast stoff med smeltepunkt 195 - 198°C.

Analyse:

Beregnet for: C 65,88 H 5,09 N 16,47

Funnet: C 65,70 H 5,15 N 16,05

Strukturen ble bekreftet ved hjelp av NMR- og MS-data.

Eksempel 2

2-(4-metoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid

En blanding av 1,5 g 3,4-diaminopyridin ig 2,1 g 4-metoksybenzosyre ble malt til et pulver og porsjonsvis tilsatt 50 ml fosforoksyklorid under omrøring.

Blandingen ble kokt under tilbakeløp i 2,5 timer før overskuddet av oksyklorid ble fjernet i vakuum. Residuet ble avkjølt, 20 ml vann tilsatt og pH justert til 7 med 1N NaOH, hvorved man fikk et blekgult fast stoff som ble frafiltrert, vasket med vann og tørket. Omkrystallisering fra vandig etanol ga 1,06 g av et blekgult krystallinsk stoff.

Produktet ble oppløst i 30 ml varm aceton, og uoppløselige stoffer fjernet ved filtrering. Filtratet ble behandlet med HCl-holdig eter, hvorved man fikk utfelt di-

hydrokloridsaltet som ble frafiltrert, vasket med tørr eter og tørket, smeltepunkt 263 - 266°C.

Eksemplene 3 - 22

På analog måte som beskrevet i eksempel 1, ble følgende forbindelser fremstilt:

3) 2-(3,4,5-trimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid, smeltepunkt 250 - 254°C.
4) 2-(2-metoksy-4-metyltiofenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid, smeltepunkt 205 - 206°C.
5) 2-(2,3,4-trimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid, smeltepunkt 250 - 252°C (dekomp.).
6) 2-(2-metylaminofenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid, smeltepunkt 218 - 221°C.
7) 2-(2-metoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid, smeltepunkt 190 - 194°C.
8) 2-(3,4-dimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid, smeltepunkt 262°C (dekomp.).
9) 2-(3,4-dietoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid, smeltepunkt 259 - 260°C.
10) 2-(2-metoksy-4-klorfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid, smeltepunkt 185 - 191°C.
11) 2-(2-propyloksy-4-metoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid, smeltepunkt 228 - 231°C.
12) 2-(2,4-dimetylfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin, smeltepunkt 108 - 112°C og hydrokloridet derav, smeltepunkt 288 - 292°C.
13) 2-[2-(2-metoksyetoksy)-4-metoksyfenyl]-1H-imidazo[4,5-c]-pyridin, smeltepunkt 130 - 132°C og hydrokloridet derav, smeltepunkt 211 - 214°C.

Eksempel 14

2-(2-metoksy-4-metylsulfinylfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin

En blanding av 20 ml eddiksyre, 6 ml vann og 30% hydrogenperoksyd (2,5 ekvivalenter) ble under røring ved romtemperatur i porsjoner tilsatt 1,5 g av forbindelsen fra eksempel 4. Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 2 timer og så hensatt over natten ved 4°C. Tynnsjiktkromatografi indikerte da at reaksjonen var ferdig. Blandingen

ble så helt over i 25 ml vann som ble gjort basisk med 0,88M ammoniakk, og deretter ekstrahert med kloroform. Det organiske ekstraktet ble tørket, avfarget og fordampet i vakuum, hvorved man fikk et skum som ble utkrystallisert fra etylacetat og aceton, noe som ga tittelforbindelsen med et smeltepunkt på 202 - 204°C.

Med en alternativ syntesevei ble tittelforbindelsen også fremstilt på følgende måte:

En rørt og avkjølt suspensjon bestående av 18 g av forbindelsen fra eksempel 4 og 1 ekvivalent natriumacetat i iseddik ble tilsatt 3,2 ml brom i iseddiks på en slik måte at temperaturen ble holdt under 5°C. Blandingen ble helt over i 100 g knust is, og pH justert til 9 med 0,88M ammoniakk. Oppløsningen som inneholdt noe brune faste stoffer ble mettet med natriumklorid og ekstrahert med fire ganger 300 ml kloroform. De samlede kloroformekstrakter ble tørket og avfarget med animalsk trekull og fordampet i vakuum til et skum som ved behandling med eter ga tittelproduktet.

