



[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU** 71556
UTLÄGGNINGSSKRIFT

C (45) Patentti myönnetty
Patent mallelat 10 01 1987
(51) Kv.lk./Int.Cl. C 07 D 233/74

SUOMI—FINLAND
(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patentihakemus — Patentansökning	800502
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag	20.02.80
(23) Alkupäivä — Giltighetsdag	20.02.80
(41) Tullut julkiseksi — Blivit offentlig	21.08.80
(44) Nähtäväksiapanon ja kuul.julkaisun pvm. — Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	10.10.86
(86) Kv. hakemus — Int. ansökan	
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	20.02.79

Ranska-Frankrike(FR) 7904209

- (71) Region Wallonne représentée par l'Exécutif Régional Wallon,
Boulevard de l'Empereur 11, Bryssel, Belgia-Belgien(BE)
- (72) Pierre Dumont, Gembloux S/Ornaux, Jacques Poupert, Louvain-la-Neuve,
Belgia-Belgien(BE)
- (74) Oy Kolster Ab
- (54) Menetelmä 5-(paradeuterofenyyli)-5-fenyylihydantoiinin valmistamiseksi,
joka on kouristuksia vastaan käyttökelpoinen lääkeaine - Förfarande för
framställning av 5-(paradeuterofenyl)-5-fenylhydantoin, vilken är ett
läkemedel användbart mot konvulsioner

Keksinnön kohteena on menetelmä 5-(paradeuterofenyyli)-5-fenyylihydantoiinin valmistamiseksi, jolla on psykotrooppinen aktiviteetti.

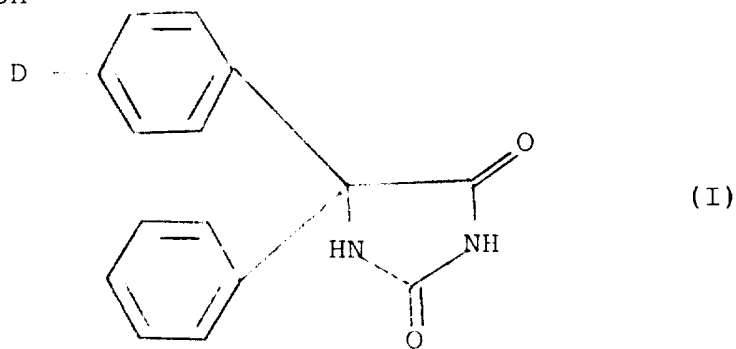
Nykyään tunnetaan antiepileptisesti vaikuttavia farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät vaikuttavana aineena 5,5-difenyylihydantoiinia. 5,5-difenyylihydantoiinilla on kuitenkin ilmennyt hankaluuksia sen imeytymisen, jakautumisen, metabolian ja erittymisen suhteen.

Näiden ilmiöiden tutkimiseksi onkin ehdotettu käytettäväksi deuteriumia 5,5-difenyylihydantoiinin merkitsemiseen analyysessä suoritettaessa. Tässä tarkoituksessa on jo valmistettu viisi ja kymmenen deuteriumatomia sisältävät 5,5-difenyylihydantoiinit. Näitä aineita ei kuitenkaan ole käytetty muuhun kuin biokemiallisiin analyysiin.

Julkaisussa Australian Journal of Chemistry, vol. 31, no 2, 1978, s. 451-453 on kuvattu 5-(pentadeuterofenyyli)-5-fenyylihydantoiinin ja 5,5-bis(2-deuterofenyyli)hydantoiinin syntetisointi ja käyttö ainoastaan merkittyinä molekyyleinä. Julkaisussa Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, vol. 13, no 4, 1977, s. 623-625 on esitetty dekadeteroitujen difenyylihydantoiinien käyttö merkittyinä molekyyleinä ja mainittu, ettei tällä käytöllä ole mitään vaikutusta terapiaan. Julkaisussa Biomedical Mass Spectrometry, vol. 4, no 1, 1977, s. 36-4 on kuvattu kahden deuteriumilla merkityn yhdisteen 5,5-pentadeuterodifenyylihydantoiinin ja 5-(p-hydroksifenyyli)-5-(pentadeuterofenyyli)hydantoiinin syntetisointi niiden käyttämiseksi plasman DPH:n ja sen pääasiallisten metaboliittien analysointiin.

Tämän keksinnön kohteena on menetelmä sellaisen psykotrooppisen lääkeaineen valmistamiseksi, jolla on parempi kouristusta vastustava vaikutus kuin 5,5-difenyylihydantoiinilla ja jolla ei ole lainkaan jälkimmäisen aineen haittoja.