Eksempel 15

2-(2-metoksy-4-metylsulfinylfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid

Forbindelsen fra eksempel 14 ble suspendert i eter og tørr hydrogenkloridgass ble boblet gjennom suspensjonen i ca. 2 minutter. De uoppløselige faste stoffer ble frafiltrert og tørket, hvorved man fikk tittelforbindelsen som et hvitt fast stoff, smeltepunkt 153 - 155°C.

Eksempel 16

2-(2,5-dimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid

2,5-dimetoksybenzaldehyd, morfolin og svovel ble oppvarmet i 3 timer ved 120°C. Den faste blandingen smeltet til en væske. Rreaksjonsblandingen ble så avkjølt og oppløst i varm metanol. Ved avkjøling av metanoloppløsningen fikk man utfelt fast tioforfolid og dette ble frafiltrert og tørket.

Produktet ble så kokt under tilbakeløp i ca. 2 timer i aceton i 1,2 ekvivalenter metyljodid. Aceton ble så fjernet i vakuum, hvorved man fikk en brun viskøs olje (tiomofolidmetjodid) og dette ble blandet med 3,4-diaminopyridin i etylenglykol og blandingen holdt på 120°C i 2 timer. Den ble så fortynnet med vann og det faste stoff frafiltrert, suspendert i vann og gjort basisk med 0,88N ammoniakk. Det faste stoff ble frafiltrert, tørket og omdannet til dihydrokloridsaltet, smeltepunkt 188 - 190°C (dekomponering).

Eksempel 17

2-(2,4-dimetoksy-3-metyltiofenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid

Tittelforbindelsen ble fremstilt på analog måte til det som er angitt i eksempel 16, smeltepunkt 205 - 207°C.

Eksemplene 18 - 22

De følgende forbindelser:

18) 2-(4-bifenyl-4-yl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-1,5-hydroklorid, smeltepunkt 352 - 355°C,
19) 2-(2,4-diklorfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid, smeltepunkt 230 - 232°C,
20) 2-(2-metyltiofenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid, smeltepunkt 158 - 160°C,
21) 2-(3-metyltiofenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid, smeltepunkt 123,5 - 125°C,
22) 2-(4-metyltiofenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid, smeltepunkt 301 - 303°C,

ble fremstilt ved hjelp av følgende fremgangsmåte:

Et passende diaminopyridin ble pulverisert med en passende substituert benzosyre, og blandingen ble porsjonsvis tilsatt polyfosforsyre. Reaksjonsblandingen ble holdt på 180°C i 3 timer. Den ble så avkjølt i is og det utfelte faste stoff ble frafiltrert, suspendert i vann og nøytralisert med med 0,88N ammoniakk. Det faste stoff ble frafiltrert, tørket og omdannet til hydrokloridsaltet.

Eksempel 23

2-(2-metoksy-4-metylsulfonylfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin og dens hydroklorid

2-(2-metoksy-4-metyltiofenyl)-1H-imidazo[4,5-c]-pyridin ble porsjonsvis tilsatt en rørt oppløsning av 30% hydrogenperoksyd i iseddik og vann. Den klare brune oppløsningen ble så holdt på 70°C i 3 timer. Tynnsjiktkromatografi indikerte da at reaksjonen var fullstendig. Blandingen ble fordampet i vakuum, og residuet ble renset ved kolonnekromatografi, hvorved man fikk den frie basen med smeltepunkt 225 - 227°C. Denne ble så suspendert i metanol og tørr hydrogenkloridgass ble boblet gjennom oppløsningen. Det faste stoff ble frafiltrert og tørket til hydrokloridet, smeltepunkt 221 - 223°C (dekomp.).

Eksempel 24

2-(2-hydroksy-4-metyltiofenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid

2-(2-metoksy-4-metyltiofenyl)-1H-imidazo[4,5-c]-pyridin ble suspendert i tørr diklormetan, og en oppløsning av 3 ekvivalenter bortribromid i tørr diklormetan ble langsomt tilsatt ved romtemperatur. Blandingen ble kokt under tilbakeløp i 5 timer og så helt over i vann og gjort basisk med 0,88N ammoniakk. Oppløsningen ble så ekstrahert med kloroform. Tynnsjiktkromatografi indikerte at produktet var i det vandige lag som så ble fordampet til et lite volum, hvorved man fikk utfelt et brunt stoff. Dette ble ekstrahert over i varm metanol og avfarget og fordampet, hvorved man fikk et brunt fast stoff som ble omdannet til dihydrokloridet, smeltepunkt 297 - 300°C.