Keksinnön mukaisesti valmistetaan uusi, terapeuttisesti vaikuttava yhdiste 5-(paradeuterofenyyli)-5-fenyylihydantoiini, jonka kaava on

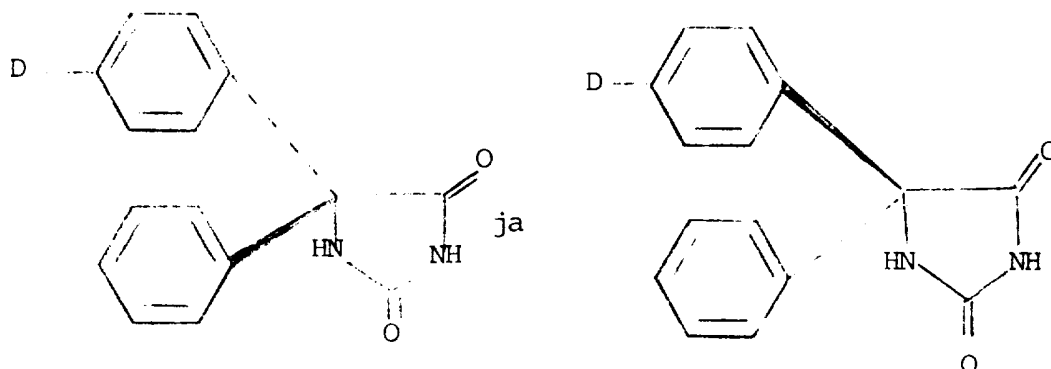


Tämä yhdiste valmistetaan siten, että

a) paraklooribentsiili saatetaan reagoimaan kaliumhydroksidin ja urean kanssa 5-(parakloorifenyyli)-5-fenyylihydantoiinin valmistamiseksi, joka sen jälkeen deuteroidaan puuhiilellä olevalla palladiumilla, tai

b) parabromibentsofenoni saatetaan reagoimaan dimetyyli-formamidin, ammoniumkarbonaatin, kaliumsyanidin ja veden kanssa 5-(parabromifenyyli)-5-fenyylihydantoiinin saamiseksi, joka sen jälkeen deuteroidaan puuhiilellä olevalla palladiumilla.

Edellä esitetyn yhdisteen enantiomeerien kaavat ovat seuraavat:



Seuraavat esimerkit kuvaavat keksintöä.

Esimerkki 1

5-(paradeuterofenyyli)-5-fenyylihydantoiinin valmistusmenetelmä

a) Teräksiseen 500 ml:n pommiputkeen pannaan 60 g 4-bromibentsofenonia liuotettuna 300 ml:aan dimetyyliformamidia, 100 g kiinteää ammoniumkarbonaattia ja 30 g kaliumsyanidia liuotettuna 100 ml:aan vettä. Pommiputken sulkemisen jälkeen reaktioseos kuumennettiin 120°C:seen 5 vuorokauden ajaksi ja kaadettiin sitten 2 litraan 80°C:sta vettä, tehtiin happameksi (konsentroidulla HCl:llä), jäähdytettiin jäähauteella ja erotettiin sitten tuote. Saatu raakatuote käsiteltiin 2N natriumhydroksidilla (500 ml). Suspensio suodatettiin: suodos uutettiin kolme kertaa eetterillä (kaikkiaan 300 ml:lla). Vesifaasi tehtiin happameksi konsentroidulla kloorivetyhapolla, jolloin saatiin 59 g 5-(parabromifenyyli)-5-fenyylihydantoiini raakatuotetta. Etanolista uudelleen kiteyttämällä saatiin 40 g puhdasta tuotetta.

Sp.: 237 - 239°C.

Ohutlevykromatografia: R_f 0,42 (CHCl_3 . asetoni 90:10, v/v).

IR: 1775, 1715 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$) (KBr)

b) 500 ml:n hydrauslaitteeseen (Parr) pantiin 30 g 5-(parabromifenyyli)-5-fenyylihydantoiinia, joka liuotettiin 250 ml:aan vedetöntä dioksaania ja 30 ml:aan trietyyliamiinia. Lisättiin 5 g 10 % palladiumin hiiliseosta. Suspensiota sekoitettiin 24 tunnin ajan deuteriumin alkupaineen ollessa 0,34475 MPa. Katalysaattori ja trietyyliamiinin hydrobromidi suodatettiin pois ja suodos haihdutettiin kuiviin tyhjössä. Etanolista uudelleen

kiteyttämällä saatiin 21 g otsikon yhdistettä.