Eksempel 25

2-(3-metyltio-4-metoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid

3-metyltio-4-metoksybenzosyre (fremstilt ved en diazotering av 3-amino-4-metoksybenzosyre, fulgt av en behandling med metylmerkaptan) ble suspendert i tørr toluen og 1

ekvivalent tionylklorid ble langsomt tilsatt. Blandingen ble så kokt under tilbakeløp i 3,5 timer. Tynnsjiktkromatografi indikerte da at reaksjonen var fullstendig. Oppløsningsmidlet ble fordampet i vakuum, hvorved man fikk et mørekbrunt residuum.

Det fremstilte syrekloridet ble suspendert i en minimal mengde tørr eter og prosjonsvis tilsatt en suspensjon av 1 ekvivalent 3,4-diaminopyridin i tørr pyridin og trietylamin. Den resulterende blandingen ble kokt under tilbakeløp i 5 timer. Tynnsjiktkromatografi indikerte da at reaksjonen var fullstendig.

Den avkjølte reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom hyflo og filtratet fordampet i vakuum. Residuet ble behandlet med eter og så oppløst i metanol. Det faste stoff ble frafiltret og metanolfiltratet ble fordampet under redusert trykk, noe som ga en viskøs olje. NMR indikerte at denne i alt vesentlig besto av det intermediære amid. Oljen ble oppløst i etylenglykol og oppløsningen holdt på 200°C i 4 timer. Tynnsjiktkromatografi indikerte at reaksjonen var fullstendig.

Den avkjølte reaksjonsblandingen ble helt over i vann. Man fikk utfelt et hvitt fast stoff og dette ble frafiltrert og tørket. Det ble så behandlet med etylacetat og eter, noe som ga et fast stoff som ble omdannet til dihydrokloridet, smeltepunkt 275 - 277°C.

Eksempel 26

2-(3-metylsulfinyl-4-metoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin

Den forbindelsen som ble fremstilt som beskrevet i eksempel 25, ble oksydert ved hjelp av 2 ekvivalenter hydrogenperoksyd som beskrevet i eksempel 14. Tittelforbindelsen var et hvitt fast stoff og hadde et smeltepunkt på 227 - 229°C.

Eksempel 27

2-(3-metylsulfinylfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid

Forbindelsen fra eksempel 21 ble oksydert ved hjelp av fremgangsmåten fra eksempel 15 til tittelforbindelsen som et hvitt fast stoff, smeltepunkt 250 - 252°C.

Eksempel 28

2-(2-allyloksy-4-metoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid

a) 2-allyloksy-4-metoksybenzoylmorfolid

En rørt oppløsning av 2-allyloksy-4-metoksybenzoylklorid (14 g) i tørr toluen ble tilsatt 12 ml morfolin og røring fortsatt i 1 time.

Toluen ble fjernet under redusert trykk, hvoretter 20 ml 2N saltsyre ble tilsatt residuet og blandingen ekstrahert med etylacetat. De samlede ekstrakter ble vasket suksessivt med natriumbikarbonatoppløsning og vann og så tørket over magnesiumsulfat før filtrering og fordampning, hvorved man fikk en gul olje. (Renheten ble fastslått ved tynnsjiktkromatografi og strukturen bekreftet med NMR.)

b) 2-(2-allyloksy-4-metoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid

En blanding av 9 g 2-allyloksy-4-metoksybenzoylmorfolid og 3,9 g 3,4-diaminopyridin ble dråpevis under røring tilsatt 16,5 ml fosforoksyklorid.