Sp.: 297 - 298°C.

Ohutlevykromatografia: R_f 0,56 (CHCl_3 :asetoni, 90:10, v/v)

IR: 1775, 1740, 1720 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$) KBr

MS: 253 (m+), 224, 209, 181, 166, 105, 104, 78, 77

Alkuaineanalyysi: N C H

Laskettu: 11,06 71,12 5,17

Saatu: 10,89 71,41 4,93

Esimerkki 2

5-(paradeuterofenyyli)-5-fenyylihydantoiinin valmistusmenetelmä

a) Jäähdyttimellä varustettuun 250 ml:n pyöreään kolviin pantiin 3 g paraklooribentsiiliä ja 80 ml etanolia (95 %). Tuote liuotettiin keittämällä sitä palautusjäähdyttäen 5 minuuttia. Sen jälkeen lisättiin 1,5 g ureaa ja 1,2 g kiinteätä kaliumhydroksidia sekä lisäksi 20 ml etanolia.

Muodostui välittömästi valkea saostuma. Keitettiin palautusjäähdyttäen 8 tuntia. Sen jälkeen reaktioseos kaadettiin 400 ml:aan vettä, suodatettiin ja tehtiin suodos happamaksi (konsentroidulla HCl :llä). Saatu 5-(parakloorifenyyli)-5-fenyylihydantoiini erotettiin. Tuote kuivattiin vakuuissa (80°C/30 mm/Hg) ja kiteytettiin uudelleen etanolin ja veden seoksesta (80:20, v/v).
Saanto: 0,85 g.

Sp.: 243 - 244°C (kirjallisuudessa: 243°C).

Ohutlevykromatografia: R_f 0,45 (CHCl_3 :asetoni, 80:10, v/v)

b) Toimittiin esimerkin lb kanssa analogisella tavalla.

Valmisteita, jotka sisältävät uutta yhdistettä voidaan käyttää psykotrooppeina, etenkin kouristusta vastustavina lääkkeinä ja niitä voidaan siten käyttää etenkin epilepsian hoidossa.

Näitä valmisteita voidaan antaa tabletteina, suulakkoina, geelihelminä, kapsелеina, rakeina tai liuoksina. Niitä voidaan antaa esimerkiksi suun kautta geelihelminä, jotka sisältävät yksittäisen 30-200 mg:n annoksen aktiivista ainetta jauheena ja tällöin päivittäinen annos on 1,5 - 5 mg ruumiin painokiloa kohden. Valmisteita voidaan myös antaa esimerkiksi intraperitoneaalisesti liuoksena tai suonensisäisesti liuoksena, joka sisältää yksittäisen 100-200 mg annoksen vaikuttavaa ainetta.

Keksinnön mukaisesti valmistetuilla aktiivisilla aineilla on suoritettu tutkimuksia, joissa on verrattu niiden aktiivisuutta ja vaikutuksia tunnettuun difenyylihydantoiiniin (DPH). Näissä kokeissa 5-(paradeuterofenyyli)-5-fenyylihydantoiini on merkitty tunnuksella DPH-d₁ ja 5-fenyyli-d₅-5-fenyylihydantoiini tunnuksella DPH-d₅.

Näiden aineiden kouristusta vastustavan vaikutuksen selville saamiseksi tutkittiin niiden suojavaikutusta pentyleenitetratsolilla aikuisilla naarasrotilla (Wistar-kantaisia, 200-220 g) aiheutettuja kouristuksia vastaan. Yksi, kaksi ja neljä tuntia hydantoiinien suun kautta tapahtuvan antamisen (100 ja 200 mg/kg: dimetyylisulfoksidi/propyleeniglykoliliuos) jälkeen eläimet saivat 100 mg/kg pentyleenitetratsolia (PTZ) intraperitoneaalisesti, minkä jälkeen niitä tarkkailtiin tunnin ajan. Positiiviseksi vasteeksi katsottiin se, ettei kouristuksia ilmennyt. Tulokset on esitetty alla olevassa taulukossa I suhteena: suojattujen eläinten lukumäärä/eläinten kokonaismäärä.