Blandingen ble kokt under tilbakeløp i 3 timer før overskuddet av fosforoksyklorid ble fjernet undet redusert trykk. 50 ml vann ble tilsatt residuet, og oppløsningen gjort alkalisk med ammoniakk før ekstraksjon med kloroform. De samlede ekstrakter ble tørket over magnesiumsulfat før filtrering og så fordampet, noe som ga et beigefarget stoff som ble renset ved kolonnekromatografi (silisiumdioksydgel; kloroform/metanol, 19:1), noe som ga den frie basen med et smeltepunkt på 123 - 125°C. Denne ble så oppløst i aceton og behandlet med saltsyreholdig eter, hvorved man fikk utfelt hydrokloridsaltet, smeltepunkt 175 - 180°C (dekomp.).

Eksempel 29

2-(2,4-dimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-N^5-oksyd-hydrat

En oppløsning av 2 ekvivalenter av m-klorperbenzosyre i metylenklorid ble ved romtemperatur tilsatt 2-(2,4-dimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin. Etter røring i 1

time ble den gule oppløsningen kokt under tilbakeløp i ytterligere 3 timer. Den ble så konsentrert og kromatografert direkte på silisiumdioksydgel og produktet eluert med blandinger av kloroform og metanol. En omkrystallisering fra etanol og petroleter ga tittelforbindelsen med et smeltepunkt på 224 - 225°C (dekomp.).

Eksempel 30

2-(2,4-dimetoksyfenyl)-4-klor-1H-imidazo[4,5-c]pyridin

En suspensjon i fosforoksyklorid av N-oksydet fremstilt som beskrevet i eksempel 29 ble rørt ved 80°C i 3 timer. Overskudd av fosforoksyklorid ble så fjernet i vakuum, og residuet delt mellom kloroform og fortynnet ammoniumhydroksyd. Etter tørking av den organiske fasen over magnesiumsulfat ble oppløsningsmidlet fordampet, og residuet omkrystallisert fra vandig etanol, smeltepunkt 203 - 204°C.

Eksempel 31

3-metyl-2-(2,4-dimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin og dens hydroklorid

En blanding av 2,4-dimetoksybenzosyre og 3-metylamino-4-aminopyridin (fremstilt fra 3-brom-4-nitropyridin-N-oksyd og metylamin fulgt av en reduksjon) i fosforoksyklorid ble kokt under tilbakeløp i 4 timer. Etter avkjøling ble det faste stoff behandlet med eter og så delt mellom kloroform og mettet natriumbikarbonat. Etter tørking over magnesiumsulfat ble oppløsningsmidlet fordampet, og residuet kromatografert på silisiumdioksydgel. En omkrystallisering fra benzen og petroleter ga tittelbasen med et smeltepunkt på 162 - 163°C. En acetonoppløsning av basen ble behandlet med HCl-holdig eter, noe som ga hydrokloridet med et smeltepunkt på 235 - 237°C.

Eksempel 32

1-metyl-2-(2,4-dimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin og dens dihydroklorid

Tittelbasen ble fremstilt fra 4-metylamino-3-aminopyridin (fremstilt fra 4-klor-3-nitropyridin og metylamin fulgt av en reduksjon) og 2,4-dimetoksybenzosyre i fosforoksyklorid som beskrevet i eksempel 31. Produktets smeltepunkt

var 180 - 181°C. En acetonoppløsning av basen ble behandlet med HCl-holdig eter, noe som ga tittel-hydrokloridet, smeltepunkt 225 - 227°C.

Eksempel 33

2-(3,4-dihydroksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid

2-(3,4-dimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin ble kokt under tilbakeløp i iseddik og 48% HBr i 8 timer. Etter avkjøling ble bunnfallet frafiltrert og omkrystallisert fra 2N saltsyre, noe som ga tittelforbindelsen, smeltepunkt 320 - 323°C (dekomp.).