Taulukko I

Suojausvaikutus rotilla PTZ:n aiheuttamia kouristuksia vastaan

	DPH	DPH-d ₁	DPH-d ₅
A. Kiinteä aikaväli (1 h), eri annokset vaikuttavilla aineilla			
100 mg/kg	4/25	9/14	7/20
200 mg/kg	5/35	11/30	11/35
B. Eri aikavälit, kiinteä annos (100 mg/kg)			
1 h	4/25	9/14	7/20
2 h	2/10	4/10	2/10
2 h	0/10	2/10	0/10

Nämä tulokset on analysoitu (taulukko II) ei-parametrisellä menetelmällä (2 x 2 frekvenssitaulukot: erojen merkitsevyys testattu χ^2 -menetelmällä). Merkitsevyystutkimuksessa analysoitiin seuraavat seikat DPH:n ja deuteriumia sisältävien fenyylihydantoiinien välinen ero aikavälillä 1 h annoksilla 100 ja 200 mg/kg, DPH:n ja deuteriumia sisältävien fenyylihydantoiinien välinen ero kaikilla aikaväleillä ja annoksella 100 mg/kg, annosten 100 ja 200 mg/kg välinen ero ja aikavälien välinen ero.

Taulukko II
Tilastollinen analyysi

Ei-parametrinen menetelmä, 2 x 2 frekvenssitaulukot; χ^2 -eroille

	DPH	DPH-d ₁	DPH-d ₅
1. DPH:n ja deuterium-DPH:n välillä (1 h)			
100 mg/kg		9,42 ^{xx}	2,17
200 mg/kg		4,36 ^x	2,92
2. DPH:n ja deuterium-DPH:n välillä kaikilla aikaväleillä			
100 mg/kg		9,40 ^{xx}	1,22
3. Annosten välillä (100 ja 200 mg/kg)	NS	NS	NS
4. Eri aikavälien välillä $\frac{1 \text{ h}}{2 \text{ h} + 4 \text{ h}}$	NS	3,93 ^x	3,58

x < 0,05

xx < 0,01

NS: ei merkitsevä

Tilastollinen analyysi osoittaa selvästi, että DPH-d₁ suojaa eläimiä PTZ:n kouristuksia aiheuttavalta vaikutukselta paremmin kuin DPH, erot ovat erittäin merkitseviä annoksella 100 mg/kg (9,42^{xx}) ja merkitseviä annoksella 200 mg/kg (4,36^x). Tämä vaikutus kestää 4 tuntia (9,40^{xx}), mutta on selvempi ensimmäisen tunnin aikana (3,93^x). Myös DPH-d₅:llä havaittiin samansuuntainen, aivan merkitsevyyden rajoilla oleva ero.

Molempia sukupuolia olevilla rotilla ja hiirillä määritettiin verestä tutkittavien yhdisteiden pitoisuudet sen jälkeen, kun niistä oli annettu suonensisäisesti ja määrittäminen suoritettiin mittamalla ¹⁴C:llä merkittyjen tuotteiden radioaktiivisuus.

Viidelle naaraspuoliselle rotalle annettiin suonensisäisenä ruiskeena 50 mg/kg tutkittavaa yhdistettä (alkaalisena liuoksena), ja käyttäen ¹⁴C-merkintämenetelmää tutkittiin yhdisteen pitoisuus veressä (µg/ml) ajan funktiona. (Katso liitteenä olevaa kuviota).

Verrattaessa DPH:ta ja sen deuteriumpitoisia analogisia yhdisteitä toisiinsa niiden välillä oli havaittavissa selviä eroja useissa suoritetuissa kokeissa.

DPH:n, DPH-d₁:n ja DPH-d₅:n pitoisuudet eri kudoksissa määritettiin kahtena eri ajankohtana yhdisteiden suun kautta tapahtuneen antamisen jälkeen (uroshiiriä, naarasrottia, kaasukromatografinen analyysi).

Tulokset on koottu alla olevaan taulukkoon III. Annetut arvot ovat vaikuttavien aineiden aivoista ja verestä mitattujen pitoisuuksien suhteita.

Vaikuttavia aineita annettiin eläimelle suun kautta ja sekä rotilla että hiirillä deteriumpitoisille fenyylihydantoiineille saadut arvot olivat joko selvästi tai erittäin selvästi suurempia kuin DPH:lle saadut arvot. Deuterointi on siis muuttanut jakautumissuhdetta aivot/veri aivoille suotuisammaksi, ilmiö, joka on sopusoinnussa DPH-d₁:n ja DPH-d₅:n suuremman kouristusta vastustavan vaikutuksen kanssa.

Taulukko III

Jakautuminen kudoksiin. Yhdisteet annettu suun kautta.

Mittaukset on suoritettu kaasukromatografisesti.

20 - 25 g:n uroshiiriä, 100 mg/kg

	2 tunnin kuluttua		24 tunnin kuluttua	
	DPH	DPH-d ₅	DPH	DPH-d ₅
Suhde aivot/veri	1,47 ± 0,10	2,35 ± 0,26	2,09 ± 0,22	2,97 ± 0,30

200 g:n naarasrotat, 100 mg/kg

	1 tunnin kuluttua		
	DPH	DPH-d ₅	DPH-d ₁
Suhde aivot/veri	0,90 ± 0,13	2,15 ± 0,37	2,10 ± 0,41

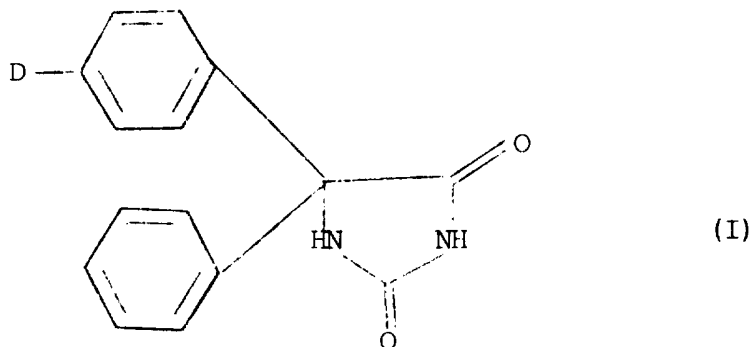
2 tunnin kuluttua

	DPH	DPH-d ₅	DPH-d ₁
Suhde aivot/veri	5,91 ± 0,93	4,49 ± 1,33	1,55 ± 3,7

Kaikista näistä kokeista on selvästi havaittavissa, että difenyylihydantoiinin deuterointi parantaa tuotteen kouristusta vastustavia ominaisuuksia, muuntaa sen farmakokineettisiä ominaisuuksia veren suhteen ja edistää tuotteen kerääntymistä aivokudokseen.

Patenttivaatimus

Menetelmä 5-(paradeuterofenyyli)-5-fenyylihydantoiinin valmistamiseksi, joka on kouristuksia vastaan käyttökelpoinen lääkeaine ja jonka kaava on



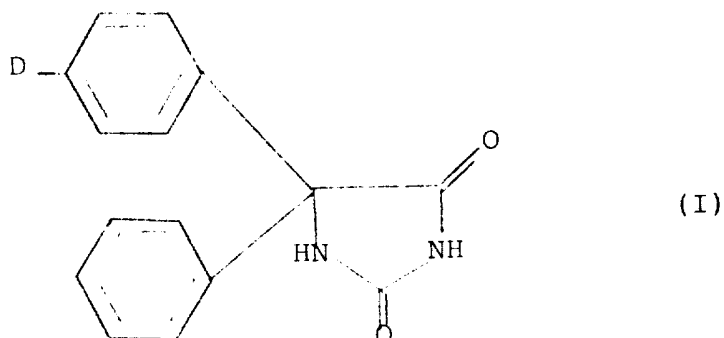
t u n n e t t u siitä, että

a) paraklooribentsiili saatetaan reagoimaan kaliumhydroksidin ja urean kanssa 5-(parakloorifenyyli)-5-fenyylihydantoiinin saamiseksi, joka sen jälkeen deuteroidaan puuhiilellä olevalla palladiumilla, tai

b) parabromibentsofenoni saatetaan reagoimaan dimetyyliformamidin, ammoniumkarbonaatin, kaliumsyanidin ja veden kanssa 5-(parabromifenyyli)-5-fenyylihydantoiinin saamiseksi, joka sen jälkeen deuteroidaan puuhiilellä olevalla palladiumilla.

Patentkrav

Förfarande för framställning av 5-(paradeuterofenyl)-5-fenylhydantoin, vilken är ett läkemedel användbart mot konvulsioner och vilken har formeln



k ä n n e t e c k n a t därav, att

a) paraklorbensil omsätts med kaliumhydroxid och urea för erhållande av 5-(paraklorfenyl)-5-fenylhydantoin, vilken därefter deuteriseras med palladium på träkol, eller

b) parabrombensofenon omsätts med dimetylformamid, ammoniumkarbonat, kaliumcyanid och vatten för erhållande av 5-(parabromfenyl)-5-hydantoin, vilken därefter deuteriseras med palladium på träkol.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Australian Journal of Chemistry, vol. 31, nro 2, helmikuu 1978, p. 451-453.
Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, vol. 13, nro 4, 1977, p. 623-625.
Chemical Abstracts, vol. 84, nro 9, maaliskuu 1976, p. 509, 59303p.