Eksempel 34

2-[4-metoksy-2-(3-dimetylaminopropoksy)fenyl]-pyridin-hydroklorid

a) 2-[4-metoksy-2-(3-klorpropoksy)fenyl]-1H-imidazo[4,5-c]-pyridin

En blanding av 3,4-diaminopyridin og 2-(3-klorpropolsy)-4-metoksybenzosyre i fosforoksyklorid ble kokt under tilbakeløp i 4 timer. Overskuddet av fosforoksyklorid ble så fjernet i vakuum, og residuet forsiktig behandlet med vann før det ble gjort basisk med fortynnet ammoniumhydroksyd og så ekstrahert med kloroform. Råproduktet ble så oppløst i etylacetat, avfarget med trekull og behandlet med HCl-holdig eter, noe som ga tittelforbindelsen, smeltepunkt 174 - 176°C.

b) 2-[4-metoksy-2-(3-dimetylaminopropoksy)fenyl]-1H-imidazo-[4,5-c]pyridin-hydroklorid

En oppløsning av forbindelsen fremstilt under trinn a) i 33% dimetylamin/etanol ble rørt ved 100°C i 8 timer. De flyktige forbindelsene ble så fjernet i vakuum, og residuet delt mellom kloroform og mettet natriumbikarbonat. Etter tørking på magnesiumsulfat ble oppløsningsmidlet fordampet, og residuet omkrystallisert fra benzen og petroleter, noe som ga tittelbasen. Etanoloppløsningen av basen ble behandlet med HCl-holdig eter, noe som ga tittel-hydrokloridet som et hydrat, smeltepunkt 206 - 208°C.

Eksempel 35

2-[4-metoksy-2-(3-isopropylaminopropoksy)fenyl]-1H-imidazo-[4,5-c]pyridin-hydroklorid

Den ovennevnte forbindelsen ble fremstilt ved å reagere produktet fra trinn a) i eksempel 33 og isopropylamin i etanol ved 100°C i 8 timer som beskrevet under trinn b) i eksempel 34. Produktet hadde et smeltepunkt på 217 - 219°C (hydrat).

Eksempel 36

2-[4-metoksy-2-(3-tert.butylaminopropoksy)fenyl]-1H-imidazo-[4,5-c]pyridin-hydroklorid

Den ovennevnte forbindelsen ble fremstilt ved å reagere produktet fra trinn a) i eksempel 34 og tert-butylamin i etanol ved 100°C i 8 timer som beskrevet under trinn b) i eksempel 34. Smeltepunkt 252 - 253°C (hydrat).

Eksempel 37

2-(2,4,5-trimetoksyfenyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-dihydroklorid

Forbindelsen ble fremstilt på analog måte til det som er beskrevet i eksempel 1, smeltepunkt 258 - 260°C.

Eksempel 38

2-(2-metylsulfinyl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-hydroklorid

Denne forbindelsen ble fremstilt fra forbindelsen i eksempel 20 på samme måte som beskrevet i eksempel 14. Smeltepunkt 243 - 245°C.

Biologisk aktivitet

Bestemmelse av in vitro-inotropisk aktivitet

Marsvin-hanner (Halls 275 - 350 g) ble gitt fri adgang til mat og vann og ble så drept med et slag på hodet. Hjertet ble raskt skåret ut og vasket med en Krebs-Henesleit-oppløsning inneholdende β-adrenoseptorantagonisten karazolol (5×10^{-8} M) og gasset med 95% O_2: 5% CO_2 ved 34°C. Hjertet ble så overført til en petriskål inneholdende samme buffer holt på en konstant temperatur (34°C) under den etterfølgende disseksjon. Frisk buffer ble brukt for hver disseksjon og vaskeoppløsningene ble kastet etter bruk. Fra hvert hjerte brukte man en enkelt høyre ventrikulær

papillær muskel, og seneenden ble festet til en krok av rustfritt stål mens den andre enden ble skåret vekk fra ventrikkelveggen og festet til en perspexklype slik at vevet var i kontakt med en platinapunktelektrode. Kroken av rustfritt stål var festet til en en arm fra en Grass FT.03-transduser, som målte den isometriske spenningen. Preparatet ble plassert i et 20 ml pyrex organbad inneholdende buffer gasset med 95% O_2: 5% CO_2 og holdt på 34°C. 500 mg belastningsspenning ble så påsatt preparatet. Stimulering ble utført ved hjelp av såkalte rektangulære pulser med en varighet av 1 millisekund ved 1,5 Hz ved en verdi som lå 30% over terskelspenningen (1 - 5 volt) ved hjelp av en SRI-stimulator. Inngangsverdiene på transduseren ble koplet til en potensiometrisk avlesningsanordning ved hjelp av en 6-kanal Grass transduserkopler. Etter 90 minutter kastet man de preparater som ikke var istand til å opprettholde ensartede sammentrekninger utover denne tidsperiode. Etter å ha observert både en stabil basislinje og sammentrekningskraften (vanligvis i løpet av 1 kvarter) så utførte man tilsetninger av prøveforbindelsene på en kumulativ måte i intervaller på 0,5 log $_{10}$- enheter i et område fra 10^{-9}-molar til over 10^{-3}-molar (sluttbadkonsentrasjonen) eller oppløselighetsgrensen når denne var større.

De følgende forbindelser ble prøvet og man fant i det angitte konsentrasjonsområdet at de hadde positiv inotropisk aktivitet og var istand til å utløse minst 75% økning av den basale sammentrekningskraften (F_c). Forbindelsene kan angis i rekkefølge på følgende måte:

Evne til 75% økning F_c innenfor følgende område:	Forbindelser fra følgende eksempler:
(1) $>10^{-3}$M	3, 26, 29, 31, 32, 38
(2) 10^{-4} - 10^{-3}M	1, 7, 14, 15, 20, 23, 25
(3) 10^{-5} - 10^{-4}	8, 10

Bestemmelse av in vivo-inotropisk og vasodilatorisk aktivitet

Forbindelsene fra eksemplene 1, 2 og 14 ble prøvet og sammenlignet med amrinon og Vardax. I bedøvede hunder hvis brystkasse var åpnet ble det utført bolusintravenøse injeksjoner av prøveforbindelsen (se tabellen nedenfor), hvorved man fikk frembragt en dose-relatert positiv inotropisk strimulering (slik dette kunne måles ved økningen av forandringen i det venstre ventrikulære trykk - dp/dt) i et doseområde fra 0,003 - 3,0 mg/kg. Dette ble fulgt av en dose-relatert økning av blodstrømmen i aorta, og et fall i det systemiske blodtrykk (se tabellen nedenfor.

T a b e l l 1

Effektiv intravenøs dose av forbindelser for å gi en 50% økning i dP/dt (ED_{50}INO) og en 30% senkning av det diastoliske blodtrykket (ED_{30}VASO) i bedøvede hunder med åpen brystkasse.

Forbindelse	ED_{50}INO	ED_{30}VASO
Eksempel 2	2,0 mg/kg	5,1 mg/kg
Eksempel 1	0,13 mg/kg	0,24 mg/kg
Eksempel 14	0,063 mg/kg	0,19 mg/kg
Vardax	1,0 mg/kg	2,11 mg/kg
Amrinon	1,0 mg/kg	2,0 mg/kg

Bestemmelse av fosfodiesterase-hemmende aktivitet

Bestemmelsen av fosfodiesterase-hemmende aktivitet ble utført ved hjelp av en fremgangsmåte som er basert på det som er beskrevet av Thompson og Appleman (Biochem., 10, 311 (1971)). ^{3}H-cAMP (5 µM) ble inkubert ved 37°C i en halv time med 1000 x g overliggende væske av en 10% (vekt/volum) homogenat av marsvinhjerte i 50 mM-tris/HCl pH7 + 5 mM - $mgCI_2$ enten i nærvær eller i et fravær av forbindelsen fra eksempel 14, som i det førstnevnte tilfellet ble oppløst i tris-buffer til en sluttkonsentrasjon på 100 µM,

1 mM og 10 mM. Fosfodiesteraseenzym i homogenatet vil hydrolysere ^{3}H-cAMP til ^{3}H-5'-AMP som videre vil bli omdannet til ^{3}H-adenosin ved et 5'-nukleotidase som ble tilsatt inkuberingsblandingen. Etter inkuberingsperioden ble uforandret ^{3}H-cAMP fjernet ved å tilsette en ioneutbytningsharpiks til blandingen og utføre en sentrifugering. Nevnte ^{3}H i den overliggende væske ble undersøkt ved væskescintillasjonstelling og man fikk derved et kvantitativt mål på adrenosindannelsen (dvs. cAMP-hydrolyse). Sammenligning mellom ^{3}H-adenosin dannet i et nærvær eller fravær av prøveforbindelsen gir et mål på den PDE-hemmende aktiviteten for forbindelsen. Ved 100 µM, 1 mM og 10 mM så viste forbindelsen fra eksempel 21 ingen PDE-hemmende aktivitet.

Kardiovaskulær og anti-aggregerende virkninger av forbindelsen fra eksempel 14 (Forbindelse A) i bedøvede rhesusaper

Rhesusaper av begge kjønn (kroppsvekt 7,3 - 9 kg) ble sedatert med fencyklidin, deretter bedøvet med tiopenton og holdt i denne tilstand ved hjelp av natriumpentobarbiton. Katetere ble plassert i den venstre lårarterien for å måle blodtrukket og i den venstre lårvenen for tilførsel av forbindelsene. Et annet kateter ble plassert i den kontralaterale lårarterien for fjerning av blodprøver. Pulsen ble målt fra ECG (standardbly II). Et venstre ventrikulært kateter ble ført inn via den venstre karotidarterien for å måle det venstre ventrikulære trykket. Alle kardiovaskulære parametre ble vist på en polygraf (Grass, modell 7D). Rektaltemperaturen hos de bedøvede aper ble holdt på 37 - 38^{o} ved hjelp av en varmepute.

(i) Ex-vivo-hemming av plateaggregering

3 ml blodprøver ble tatt ut ved hjelp av en sprøyte inneholdende trinatriumcitrat (0,315% vekt/volum sluttkonsentrasjon) og sentrifugert i 2 sekunder. Det platerike plasmaet ble overført til et aggregometer av Born-typen og inkubert i 1 minutt ved 37^{o}C før man tilsatte tilstrekkelig ADP til å indusere en sub-maksimal (1,5 - 3 µM) eller nær en maksimal (8 - 12 µM) aggregering. Hemming av aggregeringen ble beregnet med referanse til minst to kontrollprøver før en intravenøs infusjon av forbindelse A. Rekkefølgen

med hensyn til tilførselen av forbindelse A var gjort vilkårlig mellom eksperimentene. Den effektive dosen av forbindelse A som ga 50% hemming av aggregeringen er 1,0 mg/kg intravenøst (ca.).

ii) In vitro-hemming av blodplateaggregering

Nylig innsamlede blodprøver ble oppsamlet i silikoniserte ("Siloclad", Clay Adams) plast-(Sterlin Ltd.) rør inneholdende trinatriumcitrat (3,15%, 0,1 volum med 0,9 volumer blod) og sentrifugert (200 g i 15 minutter) ved romtemperatur. Det platerike plasmaet (PRP) ble tatt ut og plassert i små plastflasker og holdt ved romtemperatur. Hemming av blodplateaggregeringen ble målt ved hjelp av et aggregometer av Born-typen ved å inkubere porsjoner (0,5 ml) av nevnte PRP i 1 minutt ved 37°C med eller uten forbindelse A før man tilsatte tilstrekkelig adenosindifosfat (ADP). Dose-hemmingskurver ble konstruert for hver forbindelse, og man beregnet ID_{50} (dvs. den dose som gir 50% hemming), som den dose som er nødvendig for å redusere blodplateaggregeringen til 50% av kontrollamplityden. Denne ID_{50} for forbindelse A er 1 mg/ml (ca.).

Toksisitetsstudier

I preliminære toksisitetsstudier bestemte man effektene av en intravenøs tilførsel av forbindelse A (se ovenfor) til Wistar hunn-rotter.

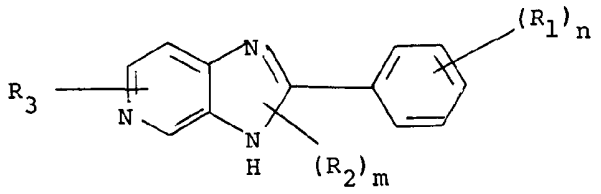
Dyrene ble vilkårlig fordelt i grupper på 5, og hver gruppe fikk en enkelt tilførsel av forbindelsen. En gruppe tjente som kontroll og fikk bare oppløsningsvæsken. Observasjoner med hensyn til oppførsel ble utført 5 min., 20 minutter, 1, 3, 4½ timer og 2, 4 og 6 døgn etter tilførselen.

Man fikk følgende observasjoner.

Dose	Observasjon	Dødelighet
35 mg/kg	Rødming, svak hypotermi, (<1°C)	-
70 mg/kg	Hypoaktivitet, ataksi, langsom respirasjon	-
100 mg/kg	Hypotermi (<2°C), dyp langsom respirasjon, ataksi, rødming, hypoaktivitet	-
140 mg/kg	hypoaktivitet, hypotermi, (2 - 3°C) ataksi	2/5 i løpet av 3 timer 4/5 i løpet av 2 døgn
200 mg/kg	Hypoaktivitet, ataksi, brekninger	5/5 i løpet av 5 - 30 minutter

Patentkrav

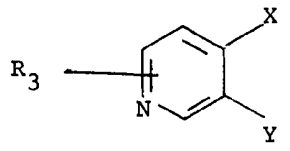
Analogifremgangsmåte for fremstilling av terapeutisk aktive imidazo[4,5-c]pyridinderivater med formelen:



(I)

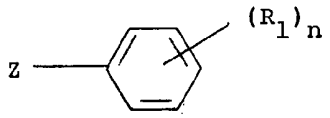
hvor n er 1, 2 eller 3; m er 0 eller 1; hver R_1 er uavhengig halogen, hydroksy, C_{1-4}-alkoksy, C_{1-4}-alkyl, C_{2-5}-alkenyloksy, fenyl, en gruppe $-S(O)_x-C_{1-4}$-alkyl hvor x er 0, 1 eller 2, C_{1-4}-alkoksy $-C_{1-4}$-alkoksy eller mono- eller di-(C_{1-4}-alkyl)-amino-C_{1-4}-alkoksy; R_2 er C_{1-4}-alkyl i 1- eller 3-stillingen; og R_3 er hydrogen eller halogen; forutsatt at når n er 1, m er 0, og R_3 er hydrogen, så er R_1 ikke 4-metoksy, 2-hydroksy eller 3- eller 4-klor; og N-oksyder og farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter derav og syreaddisjonssalter av nevnte N-oksyder, k a r a k t e r i s e r t v e d at man

a) omsetter en forbindelse med formel



(II)

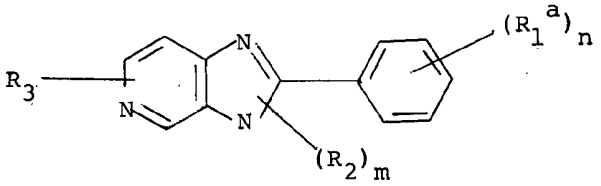
hvor R_3 har den ovenfor angitte betydning, X og Y som kan være like eller forskjellige, hver er en aminogruppe, en gruppe $-NHR_2$ hvor R_2 har den ovenfor angitte betydning, eller et erstattbart radikal, forutsatt at X og Y ikke begge representerer erstattbare radikaler eller grupper $-NHR_2$, med en forbindelse med formelen:



(III)

hvor R_1 og n har de ovenfor angitte betydninger, og Z er en gruppe, f.eks. en karboksylgruppe, aldehydgruppe o.l., som kan reagere med gruppene X og Y (i rekkefølge eller samtidig) for dannelse av et imidazo-ringsystem med etterfølgende dannelse av en forbindelse med formel (I) eller et syreaddisjonssalt derav, eller

b) for fremstilling av en forbindelse hvor minst en av R_1 er mono- eller di(C_{1-4}-alkyl)amino-C_{1-4}-alkoksy, omsetter en forbindelse med formelen:



(IV)

hvor R_2 og R_3, n og m har de ovenfor angitte betydninger, og minst en av gruppene R_1^a er halogen-C_{1-4}-alkoksy og den eller de andre R_1^a-gruppene er som for R_1, med et mono- eller di(C_{1-4}-alkyl)amin, eller

c) i forbindelser for R_1 er $-S(O)_x-C_{1-4}$-alkyl og x er 0 eller 1, oksyderer denne til forbindelser hvor x er henholdsvis 1 eller 2,

og, om ønsket, omdanner en oppnådd forbindelse til et N-oksyd eller et farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt derav eller et syreaddisjonssalt av nevnte N-oksyd.